

Diabetik Retinopatili Hastalarda Serum Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Nitrik Oksit Düzeyleri

Ümit Übeyt İnan (*), Mustafa Serteser (**), Sıtkı Samet Ermiş (***), Serap Demir (****),
Tülay Köken (**), Faruk Öztürk (*****)

ÖZET

Amaç: Anjiogenik özellikleri tespit edilmiş olan vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve nitrik oksit' in (NO) serum düzeyleri ile diabetik retinopati (DRP) evreleri ve tedavi şekilleri arasındaki korelasyonun incelenmesi.

Gereç ve Yöntem: Tip 2 diabetes mellitusü olan 124 hasta ile benzer yaş ve cinsiyet dağılımı gösteren 20 sağlıklı birey çalışmaya alındı. Diabetik hastalar oral antidiabetik ilaç kullanan ve insülin kullananlar olarak ikiye ayrıldı. Her bir grup kendi içinde retinopati evresine göre 1.retinopati yok, 2. zemin DRP, 3. preproliferatif DRP, 4. Proliferatif DRP ve 5. Kontrol şeklinde 4 gruba ayrıldı. Serum açlık VEGF ve NO düzeyleri ölçüldü ve gruplar arasında istatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm hastalarda kan basıncı, serum C peptit, albümin, HDL, LDL, Kolesterol, Kreatinin, HbA1c, B12 vitamini, folik asit, fibrinojen, sedimentasyon düzeylerine bakıldı.

Bulgular: Gruplar arasında yaş, boy, ağırlık, sistolik ve diastolik kan basıncı, serum C peptit, albümin, HDL, LDL, total kolesterol düzeyleri arasında anlamlı fark izlenmedi. Retinopati grupları arasında serum VEGF ve NO düzeyleri istatistiksel olarak farklı bulunmadı. VEGF, proliferatif DRP grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek saptandı (p:0.014). NO ise tüm diabet gruplarında kontrol grubuna kıyasla yüksek saptandı (p:0.034, 0.003, 0.016 ve 0.001). Zemin DRP grubunda NO düzeyi OAD kullananlarda daha yüksek saptanırken (p:0.01), diğer parametreler açısından hiçbir grupta OAD ve insülin kullanan hastalar arasında fark izlenmedi.

Sonuç: Serum VEGF ve NO düzeyi proliferatif DRP'li hastalarda yüksek bulunurken bu maddelerin proliferatif retinopati evresine gelmiş hastalarda periferik marker olarak kullanılabilceği ve progresyon veya regresyonun biokimyasal olarak izleminde faydalı olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: VEGF, NO, Diabetik Retinopati

(*) Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(**) Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biokimya Anabilim Dalı

(***) Yrd. Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(****) Doç. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 3 İç Hastalıkları Anabilim Dalı

(*****) Prof. Dr., Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

01.TIPF.05 no'lu AKÜ Araştırma Fonu Projesi ile desteklenmiştir.

Yazışma adresi: Ümit Übeyt İnan, Dumlupınar Mah. Turabi Cd. Tütüncü Apt. B Blok 4/7,
03200 Afyon E-posta: uinan@superonline.com uinan@aku.edu.tr

Mecmuaya Geliş Tarihi: 24.10.2004

Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 03.12.2004

Kabul Tarihi: 21.07.2005

SUMMARY

Serum Levels of VEGF and NO in Patients with Diabetic Retinopathy

Purpose: To investigate the relationship of serum levels of nitric oxide (NO) and vascular endothelial growth factor (VEGF) with diabetic retinopathy (DRP) grade and treatment modality in patients with diabetes mellitus.

Material and Methods: One hundred twenty four patients with type II diabetes mellitus and 20 age and sex matched healthy subjects were enrolled in the study. The diabetic patients were divided into two groups as patients who are receiving oral anti-diabetic (OAD) drugs or patients who are receiving insulin treatment. Both groups were also divided into four subgroups according to stage of retinopathy as following: 1. no retinopathy, 2.background DRP, 3.preproliferative DRP, 4. proliferative DRP and 5. control group. In all groups, body mass index was calculated, fasting serum VEGF and NO levels were measured and mean values between groups were statistically evaluated. Blood pressure, serum C peptide, albumin, HDL, LDL, cholesterol, creatinin, HbA1c, vitamin B12, folic acid, fibrinogen and ESR were measured in all patients.

Results: There were no statistically significant differences between groups as age, body mass index, systolic and diastolic blood pressure, C peptide, albumin, and HDL, LDL, total cholesterol levels. There was no statistically significant difference in serum VEGF and NO between retinopathy groups. VEGF levels were found to be significantly higher in proliferative DRP group compared to control group (p:0.014). NO levels was found to be higher in all diabetic groups compared to control group (p:0.034, 0.003, 0.016 and 0.001). NO was found to be higher in patients with background DRP in the OAD group compared to insulin group, while there was no difference between two treatment modality in all groups for VEGF levels.

Conclusion: Serum levels of VEGF and NO were significantly higher in proliferative retinopathy compared to control group. It was suggested that these parameters can be used as a peripheral marker of proliferative DRP, and may be useful for biochemical follow-up of progression and regression of proliferative process.

Key Words: VEGF, NO, Diabetic Retinopathy

GİRİŞ

Diabetik retinopati körlüğün başta gelen nedenlerinden birisidir. Hastalığın primer lezyonu retinal damarlarda diabetin neden olduğu hasardır. Diabetik retinopatinin patogenezinde süreci başlatan olay non-perfüzyon ve doku hipoksemisi ile sonuçlanan kapiller tıkanıklıktır. Non perfüzyon alanlarının bitişiğinde iskemik dokudan salınan maddelerin uyardığı neovaskülarizasyon ortaya çıkar. Hipoksinin indüklediği diffüze olabilen retinal anjiogenik bir maddenin varlığı 1950'den beri ileri sürülmüş ve retina neovaskülarizasyonunu uyaran gerçek anjiogenik büyüme faktörleri araştırma konusu olmuştur. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) bu faktörlerin en başta gelenlerinden birisidir (1-4). VEGF vasküler endotelial hücreler için oldukça spesifik olan mitojenik bir peptid olup proliferatif diabetik retinopati ve diğer retinal vasküler hastalıklarda retina ve iris neovaskülarizasyonu gelişiminde yer aldığı gösterilmiştir (5,6).

İmmunohistokimyasal yöntemlerin kullanıldığı çalışmalarda diabeti olmayanlarda retina ve koroid seviye-

sinde VEGF saptanmaz veya çok düşük düzeyde saptanırken, diabetik hastaların retina ve koroid damarları içinde kayda değer immunoreaktivite saptanmıştır (4,7,8). Diabetik hastaların retinalarında proliferatif retinopati gelişmeden VEGF ekspresyonunun ortaya çıktığı gösterilmiştir (9).

Diabetik hastalarda NO üretimi değişikliklerini gösteren çalışmalar bildirilmiştir (10-13). Nitrik oksit stabil olmayan bir madde olup oksidasyon ile stabil metabolitleri olan nitrat ve nitrite dönüşür. Bu nedenle NO seviyesi genellikle bu metabolitlerin tespiti ile değerlendirilir.

Çalışmamızda diabetik hastalarda plazma VEGF ve NO düzeyleri ile diabetik retinopati evreleri ve tedavi şekli arasında bir korelasyon bulunup bulunmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

HASTALAR ve YÖNTEM

Yaşları 38-76 arası değişen 124 diabetes mellituslu hasta ve yaş -cinsiyet karşılaştırmalı 20 sağlıklı birey ça-

ışmaya dahil edildi. Diabetes mellitus dışında herhangi endokrin bir hastalığı olan olgular çalışmaya alınmadı. Tüm hastalarda tam oftalmolojik muayene yapıldı. Retinopati saptanan tüm olgularda fundus fluorescein anjiyografisi çekildi. Olgular retinopati derecesine göre 4 evreye bölünürken, insülin tedavisi veya oral antidiabetik ilaç (OAD) kullanımına göre de ikiye ayrıldı. Grup IA' da retinopatisi bulunmayan ve OAD alan 21 hasta, Grup IB'de retinopatisi bulunmayan ve insülin ile tedavi edilen 10 hasta, Grup IIA'da zemin diabetik retinopatisi bulunan ve OAD kullanan 23 hasta, Grup IIB' de zemin diabetik retinopatisi bulunan ve insülin kullanan 17 hasta, Grup IIIA'da preproliferatif diabetik retinopatisi bulunan ve OAD alan 19 hasta, Grup IIIB'de preproliferatif diabetik retinopatisi bulunan ve insülin kullanan 15 hasta, Grup IV'de proliferatif diabetik retinopatisi olan ve OAD kullanan 10 hasta ve Grup IVB'de proliferatif diabetik retinopatisi olup insülin kullanmakta olan 9 hasta bulunmaktaydı. Grup V'de diyabet ve başka herhangi bir endokrin hastalığı olmayan 20 hasta kontrol olarak yer aldı. Tablo 1'de her bir ölçüm parametresi için gruplarda toplanan hasta sayıları verilmiştir.

Zemin diabetik retinopati tanısı, mikroanevrizma, nokta ve/veya mürekkep tarzı hemoraji ve sert eksudaların bir veya daha fazlasının görülmesi ile kondu. Preproliferatif diabetik retinopati aşağıdaki bulgularla kondu: zemin retinopati bulgularına ilaveten en az bir gözde intraretinal mikrovasküler anomaliler, venöz tespahlenme ve pamuk atığı eksudalar. Proliferatif retinopati aşağıdaki bulguların bir veya daha fazlası ile tanındı: en az bir gözde optik disk üzerinde yeni damarlar (NVD), retina-

da yeni damar oluşumu (NVE), fibröz proliferasyon ve preretinal ve/veya vitreus hemorajisi.

Plazmada bakılacak parametrelerin düzeyinin saptanması için hastalardan venöz kan örnekleri alındı ve etilendiamin tetraasetat kaplı tüplerde toplandı. Örnekler alındıktan sonra kan santrifüje edildi ve plazma -24 C de saklandı. Kullanılan kimyasal maddeler Sigma Chemical Co (USA) den temin edildi. Tüm plazma örnekleri bir defada çalışıldı. VEGF düzeyi ticari olarak mevcut insan ELISA kiti (BioSource International Inc California, USA) kullanılarak bakıldı ve sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi. Nitrate+nitrite (NO) düzeyleri ticari olarak mevcut kalorimetrik değerlendirme kiti (Cayman Chemical MI, USA) kullanılarak bakıldı ve sonuçlar µmol/L olarak ifade edildi.

Data analizi SPSS istatistik programı (versiyon 11.0 SPSS, Chicago,IL) kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler ortalama \pm SD olarak belirtildi. Gruplar arasındaki değişkenlerin karşılaştırılması için student t testi kullanıldı. Bakılan parametre ile diğer değişkenler arasındaki ilişkileri göstermek için Pearson korelasyon testi kullanıldı. Diabetik subgrupların karşılaştırılması için one-way analysis of variance (ANOVA) testi kullanıldı. Farklar ve korelasyonlar için $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Olgularımızın gruplara dağılımı Tablo 1'de, diabetik retinopati grupları ve oral anti diabetik ilaç (OAD)

Tablo 1. Grupların dağılımı ve hasta sayıları

Gruplar	Alt Gruplar	VEGF/ NO (n)
1. DRP yok	1.A. OAD +DRP yok	21
	1.B. İnsülin +DRP yok	10
2. Zemin DRP	2.A. OAD + Zemin DRP	23
	2.B. İnsülin + Zemin DRP	17
3. Preproliferatif DRP	3.A. OAD + Preproliferatif DRP	19
	3.B. İnsülin + Preproliferatif DRP	15
4. Proliferatif DRP	4.A. OAD + Proliferatif DRP	10
	4.B. İnsülin + Proliferatif DRP	9
5. Kontrol	5. Kontrol grubu	20
Toplam		144

DRP: Diabetik retinopati, OAD: Oral antidiabetik ilaç

Tablo 2. Gruplarda serum VEGF ve NO düzeyleri ile ölçülen diğer parametrelerin verileri

Parametre	DRP Yok			Zemin DRP			Preproliferatif DRP			Proliferatif DRP			Kontrol Grup V
	Grup IA	Grup IB	Grup IIA	Grup IIB	Grup IIIA	Grup IIIB	Grup IIIA	Grup IIIB	Grup IVA	Grup IVB	Grup IVB	Grup V	
NO ($\mu\text{mol/L}$)	22.0 \pm 8.7	16.9 \pm 12.4	32.7 \pm 13.3	16.4 \pm 8.8	21.9 \pm 11.6	19.9 \pm 12.8	21.9 \pm 11.6	19.9 \pm 12.8	26.6 \pm 3.8	28.0 \pm 11.2	28.0 \pm 11.2	13.3 \pm 6.5	
VEGF (pg/ml)	429.7 \pm 218	318.4 \pm 244	348.9 \pm 214.8	336.9 \pm 201.5	373.3 \pm 163.0	350.0 \pm 171	373.3 \pm 163.0	350.0 \pm 171	435.3 \pm 145	412.3 \pm 239	412.3 \pm 239	258.9 \pm 126	
YAŞ (yıl)	56.9 \pm 8.9	53.5 \pm 11.1	63.8 \pm 9.2	55.9 \pm 10.4	66.0 \pm 15.5	60.6 \pm 8.8	66.0 \pm 15.5	60.6 \pm 8.8	64.0 \pm 9.5	59.7 \pm 13.6	59.7 \pm 13.6	57.1 \pm 10.6	
BOY (cm)	163.5 \pm 7.5	161.6 \pm 6.7	166.7 \pm 8.8	164.1 \pm 7.4	158.0 \pm 9.8	166.4 \pm 7.4	158.0 \pm 9.8	166.4 \pm 7.4	165.2 \pm 7.5	163.3 \pm 6.5	163.3 \pm 6.5	163.1 \pm 8.3	
KİLO (kg)	74.8 \pm 12.5	68.6 \pm 11.0	72.4 \pm 8.5	68.4 \pm 10.8	65.5 \pm 0.7	73.6 \pm 12.4	65.5 \pm 0.7	73.6 \pm 12.4	59.3 \pm 9.8	72.5 \pm 14.8	72.5 \pm 14.8	75.0 \pm 12.7	
BMI	28.0 \pm 4.9	26.5 \pm 5.6	26.3 \pm 3.4	25.3 \pm 3.7	26.4 \pm 3.6	26.2 \pm 4.5	26.4 \pm 3.6	26.2 \pm 4.5	21.7 \pm 3.6	27.6 \pm 7.9	27.6 \pm 7.9	28.3 \pm 5.3	
CREATININ	0.9 \pm 0.3	0.8 \pm 0.3	1.09 \pm 0.6	0.8 \pm 0.2	0.7 \pm 0.1	0.9 \pm 0.3	0.7 \pm 0.1	0.9 \pm 0.3	0.8 \pm 0.3	1.5 \pm 1.0	1.5 \pm 1.0	0.9 \pm 0.3	
ALBUMİN	4.3 \pm 0.2	4.0 \pm 0.2	4.3 \pm 0.3	4.2 \pm 0.5	3.9 \pm 0.4	4.1 \pm 0.4	3.9 \pm 0.4	4.1 \pm 0.4	4.0 \pm 0.3	3.9 \pm 0.2	3.9 \pm 0.2	4.3 \pm 0.3	
HAIC	6.1 \pm 2.4	8.0 \pm 4.5	8.5 \pm 3.3	6.8 \pm 1.8	7.8 \pm 2.7	7.9 \pm 2.4	7.8 \pm 2.7	7.9 \pm 2.4	7.0 \pm 1.4	7.5 \pm 2.3	7.5 \pm 2.3	3.5 \pm 0.6	
T KOLSTRİL	196.1 \pm 44.6	199.7 \pm 41.2	203.6 \pm 38.9	204.6 \pm 53.5	159.0 \pm 66.5	188.8 \pm 39.9	159.0 \pm 66.5	188.8 \pm 39.9	172.0 \pm 9.9	216.1 \pm 25	216.1 \pm 25	226.5 \pm 42.5	
HDL	46.4 \pm 15.2	44.7 \pm 13.7	42.3 \pm 8.7	42.6 \pm 12.4	58.5 \pm 5.1	45.4 \pm 8.8	58.5 \pm 5.1	45.4 \pm 8.8	33.5 \pm 6.4	51.9 \pm 16.5	51.9 \pm 16.5	48.1 \pm 17.8	
LDL	111.0 \pm 33.5	115.9 \pm 39.7	123.4 \pm 29.0	133.9 \pm 41.8	127.4 \pm 23.2	118.8 \pm 33.7	127.4 \pm 23.2	118.8 \pm 33.7	105.3 \pm 7.0	126.3 \pm 28.9	126.3 \pm 28.9	125.9 \pm 29	
TG	179.3 \pm 128	201.4 \pm 159	188.6 \pm 110.8	152.5 \pm 114.9	115.0 \pm 104.6	114.7 \pm 43.8	115.0 \pm 104.6	114.7 \pm 43.8	166.0 \pm 77.8	204.7 \pm 98.5	204.7 \pm 98.5	238.3 \pm 159	
C PEPTİD	23.9 \pm 21.1	26.1 \pm 22.5	15.7 \pm 13.7	24.2 \pm 18.5	8.2 \pm 1.0	40.3 \pm 36.5	8.2 \pm 1.0	40.3 \pm 36.5	8.9 \pm 1.4	38.0 \pm 24.8	38.0 \pm 24.8	24.5 \pm 19.1	
B12	368.9 \pm 118	324.8 \pm 99.1	364.9 \pm 111.9	400.8 \pm 185.5	538.7 \pm 373.0	375.6 \pm 123	538.7 \pm 373.0	375.6 \pm 123	278.0 \pm 87.6	397.0 \pm 107	397.0 \pm 107	351.2 \pm 91.2	
FOLİK ASİT	10.0 \pm 3.9	10.6 \pm 4.3	9.4 \pm 4.9	10.7 \pm 4.2	10.9 \pm 1.4	9.5 \pm 2.8	10.9 \pm 1.4	9.5 \pm 2.8	9.3 \pm 4.0	8.7 \pm 5.0	8.7 \pm 5.0	9.0 \pm 4.2	
FİBRİNOJEN	340.8 \pm 105	344.6 \pm 73.7	338.7 \pm 111.4	348.4 \pm 75.7	355.5 \pm 7.8	323.2 \pm 115	355.5 \pm 7.8	323.2 \pm 115	342.5 \pm 115	393.0 \pm 135	393.0 \pm 135	333.6 \pm 350	
PT	12.7 \pm 2.3	11.6 \pm 0.7	12.3 \pm 1.4	12.2 \pm 1.6	12.7 \pm 2.9	11.7 \pm 0.5	12.7 \pm 2.9	11.7 \pm 0.5	12.6 \pm 2.9	12.5 \pm 1.2	12.5 \pm 1.2	13.1 \pm 2.2	
APTT	25.4 \pm 3.0	24.8 \pm 2.1	24.5 \pm 3.3	25.1 \pm 2.4	24.6 \pm 2.1	24.2 \pm 1.7	24.6 \pm 2.1	24.2 \pm 1.7	24.7 \pm 2.1	25.1 \pm 2.5	25.1 \pm 2.5	26.4 \pm 3.5	
ESR	19.8 \pm 18.7	28.1 \pm 21.7	24.3 \pm 29.7	13.0 \pm 9.7	12.5 \pm 6.4	19.4 \pm 14.7	12.5 \pm 6.4	19.4 \pm 14.7	35.5 \pm 13.4	30.7 \pm 17.4	30.7 \pm 17.4	19.2 \pm 11.9	
S. TA (mmHg)	144.6 \pm 22.9	131.5 \pm 22.4	150.3 \pm 23.5	140.7 \pm 17.6	135.6 \pm 19.5	145.0 \pm 29.5	135.6 \pm 19.5	145.0 \pm 29.5	135.0 \pm 35.3	140.0 \pm 12.9	140.0 \pm 12.9	147.7 \pm 19.8	
D. TA (mmHg)	86.5 \pm 11.3	82.0 \pm 10.3	91.9 \pm 13.9	82.9 \pm 9.9	87.7 \pm 9.8	90.0 \pm 12.8	87.7 \pm 9.8	90.0 \pm 12.8	85.0 \pm 19.2	83.5 \pm 4.8	83.5 \pm 4.8	91.5 \pm 8.9	
DM Sire (yıl)	7.6 \pm 5.2	7.3 \pm 5.5	10.1 \pm 5.6	13.7 \pm 6.3	17.2 \pm 4.7	18.8 \pm 4.9	17.2 \pm 4.7	18.8 \pm 4.9	16.0 \pm 2.6	18.3 \pm 5.1	18.3 \pm 5.1	0	
GİB (mmHg)	14.5 \pm 2.4	15.5 \pm 4.7	15.7 \pm 3.0	15.3 \pm 2.9	17.3 \pm 4.9	14.9 \pm 3.3	17.3 \pm 4.9	14.9 \pm 3.3	15.6 \pm 5.8	15.0 \pm 2.5	15.0 \pm 2.5	13.3 \pm 2.2	

Gruplar arası VEGF ve NO düzeyleri arasındaki anlamlı farklılıklar bulgular kısmında verilmiştir.

veya insülin kullanımına göre alt gruplardaki yaş dağılımı, diyabet süresi, VEGF ve NO düzeyleri ve bakılan diğer plazma parametreleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Diyabetes mellitus süresi açısından retinopatisiz hasta grubu ile zemin retinopati grubu (p:0.045), preproliferatif retinopati grubu (p:0.011) ve proliferatif retinopati grubu (p:0.000) arasında anlamlı fark mevcuttu. Gruplar ve alt gruplarda yaş, boy, kilo ve vücut kitle indeksi açısından anlamlı bir fark yoktu. Retinopati grupları arasında sistolik ve diastolik kan basınçları açısından fark gözlenmedi (p: 0.099 ve 0.386). Plazma kreatinin düzeyi insülin kullanan proliferatif diabetik retinopati grubunda retinopatisiz grup ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptandı (p: 0.050 ve 0.032 sırasıyla). HbA1C tüm retinopati alt gruplarında kontrol grubuna kıyasla yüksek bulundu (p< 0.05). Plazma NO düzeyleri açısından varyans analizi ile alt gruplar arasında fark bulunurken (p:0.06) VEGF düzeyi açısından gruplar arasında fark izlenmedi (p:0.10). Plazma parametrelerinden albümin gruplar arasında varyans analizinde farklılık gösterdi. Diğer plazma parametreleri açısından sadece LDL alt gruplar arasında farklılık gösterdi. Sistolik kan basıncı açısından varyans analizi ile alt gruplar arasında farklılık izlendi.

Post hoc analizde (Tukey HSD) plazma NO düzeyi zemin diabetik retinopati ve proliferatif diabetik retinopati gruplarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu (p:0.015 ve 0.012). Gruplar kendi içinde kontrol grubu ile ikili karşılaştırıldıklarında plazma NO düzeyi açısından tüm diabetik gruplar kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterdi (p:0.034, 0.003, 0.016 ve 0.001). İkili karşılaştırmalarda tüm diabetik gruplarda plazma VEGF düzeyi kontrol grubuna kıyasla

daha yüksek bulunurken retinopatisiz grup ve proliferatif diabetik retinopati grubunda fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p:0.040 ve 0.014).

Korelasyon analizinde VEGF ile NO arasında pozitif korelasyon saptandı (0.002). NO düzeyinin VEGF (0.002), kreatinin (0.013) ve ESR ile (0.001) korelasyon gösterdiği izlendi.

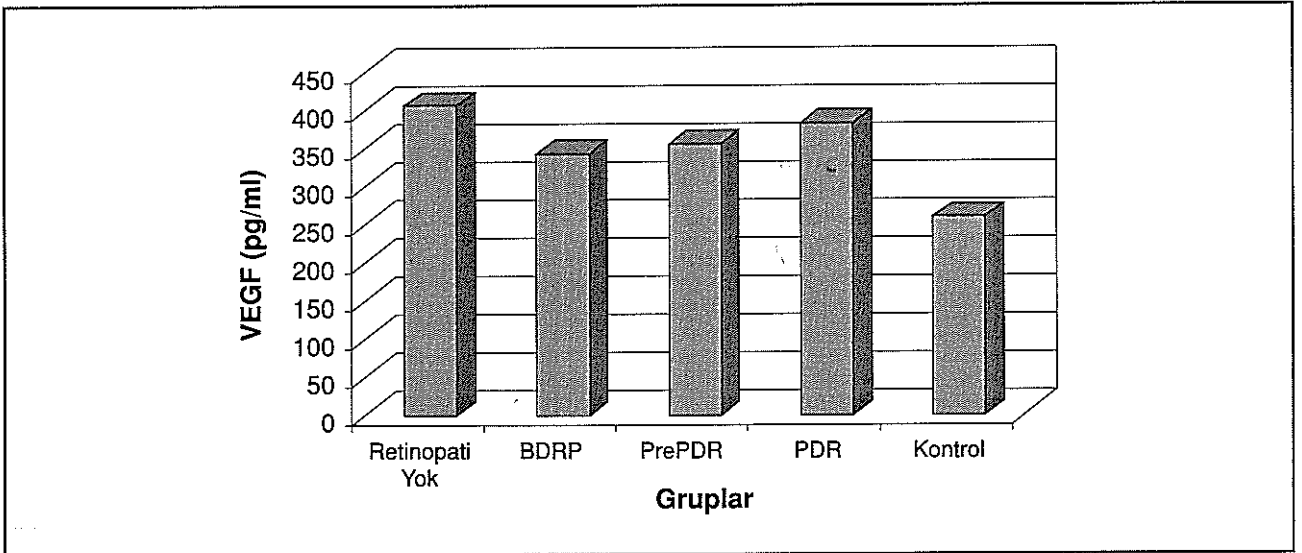
Her bir grupta oral anti diabetik ilaç kullananlar ile insülin kullananlar arasında plazma VEGF düzeyleri arasında OAD ilaç kullanan grupta daha yüksek olmasına rağmen fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı (p>0.05). Zemin diabetik retinopati grubunda plazma NO düzeyi OAD ilaç kullanan alt grupta insülin kullanan gruba kıyasla daha yüksek izlendi (p:0.01). Post hoc analizde gruplar arasında göziçi basıncı açısından fark bulunmuyordu (p:0.40).

TARTIŞMA

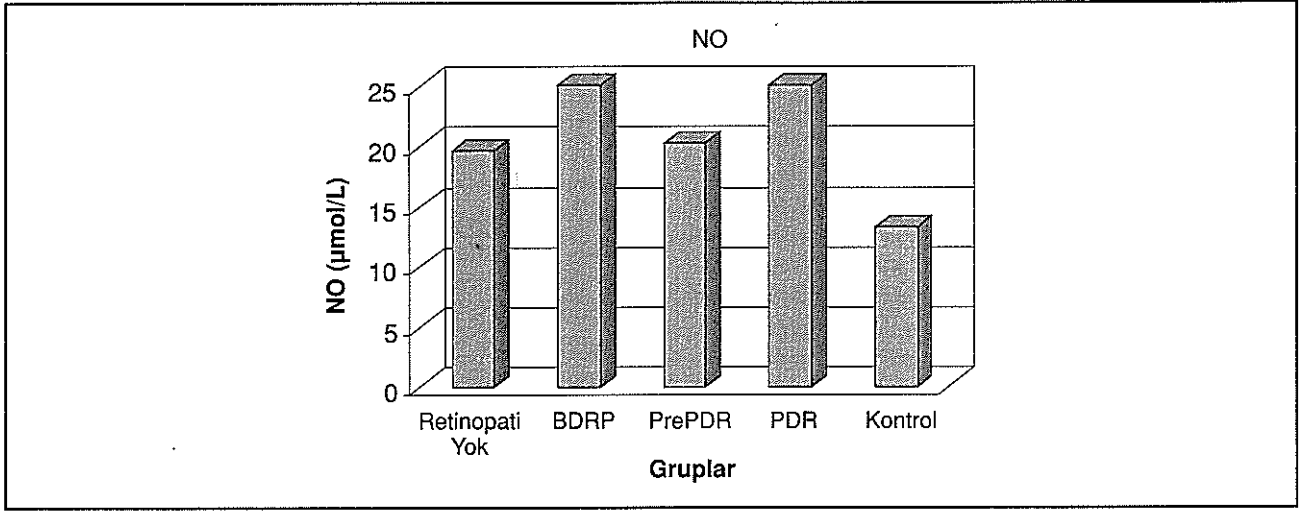
Çalışmamızda plazma NO ve VEGF düzeyinin özellikle proliferatif diabetik retinopati grubunda anlamlı olarak yükselmiş olduğunu saptadık. Bu maddelerin diabetik retinopatinin etiyopatogenezindeki rolleri önceki araştırmalarda vurgulanmış olup özellikle vitreus ve aköz hümmör gibi oküler sıvılarda oranlarının değiştiği bildirilmiş olmakla birlikte plazma düzeyleri ile ilgili çok fazla çalışılmamıştır (5,6,14-18).

Normal insan retinasında çeşitli hücre tipleri VEGF sentez etmektedir. Gangliyon hücresi, iç nükleer ve dış pleksiform tabakalar, kan damarlarının iç duvarları (perisitler ve endotel hücreleri) ve fotoreseptörlerde VEGF

Şekil 1. Gruplarda serum VEGF düzeylerinin grafiksel gösterimi



Şekil 2. Gruplarda serum NO düzeylerinin grafiksel gösterimi



tespit edilmiştir. Retina pigment epiteli, glial hücreler ve Müller hücreleri de VEGF üretebilirler (14,15).

Proliferatif diabetik retinopati ve iskemik santral retinal ven oklüzyonu gibi iskemik retinopatili hastalarda neovaskülarizasyonun vitrede artmış olan VEGF ile ilişkili olduğu bulunmuştur (16-19).

Retinopati bulunmayan diabetik retinada da VEGF için yüksek immün boyanma gözlenmesi VEGF'nin diabetik retinopatinin hem proliferatif hem de prelinik dönem evrelerinde rol oynadığını düşündürmüştür (20). Bununla birlikte nonproliferatif diabetik retinopatili bir çok hastanın aköz ve vitreusunda VEGF saptanamamıştır (16).

Proliferatif diabetik retinopatili hastaların vitreusunda yüksek seviyelerde VEGF bulunduğu bildirilmiştir. VEGF vasküler permeabilite ve kan retina bariyerinin bozulmasında güçlü uyaran etkiye sahip bir maddedir. Hiperpermeabilite ve kan-retina bariyerinin bozulması diabetik retinopatinin patogeneğinde erken fonksiyonel bozukluklardır. Vitreusta artmış VEGF konsantrasyonunun kaynağı muhtemelen iskemik retina olmasına rağmen plazma VEGF'nin vitreus VEGF konsantrasyonuna muhtemel katkısı olabileceği ileri sürülmüş ancak vitreustaki VEGF konsantrasyonunun plazma konsantrasyonundan önemli şekilde etkilenmediği bildirilmiştir. Burgos ve ark (17), yaptıkları çalışmalarında proliferatif diabetik retinopatili diabetik hastalar, mikrovasküler komplikasyonu olmayan diabetik hastalar ve sağlıklı kontrol bireyleri arasında plazma VEGF düzeyleri açısından fark bulamamışlar, plazma VEGF konsantrasyonu ile vitreus konsantrasyonunun birbiriyle ilişkili olmadığını ve plazma VEGF düzeyinin endotelial yaralanmayı yansıtmadığını ileri sürmüşlerdir. Bununla birlikte

VEGF, kan dolaşımı ile yayılan bir moleküldür ve permeabilitenin arttığı alanlarda var olması ekstrasvazasyonu yansıtabilir (17). Bu aynı zamanda sentez edildiği yerden dolaşıma geçebileceğini de gösterebilir.

Shinoda ve ark (5) plazma VEGF düzeyi ile retinopati düzeyi arasında bir ilişki saptayamamışlardır. Lip ve ark (18), diabetik proliferatif retinopati saptadıkları hastalarında plazma VEGF konsantrasyonunun yaş ve cinsiyet karşılaştırmalı sağlıklı kontrollerin plazma VEGF konsantrasyonuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğunu tespit etmişler ve panretinal lazer fotokoagülasyon tedavisinden 4 ay sonra VEGF düzeyinin anlamlı olarak düşme gösterdiğini bildirmişlerdir. Lip ve ark (18), plazma VEGF düzeyinin lazer tedavisinin etkinliğinin bir göstergesi olarak ta kullanılabileceğini düşünmüşlerdir. Sistemik VEGF ölçümlerinin yorumlanmasında dikkatli olunması gerektiği vurgulanmıştır. Kan pıhtılaşması sırasında aktive olan trombositler plazma VEGF salmakta ve VEGF'nin kaynağı açısından muhtemel artefakt şeklinde yanlış sonuçlara yol açabilmektedir. Çalışmamızda etilendiamin tetraasetik asitli tüplerde toplanmış kandan ölçüm yapılarak bu artefaktan kaçınılmaya çalışılmıştır. Bizim çalışmamız da proliferatif retinopatili hastalarda yüksek plazma VEGF düzeyi saptanması açısından Lip ve ark.'nın çalışması ile uyumluluk göstermektedir.

Çalışmamızda hasta gruplarında plazmadaki VEGF düzeyinin kontrol grubundaki sağlıklı bireylerin plazma VEGF düzeylerinden daha yüksek olduğu ve özellikle proliferatif diabetik retinopati grubunda bu farkın istatistiksel olarak anlamlı düzeyde olduğu saptandı. Retinopatisiz grupta da VEGF düzeyinin kontrolden anlamlı olarak yüksek bulunması diabetik hastanın metabolizması ile ilgili olabilir ve ileri çalışmalarla bu durum

açıklığa kavuşturulabilir. Çalışmamızda tedavi grupları kendi içinde değerlendirildiğinde OAD kullananlarla insülin kullananlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. Tüm diabetik gruplarda OAD kullanan hastaların plazmasında VEGF insülin kullananların plazma düzeyinden yüksek VEGF saptansa da farklar küçük bulundu ve istatistiksel olarak anlamlılık kazanmadı. Öte yandan Liu ve ark (19), insülinin VEGF mRNA'yı artırdığını ve yoğun insülin tedavisinin retinal VEGF gen ekspresyonunu artırmak suretiyle retinopatide geçici bir kötüleşmeye yol açabileceğini bildirmişlerdir. İnsülinin plazma VEGF düzeyini etkilediğini gösteren bir çalışmada diabetik çocuklarda tanı sırasında kandaki VEGF düzeyinin hiperglisemi ve insülin eksikliği ile ilişkili olarak yüksek olduğu, insülin tedavisi ile kan VEGF düzeyinin azalmış olduğu bildirilmiştir (20).

Plazma VEGF düzeyindeki değişikliklerin izlenmesi diabetik retinopatinin progresyonu ya da regresyonunun takibi için ilgi çekici bir yol olabilir. Ayrıca proliferatif diabetik retinopati ve diğer oküler neovasküler hastalıklarda muhtemel anti-VEGF tedavi uygulamalarının başlaması ile tedaviye yanıtın izlenmesinde plazma düzeyleri bakılabilir.

Çalışmamızda diabetik hastaların kan düzeyine baktığımız ikinci madde olan Nitrik oksit, L-arginin den NO sentetazın (NOS) üç izoformu tarafından sentez edilen serbest radikal bir gazdır. İki izoform vasküler endotelial hücrelerde (endotelial NOS, eNOS) ve nöronlarda (nöronal NOS, nNOS) eksprese edilir. Üçüncü izoform ise pigment epitelyal hücreler ve Müller hücrelerinde inflamatuvar mediatörler ve sitokinler (inducible NOS, iNOS) tarafından indüklenir. Nitrik oksit vazodilatatör ve sitostatik aktiviteye sahiptir ve ET-1' in vasokonstriktif ve mitojenik etkilerini karşılayabilir.

Çalışmamızda NO'nun diabetik retinopati evreleri ile muhtemel ilişkisini tespit etmek amacıyla farklı evrelerde retinopatisi bulunan diabetik hastaların plazmalarındaki nitrat düzeyleri incelendi. Çalışmamızda özellikle proliferatif retinopatili hastaların plazmalarında NO düzeylerinin yükselmiş olduğu gözlemlendi ve mikroanjyopatının derecesinin kanda beliren bir parametresi olarak alınabileceği düşünüldü. Tedavi grupları kendi içinde karşılaştırıldığında sadece zemin diabetik retinopati grubunda OAD kullanan hastalarda plazma NO düzeyinin insülin kullananlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu gözlemlendi insülin kullanımının özellikle NO'un etkilerine karşı koruyucu olabileceği düşüncesine yol açmaktadır.

Proliferatif diabetik retinopatili hastaların vitreusunda daha yüksek düzeyde nitrat saptanması diabetik hastaların aköz sıvısında artmış NO metabolitleri saptanması ile

uyumludur. Yılmaz ve ark (10), kontrol olarak makula holü olan hastalar ile kıyaslandığında proliferatif diabetik retinopati hastalarının vitreusunda yüksek nitrat düzeyi saptamışlardır.

Nitrik oksit glutamat aracılıklı nörotoksisitede yer almaktadır, glutamatın ise retinal iskemi yanı sıra proliferatif diabetik retinopati de vitreus düzeyinin yükseldiği gösterilmiştir (21). Diğer ihtimal ise iNOS aktivitesinin artmasıdır. İskemi yanında ET-1'in iNOS'u stimüle ettiği bilinmektedir. Ayrıca Proliferatif diabetik retinopatide iNOS'u stimüle edebilen interlökin-1 β ve VEGF dahil bazı sitokinler salgılanmaktadır. iNOS bir kez aktive olduğunda büyük miktarda NO kalsiyum iyon seviyesinden bağımsız olarak ortaya çıkar. NO ve eNOS, VEGF'nin indüklediği anjiyogenik damarlarda hemodinamik değişikliklere aracılık edebilmektedir(22). VEGF eNOS aracılığı ile NO üretimini uyarabilir, eNOS ise VEGF'nin uyardığı permeabilitede rol oynayabilmektedir (23).

Sonuç olarak çalışmamızda diabetik retinopatinin etiopatogenezinde mikroanjyopati şeklinde kendini belli eden vasküler komplikasyonların ortaya çıkmasında etkili olduğu belirlenmiş olan faktörel maddelerden olan VEGF ve NO kan düzeyleri tespit edildi. Retinopati şiddeti arttıkça kan VEGF ve NO düzeylerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bu yükselme retinopati ile birlikte genel olarak tüm vücutta artmış olan diabetin komplikasyonlarının plazmaya yansması olabilir ve dolayısı ile retinopati ile birlikte diabetik sistemik anjiyopati ve anjiyogenezisin periferik markerleri olarak kabul edilebilirler.

KAYNAKLAR

1. Duh E, Aiello LP: Perspectives in diabetes. Vascular endothelial growth factor and diabetes. The agonist versus antagonist paradox. *Diabetes* 1999;48:1899-1905.
2. Clermont AC, Aiello LP, Mori F, Aiello LM, Bursel SE: Vascular endothelial growth factor and severity of nonproliferative diabetic retinopathy mediate retinal hemodynamics in vivo: A potential role for vascular endothelial growth factor in the progression of nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1997;124:433-446.
3. 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.
4. Mathews MK, Merges C, McLeod DS, Luty GA: Vascular endothelial growth factor and vascular permeability changes in human diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38:2729-2741.
5. Shinoda K, Ishida S, Kawashima S et al: Comparison of the levels of hepatocyte growth factor and vascular endothelial growth factor in aqueous fluid and serum with grades of retinopathy in patients with vascular endothelial

- growth factor diabetes mellitus. *Br J Ophthalmol* 1999;83:834-837.
6. Sharp PS, Al-Myarat M, Valabhji J, Kearney TM, Wright D: Serum levels of vascular endothelial growth factor in diabetic subjects: the vascular endothelial growth factor relationship with vascular endothelial growth factor blood pressure. *Diabetologia* 1998;41:984-5.
 7. Murata T, Isibashi T, Khalil M et al: Vascular endothelial growth factor plays a role in hyperpermeability of diabetic retinal vessels. *Ophthalmic Res* 1995;27:48-52.
 8. McLeod DS, Luty GA: High resolution histologic analysis of the human choroidal vasculature. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1994;35:3799-3811.
 9. Gerhardinger , Brown LF, Roy S, Mizutani M, Zucker CL, Lorenzi M: Expression of vascular endothelial growth factor in the human retina and nonproliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1998;152:1453-1462.
 10. Yilmaz G, Esser P, Kociek N et al: Elevated vitreous nitric oxide levels in patients with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 2000;130:87-90.
 11. Oku H, Kida T, Sugiyama T, Hamada J, Sato B, Ikeda T: Possible involvement of endothelin-1 and nitric oxide in the pathogenesis of proliferative diabetic retinopathy. *Retina* 2001;21:647-651.
 12. Aladağ MA, Türköz Y, Özerol İH: Nitrik oksit ve nörofizyolojik etkileri. *T Klin Tıp Bilimleri* 2000, 20:107-111.
 13. Chiou GCY: Review: Effects of Nitric Oxide on Eye Disease and Their Treatment. *J Ocul Pharm Ther* 2001;17:189-198.
 14. Amin RH, Frank RN, Kennedy A, Eliot D, Puklin JE, Abrams GW: Vascular endothelial growth factor is present in glial cells of the retina and optic nerve of human subjects with nonproliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1997;38:36-47.
 15. 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;331:1480-1487.
 16. Adamis AP, Miller JW, Bernal M-T et al: Increased vascular endothelial growth factor in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol* 1994;118:445-450.
 17. Burgos R, Simo R, Audi L, Mateo C, Garcia-Ramirez M, Carrascosa A: Vitreous levels of vascular endothelial growth factor are not influenced by its serum concentrations in diabetic retinopathy. *Diabetologia* 1997;40:1107-1109.
 18. Lip PL, Belgore F, Blann AD, Hope-Rose MW, Gibson JM, Lip GYH: Plasma VEGF and soluble VEGF receptor FLT-1 in proliferative retinopathy: Relationship to endothelial dysfunction and laser treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:2115-2119.
 19. Liu M, Amano S, Miyamoto K, Garland R, Keough K, Qin W, Adamis AP: Insulin-induced vascular endothelial growth factor expression in retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:3281-3286.
 20. Ashraf A, Mick G, Meleth S, Abdullatif H, Wang X, McCormick K: Effect of insulin on plasma vascular endothelial growth factor in children with new onset diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 24: [Epub ahead of print].
 21. Kageyama T, Ishikawa A, Tamai M: Glutamate elevation in rabbit vitreous during transient ischemia-reperfusion. *Jpn J Ophthalmol* 2000;44:110-114.
 22. Hangai M, Yoshimura N, Hiroi K et al: Inducible nitric oxide synthase in retinal ischemia-reperfusion injury. *Exp Eye Res* 1996;63:501-509.
 23. Fukumura D, Gohondi T, Kadambi A et al: Predominant role of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis and vascular permeability. *PNAS*;2001:2604-2609.