

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL DİYABETİK RETİNOPATİ RAT MODELİNDE  
BEVACİZUMAB VE RAMUCİRUMAB'IN ETKİSİNİN  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
Dr. Sara KOYLU GÜNGÖR

**TEZ DANIŞMANI**  
Doç.Dr. Sabiha GÜNGÖR KOBAT

**ELAZIĞ  
2023**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. Metin Kaya GÜRGÖZE

**DEKAN**

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Fatma Ülkü ÇELİKER

**Göz Hastalıkları Anabilim Dalı**

Tez tarafımdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç.Dr. Sabiha GÜNGÖR KOBAT \_\_\_\_\_ Danışman

**Uzmanlık Sınavı Jüri Üyeleri**

.....

.....

.....

.....

.....

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp sabırla ve büyük bir ilgiyle bana faydalı olabilmek için elinden gelenden fazlasını sunan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda da bana verdiği değerli bilgilerden faydalanacağımı düşündüğüm kıymetli ve danışman hoca statüsünü hakkıyla yerine getiren Doç. Dr. Sabiha GÜNGÖR KOBAT ve Prof. Dr. Nevin İLHAN hocalarıma teşekkürü bir borç biliyor ve şükranlarımı sunuyorum. Yine çalışmamın başında konu, kaynak ve yöntem açısından yardımda bulunarak yol gösteren Doç. Dr. Mehmet BALBABA ve Doç. Dr. Hakan YILDIRIM hocalarıma teşekkürlerimi sunuyorum.

İhtisasım boyunca iyi bir eğitim almamı sağlayan değerli hocalarım Prof. Dr. Ülkü ÇELİKER, Dr. Öğr. Üyesi Onur ÇATAK, Doç. Dr. Mehmet BALBABA, Doç. Dr. Hakan YILDIRIM ve Doç. Dr. Sabiha GÜNGÖR KOBAT başta olmak üzere eğitimimde emeği geçen tüm öğretim üyelerine ve kıdemlilerime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık sürem boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan doktor arkadaşlarıma, kliniğimizde çalışan hemşire ve personellerimize teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca desteğini esirgemeyen aileme, ilgisi ve sevgisiyle sürekli yanımda olan eşim Ali'ye teşekkür ederim.

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı; streptozosin ile oluşturulmuş deneysel diyabetik rat modelinde ramucirumab ve bevacizumab'ın etkisini karşılaştırmaktır.

Çalışmada 40 adet, 8-10 haftalık, Sprague Dawley cinsi erkek rat rasgele seçilerek her grupta 10 rat olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Kontrol grubuna deney başında intraperitoneal (i.p) sadece 0,1 M sodyum-sitrat uygulandı. Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında deney başlangıcında 60 mg/kg dozunda streptozosin 0,1 M sodyum-sitrat tamponunda çözdürülerek i.p tek doz uygulandı. Sham grubuna deney sonuna kadar herhangi bir işlem yapılmadı. Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarına deneyin 12. haftasının başında sırasıyla 2,5 mg/kg bevacizumab ve 8 mg/kg ramucirumab ip uygulandı. On iki hafta sonunda 28 rat dekapite edilip her iki gözleri enükle edildi. Sham grubu sıçanlarda retinada damar sayıları ve neovaskülarizasyon Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarına göre önemli derecede artmıştı. Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında retinal ganglion tabakasında kapiller damarlarda hyanilizasyon bulgularına rastlandı. Sham grubu ile karşılaştırıldığında Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında VEGFA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla p: 0.023, p: 0.020, p: 0.023). Sham grubu ile karşılaştırıldığında Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında SOD düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha fazlaydı (sırasıyla p: 0.002, p: 0.003, p: 0.002). Sham grubu ile karşılaştırıldığında Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında IL-1 $\beta$  düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla p: 0.002, p: 0.009, p: 0.025). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında IL-1 $\beta$  düzeyi anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla p: 0.048, p: 0.013). TGF $\beta$ 1 düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık görülmedi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular; deneysel diyabetik retinopati modelini oluşturduğumuzu göstermekte olup, ramucirumabın bevacizumaba göre histopatolojik ve biyokimyasal olarak DRP bulgularında daha iyi bir iyileştirme yaptığını göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Deneysel Diyabetik Retinopati, Anti-VEGF, Bevacizumab, Ramucirumab

## ABSTRACT

### COMPARISON OF THE EFFECT OF BEVACIZUMAB AND RAMUCIRUMAB IN THE EXPERIMENTAL DIABETIC RETINOPATHY RAT MODEL

The aim of this study; compares the effect of ramucirumab and bevacizumab in an experimental diabetic rat model induced with streptozocin.

In the study, 8-10 weeks old 40 male Sprague Dawley rats were randomly selected and divided into four groups with 10 rats in each group. Only 0.1 M sodium-citrate was administered intraperitoneally (i.p) to the Control group at the beginning of the experiment. In Sham, Bevacizumab and Ramucirumab groups, 60 mg/kg streptozocin was dissolved in 0.1 M sodium-citrate buffer at the beginning of the experiment and i.p. was administered as a single dose. Sham group did not take any action until the end of the experiment. Bevacizumab and Ramucirumab groups were administered 2.5 mg/kg bevacizumab and 8 mg/kg ramucirumab ip, respectively, at the beginning of the 12th week of the experiment. At the end of 12 weeks, 28 rats were decapitated and both eyes were enucleated. Retinal vessel numbers and neovascularization were significantly increased in Sham group rats compared to Control, Bevacizumab and Ramucirumab groups. In the Sham, Bevacizumab and Ramucirumab groups, hyalinization findings were observed in the capillary vessels in the retinal ganglion layer. VEGFA levels were statistically significantly lower in the Control, Bevacizumab, and Ramucirumab groups compared to the Sham group (p: 0.023, p: 0.020, p: 0.023, respectively). SOD levels were statistically significantly higher in the Control, Bevacizumab and Ramucirumab groups compared to the Sham group (p: 0.002, p: 0.003, p: 0.002, respectively). Compared to the Sham group, IL-1 $\beta$  levels were statistically significantly lower in the Control, Bevacizumab and Ramucirumab groups (p: 0.002, p: 0.009, p: 0.025, respectively). IL-1 $\beta$  levels were significantly higher in the Bevacizumab and Ramucirumab groups compared to the control group (p: 0.048, p: 0.013, respectively). There was no statistically significant difference between the groups in TGF $\beta$ 1 levels.

The findings we obtained in our study; shows that we have established an experimental diabetic retinopathy model and shows that ramucirumab provides a better improvement in DRP findings histopathologically and biochemically than bevacizumab.

**Keywords:** Experimental Diabetic Retinopathy, Anti-VEGF, Bevacizumab, Ramucirumab

## İÇİNDEKİLER

<b>DEKANLIK ONAYI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>xii</b>
<b>KISALTMALAR VE SİMGELER</b>	<b>xii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Diabetes Mellitus	4
1.2. Retina	5
1.2.1. Retina Embriyolojisi	5
1.2.2. Retinanın Anatomisi ve Histolojisi	6
1.2.3. Retina Kan Dolaşımı	9
1.2.3.1. Arterler	9
1.2.3.1.1. Santral Retinal Arter (SRA)	9
1.2.3.1.2. Siliyoretinal Arter	9
1.2.3.2. Venler	9
1.2.3.3. Kapillerler	10
1.3. Diyabetik Retinopati	10
1.3.1. Etiyoloji	11
1.3.2. Epidemiyoloji	12
1.3.3. Patofizyoloji	12
1.3.3.1. Kronik hiperglisemi	12
1.3.3.2. Oksidatif stress	13
1.3.4. Histoloji ve Fizyoloji	14
1.3.5. Öykü ve Fizik muayene	15
1.3.5.1. Mikroanevrizmalar	15
1.3.5.2. Kanamalar	15

1.3.5.3. Sert Eksudalar	16
1.3.5.4. Pamuk Yün Noktaları/Yumuşak Eksudalar	16
1.3.5.5. IRMA (intraretinal mikrovasküler anormallikler)	16
1.3.5.6. Neovaskülarizasyon	16
1.3.5.7. Venöz Değişiklikler	16
1.3.5.8. Arteryal Değişiklikler	17
1.3.6. Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışması (ETDRS) Sınıflandırması	17
1.3.6.1. Proliferatif Olmayan Diyabetik Retinopati (NPDR)	17
1.3.6.2. Proliferatif Diyabetik Retinopati (PDR)	17
1.3.6.3. İleri Diyabetik Göz Hastalığı	18
1.3.6.4. Diyabetik Maküler Ödem (DMÖ)	18
1.3.6.4.1. ETDRS Klinik Olarak Önemli Maküla Ödeminin (CSME) Tanımı	18
1.3.6.5. OCT Diyabetik Maküla Ödemi Sınıflandırması	18
1.3.7. Uluslararası Klinik Diyabetik Retinopati Hastalığı Şiddet Ölçeği	18
1.3.8. DRP’de muayene ve tanı araçları	19
1.3.8.1. Labaratuvar Muayenesi	19
1.3.8.2. Oküler Muayene	20
1.3.8.2.1. Fundus Görüntülemesi	20
1.3.8.2.2. Fundus Floresan Anjiyografi (FFA)	20
1.3.8.2.3. Geniş Açılı Fundus Görüntüleme (UWFI) ve Geniş Açılı Fundus Fluoresein Anjiyogram (UWFA)	21
1.3.8.2.4. Optik Koherens Tomografi (OCT)	21
1.3.8.2.5. Ultrasonografi (B-Mod)	21
1.3.8.2.6. Optik Koherens Tomografi Anjiyografi (OCTA)	22
1.3.8.2.7. Yapay Zeka Tabanlı Cihazlar	22
1.3.9. Takip ve Tedavi	22
1.3.9.1. Diyabetin Genel Sistemik Kontrolü	22
1.3.9.2. Proliferatif Olmayan Diyabetik Retinopatinin (NPDR) Yönetimi	23
1.3.9.3. Diyabetik Maküla Ödeminin (DMÖ) Yönetimi	23
1.3.9.3.1. Merkezi tutan diyabetik maküla ödemi	23

1.3.9.3.2. Merkez dışını içeren maküler ödem	24
1.3.9.3.3. Traksiyonel diyabetik makula ödemi	25
1.3.9.3.4. Dirençli Diyabetik maküler ödem	25
1.3.9.4. İskemik tip diyabetik makula ödemi	25
1.3.9.5. Proliferatif Diyabetik Retinopatinin (PDR) Tedavisi	26
1.3.9.6. İlerlemiş Diyabetik Göz Hastalığının Tedavisi	26
1.3.10. Ayırıcı Tanı	27
1.3.11. Prognoz	28
1.3.12. Komplikasyonlar	29
1.3.12.1. Anti-VEGF İlaçlara İlişkin Komplikasyonlar	29
1.3.12.2. Lazer Fotokoagülasyona İlişkin Komplikasyonlar	29
1.3.12.3. Vitrektomiye İlişkin Komplikasyonlar	30
1.3.13. Ameliyat Sonrası Bakım ve Rehabilitasyon	30
1.3.14. Hasta eğitimi	30
1.4. Deneysel Diyabetik Retinopati Hayvan Modelleri	31
1.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGFA)	33
1.6. Bevacizumab	33
1.7. Ramucirumab	34
1.7.1. Ramucirumabın Farmakodinamik Özellikleri	34
1.7.2. Ramucirumabın Farmakokinetik Özellikleri	35
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>36</b>
2.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri	36
2.2. Diyabet İndüksiyonu ve Diyabetik Retinopati Oluşumunun Takibi	36
2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	37
2.4. Örneklerin Alınması	37
2.5. Histopatolojik Yöntem	38
2.5.1. Morfometrik Ölçümler	38
2.5.2. Damar sayılarının tespit edilmesi	38
2.5.3. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Dupt Nick End Labeling Boyama Yöntemi (TUNEL)	38

2.6. Biyokimyasal Yöntem	39
2.6.1. VEGF-A düzeylerinin Belirlenmesi	39
2.6.2. SOD düzeylerinin Belirlenmesi	40
2.6.3. IL 1- $\beta$ düzeylerinin Belirlenmesi	40
2.6.4. TGF $\beta$ 1 düzeylerinin Belirlenmesi	40
2.7. İstatistiksel Analiz	40
<b>3. BULGULAR</b>	<b>42</b>
3.1. Klinik bulgular	42
3.2. Histopatolojik bulgular	43
3.2.1. Retina Katmanlarının Ölçüm Bulguları	43
3.2.2. Vasküler Bulguların Değerlendirilmesi	44
3.2.3. Katarakt	49
3.2.4. TUNEL Boyama	50
3.3. Biyokimyasal bulgular	50
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>52</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>59</b>
<b>6. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>79</b>

## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b> Gruplara göre retina katmanlarının kalınlıkları	44
<b>Tablo 2.</b> Gruplara göre ganglion ve iç nükleer tabakada damar sayılarının karşılaştırılması	45
<b>Tablo 3.</b> Gruplar arasında VEGF-A, SOD, IL-1 $\beta$ ve TGF $\beta$ 1 düzeylerinin karşılaştırılması	51



## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Retinanın histolojik görünümü	6
<b>Şekil 2.</b>	Duyusal retinanın hücreleri	8
<b>Şekil 3.</b>	Sham grubundan bir ratta korneal neovaskülarizasyon ve katarakt	42
<b>Şekil 4.</b>	Ganglion tabakasında neovaskülarizasyon	45
<b>Şekil 5.</b>	İç nükleer tabakada neovaskülarizasyon	46
<b>Şekil 6.</b>	İç nükleer tabakada endotel hücresi içermeyen yeni oluşmuş bir damar	46
<b>Şekil 7.</b>	Ganglion tabakasında hyalinize damarlar ve endotel hücreleri	47
<b>Şekil 8.</b>	İriste hyalinize damarlar	47
<b>Şekil 9.</b>	Korioid tabakasında endotelial proliferasyon muskular hipertrofi	48
<b>Şekil 10.</b>	Korioidal damar bazal membranında kalınlaşma ve muskular hipertrofi	49
<b>Şekil 11.</b>	Lens'te Morgagnian globüllerinin oluşumuyla karakterize katarakt	49
<b>Şekil 12.</b>	TUNEL boyamada retinanın ve korioidin farklı tabakalarında görülen apoptotik hücreler	50

## KISALTMALAR VE SİMGELER

<b>DM</b>	: Diabetes Mellitus
<b>DMÖ</b>	: Diyabetik maküla ödemi
<b>ETDRS</b>	: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
<b>FDA</b>	: Food and Drug Administration
<b>FFA</b>	: Fundus flöresein anjiyografi
<b>FÜBAP</b>	: Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
<b>FÜDAM</b>	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi
<b>HbA1c</b>	: Hemoglobin A1c
<b>IgG1</b>	: Immünglobulin G1
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	: Interlökin 1 $\beta$
<b>ILM</b>	: İç limitan membran
<b>IRMA</b>	: İntraretinal mikrovasküler anomaliler
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NPDR</b>	: Non- proliferatif diyabetik retinopati
<b>OCT</b>	: Optical kohorens tomografi
<b>PAS</b>	: Periyodik Asit Shift
<b>PDR</b>	: Proliferatif diyabetik retinopati
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türevleri
<b>RPE</b>	: Retina pigment epiteli
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismuataz
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen radikalleri
<b>STZ</b>	: Streptozotosin
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Transforming Growth Factor $\beta$
<b>TUNEL</b>	: Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Dupt Nick End Labeling
<b>VEGF-A</b>	: Vascular endothelial growth factor A
<b>VEGFR</b>	: VEGF reseptörü

## 1. GİRİŞ

Diabetes mellitus (DM); insülin sekresyonu ve/veya etkisindeki defektlerden kaynaklanan, hiperglisemi ile karakterize, karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasında bozuklukla birlikte seyreden kronik, metabolik bir hastalıktır. Diyabetin en yaygın biçimleri, pankreatik beta hücre yıkımının sonucu olarak mutlak bir insülin eksikliğinin ortaya çıktığı tip 1 diyabet ve insülin direncinin hiperglisemiye yol açabileceği tip 2 diyabetir (1). DM son yıllarda tüm dünyada önemi gittikçe artan bir sağlık sorunu haline gelmiştir. 2021 yılında yapılan taramalarda 20 ile 79 yaşları arasındaki yetişkinlerde dünya genelindeki DM prevalansının yaklaşık 537 milyon olduğu biliniyor ve bu sayının 2030 yılında 643 milyon düzeylerine, 2045 yılında ise 783 milyon düzeylerine ulaşacağı tahmin ediliyor (2, 3). Çok ciddi bir toplum sağlığı sorunu olan DM'nin görülme sıklığı her geçen yıl artmaktadır. TURDEP-II verilerine göre Türk erişkin toplumunda diyabet sıklığı % 13.7'ye ulaşmıştır. TURDEP-I'e göre ise 12 yılda diyabet sıklığı % 90 oranında artmıştır (4). Diyabetin komplikasyonları vücudun hemen hemen her dokusunu etkiler. DM; kardiyovasküler morbidite ve mortalite, körlük, böbrek yetmezliği ve amputasyonların önde gelen nedenlerinden biridir (5).

Diabetes mellitusta hastalık süreci, genellikle uzun vadeli makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişimi ile ilişkilidir. Diyabetik retinopati (DRP), DM'nin en yaygın komplikasyonlarından biridir. DRP, sanayileşmiş dünyada 65 yaşın altındaki yetişkinler arasında körlüğün önde gelen nedenidir (6). Erken teşhis ve zamanında müdahale, diyabetik retinopatiye bağlı körlüğü önlemenin anahtarıdır. Amerika'da diyabetik retinopatili hasta sayısının 2050 yılına kadar 16.0 milyona ulaşacağı ve bunların yaklaşık 3.4 milyonunda görmeyi tehdit eden komplikasyonlar olacağı tahmin ediliyor (7). DRP'nin ortaya çıkmasında en önemli faktör hastalığın süresidir. 10 yıllık diyabetik hastalarda DRP oranı %20 iken, 25 yıllık diyabetiklerde bu oran yaklaşık %85'e çıkmaktadır (8). DRP tanısı mikrovasküler lezyonların saptanmasına dayanır. Mikroanjyopati ve makroanjyopati gelişimindeki en önemli faktör vasküler endotelial disfonksiyondur. DRP patogenezinde; hiperglisemi sonrası retina kapillerlerinde gelişen dejenerasyon, endotelde perisit kaybı ve endotel proliferasyonu, bazal membranda

kalınlaşma ve oklüzyon etkilidir. DRP ve komplikasyonlarının gelişiminde, enflamasyon, toksisite, anjiyogenez ve apoptozisin önemli yeri olduğu bilinmektedir. Hiperglisemi, polioliol yolu da dahil olmak üzere alternatif glikoz metabolizması yollarının aktivasyonuna yol açar. Oksidatif stres, protein kinaz C aktivasyonu ve enzimatik olmayan protein glikasyonu gelişmiş glikasyon son ürünlerine yol açar. Bu alternatif yolların sonucu büyüme faktörleri ve vasküler endotel disfonksiyonu ile birlikte sitokinlerin aktivasyonudur, bu da sonunda vasküler geçirgenliğin artmasına ve mikrovasküler oklüzyona yol açar. Mikrovasküler oklüzyonun bir sonucu olarak ortaya çıkan retinal iskemi, IRMA (intraretinal mikrovasküler anormallikler) oluşumuna ve neovaskülarizasyona yol açar (9, 10). Diyabetik retinopatinin tipik fundus özellikleri arasında mikroanevrizmalar, sert eksudalar, maküler ödem (diyabetik maküler ödem veya DMÖ) ve yeni damarlar (proliferatif DRP veya PDR) yer alır. Yönetim seçenekleri arasında sistemik koşulların sıkı kontrolü, intravitreal farmakoterapi ve lazer fotokoagülasyon yer alır. Günümüzde anti-VEGF ajanlar merkezi tutan diyabetik maküla ödemi için ilk tedavi seçeneği haline gelmiştir. Bevacizumab, ranibizumab ve aflibercept başlangıçta görme keskinliği daha iyi olan hastalarda faydalı etkilere sahiptir. Aflibercept'in başlangıçtaki görme keskinliği daha kötü olan hastalarda daha iyi görsel sonuçlara sahip olduğu gösterilmiştir (11). Aflibercept ve ranibizumab, hem DMÖ hem de diyabetik retinopatide kullanım için FDA onayı almıştır (12). Bevacizumab intravitreal enjeksiyonu DMÖ'de etkilidir, ancak FDA onaylı değildir. Bu nedenle, yalnızca endikasyon dışı kullanım için mevcuttur. Sahte ilaçlara veya başka nedenlere bağlı küme endoftalmisi başka bir endişe kaynağıdır (13). İnatçı olgularda intravitreal steroid implantları da kullanılmaktadır (14). Anti-VEGF enjeksiyonlarının sınırlı yarı ömrü nedeniyle belirli aralıklarla tekrarlanan enjeksiyonlar zorunlu hale gelmektedir. Bu nedenle, bu rejimin maliyet etkinliği sorgulanabilir. DRP tedavisinde seçeneklerimiz olan anti-VEGF ajanların yarı ömürlerinin kısa olması nedeniyle yeni ve etkili tedavi ajanlarına ve farklı etki mekanizmalarına hala ihtiyaç vardır.

DRP'nin etiolojisini ve patogenezi araştırmak ve hastalığı tedavi etmek için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. DRP, hem genetik hem de çevresel etkileri olan karmaşık bir hastalık olduğundan, hayvan modelleri benzer şekilde indüksiyon veya

genetik mutasyonla geliştirilir. İndüklenen modeller beş yöntemle oluşturulmuştur. Bunlar pankreasın cerrahi olarak çıkarılması, alloksan uygulanması, streptozotosin (STZ) uygulanması, yüksek galaktozlu diyetlerin verilmesi ve göze lazer veya kimyasal hasar verilmesidir. Genetik modeller, seçici yetiştirme ve gen düzenleme kullanılarak oluşturulur (15). Tüm indüksiyon yöntemleri bugün hala incelenmekle birlikte, en yaygın olanı STZ uygulamasıdır. Bunun nedeni STZ'nin en hızlı hastalık gelişimi oranıyla sonuçlanmasıdır (16). STZ'nin DM indüklenme mekanizmasının, STZ nedeniyle pankreasın Langerhans adacıklarının bozulması ve  $\beta$  hücrelerinin kaybı olduğu bildirilmiştir (16). DRP'yi indüklemek için en sık kullanılan modeller fareler ve ratlardır; ancak köpekler, kediler, domuzlar, tavşanlar, maymunlar ve zebra balığı da kullanılır. Uyarılmış DRP patolojisinin sunumu genellikle daha büyük hayvanlarda daha yavaştır, bu da kemirgenleri ve son zamanlarda zebra balığını daha çok tercih edilen modeller haline getirir. Fareler, ratlar, kediler, köpekler, domuzlar ve insan olmayan primatlar dahil olmak üzere DRP modellerini oluşturmak için çok çeşitli türler kullanılmış olsa da; küçük boyutları, kısa ömürleri ve hızlı üremeleri nedeniyle fare ve rat modelleri çoğunlukla tercih edilir. Kemirgenler ayrıca çoğu genetik çalışmanın odak noktası olmuştur (17-21).

Ramucirumab (Cyramza®), ABD'de ilerlemiş veya rezeke edilemeyen hepatosellüler karsinomun (HCC) ikinci basamak tedavisi için onaylanmış bir VEGFR-2 antagonistidir ABD'de, ramucirumab yalnızca daha önce sorafenib ile tedavi edilenler için endikedir. Japonya'da serum  $\alpha$ -fetoprotein düzeyi  $\geq 400$  ng/mL olan rezeke edilemeyen HCC'li hastalarda endikedir (22). Tamamen insan IgG1 monoklonal antikoru olan ramucirumab, insan VEGFR-2'ye yüksek afinite ile bağlanır ve VEGFR-2'nin ligandları olan VEGF-A, -C ve -D'ye bağlanmasını güçlü bir şekilde inhibe eder; bu eylem, ligand kaynaklı VEGFR-2 aktivasyonunu ve anjiyogenez için kritik olan sinyal mekanizmasını inhibe eder (22-25). Ramucirumab, VEGFR-2'ye oldukça özgüdür ve insan VEGFR-1 veya -3 ile çapraz reaksiyona girmez (22).

Çalışmamızda ratlarda STZ ile deneysel diyabetik retinopati modeli oluşturmak ve mevcut literatürü taradığımızda daha önce oftalmolojik olarak çalışılmadığını bildiğimiz, anti-VEGF olarak reseptör düzeyinde etki eden ve yeni bir tedavi ajanı olan ramucirumabın bevacizumab ile karşılaştırılmasını yapmayı amaçladık.

## 1.1. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) dünya genelindeki ve ülkemizdeki prevalansının hızlı artması nedeniyle, tanı ve tedavi süreçlerinin detaylı değerlendirilmesi gereken en önemli metabolik hastalıklardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. 20 ile 79 yaşları arasındaki yetişkinlerde 2021 yılında yapılan taramalarda, dünya genelindeki DM prevalansının yaklaşık 537 milyon olduğu biliniyor ve bu sayının 2030 yılında 643 milyon düzeylerine, 2045 yılında ise 783 milyon düzeylerine ulaşacağı tahmin ediliyor (2). DM, pankreasın beta hücrelerinden salgılanan insülin hormonunun eksikliği ya da insülinin periferik reseptörlerdeki duyarsızlığı nedeniyle ortaya çıkan, kan glukoz seviyelerinde yüksekliğe, karbonhidrat-protein ve yağ metabolizmasında bozukluğa, kapiller membran değişikliklerine neden olan, makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonların gelişebildiği kronik seyirli metabolik ve sistemik bir hastalıktır. DM'nin akut komplikasyonlarının gelişmesini önlemek amacıyla yapılan çalışmalar ve kronik komplikasyonlarının neden olduğu sürekli destek tedavileri, sağlık bakım harcamalarında önemli yer alır (26).

Amerikan Diyabet Cemiyeti 2020 yılında DM'i aşağıdaki gibi sınıflandırmıştır (27);

1. Tip 1 DM
  2. Tip 2 DM
  3. Gestasyonel Diabetes Mellitus
  4. Diğer Nedenlere Bağlı Diyabet Türleri
    - a) Monogenik Diyabet Sendromları (Neonatal Diyabet ve Maturity Onset Diabetes of the Young gibi)
    - b) Ekzokrin Pankreas Hastalıkları (Kistik Fibrozis ve Kronik Pankreatit)
    - c) İlaç Kaynaklı Diyabet (glukokortikoid kullanımı, HIV/ AIDS tedavisinde kullanılan ilaçlar veya organ transplantasyonundan sonra kullanılan ilaçlar gibi)
- Tip 1 diyabet: Pankreas  $\beta$  hücrelerinin yıkımına bağlı insülin eksikliği nedeni ile akut olarak karşımıza çıkar. Tüm diyabetli hastaların yaklaşık %10'luk kısmını oluşturur.

- Tip 2 diyabet: Temel patolojisi insülin direnci ve insülin sekresyon bozukluğudur. Tüm diyabetli hastaların yaklaşık %85-90'ını oluşturur.

Diyabetin komplikasyonları önemli bir mortalite ve morbidite nedeni olabilir (2).

Akut komplikasyonları;

Diyabetik ketoasidoz

Laktik asidoz

Hiperosmolar hiperglisemik durum

Hipoglisemi

Kronik komplikasyonlar ise makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olmak üzere ikiye ayrılır.

Makrovasküler komplikasyonlar (kardiyovasküler hastalıklar):

- Koroner arter hastalığı
- Periferik arter hastalığı
- Serebrovasküler hastalık

Mikrovasküler komplikasyonlar:

- Diyabetik retinopati
- Diyabetik nefropati
- Diyabetik nöropati
- Diyabetik kardiyomiopati

## **1.2. Retina**

Retina, ışık enerjisini fotonlardan üç boyutlu görüntülere dönüştüren görsel işlemde sorumlu olan gözün en içteki katmanıdır. Göz küresinin arka kısmında yer alan retina, beynin dış dünyadan görülebilen tek uzantısıdır (28).

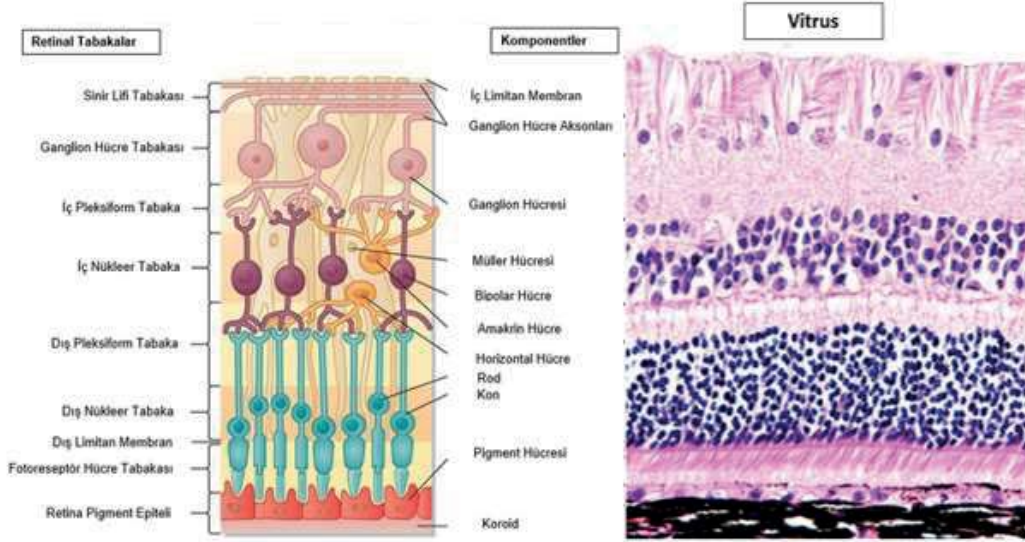
### **1.2.1. Retina Embriyolojisi**

Retina, embriyolojik olarak optik vezikülün distal bölümündeki nöral ektodermin invajinasyonu sonucu gelişir. Nöral ektoderm bir boşluk ile birbirinden ayrılır. Retina pigment epiteli dış hücre katından, nörosensoryel retina ise iç hücre katından meydana gelir. Gestasyonun üçüncü ayında nöroektodermin iç hücre katı iki nöroblastik kata ayrılır.

İç nöroblastik kattan gangliyon hücre tabakası, iç pleksiform tabaka, iç nükleer tabaka, müller hücreleri ve amakrin hücreleri meydana gelir. Dış nöroblastik kattan ise horizontal ve bipolar hücreler oluşur. Fotreseptör tabakanın da dış nöroblastik kattan köken aldığı düşünülmektedir. Altıncı gestasyonel ay civarlarında retinanın katlarının son halini alması tamamlanır. Ancak makula bölgesi doğumda henüz gelişimini tamamlayamamış olarak kalır. Makula doğumdan sonraki 3.- 4. aya kadar gelişimini sürdürebilir (29, 30).

### 1.2.2. Retinanın Anatomisi ve Histolojisi

Retina ince ve saydam bir sinir tabakasıdır. Kalınlığı periferde doğru azalır. Optik disk yakınlarında yaklaşık 0,56 mm, ekvatorunda yaklaşık 0,2 mm iken ora serratada yaklaşık 0,11 mm kalınlığa sahiptir. Fovea 0,1 mm kalınlıktadır ve retinanın en ince kısmını oluşturur (31). Retina histolojik olarak dıştan içe doğru 10 tabakadan meydana gelir (Şekil 1).



Şekil 1. Retinanın histolojik görünümü (32)

- 1 Retina pigment epiteli (RPE): Retinanın nöral tabakası ile koroid arasında yer alır.
- 2 Fotreseptör tabaka: Koni ve basiller yer alır.
- 3 Dış limitan membran: Müller hücrelerinin sitoplazmik uzantıları ve fotoreseptörlerden oluşur.
- 4 Dış nükleer tabaka: Koni ve basil çekirdekleri yer alır.

- 5 Dış pleksiform tabaka: Retinada ilk sinapsın gerçekleştiği tabakadır. Fotoreseptörler ile horizontal ve bipolar hücreler arası sinapslardan oluşur.
- 6 İç nükleer tabaka: Bipolar hücrelerin, horizontal hücrelerin, Müller hücrelerinin ve amakrin hücrelerinin nükleuslarını içerir.
- 7 İç pleksiform tabaka: Bipolar ve amakrin hücre aksonları ile gangliyon hücrelerinin dendritlerinin sinaps yaptığı tabakadır.
- 8 Gangliyon hücre tabakası: Gangliyon hücrelerinin nükleuslarından meydana gelir.
- 9 Sinir lifi tabakası: Gangliyon hücrelerinin aksonlarından meydana gelir.
- 10 İç limitan membran: Gerçek bir membran değildir. Müller hücrelerinin uzantılarından meydana gelir.

Duyusal Retina: Duyusal retinanın en dışında fotoreseptör tabakası yer alırken, ortada horizontal ve bipolar, interpleksiformda müller ve amakrin hücre gövdeleri, en içte ise gangliyon hücre tabakası bulunur. Pleksiform tabaka, bu hücreler arasındaki sinaptik bağlantıların oluşturduğu tabakadır (Şekil 2).

Fotoreseptörler: RPE ile dış limitan membran arasında bulunan iki tip fotoreseptör hücre vardır, basil ve koni olarak adlandırılır. Her bir fotoreseptörün iç ve dış segmenti vardır. Dış segment fotosensitiviteden sorumlu iken, iç segmentte metabolik faaliyetler yürütülür (31).

Basiller: Sayıları en fazla olan fotoreseptörlerdir. En sık olarak retina orta periferinde bulunurlar. Karanlıkta en yüksek duyarlılığa sahip olurlar, gece hareket halindeki cisimlerin algılanmasından ve periferik görmeden sorumludurlar (33).

Koniler: Sayıca daha azdır. En yoğun olarak foveada bulunurlar. En yüksek duyarlılığa aydınlıkta sahip oldukları için gündüz görmeden, renkli görmeden, santral görmeden ve keskin görmeden sorumludurlar (33).

Bipolar Hücreler: Fotoreseptör hücrelerinden gelen uyarıları diğer hücelere iletirler ve sinyal aktarımında görev alırlar (31). Bipolar hücrelerin dendritleri koni ve basil hücreleri ile aksonları ise gangliyon ve amakrin hücreleri ile sinaps yapar (34).

Gangliyon Hücreleri: Retinanın iç kısmında bulunan, görme yolunun ikinci nöronlarını oluşturan multipolar hücrelerdir. Dendritleri bipolar hücreler ve amakrin hücreler ile sinaps yaparlar. 3 çeşit gangliyon hücresi vardır: X, Y ve W hücreleri (31).

Horizontal Hücreler: Basıl ve koni hücrelerinin terminal genişlemelerinin yakınlarında yer alan multipolar hücrelerdir. Koni ve basillerden gelen uyarıları inhibe eden antagonistik internöronlardır(33).

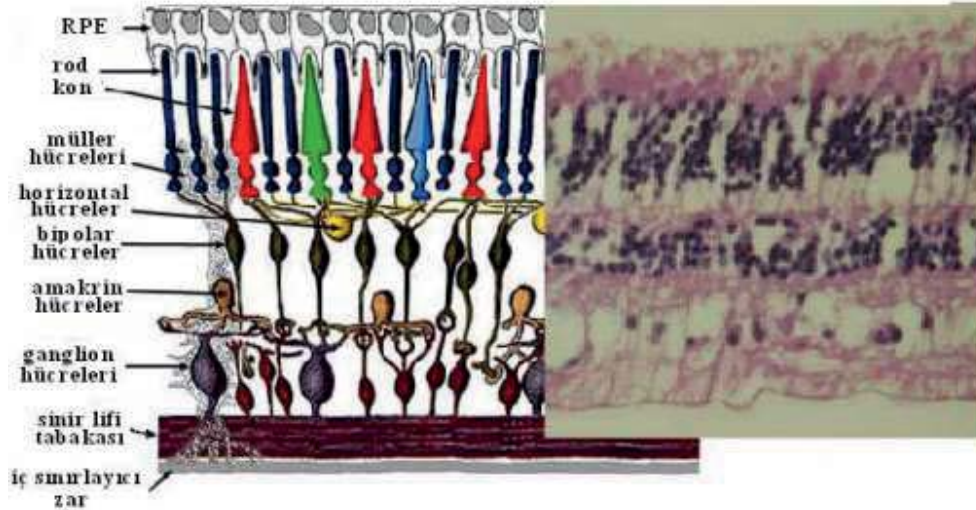
Amakrin Hücreler: Bol sitoplazmalı ve çok sayıda dendritlere sahip olan aksonsuz hücrelerdir. İç pleksiform tabakada lateral inhibisyonundan sorumludurlar (31).

Müller Hücreleri: Retinanın radyal glial hücreleridir. Müller hücreleri, mikroglial hücrelerin, makroglial hücrelerin ve retinal nöronların fonksiyonlarını düzenleyen hücrelerdir (34).

Retina Pigment Epiteli (RPE): Dışta nükleus içeren pigmente olmayan bazal tabaka ve içte bol melanozom içeren apikal kısımdan oluşur.

RPE'nin başlıca görevleri:

- Kan-retina bariyerini oluşturmak ve devamlılığını sağlamak
- Bruch membranının bütünlüğünü sağlamak
- A vitamini metabolizmasını, depolanmasını ve rodopsin sentezini düzenlemek
- Fotoreseptör hücre döngüsünü sağlamak
- Işık absorpsiyonunu sağlamak
- Subretinal alandaki sıvı ve besin kontrolünü sağlamak(33).



Şekil 2. Duyusal retinanın hücreleri (35)

### **1.2.3. Retina Kan Dolaşımı**

Gözün arteriyel beslenmesi arteria karotis internanın birinci dalı olan oftalmik arterin perfüzyonu ile sağlanır. Santral retinal arter (SRA) oftalmik arterin ilk dalıdır ve retinanın iç 2/3'ündeki tabakaları besler. Retinanın dış 1/3'ü ise (RPE, fotoreseptörler) koroidden difüzyonla beslenir. Oftalmik arterin SRA'dan sonraki dalları olan kısa ve uzun arka siliyer arterler optic disk (OD) çevresinden göz küresine girerler. Arka koriokapillaris kısa arka siliyer arterlerden, ön koriokapillaris ise uzun arka siliyer arterlerden ve ön siliyer arterlerden beslenir. Retinanın kirli kanı, santral retinal venle (SRV) alınır. OD'den çıkan SRV kavernoöz sinüse ulaşır. Koroidin venleri ise vorteks venleri ile üst ve alt oftalmik venler aracılığıyla kavernoöz sinüse boşalır (36).

#### **1.2.3.1. Arterler**

Retinanın nöroserebral kısmı santral retinal arterden ve siliyoretinal arterden beslenir.

##### **1.2.3.1.1. Santral Retinal Arter (SRA)**

Oftalmik arterin birinci dalı olan SRA, papilladan 1 cm uzaklıkta OD içine girer. Papilla merkezinde ilk önce alt ve üst, sonra da temporal ve nazal dallara ayrılarak retinaya yayılır. Retina yüzeyinde sinir lifleri ve ILM katında seyreder. SRA dallanmaları ikiye ayrılma şeklinde olur. Perifere doğru arterler, arteriyol ve kapillerlere dönüşürler.

##### **1.2.3.1.2. Siliyoretinal Arter**

Koroidden gelen, papilla çevresindeki Zinn arter çemberinden meydana gelir. Papilla temporal kenarından çıkarak maküla bölgesini sular. FFA'da, retina arterlerinden önce, koroid ile beraber boyanır. Siliyoretinal arter, insanların %6- 20'sinde bulunur (37).

#### **1.2.3.2. Venler**

Ora serratada venler, arterlere göre daha periferik bölgelere ulaşırlar. Ekvatordan itibaren arterlerle birlikte seyrederler ve papillada toplanarak SRV oluştururlar. Arter ve venler sık sık çaprazlaşırlar. Çaprazlaşma bölgelerinde aynı kılıf içinde olduklarından

arteriosklerozda arter veni ezer (Gunn belirtisi). SRV, oftalmik vene sonra da kavernöz sinüse boşalır. Venler arterlere göre daha geniştirler. Normalde arter çapının ven çapına oranı 2/3'tür (38).

### 1.2.3.3. Kapillerler

Kapillerler, arteriyoller ile venüller arasındaki bağlantıyı sağlayan mikrovasküler yapılardır. Koriyokapillerlerin duvarlarında geniş deliklerin bulunması ve geçirgen olmalarına karşılık, retina kapillerlerinin duvarları sızdırmazlar. RPE ve dış retina kapillerleri iç kan-retina bariyerini oluşturur. Kapillerlerin bazal membranlarında zonula occludens ile sıkıca yapışık endotel hücreleri, duvarlarında kasılmalarını sağlayan çizgisiz kas lifleri ve perisit hücreleri vardır. Sağlıklı damarda perisit/endotel hücresi oranı eşittir. Retina kapillerleri yüzeysel ve derin olmak üzere iki ağ şeklinedirler (31).

Retinada kapillerlerin olmadığı üç bölge mevcuttur:

- Ora serratanın 1,5 mm gerisine kadar olan periferik retina alanı
- Büyük arterlere veya venlere komşu retina alanları
- Foveal avasküler zon (39, 40).

Yüzeysel kapillerler: Retinanın sinir lifi ve gangliyon hücre tabasındadır.

Derin kapillerler: İç nükleer ve dış pleksiform katların birleşme yerindedirler.

Derin kapillerler, yüzeysel kapillerlerden meydana gelir ve onlara dikine gelen kapillerlerle bağlıdır.

Lenfatik Damarlar: Retinada lenfatik damar yoktur (41).

### 1.3. Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopati (DRP), diyabetin uzun süreli etkileri nedeniyle ortaya çıkan mikrovasküler bir hastalıktır. DRP, retinada görmeyi tehdit eden hasara yol açarak sonunda körlüğe yol açabilir. Batı dünyasında çalışma çağındaki erişkinlerde ciddi görme kaybının en yaygın nedenidir (42). Erken teşhis ve zamanında müdahale, diyabetik retinopatiye bağlı körlüğü önlemenin anahtarıdır. Amerika'da diyabetik retinopati hasta sayısının 2050 yılına kadar 16.0 milyona ulaşacağı ve bunların yaklaşık 3.4 milyonunda görmeyi tehdit eden komplikasyonlar olacağı tahmin ediliyor (7). Sıkı glisemik kontrolün

faydası, UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) ve Diabetes Control and Complication Trial (DCCT) gibi klinik çalışmalarda açıkça görülmüştür (43, 44). Kontrolsüz diyabet; katarakt, glokom, oküler yüzey bozuklukları, tekrarlayan arpacık, non-arteritik ön iskemik optik nöropati, diyabetik papillopati ve diyabetik retinopati gibi birçok oküler hastalığa yol açabilir. DRP, retinada görmeyi tehdit eden hasara yol açarak sonunda körlüğe yol açabilir; en sık görülen ve en ciddi oküler komplikasyondur (45). Kötü glisemik kontrol, kontrol edilemeyen hipertansiyon, dislipidemi, nefropati, erkek cinsiyet ve obezite kötüleşen diyabetik retinopati ile ilişkilidir (46). Diyabetik retinopatinin tipik fundus özellikleri arasında mikroanevrizmalar, sert eksüdalar, maküler ödem (diyabetik maküler ödem veya DMÖ) ve yeni damarlar (proliferatif DRP veya PDR'de) yer alır. Yönetim seçenekleri arasında sistemik koşulların sıkı kontrolü, intravitreal farmakoterapi, lazer fotokoagülasyon ve vitrektomi yer alır. Erken tanı ve hızlı yönetim ile, DRP'li hastaların çoğunda iyi nihai görme keskinliği elde edilebilir.

### **1.3.1. Etiyoloji**

Diyabetik retinopati, teşhis edilmiş veya teşhis edilmemiş diabetes mellituslu kişileri etkiler. Diyabetik retinopati geliştirme eğilimi, hastanın yaşı ve diyabet süresinin yanı sıra zayıf glisemik kontrol ve dalgalanan kan basıncı seviyeleri ile doğru orantılıdır (47).

Diyabetik retinopati için risk faktörleri şu şekilde sınıflandırılabilir (48):

- Değiştirilemez faktörler
  - Ergenlik
  - Gebelik
- Değiştirilebilir faktörler
  - Hipertansiyon
  - Obezite
  - Dislipidemi
  - Kötü glisemik kontrol
  - Nefropati
- Yeni risk faktörleri

- İnflamasyon
- Apolipoprotein
- Hormonal etki - leptin ve adiponektin
- D vitamini
- Oksidatif stres
- Genetik faktörler

### **1.3.2. Epidemiyoloji**

Diyabetik retinopati, diyabetin başlıca nörovasküler komplikasyonlarından biridir ve çalışma çağındaki yetişkinlerde önde gelen körlük nedenidir. Amerikan Oftalmoloji Akademisi tarafından paylaşılan son epidemiyolojik verilere göre, diyabetin küresel yükü 387 milyon olup, bunun 2035 yılına kadar 592 milyona çıkacağı tahmin edilmektedir. Dünya çapında 93 milyon insan diyabetik retinopatiden etkilenmektedir. Tip 1 diyabet hastalarında diyabetik retinopati prevalansı %77,3 ve tip 2 diyabet hastalarında %25,1 olup, bunların yaklaşık %25 ila %30'unda görmeyi tehdit eden diyabetik makula ödemi gelişmesi beklenmektedir (49). Diyabetik retinopati hastalarının %5 ila %8'i lazer tedavisine ihtiyaç duyar (50). Hastaların %5 kadarı vitrektomi ameliyatı gerektirecektir (51).

### **1.3.3. Patofizyoloji**

#### **1.3.3.1. Kronik hiperglisemi**

DRP'de birincil patojenik ajan olarak kabul edilir (UKPDS ve DCCT tarafından tanımlandığı gibi) (43, 44). Hiperglisemi, poliol yolu da dahil olmak üzere alternatif glikoz metabolizması yollarının aktivasyonuna yol açar. Oksidatif stres, protein kinaz C aktivasyonu ve enzimatik olmayan protein glikasyonu, gelişmiş glikasyon son ürünlerine yol açar. Bu alternatif yolların sonucu, büyüme faktörleri ve vasküler endotel disfonksiyonu ile birlikte sitokinlerin aktivasyonudur. Bu da sonunda vasküler geçirgenliğin artmasına ve mikrovasküler oklüzyona yol açar. Mikrovasküler oklüzyonun bir sonucu olarak ortaya çıkan retinal iskemi, IRMA (intraretinal mikrovasküler anormallikler) oluşumuna ve neovaskülarizasyona yol açar (9, 10). Poliol yolunda, glikoz

aldoz redüktaz enzimi tarafından sorbitole indirgenir. Sorbitolün geçirimsizliği, tüm retina hücrelerinde birikmesine ve hücrelerde ozmotik hasara yol açar. Ayrıca, indirgeme işlemi sırasında NADPH (indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotit fosfat) kullanımı daha fazla oksidatif hasara yol açar.

### **1.3.3.2. Oksidatif stress**

Hücre ve doku hasarına yol açan reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerinden kaynaklanır. Protein kinaz C, sinyal iletiminde yer alır. Aktivasyonu, bazal membran değişikliklerine ve artmış vasküler geçirgenlik, anjiyojenik büyüme faktörlerinin salınması, vasküler staz ve kapiller oklüzyon gibi vasküler değişikliklere yol açar. Enzimatik olmayan protein glikasyonunda, indirgeyici şekerler, hücre dışı matris proteinlerindeki değişikliklerden sorumlu gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumuna yol açan nükleik asitlerin, proteinlerin ve lipidlerin serbest amino asitleri ile reaksiyona girer.

DRP'de küçük retina damarlarında görülen morfolojik değişiklikler arasında erken perisit kaybı, bazal membran kalınlaşması, endotel hücrelerinin kaybı, artmış vasküler geçirgenlik, trombosit agregasyonu, lökostaz ve kapiller düşüş yer alır (52, 53). Diyabetik retinopati sadece retinanın mikrodamarlarını değil, aynı zamanda retinanın birincil glial hücreleri olan Müller hücrelerini de etkiler. Müller hücrelerinin işlevleri, retinanın yapısal bütünlüğünü korumak, kan-retina bariyerini ve retinal kan akışını düzenlemek, çeşitli nörotransmitterlerin, retinoik asit bileşiklerinin ve iyonların (potasyum gibi) alımını ve geri dönüşümünü, metabolizmanın ve arzın düzenlenmesidir (54). Diyabette, Kir 4.1 kanalında bir downregülasyon vardır, bu nedenle potasyum alımının devam etmesi Müller hücrelerinin şişmesine yol açar ve bu da Müller hücre işlev bozukluğuna yol açar (55). Müller hücrelerinin içindeki sıvı birikimi DMÖ'den sorumludur (55, 56). Preklinik ve erken klinik DRP'de iç retina nöronal ve Müller hücre tutulumu görülebilir (57). DRP'de Müller hücrelerinin aktivasyonu ve glial fibriler asidik proteinin (GFAP) aşırı ekspresyonu not edilir (54).

Hiperglisemi, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin/kemokinlerin salınmasına yol açar.

- Büyüme faktörleri (58):
  - Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)
  - Pigment epitelinden türetilmiş faktör (PEDF)
  - Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)
  - Temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF veya FGF2)
  - Transforme edici büyüme faktör-beta (TGF- $\beta$ )
  - İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF)
  - Hepatosit büyüme faktörü/dağılım faktörü (HGF/SF)
  - Plasental büyüme faktörü (PIGF)
  - eritropoietin
  - Anjiyopoietin-2
- Sitokinler ve kemokinler (59):
  - İnterlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ )
  - İnterlökin-6 (IL-6)
  - Tümör nekroz faktörü- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )
  - Kemokin ligand-2 (CCL2)

#### **1.3.4. Histoloji ve Fizyoloji**

Histolojik olarak diyabetik retinopati; fokal kapiller kapanma, venüllerin dilatasyonu, arteriollerin hyalinizasyonu gibi vasküler değişiklikler ve bazal membran kalınlaşması, perisit dejenerasyonu ve fokal çıkıntılar (mikroanevrizmalar) gibi kapiller değişikliklerle ilişkili mikroanjyopati ile kendini gösterir. Kılcal damar kapanması pamuk lekelerine ve iskemik bölgelere yol açarak IRMA (intraretinal mikrovasküler anormallikler) ve neovaskülarizasyon gelişimine yol açar, ardından retinada fibrozis oluşur (60, 61). Diyabetik retinopatide Müller hücreleri tarafından glutamat alımı azalır ve bu da glutamat toksisitesine yol açar (62). Ayrıca proliferatif diyabetik retinopatide potasyum iletimi azalır (63).

### 1.3.5. Öykü ve Fizik muayene

Uygun öykü alma işlemi yapılmalıdır. Buna diyabetin süresi, diabetes mellitus tipi, geçmiş glisemik kontrol (HbA1C), ilaçlar ve obezite, böbrek hastalığı, hipertansiyon, gebelik, dislipidemi ve nefropati gibi ilişkili sistemik bozukluklar dahildir.

Hastalar erken evrelerde asemptomatik olabilir ve tesadüfen göz dibi muayenesinde saptanabilir. Hastalık ilerledikçe, semptomlar arasında bulanık görme, bozuk görme, havada uçuşmalar ve kısmi veya tam görme kaybı yer alır.

Fundus muayenesinde diyabetik retinopatide görülen belirtiler şunlardır:

#### 1.3.5.1. Mikroanevrizmalar

Mikroanevrizmalar klinik olarak tespit edilebilen en erken lezyonlardır (64). Mikroanevrizmalar başlangıçta foveanın temporalinde görünür ve zamanla kaybolabilir. Bir mikroanevrizmanın çapı 15-60  $\mu\text{m}$ 'dir (125  $\mu\text{m}$ 'den küçük). Çapı 30  $\mu\text{m}$ 'den küçük olan mikroanevrizmalar klinik olarak tespit edilemeyebilir (65). Mikroanevrizmaların özellikleri şunları içerir:

- Kılcal damar duvarında fokal sakküler dilatasyon
- İç nükleer katmanda bulunur
- Oftalmoskopik olarak keskin bir düzenli marjı olan, küçük, yuvarlak, kırmızı noktalar olarak tanımlanır

Mikroanevrizmalar nokta kanamalardan FFA (fundus floresan anjiyogram) ile ayırt edilir; burada mikroanevrizmalar küçük hiperfloresan noktalar gösterirken nokta kanamalar bloke floresans gösterir. Nokta kanamaları klinik olarak daha büyüktür ve düzensiz bir sınıra sahip olabilir (66).

#### 1.3.5.2. Kanamalar

Zayıflamış kılcal duvar yırtıkları intraretinal nokta kanamalarına yol açar. Retinal sinir lifi tabakasında yer alan prekapiller arteriyollerden yüzeysel veya alev şeklinde kanamalar ortaya çıkar. Derin kanamalar veya nokta ve leke kanamaları, retinanın iç nükleer ve dış pleksiform katmanlarında bulunur.

### **1.3.5.3. Sert Eksudalar**

Dış pleksiform tabakada yer alan lipoprotein ve lipid dolu makrofajlardan oluşurlar. Ödemli ve ödemsiz retinanın birleştiği yerde gelişirler. Sert eksudalar tipik olarak sızan bir mikroanevrizmanın etrafında bir sirkülasyon halkası oluşturur.

### **1.3.5.4. Pamuk Yün Noktaları/Yumuşak Eksüdalar**

Retinal sinir lifi tabakasında bulunurlar ve prekapiller arteriyollerin fokal infarktlarını (aksoplazmik debris) temsil ederler.

### **1.3.5.5. IRMA (intraretinal mikrovasküler anormallikler)**

IRMA'lar, kılcak damarları atlayan ve kılcak damarların kapanma alanlarının yakınında görülen, retinal arteriyol ve venüller arasındaki iletişimidir. IRMA'lar lokalizasyon olarak intraretinaldir, ana damarları geçmezler ve floresan anjiyografide sızıntı yapmazlar.

### **1.3.5.6. Neovaskülarizasyon**

Diskte neovaskülarizasyon (yeni damarlar) (NVD), optik diskin bir disk çapında veya içinde neovaskülarizasyon olarak tanımlanır. Başka yerde neovaskülarizasyon (NVE), optik diskin bir disk çapından uzakta yeni bir damar olarak tanımlanır. İrisin neovaskülarizasyonu (NVI), kötü prognozun bir göstergesidir ve neovasküler glokom geliştirme eğilimi ile ilişkilidir.

### **1.3.5.7. Venöz Değişiklikler**

- Dilatasyon
- Döngü oluşturma
- Boncuklanma
- Sosis benzeri segmentasyon

### 1.3.5.8. Arteryal Değişiklikler

- Periferik daralma
- Gümüş kablo görünümü
- Obliterasyon

### 1.3.6. Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışması (ETDRS)

#### Sınıflandırması

#### 1.3.6.1. Proliferatif Olmayan Diyabetik Retinopati (NPDR)

- **Retinopati yok:** Retina lezyonu yok
- **Çok hafif NPDR:** Yalnızca mikroanevrizmalar
- **Hafif NPDR:** Birkaç mikroanevrizma, retinal kanamalar ve sert eksüdalar
- **Orta NPDR:** 1-3 kadranda retinal kanamalar (orta-büyükte her kadranda yaklaşık 20) ve pamuklu benekler (hafif ve şiddetli NPDR dereceleri arasında)
- **Şiddetli NPDR:** 4-2-1 kuralının bir kuralını yerine getirmek.
  - **4-2-1 kuralı**
    - Dört kadranda da şiddetli kanamalar
    - 2 veya daha fazla kadranda venöz boncuklanma
    - 1 veya daha fazla kadranda orta IRMA
- **Çok Şiddetli NPDR:** 4-2-1 kuralının iki veya daha fazla kuralını yerine getirmek(67, 68).

#### 1.3.6.2. Proliferatif Diyabetik Retinopati (PDR)

- **Hafif ila orta şiddette PDR:** NVD veya NVE, yüksek risk özelliklerini karşılamada yetersiz
- **Yüksek riskli PDR**
  - NVD, ETDRS standart fotoğraf 10A'dan daha büyük (yaklaşık 1/3 disk alanı).
  - Vitreus kanaması olan herhangi bir NVD.
  - Vitreus kanamalı 1/2 disk alanından daha büyük NVE.

### 1.3.6.3. İleri Diyabetik Göz Hastalığı

Tedavisi yetersiz veya başarısız olan hastalarda diyabetik retinopatinin görmeyi tehdit eden son dönem komplikasyonudur. Preretinal veya intraretinal kanama, traksiyonel retina dekolmanı veya rubeosis iridis olarak ortaya çıkabilir.

### 1.3.6.4. Diyabetik Maküler Ödem (DMÖ)

aşağıdaki gruplara ayrılabilir:

- Fokal eksüdatif ve yaygın makülopati
- İskemik ve iskemik olmayan makülopati
- Traksiyonel ve traksiyonel olmayan makülopati
- Maküler ödemi içeren merkez ve maküler ödemi içermeyen merkez

#### 1.3.6.4.1. ETDRS Klinik Olarak Önemli Maküla Ödeminin (CSME) Tanımı

- Fovea merkezinin 500 µm içinde retina ödemi
- Bitişik retinal kalınlaşma ile ilişkiliyse (500 µm sınırının dışında olabilir) fovea merkezinin 500 µm içindeki sert eksüdatlar
- Bir disk alanı (1500 µm) veya daha büyük, herhangi bir kısmı fovea merkezinin bir disk çapı içinde olan retina ödemi (69, 70).

### 1.3.6.5. OCT (optik koherens tomografi) Diyabetik Makula Ödemi Sınıflandırması

- Retina tabakalarının süngerimsi kalınlaşması
- Büyük kistoid boşluklar
- Retinanın seröz dekolmanı
- Foveanın traksiyonel ayrılması veya vitreomaküler traksiyon
- Gergin arka hyaloid membran.

### 1.3.7. Uluslararası Klinik Diyabetik Retinopati Hastalığı Şiddet Ölçeği

- *Belirgin retinopati yok* – Anormallik yok
- *Hafif NPDR* - Yalnızca mikroanevrizmalar

- **Orta NPDR** -Mikroanevrizmalardan daha fazlası ve ciddi hastalıktan daha az
- **Şiddetli NPDR** - PDR belirtisi yok ve aşağıdakilerden herhangi biri:
  - Dört kadranın her birinde 20 intraretinal kanama
  - $\geq 2$  kadranda venöz boncuklanma
  - $\geq 1$  kadranda belirgin IRMA
- **PDR** - Aşağıdakilerden biri veya birkaçı:
  - neovaskülarizasyon
  - Vitreus veya retina öncesi kanama (71)

Diyabetik makula ödemi ile ilgili olarak, DMÖ şunlar olabilir:

- **DMÖ görünüşte yok:** Görünür retinal kalınlaşma ve arka kutupta sert eksüdalar yok.
- **Görünüşe göre DMÖ mevcut:** Arka kutupta belirgin retinal kalınlaşma ve sert eksüdalar var. Ayrıca fovea merkezinden kalınlaşma ve sert eksüdaların uzaklığına göre hafif, orta ve şiddetli olarak sınıflandırılabilir.
  - **Hafif DMÖ:** Retina kalınlaşması veya sert eksüdalar foveanın merkezinden uzakta yer alır.
  - **Orta DMÖ:** Retina kalınlaşması veya sert eksüdalar makulanın merkezine yaklaşıyor ancak merkezi içermiyor
  - **Şiddetli DMÖ:** Sert eksüda ve kalınlaşma, fovea merkezini içerir.

### 1.3.8.DRP de muayene ve tanı araçları

#### 1.3.8.1. Labaratuvar Muayenesi

Aşağıdakiler, diyabetik retinopati için taranan ve tüm hastalar için çok önemli olan diyabetik belirteçlerdir:

- **Açlık Kan Şekeri** - Açlık kan şekeri seviyesinin 110 mg/dl'nin altında olması normaldir. 110 ila 125 mg/dl'lik açlık kan şekeri prediyabetir. En az iki numunede görülen 126 mg/dl'nin üzerindeki açlık kan şekeri diyabeti belirtir(72).
- **HbA1C (glikosile edilmiş hemoglobin)** - HbA1c'nin normal aralığı %4 ila %5.6 arasındadır. HbA1c düzeyi %7'nin altında tutulmalıdır.

Diyabet vücudun neredeyse tüm ana organlarını etkiler. Bu nedenle, diyabetik komplikasyonları dışlamak için kapsamlı bir sistemik muayene yapılmalıdır. Özellikle böbrek fonksiyon testi, kalp fonksiyon testi, karaciğer fonksiyon testi, tiroid belirteçleri, tansiyon ve nörolojik muayene yapılmalıdır. Bunun için meslekler arası işbirliği gereklidir.

### **1.3.8.2. Oküler Muayene**

Hasta aşağıdakiler için kapsamlı bir şekilde test edilmelidir:

- Görme keskinliği,
- GİB (göz içi basıncı) ölçümü,
- Gonyoskopi (iris/açıkların neovaskülarizasyonu için),
- Yarıık lamba muayenesi (diabetes mellitusun diğer oküler belirtilerini ekarte etmek için)
- Yarıık lambada +78 veya +90 D mercek ve indirekt oftalmoskopi +20 veya +28 D mercek dilate fundus muayenesi yapılmalı ve diyabetik retinopatinin derecelendirilmesi yapılmalıdır

Diyabetik retinopatinin değerlendirilmesi için ek arka segment araştırmaları şunları içerir:

#### **1.3.8.2.1. Fundus Görüntülemesi**

Aşağıda sıralanan durumlarda renkli göz dibi fotoğrafları çekilir(73).

- Dokümantasyon ve kayıt amaçları
- Danışmanlık ile hasta eğitimi

#### **1.3.8.2.2. Fundus Floresan Anjiyografi (FFA)**

FFA aşağıdaki durumlarda yapılmalıdır (66).

- İskemik makülopati tanısı için
- Kılcal daralma alanlarını bulmak için
- IRMA'yı neovaskülarizasyondan ayırt etmek için
- Disk kollaterallerini disk neovaskülarizasyonundan ayırt etmek için

- Klinik muayenede tespit edilemeyen gizli yeni damarları ortaya çıkarmak
- Açıklanamayan görme kaybının nedenini öğrenmek için
- Psödotakik kistoid makula ödemi ile diyabetik maküler ödemi ayırt etmek için

#### **1.3.8.2.3. Geniş Açı Fundus Görüntüleme (UWFI) ve Geniş Açı Fundus Fluorescein Anjiyogram (UWFA)**

UWFI ve UWFA, arka segmentteki değişiklikleri tek bir karede belgeliyor. Piyasada bulunan UWFI (en az 100 derecelik görüş alanı) Optos/California, Mirante, Clarus, Retcam ve Spectralis'i içerir. Taramalı lazer oftalmoskop ve elipsoid ayna kullanan UWFI, küçük gözbebeklerindeki ve puslu ortamlardaki görüntüleri yakalar (74, 75). Proliferatif diyabetik retinopati veya diyabetik makula ödeminde periferik retina kapiller perfüzyon dışı alanlar daha iyi tanımlanabilir ve 'hedefli retinal fotokoagülasyon' için planlanabilir (76-78). Periferik vasküler değişiklikler DRP'de daha önce düşünülenlerden daha yaygın olabilir.

#### **1.3.8.2.4. Optik Koherens Tomografi (OCT)**

Makulanın OCT'si yardımcı olur

- Retina kalınlaşmasını değerlendirmek için
- Tedavi başlangıcından sonra ödemin değerlendirilmesi ve izlenmesi için, özellikle bir sonraki intravitreal enjeksiyon seansının planlanması için
- Ameliyat gerektirebilecek vitreomaküler traksiyon (VMT) ve epiretinal membranı (ERM) teşhis etmek için (pars plan vitrektomi)

#### **1.3.8.2.5. Ultrasonografi (B-Mod)**

Puslu ortamlarda değerlendirmek için çok kullanışlı

- Vitreus kanaması
- Traksiyonel retina dekolmanı
- Subhyaloid kanama
- Arka vitre dekolmanı

### **1.3.8.2.6. Optik Koherens Tomografi Anjiyografi (OCTA)**

OCTA, boyayı invaziv olarak enjekte etmeye gerek kalmadan floresan anjiyografiye benzer görüntüler üreten retinal kan akışına hareket kontrastlı görüntüleme kullanır.

- Retina damarları hakkında ayrıntılı bilgi sağlar.
- Foveal avasküler bölgenin sınırlandırılmasına yardımcı olur, foveal iskemi bulmaya yardımcı olur.
- Hafif IRMA'nın bile doğru şekilde algılanmasını sağlar.
- Kılcal daralma alanlarının tanımlanmasına yardımcı olur.

Venöz sistemde olan döngü, boncuklanma ve dilatasyon gibi vasküler işaretler OCTA'da çok iyi değerlendirilebilir. OCTA, mikrovasküler değişikliklerin en erken saptanmasına yardımcı olabilir (mikroanevrizmanın görünürlüğünden önce)(79). OCTA özellikle böbrek hastalığı olan hastalarda ve boyalara karşı anafilaktik reaksiyona eğilimli hastalarda faydalıdır.

### **1.3.8.2.7. Yapay Zeka Tabanlı Cihazlar**

FDA, 2018'de hafiften fazla diyabetik retinopati veya yokluğunun saptanması için bir yazılım programı olan IDx-DRP'yi onayladı. 2020'de EyeArt (Eyenuk), hafiften fazla diyabetik retinopati ve görmeyi tehdit eden diyabetik retinopati'nin otonom tespiti için FDA onayı aldı.

## **1.3.9. Takip ve Tedavi**

### **1.3.9.1. Diyabetin Genel Sistemik Kontrolü**

Sistemik durum şu şekilde optimize edilmelidir:

- Diyabetin sıkı metabolik kontrolü,
- HbA1C düzeylerinin %7'nin altında tutulması,
- Rutin egzersizler ve uygun bir diyabetik gıda diyeti gibi yaşam tarzı değişiklikleri,

Hastalar, uygun takip ziyaretleri için endokrinologları ziyaret etmeli ve zamanında antidiyabetik ilaçlar almalıdır. Hipertansiyon, dislipidemi, hipoproteinemi, anemi,

nefropati, nöropati, kardiyak rahatsızlıklar ve diğerleri gibi diğer sistemik rahatsızlıklar da ilgili ilaçlar ve profesyoneller arası mükemmel işbirliği ile halledilmelidir.

### **1.3.9.2. Proliferatif Olmayan Diyabetik Retinopatinin (NPDR) Yönetimi**

Sıkı glisemik kontrol ve hastaların antidiyabetik ilaçlara sıkı uyumu, bir NPDR vakasını yönetmenin anahtarıdır. Diabetes mellitusun uygun sistemik kontrolü üzerinde ısrarcı olmalı ve oküler bulguların ilerlemesi izlenmelidir. İlişkili komorbiditeler ele alınmalıdır. Diabetes mellitusun diğer sistemik yan etkilerini ekarte etmek için bir doktor veya bir endokrinolog tarafından ayrıntılı bir sistemik inceleme yapılmalıdır.

Önerilen takip programı şu şekildedir;

- Çok hafif NPDR - her yıl takip
- Hafif ve orta derecede NPDR'nin takibi 6-12 ayda bir. Hafif NPDR vakalarının yüzde on altısı ve orta dereceli NPDR vakalarının %23'ü dört yıl içinde proliferatif aşamalara ilerler (71).
- Şiddetli ve Çok Şiddetli NPDR hastaları 2-4 ay içinde yakın takip edilmeli. Şiddetli NPDR vakalarının yüzde ellisi ve çok şiddetli NPDR vakalarının %75'i bir yıl içinde PDR'ye ilerler (71, 80).

### **1.3.9.3. Diyabetik Maküla Ödeminin (DMÖ) Yönetimi**

#### **1.3.9.3.1. Merkezi tutan diyabetik maküla ödemi**

Günümüzde anti-VEGF ajanları, merkezi tutan diyabetik maküla ödemi için ilk tedavi seçeneği haline gelmiştir. Bevacizumab, ranibizumab ve aflibercept başlangıçta görme keskinliği daha iyi olan hastalarda faydalı etkilere sahiptir. Aflibercept'in başlangıçtaki görme keskinliği daha kötü olan hastalarda daha iyi görsel sonuçlara sahip olduğu gösterilmiştir (11). Son zamanlarda, aflibercept ve ranibizumab, hem DMÖ hem de diyabetik retinopatide kullanım için FDA onayı almıştır (12). İnatçı olgularda intravitreal steroid implantları da kullanılmaktadır (14).

### 1.3.9.3.2. Merkez dışını içeren maküler ödem

ETDRS tarafından yönlendirilen Fokal veya Grid lazer tercih edilen tedavidir. Günümüzde Anti-VEGF ilaçları çağında, makula ödemi olan merkezlerde lazer tedavisinden genellikle kaçınılmaktadır. Tek başına anti-VEGF tedavisine yanıt vermeyen hastalarda adjuvan tedavi olarak eklenebilir. ETDRS tarafından belirtildiği gibi, lazer orta derecede görme kaybının ilerlemesini durdurmada yardımcı oldu, ancak görme keskinliğini iyileştirmedi. Bevacizumab intravitreal enjeksiyonu, merkezi tutan DMÖ'de de etkilidir, ancak FDA onaylı değildir. Bu nedenle, yalnızca endikasyon dışı kullanım için mevcuttur. Sahte ilaçlara veya başka nedenlere bağlı küme endoftalmisi başka bir endişe kaynağıdır (13). DRCR (diyabetik retinopati klinik araştırması) ağı, aflibersept'in DMÖ'deki rolünü inceledi ve başlangıçta görme keskinliği daha kötü olan hastalarda yararlı olduğu bulundu (DRCR.net'in Protokol T'si) (11). İntravitreal Anti-VEGF enjeksiyonlarına ilişkin DRCR ağı dışındaki diğer önemli çalışmalar arasında RISE, RIDE, READ, RESTORE, BOLT ve RESOLVE yer almaktadır.

Yaygın olarak kullanılan intravitreal enjeksiyonların dozları:

- Bevacizumab - 1.25mg/0.05 ml (PACORES, DRCR.net PROTOCOL H, BOLT, READ-2) (81-85)
- Ranibizumab - 0,5 mg veya 0,3 mg /0,05 ml (RESOLVE, DRCR.net PROTOCOL I, RESTORE, RISE/RIDE) (86-90)
- Aflibercept -2 mg/0,05 mL (DA VINCI, VISTA/VIVID, DRCR.net PROTOCOL T) (91-93)
- Pegaptanib- 0,3 mg/ 0,09 ml (bu endikasyon için FDA onaylı değildir) (94, 95)
- Brolucizumab 6mg/0,05 ml (Mayıs 2022 itibarıyla bu endikasyon için FDA tarafından onaylanmamıştır) (96)

Deksametazon implantları ve fluocinolon asetonid implantları (Retisert ve Iluvien) gibi uzun etkili kortikosteroid implantları da diyabetik makula ödeminde kullanılmaktadır. Tedavinin ilk satırı olarak kabul edilmemelerine rağmen, birden fazla Anti-VEGF ilaç enjeksiyonuna yanıt vermeyen vakalar için uygundur (DRCR.net protokol U'ya göre) (97). Ana avantajları, inflamasyonun uzun süreli kontrolü ve daha az uygulama sıklığıdır. Maliyetinin yüksek olması da sınırlı kullanımındaki etkenlerden

biridir. İntravitreal triamsinolon enjeksiyonları FDA onaylı değildir, daha kötü sonuçlara sahiptir ve anti-VEGF ilaçlardan daha fazla komplikasyonla bağlantılıdır. Glukom, intravitreal steroidlerin önemli bir yan etkisidir. Ranibizumab'ın sürekli salınımı için yeni bir port-teslimat sistemi, yaşa bağlı yaş tip maküler dejenerasyonu yönetmek için 2021'de FDA tarafından onaylandı. DMÖ için yeni bir tedavi olma umudu veriyor.

#### **1.3.9.3.3. Traksiyonel diyabetik makula ödemi**

VMT (vitreomaküler traksiyon) veya ERM (epiretinal membran) nedeniyle oluşabilir. Bu gibi durumlarda vitrektomi ameliyatı düşünülmelidir. İntravitreal enjeksiyonlar traksiyon bileşenini kötüleştirir. Daha fazla kötüleşmeyi önlemek için lazer spotları da traksiyon alanından uzaklaştırılmalıdır.

#### **1.3.9.3.4. Dirençli Diyabetik maküler ödem**

Dirençli veya kalıcı DMÖ'nin tanımı, çoklu anti-VEGF enjeksiyonlarına ve en az bir seans lazere yanıt vermeyen maküler ödem, suboptimal yanıt (OKT'de 250 mikrondan fazla merkezi makula kalınlığı, ilişkili görme kaybı ile birlikte) ve en az 6 aylık anti-VEGF ajan enjeksiyonları da dahil olmak üzere değişir(7, 98). Bu tür vakalara yönelik olası bir yaklaşım; sistemik kontrolün değerlendirilmesini, anti-VEGF ilaçlarının daha yüksek dozunu veya sıklığını, steroid implantlarının kullanımını (DRCR.net'in U protokolüne göre), tanının yeniden kontrol edilmesini, herhangi bir olumsuz anatomik nedenin ekarte edilmesini ve aşırı periferik iskemik alanları aramak ve periferde mümkün olduğunca uzağa lazer uygulamak için geniş alan anjiyografisini içerir (97, 99, 100).

#### **1.3.9.4. İskemik tip diyabetik makula ödemi**

Kötü görsel prognoz ile ilişkilidir. VEGF salımından sorumlu iskemik bölgeleri kapatmak için hastada aşırı periferik lazer düşünülebilir (101). Steroid implantlar denenebilir. Ancak, tüm önlemlere rağmen prognoz korunur (102).

### **1.3.9.5. Proliferatif Diyabetik Retinopatinin (PDR) Tedavisi**

Panretinal fotokoagülasyon (PRP), uzun yıllardır proliferatif diyabetik retinopatinin standart tedavisi olarak kabul edilmektedir. Ancak yıkıcı özellikleri nedeniyle, diyabetik retinopatinin tahribatsız alternatif bir tedavisi için yoğun araştırmalar yapıldı. PDR olgularında intravitreal anti-VEGF enjeksiyonlarının rolü çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir. Bu enjeksiyonların sınırlı yarı ömrü nedeniyle, belirli aralıklarla tekrarlanan enjeksiyonlar zorunlu hale gelir. Bu nedenle, bu rejimin maliyet etkinliği sorgulanabilir. Hastalığın ciddiyetine bağlı olarak ve maküla ödeminin varlığı veya yokluğu dikkate alınarak intravitreal enjeksiyon ve pan-retinal fotokoagülasyon karışımı, diyabetik retinopati hastalarının tedavisine yardımcı olabilir (103).

- DMÖ'siz yüksek riskli olmayan PDR: Yüksek riskli PDR meydana gelirse, 2 ila 4 aylık dikkatli takip ve hemen pan-retinal fotokoagülasyon yapılmalıdır. Bazı hekimler tüm PDR vakalarında PRP uygulamaktadır.
- Makula ödemi olmayan yüksek riskli PDR: PRP başlatılmalıdır (104).
- PDR ile DMÖ: Kombine intravitreal anti-VEGF enjeksiyonları ve PRP seansları düşünülmelidir.
- Tam fotokoagülasyonun mümkün olmadığı yüksek riskli PDR: Kriyopeksi veya vitrektomi gibi alternatifler düşünülmelidir (104).

DRCR.net Protokol S'de, PRP'nin 0,5 mg ranibizumabın intravitreal enjeksiyonuna karşı güvenlik ve etkililiğinin bir karşılaştırması incelenmiştir. Protokol S ranibizumab 0.5 mg'ın birincil sonucu, PRP'den aşağı değildir. Bu nedenle ranibizumab, yakın gelecekte ilk tedavi hattı olmak için PRP ile rekabet edebilir. Yüksek maliyet, tekrarlanan enjeksiyon, çoklu takip ziyaretleri, tekrarlanan enjeksiyonlar nedeniyle vitreus anatomisi ve fizyolojisinin bozulması, endoftalmi olasılığı ve taşıfilaksi engelleyici faktörlerdir (105).

### **1.3.9.6. İlerlemiş Diyabetik Göz Hastalığının Tedavisi**

İlerlemiş diyabetik göz hastalığı olan hastalarda prognoz korunur. İnatçı vitreus kanamasında başlangıçta gözlem denemesi veya anti-VEGF ajanın intravitreal enjeksiyonu yapılabilir, ardından kanama düzelerse görünür alanlarda dağınık pan-retinal

fotokoagülasyon denenebilir (106). Böyle bir yaklaşım düşünülürse ultrasonogram ile retinal traksiyon dışlanmalıdır. Tedavi ile kanama düzelmezse pars plana vitrektomi düşünülmelidir. Ayrıca traksiyonel retina dekolmanı ile başvuran olgularda vitrektomi tercih edilen tedavi yöntemidir.

Diyabetik hastalarda vitrektomi endikasyonları şunları içerir:

- Temizlenmeyen vitreus kanaması (vitreus/subhyaloid/premaküler)
- Makula kapalı traksiyonel retina dekolmanı
- Kombine traksiyonel ve yırtıklı retina dekolmanı
- Arka segmentin görünmezliği ile ön segment neovaskülarizasyonu
- Hayalet hücreli glokom
- Kalın epiretinal membran
- Vitreomaküler traksiyon

Rubeosis iridis vakalarında, erken evrelerde anti-VEGF ilaçlı veya anti-VEGF ilaçsız pan-retinal fotokoagülasyon yardımcı olabilir. İleri aşamalarda, yeni damarlar fibroz ve kontraktüre yol açarak açılmanın kalıcı olarak bozulmasına yol açarak refrakter glokoma neden olur ve bu da sonunda bir glokom drenaj implantı gerektirebilir. Bununla birlikte, bu tür vakalarda prognoz kötüdür. Ağrılı absölu gözler, diyot lazer siklofotokoagülasyon veya siklokriyoterapiye ihtiyaç duyabilir.

### **1.3.10. Ayırıcı Tanı**

Diyabetik makula ödeminin ayırıcı tanısı şunları içerir:

- Hipertansif retinopati
- Santral retinal ven tıkanıklığı
- Retinal ven dal tıkanıklığı(107)
- Irvine Gass sendromu
- Üveit sonrası makula ödemi
- Rüptüre mikroanevrizma (108)
- Epiretinal membrana sekonder makula ödemi
- Koroidal neovasküler membran.

Göz dibinin genel görünümüne göre diyabetik retinopati ile karıştırılabilecek hastalıklar şunlardır:

- Santral retinal ven tıkanıklığı
- Hipertansif retinopati
- Orak hücreli retinopati (109)
- Terson sendromu (110)
- Oküler iskemik sendrom (111)
- Retinal ven dal tıkanıklığı
- Hemiretinal ven tıkanıklığı (112)
- Valsalva retinopatisi (113)
- Travma sonrası retina kanaması
- Retina makroanevrizması
- Talasemide retinopati (114)

### **1.3.11. Prognoz**

Diyabetik retinopatinin prognozu, diyabetin süresine, glisemik kontrole, ilişkili komorbid durumlara ve hastanın uygun tedavi hattına uyumuna bağlıdır (115, 116). Retina durumları hakkında uygun hasta danışmanlığına ihtiyaç vardır ve hastaların uygun takipteki gecikmenin kalıcı, geri dönüşü olmayan görme kaybına yol açabileceği konusunda bilgilendirilmeleri gerekir. Diyabetik retinopatinin ilk aşamaları, uygun glisemik kontrol sağlanırsa geri dönüşümlüdür. Diyabetik makula ödemi olan birçok hasta, intravitreal anti-VEGF ilaçlarının tekrarlanan enjeksiyonları için uzun süreli desteğe ihtiyaç duyar. Pan-retinal fotokoagülasyon ile tedavi edilen hastalarda, kalıcı maküler ödem ve neovaskülarizasyon varsa ek anti-VEGF ilaçların takviyesi gerekebilir. Daha uzun süreli traksiyonel makula dekolmanı olduğunda, makula anatomisi belirgin şekilde bozulduğu için görsel prognoz genellikle korunur. Diyabetik retinopatinin prognozunun OCT biyobelirteçleri, refraktil cisimler, retinanın iç katmanlarının düzensizliği (DRIL), retinanın dış katmanlarının bozulması (DORL), koroidal kalınlık, epiretinal membran, vitreomaküler adezyonlar, retina altı sıvı, maküler kalınlık ve elipsoid bölge bütünlüğünü içerir (73, 117).

### **1.3.12. Komplikasyonlar**

İyi kontrol edilemeyen diyabetik retinopati ile ilişkili görmeyi tehdit eden komplikasyonlar; diyabetik makula ödemi, traksiyonel retina dekolmanı, vitreus kanaması ve geç sekel olarak proliferatif diyabetik retinopatiyi içerir (118, 119). Diyabetik retinopatinin anti-VEGF tedavisi, lazer fotokoagülasyon veya vitrektomi ameliyatı ile tedavisi de komplikasyonsuz değildir.

#### **1.3.12.1. Anti-VEGF İlaçlara İlişkin Komplikasyonlar**

- GİB artışı
- Katarakt oluşumu
- İyatrojenik retina/arka kapsül yırtığı
- Vitreus kanaması
- Yırtıklı Retina dekolmanı
- Traksiyonel retina dekolmanı olan hastalarda verilirse makula üzerinde traksiyonun kötüleşmesi
- Endoftalmi

#### **1.3.12.2. Lazer Fotokoagülasyona İlişkin Komplikasyonlar**

- Vitreus kanaması
- Tek seansta çok fazla lazer atışı yapılırsa eksüdatif retina dekolmanı ve koroid dekolmanı
- Pan-retinal fotokoagülasyondan sonra kontrast duyarlılığının, periferik görmenin ve gece görüşünün azaltılması
- Görme alanında kalıcı skotomlar
- Önceden var olan makula ödeminin kötüleşmesi veya lazer/PRP sonrası makula ödemi gelişmesi
- Kötüleşen optik disk solukluğu

### **1.3.12.3. Vitrektomiye İlişkin Komplikasyonlar**

- Katarakt oluşumu
- Gaz veya yağ tamponadı nedeniyle GİB artışı
- Yırtıklı retina dekolmanına yol açan iatrojenik sekonder yırtıklar

### **1.3.13. Ameliyat Sonrası Bakım ve Rehabilitasyon**

Lazer fotokoagülasyon, bir ayakta tedavi bölümü prosedürü olarak gerçekleştirilir. Uygun glisemik kontrolü sürdürmek ve diğer ilgili sistemik hastalıklara dikkat etmek gereklidir. Pan-retinal fotokoagülasyondan (PRP) sonra makula ödeminde kötüleşme ve orta derecede görme azalması olasılığı vardır. Böyle bir durumda hasta, dokümantasyon ve daha ileri bir yönetim hattı planlamak için retina cerrahına rapor vermelidir.

İntravitreal enjeksiyonlardan sonra birkaç saatlik akut bir GİB artışı olması yaygın bir durumdur. Genellikle 3-6 saat içinde normale döner. İntravitreal enjeksiyondan sonra rutin olarak tek bir asetazolamid 250 mg tableti kullanmak ihtiyatlı olabilir. İntravitreal enjeksiyonlardan sonra hastalar ertesi gün kontrole çağrılmalı; daha sonra oküler durumun stabilitesine göre düzenli aralıklarla takip planlanmalıdır. Ardışık OCT ve/veya OCTA parametreleri her takip ziyaretinde değerlendirilir ve bulgularına göre tekrar enjeksiyonlar, gözlem ve/veya lazer /vitrektomi cerrahisine geçiş ile ileri yönetim planlanır.

Ameliyattan sonra göz okluze edilir. Okluzyon çıkarıldıktan sonra göz temizlenir ve steroid göz damlası ve sikloplejik göz damlası ile antibiyotik gibi ilaçların topikal uygulamasına başlanır. SF6/C3F8 gibi gazları veya silikon yağı enjekte ettikten sonra, uygun antiglokoma ilaçları ile yönetilmesi gereken ameliyat sonrası GİB artışı olasılığı vardır. Hastalar daha sonra ameliyat sonrası sonuçlarını taramak için düzenli ve zamanında takip için çağrılabilir. Silikon yağı tamponadı yapıldıysa hastaya yağın alınması için zorunlu ikinci bir ameliyatın gerekliliği anlatılmalıdır.

### **1.3.14. Hasta eğitimi**

Amerikan Oftalmoloji Akademisi'nin güncel tavsiyesi, tip 1 diyabet olan kişilerin, diyabetin başlamasından beş yıl sonra başlayarak yıllık diyabetik retinopati taraması

yaptırması gerektiğini belirtmektedir. Tip 2 diabetes mellituslu hastalar, tanı anında ve sonrasında yıllık olarak göz dibi değerlendirmesi yaptırmalıdır (120, 121). Diyabetik retinopatinin prognozu hakkında hastaya uygun şekilde danışmanlık yapılmalıdır. Diyabetik retinopatinin ortaya çıkış aşamasına bağlı olarak belirli aralıklarla erken tanı, yönetim ve takip ziyaretleri zorunludur. Diyabetin sistemik düzensizliği, diyabetik retinopatinin katlanarak kötüleşmesine yol açabilir. Diyabetik retinopatinin ilerlemesini durdurmak için uygun sistemik ve topikal ilaçlarla birlikte yaşam tarzı değişikliği yapılmalıdır.

#### **1.4. Deneysel Diyabetik Retinopati Hayvan Modelleri**

DRP'nin etiolojisini ve patogenezi araştırmak ve hastalığı tedavi etmek için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. DRP, hem genetik hem de çevresel etkileri olan karmaşık bir hastalık olduğundan, hayvan modelleri benzer şekilde indüksiyon veya genetik mutasyonla geliştirilir. İndüklenen modeller beş yöntemle oluşturulmuştur: pankreasın cerrahi olarak çıkarılması, alloksan ilacının uygulanması, streptozotosin (STZ) ilacının uygulanması, yüksek galaktozlu diyetler ve göze lazer veya kimyasal hasar verilmesi. Genetik modeller, seçici yetiştirme ve gen düzenleme kullanılarak oluşturulur (15). Alloxan'ın diyabetik indüksiyonda daha az etkili olduğu düşünülür ve diyet yöntemleri hastalığın ilerlemesi için en fazla zamanı gerektirir (122). Cerrahi ve hasara bağlı modeller, teknik olarak en zorlu modellerdir ve kullanımlarını tarihsel olarak sınırlar. Tüm indüksiyon yöntemleri bugün hala incelenmekle birlikte, en yaygın olanı STZ uygulamasıdır, çünkü en hızlı hastalık gelişimi oranıyla sonuçlanır (16). STZ'nin diabetes mellitus indüklemeye mekanizmasının, pankreasın Langerhans adacıklarının bozulması ve STZ nedeniyle  $\beta$  hücrelerinin kaybı olduğu bulunmuştur(16). B hücreler, düşük afiniteli glukoz taşıyıcı 2'yi (GLUT2) eksprese ettikleri için STZ'yi spesifik olarak alırlar ve STZ yapısal olarak glukoz ve N - asetil glukozamin'e benzer. Hepatositler ve renal tübüler hücreler dahil olmak üzere GLUT2'yi eksprese eden diğer hücreler de STZ uygulamasıyla benzer hasar görürler (123). STZ etki mekanizması, DNA fragmentasyonu ile hücre ölümüdür. STZ, diyabetik hastalık durumunu özetlemede daha etkili olduğu için alloksan yerine artık genel olarak tercih edilmektedir, ancak her iki ilaç da hala yaygın

olarak kullanılmaktadır (16). Farelerde diyabetin STZ indüksiyonu için, toplam 150 ila 400 mg/kg STZ veren 1 ila 5 doz arasında değişen çeşitli protokoller geliştirilmiştir (124). Hiperglisemi başlangıcı tipik olarak dozdan bağımsız olarak 2 hafta içinde ortaya çıkar ve 22 aya kadar muhafaza edilebilir (124, 125). STZ farelerinde gözlemlenen DRP fenotipleri, hiperglisemi başlangıcından 4-5 hafta sonra artan astrosit ve glioz sayısını (125, 126), 6. haftada RGC kaybını(127) , 10. haftada retina iç nükleer tabakasını (INL) ve dış nükleer tabakayı (ONL) incelmeyi içerir. , 16. haftada neovaskülarizasyon ve 6. ayda hücresiz kılcal damarlar ve perisit hayaletleri görülür (125, 128, 129). Farelerin aksine, ratlar diyabet geliştirmek için daha düşük dozlarda STZ'ye ihtiyaç duyar (124). Retinal lezyonların başlangıcı rat suşları arasında farklılık gösterir, ancak gözlenen bazı fenotipler arasında indüksiyonu takiben diyabet başlangıcından 2 hafta sonra BRB yıkımı (130, 131), dördüncü haftadan itibaren ONL incilmesi, artmış aselüler kapillerler (130), 8 haftadan sonra perisit ve endotel hücrelerinin sayısında azalma yer alır (132) ve 1 yıl sonra bazal membran kalınlaşması (133). STZ ile indüklenen DRP rat modelleri tipik olarak 20 haftaya kadar çalışılır (131).

DRP'yi indüklemek için en sık kullanılan modeller fareler ve ratlardır, ancak köpekler, kediler, domuzlar, tavşanlar, maymunlar ve zebra balığı da kullanılır. Uyarılmış DRP patolojisinin sunumu genellikle daha büyük hayvanlarda daha yavaştır, bu da kemirgenleri ve son zamanlarda zebra balığını daha çok tercih edilen modeller haline getirir. Fareler, ratlar, kediler, köpekler, domuzlar ve insan olmayan primatlar dahil olmak üzere DRP modellerini oluşturmak için çok çeşitli türler kullanılmış olsa da, küçük boyutları, kısa ömürleri ve hızlı üremeleri nedeniyle fare ve rat modelleri çoğunlukla tercih edilir. Kemirgenler ayrıca çoğu genetik çalışmanın odak noktası olmuştur (17-21). Bununla birlikte, köpek modellerindeki DRP fenotipleri, en çok insan DRP'sine benzer görünmektedir (124, 134). Şaşırtıcı bir şekilde, insan olmayan primatların indüklenmiş DRP'ye nispeten dirençli olduğu kanıtlanmıştır (135). Kedilerde genellikle katarakt gelişmez (136). Domuzlar ve zebra balığı ise aksine, göz yapılarının insanlara benzerliği, kolayca görselleştirilen damar yapıları, kısa ömürleri ve büyük üreme boyutları (zebra balığı) nedeniyle tercih edilir (124, 137, 138). Bugüne kadar hiçbir tek hayvan modeli,

insan DRP'sinin hem erken hem de geç evrelerindeki vasküler ve nöral komplikasyonlarının tamamını temsil edememiştir.

### **1.5. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGFA)**

Vasküler endotelyal büyüme faktörü, Retina pigment epitelyum hücreleri, gangliyon hücreleri, retinal vasküler endotel hücreleri, perisitler ve glial hücreler tarafından salgılanan ve in vitro angiogenezi sağlayan önemli bir faktördür. A, B, C, D, E olarak 5 alt tipi bulunmaktadır. VEGFA'nın başlangıçta bir endotelyal büyüme faktörü olduğu kadar vasküler geçirgenliğin bir düzenleyicisi olduğu gösterildi ve aynı zamanda vasküler geçirgenlik faktörü (VPF) olarak adlandırıldı. VEGF-A kendi içinde 121, 145, 165, 183, 189, 206 alt gruplara ayrılır (139, 140). VEGF-165 oküler neovasküler hastalıklarda ve diyabetik retinopati patogeneğinde predominant form olup, 45kDa homodimerik bir glikoproteindir. Yapılan çalışmalarda deneysel diyabette ve diyabetik retinopatili gözlerde vitreus ve hümör aközde VEGF-165 yüksek olarak bulunmuştur (141). Funatsu ve arkadaşları diyabetik maküla ödemli hastalarda vitreusda artmış VEGF seviyesini bulmuşlardır (142). VEGF ailesi üyeleri, örtüşen bir şekilde üç reseptör tirozin kinaza; VEGFR1, VEGFR2 ve VEGFR3'e bağlanır. VEGFA'ya verilen in vivo anjiyojenik yanıtı esas olarak VEGFR2'nin aktivasyonu aracılığıyla eder. Bu, çok sayıda ara ürünü içeren sinyalleşme basamaklarını başlatır. Bunlar basitçe; çoğalma, hayatta kalma, hücre göçü, vasküler geçirgenlik, çevre dokuya invazyon ve endotelyal inflamasyondur (143).

### **1.6. Bevacizumab**

Human monoklonal antikoru olup, VEGF-A'nın tüm izoformlarını inhibe eder. Kolorektal kanser tedavisinde FDA tarafından onaylanmış olup, göz için kullanımı off-label"dır. Retinanın tüm katlarını geçebilmektedir, ancak %1,9-4,4 oranında tromboemboli riski bulunmaktadır. Diyabetik retinopatide kullanım endikasyonları; maküla ödemi, iris neovaskülarizasyonu, retina ve disk neovaskülarizasyonu, vitrektomi sonrası repliferasyon ve tekrar kanamadan korunmaktır. Haritoğlu ve ark. diyabetik maküla ödemli 51 göze 1,25 mg bevacizumab içeren 0,05 ml enjeksiyon uygulamışlar ve

6 haftalık izlemde %29'unda, 12 haftalık izlemde ise %26'sında en az 3 sıralık görme artışı elde etmişlerdir. Ortalama santral retina kalınlığında görme keskinliği ile ilişkili anlamlı azalma saptanmıştır. İntravitreal bevacizumabın fotokoagülasyon, İVTA, vitrektomi gibi tedavilere cevap vermeyen diffüz diyabetik maküla ödemi olan gözlerde faydalı olduğunu bildirmişlerdir (144).

## **1.7. Ramucirumab**

Ramucirumab (Cyramza®), ABD'de ilerlemiş veya rezeke edilemeyen HCC'nin ikinci basamak tedavisi için onaylanmış bir VEGFR-2 antagonistidir. Japonya'da serum  $\alpha$ -fetoprotein düzeyi  $\geq 400$  ng/mL olan rezeke edilemeyen HCC'li hastalarda endikedir. ABD'de, ramucirumab yalnızca daha önce sorafenib ile tedavi edilenler için endikedir (22).

### **1.7.1. Ramucirumabın Farmakodinamik Özellikleri**

Tamamen insan IgG1 monoklonal antikoru olan ramucirumab, VEGFR-2'ye yüksek afinite ile bağlanır ve VEGFR-2'nin ligandları olan VEGF-A, -C ve -D'ye bağlanmasını güçlü bir şekilde inhibe eder; bu eylem, ligand kaynaklı VEGFR-2 aktivasyonunu ve anjiyogenez için kritik olan sinyal mekanizmasını inhibe eder (22-25). Ramucirumab, VEGFR-2'ye oldukça özgüdür ve insan VEGFR-1 veya -3 ile çapraz reaksiyona girmez (22). İn vitro olarak ramucirumab, VEGFR-2'nin VEGF aracılı fosforilasyonunu, sinyal moleküllerini (fosfoinositid fosfolipaz C-y, mitojenle aktive olan protein kinazlar), hücre içi kalsiyum mobilizasyonunu, insan endotel hücrelerinin mitogenezini-göçünü ve hücre proliferasyonunu inhibe eder (24, 25). Ramucirumab ayrıca VEGFR-2 ekspresyonunu azaltır (22). Ramucirumab (DC-101) murin versiyonu, fare modellerinde anjiyogenez ve tümör büyümesini inhibe etti (22, 145). Ramucirumab, faz I çalışmalarında ilerlemiş solid hepatosellüler tümörleri olan hastalarda antianjiyojenik (azalmış tümör perfüzyonu ve vaskülarite) ve antikanser aktivite gösterdi (146-148). Takip eden bir faz 2 çalışmada ramucirumab, ilerlemiş HCC'li hastalarda ümit verici bir ön etkinlik ve kabul edilebilir bir tolere edilebilirlik profili gösterdi (149). İn vitro

özellikleriyle tutarlı olarak ramucirumab, bu hastalarda serum VEGF'yi ve plasental büyüme faktörünü yükseltti ve çözünebilir VEGFR-2'yi geçici olarak azalttı (149).

### **1.7.2. Ramucirumabın Farmakokinetik Özellikleri**

Ramucirumab, bir IgG monoklonal antikoru için tipik bir farmakokinetik profil sergilemiştir (yani, düşük dağılım hacmi, yavaş klirens ve uzun eliminasyon yarı ömrü) (22). Her 2 veya 3 haftada bir 6-12 mg/kg doz aralığında intravenöz olarak uygulanan ramucirumabın farmakokinetiği, çeşitli kanser türlerine sahip hastalarda büyük ölçüde benzerdi (22). Farmakodinamik hayvan çalışmaları verilerine dayanarak, insanlarda ramucirumabın minimum hedef seviyesi  $\geq 20$   $\mu\text{g/mL}$  olarak bildirilmiş (146). İlerlemiş solid tümörleri olan hastalarda, ramucirumab ortalama minimum konsantrasyonları (Cmin) haftada bir kez 2–16 mg/kg'lık bir dozaj aralığında hedef seviyeleri aşmıştır. Bununla birlikte, ramucirumab klerensi  $\geq 8$  mg/kg'da doymuştu ve bu, bu dozajda tam bir VEGFR-2 blokajı olasılığının yüksek olduğunu gösteriyor. Bu çalışmaya ve 2 veya 3 haftada bir dozaj planlarını değerlendiren başka bir çalışmaya dayanarak, ramucirumab için önerilen faz 2 dozu 2 haftada bir 8 mg/kg veya 3 haftada bir 10 mg/kg idi (146, 147). 2 haftada bir 8 mg/kg ramucirumab alan HCC hastalarında, 2., 4. ve 7. dozdan önceki (Cmin) sırasıyla 23.5, 44.1 ve 60.2  $\mu\text{g/mL}$  idi (22). Ramucirumab maruziyeti,  $\geq 8$  mg/kg dozlarda dozu orantılı olarak artırdı ve kararlı durum konsantrasyonlarına 12 haftada ulaşıldı. Her 2 haftada bir uygulamada, birikim oranı 1.5 idi (22). Ramucirumab popülasyon farmakokinetik analizlerine göre, kararlı durumda ortalama dağılım hacmi 5,4 L, ortalama klirens 0,015 L/saat ve ortalama yarılanma ömrü 14 gün olmuştur. Doğrudan değerlendirilmemesine rağmen, diğer antikolar gibi ramucirumabın da birincil olarak katabolizma yoluyla temizlenmesi beklenir (22).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun 16.02.2022 tarih ve 2022/03 sayılı kararıyla, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları ve Biyokimya Anabilim Dalları ile Veterinerlik Fakültesi Patoloji Anabilim dalının katkılarıyla gerçekleştirilmiştir.

### 2.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Deneyisel çalışmada kullanılan 40 adet 8-10 haftalık erişkin Sprague Dawley cinsi erkek ratlar FÜDAM biriminden temin edildi. FÜDAM biriminde ortam sıcaklığı 22–25°C arasında sabit tutularak 12 saat aydınlık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00- 07:00) karanlıkta takip edilerek deney gerçekleştirildi. Deney başlangıcı ve sonunda hayvanların ağırlıkları ölçüldü. Tüm hayvanlara aynı standart rat yemi verilerek add libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Tüm hayvanların günlük olarak altları temizlenerek bakımları yapıldı.

### 2.2. Diyabet İndüksiyonu ve Diyabetik Retinopatinin Oluşumunun Takibi

Çalışmanın bu kısmında kullanılacak 30 adet sıçanda diyabet oluşturmak için 26 gauge''lık insülin enjektörüyle 60 mg/kg dozunda STZ (Streptozosin, Zanosar, Pharmacia, France) intraperitoneal (i.p) olarak 0,4 ml (0,1 M) sodyum-sitrat tamponunda (pH:4,5) çözdürülerek tek doz uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan alınarak, glukometre cihazındaki ölçüm sonucu açlık kan glikozu > 250 mg/dl''yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Kan şekeri ölçümü Chemstrip bG (BioDynamics, Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN) ile yapıldı. Sıçanların açlık kan glikoz düzeylerini saptamak için kan örnekleri, 8-10 saatlik açlık sonrasında sabah 8-10 arasında alındı. Başlangıç deney süresi 21 hafta olarak planlanmakla beraber diyabetik retinopati başlangıcını tespit etmek amaçlı ilk 8.haftada ve sonraki her 4 haftada bir Sham grubundan bir rat kurbanı olarak edilecek histopatolojik bulgulara bakılması planlandı.

### 2.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen 8-10 haftalık 40 adet Sprague Dawley cinsi erkek ratlar 4 gruba ayrıldı.

**Grup I (Kontrol grubu) (n:10);** Tek doz 0,1 M sodyum sitrat tamponu i.p uygulandı.

**Grup II (Sham grubu) (n:10):** 60 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M sodyum sitrat tamponunda (Ph:4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Deney süresi olan 12 hafta boyunca ek işlem yapılmadı.

**Grup III (Bevacizumab grubu) (n:10):** 60 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M sodyum sitrat tamponunda (Ph:4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Deneyin 12. haftasının başında ip 2,5 mg/kg bevacizumab (Altuzan, 100 mg/4 mL flakon, Roche, İsviçre) uygulandı.

**Grup IV (Ramucirumab grubu) (n:10):** 60 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M sodyum sitrat tamponunda (Ph:4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. 72 saat sonra kuyruk veninden kan glikoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Deneyin 12. haftasının başında ip 8 mg/kg ramucirumab uygulandı.

### 2.4. Örneklerin Alınması

Tüm gruplardaki ratlar 12. hafta sonunda tartıldıktan sonra, ketamin (75 mg/kg)+xylazine (10 mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildiler. Dekapitasyonun ardından ratların her iki gözü de hızlıca enükle edildi. Toplamda 28 rata ait sol gözler histopatolojik analiz için, Davidson çözeltisinde 24 saat boyunca tespit edildi. Daha sonra, musluk suyunda yıkanan doku örnekleri dereceli alkol, ksilol ve parafin serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Ratların sağ gözleri 0,01ml'lik fosfat tamponu (PBS; pH 7,4) içeren ependorf tüplere alınarak ELISA çalışılması için -80 °C dondurucuya kaldırıldı.

## **2.5. Histopatolojik Yöntem**

Bu çalışmada, sakrifiye edilen 28 ratın sol gözleri enükle edildi. Gözler, Davidson çözeltisinde 24 saat boyunca tespit edildi. Daha sonra, musluk suyunda yıkanan doku örnekleri dorso-ventral pozisyonda optik sinire yakın olarak trimlenerek, otomatik doku takip cihazında (Leica TP 1020, Wetzlar, Almanya) alkol, ksilol ve parafin serilerinden geçirilecek, doku blokama cihazında (Leica EG 1150 H, Wetzlar, Almanya) parafin blokama yapıldı. Elde edilen parafin bloklardan rotary mikrotom (Leica RM2125, Wetzlar, Almanya) ile 5 µm kalınlığında kesitler pozitif şarjlı lamlara alındı. Hazırlanan kesitler otomatik doku boyama makinasında (Leica Autostainer XL, Wetzlar, Almanya) Hematoksilen-Eosin (H-E) ve Periyodik Asit Shift (PAS) yöntemiyle boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. PAS Alcian Blue yöntemi için ticari kit (Biomedica) kullanıldı.

### **2.5.1. Morfometrik Ölçümler:**

Her bir göz kesitinde 5 bölgeden retina katmanları mikrometrik ölçüldü. Bu bölgeler bir adet santral retinatadan, sağlı-sollu ikişer peripheral ve midzonal retina bölgelerinden oluşmaktaydı.

### **2.5.2. Damar sayılarının tespit edilmesi:**

PAS yöntemiyle boyanmış preparatlarda ganglion tabakası ve iç nükleer tabakadaki damarların sayıları ışık mikroskopunda 40'lık objektif kullanılarak tespit edildi.

### **2.5.3. Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Duplex Nick End**

#### **Labeling Boyama Yöntemi (TUNEL)**

Retina katmanındaki fotoreseptör hücrelerinde meydana gelen DNA kırılmalarının tespiti için Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Duplex Nick End Labeling boyama yöntemi kullanıldı. Pozitif şarjlı lamlara alınan doku kesitleri, öncelikle 24 saat  $65\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilerek hazırlandı, daha sonra ksilolle deparafinize edilmiş ve azalan alkol serilerinden geçirilerek dehidre edildi. Kesitler PBS içinde 2 kez 5 dakika yıkandı. Sonrasında üretici firmanın önerilerine göre hazırlanmış apoptozis kitinde bulunan

kimyasallar kullanılarak TUNEL boyama yapıldı. Bu işlem sırasında tespit solüsyonunun antijenik unsurlarının kapatıcı etkisini ortadan kaldırmak için proteinaz K solüsyonunda 20 dakika bekletildi. Kesitler endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için hidrojen peroksit blok solüsyonunda 5 dakika bekletildi ve equilibration tampon solüsyonu ile 30 dakika muamele edildi. Daha sonra kesitler terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) enzimi ve digoxigenin ile işaretli nükleotitleri içeren reaksiyon tamponu kullanılarak oda sıcaklığında 1.5 saat boyunca inkübe edildi. Reaksiyon durdurma solüsyonu ve PBS kullanılarak kesitler yıkandıktan sonra konjugat solüsyonunda 30 dakika bekletildi. Son olarak, kesitlere 3.3' diaminobenzidine (DAB) kromojeni uygulandı ve Methyl Green ile karşıt boyama yapıldı ve entellanla kapatıldı. Apoptotik hücreler tüm retina boyunca kırklık büyütmede incelenerek pozitif boyanma gösteren hücreler tespit edildi.

## **2.6. Biyokimyasal Yöntem**

Toplamda 28 ratın sağ gözleri enükle edildi, 0,01ml'lik fosfat tamponu (PBS; pH 7,4) içeren tüplere alınan dokular (1:9; w:v) 4<sup>0</sup>C'de, 16000 rpm'de 3 dk homojenize edildi. Elde edilen Homojenatlar 5000xg'de 15 dk (+4°C'e) santrifüjlenerek süpernatantları ayrıldı. Süpernatantlardaki protein düzeyleri BCA Protein Colorimetric Assay Kit (Catalog No: E-BC-K318-M; Sensitivity: 0,0165 mg/ml; ölçüm aralığı: 0,0165-1 mg/ml; intra-assay CV: %2,2; inter-assay CV: % 4,5) ile tayin edildi. Bu yöntemin prensibi; alkali ortamda proteinlerin BCA reaktifi ile oluşturduğu mor renkli kompleksin 562 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır. Süpernatantların VEGF, TGFβ1, SOD ve IL-1β düzeyleri Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) yöntemiyle ölçüldü. Sonuçlar mg protein başına değerler olarak hesaplanıp istatistiksel analizler bu sonuçlar ile yapıldı.

### **2.6.1. VEGF-A düzeylerinin Belirlenmesi**

Doku VEGF-A düzeyleri, Rat VEGF-A ELISA kiti (USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China, katalog no; SEA143Ra, Lot:L220428083) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Sonuçlar pg/mL

olarak ifade edildi. Kitin ölçüm aralığı 15,6-1000 pg/mL ve sensitivitesi 6,3 pg/mL idi. Intra-Assay'i CV<%10; Inter Assay'i CV<%12 idi.

### **2.6.2.SOD düzeylerinin Belirlenmesi**

Doku SOD düzeyleri, Rat SOD ELISA kiti (USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China, katalog no; SEA124Ra, Lot:L220428090) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi. Kitin ölçüm aralığı 15,6-1000 pg/mL ve sensitivitesi 6,4 pg/mL idi. Intra-Assay'i CV<%10; Inter Assay'i CV<%12 idi.

### **2.6.3.IL 1- $\beta$ düzeylerinin Belirlenmesi**

Doku IL 1- $\beta$  düzeyleri, Rat IL 1- $\beta$  ELISA kiti (USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China, katalog no; SEA563Ra, Lot:L220428108) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Sonuçlar pg/mL olarak ifade edildi. Kitin ölçüm aralığı 15,6-1000 pg/mL ve sensitivitesi 5,4 pg/mL idi. Intra-Assay'i CV<%10; Inter Assay'i CV<%12 idi.

### **2.6.4.TGF $\beta$ 1 düzeylerinin Belirlenmesi**

Doku TGF $\beta$ 1 düzeyleri, Rat TGF $\beta$ 1 ELISA kiti (USCN Business Co., Ltd., Wuhan, China, katalog no; SEA134Ra, Lot:L220428107) kullanılarak kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. Absorbanslar EPOCH 2 (BioTek Instrument, Inc, USA) mikro plate okuyucusunda spektrofotometrik olarak 450 nm'de okutuldu. Sonuçlar ng/mL olarak ifade edildi. Kitin ölçüm aralığı 0,156-10 ng/mL ve sensitivitesi 0,073 ng/mL idi. Intra-Assay'i CV<%10; Inter Assay'i CV<%12 idi.

## **2.7. İstatistiksel Analiz**

Analizler için SPSS 25.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanılmıştır. Sürekli sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk

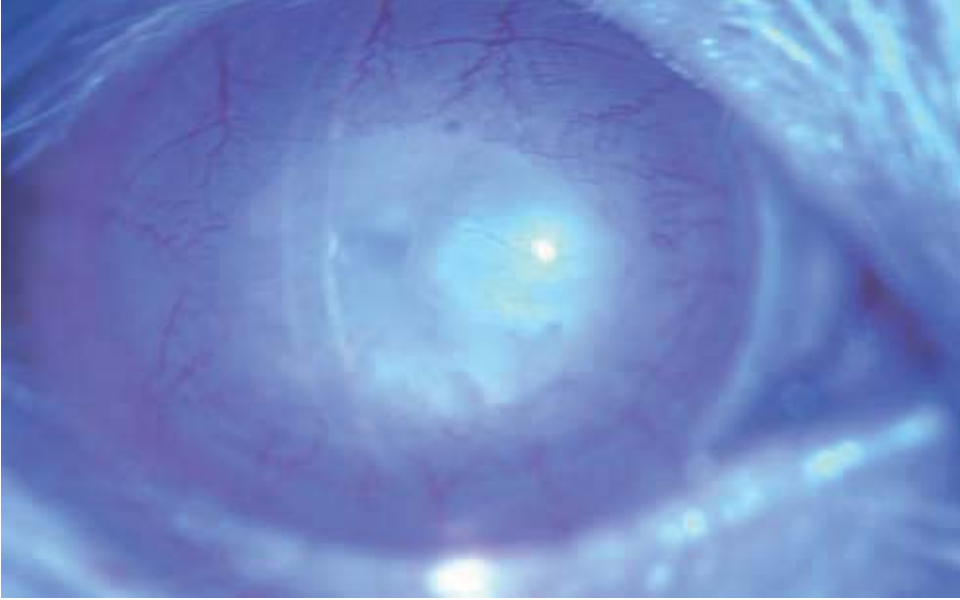
testi ile deęerlendirilmiřtir. Gruplar arasında verilerin karřılařtırmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıřtır. İkili karřılařtırmalarda Bonferroni dűzeltmesi yapılarak anlamlı grup belirlenmiřtir. % 95'lik gűven aralıęında çalıřılmıřtır. Veriler ortalama=standart sapma deęerleri ile ۆzetlenmiřtir Bűtűn analizler için  $p<0.05$  istatistiksel anlamlı deęer olarak kabul edilmiřtir.



### 3. BULGULAR

#### 3.1. Klinik bulgular

Deney süresinin başında her grupta 10 adet olmak üzere 40 Sprague Dawley rat ile çalışma başlatıldı. Diyabet oluşturulması için ip STZ uygulanan Sham ve tedavi gruplarında tüm ratlarda açlık kan glikozu  $> 250$  mg/dl'yi geçince çalışmaya dahil edildiler. 8. haftada Sham grubundan bir ratın saktifikasyonu yapıldı ve histopatolojik incelemede retina katmanlarında diyabetik retinopati bulgularından neovaskülarizasyona rastlandı. Deney süresi boyunca her gruptan olmak üzere hayvan ölümleri oldu. İstatistik inceleme yapılabilmesi için her grupta en az 7 rat yaşayana kadar deneye devam edildi. Planlanan deney süresi olan 21. haftaya ulaşamadı. 12. haftanın başında her grupta 7'şer rat yaşıyordu. Deney başında planlandığı gibi ilaç enjeksiyonları yapılarak 12. hafta sonunda deneye son verildi. Deney sonunda bütün ratlarda başlangıç ağırlıklarına göre anlamlı olarak kilo alımı olmuştu. Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında tüm ratlarda dışardan makroskopik boyutta korneal neovaskülarizasyon ve katarakt mevcuttu (Şekil 3).



Şekil 3. Sham grubundan bir ratta korneal neovaskülarizasyon ve katarakt (12. hafta)

## **3.2. Histopatolojik bulgular**

### **3.2.1. Retina Katmanlarının Ölçüm Bulguları**

Retina katmanlarına ait ölçüm değerleri Tablo-1'de sunulmuş olup, gruplar arasında bazı katmanların kalınlıklarında farklılıklar sapandı. En dikkati çeken veya önemli sayılabilecek değişimler, total periferal ve midzonal retina katmanlarında gözlemlendi. Buna göre Sham grubu sıçanlarda söz konusu katmanların kalınlıkları Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarına göre istatistiksel olarak önemli derecede artmıştı (Tüm gruplar için  $p<0.05$ ). Periferal gangliyon, midzonal iç ve dış çekirdek, periferal iç çekirdek katmanlarında Kontrol grubuna göre Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında anlamlı olarak kalınlık artışı vardı (Tüm gruplar için  $p<0.05$ ). Midzonal gangliyon, periferal dış çekirdek, total midzonal, total periferal tabakada Ramucirumab ve Sham gruplarında Kontrol ve Bevacizumab gruplarına göre daha kalındı ( $p<0.05$ ). Tüm veriler tablo 1'de özetlenmiştir.

Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında en önemli bulgulara retina damarlarında rastlandı. Histopatolojik bulguları özetlersek; neovaskularizasyon, skleral damar duvarlarında daralma, koroidal damar bazal membranlarında kalınlaşma, koroid damarlarında endotel proliferasyonu, damar duvarlarında hyalinizasyon, endotel hücre proliferasyonları ve katarakt en belirgin bulgulardı.

**Tablo 1.** Gruplara göre retina katmanlarının kalınlıkları

Retina Katmanlarının Kalınlığı ( $\mu\text{m}$ )	GRUPLAR			
	Kontrol (n:7)	Sham (n:7)	Bevacizumab (n:7)	Ramucirumab (n:7)
Periferal Ganglion Tabakası	17.35 $\pm$ 4.700 <sup>a</sup>	26.11 $\pm$ 5.675 <sup>b</sup>	26.68 $\pm$ 5.197 <sup>b</sup>	27.98 $\pm$ 5.094 <sup>b</sup>
Midzonal Ganglion Tabakası	31.27 $\pm$ 6.538 <sup>a</sup>	44.12 $\pm$ 9.420 <sup>ab</sup>	35.71 $\pm$ 8.333 <sup>a</sup>	48.75 $\pm$ 7.615 <sup>b</sup>
Merkezi Ganglion Tabakası	37.52 $\pm$ 6.068	40.73 $\pm$ 9.726	44.22 $\pm$ 8.706	44.54 $\pm$ 4.161
Periferal Dış Çekirdek Tabakası	18.18 $\pm$ 1.996 <sup>a</sup>	26.18 $\pm$ 5.401 <sup>b</sup>	21.84 $\pm$ 3.112 <sup>a</sup>	24.52 $\pm$ 5.529 <sup>ab</sup>
Midzonal Dış Çekirdek Tabakası	33.25 $\pm$ 2.355 <sup>a</sup>	41.24 $\pm$ 4.194 <sup>ab</sup>	39.15 $\pm$ 6.271 <sup>ab</sup>	43.55 $\pm$ 12.71 <sup>b</sup>
Merkez Dış Çekirdek Tabakası	34.72 $\pm$ 6.816	37.81 $\pm$ 8.048	41.56 $\pm$ 7.683	37.19 $\pm$ 9.598
Periferal İç Çekirdek Tabakası	15.87 $\pm$ 3.812 <sup>a</sup>	23.09 $\pm$ 3.577 <sup>b</sup>	21.74 $\pm$ 4.586 <sup>b</sup>	25.29 $\pm$ 5.483 <sup>b</sup>
Midzonal İç çekirdek Tabakası	32.43 $\pm$ 4.120 <sup>a</sup>	44.61 $\pm$ 16.43 <sup>b</sup>	35.30 $\pm$ 8.352 <sup>ab</sup>	33.87 $\pm$ 7.380 <sup>ab</sup>
Merkez İç çekirdek Tabakası	36.38 $\pm$ 6.142	36.21 $\pm$ 6.702	36.87 $\pm$ 6.457	37.18 $\pm$ 8.004
Periferal Fotoreseptör Tabakası	12.94 $\pm$ 4.023	14.35 $\pm$ 3.685	12.42 $\pm$ 4.354	14.78 $\pm$ 2.624
Midzonal Fotoreseptör Tabakası	19.51 $\pm$ 2.936	18.22 $\pm$ 3.537	18.46 $\pm$ 4.129	21.23 $\pm$ 3.827
Merkez Fotoreseptör Tabakası	24.49 $\pm$ 19.02	17.13 $\pm$ 7.426	21.21 $\pm$ 6.445	19.03 $\pm$ 3.589
Periferal Pleksiform Tabakası	9.998 $\pm$ 2.298	10.36 $\pm$ 11.67	8.481 $\pm$ 6.047	12.52 $\pm$ 6.054
Midzonal)Pleksiform Tabakası	18.84 $\pm$ 4.756	11.94 $\pm$ 7.894	14.67 $\pm$ 11.83	16.82 $\pm$ 5.014
Merkez Pleksiform Tabakası	37.42 $\pm$ 19.89	38.83 $\pm$ 19.42	38.30 $\pm$ 15.15	33.94 $\pm$ 16.48
Periferal Total Retina Tabakası	78.28 $\pm$ 9.873 <sup>a</sup>	113.9 $\pm$ 15.45 <sup>b</sup>	92.19 $\pm$ 15.85 <sup>a</sup>	100.8 $\pm$ 19.41 <sup>ab</sup>
Midzonal Total retina Tabakası	139.5 $\pm$ 14.42 <sup>a</sup>	181.5 $\pm$ 38.12 <sup>b</sup>	148.4 $\pm$ 32.87 <sup>a</sup>	162.2 $\pm$ 20.75 <sup>ab</sup>
Merkez Total retina Tabakası	172.6 $\pm$ 36.17	183.5 $\pm$ 27.05	188.6 $\pm$ 22.60	178.0 $\pm$ 21.76

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

ab: Farklı üst simgeleri taşıyan değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P<0.05).

### 3.2.2. Vasküler Bulguların Değerlendirilmesi

Yapılan histopatolojik sayımlarda Sham grubu sıçanlarda damar sayıları Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarına göre önemli derecede artmıştı (Tüm gruplar için p<0.05) (Tablo 2).

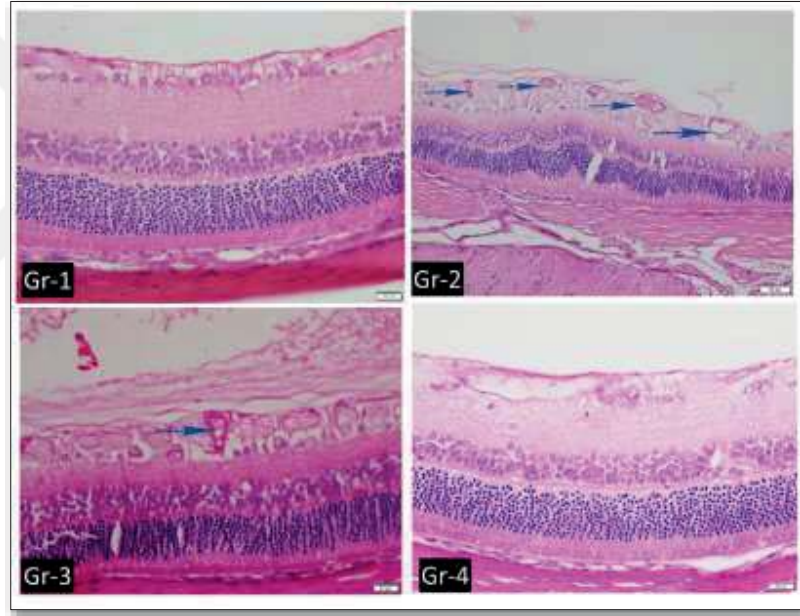
**Tablo 2.** Gruplara göre ganglion ve iç nükleer tabakada damar sayılarının karşılaştırılması

Gruplar	Damar Sayıları
Kontrol (n:7)	18.50±2.58 <sup>a</sup>
Sham (n:7)	35.33±11.51
Bevacizumab (n:7)	19.33±4.50 <sup>a</sup>
Ramucirumab (n:7)	21.0±10.0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Sham grubu ile karşılaştırıldığında p<0.05

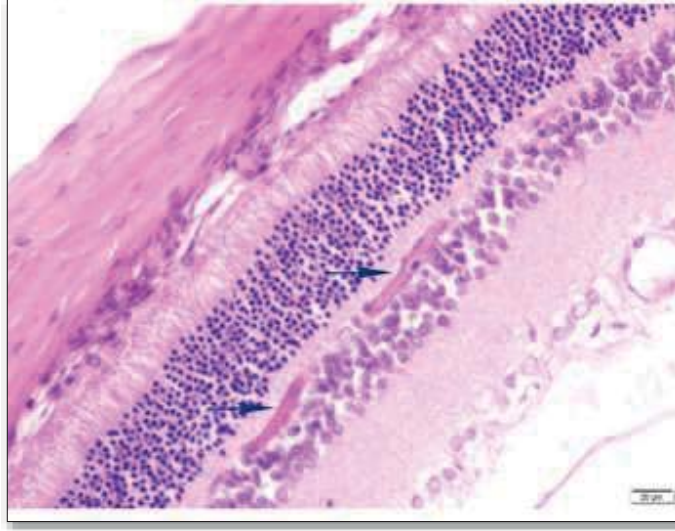
Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

Mikroskopik olarak da neovaskularizasyon, en belirgin olarak Sham grubu hayvanlarda vardı. Grup 3 ve 4'te bir kaç tane neovasküler damar görülmekle birlikte grup 2' ye göre istatistiksel olarak anlamlılık yoktu (sırasıyla p>0.05, p>0.05). Neovaskularize damarlar daha çok gözün ganglion ve iç nükleer tabakasında görüldü (Şekil 4 ve 5).



Gr-1: Kontrol grubu, Gr-2: Sham grubu, Gr-3: Bevacizumab grubu, Gr-4: Ramucirumab grubu

**Şekil 4.** Ganglion tabakasında neovaskularizasyon (mavi oklar) en belirgin olarak Sham grubu sıçanda dikkati çekmektedir (H-E).



**Şekil 5.** İç nükleer tabakada neovaskülarizasyon (mavi oklar) (Sham grubu, deneyin 8. haftasında sakrifiye edilen rat, H-E)

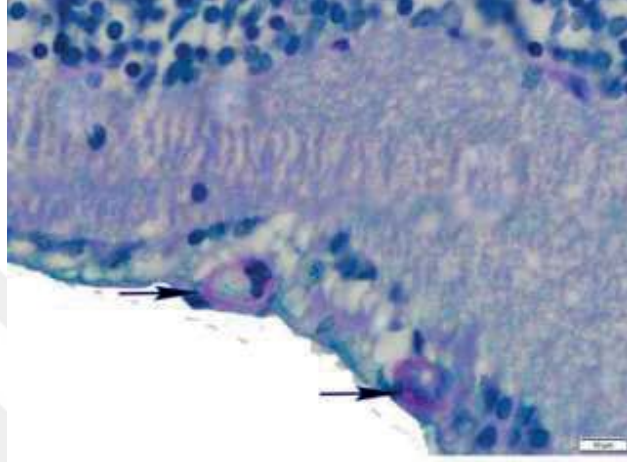
Neovaskülerize damarlar özellikle endotel hücreleri içermeyen ince duvarlı damarlardan oluşmaktaydı (Şekil 6).



**Şekil 6.** İç nükleer tabakada endotel hücresi içermeyen yeni oluşmuş bir damar (beyaz ok) (Sham grubu, PAS)

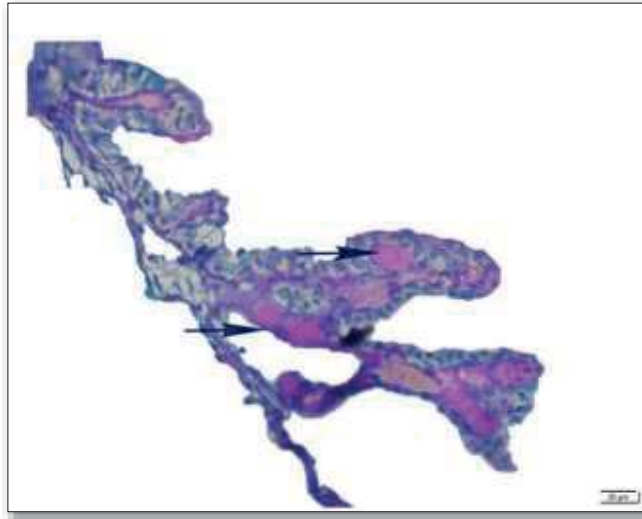
Retinal ganglion tabakasında sayıca artmış kapillar damarların bir bölümünde damarlarda hyalinizasyon bulgularına rastlandı (Şekil 7). Sözü edilen hyalinizasyon

Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab grubu ratlarda gözlemlendi. Hyalinizasyon bulgularında gruplar arasında önemli bir farklılık olmadığı gözlemlendi (Tüm gruplar için  $p>0.05$ ). Hyalinizasyonun yanısıra bazı kapillar damarlarda endotel hücrelerinde sayıca artış olduğu dikkati çekti (Şekil 7). Ancak gruplar arasında önemli bir farklılık mevcut değildi (Tüm gruplar için  $p>0.05$ ).



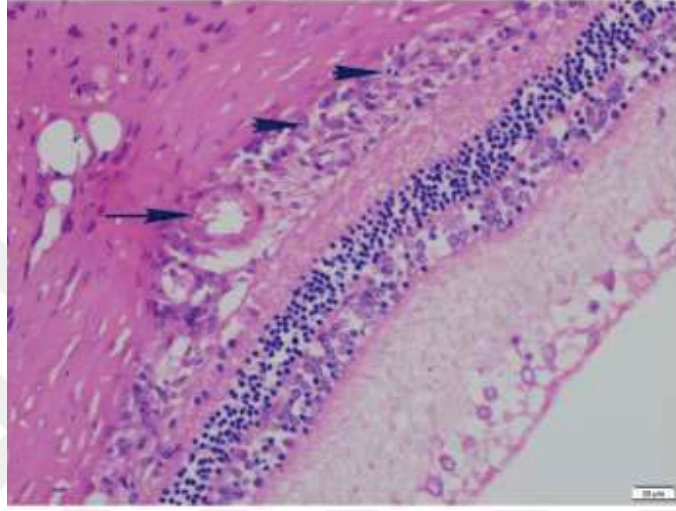
**Şekil 7.** Ganglion tabakasında hyalinize damarlar ve endotel hücrelerinin sayıca artışı (mavi oklar) (Sham grubu, PAS)

Benzer şekilde iriste damar duvarı hyalinizasyonlarına Sham grubunda sadece bir ratta rastlandı (Şekil 8).



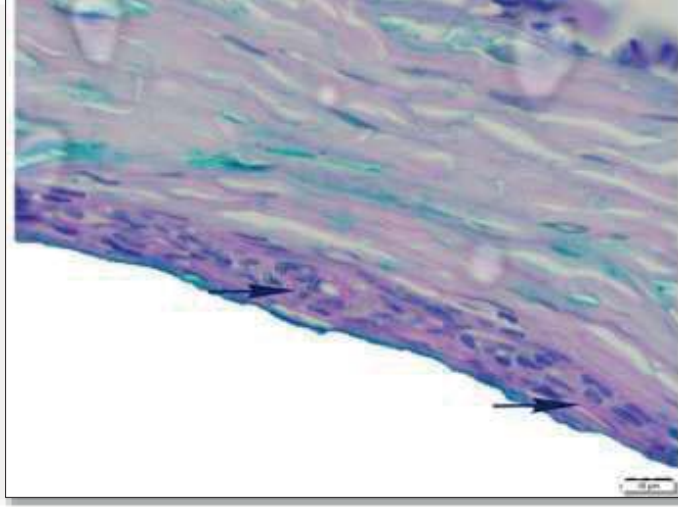
**Şekil 8.** İriste hyalinize damarlar (mavi oklar) (Sham grubu, PAS)

Sham ve tedavi gruplarında saptanan diğeri bir bulgu da koriodal damarlarda kapillar endotel proliferasyonu ile karakterizeydi. Endotel hücrelerinin bu bölgelerde proliferasyonu olduğu ve kapillar damarların duvarlarında musküler tabakanın kalınlaştığı saptandı (Şekil 9). Gruplar arasında önemli bir farklılık mevcut değildi (Tüm gruplar için  $p>0.05$ ).



**Şekil 9.** Korioid tabakasında endotelial proliferasyon (ok başları) ve muskular hipertrofi (ok) (Sham grubu,H-E)

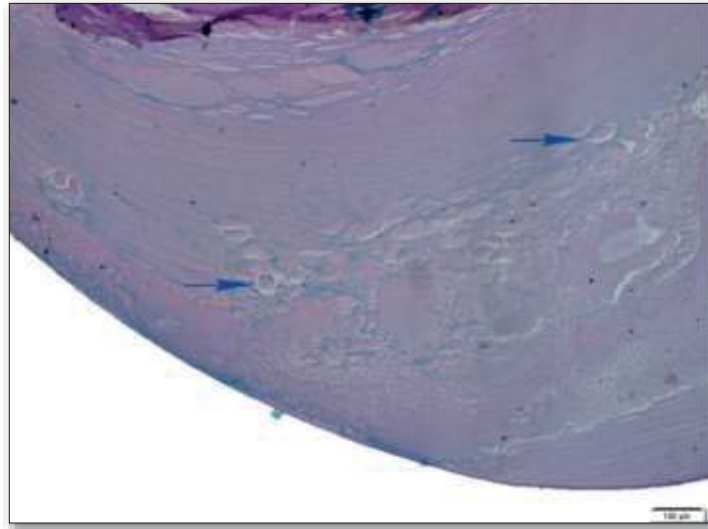
Koriodal damarlarda bazal membran kalınlaşmalarına Sham ve tedavi gruplarında rastlandı. Gruplar arasında önemli bir farklılık mevcut değildi (Tüm gruplar için  $p>0.05$ ). (Şekil 10).



**Şekil 10.** Korioidal damar bazal membranında kalınlaşma ve muskular hipertrofi (ok)(Sham grubu, PAS)

### 3.2.3. Katarakt

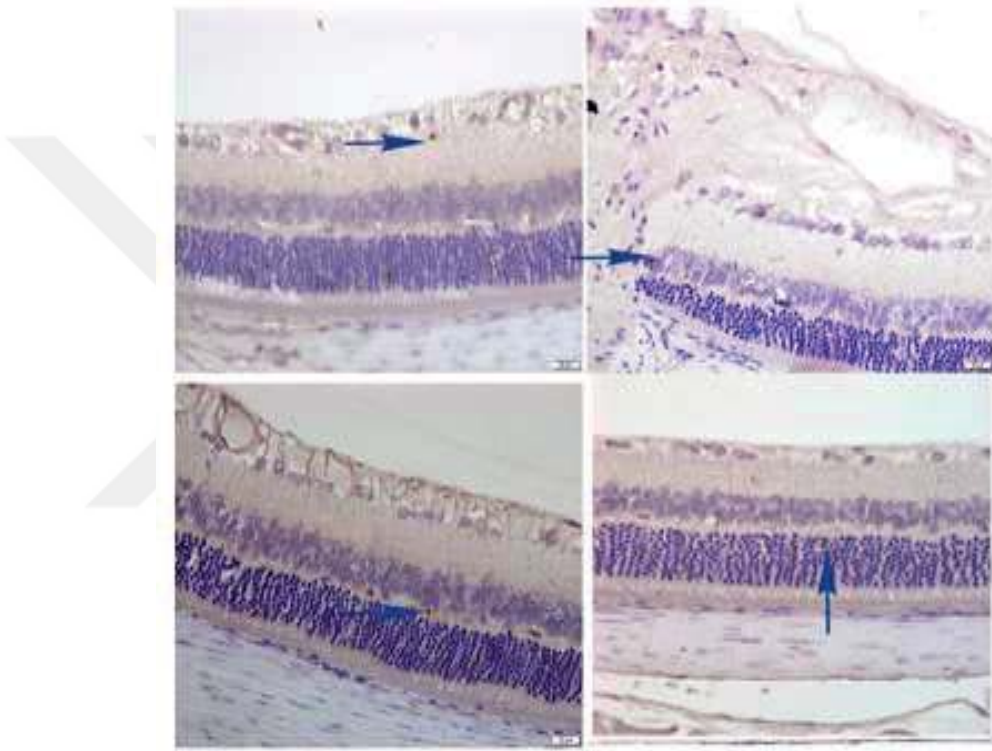
Sham ve tedavi gruplarında lenste Morgagnian globülleri, posterior lens epiteli migrasyonu, kese hücrelerinin oluşumu ve lens proteinlerinin denaturasyonu ile karakterize katarakt bulgularına rastlandı (Şekil 11).



**Şekil 11.** Lens'te Morgagnian globüllerinin oluşumuyla karakterize katarakt (oklar) (Bevacizumab grubu, PAS)

### 3.2.4. TUNEL Boyama

Kontrol grubunda daha az rastlanmakla beraber Sham ve tedavi gruplarında daha sık olmak üzere her mikroskop alanında 1 veya 2 adet pozitif boyanmış hücre tespit edildi (Şekil 12). TUNEL boyamada Sham grubu ile Bevacizumab ve Ramucirumab grupları arasında anlamlı fark görülmedi (sırasıyla  $p>0.05$ ,  $p>0.05$ ). Apoptotik hücreler belli bir bölgede değil de ratınanın farklı bölgelerinde rastgele bir dağılım göstermekteydi.



**Şekil 12.** TUNEL boyamada retinanın ve koroidin farklı tabakalarında görülen apoptotik hücreler (oklar) (Sham ve tedavi grupları)

### 3.3. Biyokimyasal bulgular

Kontrol, Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında 7'şer ratın sağ gözlerinden alınan örneklerin değerlendirildiği bu çalışmada VEGFA düzeyleri Kontrol, Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında ortalama±standart sapma olarak sırasıyla 0.00,  $0.6518\pm0.52403$ ,  $0.0486\pm0.12851$ , 0.00 pg/mg prot idi. VEGFA'ya Sham grubunda 5 ratta ve Bevacizumab grubunda sadece bir ratta rastlanırken, Kontrol ve

Ramucirumab gruplarında hiçbir ratta rastlanmadı. Sham grubu ile karşılaştırıldığında; Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında VEGFA düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü (sırasıyla p: 0.023, p: 0.020, p: 0.023). Bevacizumab grubu ile Kontrol ve Ramucirumab grupları arasında VEGFA düzeyleri için yapılan analizlerde istatistiksel anlamlı fark görülmedi (Tüm gruplar için  $p>0.05$ ). SOD düzeyleri Kontrol, Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında ortalama±standart sapma olarak sırasıyla 188.84±44.222, 67.74±26.354, 216.25±63.391, 207.40±64.926 pg/mg prot idi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında SOD düzeyi Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında istatistiksel anlamlı düzeyde daha fazlaydı (sırasıyla p: 0.002, p: 0.003, p: 0.002). IL-1 $\beta$  düzeyleri Kontrol, Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında ortalama±standart sapma olarak sırasıyla 186.98±152.954, 1184.10±732.266, 419.13±206.103, 529.35±211.338 pg/mg prot idi. Sham grubu ile karşılaştırıldığında Kontrol, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında IL-1 $\beta$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha düşüktü (sırasıyla p: 0.002, p: 0.009, p: 0.025). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında IL-1 $\beta$  düzeyi anlamlı olarak daha yüksekti (sırasıyla p: 0.048, p: 0.013). Bevacizumab ve Ramucirumab grupları arasında SOD ve IL-1 $\beta$  düzeylerinde anlamlı farklılık görülmedi ( $p>0.05$ ). TGF $\beta$ 1 düzeyleri Kontrol, Sham, Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında ortalama±standart sapma olarak sırasıyla 1.28±0.601, 1.63±0.635, 2.04±0.742, 1.76±0.479 ng/mg prot idi. TGF $\beta$ 1 düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark görülmedi (Tüm gruplar için  $p>0.05$ ). Biyokimyasal analiz sonuçlarımız tablo 3'te özetlenmiştir.

**Tablo 3.** Gruplar arasında VEGF-A, SOD, IL-1 $\beta$  ve TGF $\beta$ 1 düzeylerinin karşılaştırması

Değişkenler	Kontrol (n = 7)	Sham (n = 7)	Bevacizumab (n = 7)	Ramicumab (n = 7)
VEGFA (pg/mg prot)	0.00 <sup>a</sup>	0.6518±0.52403	0.0486±0.12851 <sup>a</sup>	0.00 <sup>a</sup>
SOD (pg/mg prot)	188.84±44.222 <sup>a</sup>	67.74±26.354	216.25±63.391 <sup>a</sup>	207.40±64.926 <sup>a</sup>
Rat IL-1 $\beta$ (pg/mg prot)	186.98±152.954 <sup>a</sup>	1184.10±732.266	419.13±206.103 <sup>a,b</sup>	529.35±211.338 <sup>a,b</sup>
TGF $\beta$ 1 (ng/mg prot)	1.28±0.601	1.63±0.635	2.04±0.742	1.76±0.479

Karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup> Sham grubu ile karşılaştırıldığında  $p<0.05$

<sup>b</sup> Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında  $p<0.05$

#### 4. TARTIŞMA

Diabetes Mellitus (DM), insülin eksikliği ya da insülinin etkisindeki sorunlar nedeniyle karbonhidrat, yağ ve proteinlerin yeterli düzeyde kullanılmadığı, sürekli olarak tıbbi yardım gerektiren, vasküler ve nöropatik komplikasyonlarla karakterize kronik bir hastalıktır. Diyabetteki temel metabolik bozukluk hiperglisemidir. Diyabetin görülme oranı her geçen yıl hızlı bir şekilde artmakta olup, 20 ile 79 yaşları arasındaki yetişkinlerde 2021 yılında yapılan taramalarda, dünya genelindeki DM prevalansının yaklaşık 537 milyon olduğu biliniyor ve bu sayının 2030 yılında 643 milyon düzeylerine, 2045 yılında ise 783 milyon düzeylerine ulaşacağı tahmin ediliyor (2, 3). Diyabetli hasta sayısının gittikçe artmasıyla birlikte, ülkelerin sağlık harcamaları da orantılı biçimde artmakta, hastalığın ve komplikasyonlarının tedavisi için ekonomik ve etkili alternatif çözüm yolları araştırılmaktadır. Diyabetin uzun dönemde oluşan komplikasyonlarının neden olduğu morbidite ve mortalite; kapiller bazal membran kalınlaşmasıyla ilişkili olan mikrovasküler hastalık, hızlanmış aterosklerozla birlikte görülen makrovasküler hastalık, somatik ve otonom sinir sisteminin ikisini de içeren nöropatiler, kas zayıflığıyla birlikte görülen nöromusküler disfonksiyon ve enfeksiyonlara direncin azalmasıyla oluşmaktadır. Kronik komplikasyonlar göz, böbrek, kalp, sinir ve kan damarlarını etkilemektedir (150).

Kontrolsüz diyabet; katarakt, glokom, oküler yüzey bozuklukları, tekrarlayan arpacık, non-arteritik ön iskemik optik nöropati, diyabetik papillopati ve diyabetik retinopati gibi birçok oküler hastalığa yol açabilir. Diyabetik retinopati (DRP), retinada görmeyi tehdit eden hasar yaparak sonunda körlüğe yol açabilir; en sık görülen ve ciddi oküler komplikasyondur (45). DRP gelişmiş ülkelerde görme azlığının en önde gelen nedenlerinden biridir. Özellikle toplumun aktif çalışılan 20 - 50 yaş arası nüfusunda görme kaybı nedenlerinin başında gelmektedir. Gelişmiş toplumlarda diyabetin görülme oranının giderek artması, ayrıca modern tedavi yöntemleriyle diyabetlilerde yaşam süresinin uzaması, DRP ve diyabetik makülopati görülme sıklığını arttıran en önemli faktörlerdir. Hastalığın tanısı konulduktan sonraki ilk 5 yıl içerisinde retinopati görülme olasılığı çok düşük olmakla birlikte, 5 yılda ortalama %27, 10 yılın üzerinde ise %71-90 oranında görülmektedir (151).

Diyabetik retinopatinin etiyolojisini ve patogenezi araştırmak ve hastalığı tedavi etmek için çeşitli hayvan modelleri geliştirilmiştir. Tüm indüksiyon yöntemleri bugün hala incelenmekle birlikte, en yaygın olanı STZ uygulamasıdır, çünkü en hızlı hastalık gelişimi oranıyla sonuçlanır. Farelerde diyabetin streptozosin (STZ) ile indüksiyonu için toplam 150 ila 400 mg/kg STZ verilen 1 ila 5 doz arasında değişen çeşitli protokoller geliştirilmiştir (124). Hiperglisemi başlangıcı tipik olarak dozdan bağımsız olarak 2 hafta içinde ortaya çıkar ve 22 aya kadar muhafaza edilebilir (124, 125). STZ farelerinde gözlemlenen DRP fenotipleri, hiperglisemi başlangıcından 4-5 hafta sonra artan astrosit ve glioz sayısını (125, 126), 6. haftada retina gangliyon hücre (RGC) kaybını (127) , 10. haftada retina i nükleer tabakasında (INL) ve dış nükleer tabakasında (ONL) incelmeyi içerir. 16. haftada neovaskülarizasyon ve 6. ayda hücresiz kılcal damarlar ve perisit hayaletleri görülür (125, 128, 129). Farelerin aksine, ratlar diyabet geliştirmek için daha düşük dozlarda STZ'ye ihtiyaç duyar (124). Retinal lezyonların başlangıcı rat suşları arasında farklılık gösterir, ancak gözlenen bazı fenotipler arasında indüksiyonu takiben diyabet başlangıcından 2 hafta sonra kan retina bariyeri yıkımı (130, 131), dördüncü haftadan itibaren ONL incilmesi, artmış aselüler kapillerler (130), 8 haftadan sonra perisit ve endotel hücrelerinin sayısında azalma ve 1 yıl sonra bazal membran kalınlaşması yer alır (132, 133). STZ ile indüklenen DRP rat modelleri tipik olarak 20 haftaya kadar takip edilir (131). Çalışmamızda Sprague Dawley ratlarda 60mg/kg STZ ile deneysel diyabetik retinopati modeli oluşturduk. Çalışma dizaynında 21. haftaya kadar ratları takip edip ve 8. haftada ve sonraki her 4 haftada bir Sham grubundan bir ratı sakrifiye edip histopatolojik DRP bulgularına bakmayı planladık. Ancak hayvan ölümlerinin beklenenden hızlı olması sebebiyle 12. haftaya kadar deneye devam edebildik. Sham grubumuzda 8. haftada sakrifiye ettiğimiz bir ratta retinada i nükleer tabakada gördüğümüz neovaskülarizasyon literatürde bildirilenin çok öncesinde de ratlarda neovaskülarizasyona rastlayabileceğimizi göstermektedir. 12. haftada sakrifiye edilen Sham grubu ratlarda retinanın total periferal ve midzonal katmanlarında kalınlık artışı görüldü. Diyabet oluşturulan ratlarda en önemli bulgulara retina damarlarında rastlanmakla beraber en sık görülen lezyonlar; neovaskularizasyon, skleral damar duvarlarında daralma, koroidal damar bazal membranlarında kalınlaşma, koriod

damarlarında endotel proliferasyonu, damar duvarlarında hyalinizasyon, endotel hücre proliferasyonları olarak karşımıza çıktı. Benzer şekilde iriste damar duvarı hyalinizasyonlarına Sham grubunda bir ratta rastlandı. Mikroskopik olarak neovaskularizasyon Sham grubu hayvanlarda belirgindi. Neovaskularize damarlar gözün gangliyon tabakası ve iç nükleer tabakasında görüldü. Sham grubu ratların tamamında dışardan bakıldığında anlaşılacak şekilde katarakt mevcuttu. Sham ve tedavi gruplarında lenste; Morgagnian globülleri, posterior lens epiteli migrasyonu, kese hücrelerinin oluşumu ve lens proteinlerinin denaturasyonu ile karakterize katarakt bulgularına rastlandı.

Diyabetik retinopati için mevcut tedavi stratejileri, intravitreal farmakolojik ajanlar, lazer fotokoagülasyon ve vitreus cerrahisi dahil olmak üzere mikrovasküler komplikasyonları yönetmeyi amaçlamaktadır. Anti-VEGF ajanlarının intravitreal uygulaması, şu anda DRP'nin hem erken hem de ileri evreleri için tedavinin temel dayanağıdır. Konvansiyonel lazer tedavisi sadece görme keskinliğinde stabilizasyon sağlarken, anti-VEGF tedavisi daha az oküler yan etki ile görsel iyileşme sağlayabilir. Funatsu ve arkadaşları diyabetik maküla ödemli hastalarda vitreusda artmış VEGF seviyesini bulmuşlardır (142). Yapılan çalışmalarda deneysel diyabette ve diyabetik retinopati gözlerde vitreus ve hümör aközde VEGF-A'nın alt gruplarından olan VEGF-165'in yüksek olduğu bulunmuştur (141). VEGF ailesi üyeleri, örtüşen bir şekilde üç reseptör tirozin kinaza; VEGFR1, VEGFR2 ve VEGFR3'e bağlanır. VEGFA'ya verilen in vivo anjiyojenik yanıtı esas olarak VEGFR2'nin aktivasyonu aracılığıyla eder.

Bevacizumab human monoklonal antikoru olup, VEGF-A'nın tüm izoformlarını inhibe eder. Kolorektal kanser tedavisinde FDA tarafından onaylanmış olup, göz için kullanımı off-label"dır. Retinanın tüm katlarını geçebilmektedir, ancak %1,9-4,4 oranında tromboemboli riski bulunmaktadır. Diyabetik retinopatide kullanım endikasyonları; maküla ödemi, iris neovaskularizasyonu, retina ve disk neovaskularizasyonu, vitrektomi sonrası re proliferasyon ve tekrar kanamadan korunmaktır. Haritoğlu ve ark. diyabetik maküla ödemli 51 göze 1,25 mg Bevacizumab içeren 0,05 ml enjeksiyon uygulamışlar ve 6 haftalık izlemde %29'unda, 12 haftalık izlemde ise %26'sında en az 3 sıralık görme artışı elde etmişlerdir. Bu çalışmada ortalama santral retina kalınlığında görme keskinliği

ile ilişkili anlamlı azalma saptanmıştır (144). Jin ve arkadaşları STZ ile deneysel diyabetik retinopati oluşturdukları ratlarda VEGF ekspresyon miktarını intravitreal bevacizumab enjeksiyonundan 1 hafta sonra 1ve 2 ay sonraya göre anlamlı şekilde daha düşük görmüşler (152). Aynı şekilde STZ ile deneysel diyabetik retinopati oluşturduğumuz çalışmamızda; intraperitoneal bevacizumab enjeksiyonundan bir hafta sonra Sham grubunda 5 ratta VEGFA'ya rastlanırken, Bevacizumab grubunda sadece bir ratta rastlandı. İki grup arasında VEGFA düzeylerinde istatistiksel analizde anlamlı farklılık görüldü (p: 0.020).

Halihazırda mevcut olan anti-VEGF'lerle makulayı mümkün olduğu kadar kurutmak ve optimal tedavi sonuçları elde etmek için genellikle yoğun tedavi gerekir. Bununla birlikte, diyabetik maküla ödemli (DMÖ) hastalar, çoklu komorbiditeler nedeniyle sıklıkla yüksek bir tıbbi yük taşırlar ve gerçek dünyadaki kanıtlar bunun yüksek oranlarda tedaviye uyumsuzluk, DMÖ için yetersiz tedavi ve dolayısıyla daha düşük görsel kazanımlarla sonuçlanabileceğini göstermektedir. Bu nedenle, DMÖ'lü hastalarda görsel işlevi korurken, daha düşük enjeksiyon sıklığı ve takip yoluyla yanıt oranını iyileştirmek ve/veya tedavi yükünü azaltmak için daha ileri tedavi seçeneklerine ihtiyaç vardır. Bu arayışla göz içi enjeksiyonda daha güçlü olabilecek anti-VEGF ajanlara yönelik yaptığımız literatür taramasında yeni anti-VEGF ajanlardan olan ramucirumab'ı (Cynamza®) görmekteyiz. Ramucirumab spesifik olarak VEGFR-2 antagonistidir ve tamamen insan IgG1 monoklonal antikordur. İnsan VEGFR-2'ye yüksek afinite ile bağlanır ve VEGFR-2'nin ligandları olan VEGF-A, -C ve -D'ye bağlanmasını güçlü bir şekilde inhibe eder; bu eylem, ligand kaynaklı VEGFR-2 aktivasyonunu ve anjiyogenez için kritik olan sinyal mekanizmasını inhibe eder (22-25). Ramucirumab, VEGFR-2'ye oldukça özgüdür ve insan VEGFR-1 veya VEGFR-3 ile çapraz reaksiyona girmez (22). Bu etkisinden dolayı intravitreal anti-VEGF ilaçların en çok korkulan sistemik istenmeyen etkisi olan miyokard infarktüsü gibi etkilerden de nispeten diğer geniş spektrumlu anti-VEGF ajanlara göre korunmuş olunağını bize düşündürmektedir. Ramucirumab, ABD'de ilerlemiş veya rezeke edilemeyen hepatoselüler karsinomun (HCC) ikinci basamak tedavisi için onaylanmıştır (22). Mevcut literatürü taradığımızda henüz oftalmolojik olarak çalışılmadığına rastladık. İlerlemiş solid tümörleri olan hastalarda, ramucirumab

ortalama minimum konsantrasyonları (Cmin) haftada bir kez 2–16 mg/kg'lık bir dozaj aralığında hedef seviyeleri aşmıştır. Bununla birlikte, ramucirumab klerensi  $\geq 8$  mg/kg'da doymuş olup ve bu dozajda tam bir VEGFR-2 blokajı olasılığının yüksek olduğunu gösterdiği bildirilmiştir (36). Bu çalışmaya ve 2 veya 3 haftada bir dozaj planlarını değerlendiren başka bir çalışmaya dayanarak, ramucirumab için önerilen faz 2 dozu 2 haftada bir 8 mg/kg veya 3 haftada bir 10 mg/kg olmuştur (146, 147). Biz de çalışmamızda literatürden destek alarak ratları sakrifiye etmeden bir hafta önce tek seferlik 8 mg/kg ramucirumab'ı intraperitoneal enjeksiyon şeklinde uyguladık. Çalışmamızda Sham grubu ile karşılaştırıldığında Ramucirumab grubunda VEGF-A düzeyi istatistiksel anlamlı olarak daha düşüktü (p: 0.023). Ramucirumab grubunda VEGF-A düzeyi 0 pg/mg prot çıkmakla beraber Bevacizumab grubu ile aralarında istatistiksel farklılığa rastlamadık. Daha ileri ve denek sayısının çok olduğu çalışmalara ihtiyaç olmakla beraber bu sonuçlar bize ramucirumab'ın göz içindeki VEGF-A düzeylerinde daha fazla düşüşe neden olduğunu düşündürmektedir.

Mevcut Anti-VEGF ajanlara yetersiz yanıt, DRP'nin patogenezi sırasında VEGF'den başka moleküler yolların dahil olmasıyla ilişkilendirilebilir. Yeni alternatif tedavilerin geliştirilmesi için potansiyel hedefler sağlayabilecek olan DRP'nin altında yatan mekanizmaları araştıran çalışmalar büyük önem taşımaktadır (53). Enflamasyon, DRP patogeneziinde önemli bir rol oynar. Kronik düşük dereceli inflamasyon, hem diyabetik hayvan modellerinde hem de hastalarda DRP'nin farklı evrelerinde geniş çapta tespit edilmiştir (53). Lökostaz, DRP'nin erken evresinde anahtar bir süreç olarak kabul edilmiştir. 1991'de Schröder ve ark. streptozotosin (STZ) ile indüklenen diyabetik ratlarda ilk olarak monositler ve granülositler tarafından retinal mikrovaskülatörlerin tıkanıldığını bildirmiştir (153). Koleva-Georgieva ve ark. çalışmasında tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin 6 (IL-6), IL-8 ve IL-1 $\beta$  gibi enflamatuvar sitokinler diyabetik hastalarda önemli ölçüde up-regüle görülmüş ve bunların ekspresyon seviyeleri DRP'nin ciddiyeti ile korele olarak bildirilmiştir (154). Astrositler, Müller hücreleri ve mikroglia dahil olmak üzere retinadaki glial hücreler, retinada yapısal destek sağlamaktan ve homeostazi sürdürmekten sorumludur. Hiperglisemik stres altında, mikroglia aktive olur, ardından TNF- $\alpha$ , IL-6, MCP-1 ve VEGF'nin salgılanması artar (155). Çalışmamızda da literatür ile

uyumlu olarak diyabet oluşturulan Sham ve tedavi gruplarında Kontrol grubuna göre IL-1 $\beta$  düzeyleri anlamlı olarak daha yüksek görüldü. Bevacizumab ve Ramucirumab gruplarında Sham grubuna göre IL-1 $\beta$  düzeyleri anlamlı olarak daha düşük görüldü.

Su ve arkadaşlarının çalışmalarında, streptozotosin ile diyabet oluşturulan ratların retinopati progresyonunun izleminde, erken dönemde hiperglisemi ve mikroanjiopati gelişimi görülmüş, ratlar normoglisemik hale getirilerek uzun dönem takipleri değerlendirildiğinde, normoglisemiye rağmen retinopati progresyonunun devam ettiği saptanmıştır (156). Diyabetin erken döneminde, dördüncü haftaya kadar vasküler yapılarda henüz fonksiyonel ve spesifik değişimler başlamadan morfolojik değişikliklerin başladığı belirtilmiş, geç dönemde de kan şekeri regülasyonuna rağmen progresyonun devam ettiği gözlenmiştir (157). Bu durum DRP progresyonundaki diğer etkenlerin önemini ortaya koymaktadır. Diyabetik retinopatinin progresyonuna oksidatif stresin etkisini incelemek amacıyla yapılan Beyazyıldız ve ark.'nın çalışmasında; DRP'li grupta Kontrol grubuna göre serumdaki oksidatif stres ürünlerinin arttığı, antioksidan enzim aktivitesinin ise azaldığı bildirilmiştir (158). Deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda veya diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir (159). Çalışmamızda bu durum ile uyumlu olarak antioksidan ajanlardan olan süperoksit dismutaz (SOD) düzeyleri Sham grubunda Kontrol ve tedavi gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük görüldü. SOD düzeylerinde Ramucirumab ve Bevacizumab grupları arasında farklılık görülmedi. Tedavide kullandığımız ilaçların bilinen etki mekanizmasında antioksidan mekanizma olmamasına rağmen muhtemelen oküler VEGF yükünü azaltarak inflamatuvar parametreleri ve oksidatif stresi de azalttığını düşündürmektedir. Bu teorimizin daha geniş çaplı ve denek sayısının fazla olduğu çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

Retinal nörodejenerasyon, DRP'nin ilerlemesi sırasında erken bir olaydır. Retinal nöronların apoptozisi, diyabetik sıçanlarda diyabetin indüklenmesinden bir ay kadar erken bir tarihte gözlemlenebileceği bildirilmiştir (160). Yarı kaspaz-3, Bax ve Fas gibi proapoptotik moleküllerin up-regülasyonu, diyabetik hayvanlarda ve deneklerde retina nöronlarında tespit edilmiştir (161). İn vitro çalışmalar, yüksek glukoz maruziyetinin

artmış mitokondriyal fragmentasyon ve hücre apoptozu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (162). Literetür ile benzer olarak çalışmamızda da yapılan TUNEL boyamada diyabet oluşturulan ratlarda daha fazla apoptozis olduğu görüldü. Mitokondriyal hasara ek olarak, diyabet kaynaklı retina dejenerasyonunda oksidatif stresin rolü de geniş çapta araştırılmıştır. Diyabetik fare retinasında reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi önemli ölçüde artar (163). Sasaki ve ark. Çalışmalarında ROS oluşumunun baskılanması ile görme bozukluğunun ve kaspaz-3 aracılı retina nöronal apoptozun etkili bir şekilde inhibe olduğunu bildirmişlerdir (163). Retina nörodejenerasyonunun DRP'nin bağımsız bir patofizyolojisi olabileceğine dair artan kanıtlar var. Shon ve ark. bir fare diyabet modellerinde mikrovasküler değişikliklerin varlığından önce ganglion hücrelerinin kaybı ve retinal kalınlıkta azalma olduğunu gözlemlemiştir (164). Retina nörodejenerasyonunun altında yatan moleküler mekanizmaların daha fazla araştırılması, DRP'de erken müdahale için potansiyel terapötik hedefler sağlayabilir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular literatür ile benzer olarak deneysel diyabetik retinopati modelini başarılı bir şekilde gerçekleştirdiğimizi göstermekte olup ramucirumab'ın bevacizumaba göre histopatolojik ve biyokimyasal olarak DRP bulgularında daha iyi bir iyileştirme yaptığını göstermektedir. Bulgularımızın daha fazla denek içeren çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

## 5. KAYNAKLAR

1. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes care*. 2015;38:8-16.
2. Edward J Boyko DJM, Suvi Karuranga, Lorenzo Piemonte, Phil Riley, Pouya Saeedi, , Sun H. *IDF Diabetes Atlas 10th edition (Vol. 10) 2021*;5(3):34-38
3. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes care*. 2004;27(5): 1047-1053.
4. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dincag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *European Journal Of Epidemiology*. 2013;28(2):169-180.
5. Lascar N, Brown J, Pattison H, Barnett AH, Bailey CJ, Bellary S. Type 2 diabetes in adolescents and young adults. *The Lancet Diabetes & endocrinology*. 2018;6(1):69-80.
6. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, Lamoureux EL, Kowalski JW, Bek T, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-564.
7. Shukla UV, Tripathy K. Diabetic retinopathy. *StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing*, 2022;17(4):4-7.
8. Cahill M, Halley A, Codd M, O'Meara N, Firth R, Mooney D, et al. Prevalence of diabetic retinopathy in patients with diabetes mellitus diagnosed after the age of 70 years. *British Journal Of Ophthalmology*. 1997;81(3):218-222.
9. Behl T, Kotwani A. Exploring the various aspects of the pathological role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in diabetic retinopathy. *Pharmacological Research*. 2015;99:137-148.

10. Kador PF, Wyman M, Oates PJ. Aldose reductase, ocular diabetic complications and the development of topical Kinostat®. *Progress in retinal and eye research*. 2016;54:1-29.
11. Cai S, Bressler NM. Aflibercept, bevacizumab or ranibizumab for diabetic macular oedema: recent clinically relevant findings from DRCR. net Protocol T. *Current Opinion in Ophthalmology*. 2017;28(6):636-643.
12. Vaziri K, Schwartz SG, Relhan N, Kishor KS, Flynn Jr HW. New therapeutic approaches in diabetic retinopathy. *The review of diabetic studies: RDS*. 2015;12(1-2):196.
13. Kumar A, Tripathy K, Chawla R. Intraocular use of bevacizumab in India: An issue resolved? *The National medical journal of India*. 2017;30(6):345-347.
14. Lattanzio R, Cicinelli MV, Bandello F. Intravitreal steroids in diabetic macular edema. *Management of Diabetic Retinopathy*. 2017;60:78-90.
15. Olivares AM, Althoff K, Chen GF, Wu S, Morrisson MA, DeAngelis MM, et al. Animal models of diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reports*. 2017;17(10):1-17.
16. Rakeiten N. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin. *Cancer Chemother Rep*. 1963;29:91-98.
17. Makino S, Kunimoto K, Muraoka Y, Mizushima Y, Katagiri K, Tochino Y. Breeding of a non-obese, diabetic strain of mice. *Experimental Animals*. 1980;29(1):1-13.
18. Pearson JA, Wong FS, Wen L. The importance of the Non Obese Diabetic (NOD) mouse model in autoimmune diabetes. *Journal of autoimmunity*. 2016;66:76-88.
19. Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL. Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science*. 1966;153(3740):1127-1128.

20. Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, et al. Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice. *Cell*. 1996;84(3):491-495.
21. Miyamoto K, Hiroshiba N, Tsujikawa A, Ogura Y. In vivo demonstration of increased leukocyte entrapment in retinal microcirculation of diabetic rats. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 1998;39(11):2190-2194.
22. Syed YY. Ramucirumab: a review in hepatocellular carcinoma. *Drugs*. 2020; 80(3): 315-322.
23. Miao H-Q, Hu K, Jimenez X, Navarro E, Zhang H, Lu D, et al. Potent neutralization of VEGF biological activities with a fully human antibody Fab fragment directed against VEGF receptor 2. *Biochemical and biophysical research communications*. 2006;345(1):438-445.
24. Lu D, Shen J, Vil MD, Zhang H, Jimenez X, Bohlen P, et al. Tailoring in vitro selection for a picomolar affinity human antibody directed against vascular endothelial growth factor receptor 2 for enhanced neutralizing activity. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(44):43496-43507.
25. Zhu Z, Hattori K, Zhang H, Jimenez X, Ludwig D, Dias S, et al. Inhibition of human leukemia in an animal model with human antibodies directed against vascular endothelial growth factor receptor 2. Correlation between antibody affinity and biological activity. *Leukemia*. 2003;17(3):604-611.
26. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. *Diabetes research and Clinical Practice*. 2019;157:107843.
27. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. 2020;43(1):14-31.

28. Masland RH. The neuronal organization of the retina. *Neuron*. 2012;76(2):266-280.
29. Spalton DJ, Hitchings RA, Hunter P. Atlas of Clinical Ophthalmology E-Book: Elsevier Health Sciences. 2013;18(3):12-59.
30. Mahabadi N, Al Khalili Y. Neuroanatomy, retina. StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing. 2021:1-7.
31. O'dwyer P. Temel göz hastalıkları. Baskı Ankara Güneş Kitabevi. 2015:415-428.
32. Müstakim H. Farklı yöntemler ile retina dekolmanı tedavisi yapılan hastalarda maküla segment kalınlıklarının optik kohorens tomografi ile değerlendirilmesi. Uzmanlık tezi. 2017:2-8.
33. Salmon JF. 9th Edition. Kanski's Clinical Ophthalmology. 2020:495-513.
34. Snell RS, Lemp MA. Clinical anatomy of the eye: John Wiley & Sons. 2013;25(2):30-38.
35. Gartner H. Gartner & Hiatt's Atlas and Text of Histology. 7th edition. 2017;21(4):58-64.
36. Li H, Wang Y, Wan C, Shen J, Chen Z, Ye H, et al., editors. MAU-Net: a retinal vessels segmentation method. 2020 42nd annual international conference of the IEEE engineering in medicine & biology society (EMBC). 2020:10-14.
37. Guo S, Yin S, Tse G, Li G, Su L, Liu T. Association between caliber of retinal vessels and cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Current Atherosclerosis Reports*. 2020;22(4):1-13.
38. Füchtbauer L, Olsson DS, Coopmans EC, Bengtsson B-Å, Norrman L-L, Neggers SJ, et al. Increased number of retinal vessels in acromegaly. *European Journal of Endocrinology*. 2020;182(3):293-302.

39. Özdemir H, Arf S, Karaçorlu M. Maküla hastalıklarında optik koherens tomografi. İstanbul: Güneş Tıp Kitapevleri. 2015:3-21.
40. Louis B. Cantor CJR, George A. Cioffi. Fundamentals and Principles of Ophthalmology. 2014:2-5.
41. Maderuelo-Fernandez JA, Garcia-Garcia A, Chamoso P, Recio-Rodríguez JI, Rodríguez-González S, Patino-Alonso MC, et al. Automatic image analyser to assess retinal vessel calibre (ALTAIR). A new tool to evaluate the thickness, area and length of the vessels of the retina. International Journal of Medical Informatics. 2020;136-148.
42. Eisma JH, Dulle JE, Fort PE. Current knowledge on diabetic retinopathy from human donor tissues. World journal of diabetes. 2015;6(2):312.
43. Nathan D, Genuth S, Lachin J, Cleary P, Crofford O, Davis M, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The New England journal of medicine. 1993;329(14):977-986.
44. Group UPDS. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). The lancet. 1998;352(9131):837-853.
45. Sayin N, Kara N, Pekel G. Ocular complications of diabetes mellitus. World journal of diabetes. 2015;6(1):92.
46. Nittala MG, Keane PA, Zhang K, Sadda SR. Risk factors for proliferative diabetic retinopathy in a Latino American population. Retina (Philadelphia, Pa). 2014;34(8):1594.
47. Wang Y, Lin Z, Zhai G, Ding XX, Wen L, Li D, et al. Prevalence of and Risk Factors for Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema in Patients with

- Early-and Late-Onset Diabetes Mellitus. *Ophthalmic research*. 2022;65(3):293-299.
48. Schreur V, van Asten F, Ng H, Weeda J, Groenewoud JM, Tack CJ, et al. Risk factors for development and progression of diabetic retinopathy in Dutch patients with type 1 diabetes mellitus. *Acta ophthalmologica*. 2018;96(5):459-464.
  49. Wilkinson-Berka JL, Miller AG. Update on the treatment of diabetic retinopathy. *TheScientificWorld Journal*. 2008;8:98-120.
  50. Moutray T, Evans JR, Lois N, Armstrong DJ, Peto T, Azuara A. Different lasers and techniques for proliferative diabetic retinopathy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018;3:18-20.
  51. Gupta V, Arevalo JF. Surgical management of diabetic retinopathy. *Middle East African Journal of Ophthalmology*. 2013;20(4):283.
  52. Kern TS, Antonetti DA, Smith LE. Pathophysiology of diabetic retinopathy: contribution and limitations of laboratory research. *Ophthalmic research*. 2019;62(4):196-202.
  53. Wang W, Lo AC. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments. *International journal Of Molecular Sciences*. 2018;19(6):1816.
  54. Coughlin BA, Feenstra DJ, Mohr S. Müller cells and diabetic retinopathy. *Vision Research*. 2017;139:93-100.
  55. Curtis TM, Hamilton R, Yong P-H, McVicar C, Berner A, Pringle R, et al. Müller glial dysfunction during diabetic retinopathy in rats is linked to accumulation of advanced glycation end-products and advanced lipoxidation end-products. *Diabetologia*. 2011;54(3):690-698.

56. Pannicke T, Iandiev I, Wurm A, Uckermann O, vom Hagen F, Reichenbach A, et al. Diabetes alters osmotic swelling characteristics and membrane conductance of glial cells in rat retina. *Diabetes*. 2006;55(3):633-639.
57. Vujosevic S, Midena E. Retinal layers changes in human preclinical and early clinical diabetic retinopathy support early retinal neuronal and Müller cells alterations. *Journal of Diabetes Research*. 2013:4-6.
58. Cai J, Boulton M. The pathogenesis of diabetic retinopathy: old concepts and new questions. *Eye*. 2002;16(3):242-260.
59. Lei X, Zhang J, Shen J, Hu L-M, Wu Y, Mou L, et al. EPO attenuates inflammatory cytokines by Muller cells in diabetic retinopathy. *Frontiers in Bioscience*. 2011;3:201-211.
60. Garner A. Histopathology of diabetic retinopathy in man. *Eye*. 1993;7(2):250-253.
61. Crăițoiu S. The morphopathological aspects of diabetic retinopathy. *Oftalmologia*. 1992;36(2):141-148.
62. Pannicke T, Iandiev I, Uckermann O, Biedermann B, Kutzera F, Wiedemann P, et al. A potassium channel-linked mechanism of glial cell swelling in the postischemic retina. *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2004;26(4):493-502.
63. Reichenbach A, Wurm A, Pannicke T, Iandiev I, Wiedemann P, Bringmann A. Müller cells as players in retinal degeneration and edema. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2007;245(5):627-636.
64. Kanski J. Diabetic retinopathy--a preventable cause of blindness. *The Practitioner*. 1985;229(1402):343-348.
65. Ezra E, Keinan E, Mandel Y, Boulton ME, Nahmias Y. Non-dimensional analysis of retinal microaneurysms: critical threshold for treatment. *Integrative Biology*. 2013;5(3):474-480.

66. Ruia S, Tripathy K. Fluorescein Angiography. StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing. 2021:8-10.
67. Group ETDRSR. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs—an extension of the modified Airlie House classification: ETDRS report number 10. *Ophthalmology*. 1991;98(5):786-806.
68. Group ETDRSR. Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms: ETDRS report number 11. *Ophthalmology*. 1991;98(5):807-822.
69. Tripathy K, Raj Sharma Y, Chawla R, Gogia V, Kumar Singh S, Venkatesh P, et al. Recent advances in management of diabetic macular edema. *Current Diabetes Reviews*. 2015;11(2):79-97.
70. Jorge EC, Jorge EN, Botelho M, Farat JG, Virgili G, El Dib R. Monotherapy laser photocoagulation for diabetic macular oedema. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2018;10:36-39.
71. Wilkinson CP, Ferris III FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003;110(9):1677-1682.
72. Zhang Q, Zhao G, Yang N, Zhang L. Fasting blood glucose levels in patients with different types of diseases. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2019;162:277-292.
73. Kwan CC, Fawzi AA. Imaging and biomarkers in diabetic macular edema and diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reports*. 2019;19(10):1-10.
74. Tripathy K, Chawla R, Venkatesh P, Sharma Y, Vohra R. Ultrawide field imaging in uveitic non-dilating pupils. *Journal of Ophthalmic & Vision Research*. 2017;12(2): 49-52.

75. Tripathy K, Chawla R, Vohra R. Evaluation of the fundus in poorly dilating diabetic pupils using ultrawide field imaging. *Clinical and Experimental Optometry*. 2017;100(6):735-736.
76. Muqit MM, Marcellino GR, Henson DB, Young LB, Patton N, Charles SJ, et al. Optos- guided pattern scan laser (Pascal)- targeted retinal photocoagulation in proliferative diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmologica*. 2013;91(3):251-258.
77. Nikkhah H, Ghazi H, Razzaghi MR, Karimi S, Ramezani A, Soheilian M. Extended targeted retinal photocoagulation versus conventional pan-retinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy in a randomized clinical trial. *International Ophthalmology*. 2018;38(1):313-321.
78. Brown DM, Ou WC, Wong TP, Kim RY, Croft DE, Wykoff CC, et al. Targeted retinal photocoagulation for diabetic macular edema with peripheral retinal nonperfusion: three-year randomized DAVE trial. *Ophthalmology*. 2018;125(5):683-690.
79. Lajmi H, Hmaied W, Othmen AB, Chelly Z, El Fekih L. Optical coherence tomography angiography microvascular changes in diabetics without diabetic retinopathy. *Saudi Journal of Ophthalmology*. 2020;34(3):156.
80. Group ETDRSR. Early photocoagulation for diabetic retinopathy: ETDRS report number 9. *Ophthalmology*. 1991;98(5):766-785.
81. Stefanini FR, Arevalo JF, Maia M. Bevacizumab for the management of diabetic macular edema. *World Journal of Diabetes*. 2013;4(2):19.
82. Network DRCR. A phase II randomized clinical trial of intravitreal bevacizumab for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2007;114(10):1860-1867.

83. Nguyen QD, Shah SM, Heier JS, Do DV, Lim J, Boyer D, et al. Primary End Point (Six Months) Results of the Ranibizumab for Edema of the mAcula in diabetes (READ-2) study. *Ophthalmology*. 2009;116(11):2175-2181.
84. Michaelides M, Kaines A, Hamilton RD, Fraser-Bell S, Rajendram R, Quhill F, et al. A prospective randomized trial of intravitreal bevacizumab or laser therapy in the management of diabetic macular edema (BOLT study): 12-month data: report 2. *Ophthalmology*. 2010;117(6):1078-1086.
85. Rajendram R, Fraser-Bell S, Kaines A, Michaelides M, Hamilton RD, Degli Esposti S, et al. A 2-year prospective randomized controlled trial of intravitreal bevacizumab or laser therapy (BOLT) in the management of diabetic macular edema: 24-month data: report 3. *Archives of Ophthalmology*. 2012;130(8):972-979.
86. Brown DM, Nguyen QD, Ehrlich JS, RISE, Group RR. Ranibizumab for diabetic macular edema. Author reply. *Ophthalmology*. 2013;120(1):221-222.
87. Brown DM, Nguyen QD, Marcus DM, Boyer DS, Patel S, Feiner L, et al. Long-term outcomes of ranibizumab therapy for diabetic macular edema: the 36-month results from two phase III trials: RISE and RIDE. *Ophthalmology*. 2013;120(10):145-158.
88. Massin P, Bandello F, Garweg JG, Hansen LL, Harding SP, Larsen M, et al. Safety and Efficacy of Ranibizumab in Diabetic Macular Edema (RESOLVE Study) A 12-month, randomized, controlled, double-masked, multicenter phase II study. *Diabetes Care*. 2010;33(11):2399-23405.
89. Elman MJ, Aiello LP, Beck RW, Bressler NM, Bressler SB, Edwards AR, et al. Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2010;117(6):1064-1077.

90. Mitchell P, Bandello F, Schmidt-Erfurth U, Lang GE, Massin P, Schlingemann RO, et al. The RESTORE study: ranibizumab monotherapy or combined with laser versus laser monotherapy for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011;118(4):615-625.
91. Do DV, Schmidt-Erfurth U, Gonzalez VH, Gordon CM, Tolentino M, Berliner AJ, et al. The DA VINCI Study: phase 2 primary results of VEGF Trap-Eye in patients with diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011;118(9):1819-1826.
92. Korobelnik JF, Do DV, Schmidt-Erfurth U, Boyer DS, Holz FG, Heier JS, et al. Intravitreal aflibercept for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2014; 121(11):2247-2254.
93. Wells JA, Glassman AR, Ayala AR, Jampol LM, Aiello LP, Antoszyk AN, et al. Aflibercept, bevacizumab, or ranibizumab for diabetic macular edema. *The New England journal of medicine*. 2015;372(13):1193-11203.
94. Group MDRS. A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an Anti-Vascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2005;112(10):1747-1757.
95. Sultan MB, Zhou D, Loftus J, Dombi T, Ice KS, Group MS. A phase 2/3, multicenter, randomized, double-masked, 2-year trial of pegaptanib sodium for the treatment of diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2011;118(6):1107-1118.
96. Brown DM, Emanuelli A, Bandello F, Barranco JJE, Figueira J, Souied E, et al. KESTREL and KITE: 52-week results from two Phase III pivotal trials of brolicizumab for diabetic macular edema. *American Journal of Ophthalmology*. 2022;238:157-172.
97. Maturi RK, Glassman AR, Liu D, Beck RW, Bhavsar AR, Bressler NM, et al. Effect of adding dexamethasone to continued ranibizumab treatment in patients

- with persistent diabetic macular edema: a DRCR network phase 2 randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmology*. 2018;136(1):29-38.
98. Hussain RM, Ciulla TA. Treatment strategies for refractory diabetic macular edema: switching anti-VEGF treatments, adopting corticosteroid-based treatments, and combination therapy. *Expert Opinion On Biological Therapy*. 2016;16(3):365-374.
  99. Jiang AC, Srivastava SK, Hu M, Figueiredo N, Babiuch A, Boss JD, et al. Quantitative ultra-widefield angiographic features and associations with diabetic macular edema. *Ophthalmology Retina*. 2020;4(1):49-56.
  100. Khan Z, Kuriakose RK, Khan M, Chin EK, Almeida DR. Efficacy of the intravitreal sustained-release dexamethasone implant for diabetic macular edema refractory to anti-vascular endothelial growth factor therapy: meta-analysis and clinical implications. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*. 2017;48(2):160-166.
  101. Bresnick GH. Diabetic macular edema: a review. *Ophthalmology*. 1986;93(7):989-997.
  102. Usman M. An overview of our current understanding of diabetic macular ischemia (DMI). *Cureus*. 2018;10(7):58-63.
  103. Shah KB, Han DP. Proliferative diabetic retinopathy. *International ophthalmology Clinics*. 2004;44(4):69-84.
  104. Kansora MB, Goldhardt R. Decision making in proliferative diabetic retinopathy treatment. *Current ophthalmology Reports*. 2019;7(1):45-50.
  105. Sun JK, Glassman AR, Beaulieu WT, Stockdale CR, Bressler NM, Flaxel C, et al. Rationale and application of the protocol S anti-vascular endothelial growth factor

- algorithm for proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology*. 2019;126(1):87-95.
106. El Annan J, Carvounis PE. Current management of vitreous hemorrhage due to proliferative diabetic retinopathy. *International Ophthalmology Clinics*. 2014; 54(2):141.
  107. Dysli M, Rückert R, Munk MR. Differentiation of underlying pathologies of macular edema using spectral domain optical coherence tomography (SD-OCT). *Ocular Immunology and Inflammation*. 2019;27(3):474-483.
  108. Singh D, Tripathy K. Retinal Macroaneurysm. *StatPearls [Internet]: StatPearls Publishing*. 2021:5-9.
  109. Bonanomi MTBC, Lavezzo MM. Sick cell retinopathy: diagnosis and treatment. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*. 2013;76:320-327.
  110. Hassan A, Lanzino G, Wijdicks EF, Rabinstein AA, Flemming KD. Terson's syndrome. *Neurocritical Care*. 2011;15(3):554-558.
  111. Tripathy K, Mazumdar S. Recurrent retinal and choroidal ischemia in a case of ocular ischemic syndrome. *Therapeutic Advances in Ophthalmology*. 2019;11: 489.
  112. Scott IU, Figueroa MJ, Oden NL, Ip MS, Blodi BA, VanVeldhuisen PC, et al. SCORE2 Report 5: vision-related function in patients with macular edema secondary to central retinal or hemiretinal vein occlusion. *American journal of Ophthalmology*. 2017;184:147-156.
  113. Simakurthy S, Tripathy K. Valsalva retinopathy. 2019:4.
  114. Heydarian S, Jafari R, Dailami KN, Hashemi H, Jafarzadehpour E, Heirani M, et al. Ocular abnormalities in beta thalassemia patients: prevalence, impact, and management strategies. *International Ophthalmology*. 2020;40(2):511-527.

115. Schönfeld C, Schneider T, Körner U, Heidenkummer H, Kampik A. Prognostic factors in vitreous surgery for proliferative diabetic retinopathy. *German Journal of Ophthalmology*. 1994;3(3):137-143.
116. Fernández-Vigo J, Fandiño J, Cordido M. Prognostic factors in the treatment of edematous diabetic retinopathy with focal photocoagulation. *Ophthalmologie: Organe de la Societe Francaise D'ophtalmologie*. 1988;2(4):311-314.
117. Acón D, Wu L. Multimodal imaging in diabetic macular edema. *The Asia-Pacific Journal of Ophthalmology*. 2018;7(1):22-27.
118. Stewart MW, Browning DJ, Landers MB. Current management of diabetic tractional retinal detachments. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2018;66(12):1751.
119. Gross J, Glassman A, Liu D, Sun J, Antoszyk A, Baker C, et al. Diabetic Retinopathy Clinical Research Network. Five-year outcomes of panretinal photocoagulation vs intravitreal ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: a randomized clinical trial. *JAMA Ophthalmol*. 2018;136(10):1138-1148.
120. Tseng VL, Greenberg PB, Scott IU, Anderson KL. Compliance with the American Academy of Ophthalmology Preferred Practice Pattern for Diabetic Retinopathy in a resident ophthalmology clinic. *Retina*. 2010;30(5):787-794.
121. Physicians ACo, Association AD, Ophthalmology AAo. Screening guidelines for diabetic retinopathy. *Annals of Internal Medicine*. 1992;116(8):683-685.
122. Engerman RL, Kern TS. Experimental galactosemia produces diabetic-like retinopathy. *Diabetes*. 1984;33(1):97-100.
123. Eleazu CO, Eleazu KC, Chukwuma S, Essien UN. Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its

- practical use and potential risk to humans. *Journal of diabetes & metabolic disorders*. 2013;12(1):1-7.
124. Lai AKW, Lo AC. Animal models of diabetic retinopathy: summary and comparison. *Journal of Diabetes Research*. 2013:3-6.
  125. Feit-Leichman RA, Kinouchi R, Takeda M, Fan Z, Mohr S, Kern TS, et al. Vascular damage in a mouse model of diabetic retinopathy: relation to neuronal and glial changes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2005;46(11):4281-4287.
  126. Kumar S, Zhuo L. Longitudinal in vivo imaging of retinal gliosis in a diabetic mouse model. *Experimental Eye Research*. 2010;91(4):530-536.
  127. Yang Y, Hayden MR, Sowers S, Bagree SV, Sowers JR. Retinal redox stress and remodeling in cardiometabolic syndrome and diabetes. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2010;3(6):392-403.
  128. Martin PM, Roon P, Van Ells TK, Ganapathy V, Smith SB. Death of retinal neurons in streptozotocin-induced diabetic mice. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2004;45(9):3330-3336.
  129. Su L, Ji J, Bian J, Fu Y, Ge Y, Yuan Z. Tacrolimus (FK506) prevents early retinal neovascularization in streptozotocin-induced diabetic mice. *International Immunopharmacology*. 2012;14(4):606-612.
  130. Zhang J, Wu Y, Jin Y, Ji F, Sinclair SH, Luo Y, et al. Intravitreal injection of erythropoietin protects both retinal vascular and neuronal cells in early diabetes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008;49(2):732-742.
  131. Rungger-Brändle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Investigative Ophthalmology & visual science*. 2000;41(7): 1971-1980.

132. Li L, Li YL, Zhou YF, Ge Zy, Wang LL, Li ZQ, et al. Jiangtang Xiaozhi Recipe prevents diabetic retinopathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chinese Journal of Integrative Medicine*. 2017;23(6):425-432.
133. Anderson H, Stitt A, Gardiner T, Lloyd S, Archer D. Induction of alloxan/streptozotocin diabetes in dogs: a revised experimental technique. *Laboratory Animals*. 1993;27(3): 281-285.
134. Engerman R, Bloodworth J. Experimental diabetic retinopathy in dogs. *Archives of Ophthalmology*. 1965;73(2): 205-210.
135. Tso M, Kurosawa A, Benhamou E, Bauman A, Jeffrey J, Jonasson O. Microangiopathic retinopathy in experimental diabetic monkeys. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 1988;86:389.
136. Linsenmeier RA, Braun RD, McRipley MA, Padnick LB, Ahmed J, Hatchell D, et al. Retinal hypoxia in long-term diabetic cats. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*. 1998;39:1647-1657.
137. Jo DH, Cho CS, Kim JH, Jun HO, Kim JH. Animal models of diabetic retinopathy: doors to investigate pathogenesis and potential therapeutics. *Journal of Biomedical Science*. 2013;20(1):1-13.
138. Goldsmith JR, Jobin C. Think small: zebrafish as a model system of human pathology. *Journal of Biomedicine And Biotechnology*. 2012:2-4.
139. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *Journal of Cell Science*. 2001;114(5):853-865.
140. Witmer A, Vrensen G, Van Noorden C, Schlingemann R. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2003;22(1):1-29.

141. Usui T, Ishida S, Yamashiro K, Kaji Y, Poulaki V, Moore J, et al. VEGF164 (165) as the pathological isoform: differential leukocyte and endothelial responses through VEGFR1 and VEGFR2. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2004;45(2):368-374.
142. Funatsu H, Yamashita H, Nakamura S, Mimura T, Eguchi S, Noma H, et al. Vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology*. 2006;113(2):294-301.
143. Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine reviews*. 2004;25(4):581-611.
144. Haritoglou C, Kook D, Neubauer A, Wolf A, Priglinger S, Strauss R, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) therapy for persistent diffuse diabetic macular edema. *Retina*. 2006;26(9):999-1005.
145. Prewett M, Huber J, Li Y, Santiago A, O'Connor W, King K, et al. Antivascular endothelial growth factor receptor (fetal liver kinase 1) monoclonal antibody inhibits tumor angiogenesis and growth of several mouse and human tumors. *Cancer Research*. 1999;59(20):5209-5218.
146. Spratlin JL, Cohen RB, Eadens M, Gore L, Camidge DR, Diab S, et al. Phase I pharmacologic and biologic study of ramucirumab (IMC-1121B), a fully human immunoglobulin G1 monoclonal antibody targeting the vascular endothelial growth factor receptor-2. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(5):780.
147. Chiorean E, Hurwitz H, Cohen R, Schwartz J, Dalal R, Fox F, et al. Phase I study of every 2-or 3-week dosing of ramucirumab, a human immunoglobulin G1 monoclonal antibody targeting the vascular endothelial growth factor receptor-2 in patients with advanced solid tumors. *Annals of Oncology*. 2015;26(6):1230-1237.

148. Nokihara H, Yamamoto N, Yamada Y, Honda K, Asahina H, Tamura Y, et al. A phase 1 study of ramucirumab in Japanese patients with advanced solid tumors. *Japanese Journal of Clinical Oncology*. 2017;47(4):298-305.
149. Zhu AX, Finn RS, Mulcahy M, Gurtler J, Sun W, Schwartz JD, et al. A Phase II and Biomarker Study of Ramucirumab, a Human Monoclonal Antibody Targeting the VEGF Receptor-2, as First-Line Monotherapy in Patients with Advanced Hepatocellular CancerPhase II Study of Ramucirumab in Hepatocellular Carcinoma. *Clinical Cancer Research*. 2013;19(23):6614-6623.
150. Martínez-Sánchez G, Al-Dalain SM, Menéndez S, Re L, Giuliani A, Candelario-Jalil E, et al. Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot. *European journal of pharmacology*. 2005;523(1-3):151-161.
151. Moss SE, Klein R, Klein BE. Ten-year incidence of visual loss in a diabetic population. *Ophthalmology*. 1994;101(6):1061-1070.
152. Ma J, Zhu T, Tang X, Ye P, Zhang Z. Effect of an intravitreal injection of bevacizumab on the expression of VEGF and CD34 in the retina of diabetic rats. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. 2010;38(9):875-884.
153. Schröder S, Palinski W, Schmid-Schönbein G. Activated monocytes and granulocytes, capillary nonperfusion, and neovascularization in diabetic retinopathy. *The American Journal of Pathology*. 1991;139(1):81.
154. Koleva-Georgieva DN, Sivkova NP, Terzieva D. Serum inflammatory cytokines IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and VEGF have influence on the development of diabetic retinopathy. *Folia Med (Plovdiv)*. 2011;53(2):44-50.
155. Sorrentino FS, Allkabet M, Salsini G, Bonifazzi C, Perri P. The importance of glial cells in the homeostasis of the retinal microenvironment and their pivotal role in the course of diabetic retinopathy. *Life Sciences*. 2016;162:54-59.

156. Su EN, Alder V, Yu DY, Cringle S, Yogesan K. Continued progression of retinopathy despite spontaneous recovery to normoglycemia in a long-term study of streptozotocin-induced diabetes in rats. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*. 2000;238:163-173.
157. Su EN, Yu DY, Alder VA, Paula KY, Cringle SJ. Altered vasoactivity in the early diabetic eye: measured in the isolated perfused rat eye. *Experimental eye research*. 1995;61(6):699-711.
158. Beyazyıldız E, Çankaya AB, Ergan E, Anayol MA, Özdamar Y, Sezer S, et al. Changes of total antioxidant capacity and total oxidant status of aqueous humor in diabetes patients and correlations with diabetic retinopathy. *International Journal of Ophthalmology*. 2013;6(4):531.
159. Akkuş İ, Kalak S, Vural H, Çağlayan O, Menekşe E, Can G, et al. Leukocyte lipid peroxidation, superoxide dismutase, glutathione peroxidase and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clinica chimica acta*. 1996;244(2):221-227.
160. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *The Journal of clinical investigation*. 1998;102(4):783-791.
161. El-Asrar AMA, Dralands L, Missotten L, Al-Jadaan IA, Geboes K. Expression of apoptosis markers in the retinas of human subjects with diabetes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2004;45(8):2760-2766.
162. Tien T, Zhang J, Muto T, Kim D, Sarthy VP, Roy S. High glucose induces mitochondrial dysfunction in retinal müller cells: Implications for diabetic retinopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2017;58(7):2915-2921.

163. Sasaki M, Ozawa Y, Kurihara T, Kubota S, Yuki K, Noda K, et al. Neurodegenerative influence of oxidative stress in the retina of a murine model of diabetes. *Diabetologia*. 2010;53:971-979.
164. Sohn EH, van Dijk HW, Jiao C, Kok PH, Jeong W, Demirkaya N, et al. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(19):2655-2664.

