

T.C.
İstanbul Bilim Üniversitesi
Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

DİABETİK RETİNOPATİDE VİTREUS VEGF, IL-8 VE TNF- α SEVİYELERİ

(Göz Hastalıkları Uzmanlık Tezi)

Dr. RIFAT RASİER

Tez Danışmanı: Prof.Dr.HALİL BAHÇECİOĞLU

İstanbul- 2010

ÖNSÖZ

Tezimin oluşumunda ve yönlendirilmesinde katkı ve emeğini esirgemeyen tez hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr.Halil BAHÇECİOĞLU'na sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım. İhtisasım süresince bilgi ve deneyimleriyle yetişmemde emekleri geçen Yard.Doç.Dr. Özgür ARTUNAY'a, Yard.Doç.Dr. Erdal YÜZBAŞIOĞLU'na ve vitreus örnekleri toplanmasında yardımlarını esirgemeyen Prof.Dr. Murat ÖNCEL'e teşekkürü bir borç bilirim. Ayrıca Kulak-Burun-Boğaz ve Nöroloji rotasyonlarında Prof.Dr.Süleyman CANDAN ve Prof.Dr.Reha TOLUN'a eğitimim için verdikleri çabalardan dolayı çok teşekkür ederim.

Tezimdeki biokimyasal çalışmalarda ilgi ve yardımları için Yard.Doç.Dr. Uzay GÖRMÜŞ'e, materyal toplanmasında yardımcı olan ameliyathane hemşireleri ve personeli ile bugünlere gelmemi sağlayan aileme teşekkürü borç bilirim.

saygılarımla
Dr. Rifat RASİER

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1. RETİNA.....	3
2.2.MAKULA ANATOMİSİ	5
2.3.KAN-RETİNA BARIYERİ	6
2.4.VİTREUS	7
2.5.DİABETİK RETİNOPATİ.....	8
2.6.GÖZDE SİTOKİNLER	25
3.GEREÇ VE YÖNTEMLER	44
3.1.CİHAZ VE ALETLER	45
3.2.VİTREUS ÖRNEKLERİ ALINMASI VE SAKLANMASI.....	46
3.3. VİTREUS ÖRNEKLERİ ANALİZ YÖNTEMLER	46
4.BULGULAR	47
4.1.İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	48
5.TARTIŞMA.....	56

6.ÖZET..... 62

7.KAYNAKLAR..... 63

RESİMLERİN LİSTESİ

Sayfa No

RESİM 1. Retina tabakaları 4

RESİM 2. Maküla anatomisi 6

RESİM 3. DM'a bağlı retinada gelişen patolojiler 13

TABLULARIN LİSTESİ

Sayfa No

TABLO 1. Diabetik retinopati histopatolojisi	11
TABLO 2. Mikroanjiyopati gelişiminin biyokimyasal mekanizması.....	12
TABLO 3. TNF- α , IL-8 ve VEGF standart deviasyon ve standart hata.....	54
TABLO 4. TNF- α , IL-8 ve VEGF varyans analizi.....	54

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Sayfa No

ŞEKİL 1. VEGF geni exon ve intronları	33
ŞEKİL 2. VEGF intraselüler etki mekanizmaları.....	38
ŞEKİL 3. VEGFR-1,2,3 ve Nörofilin reseptörleri.....	39

GRAFİKLERİN LİSTESİ

Sayfa No

GRAFİK 1. Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı.....	48
GRAFİK 2. TNF- α ortalaması ve standart sapması	49
GRAFİK 3. VEGF ortalaması ve standart sapması.....	50
GRAFİK 4. IL-8 ortalaması ve standart sapması	51
GRAFİK 5. TNF- α saçılım eğrisi.....	52
GRAFİK 6. VEGF saçılım eğrisi	53
GRAFİK 7. IL-8 saçılım eğrisi.....	54

KISALTMALAR

CCL-2 : Kemokin ligandı 2

CXCL-10: CXC kemokin ligandı

DCCT : Diabetes Control and Complications Trial

DM : Diabetes mellitus

DM tip I : İnsuline Bağımlı Diabetes Mellitus

DM tip II : İnsuline Bağımsız Diabetes Mellitus

DMÖ : Diabetik makula ödemi

DR : Diabetik Retinopati

DRVS : Diyabetik Retinopati Vitrektomi Çalışma Grubu

EGF : Epidermal büyüme faktörü

ETDRS : Early Treatment Diabetic Retinopathy Study

FAZ : Foveal Avaskuler Zon

FGF : Fibroblast büyüme faktörü

FFA : Fundus Floressein Anjiyografi

FK: Fotokoagülasyon

GİB : Göz içi basıncı

HIF-1 : Hipoksi ile indüklenebilir faktör I

İL-1: İnterlökin 1

İL-2: İnterlökin 2

İL-6: İnterlökin 6

İL-8: İnterlökin 8

İVTA : İntravitreal triamsinolon asetonid

KAMO : Klinik anlamlı makula odemi

MAP : Mitojen aktive edici protein

NOS : Nitrik oksid sentaz

NPDR : Nonproliferatif diabetik retinopati

NVD : Diskte neovaskularizasyon

NVE : Retinanın diğerk alanlarında neovaskularizasyon

OCT : Optik koherens tomografi

PDR : Proliferatif diabetik retinopati

PEDF: Pigment epitel kaynaklı growth faktör

PGE2 : Prostoglandin E2

PKC : Protein Kinaz C

PPV : Pars plana vitrektomi

PVR: Proliferatif vitreoretinopati

RTA : Retina kalınlık analizatoru

RPE : Retina pigment epiteli

SMK : Santral makula kalınlığı

SRT: Sorbinil Retinopathy Trial

TNF- α : Tümör nekrozis faktör alfa

TRD : traksiyonel retina dekolmanlı

VEGF : Vaskuler endotelyal buyume faktoru

VEGFR : Vaskuler endotelyal buyume faktör reseptörü

VHL : Von Hippel-Lindau tümör supresörü

<: kucuktur

>: buyuktur

\leq : kucuk ve eşittir

\geq : buyuk ve eşittir

μ : mikron

dl: desilitre

st: saat

dk: dakika

ml: mililitre

mg: miligram

mm: milimetre

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Çok eski zamanlardan beri bilinen diabete bu ismi 1900 yıl kadar önce Roma'lı hekim Aretaeus vermiştir.1859'da Claude Bernard, diabet hastaların kanında glikozun yükselmiş olduğunu tespit etmiştir. Diabetes Mellitus (DM) insülin sekresyonu, insülin etkisi veya her ikisinin birden bozukluğu sonucu ortaya çıkan hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalıktır. Diabetteki kronik hiperglisemi özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları başta olmak üzere çeşitli organların uzun dönemde hasarı, disfonksiyonu ve yetmezliği ile ilişkilidir.¹

Göz DM'de en sık etkilenen organlardan birisidir. İnsülin ve diğer antidiyabetik ilaçların keşfi ile DM hastalarının yaşam sürelerinde belirgin artış olurken diğer komplikasyonlarla birlikte DR görülme sıklığı da artmıştır. DR günümüzde gelişmiş ülkelerde tüm yaş grupları için yaşa bağlı makula dejeneransından sonra ikinci, üretken çağdaki nüfus için ise birinci körlük nedenidir.² Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 5000 kişi diabet nedeniyle, körlük derecesinde görmesini kaybetmektedir.³

Retinada meydana gelen sıvı toplanması yani ödem retina kapilleri, arterioller ve venüllerde geçirgenlik artması sonucu meydana gelmektedir. Retina kapillerlerinin hücresel elemanları endotel ve perisit hücreleridir. Perisitler, kapillerlerin etrafını çepeçevre sarar ve bunların damar cidarının yapısal bütünlüğünden sorumlu oldukları düşünülür. Sağlıklı bireylerde her bir endotel hücresine bir perisit hücresi düşerken, diabetik hastalarda perisitlerin sayısında azalma olmaktadır. Perisit sayısındaki bu azalışın plazma elemanlarının retinaya sızmasına yol açacak şekilde kan-retina bariyerinin yıkılışında sorumlu olduğu düşünülmektedir.⁴ Normal şartlarda retina damarlarındaki endotel hücrelerinin görevi selektif bir bariyere benzer.⁵

Hiperglisemi ile glikozun polyol yoluna akışı ve ileri glikolizasyon son ürünleri ile reaktif oksijen metabolitlerinin oluşumu artmakta bu da protein kinaz C yolunun fizyolojik aktivatörü olan diaçilgliserollerin oluşumuyla sonlanmaktadır. Protein kinaz C aktivasyonu, kollajen ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinlerinin ve endotelin gibi vazoaaktif mediatörlerin üretimini artırması gibi bir dizi hücresele değişikliklerle sonuçlanmaktadır. Hücresele düzeydeki tüm bu değişikliklerin sonucunda bazal membran kalınlaşması, vasküler geçirgenlik ve/veya kan akımında değişiklikler olmaktadır.⁵

Protein kinaz C'nin bir başka etkisi de "vasküler endotelyal growth faktörü" (VEGF) indüklemesidir. VEGF hücreler arası sıkı bağlantı yapılarında değişiklikler oluşturan güçlü bir sitokindir ve bu etkisi ile vasküler geçirgenlik artmasına neden olur.⁵ Diabetik makula ödemi (DMÖ) patogenezinde en önemli nokta vasküler geçirgenliğin artmasıdır ki DM sürecinde mikrovasküler yapıyı oluşturan hem endotel hem de perisit hücresi olumsuz etkilenmektedir. Patogenezinde vasküler geçirgenlik artışı dışında vitreus ve arka hyaloid membranın da önemi vardır.

Bu tez çalışmasındaki amaç, DR nedeniyle pars plana vitrektomi (PPV) geçiren hastaların vitreus örneklerinde VEGF, İnterlökin 8 (İL-8) ve Tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) seviyelerini ölçerek bu sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıp DR patogenezinde etkilerini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. RETİNA

Retina gözün en iç tabakasıdır ve nöroektodermden gelişir. İki katmanı vardır, dış retina pigment epiteli (RPE) ve iç nöral retina. Bunların arasında ise potansiyel bir boşluk bulunur. Duyusal tabaka ile RPE arasındaki bu potansiyel fizyolojik boşluğa, "subretinal alan" denir. Duyusal tabaka ve RPE arasında peripapiller bölge ve ora serrata dışında anatomik bir yapışıklık yoktur. Patolojik durumlarda 2 tabaka birbirinden ayrılıp, dekolmana yol açabilir. Retina, vorteks venlerinin skleraya girdiği yerde meydana gelen daire ile santral (posterior) ve periferik (anterior) olmak üzere iki kısma ayrılabilir. Anatomik ekvator bu dairenin iki disk çapı önünde yer alır. Bireyin refraktif durumuna bağlı olarak değişmekle birlikte, emetropik erişkin göz retinasında ekvator, ora serratadan temporalde 6.0 mm, nazalde 5.8 mm, üstte 5.1 mm ve altta 4.8 mm geride bulunur. Retina periferde ince olup arka pole doğru kalınlaşır. Periferde yaklaşık 0.1 mm, midperiferde 0.14 mm ve makülanın periferinde 0.23 mm kalınlıktadır. Foveanın merkezinde ince olup yaklaşık 0.1 mm'dir. Optik sinirle birleştiği yer ise en kalın bölgeyi oluşturur. Retina histolojik olarak incelendiğinde 10 tabakadan oluştuğu görülür (Resim 1). İçten dışa doğru bu tabakalar şu şekildedir:

- 1-İç limitan membran
- 2-Sinir lifleri tabakası
- 3-Ganglion hücreleri tabakası
- 4-İç pleksiform tabaka
- 5-İç nükleer tabaka

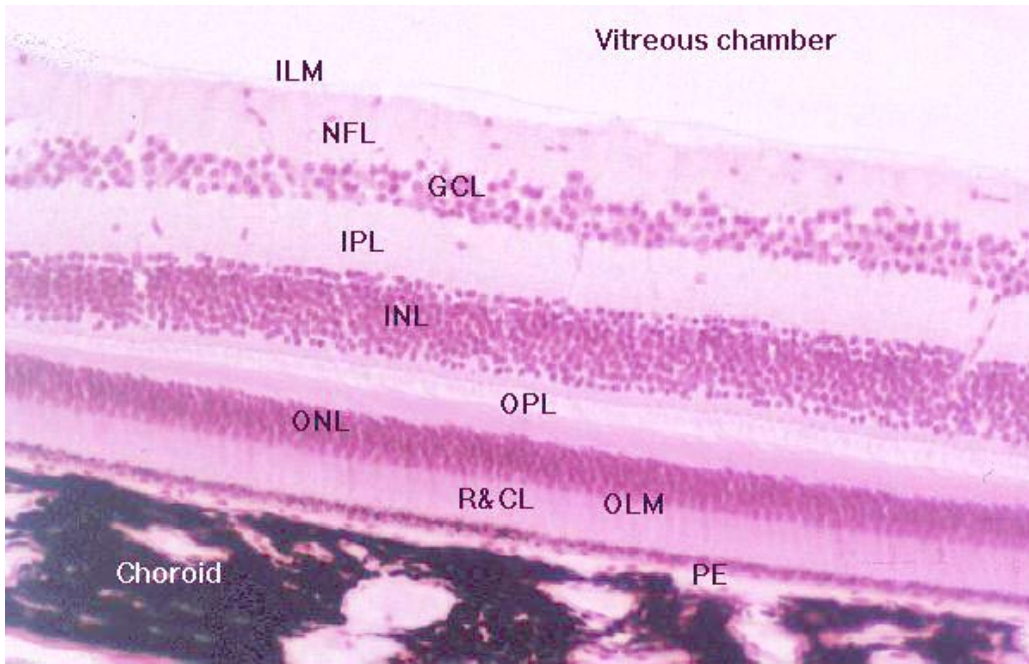
6-Dış pleksiform tabaka

7-Dış nükleer tabaka

8-Dış limitan membran

9-Koni ve basiller

10-Retina pigment epiteli.



Resim 1. Retina tabakaları (<http://education.vetmed.vt.edu/>)

Duyusal retina 3 adet nükleer ve 3 adet fibriler tabakadan oluşmaktadır. Nükleer tabakalar; fotoreseptörlerin nükleuslarını içeren dış nükleer tabaka, bipolar, horizontal, amakrin ve müller hücrelerinin nükleuslarını içeren iç nükleer tabaka, ganglion hücrelerinin nükleuslarını içeren ganglion hücreleri tabakasıdır. Fibriler tabakalar; kon ve rodların, bipolar ve horizontal hücrelerle sinaps yaptığı dış pleksiform tabaka, bipolar, amakrin ve ganglion hücrelerinin sinaps yaptığı iç pleksiform tabaka, ganglion hücrelerinin aksonlarının oluşturduğu sinir lifleri tabakasıdır.

İç limitan membran, Müller hücrelerinin ayakları çıkıntılarınınca (foot plate) oluşturulan, Müller hücresi bazal membranıdır. Optik disk dahil tüm retina yüzeyini örter. Kalınlığı değişkendir. Optik disk yüzeyi, fovea yüzeyi, damarların üzerinde ve vitreus tabanında incedir. Bu noktalarda vitreye bakan yüzü düzdür, sinir liflerine bakan kısmı pürüzlüdür. Bu sınır noktalarında kalınlaşma yerleri GUNN noktaları olarak görülebilir. Bu noktalarda vitreye olan adezyon sıklıdır.

2.2 MAKÜLA ANATOMİSİ

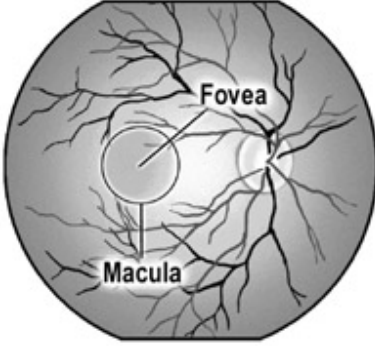
Maküla temporal vasküler arklarla sınırlanan yaklaşık 5 mm'lik alan olup merkezi (fovea) optik disk merkezinin 4 mm temporalinde ve 0.8 mm inferiorundadır.(Resim 2) Histolojik olarak 2 veya daha fazla ganglion hücre tabakası içerir. Çoğunlukla Henle tabakasında yerleşen karotenoid pigmentler nedeniyle sarı renkli görüldüğü için makula lutea ismi de verilmiştir.⁶ Bu pigmentlerden en önemlileri ksantin ve lutein olup foveadan uzaklaştıkça oranları değişir. Santral alanda (foveadan 0.25 mm çap içinde) lutein/ksantin 1:2.4, periferde ise (2.2-8.7 mm) 2:1 oranındadır. Bu dağılım rod ve kon dağılımıyla uyumludur.

2.2.1. Fovea

Fovea, makula merkezinde 1.5 mm çapında (yaklaşık optik disk büyüklüğünde) ve iç yüzeyi iç retina katlarının incelmeye bağlı olarak konkav görülen alandır. 2. ve 3. Nöronların yana itilmesine bağlı olarak 22 derecelik bir konkavite oluşur (clivus). Fovea kenarında ganglion hücre tabakası ve iç nükleer tabaka kalınlaşır. Fovea içerisinde ise her iki tabakada kaybolur. Ortalama retina kalınlığı yaklaşık 0.25 mmdir. Fovea kenarı ise yaklaşık 0.55 mm ile retinanın en kalın yeridir.⁷ Fovea kenarı biomikroskopik olarak iç limitan membranın oluşturduğu halka şeklindeki refle olarak gözlenir.

2.2.2. Foveola

Foveola, foveanın merkezinde olup bazal lamina kalınlığı azalmıştır ve yalnızca uzamış ve farklılaşmış koniler, Müller hücreleri ve diğer glial hücrelerden oluşur (mm² de 38500 koni). Yaklaşık olarak 0.35 mm çapındadır. Bu bölgedeki konilerin şekli rodlara benzerken sitolojik olarak ekstramaküler konularla benzerdir. Umbo, fovea merkezinde oftalmoskopik olarak görülebilen foveolar reflerdir. Burası retinanın en ince olduğu yerdir (0.13 mm). Foveal avasküler zon (FAZ) retinal damarların bulunmadığı yaklaşık 0.5-0.6 mm çaplı alandır.



Resim 2. Maküla anatomisi. (<http://www.opthobook.com/>)

2.2.3. Parafovea

Parafoveal retina, foveayı çevreleyen yaklaşık 0.5 mm genişliğindeki alandır. Bu bölgede iç nükleer, ganglion hücreleri ve sinir lifleri tabakası kalınlaşmıştır.

2.2.4. Perifovea

Perifovea, parafoveadan makulanın dış sınırına uzanan 1.5 mm genişliğindeki alandır. Ganglion hücreleri periferik retinadaki gibi tek sıralıdır.⁷

2.3. KAN-RETİNA BARIYERİ

Kan retina bariyeri iki ana yapıdan oluşur;

1-Dış Kan-Retina Bariyeri: Komşu iki retina pigment epiteli arasındaki sıkı bağlantılardan (zonula okludens, zonula adherens) oluşur.

2-İç Kan-Retina Bariyeri: Retinal kapiller endotelleri arasındaki sıkı bağlantılardan oluşur. Foveanın en merkezdeki kısmı kapillerlerden yoksundur (FAZ) Normal kişiler arasında FAZ' ın büyüklüğünün değişik olduğu düşünülmektedir.^{8,9} Fakat boyutları genellikle yaklaşık olarak 400-500 mikrometre çapındadır.¹⁰ Floresein anjiyografide perifoveolar kapiller okluzyona bağlı FAZ' daki genişlemeyi; FAZ'ın çevresinin görünüşünün düzensizleşmesi, çentikli görünüm alması, içteki kapiller halkada devamsızlıklar olması, çevredeki kapiller yataktaki kapiller arası boşluklarda genişleme ve mikroanevrizmal formasyonların olması ile tanımlarız.^{11,12}

2.4. VİTREUS

Vitreus şeffaf, avasküler ve jelatinoz bir yapı olup vitreus boşluğu denen 4.5 ml'lik bir hacmi doldurur. Bu boşluğu onde lens, zonuller ve silyer cisim, arkada da retina ve optik sinir çevreler. Hacim ve ağırlık olarak gözün 2/3'unu oluşturur. Vitreus yapısal olarak sıvı içeriği fazla hyaluronik asit matrikste asılı kollajen fibril ağından ibarettir, %99'u sudur. Küre şeklinde bir yapı olan vitreus, iki bölümde incelenebilir:

2.4.1. Kortikal vitreus: Vitreusun lense ve retinaya komşu olan dış bölgesidir. Önde fincan tabağı şeklinde bir cöküntü yapar ve lentikuler fossa denilen bu bölgede lens oturur. Kortikal vitre bu bölgede yoğunlaşarak ön hiyaloid membran adını alır ve özellikle gençlerde lens arka kapsülüne sıkı bir yapışıklık gösterir (Weigert ligamanı).

Vitreusun ora serrata hemen arkasındaki periferik retina ve hemen önünde pars plana epiteline olan ve yaşam boyu süren sıkı yapışıklık bölgesine de vitreus tabanı denir. Bu bölgede de kortikal vitreus yoğun kollajen fibriller içermektedir. Bir diğer sıkı yapışıklık bölgesi de optik disk kenarlarıdır. Ancak lens arka kapsulu ile oluşan sıkı yapışıklıklar gibi bunlar da zamanla gevşemektedir.

Sağlıklı bir gözde kortikal vitreus tüm retina ile temas halinde olup, dağıntık kollajen filamanlarla iç limitan membrana tutunmuştur. Bu bağlantılar da bazen sıkı olup retina deliklerine (santral retina ve ekvator da) sebep olabilmektedir. Kortikal vitreusta hiyalosit denen fagositik hücreler de vardır.

2.4.1. Santral vitreus: Vitreusun merkezi kısmı daha az yoğun bir yapı olup, daha az kollajen fibril içerir. Fetal hayatta lensten optik sinir başına doğru uzanan hiyaloid kanal (Cloquet kanalı) içindeki hiyaloid arter doğumdan hemen sonra kaybolur. Kanal ise yaşam boyu devam eder. Bazen arterin de güdük bir uç kısmı lens arka yüzüne yapışık olarak vitreusta dalgalanır. Bu yapışma noktası (Mittendorf lekesi) oftalmoskopi ile muayenede siyah bir leke olarak izlenir.¹³

2.5. DİABETİK RETİNOPATİ

DR ve DMÖ, diyabet hastalarında sıkça rastlanan, görme keskinliğinde ani ve ciddi kayıplara yol açan mikrovasküler komplikasyonlardır. DR'nin ileri evreleri iskemiye sekonder retinada anormal yeni damar oluşumuyla karakterizedir. Yeni damar oluşumuna hipoksik retina dokusundan salınan büyüme faktörleri neden olur. DR sürecinin herhangi bir aşamasında diyabet hastalarında maküla bölgesindeki kalınlaşmayla karakterize diyabetik maküla ödemi de gelişebilir. DMÖ, geçirgenliği artmış dilate kapillerler ve mikroanevrizmalardan kaynaklanan sızıntılarla kan-retina bariyerinin bozulmasının sonucu olarak ortaya çıkar. DR ve DMÖ'nin

kontrolü için hâlihazırda geçerli olan strateji bu bozuklukların erken teşhisine ve kan şekeri düzeyinin sıkı kontrolüne dayanır.

2.5.1. Diabetik Retinopatide Epidemiyoloji

Toplumlara göre değişmekle birlikte ortalama %1-2 sıklıkta görülmektedir. Diabet hastalarının büyük çoğunluğu insuline bağımlı olmayan tip (DM tip II) olup populasyonun %85-90'ını, diğer %10-15'ini de insuline bağımlı tip (DM tip I) olan az bir kısmı oluşturur. DM tip I'e genellikle 40 yaş altında tanı konur. Bu populasyon daha ciddi okuler komplikasyon geliştirme eğilimindedir. Her ne kadar DM tip II'li hastalar komplikasyon açısından şanslı olsalar da uzun süreli hastalık, komplikasyonu kaçınılmaz kılmaktadır. Klinik tedaviler, ciddi vizyon kayıplarını minimize etmeyi, hastaların yaşam kalitelerini korumalarını sağlamayı amaçlamaktadır. Vizyon kaybının oluşmasında diabetik klinik anlamlı makula edeminin sıklığı ortalama %25-30 civarındadır.

Diabete bağlı göz komplikasyonları gelişmiş ülkelerde körlüğün en önemli sebebi olup ölüm nedenleri içinde de 7. sırada yer alır. DM'ye bağlı retinopatinin ortaya çıkmasında en önemli faktör hastalığın süresidir. Hastalık ortaya çıktıktan 20 yıl sonra tip 1 DM'li hastaların hemen hemen tamamında, tip 2 DM'li hastaların ise %60'ından fazlasında DR bulgularına rastlanmaktadır. Günümüzde DR'nin tam anlamıyla tedavisi olmamakla birlikte, mevcut tedavi yöntemleriyle hastalarda ortaya çıkabilecek görme kayıplarının mümkün olduğunca engellenmesi ve/veya en aza indirgenmesi amaçlanmaktadır. Dünyada DM insidansı %1.5-2.5 oranında bildirilmektedir.¹⁴ Diabetik popülasyonun yaklaşık %25'inde herhangi bir seviyede DR vardır ve bunun %5'i proliferatif diabetik retinopatidir (PDR). Amerika Birleşik Devletleri'nde Framingham grubu tarafından yapılan çalışmada herhangi bir düzeyde retinopati; 5 yıldan kısa süreli diabetiklerde %5, 5-9 yıl arasındakilerde %30, 10-14 yıl arasındakilerde %45 ve 15 yıldan uzun süreli hastalarda %62 olarak bildirilmiştir.¹⁴ Wisconsin grubunun yaptığı epidemiyolojik

çalışmada ise hastalar 30 yas altı ve üstü diabetikler olarak iki grupta incelenmiştir. Otuz yaş altındaki diabetiklerde, hastalık süresi 5 yıldan az olanlarda retinopati %17, 15 yıl üstünde ise %98 bulunmuştur. Otuz yas üstünde DM tanısı konulan grupta insülin kullanmayanlarda, 5 yıldan az diabetik olanlarda retinopati %17- 29, 15 yıl üstünde ise %50-63 olarak saptanmıştır. İnsüline bağımlı grupta 5 yıl altında retinopati oranı %40 iken, 15 yıl üstünde %85'tir.¹⁴

2.5.2. Diabetik Retinopati Patolojisi

DM, insülin yokluğu veya periferik duyarsızlığı ile karakterize, hümoral ve dokusal sonuçları olan, karbonhidrat, protein, lipid metabolizma bozukluklarını da içeren bir multisistem hastalığıdır.

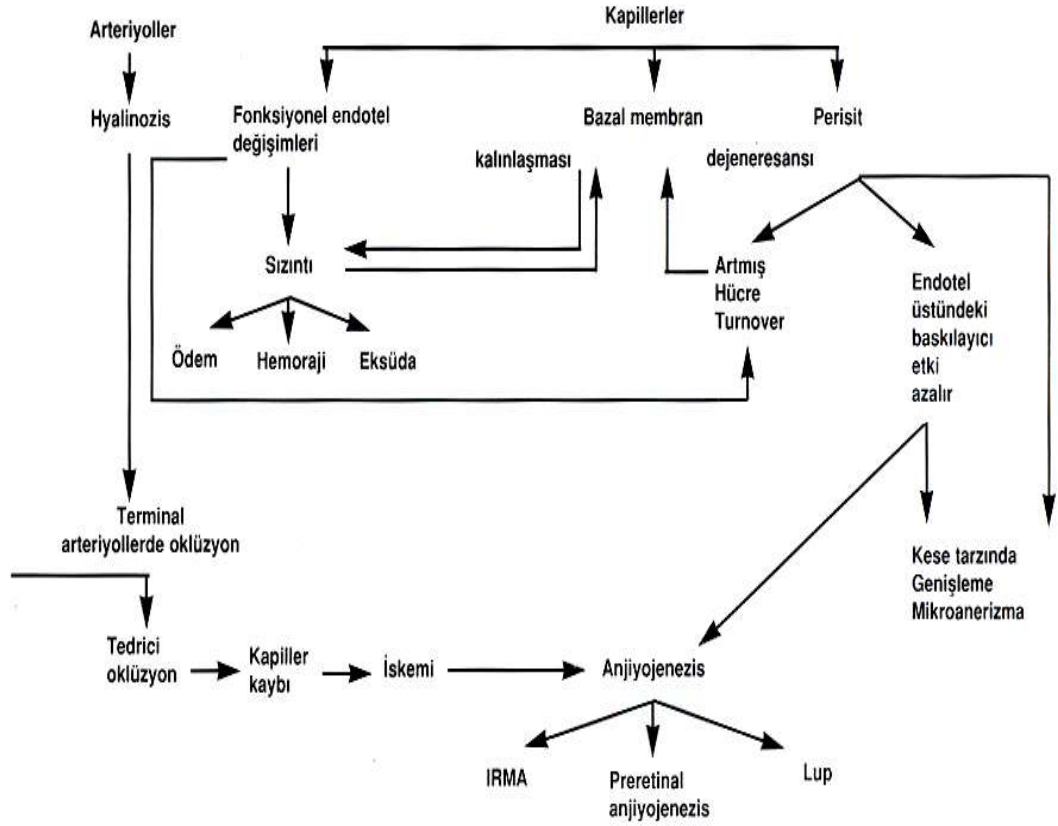
Diabetes mellitusun oluşturduğu oküler komplikasyonlar şu şekilde özetlenebilir:

Azalmış gözyaşı üretimi, üçüncü, dördüncü, altıncı sinir paralizileri, korneada iyileşmeyen punktat epitelyopati, rubeozis iridis, katarakt oluşumu, proliferatif retinopati, optik nöropati, refraksiyon değişiklikleri, glokom insidansında artış .

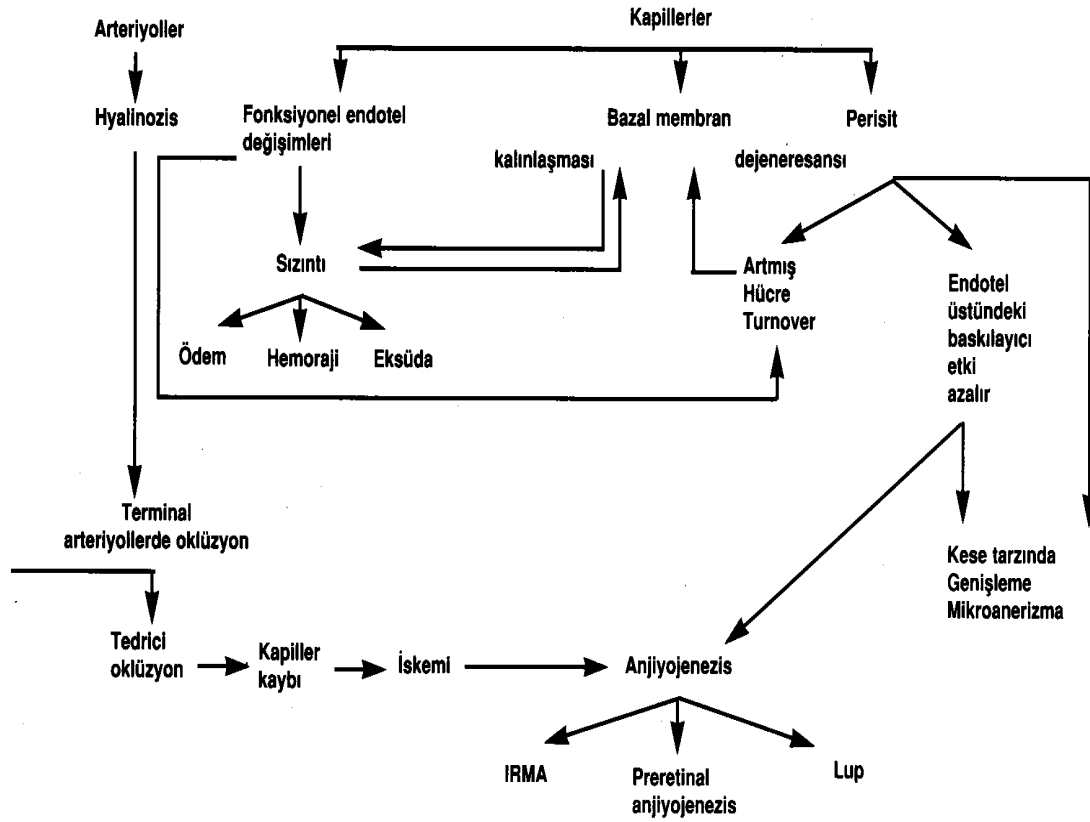
DR'ye neden olan metabolik süreç hala tam olarak anlaşılammıştır. Aldoz reduktaz, vazoproliferatif faktörler, büyüme hormon, trombositler ve kan viskozitesi ile retinopatiyi ilişkilendiren birkaç teori mevcuttur.

DR histopatolojisi Tablo 1'de ve mikroanjiyopati gelişiminin biyokimyasal mekanizması Tablo 2' de ayrıntılı olarak özetlenmiştir.

TABLO 5
Diabetik retinopatinin histopatolojisi



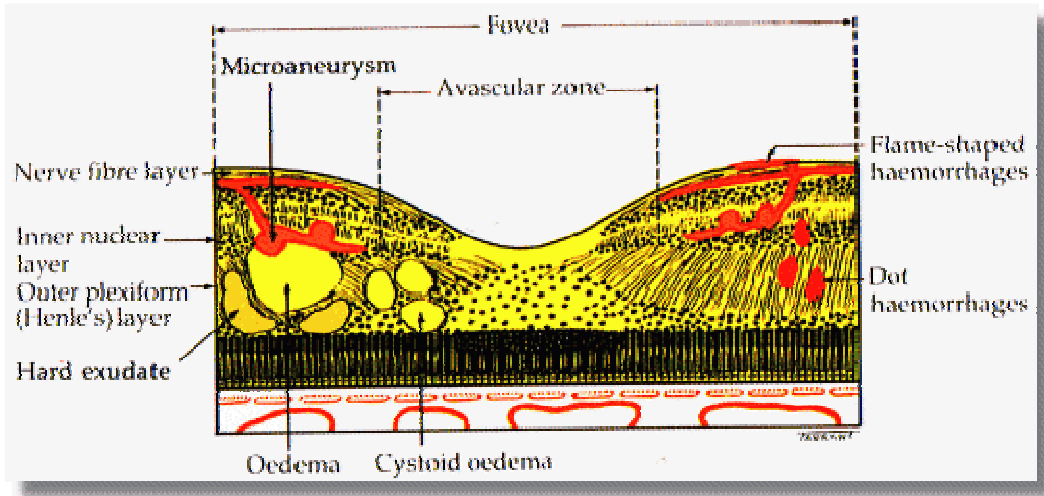
Tablo 1. Diabetik retinopati histopatolojisi¹⁵



Tablo 2. Mikroanjiyopati gelişiminin biyokimyasal mekanizması ¹⁵

Diabetik retinopati; damar duvarlarına lökosit adhezyonunda artış, kan akımında dalgalanmalar, perisitlerin ölümü ve vasküler bazal membranda kalınlaşmanın görüldüğü patolojik değişiklikleri kapsar. Endotel hücreleri arasındaki bağlantıların zayıflaması vasküler permeabilitenin artmasına neden olur. Retinal kapillerlerin blokajı ise hipoksi ve anjiyogenik faktörlerin üretiminde artış ile sonuçlanır. Vasküler permeabilite artışı ve büyüme faktör salınımı; retinal neovaskülarizasyon için zemin hazırlar. (Resim 3) Diabetik retinopatide görülen vasküler değişikliklerden sorumlu olan primer mediatörün VEGF olduğu düşünülmektedir. Klinik çalışmalarla da PDR gelişimi ile VEGF ve reseptörü VEGFR' nin gözdeki artmış konsantrasyonu arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. VEGF ayrıca diabetik maküler

ödem gelişiminde de vasküler permeabiliteyi arttırmak suretiyle anahtar rol oynar. Pigment epitel kaynaklı growth faktör (PEDF) ; RPE hücreleri, glial hücreler, vasküler endotel hücreleri ve nöronlarda bulunan nörotrofik ve anjiostatik etkili bir büyüme faktörüdür. PDR' li hastalarda VEGF ve PEDF arasındaki dengenin VEGF lehine bozulduğu düşünülmektedir.



Resim 3. DM'a bağlı retinada gelişen patolojiler

(<http://www.perretoptic.ch/optometrie/symptomes>)

2.5.3. Diyabetik Retinopatide Sınıflandırma

Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'na (ETDRS) göre diyabetik retinopatinin sınıflandırılması şöyledir.

1. Non-proliferatif diyabetik retinopati
 - a) Hafif-orta (background diyabetik retinopati)
 - b) Orta-şiddetli (pre-proliferatif diyabetik retinopati)
2. Proliferatif diyabetik retinopati

2.5.3.1. Hafif-orta Nonproliferatif Diabetik Retinopati

Diabetik retinopatide mikroanevrizmalar oftalmoskopik olarak saptanabilen ilk değişikliklerdir, orta retina katmanlarında yerleşmiş küçük kırmızı noktalar olarak görülürler. Kapiller veya mikroanevrizma duvarları zayıflayıp rüptüre olduklarında intraretinal dot- blot hemorajilere neden olurlar.

Makuler ödem; nonproliferatif diabetik retinopatinin önemli bir belirtisidir ve diabetik hastalarda körlük nedenlerinin başında gelir. İntersellüler sıvı; sızıntı yapan mikroanevrizmalardan veya kapillerlerden gelir. Klinik olarak makuler ödem en iyi 60 D, 78 D veya 90 D kontakt lens kullanılarak yapılan slit lamba biomikroskopisi ile görülür. Ödem; retinal hücreler tarafından ayrılmış, çok sayıdaki retinal arayüzeyden ışığın saçılmasına neden olur. Bu durum retinayı bulanıklaştırır. Sonuçta, dış pleksiform tabakadaki sıvı cepleri, yeteri kadar genişse, kistoid makuler ödem olarak görülebilir. Kistoid makuler ödem genellikle çok sayıda hemorajileri ve eksudaları bulunan, ciddi nonproliferatif diabetik retinopati bulguları olan gözlerde görülür.

Eğer sıvı sızıntısı yeterince fazla ise, retinada lipid birikebilir. Bu durumdan ilk olarak dış pleksiform tabaka etkilenir. Bazı olgularda lipid makulada dağınık olarak yerleşirken, diğer bir grup olgularda ise sızıntı yapan veya bir kapiller nonperfüzyon alanını çevreleyen mikroanevrizmaların çevresinde bir halka şeklinde toplanabilir. Bu paterne sirsine retinopati denir.

2.5.3.2. Orta-şiddetli Nonproliferatif Diabetik Retinopati

Multipl retinal hemorajiler, cotton-wool spotlar, venöz boncuklanma ve luplar, intraretinal mikrovasküler anomaliler gibi iç retina tabakalarındaki hipoksinin belirtileri görülmeye başlar. Fluoressein anjiografide geniş kapiller nonperfüzyon alanları görülür.

Cotton-wool spotlar, prekapiller arteriollerin tıkanması ile oluşan sinir lifi tabakasındaki infarktlardır. Venöz boncuklanma retina kan dolaşımında yavaşlamanın önemli bir belirtisidir. Venöz luplar ise hemen her zaman kapiller nonperfüzyon alanlarının komşuluğunda yerleşirler. Lupların oluşumuna fokal vitreus traksiyonu katkıda bulunabilir. İntraretinal mikrovasküler anomaliler, kollateral kanallar gibi fonksiyon gören dilate kapillerlerdir. Çoğunlukla retina neovaskülarizasyonlarından ayrımları güçtür.

ETDRS'ye göre; intraretinal neovasküler anomaliler, multipl retinal hemorajiler, venöz boncuklanma ve lup, kapiller nonperfüzyon, geniş kapiller nonperfüzyon alanı, fluoressein anjiografide geniş sızıntı; PDR gelişimi için önemli risk faktörleridir.

2.5.3.3. Proliferatif Diabetik Retinopati

Başlıca belirtisi neovaskülarizasyondur. Bunlar retina ve optik diskten gelişen, retina yüzeyi veya vitreus içine doğru ilerleyen yeni damarlardır.

Neovaskülarizasyon: Non-proliferatif değişiklikler, arteriollerde nonperfüzyon ve anormal geçirgenlikle birlikte proliferatif retinopatiye dönüşür. Neovaskülarizasyon en sık orta periferik kapiller non-perfüzyon bölgesi ile bağlantılıdır ve en çok optik diskin 45 derece çevresinde, optik diskin üstünde görülür. Neovaskülarizasyon, disk üstünde veya optik diskin bir disk çapı içinde yerleşen yeni damarlardır. Retina kapillerinin tıkanıklığına bağlı olarak iç retina katlarının iskemisi sonucunda gelişir. İskemik retina dokusunun yeni damar oluşumuna stimüle eden anjiogenik bir madde salınımına yol açtığı ileri sürülmektedir. Başlangıçta endotelial

proliferasyonlar olarak ortaya çıkar, daha sonra internal limitan membrandaki defektlerden geçerek retina ile posterior vitreus korteksi arasındaki potansiyel düzleme uzanırlar. Beraberinde fibröz proliferasyon bulunduğu traksiyonel retina dekolmanı gelişme riski taşırlar.

Hemoraji: Kanamalar vitreus jeli içine olduğu kadar, retrohyaloid boşluğa da olabilir 26,27. Yeni damarlar, sıklıkla arka hyoloide yapışıktır ve retina yüzeyinde veya biraz önünde yerleşmiştir. Arka vitreusa yapışık olan yeni damarlar arka vitre dekolmanında kanarlar. Bu zayıf damarlar üstündeki vitreus traksiyonu kanamalarına yol açar. Bu kan, retina ve dekolman arka hyoloid arasından akarak, retina önü veya subhyoloid kanama şeklini alır ve kayık şeklinde görülür. Arka hyoloid veya iç limitan membranın yırtılması ile kan vitreus içine girer. Bu kan zamanla rezorbe olur.

Traksiyonel Retina Dekolmanı: Optik diskteki neovaskülarizasyon veya retinanın diğer alanlarındaki neovaskülarizasyon ilerledikçe, yeni damarlara karışan fibröz proliferasyon meydana gelir ve arka vitreus yüzüne yapışır. Proliferasyonun artmasıyla fibrovasküler kompleks diskten, özellikle temporal yöne doğru arkadlar boyunca ilerler; diski, üst ve alt arkadlar birleştirir. Eğer bu fibrovasküler kitle büzülürse ve en gergin vitreoretinal yapışıklıklar disk üstünde ise maküla diske doğru çekilir ve maküla dekolmanı gelişir. Fibrovasküler kitlenin proliferasyonu ve büzülmesi ile birlikte vitreus jelinin de büzülmesi, arka vitreus dekolmanda ilerlemeyle birlikte traksiyonel retina dekolmanına yol açar. Bu dekolman en sık maküla dışı bölgelerde görülür.

2.5.4. Diabetik Retinopati Tedavisi

Günümüz DR tedavisinde medikal ajanlara olan ilgi gittikçe artmaktadır. ETDRS çalışma grubunun sonuçlarından sonra rutin uygulama haline gelen laser fotokoagülasyon tedavisi zarar oranı göz önüne alındığında faydası çok olmakla birlikte retina üzerinde laserin destrüktif etki yapmasından dolayı bazı istenmeyen yan etkilere de neden olabilmektedir. Bu yan etkiler maküler ödem (özellikle panretinal fotokoagülasyon sonrası), Bruch membranında rüptür ve koroidal kanama, subretinal neovaskülarizasyon, görme alanında skotomlar, epiretinal membran oluşumu, vitreus hemorajisi olarak sıralanabilir.¹⁶⁻¹⁹ Bu nedenlerden dolayı hastayı tedavi ederken daha yüz güldürücü sonuçlar alabilmek için günümüzde medikal tedaviye verilen önem artmış ve bu alanda çalışmalar devam etmektedir. DR’de medikal tedavi uygulamalarını şu başlıklar altında toplayabiliriz:

2.5.4.1 Farmakolojik tedavi:

Hiperglisemi ile birlikte reaktif oksijen radikalleri ve ileri glikolizasyon son ürünleri artmakta, protein kinaz C (PKC) ve VEGF aktivasyonu olmakta, glikozun aldoz redüktaz ile sorbitole dönüşümü artmaktadır. Farmakolojik tedavide de hedeflenen DR patogenezinde rolü olan bu biyokimyasal ve moleküler düzeydeki olayları belli basamaklarda durdurmaya çalışmaktır. Bu amaçla kullanılan tedavi seçenekleri şu şekilde sıralanabilir:

1. Antioksidanlar: Hiperglisemi ile birlikte mikrovasküler hasara neden olan serbest oksijen radikalleri artmaktadır. Hayvan çalışmalarında E vitamini gibi antioksidanların kullanımı ile DM’ye bağlı vasküler disfonksiyonların bir miktar önlenebildiği gösterilmiştir.¹⁶ DR’si olmayan veya minimal düzeyde olan hastaların dört ay boyunca yüksek doz E vitamini ile tedavisi sonucu retina kan akımı bozukluklarında anlamlı düzelmeler görülmüştür.^{17,18} Bununla

birlikte günümüzde DR tedavisi için antioksidanların kullanımına yönelik klinik çalışmalar yoktur.

2. Aldoz redüktaz inhibitörleri: Hiperglisemi ile birlikte aldoz redüktaz enzim aktivitesi ve bunu takiben hücre içinde sorbitol konsantrasyonu artmakta artmakta, artan sorbitol ise osmotik etki yaparak hücre hasarına neden olmaktadır.¹⁹ Sorbinil bir aldoz redüktaz enzim inhibitörü olup “Sorbinil Retinopathy Trial (SRT)” çalışma grubu tarafından DR üzerine etkinliği araştırılmıştır. Sonuçta sorbinil kullanan ve plasebo kullanan kontrol grubu hastalar arasında anlamlı fark görülmemiştir. Yaklaşık olarak %7 vakada da sorbinil kullanan hastalarda hipersensivite reaksiyonları gözlenmiştir.²⁰ Bu alandaki klinik çalışmalar halen devam etmektedir.

3. İleri glikolizasyon son ürün inhibitörleri: Hiperglisemi halinde glikoz proteinlerin yan zincirlerine bağlanarak fonksiyonu az veya fonksiyonu olmayan ürünlerin oluşmasına neden olur ve bunlar ileri glikolizasyon son ürünleri olarak adlandırılır.²¹ Aminoguanidin bu ürünlerin oluşmasını engelleyen bir inhibitördür ve deneysel çalışmalarda perisit kaybı ve mikroanevrizma oluşumunu azalttığı gösterilmiştir.²² İnsan üzerinde yapılan çalışmalarda alınan ilk sonuçlar, aminoguanidinin retinopati ilerleyişini yavaşlattığını ancak anemiye neden olduğunu göstermiştir.²³ İleri glikolizasyon son ürün inhibitörleri için yapılan çalışmalar devam etmekte olup şu an DR tedavisinde klinik kullanıma giren ilaç yoktur.

4. PKC inhibitörleri: PKC birçok fizyolojik ve patolojik olayda rol alan bir enzim grubudur. PKC'nin alfa, beta, gama delta, epsilon, eta, teta, xi, iota gibi birçok izoformu vardır.²⁴ DR patogenezinde daha çok beta izoformu üzerinde durulmaktadır. PKC aktivasyonu ile bazal membranda kalınlaşma, vasküler geçirgenlik ve/veya kan akımında değişiklik olmaktadır. Ruboksistaurin (RBX, LY333531) PKC beta izoenzimine selektif inhibisyon yapan bir ajandır. RBX ile yapılan hayvan çalışmalarında DM'ye bağlı retinopati, nefropati ve periferik nöropati

gibi komplikasyonlara karşı faydalı etkisi olduğu gösterilmiştir. İnsanlar üzerinde yapılan faz 1 klinik çalışmalarda da iyi tolere edildiği ve DM'ye bağlı retina kan akımı bozukluklarında düzelme sağladığı bildirilmiştir.²⁵ Ruboksistaurinin faz 3 klinik çalışmaları da tamamlanmış olup onay için FDA'ya başvurusu yapılmıştır. Onay alması durumunda DR medikal tedavisi için ruboksistaurinin oral formu satışa sunulacaktır. PKC412 ise nonspesifik PKC inhibitörü olup hayvan çalışmalarında retinal ve koroidal neovaskülarizasyonu önlemede etkili olduğu bulunmuştur.²⁶ "Campochiaro PA; C99-PKC412-003 Study Group" 141 NPDR hastası üzerinde yaptığı çok merkezli, çift kör, randomize, plasebo kontrollü çalışmada 100 ve 150 mg günlük oral PKC412 kullananlarda anlamlı olarak diabetik maküler ödemin gerilediğini ve görme keskinliğinin arttığını bildirmiştir. Aynı yayında oral PKC412 kullanımının potansiyel bir karaciğer toksisitesi olduğu da belirtilmektedir.²⁷ PKC412 için yapılan klinik çalışmalar devam etmektedir.

5. VEGF inhibitörleri: VEGF retina pigment epitel hücreleri basta olmak üzere gangliyon hücreleri ile retinal vasküler yataktaki endotel hücrelerinden salınan ve vaskülogenezisin sağlanmasında önemli bir faktördür. Bununla birlikte patolojik angiogeneziste de önemli role sahiptir. Spilsbury ve ark. rat gözleri üzerinde yaptığı deneysel çalışmada rekombinant adenovirus vektör ile retinada aşırı VEGF üretiminin anjiogenezi uyardığı ve koroidal neovaskülarizasyonla sonuçlandığını göstermiştir.²⁸ DM'li hastalarda alınan vitreus örneklerinde de PDR'li gözlerde NPDR'li gözlere oranla VEGF konsantrasyonunun daha yüksek olduğu bildirilmiştir.²⁹

Pegaptanib (EYE001) anti VEGF özelliği olan bir ajan olup eksüdatif tip yasa bağlı maküler dejenerasyonda etkinliği gösterilmiştir. İntravitreal enjeksiyon halinde kullanılıp her 6 haftada bir

tekrarlanmaktadır.³⁰ Pegaptanibin intravitreal enjeksiyon seklinde eksüdatif tip yasa bağı maküler dejenerasyon tedavisinde kullanılması Aralık 2004'te FDA tarafından onaylanmış olup ticari preparatı Ocak 2005'te piyasalara sürülmüştür. Anti VEGF özelliği olan Pegaptanibin yasa bağı maküler dejenerasyon dışında ödem ve neovaskülarizasyonla seyreden diğer retinal hastalıkların tedavisinde kullanılması için çalimsalar devam etmektedir. Bu hastalıkların basında DR ve retinal ven tıkanıklığı gelmektedir. Pegaptanibin DR tedavisinde kullanılması için yapılan faz 2 klinik çalışmalarda başarılı sonuç bildirilmekte olup faz 3 klinik çalışmalar devam etmektedir.³¹

Ranibizumab pegaptanibten sonra Haziran 2006 tarihinde eksüdatif tip yasa bağı maküler dejenerasyon tedavisinde kullanılmak üzere onaylanan diğer anti VEGF ilaçtır. Bu iki ilacın da DR tedavisinde etkinliği olup yakın gelecekte bu endikasyonla da onay alması beklenmektedir. Bevacizumab ve anecortave asetat diğer anti VEGF ilaçlardır ve ikisinin de DR tedavisinde kullanılmasına yönelik klinik çalışmalar devam etmektedir. Bevacizumab için yapılan klinik çalimsalar faz 2, anecortave asetat için ise faz 1 aşamasında devam etmektedir.

6. İntravitreal kortikosteroid enjeksiyonu: Kortikosteroidler vasküler geçirgenliği azaltmaları, antiinflamatuvar ve antiproliferatif etkilerinden dolayı tıpta geniş kullanım alanı bulmuşlardır. Çeşitli göz hastalıklarında da topikal, sistemik ve perioküler enjeksiyonlar seklinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Özellikle diabetik maküler ödem tedavisinde İVTA enjeksiyonu ile yapılan çalimsalar incelendiğinde hepsinde ortalama olarak 3-6 ayda nükslerden bahsedilmekte ve bu durum triamsinolon asetonidin vitreustan eliminasyonu ile ilişkilendirilmektedir. Tekrarlanan enjeksiyonlarla olumlu sonuçlar alınması da bunu doğrulamaktadır.³² İntravitreal uygulamanın etkinliğini artırmak için günümüzde vitreusta daha uzun süre kortikosteroid konsantrasyonları sağlayacak implantlar üzerinde çalışılmaktadır. Bu alanda en büyük gelişme intravitreal flusinolone asetonid implantlarında olmuştur. İntravitreal

flusinolon implantlarının kronik noninfeksiyöz arka segment üveitlerinde 3 yıla kadar etkinliği gösterilmiş olup bu endikasyonda kullanılması Nisan 2005'te FDA tarafından onay almıştır.³³

Diabetik maküler ödem tedavisinde kullanılmak üzere intravitreal deksametazon ve triamsinolon asetonid implantları üzerine de çalımsalar devam etmektedir.

Sonuç olarak, günümüzde körlüğün önde gelen nedenlerinden biri olan DR için medikal tedavi alanında önemli gelişmeler kaydedilmiştir. Bu alanda onay almış bir ticari preparat henüz olmamakla birlikte yapılan klinik çalışmalar son aşamalara gelmiştir. PKC inhibitörleri, VEGF inhibitörleri ve intravitreal kortikosteroid implantları yakın gelecekte DR tedavisi için yeni alternatifler olacaktır. Medikal tedavide olan gelişmeler ile DR'ye bağlı olan körlükler azaltılabileceği gibi daha destrüktif tedavi yöntemleri olan laser fotokoagülasyonu ve vitreoretinal cerrahinin uygulanacağı hasta sayısı da azalacaktır.

2.5.4.2. Laser tedavisi:

Yüksek Riskli Hastalarda Laser Fotokoagülasyon Tedavisi:

PDR evresinin ilerlemesinde yüksek riskli hastalar, vitreus veya preretinal hemoraji, optik diskte neovaskülarizasyon (NV), retinada 1/2 disk çapında NV veya iriste neovaskülarizasyon bulunan hastalardır. Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun (DRS)^{34,35} verilerine göre PDR oluşan hastalar 5 yıl içinde görmelerini %50 oranında kaybetmektedirler. Laser fotokoagülasyon (FK) tedavisi, yüksek riskli hastaların %62'sinde yeni damar oluşumunu engeller ve geriletir. Bu çalışmada, kontrol grubunda %26 ciddi görme kaybı saptanırken bu oran laser FK tedavi uygulanan hasta grubunda %11'e düşmüştür.^{34,35} Bu çalışmanın sonucuna göre yüksek riskli hastalar zaman kaybetmeden panretinal laser FK tedavisi uygulanmalıdır. Laser FK ciddi görme kaybı riskini %50 azaltmaktadır.

Düşük Riskli PDR ve Ağır-Nonproliferatif DR'de Laser Fotokoagülasyon Tedavisi:

Erken Tedavi Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun (ETDRS) sonuçları düşük riskli PDR ve proliferatif olmayan DR hastalarının sorunlarına cevap getirmiştir.³⁶⁻³⁸ Ağır nonproliferatif DR hastalarında 5 yıl sonunda ciddi görme kaybı, kontrol grubunda %10 iken, panretinal laser FK tedavi grubunda %6'ya düşmüştür. Ancak tedavi olan grubun %10'unda panretinal laser FK'ya bağlı oluşan maküla ödemi nedeni ile görme azalmaktadır. Ağır nonproliferatif DR'li hastalardan takip edilen grupta vitrektomi oranı %10.3 iken, laser FK tedavisi uygulanan grupta bu oran %6.4'e düşmüştür. Ağır proliferatif DR'li hastalarda DRP'nin bir yıl içinde ilerleme olasılığı %50 oranındadır.^{37,38} Tip II diyabetik hastalarda laser FK'nın koruyucu etkisi daha belirgindir. Tip II diyabetik hastalarda kontrol grubunda %13, tedavi grubunda ise %5, oranında vitrektomi gerekmiştir.³⁹

Yüksek Risk Oluşmadan Laser Fotokoagülasyon Tedavisi Önerilen Hasta Grupları

1. Oküler faktörler

- Ağır veya çok ağır nonproliferatif olgular,
- Neovaskülerizasyonları aktif olan gözler,
- Optik diskte 1/3'den küçük neovaskülerizasyonu olan olgular,
- Retinopatisi hızlı ilerleyen hastalar,
- Diğer gözünü DR nedeniyle kaybetmiş ağır nonproliferatif DR'li olgular,
- Katarakt ameliyatı planlanan ağır nonproliferatif DR'li olgular.

2. Sistemik Faktörler

- Tip 2 diyabet,
- Hamilelik,

- Renal hastalık,
- Kontrollere zamanında gelemeyecek hastalar.

Bu tip olgularda erken laser FK yapılmıyacaksa çok sıkı takip yapılmalıdır.

2.5.4.3. Cerrahi tedavi:

Laser FK tedavisi yapılmayan PDR'li hastalar %50, laser FK tedavisi yapılan proliferatif olmayan DR li hastalar %5 oranında beş yıl sonra görmelerini kaybederler. Erken laser FK yasal körlüğü %90 oranında önler. Laser FK tedavisi zamanında yapılmayan hastalar veya laser FK tedavisine yanıt vermeyen hastalara PPV uygulanabilir.

PDR'li hastalarda PPV Endikasyonları:

- Vitreus hemorajisi,
- Traksiyonel retina dekolmanı,
- Yırtıklı+Traksiyonel retina dekolmanı,
- Hızlı ilerliyen PDR,
- Yoğun premaküler hemoraji,
- Hayalet hücre glokumu,
- Ön segment NV ile beraber optik ortam bulanıklığıdır.

İlk vitrektomi 1970 yılında Machemer tarafından temizlenmeyen vitreus hemorajili hastaya yapılmıştır.⁴⁰ Başlangıçta diyabetik vitrektomilerin %70'ini vitreus hemorajili hastalar oluşturmaktaydı. Günümüzde ise bu oran yaklaşık olarak %30'a düşmüştür. Vitreus hemorajilerinde vitrektomiye inceleyen ilk çok merkezli çalışma Diyabetik Retinopati Vitrektomi Çalışma (DRVS) Grubu'nun araştırması olmuştur.⁴¹⁻⁴³ Vitrektomi sırasında endolaser FK

uygulanmadan yapılmış bu çalışmada erken vitrektomi ile %25, geç vitrektomi ile ise %15 oranında 10/20 ve daha iyi sonuç görme elde edilmiştir. DRVS sonuçları irdelendiğinde, Tip I DM'li olgularda vitrektominin yararlı etkisinin Tip II DM'li olgulara kıyasla daha belirgin olduğu görülür. Bu bilgiler ışığında DRVS sonuçlarına göre vitreus hemorajisinin resorpsiyonu için Tip I DM'li olgularda en fazla 3 ay, Tip II DM'li olgularda ise en fazla 6 ay beklenilmesi önerilmiştir. ⁴¹⁻⁴³ Ancak günümüzde vitreoretinal cerrahi teknikler 20 yıl öncesine göre çok ilerlemiştir. Traksiyonel retina dekolmanı olmayan temizlenmeyen vitreus hemorajileri Tip I diyabetik olgularda yaklaşık bir ay sonra, Tip II diyabetik olgularda ise yaklaşık 2-3 ay sonra operasyona alınmaktadır.

Günümüzde vitrektomiye giden hastaların yaklaşık olarak %70'ini traksiyonel retina dekolmanlı (TRD) hastalar oluşturmaktadır. Diyabetik Retinopati Çalışma Grubu'nun verilerine göre vitrektomi için klasik endikasyon makülayı tutan TRD'dir. Bir yıl içinde maküla tutulum oranı %15 iken, 2 yıl içinde bu oran %23'e çıkmaktadır. İkinci bir klasik vitrektomi endikasyonu ise traksiyonel ve yırtıklı retina dekolmanlarıdır. Günümüzde modern VRC teknikleri ile endikasyonlar genişlemiş ve makülanın tehdit altında olması, maküla distorsiyonu, maküla ektopisi veya vitreopapiller traksiyon olması da vitrektomi endikasyonları arasına girmiştir. Cerrahide amaç arka hiyaloidi ayırıp vitreoretinal yapışıklıkları ortadan kaldırmaktır. Vitreoretinal yapışıklıkların ameliyat öncesi belirlenmesi, operasyon stratejisini, prognozu ve postoperatif komplikasyonların belirlenmesine olanak sağlar.

Traksiyonel Diyabetik Retina Dekolmanında Kullanılan Cerrahi Teknikler:

TRD'da kullanılan cerrahi teknikler, membran soyulması, segmentasyon, viskodelaminasyon, en blok diseksiyon ve delaminasyon şeklinde sıralanabilir. Her cerrah kendi tecrübelerine ve olanaklarına göre kendi tekniğini geliştirmektedir.

TRD'ların tedavisinde iki elle çalışma bir çok olgunun tedavisi için gereklidir. 20-gauge pars plana vitrektomi birçok fonksiyonlu aletin kullanılmasına olanak sağlar. Bunlar arasında ışıklı pik, forseps, dik ve horizontal makaslar, endolaser ve 2 veya 3 fonksiyonlu doku manipulatörleri sayılabilir. Son yıllarda özellikle maküla cerrahisinde giderek daha yaygın kullanılan sütürsüz mikroinvazif PPV teknikleri olan 23-gauge ve 25-gauge tekniklerde ise çok fonksiyonlu aletler veya eğik makaslar kullanılmamaktadır. Günümüzde vitreoretinal cerrahide çok önemli gelişmeler sağlanmıştır. Bunlar arasında geniş açılı görüntüleme sistemleri, Xenon ışık kaynağı, iki elle cerrahiye olanak sağlayan avize (chandelier) aydınlatma sistemleri, çok fonksiyonlu aletler ve yönlendirilebilen endolaser, ışıklı infüzyon kanülleri, 23-gauge ve 25-gauge transkonjonktival mikroinvazif cerrahi sistemleri gibi cerrahi aletlerdeki gelişmeler öne çıkmaktadır. Son yıllarda özellikle sıkı ve geniş alanda vitreoretinal yapışıklığı veya DTRD'si bulunan ve intraoperatif kanama riski yüksek, aktif fibrovasküler proliferasyonu olan gözlerde vitrektomiden 3-7 gün önce intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu aktif yeni damarlarda gerileme sağlamakta, cerrahiye kolaylaştırmakta ve cerrahi sırasındaki kanama riskini azaltmaktadır.

2.6 GÖZDE SİTOKİNLER

İnterlökin-1 beta (IL-1 β), interlökin-2R (IL-2R), interlökin-6 (IL-6), tümör nekrotizan faktör-alfa (TNF- α) ve diğer sitokinler, immünitinin düzenlenmesinde, inflamasyonda ve konağın hasara karşı cevabında rol alan peptid yapısında mediatörlerdir.⁴⁴⁻⁴⁶ Bu sitokinler göz dışı dokularda sinerjistikler ve birbirlerinin aktivitelerini arttırlar. Araştırmalar göstermiştir ki sitokinler retina pigment epiteli, Müller hücresi, kornea epitel ve stroma hücreleri, lens epitel hücresi ve silier cisim epitel hücresi tarafından üretilirler.⁴⁷⁻⁴⁹ IL-2 ve interferon- γ (IFN- γ)'nın göz inflamasyonlarında etkili oldukları saptanmıştır.⁴⁹ IL-2'nin bilinen fizyolojik etkisi T lenfositleri

için büyüme faktörü olduğudur. Interlökin-4 (IL-4) mast hücrelerinin büyüme faktörüdür. IgE ve eosinofil aracılığıyla gelişen inflamatuvar reaksiyonlarda kritik rol oynar.

IL-6 da proinflamatuvar sitokin olarak bilinir ve IL-1 ve TNF'ün etkisiyle monosit, makrofaj, keratosit, endotelial hücreler ve fibroblastlar gibi değişik hücreler tarafından salınır.⁵⁰⁻⁵²

Araştırmacılar göz ön kamara sıvısında IL-6 seviyesini düşük olarak bulmuşlardır. Bu tespit IL-6'nın gözde lokal üretimi mevcut olduğu göstermektedir.⁵³

Interlökin-8 (IL-8), proinflamatuvar bir mediatör kabul edilen ve nötrofiller için kemotaktik etkiye sahip bir moleküldür. Sentezi IL-1 ve TNF gibi sitokinler tarafından hızla başlatılabilir.⁵⁴

2.6.1. Sitokin Reseptörleri

Sitokinler tüm hücreler arasındaki iletişimi sağlayan küçük proteinlerdir. Üretilmelerinden hemen sonra salınırlar ve daha sonra aynı hücrede, komşu hücrede ve aktif transport sonrası lenfatik sistem veya kan dolaşım yolu ile uzak mesafelerde spesifik membran reseptörlerine bağlı olarak etkilerini oluştururlar. İnflamasyon, anjiyogenez, hücre büyümesi, hücre iyileşmesi gibi bağışıklık ve inflamatuvar olaylarını düzenlerler. Sitokinler farklı gruplara bölünmüştür bunlar interlökinler, interferonlar, kemokinler, koloni stimule edici faktörlerdir. İnflamasyonun fizyopatolojisinde başlıca önemli rol oynayanlar IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 ve TNF'dir. Gözde sitokinler retina pigment epiteli, Muller hücreleri, kornea epitelyum ve stroma hücreleri, lens epitel hücresi ve silyer cisim epitel hücreleri tarafından üretilirler.⁵⁵

IL-1 katarakt ameliyatı sonrası oluşan inflamasyonda anahtar rol alır. PGE2 sentezini arttırarak kan aköz bariyerini bozarlar. IL-8 idyopatik anterior uveitli hastaların kanında yüksek seviyede bulunmuştur. IL-8 uyarımı ile notrofillerin, endotel hücrelerine yapışmaları ve $\beta 2$ integrin ekspresyonunun arttırılması ile parankim içine geçmeleri sağlanır. Behçet hastalığında oral aftlar

ve norolojik bulguların olduğu donemde serum IL-8 seviyesinin artması nedeniyle bu sitokinin aktivite markırı olabileceği saptanmıştır.

Otoimmün korioretinitlerde CCL-2, CCL-3 ve CCL-5 reseptörleri retinal dokuda fazla miktarda bulunur. Retina pigment epiteli doğal kemokin reseptör antagonistleri özellikle IL-1a üreterek arka segment enflamasyonlarını ve kan retina bariyerinin devamlılığını sağırlar.

Kortikosteroidler sitokinlerin oluşturduğu inflamasyonun güçlü inhibitörleri olup, uzun süre kullanımında glokom ve katarakt gibi önemli yan etkiler görülebilmektedir. Bundan dolayı inflamasyonda rolü olan sitokinlerin inhibisyonu araştırma konusu olmuştur.

Korneal stromada görülen Herpes simpleks virus infeksiyonlarında CXCL-10 kemokininin kullanımı inflamatuvar kemokin yapımını, mononükleer hücre infiltrasyonunu ve virüsün korneadan retinaya geçişi azaltmıştır.⁵⁶ Doku tiplemesinde, immunsupresif tedavide ve cerrahi metodlardaki gelişmelere rağmen rejeksiyon kornea transplantasyonunda greft yetmezliği nedenlerinin başında gelmektedir. Allogreft rejeksiyonu CCL-2, CCL-3, CCL-4 ve CCL-5 kemokin ekspresyonunun artmasıyla güçlü bir birliktelik gösterir. CCL-2 nin blokajı ile greft ömründe uzama bildirilmiştir.⁵⁷

2.6.2. Anjiyogenezis:

Angiogenez, önceden mevcut bulunan kan damarlarından yeni kan damarlarının köken aldığı karmaşık bir süreçtir. Kapiller endotel hücrelerinin proliferasyonundan, migrasyonundan ve dokuya infiltre olmalarından önce extrasellüler matriksin (ECM'nin) lokal bir şekilde yıkılması (parçalanması) söz konusu olmaktadır. Zaman içinde bu hücreler tekrar kapiller strüktürlere re-modeling gösterirler ve yeni bir ECM birikimi olur. Angiogenez, embriyonik gelişimde ve yara iyileşmesinde olduğu kadar ayrıca kadın üreme sisteminde ve kemiğin

oluşumunda, şekillenmesinde ve büyümesinde de önemli bir rol oynamaktadır. Ancak angiogenезin disregulasyonu yani iyi bir şekilde regüle edilememesi çeşitli patolojik süreçlere katkıda bulunur; örneğin diabetik retinopati, romatoid artrit ve solid tümörlerin gelişimi gibi.

Normal sessiz (inaktif, istirahat halindeki) vaskulatürün angiogenез haline geçmesi, esas olarak çevrede bulunan perisitlerden ve lenfositlerden salgılanan faktörler tarafından indüklenmektedir. Bu tür angiogenik faktörler arasında direkt olarak angiogenik etki gösteren asidik fibroblast büyüme faktörü (aFGF), bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF) ve timidin fosforilaz (TP) ve ayrıca indirekt şekilde etki eden transforme edici büyüme faktörü-b (TGF-b) ve TNF- α gibi faktörler bulunmaktadır. Ancak, hemen hemen sadece angiogenез yerlerinde bulunan ve düzeyleri (konsantrasyonları) kan damarlarının büyümesi ile en yakın spatial ve temporal (zamansal ve mekânsal) korelasyon gösteren tek büyüme faktörü VEGF.

VEGF-A, endotelial hücrelerde anti-apoptotik sinyaller oluşturarak hücrelerin bütünlüğünü sürdürür. Apoptozis inhibisyonunu, fosfatidil inositol-3 kinaz gibi antiapoptotik kinazların yapımının artırılması ve anti-apoptotik proteinler olan bcl-2 ve A1 ekspresyonunu arttırarak sağlar. Retina pigment epitel hücreleri VEGF-A'yı membranlarının bazal (koryokapillaris) yüzlerine doğru sekrete ederler. Koryokapillarisin retina pigment epitel hücrelerine komşu endotel hücreleri her üç VEGF reseptörünü eksprese eder. Bu nedenle retina pigment epitelinin herhangi bir nedenle zarar gördüğü durumlarda koryokapillaris atrofisi izlenir. PEDF kornea ve vitreusun avaskuler kalmasında önemli faktördür. PEDF hiperoksi durumlarında artarken hipoksi durumunda diğer anjiyostatik maddeler olan anjiyostatin ve endostatin miktarında azalma izlenir. PEDF ekspresyonundaki artış neovasküler lezyonlardaki hücrelerde apoptozis oluşturarak regresyon sağlar. Diabetik retinopati, PVR ve yaşa bağlı makula dejeneransında düşük vitreus PEDF seviyeleri izlenir. Anjiyogenез oluşumunda tek başına VEGF yükselmesi değil beraberinde PEDF miktarında azalma ile anjiyojenik ve anjiyostatik

faktörlerin dengesinin kaybı izlenir. Neovaskularizasyon tedavisinde VEGF antagonizması ile PEDF agonizması sinerjik etki gösterir.

Anjiyogenez; kan damarlarının morfogenezisini tanımlayan fizyolojik, vasküler gelişim modelidir. Fizyolojik anjiyogenez erişkinde travma, iskemi, inflamasyon gibi patolojilerde doku iyileşme sürecinin bir bölümünü oluştururken, en güzel örneğini retinada görmek mümkündür. Retinanın temporal bölge ora-serrata civarındaki vaskularizasyonu doğumdan sonra devam eden bir süreçtir.

Fizyolojik anjiyogenezlerde vaskulogenez çok sıkı kontrol altındadır. Anjiyogenik süreç bu süreci başlatan ve devam ettiren anjiyogenik mediatorlerle devamlılık gösterir. Yeterli vaskulogenez sağlandığında anjiyogenik mediator baskılanırken lokal inhibitörler aktive olarak bu süreci sonlandıran bir denge içerisine girerler.

Anjiyogenezin normalde uyarıcı ve sonlandırıcı faktörlerin dinamik dengesinde, anjiyogenez uyarıcı faktörlerinin hâkimiyeti halinde patolojik bir süreç olan neovaskularizasyona dönüşebilir. Anjiyogenezin ayrıntılı bir şekilde anlaşılması ve özellikle bu süreçte rol alan mediyatörler ve fonksiyonlarının saptanması anjiyogenezin dolayısıyla onun kontrolsüz klinik formu olan neovaskularizasyonun (NV) önlenmesi için yeni tedavi alternatifleri geliştirilmiştir. Birçok hastalığın kliniğini oluşturan NV için bugün hemen tek tedavi yaklaşımını lazer fotokoagulasyon oluşturmaktadır. Lazer fotokoagulasyon ile NV'nu uyaran faktörlerin salınımından sorumlu iskemik retina dokusu ablasyonu oluşturulur.

Anjiyogenez stimulatorleri;

1- VEGF-A

2- FGF

3- Anjiyopoetinler

4- TGF-alfa, TGF-beta

5- Hepatosit buyume faktoru (HGF)

6- IL-8

7- TNF-alfa

Anjiyogenez inhibitörleri;

1- Trombospondin,

2- Anjiyostatin,

3- Endostatin

4- Pigment epitel kaynaklı faktor (PEDF)'dir.

VEGF-A anjiyogenezisin **primer regülatörüdür.**

2.6.3. VEGF

Tüm büyüme faktörleri içerisinde üzerinde en çok çalışılan faktördür. Vasküler permeabilite faktörü ya da vaskulotropin olarakta bilinir. Beş izoformu tanımlanmıştır. Bunlar VEGF-A, B, C, D, E'dir. VEGF-A'nın iki tip reseptörü vardır; VEGFR-1 (Flt-1) ve VEGFR-2 (kinase insert domain-containing receptor; KDR). VEGF-C ve VEGF-D, VEGFR-3 (Flt-4) reseptörü üzerinden etkilidir. VEGF-B sadece VEGFR-1 reseptörüne yüksek affinite gösterirken, VEGF-E sadece VEGFR-2 reseptörüne bağlanır. Ayrıca yeni izole edilen neuropilin-1 (NP-1) VEGF için koreseptör olup VEGF-A'nın VEGFR-2 reseptörüne bağlanmasını artırır.⁵⁸

VEGF-A endotel hücreleri ve monositleri uyarak doku faktörü (TF) yapımını artırır böylece koagülasyon zincirini aktifler. VEGFR-1'lere karşı geliştirilen antikorlar retinal ve tumoral anjiyogenezisi inhibe eder. VEGF vasküler gelişim, ovulasyon ve tumor anjiyogenezisinde rol alır. Hipoksi VEGF ekspresyonu için major regülatördür. VEGF reseptörüne bağlandığında

spesifik proteinkinaz C izoformunu ($\beta 2$) aktive ederek ödem ve neovaskularizasyon oluşturur. Diabetik makula ödem tedavisinde kullanılmak üzere üretilen bir proteinkinaz C inhibitörü (LY333531) faz 3 klinik araştırma seviyesindedir.⁵⁹

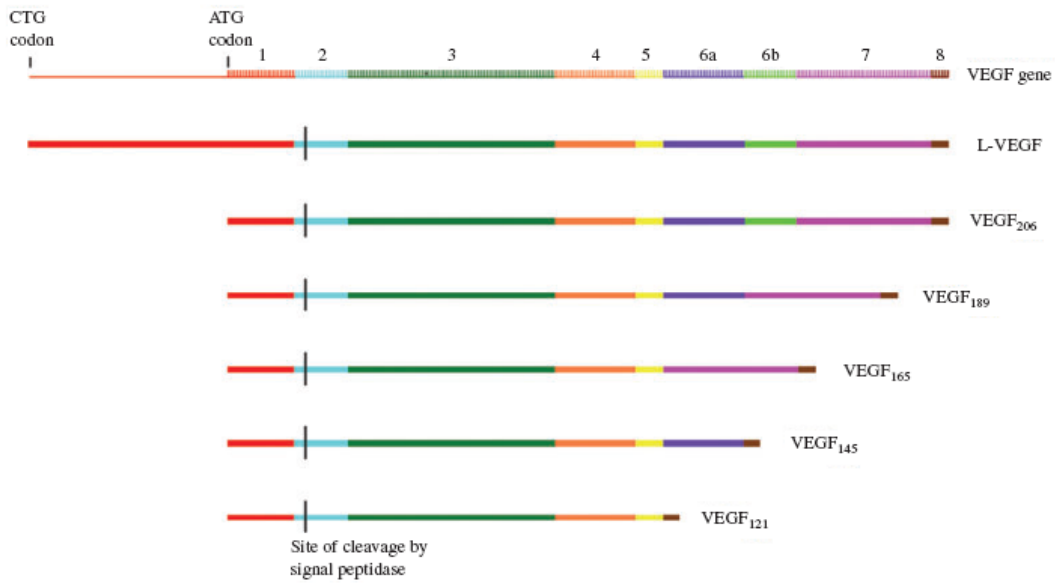
2.6.3.1. VEGF geni - protein yapısı ve sekresyonu

İnsanlardaki VEGF geni kromozom 6p21.3 üzerinde yerleşmiştir. Kodlayıcı bölge ~14 kb'lik bir alan kaplamaktadır ve 8 exon'dan oluşmaktadır.(Şekil 1) Tek bir pre-mRNA'nın alternatif splicing'i (birleştirilmesi) çok sayıda farklı VEGF türünü oluşturur.⁶⁰

Bir VEGF fragmanının X-ışını kristalografisi VEGF'nin, dimerik sistein-boğumlu (ilmekli) büyüme faktörü süper ailesine mensup olduğunu göstermektedir. Her bir monomer, dört-zincirli bir beta tabakasının bir ucunda yer alan zincir-içi disülfid bağlı boğumlu bir motif ile karakterizedir. Bu super-aile, alt bölümlere ayrılmaktadır. VEGF, bu alt bölümlerden platelet-kökenli büyüme faktörü (PDGF) ailesine mensuptur. Bu alt-ailede yer alan monomerler, “yan-yana” bir oryantasyonla bir arada tutulmaktadırlar. 2 beta tabakası, 2 kıvrımlı simetriye dik olacak bir şekilde uzanmaktadır. Tüm VEGF isoformları, kovalent bağlı homodimerler şeklinde sekrete edilir. Monomerler başlangıçta, hidrofobik bağlantılarla bir arada bulunurlar ve daha sonra, bir zincirin Cys51'i ile diğer zincirdeki Cys61 arasında oluşan disülfid bağları ile stabilize edilirler. Amfipatik bir alfa heliksini içeren sinyal peptidi, bu dimerizasyon için esansiyeldir ve sekresyon sırasında klevaja uğrayarak parçalanmaktadır.(posttranslasyonel modifikasyon). Asn74 noktasında, VEGF fonksiyonları üzerinde bir etkisi yok gibi görünen ancak etkin bir sekresyon için gerekli olan potansiyel bir N-glikozilasyon yeri mevcuttur.

Exon 3'de üç asidik rezidünün olduğunu ve exon 4'de üç bazik rezidünün bulunduğu gösterilmiştir. Bu rezidüler, sırasıyla VEGFR-1 ve VEGFR-2 reseptörlerine bağlanmak için

esansiyeldir. Dimer ara biriminde VEGF'nin her bir kutbunda son derece fleksibl üç loop kümelenmektedir. Bunlardan loop-2, VEGFR-1 bağlanma determinantları içerir ve VEGFR-2'ye bağlanan karşı monomerin loop-3'üne yakın bir şekilde uzanır. VEGF'nin her bir kutbunda bu reseptör-bağlanma ara birimlerinin pozisyonlandırılması; transfosforilasyon ve sinyalleme için esansiyel olan reseptör dimerizasyonunu kolaylaştırıyor gibi görünmektedir çünkü sadece tek bir reseptör bağlanma yerinin bulunduğu mutant dimerler VEGF aktivitesini antagonize etmektedir.⁶¹



Şekil 1. VEGF geni exon ve intronları

2.6.3.2. VEGF ekspresyonu

Pek çok sitokin ve büyüme faktörü, VEGF mRNA'sını upregüle etmekte yada VEGF salgısını indüklemektedir. Bunlar arasında PDGF, TNF-alfa, TGF-beta, FGF-4, Keratinosit büyüme faktörü (KGF/FGF-7), Epidermal büyüme faktörü (EGF), IL-1alfa, IL-1beta, IL-6 ve

insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) bulunmaktadır. Bunların çoğu direkt bir angiogenik etkiden yoksundur ancak VEGF ve bFGF üzerinde angiogenik aktivite sergilerler. Koagülasyon faktörlerinden factor VII/VIIa'nın bir reseptörü olan doku faktörünün sitoplazmik kuyruğu da VEGF üretimini regüle eder ve yara iyileşme yerlerinde önem taşıyabilir.

Hipoksi, VEGF mRNA düzeylerinde hızlı ve güçlü bir artışı indüklemektedir. Bu durum özellikle, tümörlerin nekrotik alanları etrafında daha belirgin bir şekilde görülmektedir. İşin ilginç, VEGF ailesinin diğer üyeleri ve bFGF hipoksi tarafından indüklenmemektedir. Bu nedenle VEGF, hipoksi ile indüklenmiş NV esas, en önemli mediatörü olmalıdır. Hipoksik hücrelerden salgılanan adenosin, adenosin A2 reseptörlerine bağlanır ve c-AMP bağımlı protein kinaz (PKA) yolu üzerinde VEGF'yi upregüle eder.⁶²

Hipoksi yanıt elemanı (HRE), VEGF geninin üst basamaklarında yer alan bir VEGF artırımı ile ilgili bir gen bölgesidir. Bu HRE hipoksi ile indüklenbilir faktör I (HIF-1) için bir bağlanma yeri içerir. Düşük oksijen basıncı HIF-1 düzeylerini post-transkripsiyonel düzeyde artırır ve ayrıca HIF-1'in DNA-bağlayabilme kapasitesini de artırır.

Von Hippel-Lindau tümör supresörü (VHL) VEGF de dahil olmak üzere hipoksi ile indüklenen genleri negatif bir şekilde regüle etmektedir. VHL Protein kinaz C(PKC) yi sekestre ederek hücre membranına transloke olmalarını ve buna bağlı olarak MAPK aktivasyonunu ve VEGF'nin indüklenmesini önler. Diferansiyasyon yoluyla hücre sinyalleşmesinde görülen değişiklikler de VEGF ekspresyonunu PKC ve cAMP/PKA yolları üzerinden etkileyebilmektedir. VEGF promotor'ı, PKC ve PKA'nın gen ekspresyonunu etkilemelerine aracılık eden Sp1, AP-1 ve AP-2 gibi transkripsiyon faktörleri için çeşitli potansiyel bağlanma yerleri içermektedir.

Translasyona uğramayan 5' ve 3' gen bölgesinin içindeki 3 sinerjik sekans elemanının varlığına bağlı olarak yapısal açıdan labil olan VEGF mRNA'sının yarı ömrü hipoksi etkisiyle

uzamaktadır.⁶³ Hipoksi-ile indüklenmiş stabilite faktörünün (HuR) bağlanması bu mRNA'nın yarı ömrünü 3 – 8 kat uzatmaktadır. Alternatif bir transkripsiyon başlama yeri sürecin aşağı basamaklarında yer alan ribozomal bir giriş yerinden VEGF mRNA transkripsiyonuna izin, imkan vermektedir. Bu durum, cap-dependent translasyon inhibe edilebildiği hipoksik stres durumlarında avantaj sağlayabilmektedir.

VHL geninin inaktivasyonu, aktivatör p53 mutasyonları ve RAS'ın onkojenik mutasyonu yada amplifikasyonu gibi çeşitli spesifik transformasyon olayları da VEGF ekspresyonunu indükleyebilmektedir.

2.6.3.3. VEGF Reseptörleri ve Benzeri Etkili Reseptörler

VEGFR-1 esas olarak perisit hücrelerinde bulunmakla birlikte reseptör ligand birleşmesi ile tirozin kinaz enzimi aktive olur. Tirozin kinaz stoplazmik sinyal moleküllerinin fosforilasyonunu sağlayarak hücre içi etkileri oluşturur. Endotelial VEGFR-1, VEGFR-2 reseptörlerinin negatif regülatörüdür. VEGFR-1'in çözünür formu olan sVEGFR, VEGF'in oluşturduğu endotelial hücre proliferasyon ve migrasyonunu inhibe etmektedir. sVEGFR insan plasenta dokusunda yüksek derecede eksprese edilir ve VEGF-A etkisini regüle eder.⁶⁴ sVEGFR ve VEGF-A arasındaki dengesizlik preeklamsi, intrauterin büyüme geriliği gibi vasküler problemlerin on planda olduğu durumlarda önemlidir. VEGFR-2 endotel hücrelerinde yoğun olarak bulunmaktadır. Tirozin kinaz aktivitesi VEGFR-1' den daha fazladır. VEGF-A'nın VEGFR-2'ye bağlanması ile endotel hücrelerinde yapısal nitrik oksid sentaz (eNOS) enzimi aktive olur. NO endotel hücrelerinde proliferasyon, migrasyon ve aktin sitoskeletonda reorganizasyona neden olur. Hücre içi mitojen aktive edici protein (MAP) aktivasyonu ile endotel

hücre proliferasyonu gerçekleştirilir.⁶⁵ VEGFR-3 embriyonik gelişimin erken dönemlerinde venoz endotelde saptanmıştır. Daha sonra gelişimin geç safhalarında yeni gelişmekte olan lenf damarlarında izlenir. İnsanda sadece lenfatik endotelde ve bazı yüksek endotelial venüllerin VEGFR-3 ekspresyonu saptanmıştır.⁶⁶ Daha sonraki çalışmalar VEGFR-3'un epitele komşu, istirahat halindeki kan damarları endotelinde bulunduğunu epitel hücreleri ve endotel hücreleri arasında kompleks parakrin ilişki olduğunu göstermiştir.⁶⁷

2.6.3.3.1 VEGF Reseptör 1 (VEGFR-1)

VEGFR-1 ve VEGFR-2, yüksek affiniteli VEGF reseptörleridir ve VEGFR-3 ile birlikte reseptör tirozin kinazların FLT alt-ailesini oluştururlar. Bu reseptörler, 7 adet ekstrasellüler immunoglobulin (Ig)-benzeri domain ve bu domainleri izleyen membran-katedici bir bölge ve korunmuş bir intrasellüler tirozin kinaz domain'i ile bu domain'in arasına giren bir kinaz insert sekansı ile karakterizedir.⁶⁸

~180 kDa'luk bir glikoprotein olan VEGFR-1 tanımlanan ilk VEGFR'dir ve VEGF'ye karşı en yüksek affiniteye sahiptir.⁶⁵ VEGFR-1, VEGF dışında PlGF ve VEGF-B gibi benzer büyüme faktörleri tarafından da paylaşılmaktadır. Farelerdeki ekspresyonu erişkinlerde ve embriyolarda endotel hücrelerine sınırlıdır. Bunun dışında ayrıca iyileşmekte olan cilt yaralarındaki neovaskularizasyonda da ekspresyon edilmektedir. Sessiz (inaktif durumdaki) endotel hücrelerinde olduğu kadar proliferasyon alan endotel hücrelerinde de VEGFR-1 mRNA'sının bulunması, bu reseptörün endotelin sürdürülmesinde sürekli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. VEGFR-1 vaskulogenez süresince esansiyeldir: VEGFR-1 oluşturamayan fareler embriyonik dönemde 8,5.nci günde ölmektedir. Bu farelerde hem embriyonik hem de embriyo dışı yerlerde endotel hücreleri normal bir şekilde form oluşturabilmekte ancak doğru bir şekilde bir araya gelerek

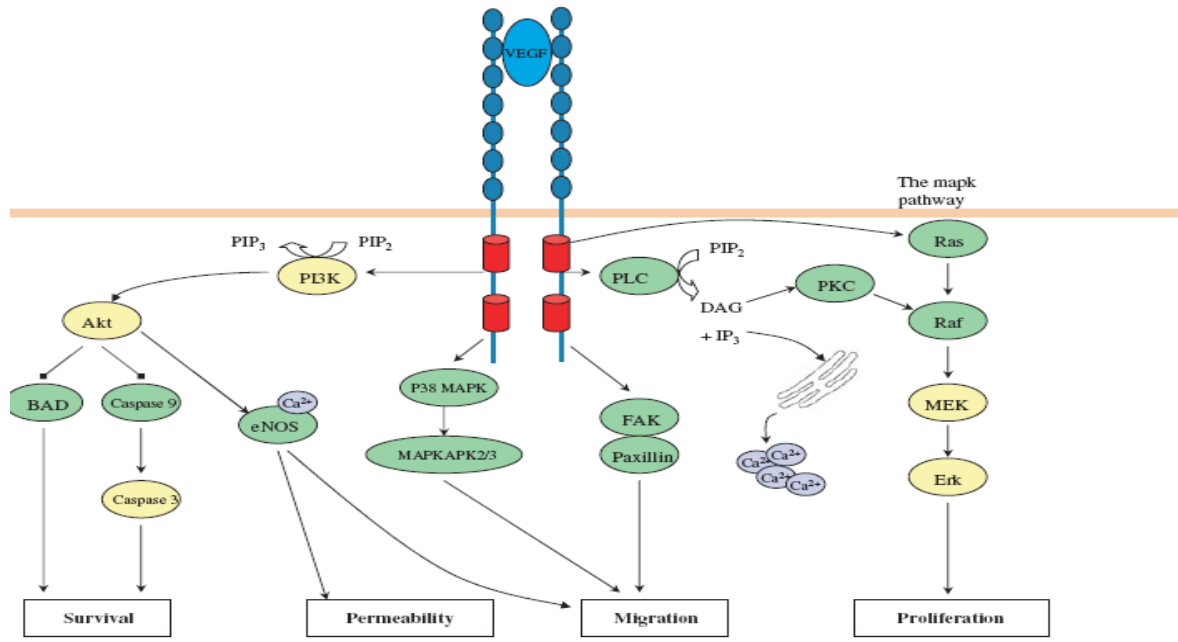
kan damarları halinde organize olamamaktadırlar. Bu defekt, mezankimal hücrelerin hemangioblast haline gelebilmek için VEGFR-1 'in gerekli olduğunu göstermektedir.

VEGFR-1'in VEGF stimülasyonuna yanıt olarak gerçekleşen tirozin fosforilasyonunun tespit edilmesi zordur ve endotel hücrelerinde bu reseptör aracılığıyla düzenlenen belirgin, görünür direkt proliferatif, migratuar ya da sitoskeletal etki söz konusu değildir. Ancak VEGFR-1, endotel hücrelerinde doku faktörünün, uPA'nın ve plasminogen aktivatör inhibitörü-I'in (PAI-1'in) upregüle edilmiş ekspresyonundan da sorumlu tutulmuştur. VEGFR-1'in diğer hücre tiplerinde monositlerde doku faktörünün indüklenmesi ve kemotaksis ve vasküler düz kas hücrelerinde matriks metalloproteinaz ekspresyonunun arttırılması gibi rolleri olabilir;

2.6.3.3.2. VEGF Reseptör 2 (VEGFR-2)

VEGFR-2 (kinaz-insert-domaini-içeren reseptör; KDR olarak da bilinmektedir) 200 – 230 kDa'luk yüksek affiniteli bir VEGF reseptörüdür.^{69,70} Ayrıca VEGF-C ve VEGF-D için de reseptör görevi yapabilmektedir. İnsanlarda, tirozin kinaz reseptörleri için yapılan endotelial cDNA taramaları sırasında tanımlanan bu reseptör, daha önceden keşfedilmiş olan fare fetal karaciğer kinazı-I (flk-1) ile %85 oranında ortak bir sekans kimliğine sahiptir. VEGFR-2 oluşturamayan fareler, endotelial ve hematopoietik prekursorlerin gelişiminde çeşitli defektler göstererek embriyoda 9,5.nci günde ölmektedir. Bu tür prekursor hücrelerde olduğu kadar endotel hücrelerinde, başlangıç aşamalarında bulunan hematopoietik stem cell'lerde ve umbilikal kordun stromasında normalde VEGFR-2 reseptörleri eksprese edilmektedir. Ancak inaktif durumda bulunan erişkin vaskulatüründe VEGFR-2 mRNA'sı down-regüle edilmiş gibi görünmektedir. VEGFR-1 her ne kadar VEGF için daha yüksek bir affiniteye sahip olsa da, VEGFR-2 ligandla

bağlandıktan sonra tirozinle çok daha etkin bir şekilde fosforile edilir. Sonrasında intraselüler pek çok yolak aktive olur ve endotel hücrelerinde mitogeneze, kemotaksise ve morfolojik değişikliklere yol açar. (Şekil 2)



Şekil 2. VEGF intraselüler etki mekanizmaları

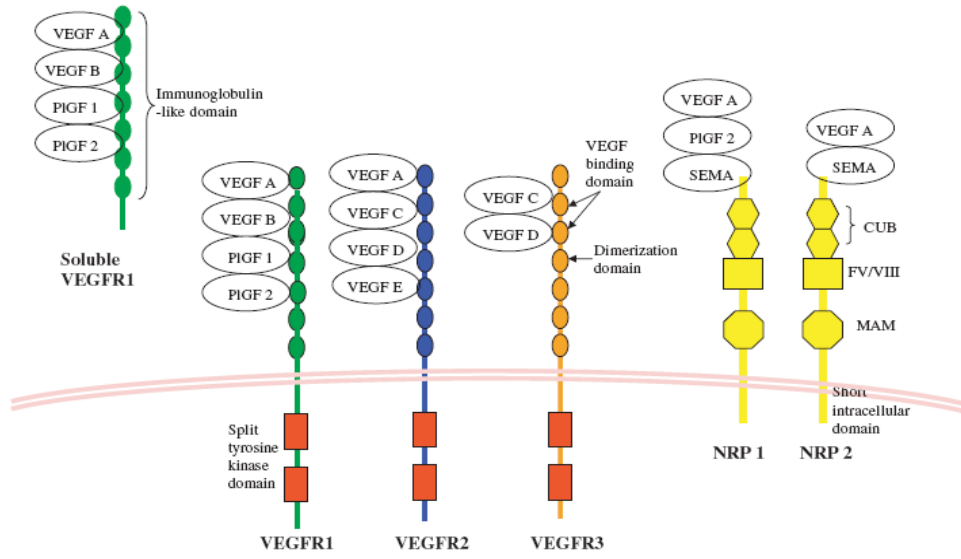
Ig-Benzeri domain'lerin VEGFR fonksiyonlarındaki spesifik rollerini tek tek ortaya çıkartmak için yeni bir çalışma başlatılmıştır. Her 2 reseptörün 2.ci ve 3.cü Ig-benzeri domain'i yüksek affiniteli ligand bağlanması için gerekli gibi gözükmektedir. VEGFR-1'de 2.ci Ig-benzeri domain'in delesyonu ligand bağlanmasını ortadan kaldırırken VEGFR-2'de 3.cü domain'in kaybı en kritik öneme sahip değişiklik gibi görünmektedir. Ig-benzeri 4.cü domain'in VEGFR-1'de reseptör dimerizasyonuna aracılık ettiği sanılmaktadır. Bu durum, VEGFR-2 için de geçerli olabilir. VEGFR-2'nin 5 ve 6.cı Ig-benzeri domain'leri, ligandla bağlanma sonrasında VEGF retansiyonu için gerekli gibi görünmektedir. Birinci Ig-benzeri domain ise ligand bağlanmasına aracılık etmektedir çünkü bu domain'in çıkarılması VEGF ilişkisini arttırmaktadır. Her 2 VEGF

reseptörü de glikozillenmiştir; bu, VEGFR-1 ligand bağlanması için esansiyel bir durum değildir ancak VEGFR-2'nin sadece matür glikozillenmiş şekli etkin bir şekilde otofosforile olabilmektedir.

HUVEC(umbilikal kord venöz endotelyal hücreleri) cDNA kitaplığından VEGFR-1'in sadece ilk 6 Ig-benzeri domain'ini içeren dallanmış solübl bir formu (sFlt-1) klonlanmıştır. sFlt-1 VEGF'ye, tam-uzunluktaki VEGFR-1 kadar güçlü bir şekilde bağlanır ve VEGF'yi sinyalleme reseptörlerinden uzaklaştırarak VEGFR-2 ile sinyalleme yapmayan heterodimerler oluştur ve VEGF aktivitesini inhibe eder. Özellikle plasentada yüksek düzeylerde sFlt-1 meydana gelmektedir. sFlt-1 plasentada, gebeliğin belirli dönemlerinde VEGF aktivitesini kontrol ediyor olabilir. VEGFR-2'nin kinaz domain'inin c-terminal yarısını içermeyen dallanmış bir formu bu hücrelerde tam uzunluktaki VEGFR-2'den daha düşük düzeylerde eksprese edilir ama VEGF tarafından en azından etkin bir şekilde aktive edilebiliyor gibi görünmektedir.

2.6.3.3.3. VEGF Reseptör 3 (VEGFR-3)

VEGFR-3 (Flt-4) de reseptör tirozin kinazların flt alt-ailesinin bir üyesidir. Ancak bu reseptörün ekspresyonu esas olarak, erişkin dokuların lenfatik endoteline sınırlı gibi gözükmektedir. VEGFR-3, VEGF-C ve VEGF-D'yi bağlar ancak VEGF'yi bağlamaz. Bu reseptörün lenfangiogenezi kontrol ettiği düşünülmektedir.



Şekil 3. VEGFR-1,2,3 ve Nörofilin reseptörüne bağlanabilen moleküller gösterilmiştir.

2.6.3.4. VEGF reseptör uyarımı sonrası sinyal iletimi

VEGF reseptörleri dimerlerden oluşmaktadır. Dimer ara biriminde VEGF'in her bir kutbunda, birbirinden ayrı olan ancak iç-içe geçen, örtüşen VEGFR-1 ve VEGFR-2 bağlanma yerleri mevcuttur. VEGF üzerindeki bu yerlerde bulunan reseptör monomerlerinin etkileşimi reseptör dimerizasyonunu ve buna bağlı olarak transfosforilasyon yoluyla aktivasyonu indüklemektedir. Yani VEGF reseptöre bağlanınca monomerler dimerize olmaktadır ve intraselüler aktivasyon başlamaktadır. VEGFR-1 ve VEGFR-2 ve aynı zamanda oluşan homodimerler de heterodimerize olabilmektedir. sFlt-1 (erimiş haldeki VEGFR1) ve VEGFR-2 sinyalleme-yapmayan kompleksler oluşturabilir. *In vivo* koşullarda endotel hücreleri için mitogenik ve kemotaktik etkili olan PlGF-VEGF heterodimerleri de mevcuttur.

VEGFR-2, endotel hücrelerinin VEGF'ye karşı verdiği hemen hemen bütün cevaplara aracılık ediyor gibi görünmektedir. Tam tersine, VEGFR-1 her ne kadar monosit migrasyonunu indükleyebilse de VEGFR-1'e yanıt olarak ortaya çıkan endotel hücre migrasyonu kesin bir

şekilde gösterilememiştir. VEGFR-1 stimülasyonuna karşı belirgin endotel hücre yanıtlarının olmaması bazı kimselerin, VEGFR-1'in esas rolünün VEGFR-2 aracılığıyla oluşan sinyallemeyle engellenerek VEGF'i sekestire eden yalancı bir reseptör olduğu spekülasyonun öne sürülmesine yol açmıştır. Gerçekten de, tirozin kinaz domain'i bulunmayan VEGFR-1 ekspresyon eden fare embriyoları normal bir gelişim ve angiogenezi sergilerler. Bu farelerde sadece, VEGF-aracılı makrofaj migrasyonu etkilenmektedir.⁷¹ VEGFR-1 baskın olarak ligand-bağlayıcı bir molekül şeklinde etki ediyorsa PlGF ve VEGF-B esas olarak VEGF ve VEGFR-2 bağlanmasını sağlamak için mevcut bulunuyor olabilir. Bu tür bir rekabet (yarışma) PlGF'nin düşük konsantrasyonlardaki VEGF'nin bioaktivitesini potansiyalize edebilmesini açıklamaktadır. Ortamdaki PlGF VEGFR1'e bağlanarak mevcut bulunan VEGF'i indirekt bir yol ile VEGFR2'ye yönlendirmektedir.

VEGF ile ilişkili sinyal transdüksiyon olaylarının ortaya çıkartılması VEGFR'lerin ekspresyonundaki ve sinyal iletimindeki hücrelere spesifik ve dokulara spesifik farklılıklardan dolayı kolay olmamıştır. HSPG'ler ve neurophilinler gibi potansiyel olarak modulator grupların varlığı tabloyu daha da karmaşıktır. VEGF sinyallemeyle ilgili mevcut güncel bilgiler hala tam anlamıyla ortaya konamamıştır

2.6.4. Interlökin-8 (IL-8)

IL-8 yapısal olarak homolog özellikteki birçok sitokinin bir araya gelerek oluşturduğu ailenin bir üyesi olup, bu aileyi oluşturan sitokinlerin antijenle etkinleştirilmiş T hücrelerde, fibroblastlarda, endotel hücrelerinde, keratinositlerde, nötrofillerde, epitelyum hücrelerinde ve tek çekirdekli fagositlerde üretildiği belirlenmiştir.^{72,73} Sentezi IL-1 ve TNF gibi sitokinler tarafından

hızla başlatılabilir. Endotoksemi sonrası polimorfonükleer lökositler, monosit ve makrofajlardan salındığı gösterilmiştir. IL-8, proinflamatuvar bir mediatör kabul edilen ve nötrofiller için kemotaktik etkiye sahip bir moleküldür. IL-8'in nötrofil ve eozinofillerin güçlü bir aktivatörü olduğu, IL-4 üretimini artırarak B lenfositlerde IgE üretimini azalttığı kaydedilmektedir.^{72,74} TNF ve IL-1'in başlattığı nötrofil etkinleşmesi, büyük ölçüde TNF ve IL-1 ile uyarılan IL-8 ve ilişkili proteinlerin üretilmesine bağlıdır. IL-8 ve bu aileye ait sitokinler yangıda ikincil etkili düzenleyiciler olarak görev yaparlar. IL-8, nötrofillerin endotel hücreleri ve endotel altındaki matriks proteinlerine yapışmasını hızlandırır. IL-8 uyarımı sonrası nötrofillerin endotel hücrelerine yapışmaları ve daha sonra parankim içine geçmelerini sağlar. İn vitro olarak T lenfositler için kemotaktik faktördür, fakat çoğalmaya neden olmaz.⁷⁵

2.6.5. Tümör Nekrotizan Faktör (TNF)

TNF mononükleer fagositlerden kaynağını alır. T hücreleri, aktive Naturel Killer (NK) hücreleri ve aktive mast hücreleri bu proteini salgırlar. İki çeşit TNF vardır. Bunlar genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (orijinal olarak kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (lenfotoksin)'dir.⁷⁶⁻⁷⁹ TNF, düşük yoğunluklarda lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir. Sağlıklı bireylerde plazma TNF düzeyleri 0-35 pg/ml arasında değişmektedir. TNF- α 157 aminoasitten oluşan bir polipeptid molekülüdür. Hem membrana bağlı, hem de salınmış iki formu vardır ve her ikisinde aktiftir. TNF- α 'nın iki tip reseptörü vardır: tip 1 (TNFR1) ve tip 2 (TNFR2). TNF'ün başlıca biyolojik etkileri şunlardır:^{76-78,80}

1. Lökositlere karşı endotel hücre yüzeyini adezyon molekülleri aracılığı ile daha yapışkan hale getirerek, damar endotel hücrelerinin yeni yüzey reseptörlerini dışa salmalarına neden olur.
2. İnflamatuar lökositleri özellikle nötrofilleri mikroorganizmaları öldürecek şekilde aktive eder.
3. IL-1, IL-6, kemokinleri ve TNF'ün kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir.
4. Viruslara karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterir.
5. Endojen pirojen olarak etki ederek ateşi yükseltir. Bu etkiyi IL-1 ile beraber yapar.
6. Mononükleer fagositler ve vasküler endotel hücrelerine etki ederek IL-1 ve IL-6'nın dolaşıma salınımını uyarır.
7. Hepatositlere etki ederek akut faz proteinlerinin (kompleman faktör 3, haptoglobulin, C-reaktif protein, faktör-B gibi) sentezini uyarır.
8. Damar endotelinin prokoagulan ve antikoagulan aktiviteleri arasındaki dengeyi değiştirerek pıhtılaşma sistemini aktive eder.
9. Kemik iliğini baskılayarak ana hücre bölünmesini engeller.
10. Deney hayvanlarına uzun süre verildiğinde kaşektik metabolik değişikliklere neden olur. Kaşeksi, TNF ile uyarılan iştah azalması sonucu oluşur.
11. Damar düz kasını gevşeterek kan basıncını ve doku perfüzyonunu azaltır. Bu etkiyi prostasiklin ve nitrik oksit (NO) gibi damar genişleticileri uyararak indirekt yoldan yapar.
12. İnvasküler koagülasyona neden olarak doku perfüzyonunu azaltır.
13. Miyokard kasılabilirliğini azaltarak doku perfüzyonunu azaltır.

3.GEREÇ VE YÖNTEMLER

T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda operasyon kararı verilen diabetik retinopati tanısı almış 57 diabetik hastanın 57 gözü ve kontrol grubu olarak da proliferatif vitreoretinopatisi olmayan 22 makula deliği olgusu kontrol grubu kapsamına alınmıştır. Çalışma grubundaki 79 hastaya üç girişli 20 gauge pars plana vitrektomi operasyonu uygulanmıştır. Diabetik hasta grubundaki hastaların 23'ü kadın (%40.35), 34'ü erkek (%59.65); kontrol grubundaki hastaların 12'si kadın (%28), 10'u erkek (%72) idi. Toplam olarak da çalışmada 35 kadın (%44,3); 44 erkek (%55,7) vardı. Çalışma grubuna dahil edilen diabetik retinopati hastaların yaş ortalaması $65,92 \pm 6,18$; kontrol grubunun ise $64,32 \pm 5,22$ idi. Diabetik, kontrol grubundaki hastalar özellikle ve titizlikle aynı yaş grubundan seçilmiştir. Burada amaçlanan, yaş faktörünün parametreler üzerindeki etkisini ortadan kaldırarak iki grubun eşit şartlarda değerlendirmeye katılmasını sağlamaktır.

Çalışma grubunda ve kontrol grubundaki hastalar seçilirken vitreus IL-8, TNF α ve VEGF seviyelerini etkileyebilecek yaşa bağlı makula dejenerasyonu gibi herhangi bir ek makula patolojisinin bulunmamasına, oküler inflamasyon hikâyesinin olmamasına, üç ay içinde laser fotokoagülasyon uygulanmamış olmasına dikkat edilmiştir ve bu durumlardan herhangi birini içeren hasta çalışma dışında tutulmuştur. Diabetik hastaların tamamı nonkomplike Tip II diabetikler arasından seçilmiştir. Burada amaçlanan, diabetik retinopati patolojisinde IL-8, TNF α ve VEGF seviyelerini kontrol grubu ile karşılaştırmaktır. Sağlıklı insanların vitreuslarının çalışma için alınamayacağı düşünülürse, diabetik retinopati hastalar ile makula deliği olan hastaların

vitreus sıvıları karşılaştırılırsa proliferatif bir durum yaratmayan makula deliği tanılı hastaların vitreus sıvılarındaki IL-8, TNF α ve VEGF seviyelerine göre diabetin sitokinler üzerine olan etkisi aydınlanmış olacaktır.

Kontrol grubunun ve hastaların tümünün preoperatif ayrıntılı oftalmolojik muayeneleri yapılmış ve kapsamlı anamnezleri incelenmiştir. Hastada oküler travma anamnezi, glokom, üveit sekeli veya diğer ek oküler patolojilerin olması da çalışmadan dışlama ölçütü olarak alınmıştır.

3.1. CİHAZ VE ALETLER

- ELISA insan VEGF lm kiti (Biosource, Invitrogen, California, USA)
- ELISA insan TNF- α lm kiti (AviBion, Helsinki, Finland)
- ELISA insan IL-8 lm kiti (AviBion, Helsinki, Finland)
- Otomatik pipet
- Erlenmayer ve cam tüpler
- Steril ebandorf
- Derin dondurucu (-70 °C); Derin dondurucu (-20 °C)
- Buzdolabı(+4 °C)
- Bio-mikroskop (Haag-Streit 900 slit lamp)
- Noncontact pnometre (Topcon)
- Oftalmoskop (Neitz)
- İnsülin enjektörü

3.2. VİTREUS ÖRNEKLERİ ALINMASI VE SAKLANMASI

Vitreus örnekleri pars plana vitrektominin başlangıcında göz içi infüzyon açılmadan önce vitrektör ile dilüe edilmeden 0.5 cc aspire edilmiştir. Aspire edilen örnekler hemen steril epandorflara konulmuştur. Örnekler en kısa zamanda güneş ışığından korunarak -70 °C deki derin dondurucuya aktarılmıştır. Örnekler hep aynı cerrah tarafından alınmıştır. Hiçbir operasyonda vitreus alınmasına bağlı bir komplikasyon gelişmemiştir. Sonuçlar IL-8, TNF α ve VEGF için pg/ml cinsinden hesaplandı.

3.3. VİTREUS IL-8, TNF- α VE VEGF MİKTAR ANALİZ YÖNTEMLERİ

Alınan vitreus örneklerinde IL-8, TNF- α ve VEGF miktar analizi insan VEGF ölçüm kiti (Biosource, Invitrogen, California, USA), insan TNF- α ölçüm kiti (AviBion, Helsinki, Finland) ve insan IL-8 ölçüm kiti (AviBion, Helsinki, Finland) üretici firmanın uygulama kurallarına uyarak ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile ölçüldü.

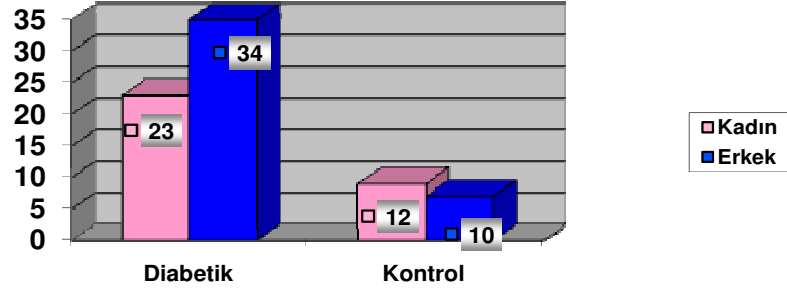
4. BULGULAR

T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda operasyon kararı verilen 57'si diabetik retinopati olan 57 hasta ve kontrol grubu olarak makula deliği olan 22 hasta olmak üzere toplam 79 olgu çalışma kapsamına alınmıştır. Çalışma ve kontrol grubundaki hastalardan pars plana vitrektomi operasyonunda infüzyon açılmadan evvel vitreus örnekleri alınmıştır. Diabetik hasta grubundaki hastaların 23'ü kadın (% 40.35), 34'ü erkek (% 59.65); kontrol grubundaki hastaların 12'si kadın (% 55), 10'u erkek (% 45) idi. (Grafik 1)

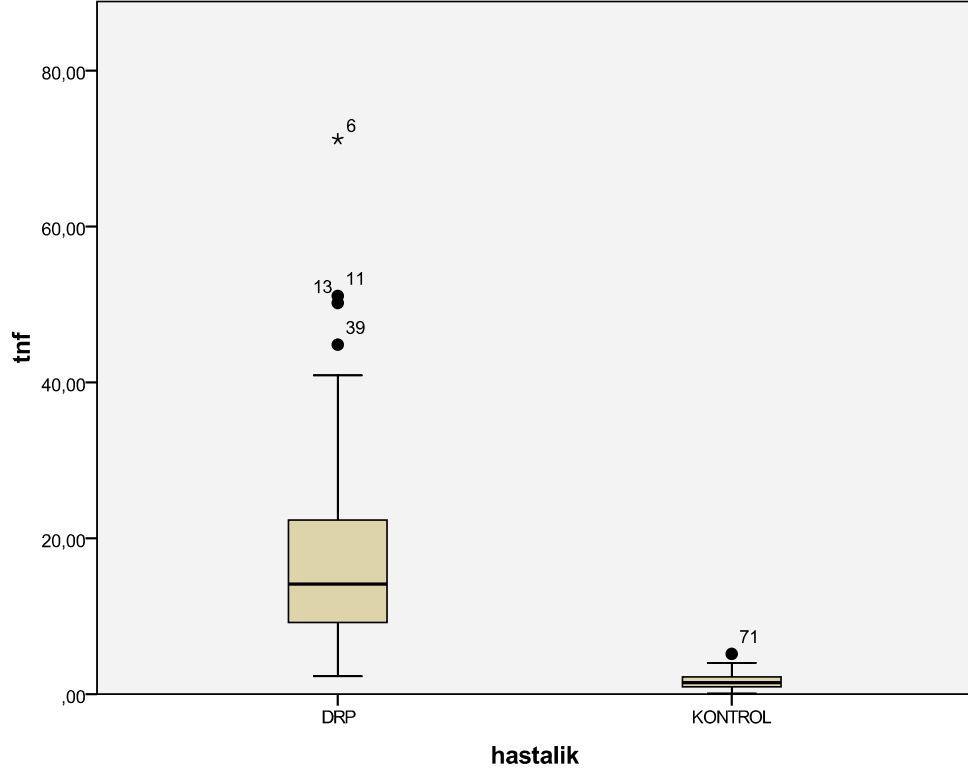
Tüm olguların alınan vitreus örneklerinden ELISA yöntemi ile IL-8, TNF- α ve VEGF parametrelerine bakılmıştır. DR grubundan vitrektomi sırasında elde edilen vitreus örneklerinde VEGF seviyesi ($1181,1679 \pm 1230,43140$ pg/ml [76.65– 6982.29]) kontrol grubundan elde edilen vitreus örneklerindeki VEGF seviyesine ($3,8673 \pm 5,00354$ pg/ml [0,07–16,44]) göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P < 0,001$). Aynı şekilde DR grubundan vitrektomi sırasında elde edilen vitreus örneklerinde IL-8 seviyesi ($82,7891 \pm 74,08700$ pg/ml [0,08–307,09]) ve TNF- α seviyesi ($18,0007 \pm 13,90015$ pg/ml [2,32 –51,11]) kontrol grubundan elde edilen vitreus örneklerindeki IL-8 seviyesine ($2,9805 \pm 3,77546$ pg/ml [0.08–18.53]) ve TNF- α seviyesine ($1,7005 \pm 1,26949$ pg/ml [0,1–5,17]) göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P < 0,001$). Bu sonuçlar Tablo 1'de özetlemiştir.

4.1 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

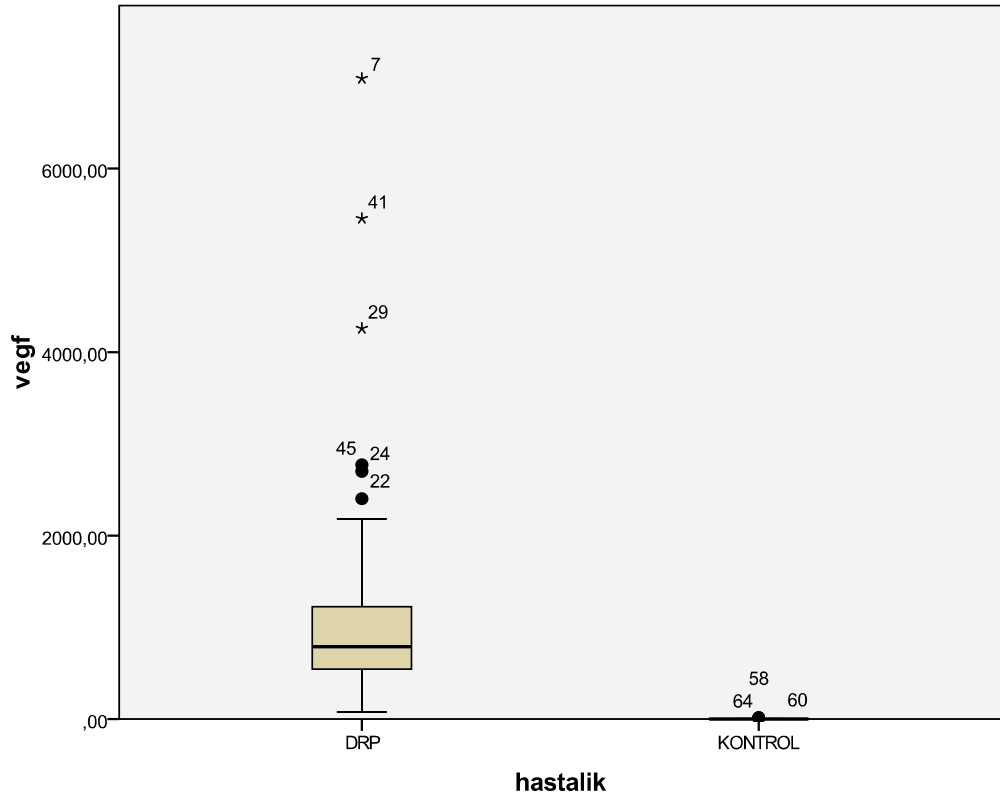
Hasta ve kontrol grubundan alınan veriler ortalama, medyani standart deviasyon, minimum ve maksimum değerler, sayı ve yüzdeler olmak üzere gerekli yerlerde tanımlandı. İstatistiksel anlamlılık değeri (p) 0.01 olarak alındı. İstatistik analiz hesaplamalarında SPSS ver. 12.0 kullanıldı. Çoklu değişken karşılaştırmalarında varyans analizi kullanılmıştır. Kontrol grubu ve diabetik retinopati grupları arasında TNF- α , VEGF ve IL-8 değerleri açısından yapılan istatistiksel değerlendirmede t test kullanıldı. Tüm hastalar için ve DR hastaları için TNF- α , IL-8 ve VEGF seviyeleri arasında korelasyon izlenmedi. (Tablo 2) Hastaların VEGF, TNF- α ve IL-8 seviyeleri açısından ortalama, standart sapma ve standart hata ortalaması değerleri Grafik 2,3 ve 4'te, vitreus örneklerinde VEGF, TNF- α ve IL-8 miktarlarının saçılım eğrileri ise Grafik 5,6 v4 7'de gösterilmiştir.



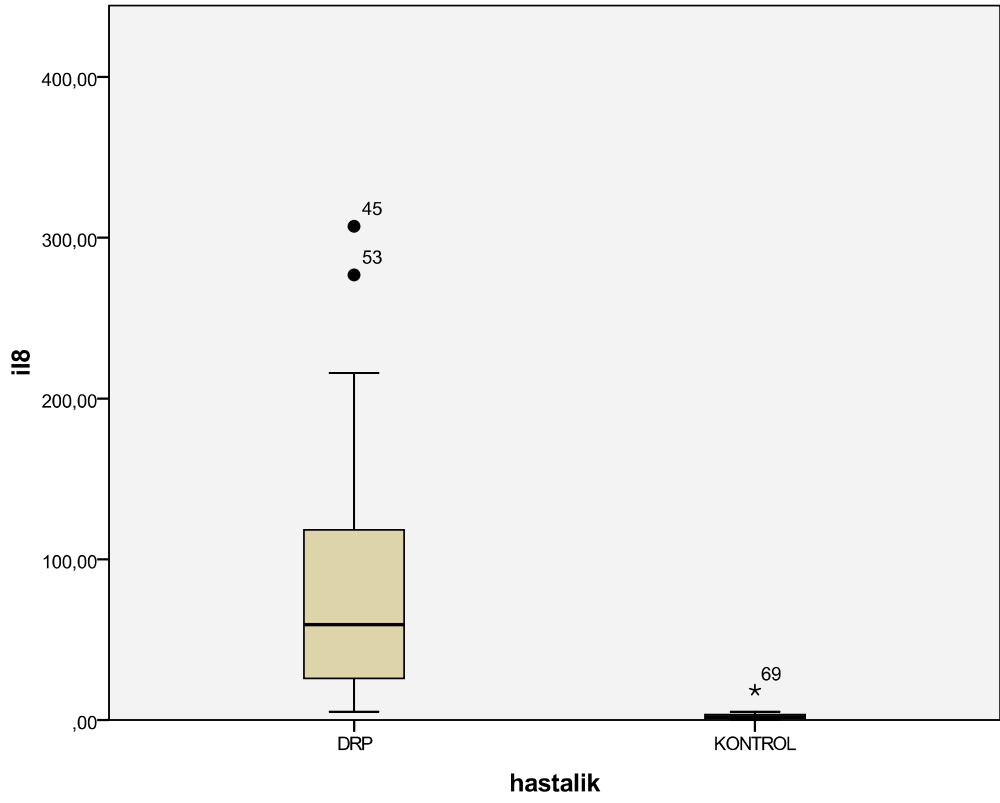
Grafik 1. Çalışma gruplarının cinsiyete göre dağılımı



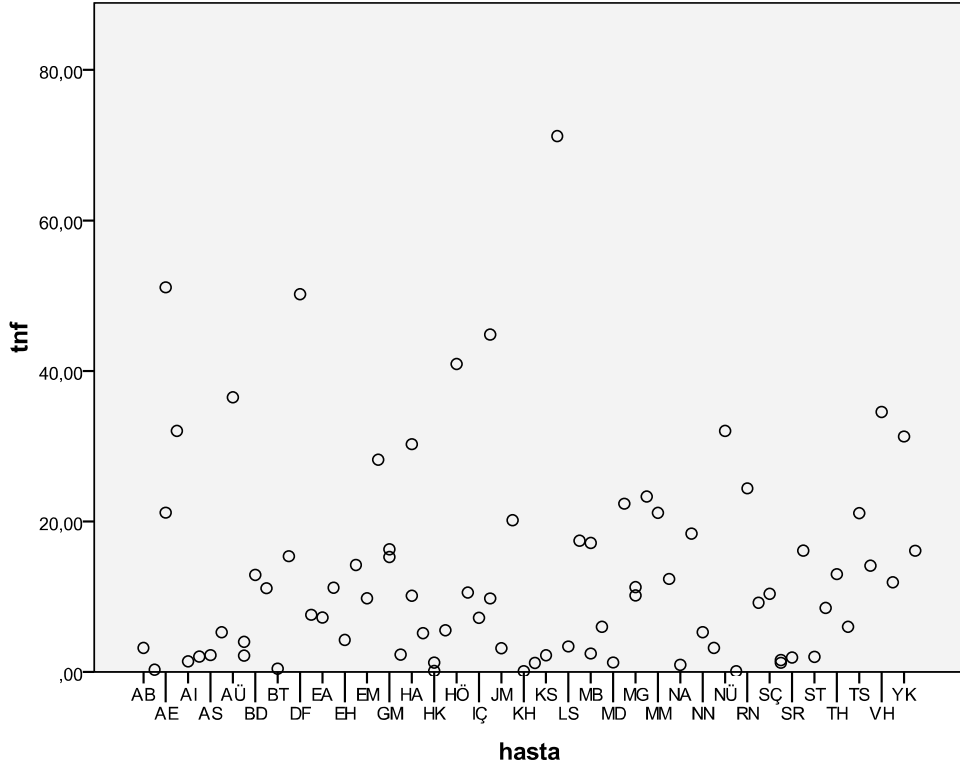
Grafik 2: DRP hastaları ve kontrol grubunda TNF- α ortalaması ve standart sapması



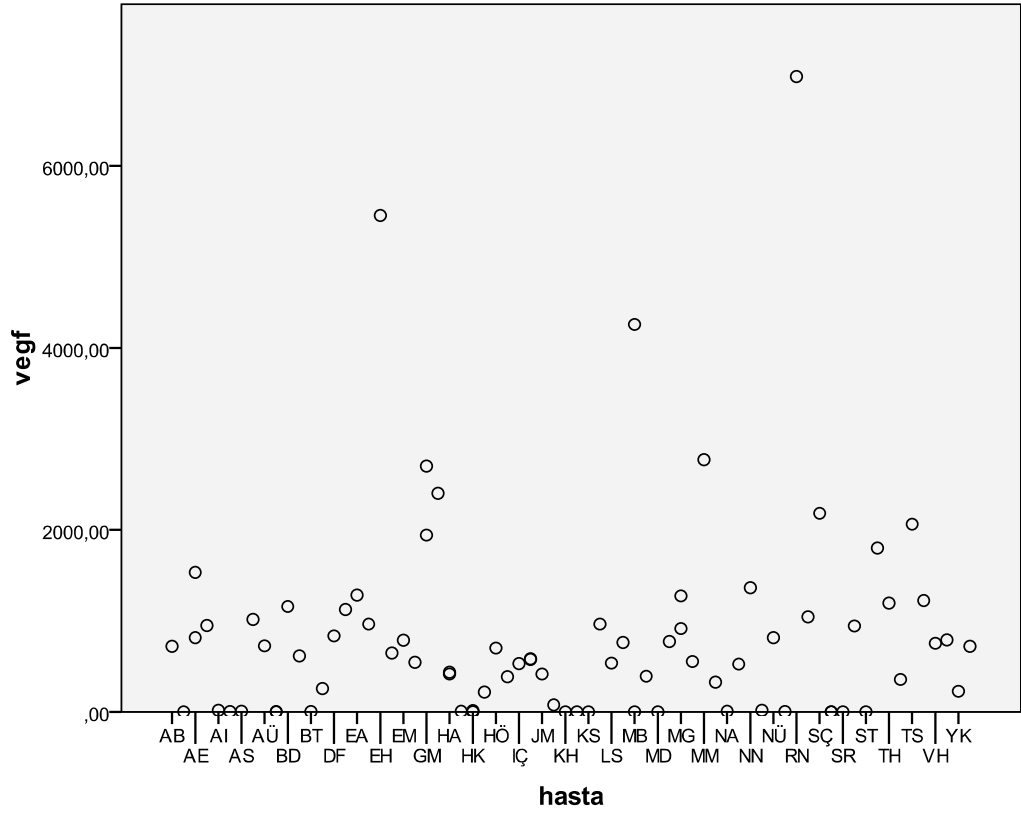
Grafik 3: DRP hastaları ve kontrol grubunda VEGF ortalaması ve standart sapması



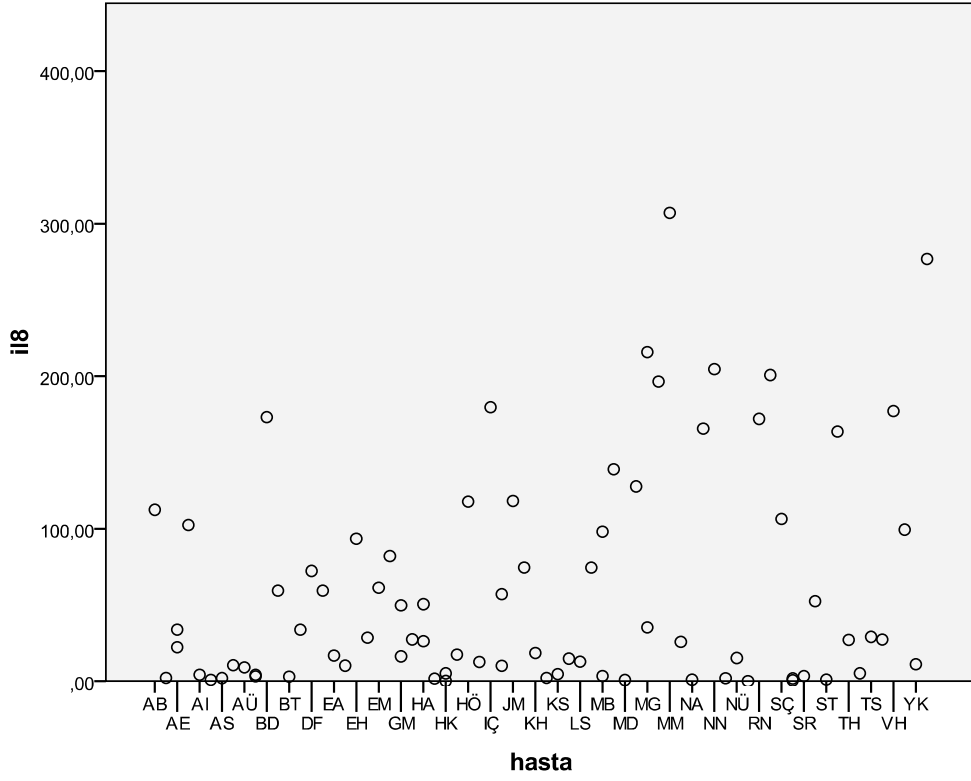
Grafik 4: DRP hastaları ve kontrol grubunda IL-8 ortalaması ve standart sapması



Grafik 5: Vitreus örneklerinde TNF- α miktarlarının saçılım eğrisi



Grafik 6: Vitreus örneklerinde VEGF miktarlarının saçılım eğrisi



Grafik 7: Vitreus örneklerinde IL-8 miktarlarının saçılım eğrisi

Grup İstatistikleri

Hastalık	N	Mean(ortalama)	Std. Deviasyon	Std. Hata Ort.	
TNF-α	DRP	57	18,0007	13,90015	1,84112
	KONTROL	22	1,7005	1,26949	0,27066
IL-8	DRP	57	82,7891	74,08700	9,81306
	KONTROL	22	2,9805	3,77546	0,80493
VEGF	DRP	57	1181,1679	1230,43140	162,97462
	KONTROL	22	3,8673	5,00354	1,06676

Tablo 3: DRP ve kontrol grubunda TNF- α , IL-8 ve VEGF ortalama, standart deviasyon ve standart hata ortalamaları değerleri. DRP; Diabetik retinopati

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								99% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig. (p)	t	df	Sig. (2- tailed)	Mean Difference	Std. Hata Difference	En düşük	En yüksek
Tnf Equal variances assumed	22,924	0,000	5,470	77	0,000	16,30025	2,97996	8,42957	24,17092
			8,759	58,374	0,000	16,30025	1,86091	11,34519	21,25530
il-8 Equal variances assumed	42,408	0,000	5,030	77	0,000	79,80867	15,86598	37,90349	121,71385
			8,106	56,749	0,000	79,80867	9,84602	53,56630	106,05104
vegf Equal variances assumed	13,235	0,000	4,470	77	0,000	1177,30062	263,37356	481,67899	1872,92225
			7,224	56,005	0,000	1177,30062	162,97811	742,71878	1611,88247

Tablo 4: TNF- α , VEGF ve IL-8 seviyeleri açısından çoklu değişken karşılaştırmalarında varyans analizi

5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında vitreus VEGF, IL-8 ve TNF- α seviyelerinin diabetik retinopati ile ilişkisi incelendi. Ulaşılan sonuçlara göre vitreus sıvısındaki VEGF, IL-8 ve TNF- α seviyeleri diabetik retinopatili hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Diyabet mikrovasküler ve makrovasküler yapıları etkileyen komplikasyonlara sahip yaygın görülen bir hastalıktır. On yıl önce, diyabetik komplikasyonlara yol açan faktörlerle ilgili çalışmalar ilginç bir ikilemi ortaya çıkarmıştır. Diyabetli hastalarda hem mikrovasküler yetersizlikler hem de mikrovasküler proliferatif hastalıklar görülebilmekte ve hatta bazen her ikisi birden görülmektedir. Mikrovasküler hastalığın tedavisindeki gelişmeler çeşitli diyabetik komplikasyonların tedavisinin ümit verici olduğunu göstermektedir.⁸¹ Diyabet protein kinaz C aktivasyonu (genellikle hiperglisemiye cevabın ana mediyatörü), ilerlemiş glikosilasyon son ürünü, sitokin ve büyüme faktörlerinin up-regülasyonu, reaktif oksijen türlerinin artışı ve renin-anjiyotensin sisteminin uyarılması gibi çeşitli patolojik değişikliklere neden olur. Bu değişikliklerin tümünün renal VEGF yapımını arttırdığı bilinmektedir. Özetle, pek çok uyaran birlikte ve tek başına etki ederek diyabetik böbrekte VEGF yapımını artırabilmektedir. VEGF makromoleküllere karşı vasküler permeabilityyi arttırması ve monosit kemotaksisini ve doku faktörü yapımını uyarması nedeniyle, diyabetik mikrovasküler komplikasyonların patogeneğinde yer almaktadır. VEGF'nin glomeruler permeabilityyi düzenlemedeki rolü tanımlanmamış olmakla birlikte, çeşitli klinik ve deneysel bulgular VEGF'nin glomeruler permeabilityde değişikliklerinde rolü olduğunu göstermektedir.⁸²

Aiello ve arkadaşları, diyabetik retinopati tanısı almış hastaların plazma ve vitreus sıvısında VEGF düzeyinin yüksek olduğunu göstermiştir.⁸³ Diyabetik retinopati mevcut olgularda retina ve oküler sıvılarda VEGF düzeylerinde artış için temel stimulusun retinal hipoksi ve iskemi

olduğu kabul edilmektedir. VEGF aynı zamanda DR'nin erken dönemlerinin gelişiminde de rol aldığı birçok deneysel çalışmayla ortaya konmuştur.⁸⁴ Artan VEGF düzeyleri vasküler geçirgenlikte artışa neden olarak, retinopati oluşumuna katkıda bulunur. Diyabetik olgularda retinopati gelişmeden önceki dönemde de VEGF düzeylerinin yüksek bulunduğu saptanmıştır.⁸² Non-diyabetik deney hayvanlarının gözlerine VEGF enjekte edildiğinde nonproliferatif diyabetik retinopatide ana değişiklikler olduğu gösterilmiştir. DR oluşmadan önce diyabetik olgularda retinal kan akımının anlamlı düzeyde azaldığı saptanmıştır. VEGF üretimini stimule eden en önemli faktörün hipoksi olduğu bilinmektedir. Ancak hipoksi dışında da VEGF üretimini uyaran pek çok sitokin ve metabolit (glukoz, AGEs, IGF-1 ve anjiotensin II)'inde diyabetik olgularda artan düzeyde olduğu bilinmektedir.⁸⁵⁻⁸⁸ Hogeboom van Buggenum ve ark. DR'li hastalarda vitreus sıvısında VEGF seviyesinin normalden yüksek bulmuşlar ve anjiotensin II inhibitörü (enalapril) alan proliferatif DR'li hastalarda retinal VEGF üretiminin azaldığı tespit edilmiş.⁸⁹ Ozaki ve ark.'ları, PTK787, PKC412 gibi potent VEGF reseptör kinaz inhibitörlerinin diyabetik retinopati ve diğer iskemik DR'lerin tedavisinde (erişkinlerde) etkin bir rol oynadığını rapor etmişlerdir.⁸⁷

Deneysel diyabetik hayvan modellerinde diyabetik retinopatinin başlangıcında retinal VEGF ekspresyonunun artış gösterdiği, eksojen intraoküler VEGF uygulanan nondiyabetik hayvanlarda diyabetik retinopatiyi taklit eder tarzda retinal patolojilerin olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, retinopatinin en erken evrelerinden itibaren VEGF ekspresyonunun arttığı ve olayın gelişim ve progresyonundan sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır.⁹⁰

Bu tez çalışması DR'si olan hastaların vitreus örneklerinde VEGF seviyelerinin kontrol gruba göre istatistiksel anlamlı olarak arttığını gösterdi. Proliferatif retinopatide vitreus VEGF seviyelerinin yükseldiğini bildiren yayınlar daha önce rapor edilmiştir.⁹¹ VEGF'nün vasküler geçirgenliği arttırıcı etkisi üzerine indükleyici etkisi iyi bilinen bir etkidir.^{92,93}

IL-8 uyarımı ile nütrofillerin, endotel hücrelerine yapışmaları ve $\beta 2$ integrin ekspresyonunun arttırılması ile parankim içine geçmeleri sağlanır. PDR, retinal mikrovasküler yapıların perisit ve endotel hücrelerinin kaybı ile kan retina bariyerinin bozulması ile karakterizedir. PDR de retinal dokudan vitreusa uzanan membranoz yapılar izlenir. IL-8 PDR'li hastaların vitreusunda yüksek oranda saptanmıştır.⁹⁴ Vitreus örneklemesinde IL-8 PDR'nin aktif döneminde yüksek olduğu tespit edilmiştir, CXCL-10 nun inaktif olduğu dönemlerde yüksektir. IL-8 anjiyogenik etkiliyken CXCL-10 anjiostatik etkilidir. Her iki antagonistik etkili sitokin hastalığın farklı evrelerinde pik yapar. IL-8 ekspresyonu esas olarak vasküler endotelial hücrelerde ve retinal glial hücrelerde izlenir. Hipoksida glial hücrelerden IL-8 ve VEGF sentezlenmesi ile neovaskularizasyon başlatılır. IL-8 ve NO'nun vitreus içi konsantrasyonu hastalığın progresyonu ile koreledir.⁹⁵

IL-8 inflamatuvar hücrelerden ve birçok başka hücreden üretilen inflamatuvar ve anjiyogenik medyatördür. İskemik durumlarda meydana gelen anjiyogenezis sonucunda retinadaki endotel hücrelerinden ve glial hücrelerden IL-8 üretildiği gösterilmiştir. Diğer çalışmalarda da yayınlandığı gibi proliferatif diabetik retinopatisi olan hastalarda kontrol grubuna göre vitreus IL-8 seviyeleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.^{96,97} Retinadaki büyük damarların gliyotik tıkanması ile vitreus IL-8 seviyeleri arasında ilişki tespit edilmiştir. Bu tez çalışmamızda diabetik retinopatili hastaların vitreus IL-8 seviyeleri kontrol gruba göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Proliferatif etki ve neovaskularizasyondan iskemik retina bölgesinden salınan mediyatörlerin sorumlu olduğu gösterilmiştir.⁹⁸⁻¹⁰⁰ Kan retina bariyerinin bozulması sonucunda vitreusa geçen bazı serum komponentlerinin de fibrovasküler membran oluşumuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir.^{98,101,102} Önceki çalışmalarla insan rekombinan IL-8'in tavşan korneasında neovaskularizasyon gelişmesine neden olduğu gösterilmiştir. PDR'li hastaların

vitreus örneklerinde IL-8 düzeyinin yüksek olduğu Aksünger ve arkadaşlarının çalışmasında gösterilmiştir.¹⁰³ Kemotaktik ve anjiyogenetik etkisi gösterilmiş olan ve proliferatif oküler hastalıklarda yüksek olarak bulunan IL-8'in, PDR'li hastaların vitreus örneklerinde de yüksek bulunması, IL-8'in PDR patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir

TNF-alfa immün, metabolik ve inflamatuvar olaylara neden olan ve neovasküler oluşumlarda yer alan en önemli sitokindir. TNF sistemi insülin direnci sendromunun birkaç parçasının patogenezin de TNF- alfa'nın iki tip reseptöründen (tip 1 (TNFRI) ve tip 2 (TNFRII)), baskın bir rol alan TNFRII' nin neden olduğu farklı hücrel mekanizmalarla etki eder. Son çalışmalar göstermiştir ki, TNFRII geninde ki mutasyonlar tip 2 DM patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır.¹⁰⁴ Tip 2 DM ve onun mikrovasküler komplikasyonlarında; TNF- α 'nın büyümeyi uyarma, sitotoksikite ve anjiyogenez gibi önemli fonksiyonları vardır. İnterlökin-1 ve interlökin-6 aktivasyonu ile immün yanıtı yönetir. TNF- α 'nın kardiyak fonksiyon üzerine etkisi salınım miktarına ve süresine bağlıdır. İnsülinin indüklediği glukoz utilizasyonunu glukoz transportörü olan GLUT 4 sentezini inhibe ederek azaltır. Kanseri, endotoksemi, travma veya TNF'nin arttığı herhangi bir durumda periferik insülin rezistansı görülür. Karaciğerde lipogenezi ve VLDL yapımını artırır ve hipertrigliseridemiye neden olur.^{104,105}

TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler; kemotaksis başta olmak üzere inflamatuvar yanıtın başlatılması ve idamesinde önemli etkileri olan sitokinlerdir. Diyabetik nefropatinin gelişiminde ve diyabetin tüm komplikasyonlarında bu mediyatörlerin aracı ve düzenleyici rolleri vardır.¹⁰⁶ Dalla vastra ve ark. Tip 2 diyabetik nefropatili hastalarda CRP, serum amiloid A, fibrinojen ve IL-6 gibi akut faz markırlarının serum seviyelerinin yüksek olduğunu tespit etmiştir.¹⁰⁷ Navarro ve ark. TNF- α , IL-1 ve IL-6 ile üriner albümin arasında anlamlı bir ilişki tespit etmişler ve hastalara enalapril ve pentoksifilin vermişler daha sonra hastalarda üriner sitokin düzeylerinin ve

üriner albümin düzeyinin azaldığını tespit etmişler.¹⁰⁶ Normal ratlara oranla diyabetik ratlarda TNF- α mRNA üretiminin önemli derecede arttığı deneysel araştırmalarla gösterilmiştir. Önceki çalışmalar, TNF- α mRNA seviyelerinin diyabet gelişiminden uzun dönem sonra (24 ve 52. haftalar) diyabetik ratlarda kontrol grubuna göre artış olduğunu gösterdi.¹⁰⁸ Bunun aksine Dipetrillo ve Gesek, TNF- α mRNA'nın diyabet oluşturulmuş ratlarda diyabet gelişimden sonra 10 gün kadar erken bir sürede diyabetik ratlardan izole edilmiş proksimal tübüllerde artmış olduğunu gösterdi.¹⁰⁹

Proliferatif göz hastalıklarında insan retinasında TNF- α 'nın eksprese edildiğini ve proliferatif diabetik retinopatili hastaların vitreuslarında upregulasyona uğradığı daha önce rapor edilmiştir.¹¹⁰⁻¹¹³ Bu çalışmalar TNF- α 'nın retinal neovaskülarizasyonda rol oynadığını gösterse de TNF- α 'nın retinal neovaskülarizasyon üzerine etkisinin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. TNF mononükleer fagositlerden kaynağını alır. TNF, düşük yoğunluklarda lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir. İskemi ile indüklenmiş retinal neovaskülarizasyonu oluşturulmuş sıçan modelinde TNF- α 'nın mRNA seviyesinde artış izlenmiştir.^{114,115} Yoshida ve ark. oluşturulan sıçan modelinde TNF- α 'nın makrofaj/mikroglialarda eksprese olduğunu rapor etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda TNF- α 'nın iskemik durum karşısında sitokin kaskadının tetikleyici ve retinal neovaskülarizasyonu indükleyici faktörlerden biri olabileceğini belirtmiştir. İskemi ile ilişkili retinal neovaskülarizasyonu olan hastaların vitreus sıvılarında neovasküler hastalığı olmayanlara göre IL-8 seviyeleri yapılan çalışmalarda anlamlı olarak yüksek konsantrasyonda bulunmuştur.^{116,117} Retinal glial hücrelerde TNF- α bağımlı IL-8 indüklemesinin görülmesi iskemik retina nedeniyle vitreus sıvısında IL-8 seviyesinin artmasının TNF- α upregulasyonuna bağlı olduğunu düşündürmektedir. Bu tez çalışmasında da vitreus TNF- α seviyeleri diabetik retinopatili hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu.

Sonuç olarak, DM'a bağlı sistemik dolaşımdaki sitokin seviyelerindeki değişimlerin iç kan retina bariyerinde diabetin yaratmış olduğu olumsuz etkiler nedeniyle vitreusa yansması kaçınılmazdır.¹¹⁸⁻¹²¹ Bulgularımız ışığında inflamatuvar ve anjiyojenik medyatör olan IL-8, ve hücre proliferasyonunda ve hücrelerarası geçirgenlikte düzenleyici medyatör olan VEGF, DR'nin PDR'e ilerleyişi ile ilişkilendirilebilir. Geçmiş çalışmalar güçlü bir şekilde TNF- α 'nın retinal neovaskularizasyonda rol oynadığını gösterdiği gibi bu tez çalışmasında TNF- α 'nın yine PDR gelişmesinde rol oynayabileceğini göstermiştir.

6.ÖZET

Giriş ve Amaç: DR (diabetik retinopati) DM (diabetes mellitus) hastalarında sıkça rastlanan, görme keskinliğinde ani ve ciddi kayıplara yol açan mikrovasküler bir komplikasyondur. Bu tez çalışmasındaki amacımız DR nedeniyle pars plana vitrektomi (PPV) geçiren hastaların vitreus örneklerinde VEGF, İL-8 ve TNF- α seviyelerini ölçerek bu sonuçları kontrol grubu ile karşılaştırıp DR patogenezinde etkilerini ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntemler: T.C. İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda operasyon kararı verilen diabetik retinopati tanısı almış 57 diabetik hastanın 57 gözü ve kontrol grubu olarak da proliferatif vitreoretinopatisi olmayan 22 makula deliği olgusu kontrol grubu kapsamına alınmıştır. Çalışma grubundaki 79 hastaya üç girişli 20 gauge pars plana vitrektomi operasyonu uygulanmıştır. Vitreus örnekleri pars plana vitrektominin başlangıcında göz içi infüzyon açılmadan önce vitrektör ile dilüe edilmeden 0.5 cc aspire edilmiştir. Örnekler -70 °C deki derin dondurucuya aktarılmıştır. Sonuçlar IL-8, TNF α ve VEGF için pg/ml cinsinden hesaplandı.

Bulgular: DR grubundan vitrektomi sırasında elde edilen vitreus örneklerinde VEGF seviyesi (1181,1679 \pm 1230,43140 pg/ml [76.65– 6982.29]) kontrol grubundan elde edilen vitreus örneklerindeki VEGF seviyesine (3,8673 \pm 5,00354 pg/ml [0,07–16,44] göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P < 0,001$). Aynı şekilde DR grubundan vitrektomi sırasında elde edilen vitreus örneklerinde IL-8 seviyesi (82,7891 \pm 74,08700 pg/ml [0,08–307,09]) ve TNF- α seviyesi (18,0007 \pm 13,90015pg/ml [2,32 –51,11]) kontrol grubundan elde edilen vitreus örneklerindeki IL-8 seviyesine (2,9805 \pm 3,77546 pg/ml [0.08–18.53] ve TNF- α seviyesine (1,7005 \pm 1,26949 pg/ml [0,1–5,17]) göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($P < 0,001$).

Sonuçlar: Sonuç olarak, bulgularımız ışığında inflamatuvar ve anjiyojenik medyatör olan IL-8, ve hücre proliferasyonunda ve hücrelerarası geçirgenlikte düzenleyici medyatör olan VEGF, DR'nin PDR'e ilerleyişi ile ilişkilendirilebilir. Geçmiş çalışmalar güçlü bir şekilde TNF- α 'nın retinal neovaskülarizasyonda rol oynadığını gösterdiği gibi bu tez çalışmasında TNF- α 'nın yine PDR gelişmesinde rol oynayabileceğini göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Diabetik retinopati, IL-8, pars plana vitrektomi, TNF- α , VEGF.

KAYNAKLAR

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*; 29 Suppl : 43-48 (2006).
2. Grey RH, Burns-Cox CJ, Hughes A. Blind and partial sight registration in Avon. *Br J Ophthalmol*; 73: 88-94 (1989).
3. Herman WH, Teutsch SM, Sepe SJ, Sinnock P, Klein R. An approach to the prevention of blindness in diabetes. *Diabetes Care*; 6: 608-613 (1983).
4. Ciulla TA, Amador AG, Zinman B. Diabetic retinopathy and diabetic macular edema: pathophysiology, screening, and novel therapies. *Diabetes Care*; 26:2653-2664 (2003).
5. Bandello F, Pognuz R, Polito A, Pirracchio A, Menchini F, Ambesi M. Diabetic macular edema: classification, medical and laser therapy. *Semin Ophthalmol*; 18:251-258 (2003).
6. Pınar Aydın, Yonca A Akova Temel Göz Hastalıkları Bolum 1; s: 17.
7. Spitznas M. Anatomical features of the human macula. In: l'Esperance FA, ed *Current diagnosis and management of retinal disorders*. St Louis: CV Mosby; 1977.
8. Hogan MJ, Aalvarado JA, Wedell JE. *Histology of the human eye*. Philadelphia: WB Saunders 1971; 491-8.
9. Laatin-kainen L, Larinkari J. Capillary free area of the fovea with advancing age. *Invest Ophthalmol Vis. Sci*. 1977; 16:154-7.
10. Wise GN, Dolley CT, Henkin DP. *The Retinal Circulation* New York. Harper & Row, 1971: 27.

11. Bresnick GH, Engerman R, Davis MD, et al. Patterns of trans. Am Acad Ophtalmol 1976, 81:694-709.
12. Apaydın C, Aydın P, Akova YA, Temel Goz Hastalıkları, Güneş kitabevi, 2001, 18
13. Kohner EM, Henkind P. Correction of fluorescein angiogram and retinal digest in diabetic retinopathy Am J Ophthalmol 1970; 69:403-14
14. Hiller R, Sperduto RD, Podgor MJ, Ferris FL 3rd, Wilson PW. Diabetic retinopathy and cardiovascular disease in type II diabetics. The Framingham Heart Study and the Framingham Eye Study. Am J Epidemiol. 1988 Aug;128(2):402-9.
15. Ozkan, Ş., Akar, S: Diabetik Retinopati, İstanbul 2004; s. 3, 4, 7, 30.
16. Kunisaki M, Bursell SE, Clermont AC, et al. Vitamin E prevents diabetes-induced abnormal retinal blood flow via the diacylglycerol-protein kinase C pathway. Am J Physiol 1995;269:239-46.
17. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, et al. High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. Diabetes Care 1999;22:1245-51.
18. Bursell SE, King GL. Can protein kinase C inhibition and vitamin E prevent the development of diabetic vascular complications? Diabetes Res Clin Pract 1999;45:169-82.
19. Gabbay KH. Hyperglycemia, polyol metabolism, and complications of diabetes mellitus. Annu Rev Med 1975;26:521-36.
20. Sorbinil Retinopathy Trial Research Group. A randomized trial of sorbinil, an aldose reductase inhibitor, in diabetic retinopathy. Arch Ophthalmol 1990;108:1234-44.

21. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann Intern Med* 1984;101:527-37.
22. Hammes HP, Martin S, Federlin K, Geisen K, Brownlee M. Aminoguanidine treatment inhibits the development of experimental diabetic retinopathy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:11555-8.
23. Freedman BI, Wuerth JP, Cartwright K, et al. Design and baseline characteristics for the aminoguanidine Clinical Trial in Overt Type 2 Diabetic Nephropathy (ACTION II). *Control Clin Trials* 1999;20:493-510.
24. Shen GX. Selective protein kinase C inhibitors and their applications. *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord* 2003;3:301-7.
25. The PKC-DRS Study Group. The effect of ruboxistaurin on visual loss in patients with moderately severe to very severe nonproliferative diabetic retinopathy: Initial results of the Protein Kinase C beta Inhibitor Diabetic Retinopathy Study (PKC-DRS) multicenter randomized clinical trial. *Diabetes* 2005;54:2188-97.
26. Seo MS, Kwak N, Ozaki H, et al. Dramatic inhibition of retinal and choroidal neovascularization by oral administration of a kinase inhibitor. *Am J Pathol* 1999;154:1743-53.
27. Campochiaro PA; C99-PKC412-003 Study Group. Reduction of diabetic macular edema by oral administration of the kinase inhibitor PKC412. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45:922-31.
28. Spilisbury K, Garrett KL, Shen WY, Constable IJ, Rakoczy PE. Overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. *Am J Pathol* 2000;157:135-44.

29. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331:1480-7.
30. Eyetech Study Group. Preclinical and phase 1A clinical evaluation of an anti-VEGF pegylated aptamer (EYE001) for the treatment of exudative age-related macular degeneration. *Retina* 2002;22:143-52.
31. Cunningham ET Jr, Adamis AP, Altaweel M, et al. Macugen Diabetic Retinopathy Study Group. A phase II randomized double-masked trial of pegaptanib, an antivascular endothelial growth factor aptamer, for diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2005;112:1747-57.
32. Ip MS. Intravitreal injection of triamcinolone: An emerging treatment for diabetic macular edema. *Diabetes Care* 2004;27:1794-7.
33. Fluocinolone acetonide ophthalmic--Bausch & Lomb: fluocinolone acetonide Envision TD implant. *Drugs R D*. 2005;6:116-9.
34. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study design and baseline patient characteristics. ETDRS report number 7. *Ophthalmology*. 1991;98:741-756.
35. Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1991;98:766-785.
36. Flynn HW Jr, Chew EY, Simons BD, et al.: 3rd. Pars plana vitrectomy in the Early Treatment Diabetic Retinopathy Study. ETDRS report number 17. The Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1992;99:1351-1357.
37. Machemer R, Buettner H, Norton EWD et al.: Vitrectomy: a pars plana approach. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1971;75:813.

38. Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group: Two-year course of visual acuity in severe proliferative diabetic retinopathy with conventional management, Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 1. *Ophthalmology*. 1985;92:492-502.
39. Diabetic Retinopathy Vitrectomy Stud Research Group: Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy: two-year results of a randomized trial, Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 2. *Arch Ophthalmol*. 1985;103:1644.
40. Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research Group: Early vitrectomy for severe proliferative diabetic retinopathy in eyes with useful vision: results of a randomized trial, Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 3. *Ophthalmology*. 1988;95:1307.
41. Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study Research. Group: Early vitrectomy for severe vitreous hemorrhage in diabetic retinopathy: four-year results of a randomized trial, Diabetic Retinopathy Vitrectomy Study report 5. *Arch Ophthalmol*. 1990;108:958.
42. Eliot D, Lee MS, Abrams GW.: Proliferative Diabetic Retinopathy: Principles and Techniquis of Surgical Treatment in Ryan SJ, Wilkinson CP, Editors. *Retina, Volume III, Surgical Retina*, 2006, Fourth Edition, Mosby, U.S.A, 2413-2423.
43. Rizzo S, Genovesi-Ebert F, Di Bartolo E, et al.: Injection of intravitreal bevacizumab (Avastin) as a preoperative adjunct before vitrectomy surgery in the treatment of severe proliferative diabetic retinopathy (PDR). *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008;246:837-842.
44. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, eds. *Basic Human Immunology*. East Norwalk, CT, Appleton & Lange, 1991: 7:78-100.
45. Er H, Gündüz A, Türköz Y, Çıgılı A, İşçi N. Effects of NG-Nitro L- Arginine (L-NAME) and corticosteroids on aqueous humor levels of nitric oxide and cytokines after cataract surgery. *J Cataract Refract Surg (Baskıda)*.

46. Er H, Gündüz A, Çıgılı A, Türköz Y, Çekmen M. Quantification of nitric oxide and cytokines in rabbit aqueous humor after Neodymium YAG laser capsulotomy. *Ophthalmic Res* (Baskıda).
47. Kijlstra A. The role of cytokines in ocular inflammation. *Br J Ophthalmol* 1994; 78:885-6.
48. Nishi O, Nishi K, Ohmoto Y. Effect of interleukin 1 receptor antagonist on the blood-aqueous barrier after intraocular lens implantation. *Br J Ophthalmol* 1994; 78:917-20.
49. Ample JR, Boney RS, Rosenbaum JT. Ocular inflammatory effects of intravitreally injected interleukin-2. *Curr Eye Res* 1993; 12:649-54.
50. Hooks JJ, Chan CC, Detrick B. Identification of the lymphokines, interferon-gamma and interleukin-2, in inflammatory eye diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1988; 29:1444.
51. Wong GG, Clark SC. Multiple actions of interleukin-6 within a cytokine network. *Immunology Today* 1989; 9:137-9.
52. Malecaze F, Chollet P, Cavrois E, Vita N, Arne JL, Ferrara P. Role of interleukin 6 in the inflammatory response after cataract surgery, an experimental and clinical study. *Arch Ophthalmol* 1991; 109:1681-83.
53. Malecaze F, Chollet P, Cavrois E, Vita N, Arne JL, Ferrara P. Role of interleukin-6 in the inflammatory response after cataract surgery. *Arch Ophthalmol* 1991; 109:1681-83
54. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AL, eds. *Basic and Clinical Immunology* 1993; 11:571-611.
55. Chiou, G. C. "Review: effects of nitric oxide on eye diseases and their treatment." *J.Ocul.Pharmacol.Ther.* 17.2 (2001): 189-98.
56. Kijlstra, A. "The role of cytokines in ocular inflammation." *Br.J.Ophthalmol.* 78.12 (1994): 885-86.

57. Carr, D. J., et al. "Effect of anti-CXCL10 monoclonal antibody on herpes simplex virus type 1 keratitis and retinal infection." *J.Virol.* 77.18 (2003): 10037-46.
58. Bader, B.L., Rayburn, H., Crowley, D. & Hynes, R.O. Extensive vasculogenesis, angiogenesis, and organogenesis precede lethality in mice lacking all α v integrins. *Cell* 95, 507–519 (1998).
59. Reynolds, L.E. et al. Enhanced pathological angiogenesis in mice lacking β 3 integrin or β 3 and β 5 integrins. *Nature Med.* 8, 27–34 (2002).
60. Vincenti V, Cassano C, Rocchi M, and Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3 *Circulation* 1996;93:1493-95
61. Siemester G., Marme D, and Martini Baron G. The alpha-helical domain near the amino terminus is essential for dimerization of vascular endothelial growth factor. *J. Biol Chem* 1998b;273:11115-120
62. Takagi H., King G., Robinson G., Ferrara N., and Aillo L.P. Adenosine mediates hypoxic induction of vascular endothelial growth factor in retinal pericytes and endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996;37:21676
63. Dibbens J.A, Miller D.L, Damert A., Risau W., Vadas M., and Goodall G.J. Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor mRNA stability requires the cooperation of multiple RNA elements. *Mol Biol Cell* 1999;10:907-19
64. Jimenez, B. et al. Signals leading to apoptosis-dependent inhibition of neovascularization by thrombospondin-1. *Nat Med* 6, 41–48 (2000).

65. Maeshima, Y. et al. Tumstatin, an endothelial cell-specific inhibitor of protein synthesis. *Science* 295, 140–143 (2002).
66. Brooks, P.C., Silletti, S., von Schalscha, T.L., Friedlander, M. & Cheresh, D.A. Disruption of angiogenesis by PEX, a noncatalytic metalloproteinase fragment with integrin binding activity. *Cell* 92, 391–400 (1998).
67. Richard O. H. A reevaluation of integrins as regulators of angiogenesis. *Nature Medicine*. Volume 8(9); Sep 2002
68. Shibuya M., Yamaguchi S., Yamane M., Ikeda T., Tojo A., Matsushime H., and Sato M. Nucleotide sequence and expression by of a novel human receptor type tyrosine kinase gene closely related to the fms family. *Oncogene* 1990;5:519-24
69. Terman B.I., Dougher Vermazen M., Maglione D., Lassam N.J., Gasporadowicz D., and Bohlen P. Identification of the KDR tyrosine kinase a reseptor for vascular endothelial cell growth factor . *Biochem Biophys. Res Commun* 1992;187:1579-86
70. Soker S., Takashima S., Miao H., Neufeld G., and Klagsbrun M. Neuropilin -1 is expressed by endothelial and tumor cells and an isoform-specific reseptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 1998;92:735-45
71. Hiratsuka S., Minowa O., Kuno J., Noda T., and Shibuya M. Flt -1 lacking the tyrosine kinase domain is sufficient for normal development and angiogenesis in mice. *Proc Nat Acad Sci USA* 1998;95:9349-54
72. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS: Cellular and molecular immunology: Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1991.

73. Hebert CA, Baker JB: Interleukin-8: A review. *Cancer Invest* 1993; 11: 743-750.
74. Frew AJ: Cytokines, chemokines, T cells and allergy. *Clin Exp Allergy* 1996; 26: 2-4.
75. Sherry B, Cerami A: Small cytokine superfamily. *Curr Opin Immunol* 1991; 3: 56-60.
76. Güner D, Ozmen D, Bayındır O. Sitokinler. *T Klin Tıp Bilimleri* 1997; 17:65-74.
77. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In: Stites DP, Terr AL, eds. *Basic and Clinical Immunology* 1993; 11:571-611.
78. Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. *Cellular and Molecular Immunology* Philadelphia: WB Saunders Company, 1994: 240-61.
79. Jaatela M. Biologic activities and mechanism of action of tumor necrosis factor- α /cachectin. *Lab Invest* 1991; 64:724-42.
80. Dinarello CA. IL-1 and IL-1 antagonism. *Blood* 1991; 77:1627.
81. Benjamin LE. Glucose, VEGF-A, and diabetic complications. *Am J Pathol*, 2001; Apr;158(4):1181-4. Review.
82. Cha DR, Kang YS, Han SY, Jee YH, Han KH et al. Vascular endothelial growth factor is increased during early stage of diabetic nephropathy in type II diabetic rats. *J Endocrinol*, 2004; Oct;183(1):183-94.
83. Aiello L Avery RL, Arrigg PG, Keyt BA, Jampel HD et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *New England Journal of Medicine*, 1994; 331,1480– 1487.
84. Marsh S, Nakhoul FM, Skorecki K, Rubin A, Miller BP et al. Hypoxic induction of vascular endothelial growth factor is markedly decreased in diabetic individuals who do not develop retinopathy. *Diabetes Care*, 2000; 23:1375–1380.

85. Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E et al. Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. *Am J Pathol*, 2000; 156:697–707.
86. Robinson GS, Pierce EA, Rook SL, Foley E, Webb R. Oligodeoxynucleotides inhibit retinal neovascularization in a murine model of proliferative retinopathy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996; 93:4851–4856.
87. Murata T, Ishibashi T, Khalil A, Hata Y, Yoshikawa H et al. Vascular endothelial growth factor plays a role in hyperpermeability of diabetic retinal vessels. *Ophthalmic Res*, 1995; 27:48–52.
88. Frank RN. Vascular endothelial growth factor, its role in retinal vascular proliferation. *The New England Journal of Medicine*, 1994;331:1519-1520.
89. Hogeboom IM, Polak BC, Reichert-Thoen JW, de Vries-Knoppert WA, van Hinsbergh VW. Angiotensin converting enzyme inhibiting therapy is associated with lower vitreous vascular endothelial growth factor concentrations in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetologia*, 2002 ;45(2):203-9.
90. Duh E, Aiello LP. Vascular endothelial growth factor and diabetes. *Diabetes*, 1999;48:1899-1906.
91. Kramer M, Goldenberg-Cohen N, Axer-Siegel R, Weinberger D, Cohen Y, Monselise Y. Inflammatory reaction in acute retinal artery occlusion: cytokine levels in aqueous humor and serum. *Ocul Immunol Inflamm* 2005;13:305–310.
92. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Eng J Med* 1994;331:1480–1487.

93. Luty GA, McLeod S, Merges C, Diggs A, Plouet J. Localization of vascular endothelial growth factor in human retina and choroid. *Arch Ophthalmol* 1996;114:971–977.
94. Torres, P. F., et al. "Changes in cytokine mRNA levels in experimental corneal allografts after local clodronate-liposome treatment." *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 40.13 (1999): 3194-201.
95. Aksunger, A., et al. "Role of interleukin 8 in the pathogenesis of proliferative vitreoretinopathy." *Ophthalmologica* 211. 4 (1997): 223-25.
96. Yuuki T, Kanda T, Kimura Y, et al. Inflammatory cytokines in vitreous fluid and serum of patients with diabetic vitreoretinopathy. *J Diabetes Complications* 2001;15:257–259.
97. Hernandez C, Segura RM, Fonollosa A, Carrasco E, Francisco G, Simo R. Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes Med* 2005;22:719–722.
98. Davis DM. Proliferative diabetic retinopathy. *Retina*. Ryan SJ (ed). The c.v. Mosby comp. St. Louis, 1989, cilt-3, s:367-402
99. Frank RN. On the pathogenesis of diabetic retinopathy. *Ophthalmology* 1984; 91: 626-634.
100. Kaufmann DTH, Rimarachin JA, Pertrige CA, Gerritsen ME. Neutrophil chemoattractant activity in vitreous from patients with PVR and severe diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1989;30 (suppl),11.
101. Lewsi G, Guerin C, Erickson P. Basic fibroblast growth factor stimulates proliferation of nonneuronal retinal cell invivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991; 32:754
102. De Boer JH, Hack CE, Verhoeven JA, Barsma GS, de Jong PTVM. Chemoattractant and neutrophil degranulation activities related to interleukin-8 in vitreous

- fluid in uveitis and vitreoretinal disorders. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34:12:3376-85
103. Aksünger A. Proliferatif vitreoretinopati patogenezinde interlökin-8'in rolü. Uzmanlık tezi. Ankara, 1994.
104. J. Vendrell, M. Broch, J. M. Fernandez-Real et al. Tumour necrosis factor receptors (TNFRs) in Type 2 diabetes. Analysis of soluble plasma fractions and genetic variations of TNFR2 gene in a case-control study, 2005; *Diabet. Med.* 22, 387–392.
105. Bristow MR. Tumor necrosis factor-alpha and cardiomyopathy. *Circulation*, 1998; 97: 1340-1341.
106. Navarro, J. F., Mora, C., Maca, M., & Garca, J. (2003). Inflammatory parameters are independently associated with urinary albumin in type 2 diabetes mellitus. *American Journal of Kidney Diseases*, 42, 53– 61.
107. Dalla Vestra M, Mussap M, Gallina P, Bruseghin M, Cernigoi AM et al. Acute-phase markers of inflammation and glomerular structure in patients with type 2 diabetes. *J Am Soc Nephrol*, 2005; 16: S78– S82
108. Hasegawa G, Nakano K, Manabu S et al. Possible role of tumor necrosis factor and interleukin-1 in the development of diabetic nephropathy. *Kidney Int*, 1991; 40: 1007–1012.
109. DiPetrillo K, Gesek FA: Pentoxifylline ameliorates renal tumor necrosis factor expression, sodium retention, and renal hypertrophy in diabetic rats. *Am J Nephrol* 24: 352–359, 2004
110. Armstrong D, Augustin AJ, Spengler R, Al-Jada A, Nickola T, Grus F, Koch F (1998) Detection of vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor alpha in

- epiretinal membranes of proliferative diabetic retinopathy, proliferative vitreoretinopathy and macular pucker. *Ophthalmologica* 212:410–414
111. Limb GA, Chignell AH, Green W, LeRoy F, Dumonde DC (1996) Distribution of TNF alpha and its reactive vascular adhesion molecules in fibrovascular membranes of proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol* 80:168–173
112. Limb GA, Hollifield RD, Webster L, Charteris DG, Chignell AH (2001) Soluble TNF receptors in vitreoretinal proliferative disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:1586–1591
113. Spranger J, Meyer-Schwickerath R, Klein M, Schatz H, Pfeiffer A (1995) TNF-alpha level in the vitreous body. Increase in neovascular eye diseases and proliferative diabetic retinopathy. *Med Klin* 90:134–137
114. Majka S, McGuire PG, Das A (2002) Regulation of matrix metalloproteinase expression by tumor necrosis factor in a murine model of retinal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 43:260–266
115. Yossuck P, Yan Y, Tadesse M, Higgins RD (2001) Dexamethasone alters TNFalpha expression in retinopathy. *Mol Genet Metab* 72:164–167
116. Elnor SG, Elnor VM, Jaffe GJ, Stuart A, Kunkel SL, Strieter RM (1995) Cytokines in proliferative diabetic retinopathy and proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res* 14:1045–1053
117. Yoshida A, Yoshida S, Khalil AK, Ishibashi T, Inomata H (1998) Role of NF-kappaB-mediated interleukin-8 expression in intraocular neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:1097–1106

118. Qaum T, Xu Q, Jousseaume AM, Clemens MW, Qin W, Miyamoto K, Hasselmann H, Wiegand SJ, Rudge J, Yancopoulos GD, Adamis AP VEGF-initiated blood-retinal barrier breakdown in early diabetes Invest Ophthalmol Vis Sci. 2001 Sep;42(10):2408-13
119. Cerman E, Yenice Ö, Kazokoğlu H, Elbir Y, Acar N. Diyabetik Retinopatili Olgularda Serum ve Vitreusta Leptin ve VEGF Seviyeleri. Retian Vitreus 2007, 15(1): 021-026
120. Nicholson BP, Schachat AP. A review of clinical trials of anti-VEGF agents for diabetic retinopathy. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2010 Feb 20.
121. Izuta H, Matsunaga N, Shimazawa M, Sugiyama T, Ikeda T, Hara H. Proliferative diabetic retinopathy and relations among antioxidant activity, oxidative stress, and VEGF in the vitreous body. Mol Vis. 2010 Jan 29;16:130-6.

