



**T.C.**

**SAĞLIK BAKANLIĞI**

**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**

**EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA KETOJENİK DİYET  
VE WESTERN DİYET İLE BESLENMENİN KORNEA VE  
RETİNA ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.HALİL İBRAHİM SÖNMEZOĞLU**

**MART-2021**

**T.C.**

**SAĞLIK BAKANLIĞI**

**SAKARYA ÜNİVERSİTESİ**

**EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ**

**GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA KETOJENİK DİYET  
VE WESTERN DİYET İLE BESLENMENİN KORNEA VE  
RETİNA ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr.HALİL İBRAHİM SÖNMEZOĞLU**

**DANIŞMAN**

**Doç. Dr. İSA YUVACI**

**MART-2021**

## ONAY

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık eğitimi çerçevesinde ve Doç. Dr. İsa YUVACI danışmanlığında Tıpta Uzmanlık Öğrencisi Dr.Halil İbrahim SÖNMEZOĞLU tarafından tez başlığı “DİYABET OLUŞTURULMUŞ RATLARDA KETOJENİK DİYET VE WESTERN DİYET İLE BESLENMENİN KORNEA VE RETİNA ÜZERİNE ETKİLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI” olarak teslim edilen bu tez, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “Tıpta Uzmanlık Tezi” olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Gürsoy ALAGÖZ

JÜRİ BAŞKANI

İmza

Doç.Dr.İsa YUVACI

ÜYE

İmza

Doç.Dr.Ümit DOĞAN

ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanı

Prof. Dr.Oğuz KARABAY

## BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Etik Kurulu'ndan onay olarak hazırlanmıştır (Tarih: 07/08/2019 Sayı:26). Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

.../.../...

Dr.HALİL İBRAHİM SÖNMEZOĞLU

## TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Güz Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitim sürem boyunca bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım klinik Őefimiz saygıdeğer hocam Prof.Dr.Gürsoy ALAGÖZ'e, tüm histolojik aşamalarda birebir destek veren Sakarya Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Nureddin Cengiz'e, uzmanlık eğitimim boyunca bana birçok Őey kazandıran kliniğimizin çok değerli hocaları Doç.Dr.Erkan ÇELİK, Doç.Dr.Burçin ÇAKIR, Doç.Dr.İsa YUVACI, Dr.Öğr.Üy.Nilgün ÖZKAN AKSOY ve değerli uzmanlarına, her zaman birlikte çalışmaktan mutlu olduğum asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemŐire ve personeline, eğitim hayatım boyunca ve bu tez sürecinde yanımda olan canım aileme, desteğini ve sevgisini hep yanımda hissettiğim sevgili eşim BüŐra'ya teşekkürlerimi sunarım. Saygılarımla

Dr.HALİL İBRAHİM SÖNMEZOĞLU

# İÇİNDEKİLER

ONAY .....	3
BEYAN .....	4
TEŞEKKÜR .....	5
İÇİNDEKİLER .....	6
ÖZET .....	8
ABSTRACT .....	10
KISALTMALAR .....	12
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	15
GRAFİKLER LİSTESİ .....	16
TABLolar LİSTESİ .....	17
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	18
2. GENEL BİLGİLER .....	20
2.1. RETİNA ANATOMİSİ .....	20
2.1.1. Retina Pigment Epiteli (RPE) .....	21
2.1.2. Nöral Retina .....	21
2.1.3. Retinanın Kan Desteği .....	22
2.1.4. Koroid Tabakası .....	23
2.1.5. Anjiogenez .....	23
2.2. DİYABETES MELLİTUS .....	24
2.2.1. Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması .....	24
2.2.2. Diyabetes Mellitusun Tanı Kriterleri .....	24
2.2.3. Diyabetes Mellitusun Tedavisi .....	25
2.3. DİYABETİK RETİNOPATİ .....	25
2.3.1. Diyabetik Retinopatinin Epidemiyolojisi .....	25
2.3.2. Diyabetik Retinopati İçin Risk Faktörleri .....	26
2.3.3. Diyabetik Retinopatinin Patogenezi .....	28
2.3.3.2. Kaspaz Ailesi ve Kaspaz 3 .....	30
2.3.4. Diyabetik Retinopatinin Sınıflandırılması .....	32
2.3.5. Diyabetik Maküla Ödemi .....	34
2.3.5.2. Fokal Diyabetik Maküla Ödemi: .....	35
2.3.6. Diyabetik Maküla Ödemi Tedavisi .....	36
2.4. KORNEA ANATOMİSİ .....	39

2.4.1. Epitel Tabakası .....	39
2.4.2. Bowman Tabakası.....	40
2.4.3. Stroma Tabakası .....	40
2.4.4. Dua Tabakası .....	41
2.4.4. Descemet Membranı .....	41
2.4.5. Endotel Tabakası.....	41
2.4.6. Korneanın İnnervasyonu.....	41
2.4.7. Korneanın Beslenmesi .....	42
2.5. KETOJENİK DİYET .....	42
2.5.1. Ketojenik Diyet Tarihçesi.....	42
2.5.2. Ketojenik Diyet Tanımı .....	43
2.5.3. Keton Oluşumu ve Ketojenik Diyet Etki Mekanizması .....	43
2.5.4. Ketojenik Diyetin Anti-inflamatuar Özelliklerinin Muhtemel Mekanizmaları .....	47
2.6. STREPTOZOTOSİN (STZ) VE ETKİ MEKANİZMASI.....	49
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	50
3.1. İMMUNOHİSTOKİMYA BOYAMA PROTOKOLÜ .....	51
3.2. HEMATOKSİLEN VE EOZİN (H&E) BOYAMA PROTOKOLÜ.....	52
3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	53
4. BULGULAR .....	54
5. TARTIŞMA .....	71
6. SONUÇLAR .....	75
KAYNAKÇA .....	76
ÖZGEÇMİŞ .....	83

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Diyabet oluşturulmuş ratlarda farklı beslenme tarzlarının kornea ve retina üzerindeki etkilerini karşılaştırmak

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 28 adet, 8-10 haftalık, Long Evans cinsi erkek ratlar rastgele seçilerek dört gruba ayrıldı. Çalışma için; sağlıklı ve normal beslenme uygulanmış (Grup 1); diyabet oluşturularak normal beslenme uygulanmış (Grup 2); diyabet oluşturularak ketojenik beslenme uygulanmış (Grup 3); diyabet oluşturularak western tipi beslenme uygulanmış (Grup 4) olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Ratlarda diyabet oluşturmak için 60 mg/kg tek doz streptozotosin phosphate buffered salin (PBS)'de çözdürülerek intraperitoneal uygulandı. Uygulamadan 72 saat sonra kuyruk veninden alınan kanda, glikoz düzeyi 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. On hafta sonunda anestezi altında ekssanguinasyon sonrası gözler enükle edildi. Parafin bloklara gömülü doku kesitlerinden vascular endotelial growth factor (VEGF) ve Caspase-3 immünreaktiviteleri için immünohistokimyasal boyama yöntemi kullanıldı. Boyamalarda immünreaktivitenin kornea ve retinadaki yaygınlığı ve şiddeti esas alınarak histoskorlama yapıldı. Hematoksilen-eozin ile boyanan retina tabakalarının kalınlıkları karşılaştırıldı.

**Bulgular:** VEGF ile retina boyamasında grup 3'te az yoğun boyanma daha yüksek oranda bulundu (p: 0,018). Caspase-3 ile retina boyamasında gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (p: 0,65). Retina tabakalarının kalınlıkları karşılaştırıldığında; iç nükleer, iç plexiform, dış nükleer ve ganglion tabakalarının grup 4'te diğer gruplardan anlamlı olarak kalın olduğu görüldü (Sırasıyla p değerleri <0,001, 0,013, 0,006, 0,017). Koroid kalınlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (p: 0,118). VEGF ile kornea boyamasında grup 4'te çok yoğun, grup 3'te az yoğun boya tutulumu daha yüksek oranda bulundu (p<0,001). Caspase 3 ile kornea boyamasında gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p: 0,121).

**Sonuç:** Western tipi diyetin apoptozisi, vasküler permeabilityi, inflamasyonu ve dolayısıyla hücrel ödemi artırdığı, sonuç olarak doku kalınlaşmasına neden olduğu söylenebilir. Ketojenik diyetin western tipi diyete göre faydalı veya daha az zararlı olduğu söylenebilir. Ancak ketojenik diyetle ilgili kısa vadede olumlu sonuçlar bildirilmesine karşın uzun vadede etkisi bilinmeyen bir beslenme türüdür. Uzun



vadedeki etkilerini saptamak için daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar Kelimeler:** Retina, kornea, diyabetik retinopati, ketojenik diyet, western diyet, VEGF, Kaspaz-3



## ABSTRACT

**Purpose:** To compare the effects of different diets on cornea and retina in diabetic rats

**Materials & Methods:** In the study, 28 male 8-10 week old Long Evans rats were selected randomly and divided into four groups. For the study, a total of 4 groups were formed: healthy and normal nutrition (Group 1), diabetic normal nutrition (Group 2), diabetic ketogenic nutrition (Group 3), diabetic western-type nutrition (Group 4). To create diabetes in rats, a single dose of 60 mg/kg of streptozotocin was dissolved in phosphate buffered saline (PBS) and administered intraperitoneally, those with a glucose level above 200 mg/dl in the blood taken from the tail vein 72 hours after the administered was considered diabetic. At the end of ten weeks, eyes were enucleated after exsanguination under anesthesia. Immunohistochemical staining method was used for vascular endothelial growth factor (VEGF) and Caspase-3 immunoreactivity from the tissue sections embedded in paraffin blocks. Histochemical scoring was performed based on the extent and intensity of immunoreactivity in the cornea and retina. The thicknesses of retinal layers stained with hematoxylin-eosin were compared.

**Results:** Less intense staining was higher in group 3 in retinal staining with VEGF (p: 0,018). There was no significant difference between the groups in retinal staining with caspase 3 (p: 0,65). When the retinal layers are compared; inner nuclear, inner plexiform, outer nuclear and ganglion layers were found to be significantly thicker in group 4 than other groups. When the choroidal thickness was compared, no significant difference was found between the groups (p: 0,118). In corneal staining with VEGF, very intense staining was found at a higher rate in group 4 and less intense in group 3 (p <0,001). There was no significant difference between the groups in corneal staining with caspase 3 (p: 0,121).

**Conclusion:** It can be said that western type diet increases apoptosis, vascular permeability, inflammation and thus cellular edema, and consequently causes tissue thickening. It can be said that the ketogenic diet is beneficial or less harmful than the western type diet. However, although positive results have been reported in the short term regarding the ketogenic diet, it is a type of diet whose effect in the long term is unknown. Longer studies are needed to determine its long-term effects.

**Key words:** Retina, cornea, diabetic retinopathy, ketogenic diet, western diet, VEGF, Caspase-3



## **KISALTMALAR**

TBS: Tris Buffered Saline

DM: Diyabetes Mellitus

PBS: Phosphate Buffered Saline

RPE: Retina pigment epiteli

STZ: Streptozotosin

DMÖ : Diyabetik Maküla Ödemi

İVR: İntravitreal Ranibizumab

DME: Diabetic Macular Edema

DRP: Diyabetik Retinopati

VEGF : Vasküler Endotelyal Growth Faktör

MMP: Matriks Metalproteinazlar

MÖ : Maküla Ödemi

LFK : Lazer Foto Koagülasyon

WESDR : Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy

PDR : Proliferatif Diyabetik Retinopati

NPDR : Nonproliferatif Diyabetik Maküla Ödemi

HbA1c: Hemoglobin A1c ( Glikolize hemoglobin)

DCCT: Diyabet kontrolü ve komplikasyonları çalışması

BUN: Kan Üre Nitrojeni

ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study

KAMÖ : Klinik Anlamlı Maküla Ödemi

IGF: İnsülin-like Growth Factor

FGF:Fibloblast growth factor

İRMA : İntraretinal Mikrovasküler Anomaliler

FFA : Fundus Fluoresein Anjiografi

NV: Neovaskularizasyon

NVD: Optik disk neovaskularizasyonu

VH: Vitreus hemorajisi

FAZ: Foveal Avasküler Zon

OCT : Optik Kohorens Tomografi

FA: Fluosinolon Asetonid

UKPDS : United Kingdom Prospective Diyabetes Study Group

Mm: Milimetre

µm: Mikrometre

µg: Mikrogram

LogMAR : Minimum Rezolüsyon Açısının Logaritması

SPSS: Statistical Package for Social Science

GAG: Glikozaminoglikan

KNV: Korneal Neovaskularizasyon

KD: Ketojenik Diyet

LCKD : Düşük karbonhidratlı ketojenik diyet

AEİ : Antiepileptik ilaç

PUFA: Poliansatüre fatty acid-Çoklu doymamış yağ asiti

SAT: Saturated fatty acid-Doymuş yağ asiti

DHA: Dokosaheksaenoik asit

EPA: Eikozapentaenoik asit

BOHB: Beta Hidroksi Bütirat

NAD : Nikotinamid adenin dinükleotid

FAD: Flavin Adenin Dinükleotid

AA: Araşidonik Asit

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

CARD: Kaspaz aktive edici toplayıcı bölge

DED: Ölümü etkileyen bölge

ADA: Amerikan Diyabet Derneği

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: RPE'nin histolojik yerleşimi	21
Şekil 2: Karnitin Mekiği	44
Şekil 3: Yağ asitlerinin beta oksidasyonun enzimatik basamakları	45
Şekil 4 : Keton Sentezi ve Ketonun periferik dokularda kullanımı (99)	46
Şekil 5: STZ molekülünün açık formülü C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> N <sub>3</sub> O <sub>7</sub> (113)	49
Şekil 6: Retina tabakalarının kalınlık ölçümünü gösteren bir örnek	53
Şekil 7: Western diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir ratın retinasının Kaspaz-3 ile immünohistokimyasal boyamasında pozitif boyanan gangliyon hücresi siyah ok ucu ile negatif boyanan gangliyon hücreleri siyah ok ile gösterilmiştir (x400 büyütme).	56
Şekil 8: Western diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir ratın retinasında çok yoğun Kaspaz-3 immünohistokimyasal boyanması görülmektedir. Kaspaz-3 ile pozitif boyanan bazı hücreler beyaz ok ile negatif hücreler siyah ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).	57
Şekil 9: Ketojenik diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir ratın retinasının Kaspaz-3 immünohistokimya boyamasında az yoğun immunreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).	58
Şekil 10: Western diyet ile beslenen diyabetik grupta bir hayvanda retinanın VEGF immünohistokimyasal boyamasında çok yoğun immünreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).	60
Şekil 11: Ketojenik diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir hayvanda retinanın VEGF immünohistokimyasal boyamasında az yoğun immünreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).	61
Şekil 12: Kontrol grubundaki bir ratın retinasının VEGF immünohistokimyasal boyanmasında orta derecede yoğunlukta immünreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme)	62
Şekil 13: Western diyet ile beslenme grubundaki bir hayvanın korneasında çok yoğun kaspaz-3 immünohistokimya boyanması görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).	66
Şekil 14: Western diyet ile beslenen gruptaki bir hayvanın korneasında az yoğun kaspaz-3 immünohistokimya boyanması görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme)	67
Şekil 15: Western diyet ile beslenen grupta bir hayvanın korneasında çok yoğun VEGF immünohistokimya boyanması görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme)	70

## GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 1: Retina kesitlerinin Kaspaz-3 immunohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0,065). 55

Grafik 2: Retina kesitlerinin VEGF immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,018). 60

Grafik 3: Tüm gruplara ait retina tabakalarının kalınlıklarının karşılaştırması görülmektedir. 64

Grafik 4: Kornea kesitlerinin Kaspaz-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. 65

Grafik 5: Kornea kesitlerinin VEGF immunohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (p<0,001) 69



## TABLULAR LİSTESİ

Tablo-1: Retina kesitlerinin Kaspaz-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruptaki yüzde değerleri görülmektedir.	55
Tablo-2: Retina kesitlerinin VEGF immünohistokimya skorlarına göre tüm gruptaki yüzde değerleri görülmektedir.	59
Tablo-3: Tüm gruplara ait retina tabakalarının kalınlıklarının karşılaştırılması	63
Tablo 4: Kornea kesitlerinin Kaspaz-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruptaki yüzde değerleri görülmektedir.	65
Tablo-5: Kornea kesitlerinin VEGF immünohistokimya skorlarına göre tüm gruptaki yüzde değerleri görülmektedir.	68

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), insülin sekresyonundaki defekt veya insülinin etkisine karşı oluşan direnç sonucu ortaya çıkan, kan şekeri yüksekliği ve bunun dokular üzerinde hasar oluşturması ile giden, kronik metabolik bir hastalıktır (1). Bir başka deyişle DM, pankreastan salgılanan insülinin kullanılamaması ya da insülinin eksikliği nedeniyle kişinin tükettiği besinlerdeki karbonhidrat, protein ve yağlardan yeterince yararlanamadığı, düzenli tıbbi müdahale gerektiren, tüm dünyada yaygın görülen kronik bir endokrin bozukluktur (2). DM'nin kesin nedenini açıklamak zordur ancak sedanter yaşam tarzı, kalıtsal yatkınlık, obezite, gebelik, çarpık kentleşme ve sağlıksız diyetler hastalığın ortaya çıkmasını tetiklemektedir (3). Hastalığın uzun süre seyri esnasında özellikle vasküler dokularda hasar oluşmaktadır. Bu hasarlar mikrovasküler veya makrovasküler olarak iki grupta incelenebilir. Diyabetik retinopati (DRP) en önemli mikrovasküler komplikasyonlardandır. DRP gelişiminde ana mekanizma uzun süreli hiperglisemiye bağlı toksisitedir. Ancak yapılan yoğun klinik ve deneysel araştırmalara rağmen moleküler patofizyolojisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (4).

DRP, 20 ile 65 yaş arasında görülen legal körlüğün en sık sebebidir. DM tanısı konulduktan sonraki ilk 5 yıl içerisinde DRP görülme olasılığı çok düşük olmakla birlikte, 5-10 yıl arasında %27, 10 yılın üzerinde ise %71-90 oranında görülmektedir (5). DRP esas olarak bir mikroanjiopatidir. Hastalığın patogenezinde hiperglisemi sonrası gelişen retina kapillerlerinde dejenerasyon, perisit kaybı, endotel proliferasyonu, bazal membranda kalınlaşma ve oklüzyon mevcuttur (5). Retinopatide damarlarda oluşan iki temel değişiklik vasküler geçirgenliğin artması ve mikrovasküler oklüzyondur. Vasküler permeabilitenin artması lokal/yaygın ödeme, mikrovasküler oklüzyon ise retinal iskemiye ve daha ileri dönemde yeni damar oluşumlarına yol açar. Mikroanjiopati bulgularının yaygınlığı ve ağırlığı DRP'nin evresini belirler. (5)

DRP ve komplikasyonlarının gelişiminde anjiyogenez, enflamasyon, toksisite ve apoptozisin önemli yeri olduğu bilinmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF); hipoksi, büyüme faktörleri ve nitrik oksit tarafından stimüle edilerek vasküler permeabiliteyi artıran ve yeni damar oluşumuna neden olan bir sitokindir (6). Kaspaz 3; proteini aspartat aminoasidinden sonra kesen, aktif merkezinde sistein

bulunan proteazlar ailesine mensuptur. Bu kesme işlemi proteinin aktivasyon veya inaktivasyonuna neden olabilir. Apoptoziste rol alır (7).

Diyabet tedavisi, beslenme, fiziksel aktivite ve farmakolojik tedavinin bir arada yürütüldüğü interdisipliner bir tedavi sürecini gerektirir. DM' nin önlenmesi ve kontrolü; egzersiz, düşük kalorili besinlerle beslenme, obez kişilerde kilo kaybı ve hareketsizlikten uzak bir yaşamdan geçmektedir (8).

Antioksidan fitokimyasallar ile diyet takviyesi ve antioksidan savunma mekanizması serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasara karşı savunma oluştururken diyabetik komplikasyonların gelişmesini de önleyebilir (9).

Beslenme tedavisi diyabet yönetiminde önemli bir rol oynar (10). Akdeniz diyeti gibi çeşitli diyet yaklaşımları, hipertansiyonu durdurmak için diyet yaklaşımları, vejetaryen diyet ve karbonhidrat kısıtlı diyet Amerikan Diyabet Derneği (ADA) tarafından önerilmiştir (11,12).

Ketojenik diyet genellikle %80 yağ, %15 protein ve %5 karbonhidrattan oluşmaktadır. Yağın, karbonhidrat ve proteine oranı 2:1 ila 4:1 arasında değişmektedir. Düşük karbonhidratlı ketojenik diyet (LCKD), açlık fizyolojik durumunu taklit eden ketoza neden olan karbonhidratlardan (<100 g / gün) düşük bir diyettir (13). Bu diyetler ile lipid metabolizmasının arttığı ve inflamatuvar hastalıkların azaldığı düşünülmektedir. Ketozis yapan bu diyetlerle immün sistem düşük glukoz düzeylerine adapte olur ve metabolizma mitokondriyal yağ asiti oksidasyonu, ketogenezis ve ketolizis yönüne doğru kayarak inflamasyonu azaltır. DRP patogenezinde de inflamatuvar süreç önem arz ettiğinden ketojenik diyetin DM ve dolayısıyla DRP kontrolü ve tedavi sürecinde faydalı olabileceği düşünülmektedir.

Western (batı tipi) diyet doymuş yağlar, şekerler ve işlenmiş karbonhidrat bakımından zengin bir beslenme türüdür. Aşırı işlenmiş gıdaların insan sağlığına zararlı olduğunu destekleyen çalışmalar vardır. Doymuş yağlar, şekerler ve rafine karbonhidratlar bakımından yüksek diyetlerin dünya çapında yüksek oranda tüketilmesi, obezite ve tip 2 diyabet prevalansına katkıda bulunur.

Bu çalışmanın amacı; streptozotosin ile diyabet oluşturulmuş ve farklı beslenme tipleri ile beslenen ratlarda kornea ve retina katmanlarındaki değişiklikleri, VEGF ve Kaspaz 3 immünreaktivitelerini incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. RETİNA ANATOMİSİ

Retina, dıştan içe doğru on kattan oluşur:

1. Retina Pigment Epiteli
2. Rod ve Koniler
3. Dış Limitan Membran
4. Dış Nükleer Tabaka
5. Dış Pleksiform Tabaka
6. İç Nükleer Tabaka
7. İç Pleksiform Tabaka
8. Ganglion Hücreleri Tabaka
9. Sinir Lifi Tabakası
10. İç Limitan Membran

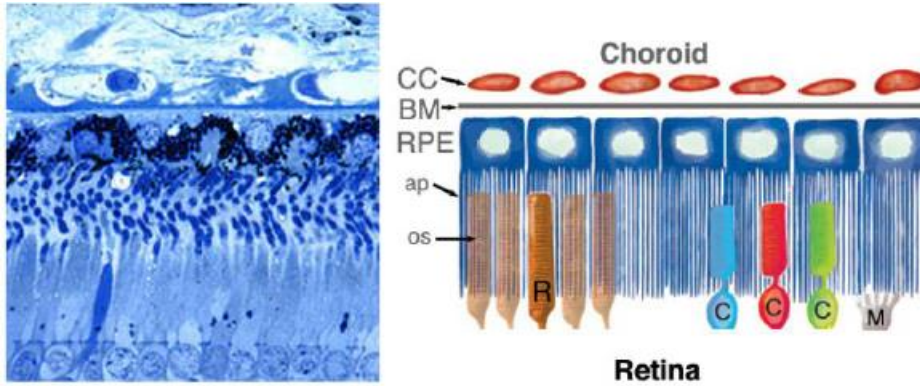
Bu sınıflama ışık mikroskopu ile yapılan inceleme için geçerlidir. Nöral retinanın özelleşmiş bölgeleri mevcuttur. Retina gözün sinir tabakası olup göz küresinin iç yüzeyini örter. İnce ve saydam bir tabakadır. Kalınlığı optik disk yakınında 0,56 mm, ora serratada ise 0,1 mm'dir. Retinanın arka kısmının merkezindeki oval, sarı alana maküla lutea denilir. Çapı yaklaşık 4,5-6 mm'dir ve optik diskin yaklaşık 3 mm temporalinde bulunur. Makülanın sarı renginin kaynağı ksantofil isimli pigmenttir. Retinanın arka kutupta en ince olduğu nokta foveadır. Bu alanın merkezindeki çöküntüye fovea santralis denir. Çapı yaklaşık 1,5 mm'dir. Çöküklüğün kenarına klivus, tabanına ise foveola denir. Burada iç retina katlarına ait sinir hücre ve lifleri kenara çekilmiş ve merkezde sadece fotoreseptör hücreleri kalmıştır. Foveolada 1. ve 2. nöronlar kenara itildiğinden dış pleksiform tabakadaki lifler iç nükleer tabakayı oluşturan hücrelerin uzantıları ile sinaps yapmadan önce iç limitan membrana paralel seyrederek. Yani bu bölgede dış pleksiform tabakaya ait hücresel uzantıların horizontal seyri ile Henle tabakası oluşur. Fovea üzerinde kan damarına ve rod hücresine rastlanmaz ancak koni konsantrasyonu maksimuma ulaşmıştır.

Retina sinir lifi tabakası arkada optik sinirle devam eder. Önde nöral retina ora serrataya kadar uzanır ve pars plana pigmente olmayan siliyer cisim epiteli ile devam

eder. Dış yüzeyi Bruch membranı ile, iç yüzeyi vitreus ile temas halindedir. Retinanın sinir tabakasının bittiği ön kısmı dalgalı bir görünüm arz eder. Bu kısma ora serrata adı verilmektedir. Retina, optik disk kenarları ve ora serratada sıkı yapışıklık gösterir. Retina embriyolojik olarak nöroektodermden köken alan iki yapıdan oluşur. Bunlardan dıştaki pigmente epitel katı, içteki ise duyuşal (nöral) retinadır.

### 2.1.1. Retina Pigment Epiteli (RPE)

Nöroektodermal kökenli, tek katlı, altıgen şekilli küboidal hücre tabakasıdır. Optik disk sınırından ora serrataya kadar uzanır ve silyer cismin pigment epiteli ile devamlılık gösterir. Her bir RPE hücresinin apikal kısmındaki villöz çıkıntılar, fotoreseptör hücrelerin dış kısımlarını sarar ve aralarında hiçbir özel bağlantı bulunmaz. RPE hücrelerinin; dağılan ışığın absorpsiyonu, retina altı boşluğun devamlılığının sağlanması, rod ve kon hücrelerinin dış kısımlarının fagositozu, fotoreseptörlerin dış segmentlerin döngüsü, A vitamini depolanması ve salınımı, interfotoreseptör matris sentezi gibi fonksiyonları vardır (14).



Şekil 1: RPE'nin histolojik yerleşimi

### 2.1.2. Nöral Retina

Üç temel nöron grubundan oluşur: Fotoreseptörler, bipolar hücreler ve gangliyon hücreleridir. Aktivitenin düzenlenmesi için horizontal ve amakrin hücreler gibi ara nöronları içerir. İki tip fotoreseptör vardır: Rodlar ve koniler.

Rodlar, loş ışıklı ortamda ve siyah-beyaz görüntünün algılanmasından, koniler ise parlak ışıklı ortamda, hem detaylı hem de renkli görüntünün algılanmasından

sorumludurlar. Rodların sayısı 110-125 milyon, konilerin sayısı ise 6,3-6,8 milyondur. Foveada rod bulunmaz, periferde doğru gittikçe sayıları birden artar ve uç noktalara yaklaştıkça azalır. Koniler ise foveada daha yoğundur ve periferde gittikçe sayıları azalır.

Bipolar hücrelerin radyal bir yönelimi vardır. Bu hücrelerin bir veya daha fazla sayıda dendriti dışa doğru uzanarak fotoreseptör hücre terminalleri ile sinaps yapar. Tek olan akson içe doğru uzanarak gangliyon hücreleri ve amakrin hücreleri ile sinaps yapar. Gangliyon hücreleri görme yolunda ikinci nöronları oluşturur. Multipolar hücrelerdir ve dendritleri bipolar ve amakrin hücrelerin aksonları ile sinaps yapar. Retinada yaklaşık 1 milyon gangliyon hücresi vardır ve her gangliyon hücresi başına 100 fotoreseptör hücresi düşer. Aksonları miyelinsiz olup, optik siniri oluştururlar (15).

Horizontal hücreler multipolar olup, fotoreseptör hücrelerinin terminal geniş kısımlarının yakınında yer alırlar. Bu hücrelerin bipolar hücrelerin aktivitesini baskılayan bir transmitter salgıladığına inanılmaktadır. Gangliyon hücrelerinin dendritleri ile bipolar hücrelerin akson uçları sinaps yapar. Amakrin hücreleri bipolar hücreler tarafından uyarılır ve gangliyon hücresini uyarır. Nöral retinadaki boşlukların çoğunu müller hücreleri doldurur. Müller hücreleri, destek görevi görür ve beslenmeye yardımcı olur

### **2.1.3. Retinanın Kan Desteği**

Retina iki kaynaktan kan desteği alır. Rodlar, koniler ve dış nükleer kattan oluşan dış lamina, koroid kapillerlerinden doku sıvısı aracılığı ile beslenir. İç lamina ise santral retinal arter ve venden destek alır. Retina arterleri uç arterler olup herhangi bir arteriovenöz anastomoza rastlanmaz. Retina arterielleri yaygın bir kapiller ağ oluşturur. Bu kapillerlerin duvarları deliksiz endotel hücreleri ile çevrilidir. Endotel bazal membranının altında çok sayıda perisit vardır. Kapiller ağların en yoğun olduğu bölge maküladır ancak fovea santraliste damar bulunmaz. Yaklaşık 500 µm çapındaki bu bölgeye fovea avasküler zonu denir. Retina periferinde damarlar daha az sayıdadır ve ora serratada bulunmaz. Santral retinal ven, göz küresini santral retinal artere eşlik ederek terk eder. Optik sinirde ven arterin lateralinde yer alır ve direkt olarak ya kavernoöz sinüse ya da süperior oftalmik vene drene olur. Retinada herhangi bir lenf damarı bulunmaz.

#### **2.1.4. Koroid Tabakası**

Ön tarafta ora serratadan, arka tarafta optik sinir başına kadar uzanan vaskülarize, pigmente bir dokudur. Histopatolojik incelemelere göre ön tarafta ortalama 0,15 mm, arka tarafta ise ortalama 0,22 mm kalınlığa sahip olan koroid dokusu, anatomik olarak önde iris ve ortada siliyer cisim ile devamlılık gösteren üveal traktusun arka kısmını oluşturur. Koroid retinadan skleraya doğru sırasıyla Bruch membranı, koryokapillaris, orta büyüklükte koroid damarları ve büyük koroid damarlarından oluşmaktadır (16).

#### **2.1.5. Anjiogenez**

İnsanlarda damarların gelişimini sağlayan iki süreç vardır. Bunlar vaskülogenez ve anjiogenezdir ve birbirinden farklı süreçlerdir. Vaskülogenez embriyolojik dönemde damarların endotellerin öncü hücrelerinden çoğalıp damar haline gelmesi olayıdır. Bu olayda VEGF gerçek rolü oynamaktadır. Anjiogenez ise daha önce gelişmiş olan damarlardan yeni damarların gelişmesidir. Bazı fizyolojik ve patolojik durumlarda anjiogenez önemli role sahiptir. Bu patolojik durumlardan başlıcaları iskemi, inflamasyon ve tümör progresyon evreleridir (17).

Anjiogenez gerçekleşmesi için antianjiogenik ve proanjiogenik faktörlerin dengesinin bozulması gerekir. Proanjiogenik faktörlerin lehine denge bozulursa bu faktörlerin etkisiyle apoptotik yolağın elamanı olan matriks metalproteinazlar (MMP) ile vasküler yapıdaki bazal membranda yıkım meydana gelir. Daha sonra endotel hücre aktivasyonu sonrası proliferasyon, migrasyon gibi aşamalardan geçerek tüp oluşumu gerçekleşir (17). Bazal membranın tekrar oluşması ve oluşan bu tüp yapısının etrafına perisitlerin de eklenmesiyle damar oluşumu tamamlanır. Proanjiogenik faktörlerin en önemlisi ve popülerleri VEGF'tir (18).

## 2.2. DİYABETES MELLİTUS

DM, insülin sekresyonundaki defekt veya insülinin etkisine karşı oluşan direnç sonucunda ortaya çıkan metabolik bir hastalıktır (1).

### 2.2.1. Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması

-Tip I; insüline bağımlı DM: Endojen insülin salgısının çok az olması veya yokluğu ile karakterizedir. İnsülin dış kaynaklardan yerine konmalıdır (1). Beş yıl veya daha az süredir Tip I DM si olan hastalarda nadiren herhangi bir Diyabetik retinopati(DRP) bulgusu saptanır. Buna karşın, 5-10 yıllık diyabetli hastaların % 27'sinde, 10 yıldan uzun süre diyabeti olan hastaların % 71-90'ında DRP vardır. Yirmi-otuz yıldır diyabeti olanlarda ise insidans % 95'e yükselir ve bu hastaların yaklaşık % 30-50'sinde proliferatif diyabetik retinopati (PDR) bulunur (19).

-Tip II; insüline bağlı olmayan DM: Tip II DM'de insülinin etkisine karşı direnç mevcuttur. Bu direnç insülinin plazma membran reseptörüne az bağlanması ve reseptör sonrasındaki etki yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Hastalarda çoğunlukla insülin düzeyi normal sınırlar içinde olmasına karşın uyarılmış insülin salgısı yetersiz olmaktadır (20).

-İkincil DM: Ekzokrin pankreas hastalıkları (örn. pankreatit), ilaçlar (örn.glukokortikoidler), insülin etkisinde genetik defektler (örn. tip A insülin direnci),endokrinopatiler (örn. Cushing sendromu), enfeksiyonlar (örn. Konjenital rubella) gibi çeşitli nedenlere ikincil gelişen DM sebepleridir (21).

### 2.2.2. Diyabetes Mellitusun Tanı Kriterleri

Aşağıdaki kriterlerden birinin bulunması tanı için yeterlidir.

1. Açlık kan şekerinin 126 mg/dl nin üzerinde olması (En az 8 saatlik açlık sonrası)
2. DM semptomları + günün herhangi bir saatinde plazma glukoz konsantrasyonunu 200 mg/dl nin üzerinde olması
3. Oral glukoz tolerans testinde glukozun 200 mg/dl nin üzerinde olması (22).
4. HbA1c'nin %6.5 veya üstünde olması



### **2.2.3. Diyabetes Mellitusun Tedavisi**

Bütün DM olgularında tedavinin başlangıçtaki amacı, hiperglisemi sonucu gelişen semptomların giderilmesi ve komplikasyonların önlenmesidir. Kan şekeri yüksekliğinin zararlı olduğuna ait birçok klinik ve deneysel veri mevcuttur. Açlık kan şekerinin 100-140 mg/dl düzeyinde, tokluk kan şekerinin ise 100-200 mg/dl düzeyinde tutulması asıl hedef olmalıdır. DM tedavisinde diyet, oral hipoglisemik ilaçlar ve insülin kullanılır (23).

## **2.3. DİYABETİK RETİNOPATI**

### **2.3.1. Diyabetik Retinopatinin Epidemiyolojisi**

Amerikan Hastalık Kontrol Merkezi'ne göre tahminen 18.2 milyon Amerikalı'nın DM hastası olduğu bilinmektedir. Bu kişilerin % 90'ı tip II DM hastasıdır. Teşhis edilen diyabetik olguların büyük çoğunluğu orta yaşlı erişkin popülasyondadır. Tip I DM'li olgularda göz tutulumu hastalık başlangıcından 3-5 yıl sonra gözlenir. Tip II DM teşhis edildiğinde % 15 'inde daha önceden DRP mevcut olduğu görülmüştür. Bazen DRP, Tip II DM'nin başlangıç bulgusu olabilir. Bununla birlikte özellikle PDR insidansında son yıllarda iyi glisemik kontrole bağlı olarak bir azalma görülmektedir (24,25). Ülkemizde 1997-1998 yıllarında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Çalışması verilerine göre 20-80 yaş arasındaki popülasyonda diyabet sıklığı % 7,2 oranında bulunmuştur (24). Wisconsin Diyabetik Retinopati Epidemiyoloji Çalışması (WESDR)'na göre, 30 yaş altı başlangıçlı Tip I DM'si olan, retinopatisi olmayan bireylerde DRP gelişimi, 4. yılda % 59; 10. yılda % 73; 20. yılda % 97 olarak saptanmıştır (25). Otuz yaş üstü Tip I DM'si olan, başlangıçta DRP'si olmayan bireylerde, 4. yılda DRP gelişim oranı % 47 olarak saptanmıştır. On yıl içinde DRP'lerin % 34'ünde ilerleme saptanmış ve % 7'sinde ise PDR gelişmiştir. Tip II DM olan bireylerde ise, 4. yılda DRP gelişimi % 34 olarak saptanmıştır. On yıllık takipte, DRP'lerin % 25'i ilerlemiş, % 2'sinde PDR gelişmiştir. DMÖ gelişimi, başlangıç nonproliferatif diyabetik retinopati (NPDR)'de % 3, orta-ciddi NPDR'de % 38; proliferatif diyabetik retinopati (PDR)'de % 71 oranında saptanmıştır (26).

### 2.3.2. Diyabetik Retinopati İçin Risk Faktörleri

#### \*Diyabetin Süresi

Diyabetin süresi DRP gelişimi için en önemli risk faktörüdür. Diyabetin ortaya çıkışından itibaren 5 yıl içerisinde ve puberte öncesinde DRP gelişimi son derece nadir olmakla birlikte, insüline bağımlı olmayan diyabetiklerin yaklaşık %5'inin ilk muayenelerinde DRP gözlenebilir. Otuz yaşından önce diyabet tanısı konan hastalarda 10 yıl içinde DRP gelişme insidansı %50 iken, bu oran 30 yıl sonrasında ise %90'a yükselmektedir. DM'nin süresi uzadıkça DRP bulgularına rastlanma olasılığı artmaktadır (27,28).

#### \*Diyabetin Türü ve Yaş

Tip 1 DM'li hastalarda PDR, tip 2 DM'li hastalarda ise DMÖ gelişme sıklığı daha yüksektir (29).

#### \*Diyabetin İyi Metabolik Kontrolü

Metabolik durumun kontrolü DRP'yi önlemese de ortaya çıkışını geciktirmektedir. Glisemik kontrolün en önemli göstergesi glikozile hemoglobin (Hemoglobin A1c (HbA1c)) düzeyidir. Normal değer %4–6 arasındadır. Diyabet kontrolü ve komplikasyonları çalışmasında (DCCT); Tip 1 diyabetlilerde yoğun insülin tedavisi (günde üç veya daha fazla insülin injeksiyonu) ve kan glukoz düzeylerinin yakın takibi yapılarak iyi glisemik kontrol sağlanan grupla, konvansiyonel insülin tedavisi (günde bir veya iki insülin injeksiyonu) ve kan glukoz düzeylerinin yakın takibi yapılarak kontrol sağlanan grup, glisemik kontrol ve komplikasyonlar açısından karşılaştırılmış ve HbA1c yoğun tedavide %7,2 iken konvansiyonel tedavide %9,1 bulunmuştur. Bu durum yoğun tedavi ile daha iyi bir glisemik kontrol sağlandığını göstermektedir. Her %10'luk HbA1c düşüşü çalışma başlangıcında DRP'si olmayanlarda DRP gelişme riskini %39, DRP ilerleme riskini %43, çalışma başlangıcında DRP'si olanlarda ciddi derecede NPDR gelişme riskini %26 azalttığını göstermiştir. Sonuç olarak yoğun insülin tedavisi ile DRP gelişiminin azaldığı veya DRP'nin ilerlemesinin yavaşladığı gösterilmiştir. Kötü metabolik kontrollü hastalar ise DRP geliştirmeye daha yatkın bulunmuşlardır (30). Amerikan Diyabet Cemiyeti,

HbA1c nin %7' nin altında, açlık kan glukoz düzeyinin de 110 mg/dl'nin altında olmasını önermektedir (31).

#### \*Hipertansiyon

Hipertansiyon hem tip 1, hem de tip 2 diyabet hastaları açısından bağımsız, önemli bir risk faktörüdür. DRP'nin progresyonunda ve DMÖ insidansında yükselmenin, yüksek diyastolik basınçla ilgili olduğu bilinmektedir. Özellikle kontrolsüz hipertansiyon varlığı, DRP'nin hızlı ilerleyişi ve PDR gelişimi ile ilişkili bulunmuştur. Önerilen kan basıncı düzeyi 130/85 mmHg'nin altıdır (32,33).

WESDR çalışmasında diyastolik kan basıncı DRP'nin ciddiyeti ile ilişkilidir ve sıkı kan basıncı kontrolü sağlanan diyabetiklerde retinopati ilerlemesinin ve diyabetle ilişkili komplikasyonların anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (33,34).

#### \*Gebelik

Gebeliğe retinopatisiz başlayan kadınlarda, NPDR gelişim riski %10'dur. Gebelik başlangıcında NPDR'si olan sistemik hipertansiyonu olan veya gelişenler artmış hemoraji, atılmış pamuk tarzında eksüda ve maküla ödemiyle ilerleme göstermektedir (35).

#### \*Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati, DRP'nin ilerlemesini hızlandırabilmektedir. Yüksek kan üre nitrojeni (BUN), kan kreatinini ve proteinüri DRP'nin bir öngörücüsüdür. Mikroalbuminüri olan hastalar dahi DRP gelişimi açısından risk altındadır. Benzer şekilde DRP'si olan hastaların %35'inde yüksek BUN, kan kreatinini ve proteinüri saptanmıştır (36,37).

#### \*Dislipidemi

Hiperlipidemi DRP için risk faktörüdür. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study (ETDRS) ve WESDR çalışmalarında insülin kullanan DM'li hastalarda kolesterol düzeyindeki artış ile sert eksudanın sıklığında ve DRP'nin ciddiyetinde artış gösterilmiştir (38).

#### \*Anemi

Anemi, diyabetik retinopati için artmış risk ile ilişkilidir (39).

#### \*Sigara

Bazı çalışmalar sigara kullananlarda sigaranın retinopati riskini artıran etkisinin istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğunu ve sigara içen toplumda %10 oranında görüldüğünü bildirirken, bazıları ise sigara-retinopati ilişkisinin çok kesin olmadığını bildirmiştir (40,41).

#### \*Alkol

DRP’de etkisiz bulunurken, Howard ve arkadaşları günde üç kadehten fazla alkol tüketiminin DRP riskini artırdığını bildirmişlerdir (42).

#### \*Puberte

IGF (insülin-like growth factor) yüksekliği erken DRP’ye neden olur (43).

#### \*Genetik faktörler

Siyah ırk, Amerika yerlileri ve Latin Amerikalılarda DRP prevalansı yüksektir (44).

### **2.3.3. Diyabetik Retinopatinin Patogenezi**

DRP, retinanın prekapiller arteriyol, kapiller ve venüllerini etkileyen bir mikroanjiopatidir. Bugün için mikrovasküler hastalığın nedeni tam olarak bilinmemektedir. Gerek DRP gerekse diğer komplikasyonlara yol açan etkenin kronik hiperglisemi olduğu sanılmaktadır. Uzun süreli hiperglisemide retinada aldoz redüktaz enzim yolu (sorbitol yolu) veya proteinlerin enzimatik olmayan glikozilasyonu gibi metabolik anomaliler oluşmaktadır (45,46).

Diyabetik retinadaki metabolik anomaliler sonucunda şu patolojik değişiklikler ortaya çıkmaktadır;

- 1- Kapiller endotelyal bazal membran kalınlaşması,
- 2- Kapiller endotel perisit hücre hasarı ve endotelyal proliferasyon

- 3- Defektif oksijen transportu
- 4- Trombosit fonksiyon bozukluğu (agregasyon ve adezyon artışı)
- 5- Eritrositlerde rulo formasyonu, lökositlerde agregasyon

Gerek damar yapısında, gerekse kan hücrelerindeki değişiklikler ve diyabetiklerde kan vizkozitesindeki artış sonucunda retinada, “fokal intraretinal kapiller tikanıklıklar” ile “vasküler permeabilite artışı ve sızıntılar” ortaya çıkar (47). Hipoksik retinanın cevabı iki türlü olur; birinci cevap beslenemeyen alanları kanlandırmak için normalde bulunmayan kollateral damarlar oluşturmak, ikinci cevabı ise hipoksik retinadan açığa çıkan maddelerin yeni damar oluşumunu başlatmasıdır. Patogeneze sorumlu faktörler retina damarlarından, retina pigment epitelinden ve retinanın kendisinden salınırlar. Bilinen faktörlerin en önemlisi VEGF’dir (48). Yapılan araştırmalarda PDR’li hastaların vitreusunda VEGF, NPDR’li hastaların vitreusuna göre anlamlı oranda yüksek bulunmuştur. Diğer faktörler IGF-I, IGF-II ve Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)’dür (49).

### **2.3.3.1. VEGF Ailesi**

VEGF 1980’ li yıllarda keşfedilmiş olup endotele özgü olduğu ve glikoprotein yapıda olduğu bulunmuştur. 45 KD büyüklüğünde olup VEGF ait gen kromozom 6p21.3 üzerinde yer almaktadır (50). VEGF damar oluşumunda önemli göreve sahiptir. Endotele ait fizyolojik veya fizyopatolojik birçok olayda da önemli görevlere sahiptir.

VEGF ailesi VEGF A (en önemlisi), VEGF B, VEGF C, VEGF D, VEGF E, VEGF F ve plasental büyüme faktöründen oluşur. Bu proteinler anjiyogenez, lenfanjiyogenez ve vasküler permeabilitenin düzenlenmesinde rol oynar. VEGF ailesinin içinde en iyi bilinen ve oküler neovaskülarizasyonda primer rol oynayan faktör VEGF A’dır. VEGF A’nın 9 izoformu mevcuttur. Bunlar; VEGF121, VEGF145, VEGF 148, VEGF 162, VEGF 165, VEGF 165b, VEGF 183, VEGF 189, VEGF 206’dır. Bu izoformların çoğunun heparini bağlama afinitesi mevcuttur (6). Bu izoformlardan VEGF 165b, VEGFR-2’ ye bağlanarak endojen inhibitör rol oynar. VEGF 121 ise heparine bağlanmaz. VEGF A’nın izoformları plazmin gibi proteolitik enzimler aracılığıyla heparinden ayrılır.

VEGF gen ekspresyonu hipoksi, büyüme faktörleri ve nitrik oksit tarafından stimüle edilebilir. Bu sentezde anahtar rol oynayan hipoksinin indüklediği faktör 1'dir (Hif-1). Hipoksik durumlarda Hif-1 sentezi artar, hidroksilasyonu baskılar ve yıkımı azaltır. Böylece VEGF A gen transkripsiyonu artar (51). VEGF A, anjiyogenezis ve vasküler permeabiliteyi artırma etkisinin yanında, normal fizyolojik fonksiyonlarda da görev alabilir. Menstrüel siklus, saç büyümesi ve yara iyileşmesi bunlardan birkaçıdır. Ayrıca damar endotelinin apoptozise gitmesini önler. VEGF A dimerik glikoprotein yapısındadır. Etkisini 2 tane tirozin kinaz reseptörüne bağlanarak gösterir. Bu reseptörler VEGFR-1 ve VEGFR-2 dir. (52) Bu reseptörler primer olarak endotel hücrelerinde lokalizedir. Fakat son zamanlarda yapılan çalışmalarda, vücutta başka dokularda da bu reseptörler bulunmuş olup, üçüncü bir reseptör neuropilin-1 dir (53).

VEGF salınımına bağlı olarak meydana gelen oküler neovaskülarizasyonda hipoksi anahtar role sahiptir. İn vitro ve in vivo yapılan çalışmalarda hipoksiye bağlı olarak VEGF A düzeyi retina hücreleri (gangliyon hücreleri, Müller hücreleri ve pigment epitel hücreleri), vitreus ve aköz hümör de yüksek ölçülmüştür (53). Diyabete bağlı gelişen maküler ödem yüksek VEGF A düzeyleriyle ilişkilidir. Çeşitli faktörler aracılığıyla VEGF A damar duvarında sızıntıya neden olur. Bunlar; lökosit aracılı endotelial hasar, fenestrasyon oluşumu, endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarda bozulma ve hücreler arası toplu akıştır. Kan retina bariyerinin bozulması için gereken VEGF A miktar ve süresi, neovaskülarizasyon oluşmasına göre daha azdır. Vasküler permeabilitenin artması neovaskülarizasyon için bir önceki basamak olabilir (54). Diyabetik retinopatide enflamasyon da önemli role sahiptir. VEGF A proenflamatuvar özellik gösterir. Fakat mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. VEGF A T-hücre kemoatraktan kemokin interferon gama sentezini artırabilir (53).

### **2.3.3.2. Kaspaz Ailesi ve Kaspaz 3**

Proteini, aspartat aminoasidinden sonra kesen, aktif merkezinde sistein bulunan proteazlar ailesidir. Bu kesme işlemi proteinin aktivasyon veya inaktivasyonuna neden olabilir. Kaspazlar zimojen olarak salınırlar. Tüm kaspazların yapısında büyük (p10) ve küçük (p20) katalitik üniteleri vardır. N-terminal bölgesi kaspazdan kaspaza değişiklik göstermektedir. Buna bağlı olarak uzun N-terminal ön bölgesi bulunanlar

başlatıcı, kısa N-terminal ön bölgesi bulunanlar sonlandırıcı kaspaz olarak ayrılırlar. Memelilerde yaklaşık 14 kaspaz tanımlanmıştır. Kaspaz 1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 11, 12, 13 başlatıcı kaspazlar olup, uzun N-terminal bölgesi içerirler. Bu uzun N-terminal bölgelerinde kaspaz aktive edici toplayıcı bölge (CARD) veya ölümü etkileyen bölgeleri (DED) mevcuttur (55).

Kaspaz 3, 6, 7, 14 sonlandırıcı kaspazlar olup kısa N-terminal bölgesi içerirler. Başlatıcı kaspazlardan; kaspaz 1, 2, 4, 5, 9, 11, 12, 13 CARD bölgesi, kaspaz-8, 10 ise DED bölgesi içermektedir. Kaspaz 3, 6, 7, 14 ise CARD veya DED bölgesi içermemektedir.

Uzun N-terminal ön bölgesi protein-protein ilişkisi için zemin hazırlar. Bu sayede aktive edici protein kompleksi oluşabilir (7). Kaspaz 8 ve kaspaz 10, ölüm indükleyici sinyal kompleksi (DISC) içinde aktive olur. Kaspaz 9'un aktivasyon kompleksi apoptozom olarak adlandırılır. Kaspaz 2 hakkında fazla veri yoktur. Sonlandırıcı kaspazlar 2 basamakta aktive olurlar. DISC ile aktive olmuş başlatıcı kaspaz 8 veya apoptozom ile aktive olmuş başlatıcı kaspaz 9; sonlandırıcı kaspaz 3'ten proteoliz ile küçük alt ünitenin ayrılmasına ve böylece aktivasyonuna neden olur. Bu otokatalitik aktivasyon basamağı hücrel kaspaz inhibitörleri (IAPS, XIAP) ile engellenebilir. En iyi karakterize edilmiş olanı olan XIAP; inhibitör etkili ön bölgenin kaspazdan ayrılmasını bloklayarak kaspaz 3 aktivasyonunu engelleyebilir. Başlatıcı kaspaz aktive olsa da, apoptoz sonlandırıcı kaspazların aktivasyonunu sağlayan proteoliz sırasında bu inhibitörler ile durdurulabilir (56). Kaspaz 1, 4, 5, 11, 12, 14 apoptoz dışında göreve sahiptir. Kaspaz 1, 4, 5 proenflamatuvar sitokinlerin salınımında görevlidir. Örneğin; Kaspaz 14 keratinosit matürasyonunda görevlidir (57).

Ekstresek yolak ve intrinsek yolak olmak üzere 2 temel apoptoz yolağı mevcuttur. Ekstresek yolak TNF alfanın CD95 ligandına bağlanarak başlar. Bu yolak kaspaz 8, 10 üzerinden kaspaz 3'ü aktifleştirir. İntresek yolakta ise kaspaz 9 önemlidir. Kaspaz aktivitesinin indüklenmesi; sitoskeletal ve nükleer proteinlerin parçalanmasında önemli rol oynar. Kaspazların indüklediği endonükleaz aktivitesi, çift sarmal DNA fragmanlarının oluşmasını ve elektroforezde DNA'da merdiven görüntüsünün ortaya çıkmasına neden olur (58).

#### **2.3.4. Diyabetik Retinopatinin Sınıflandırılması**

Sınıflandırma intra ve preretinal mikrovasküler değişikliklere göre yapılmaktadır. Kabaca NPDR ve PDR diye ikiye ayrılmaktadır. NPDR sadece retinada mikrovasküler değişiklikleri içerirken, PDR retina yüzeyinden vitreus boşluğuna doğru yeni damarlanmaları içerir (59). NPDR’de görülen klinik bulgular mikroanevrizma, yuvarlak şekilli hemorajiler, mum alevi şeklindeki mikrohemorajiler, sert eksudalardır. Mikroanevrizma, DRP’ nin ilk bulgusudur ve en çok arka kutupda bulunur. Mikroanevrizmaların boyutları 15-60 µm arasındadır. Bozulmuş vasküler geçirgenlik maküla ödemi ve sert eksudaların birikimine sebep olur. Sert eksudalar, lipid depozitleri olup retinanın dış pleksiform tabakasında birikir. Klinik olarak sert eksudalar sarı görünümlüdür ve intraretinal depositler olarak kolayca tanımlanır. Sert eksudaların birikimi iç kan-retina bariyerinde bir hasarla ilişkili olabilir (endotelyal sıkı bağlantıların bozulması). İntraretinal lipid birikim yoğunluğu serum lipid düzeyi ile ilişkili olabilir (59). Yumuşak eksudalar ise atılmış pamuk görünümündedir. Sinir liflerindeki küçük infarktları gösterir. Arteriolar tıkanma veya staz sonucu oluşurlar. DRP’nin ciddi bir sonucu retinal kapillerlerin tıkanması ve sonuçta nonperfüze retinal alanlara sebep olabilmesidir. İskemik alanların varlığı retinal iskemi, intraretinal hemorajiler, intraretinal mikrovasküler anomaliler (İRMA) ve venöz kanamalarla ilişkilidir.

PDR, şiddetli NPDR’de görülen kapiller tıkanıklık ve retinadaki hipoksiyi kompanse etmek için ortaya çıktığı düşünülen optik disk, retina ve/veya irisin neovaskülarizasyonudur. Yeni damarlar retina düzlemine dik şekilde vitreusa doğru tipik olarak perfüzyon ve nonperfüzyon sınırındaki venüllerden oluşurlar. PDR, yara iyileşmesinde olduğu gibi önce anjiyogenez ile başlar. Sonra fibröz dokunun yer aldığı yaranın yeniden şekillenmesi ortaya çıkar ve sonuçta vasküler doku kollajen dokusu ile yer değiştirir. Tedavi edilmemiş PDR fibrozis ve neovaskülarizasyon üzerinde traksiyonların oluşumuyla sonuçlanır. Kontraksiyona bağlı preretinal hemoraji, intravitreal hemoraji ve traksiyonel retina dekolmanı gelişebilir. Panretinal LFK, iyileşme sürecini modifiye ederek neovasküler proliferasyonu ve fibrotik elemanların oluşumunu azaltır (60).



NPDR hafif, orta, şiddetli ve çok şiddetli olarak dört dereceye ayrılır. NPDR'nin şiddetini belirleyen faktörler; intraretinal hemoraji ve mikroanevrizma yoğunluğu, İRMA ve midperiferal kadradaki venöz boğumlanmadır. Sınıflandırmadaki problemlerden bir tanesi İRMA ve venöz boğumlanmanın klinik muayenede tanımlanma güçlüğüdür. Bunlar, Fundus Floresein Anjiografi (FFA) ile kolayca tanımlanabilir (59). İlerlemiş NPDR'si olan olguların % 50,2'si bir yıl içinde PDR'ye dönüşebilir ve % 14,6'sı da yüksek riskli PDR karakteristiği gösterir. Çok şiddetli NPDR olan olguların % 45'inde yüksek riskli PDR gelişebilir (21).

1. Retinopati yok: Retina normal görünümde.

2. Hafif NPDR: Seyrek mikroanevrizma ve/veya mikrohemoraji

3. Orta Evre NPDR: Yaygın retinal hemorajiler ve/veya mikroanevrizma, iki kadrandan az venöz boncuklanma, yumuşak eksuda, hafif İRMA

4. İleri Evre NPDR:

A. Şiddetli NPDR: 4-2-1 kuralına göre aşağıdaki özelliklerden herhangi birinin olmasıdır.

4 kadranda yoğun retinal hemoraji

2 veya daha fazla kadranda venöz boncuklanma

1 veya daha fazla kadranda İRMA

B. Çok şiddetli NPDR: Bu özelliklerin birden fazlasının olması.

5.PDR:

A. Erken PDR: Retinal neovaskülarizasyon (NV) veya 1/4-1/3 disk çapından küçük veya eşit optik disk neovaskülarizasyonu (NVD)

B. Yüksek riskli PDR: Aşağıdaki özelliklerden herhangi birisinin olması

- 1/4-1/3 disk çapından daha büyük NVD
- 1/4-1/3 disk çapından küçük veya eşit NVD ile birlikte preretinal hemoraji veya vitreus hemorajisi (VH)
- Retinal NV ile birlikte preretinal hemoraji veya VH (61)

### 2.3.5. Diyabetik Maküla Ödemi

Diyabetik makulopati, NDRP'de en büyük görme kaybı nedeni iken, tüm DRP'lilerde vitreus hemorajisi ile birlikte en sık görme kaybı nedenidir. Tüm diyabetik hastaların %10'unda maküla ödemi vardır ve bu olguların %40'ında maküla merkezi tutulur. Maküla ödemi nonproliferatif DRP'de %3, preproliferatif DRP ve erken proliferatif retinopati evresinde %38, proliferatif DRP aşamasında %71 oranında bildirilmiştir (62).

Diyabetik makulopati aşağıda belirtilen formlarda gelişir (63):

\*Lipid birikintisiyle birlikte ya da lipid olmaksızın makülada sıvı birikimi.

\*İntraretinal sıvı birikimiyle birlikte ya da sıvı olmaksızın kapiller nonperfüzyon

\*Makülada fibröz traksiyonun yol açtığı retina kırışıklıkları

\*Retina hemorajileri

\*Maküla deliği

\*Bunların kombinasyonları

DMÖ'nün 3 farklı klinik şekli vardır:

- I. Diffüz ödem
- II. Fokal ödem

### III. Mikst tip ödem

#### **2.3.5.1. Diffüz Diyabetik Maküla Ödemi:**

Maküla merkezini, yani foveal avasküler zonuda içine alan, iki ya da daha fazla disk çapı büyüklükteki retina kalınlaşması diffüz DMÖ olarak tanımlanır. Diffüz DMÖ, kontrolsüz hiperglisemi, renal yetmezlik ya da yüksek diyastolik kan basıncı gibi sistemik faktörlerle yakından ilişkilidir. Diffüz ödem gelişiminde iç kan-retina bariyerindeki yaygın bir bozukluğun yanı sıra, retina pigment epiteli bariyer ve pompa fonksiyonlarındaki bir anomalinin; yani dış kan-retina bariyerindeki bir bozukluğun da katkısı olduğu sanılmaktadır. Bu tür ödemde sızıntıların kaynağı, mikroanevrizmalara ek olarak, retina içine diffüz olarak sızıntı yapan genişlemiş retina kapillerleri ve arteriyoller ile İRMA'lardır (64). Diffüz DMÖ'yü fokal ödemden ayıran önemli özellik, kan-retina bariyerindeki seçici difüzyon anomalisinin, dolaşımdaki lipoprotein gibi büyük moleküllerin geçişine izin vermemesi nedeniyle, sert eksuda birikintilerinin bu tür ödemde nadiren ortaya çıkmasıdır (63). Diffüz ödemin diğer bir özelliği, makülada çoğu kez kistoid değişikliklerin varlığıdır. Farklı özelliklerinden birisi de, erken faz anjiogramda retina kapiller yatağının görünürlüğünün artmış olmasıdır. Anjiogramda tıkalı kapillerlerin yanı sıra, bu alanlara komşu dilate kapillerler de belirginleşmiş olarak görünürler. Diffüz ödemde kendiliğinden gerileme ihtimali hemen hiç yoktur (63,64).

#### **2.3.5.2. Fokal Diyabetik Maküla Ödemi:**

Maküla merkezinden itibaren bir disk çapı (1500 mikron) uzaklıktaki bir alanda yer alan, herhangi bir retina kalınlaşması ya da sert eksuda oluşumları fokal DMÖ olarak adlandırılır. Başlıca mikroanevrizmalardan ve İRMA'dan kaynaklanır; yani iç kan-retina bariyerinin yıkılması sonucu ortaya çıkar (65). Klinik uygulamada fokal bir ödemin şiddetini belirlemek ve tedavi kriterlerini daha kolay saptayabilmek amacıyla, ilk kez 1987 yılında ETDRS tarafından KAMÖ terimi tanımlanmıştır. KAMÖ, görme kaybı tehdidi taşıyan maküla ödemidir. Fokal tipteki bir diyabetik maküla ödeminin, KAMÖ olarak kabul edilebilmesi için, aşağıdaki 3 ödem türünden birine uyması gerekir:

1-FAZ merkezinde ya da 500 mikron çevresinde retina kalınlaşması.

2-FAZ merkezinde ya da 500 mikron çevresinde, bitişiğindeki retinanın kalınlaşmasıyla birlikte olan sert eksudalar.

3-Herhangi bir bölümü, FAZ merkezinden bir disk çapı uzaklıktaki bir alanda yerleşmiş, bir disk çapı ya da daha büyük retina kalınlaşması (62,65).

### **2.3.6. Diyabetik Maküla Ödemi Tedavisi**

Günümüzde maküla ödemi tedavilerinin etkinliğini artırmak için bazı tedbirlerin alınmasının yararlı olduğu bilinmektedir. Tedavi öncesinde kan şekeri regüle edilmeli, HbA1c seviyesi normale düşürülmelidir (66). Yoğun sert eksudalarla gelişen eksudatif makülopatilerde kan lipid seviyesini düşürmek progresyonu yavaşlatacağı gibi, bu tedavinin LFK ile kombinasyonu daha iyi sonuçlar vermektedir (67-69). Diffüz MÖ'lü olgularda gerekli sistemik kontroller sağlanmadan yapılacak LFK tedavisi yeterli gelmeyebilir (70).

#### **2.3.6.1. Fotokoagülasyon Tedavisi:**

KAMÖ tanısı konduğunda LFK tedavisine başlanmalıdır. Maküla merkezinin tehdit edilmediği DMÖ'de fotokoagülasyonun kontrol grubuna üstünlüğü gösterilememiştir. Bu olgularda yakın takip gerekir (71). KAMÖ'de, maküla merkezinin tehdit altında olduğu olgularda ve diffüz maküla ödeminde LFK endikasyonu vardır. Eğer yüksek risk karakteri göstermeyen DRP, KAMÖ ile birlikte ise grid veya fokal tedavi ile başlamalı, 6 hafta sonra periferik LFK yapılmalıdır. Eğer yüksek risk karakterli DRP varsa makülaya LFK uygulanmalı, aynı seansta nazal kadrandan başlayarak periferik tedaviye geçilmelidir. Çünkü periferik tedaviler makülopatiyi şiddetlendirir.

#### **2.3.6.2. Cerrahi Tedavi**

Eksudatif makülopati ile seyreden olgularda, en ideal tedavi protokollerinden sonra dahi sert eksudaların kaybolmadığı görülmüştür. LFK tedavisinden ortalama 6 hafta sonra makülada sıvı rezorbe olurken, sert eksuda miktarında artış görülebilmektedir (70). Refrakter olgularda eksudatif makülopati tedavisinde üç ayrı cerrahi müdahale modelinden bahsedilmiştir:

1- Maküladaki sert eksudaların cerrahi eksizyonu denenmiş (49,72); fakat destekleyici yayınlar ortaya çıkmamıştır.

2- Kalınlaşmış posterior hyaloid membranın gerek sıvı akışını engellemedeki rolü, gerek makülaya uyguladığı traksiyon, gerek LFK başarısını engellediği düşüncesi ile vitrektomi ve posterior hyaloid soyulması ameliyatları uygulanmıştır. Bu operasyonlar sonucunda görmede artış olmasa bile sert eksudaların kaybolduğunu söyleyenlerin yanı sıra, görmenin arttığını bildiren yayınlar da vardır (73,74). Operasyonun kistoid MÖ'de dahi etkili olduğunu, ayrıca sadece vitreo-retinal separasyonun sağlanmasının bile DMÖ'nün spontan rezorpsiyonunu sağlayacağını bildiren yayınlar mevcuttur (75).

3- Son cerrahi müdahale modeli hyaloid membran ile birlikte internal limitan membranın da soyulmasıdır. Bu araştırma 12 gözde gerçekleştirilmiştir. On altı aylık takiple MÖ'de artış ve epiretinal membran izlenmemiştir. Traksiyon güçlerinin serbestleştirilmesi ve fibröz astrositlerin proliferasyonunun engellenmesinin bu başarıyı sağladığı ileri sürülmüştür (76)

### **2.3.6.3. Medikal Tedavi**

DMÖ tedavisi üzerindeki çalışmalar 1990'lardan sonra nonenzimatik glikozilasyon, büyüme faktörleri, protein kinaz C inhibitörleri üzerine yönelmiştir. Günümüzde ise intravitreal anti-VEGF ve steroid uygulamaları büyük merak uyandırmıştır.

A) VEGF İnhibitörleri: 3 preparat üzerinde yoğun çalışmalar yapılmıştır. Pegabtanib sodium( Macugen; Eyetech Pharmaceuticals Inc, New York and Pfizer Inc, New York, US) yeterli desteği çalışmalardan alamadı. Ranibizumab(Lucentis; Genentech Inc, South San Francisco, CA, US) VEGF'in bütün izoformları için spesifik bir rekombinant insan monoklonal antikor fragmanıdır. DMÖ'lü hastalarda yapılan bir pilot çalışmada Lucentis ile tedavi edilen hastalarda görme keskinliğinde artma ve retinal kalınlıkta azalma tespit edilmiştir (77). Bevacizumab (Avastin; Genentech, South San Francisco, CA, US/ Altuzan; Roche, San Francisco, ABD) VEGF'in tüm izoformlarına karşı etkili insan monoklonal antikorudur. Diyabete sekonder iris ve/veya retinal neovaskülarizasyonu bulunan 32 hastanın 45 gözünde yapılan bir çalışmada intravitreal Avastin enjeksiyonu yapılan hastalarda retinal ve iris

neovaskularizasyonunda hızlı gerileme tespit edilmiştir (78).

## B) Sistemik Faktörlerin Kontrolü:

### a) Glisemik Kontrol:

Metabolik durumun kontrolü, diyabetin mikrovasküler komplikasyonlarının önlenmesinde mutlak gereklidir. Glisemik kontrolün en önemli göstergelerinden birisi HbA1c'dir. Normal değer %3-6 arasındadır (79). United Kingdom Prospective Diabetes Study Group (UKPDS) ise tip 2 diyabette, sıkı glisemi kontrolünün, yeni tanı almış 5102 hastada, retinopati olasılığını belirgin şekilde azalttığını göstermiştir (80,81). UKPDS'de her % 1'lik HbA1c düşüşü ile mikrovasküler komplikasyonların %35 oranında azaldığı ortaya konulmuştur. Amerikan Diyabet Cemiyeti, HbA1c'nin % 7'nin altında, açlık kan glukoz düzeyinin de 110 mg/dl'nin altında olmasını önermektedir (80).

### b) Kan Basıncı Kontrolü:

DRP'nin progresyonunda ve DMÖ insidansında yükselmenin yüksek diastolik basınçla ilgili olduğu bilinmektedir (81). Önerilen, kan basıncı düzeyi 130/85 mmHg'nin altıdır.

### c) Dislipidemik Kontrol

ETDRS çalışmasında , total kolesterol seviyesi 240 mg/dl'nin üzerinde olan hastalarda, sert eksuda görülme olasılığı 200 mg/dl 'nin altında total kolesterol düzeyi olan hastalara göre 2 kat daha fazladır (79).

## 2.4. KORNEA ANATOMİSİ

Kornea, göz küresinin en ön bölümünde yer alan ve yaklaşık olarak 1/6' sını oluşturan saydam damardan yoksun bir tabakadır. Kornea 360 derece posteriora ışığa geçirgen olmayan sklera ile devam eder ve yarı saydam damardan zengin konjonktiva ise sklerayı örterek kornea ile komşuluk yapar. Korneanın ön yüzeyini gözyaşı film tabakası kaplarken, göz içinde ise aköz hümör ile sürekli temas halindedir (82).

Erişkinlerde korneanın ortalama ölçülen yatay çapı 12,6 mm olup ortalama dikey çapı ise 11,7 mm dir. Ön yüzeyin ortalama eğrilik yarıçapı 7,8 mm' dir. Yenidoğanlarda ise kornea çapı yaklaşık 10 mm olup 6 yaşına doğru kornea erişkin boyutlarına erişmektedir (83). Kornea ön yüzeyinin kırıcılığı 48 dioptridir. Arka yüzeyinin kırıcılığı ise -5,8 dioptri, net kırma gücü ise 43 dioptridir. Kornea kalınlığı merkezde en ince ve yaklaşık 0,52 mm olup periferde gidildikçe kalınlaşarak yaklaşık 0,65 mm'ye ulaşır. Kornea anatomik olarak 5 tabakadan oluşur: Epitel, bowman tabakası, stroma, descemet membranı ve endotel (84).

### 2.4.1. Epitel Tabakası

Epitel birçok fonksiyona sahip olup korneanın en yüzeyindeki tabakasıdır. Bariyer oluşturmak, saydam ve düzgün bir optik yüzey oluşturmak bu fonksiyonlardan bazılarıdır. Non-keratinize 5-6 kat hücre tabakasından oluşmaktadır. Epitel korneanın kalınlığının yaklaşık %10' unu oluşturmaktadır ve 3 tip hücre içermektedir:

- 1- Yüzeysel hücre
- 2- Poligonal kanat hücre
- 3- Bazal kolumnar hücre

Yüzeysel hücreler mikrovillus ve plikalara sahip hücrelerdir. Yüzeyslerinde mikrokalik tabaka içerirler ve bu tabakanın görevi de gözyaşı tabakasının kornea yüzeyine tutunmasını sağlamaktır. Yüzeysel hücreler aralarındaki sıkı bağlantılar sayesinde epitel tabakasının bariyer fonksiyonunu üstlenirler. Yüzeysel hücreler birkaç

gün içinde görevlerini tamamladıklarında gözyaşının içine dökülürler.

Kolumnar bazal hücreler tek sıra şeklinde bazal membran üzerinde yer alırlar. Bu hücreler mitotik aktiviteye sahiptir. Çoğalırlar ve kornea içinde öne doğru ilerleyip kanatsız hücreleri oluşturlar. Kolumnar hücreler aktin filamanlar ve tonofilamanlara sahiptir. Tonofilamanların görevi hücre iskeletini korumaktır. Aktin filamanların görevi ise yara iyileşmesi sırasında hücre göçünde rol alır (85).

Kolumnar bazal hücreler epitel tabakasının tek çoğalma yeteneğine sahip hücreleridir. Bazal hücreler yanlarındaki sıkı bağlantılarla birbirleriyle bağlı iken alt taraflarındaki hemidesmozomlar ile de bazal membrana sıkıca tutunurlar. Bazal hücrelerin mitoz bölünerek çoğalmasıyla oluşan yeni hücreler önce kanat daha sonra da yüzeysel hücrelere transforme olurlar. Bu hücre turnover'i yaklaşık 7-14 gün sürer. Epitel hücrelerinin altında bazal membran yer alır. Epitel hücrelerinin hasarı durumunda korneada kalıcı iz oluşmaz, bu da yenilenme yeteneklerinin çok fazla olmasına bağlıdır. Sağlıklı bir kornea yüzeyi için gerekli olan epitelyal kök hücreler, alt ve üst limbusta daha çok yer almaktadır. Bu hücreler büyük olasılıkla Vogt pallasadlarının içinde yer almaktadırlar. Bu kök hücreler aynı zamanda bir bariyer fonksiyonu ile konjonktiva dokusunun kornea üzerine ilerlemesine engel olmaktadır (5). Kornea epitelinde solubl vasküler endotelial büyüme faktörü (sVEGF) adı verilen vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGF-A) reseptörü vardır.

#### **2.4.2. Bowman Tabakası**

Bowman tabakası yaklaşık 15 um kalınlığındadır ve kollajen tip I, III ve V liflerinden ve epitelyum-stroma etkileşimine aracılık eden diğer hücresel bileşenlerden oluşur (86). Gelişim sırasında, hem epitel hücreleri hem de keratositler tarafından ardışık olarak bulunur (87). Stromaya mikrobiyal invazyonu önlemek için biyolojik bir bariyer oluşturur. Aynı zamanda keratositlerin stromadan yayılmasını da önleyebilir (88). Yaralandığında rejenere olmaz ve bir skar oluşturabilir.

#### **2.4.3. Stroma Tabakası**

Kornea kalınlığının yaklaşık %90' ını oluşturur ve ortalama kalınlığı 500 µm'dir. Kollajen fibrillerden oluşmaktadır ve birbirine paralel dizilen bu fibriller



mukopolisakkaritler ile lameller tarzda birbirinden ayrılırlar. Bu paralel yapılanma korneanın şeffaflığını sağlamaktadır (89).

#### **2.4.4. Dua Tabakası**

Dua ve arkadaşlarının 2013 yılında tanımladığı descemet membranının üzerinde uzanan bir tabakadır. Korneanın stroma ve descemet katları arasında  $10.15 \pm 3,6 \mu\text{m}$  kalınlığında oldukça sert bir yapıdır. 1-1.5 barlık bir basınca dayanabilecek güçte bir membransı yapı şeklinde organize olmuştur. Asellüler bir tabaka olup tip 1 kollajen demetlerinin uzunlamasına, transvers ve oblik planda yerleşmesiyle oluşan lamellalar içermektedir (90).

#### **2.4.4. Descemet Membranı**

Yetişkinlerde ortalama  $10 \mu$  kalınlığında olup yeni doğanda ise  $3 \mu$  kalınlığındadır. Stroma ile endoteli birbirinden ayırır ve endotel için bazal membran görevi üstlenir. Limbusta sonlanarak Schwalbe hattını oluşturur. İki kısımdan oluşmaktadır, ön taraf intrauterin birikerek gelişmiştir ve kollajenlerden oluşur. Endotele komşu olan taraf ise elastik yapıdadır ve endotel tarafından sentezlenmektedir (89).

#### **2.4.5. Endotel Tabakası**

Tek sıralı hegzagonal şekilli hücrelerden oluşmaktadır. Korneanın beslenmesinde ve saydamlığının korunmasında çok önemli göreve sahiptir. Aktif pompa aktivitesine sahip olup stroma içindeki fazla sıvıyı dışarı pompalar. Hücreler yaklaşık  $5 \mu$  kalınlığında,  $20 \mu$  genişliğindedirler. Çoğalma kabiliyeti olmayıp yaşla birlikte azalmaktadır (89).

#### **2.4.6. Korneanın İnnervasyonu**

Kornea çok yoğun duysal innervasyona sahiptir. Ciltten bile yaklaşık 300 kat fazladır. Duysal innervasyonu 5. Kranial sinirin (trigeminal sinir) 1. Dalı (oftalmik dalı) ile alınır. Limbus etrafında uzun silyer sinir sinir halkasını oluşturduktan sonra periferik stromaya miyelinli olarak giriş yapar. Bir süre sonra miyelinini kaybederek öne doğru ilerleyip Bowman tabakasını geçerek epitel içinde kanat hücreleri seviyesinde serbest sinir sonlanmaları olarak sonlanır (89).

#### **2.4.7. Korneanın Beslenmesi**

Korneanın metabolik olarak en aktif tabakaları endotal ve epitel hücreleridir. Bu iki yapı korneanın beslenmesi ve dehidratasyonu için yüksek metabolizmaya sahiptirler. Enerji olarak glukozu kullanırlar. Oksijen bağımlı glikoliz için gerekli oksijeni gözyaşı aracılığıyla alırken glukozu ise aköz hümörden sağlamaktadır. Kornea beslenmesi için gerekli glukoz, aminoasit, vitamin ve besin ihtiyaçlarını limbus kaynaklı damarlar ve endotelden aktif transport veya difüzyon ile sağlamaktadır. Metabolik son ürünler ve karbondioksit de benzer yollar ile atılır (82,89).

### **2.5. KETOJENİK DİYET**

Ketojenik diyet, yüksek yağ, yeterince protein ve düşük karbonhidratlı bir diyettir. Yağların kullanılması kanda keton cisimciklerinin açığa çıkmasına yol açar. Ketojenik diyetler, yaklaşık yüz yıla yakın zamandır epilepsi tedavisi için kullanılmaktayken, son yirmi yılda obezite, diyabet ve performans geliştirme alanlarında da bu diyetlerin kullanımları gittikçe artan bir popülerlik kazanmaktadır (91).

#### **2.5.1. Ketojenik Diyet Tarihçesi**

Açlık ve diğer diyet tedavileri epilepsi tedavisinde MÖ 500'den beri kullanılmaktadır. Ayrıca açlık, Hipokrat'ın epilepsi tedavisi için kaydedilen tek tedavi yöntemidir (92,93). Açlık metabolizmasını taklit ederek 1920'lerde epilepsi tedavisi için KD uygulanmaya başlanmıştır. Hugh Conklin ve arkadaşı epilepsinin bağırsaklardan beyine gelen zehirli toksinler nedeniyle geliştiğini iddia ederek epilepsili çocukları 25 gün aç bırakıp sadece su ile beslemiştir. Daha sonra epilepsili bu çocukların açlık tedavisi ile uzun dönemde nöbetsiz kaldığını yayınlamıştır. Yüksek yağlı, düşük karbonhidratlı diyetin açlığın metabolik etkilerini taklit edebileceğini iddia eden ilk makale 1921'de Mayo Clinic'ten yayınlanmıştır (94,95). Yirmi yıla yakın bu terapi yaygın olarak kullanılmış, fakat 1970'li ve 80'li yıllarda modern antiepileptik ilaç tedavisi ile KD kullanımı azalsa da, 1990 lardan itibaren tekrar popülerite kazanmıştır. Özellikle 1996 yılında Amerikan Epilepsi Derneğinin

toplantısından sonra dikkatleri yeniden çekmiştir (92,93).

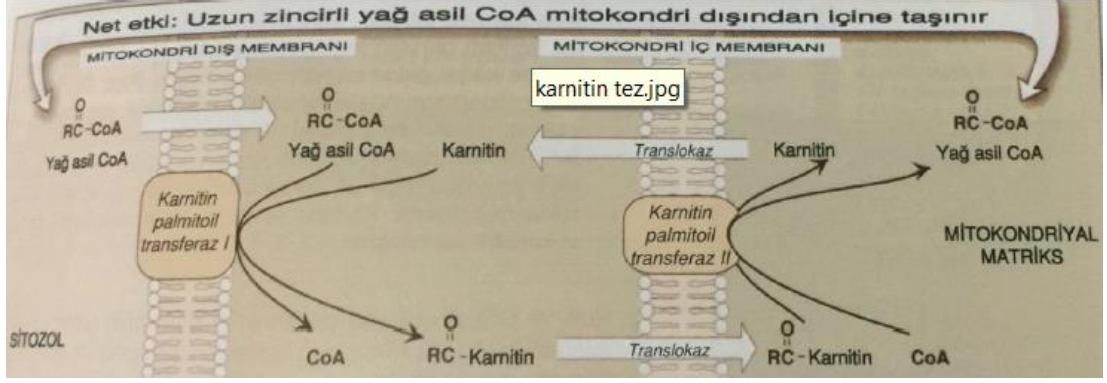
### **2.5.2. Ketojenik Diyet Tanımı**

Ketojenik diyet genellikle %80 yağ, %15 protein ve %5 karbonhidrattan oluşmaktadır. Yağın, karbonhidrat ve proteine oranı 2:1 ila 4:1 arasında değişmektedir. Yağ ile protein ve karbonhidrat arasındaki belirtilen oranlar dışındaki daha yüksek oranlar, daha kısıtlayıcı fakat daha etkili olarak görülmektedir. Bu diyetteki yağların çoğu, uzun zincirli trigliseritler olarak sağlanır. Klasik KD'in başka bir çeşidi ise daha fazla karbonhidrata izin vererek diyetin lezzetini arttırma amacı ile kullanılan orta zincirli trigliserit diyetidir. Daha ketojenik olmasına rağmen, sıklıkla gastrointestinal yan etkilere neden olduğu için daha az kullanılır (94).

Ketojenik diyet ile enerji, proteinler, mineraller, vitaminlerde eksiklikler, lipidler, doymuş yağ ve kolesterolde ise fazlalıklar meydana gelir. Böyle bir diyetin kullanılması, özellikle çocuklarda, uygulama ve izlemde özel dikkat ve monitarizasyon gerektirir (94). Ketojenik diyetin yağ içeriğinin daha az doymuş yağlarla veya daha fazla çoklu doymamış yağlar ile değiştirilmesiyle, karbonhidrat ve lipid metabolizması üzerinde KD'in daha az zararlı hale getirilerek daha iyi ketoneminin sağlanabileceği düşünülmüştür (95).

### **2.5.3. Keton Oluşumu ve Ketojenik Diyet Etki Mekanizması**

Açlık veya KD uygulanması durumunda vücut enerji kaynağı olarak keton cisimlerini kullanır. Vücutta keton cisimleri yağ asitleri  $\beta$  oksidasyonu ile meydana gelirler.  $\beta$  oksidasyonda iki karbonlu (C) parçalar, yağ açıl CoA'nın karboksil ucundan sırayla ayrılırlar ve böylece asetil CoA'lar ortaya çıkar. Yağ asitleri tiyokinaz tarafından sitozolde CoA türevlerine dönüştürülür.  $\beta$  oksidasyon, mitokondri matrixinde gerçekleştiğinden CoA türevleri karnitin mekiği ile sitozolden mitokondriye taşınır (96) (Şekil 2).

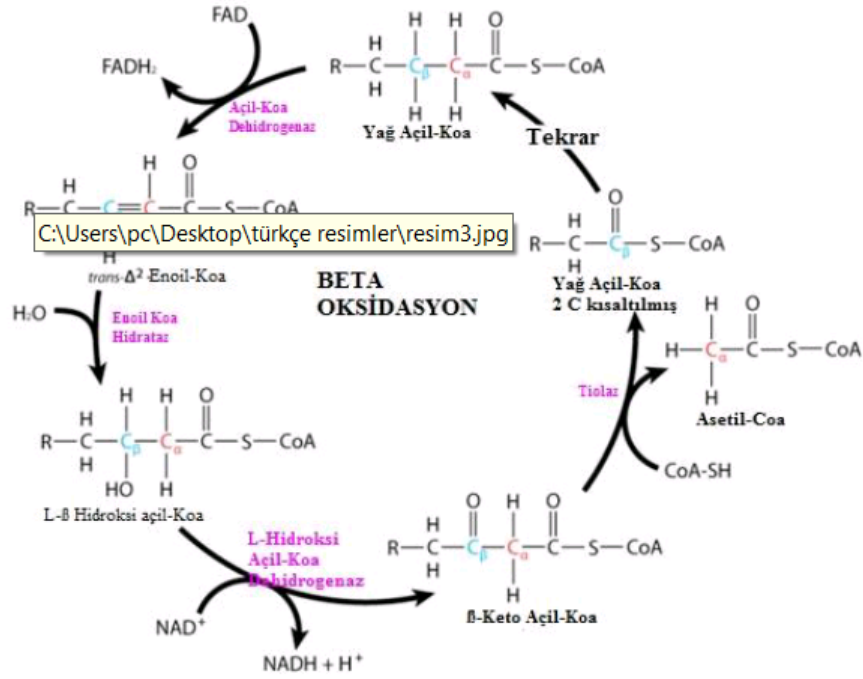


Şekil 2: Karnitin Mekiği

$\beta$  oksidasyonun ilk döngüsü yağ asit zincirinin 2 karbon azalması ile sonuçlanan 4 basamaklı bir diziden oluşur:

1. FADH<sub>2</sub> üreten oksidasyon
2. Hidrasyon
3. NADH üreten oksidasyon
4. Tiyolitik yarımlama (Asetil-CoA ortaya çıkar)

Her bir döngüde bir asetil grubu, bir NADH ve bir FADH<sub>2</sub> üretimi gerçekleşir. Son tiyolitik yarımlama iki asetil grubu üretir (Asetil-CoA'nın allosterik aktivatörü yağ asidi oksidasyonu ile glukoneogenezi birbirine bağlayan Piruvat Karboksilazdır) (96) (Şekil 3).



Şekil 3: Yağ asitlerinin beta oksidasyonun enzimatik basamakları

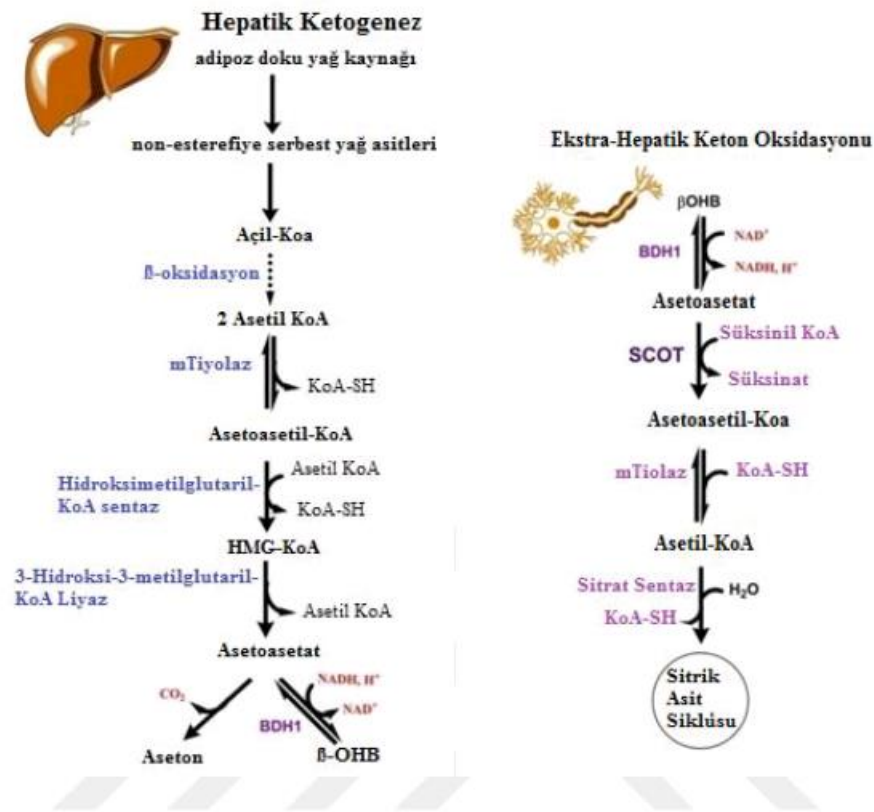
Yağ asidi oksidasyonu ile elde edilen bu asetil grupları karaciğer mitokondrisinde keton cisimlerine dönüştürülürler. Asetoasetat ve BOHB keton cisimleridir. Asetoasetat ve BOHB periferik dokulara taşınarak yeniden asetil-CoA'ya dönüşürler ve krebs siklusunda oksitlenirler. Keton cisimciklerinin periferik dokular için önemli enerji kaynağı olmalarının sebepleri;

1. Sulu çözeltilerde çözünürler.(taşıyıcıya ihtiyaç duymazlar)
2. Mevcut asetil-CoA miktarı karaciğer oksidasyon kapasitesini aştığı zaman oluşurlar.
3. İskelet kası, kalp kası gibi karaciğer dışı dokularda kandaki miktarı ile orantılı olarak kullanılırlar. Hatta uzamış açlıkta beyin de kullanır.

Hepatik asetil-CoA'lar pirüvat dehidrogenazı inhibe eder, Pirüvat karboksilazı aktive eder. Böylece oluşan oksaloasetat krebs siklusundan ziyade karaciğerde glukoneogenez için kullanılır. Bu nedenle asetil-CoA keton cisimlerine yönelir (96).

Mitokondriyal HMG-CoA sentaz (keton sentezinde hız kısıtlayıcı basamak) ; asetil-CoA'yı üçüncü bir asetil-CoA ile birleştirerek HMG-CoA (kolesterol öncüsü) oluşturur. HMG-CoA, asetoasetat ve asetil-CoA'yı oluşturmak üzere ikiye ayrılır. Asetoasetat, NADH'ı hidrojen kaynağı olarak kullanarak BOHB'a indirgeyebilir veya aseton oluşturabilir. Asetoasetat ve 3-hidroksibütirat dengesi NAD<sup>+</sup>/NADH oranı ile belirlenir. Yağ asidi oksidasyonu sırasında bu oran yüksek olduğu için 3-hidroksibütirat sentezi tercih edilir (96) (Şekil 4).

Açlık esnasında enerji kaynağı olarak keton cisimleri kullanılır. BOHB'tan β-hidroksi dehidrogenaz ile NADH üretilerek asetoasetat oluşturulur. Asetoasetat tiyoforaz enzimi ile süksinil-CoA'dan bir molekül CoA alır ve asetoasetil-CoA oluşturulmuş olur. Asetoasetil-CoA'dan tekrar enerji elde etmek üzere iki molekül asetil-CoA oluşturulur (Şekil 4).



Şekil 4 : Keton Sentezi ve Ketonun periferik dokularda kullanımı (97)

Mitokondrisi olan tüm dokular asetoasetatı BOHB'a okside eder ve enerji kaynağı olarak kullanır. Karaciğerde tiyoforaz enzimi bulunmaz, bu nedenle karaciğer keton cisimlerini metabolize edemez. Mitokondrileri olmadığı için eritrositler de keton cisimlerini kullanamazlar. Ketonlar basit difüzyonla, monokarboksil taşıyıcısı ile kan beyin bariyerini geçerler (96). BOHB ayrıca beyinde tek yağ asidi oksidasyonu yapabilen hücre olan astrositlerden de sentezlenir (97). Sağlıklı insanlarda normal şartlarda BOHB seviyeleri 0-04 ila 0,08 mMol/L arasında değişirken açlıkta veya diyabetik ketoasidozda bu seviye daha da artar (97). Ergen farelerde KD'in ortalama BOHB seviyelerini 1.1±/0.2mM e kadar yükselttiği bulunmuştur. Aynı çalışmada intrasellüler BOHB seviyelerinin ekstrasellüler sıvıdan daha yüksek olduğu gösterilmiştir (98). Beta-hidroksi bitüratın beyine alımı taşıyıcı bağımlıdır. Bunun için kontrol noktası, MCT1 (SLC16A1:astrositlerdeki BOHB taşıyıcısı) ekspresyonu ve BOHB seviyeleridir. Bu seviyeler açlık ve KD ile artar. MCT1 seviyeleri yenidoğanlarda yüksektir. Yaşla beraber azalır. BOHB'nin beyindeki bazal gereksinimlere, nöronal aktiviteyi destekleyen katkısının 36 saatlik açlıktan sonra olduğu gösterilmiştir. BOHB'ın kan konsantrasyonunun yeterli düzeyde yüksek olması ile BOHB, tüm bazal gereklilikleri ve nöronal aktivitenin enerji ihtiyacının yaklaşık yarısını sağlayabilmektedir (99).

#### **2.5.4. Ketojenik Diyetin Anti-inflamatuar Özelliklerinin Muhtemel Mekanizmaları**

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda BOHB'ın direkt anti-inflamatuar mediyatör olduğu görüşü desteklenmektedir. Bu görüşle ilgili ilk çalışma 2009 yılında Ruskin ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışma ile KD'in ROS'ları azaltarak ve santral adenoziyi arttırarak termal nosisepsiyonu ve periferik ödemi azalttığı gösterilmiştir (100,101). Daha sonra 2015 yılında Dupuis ve arkadaşları tarafından ratlara 2 hafta KD verilip, iki haftanın sonunda ratlara intraperitoneal (ip) LPS yapılmıştır. Deney sonunda ateşin ve proinflamatuvar sitokinlerin (TNF-a ve IL-1 $\beta$ ) seviyelerinin azaldığı görülmüştür. KD alan grupların hipokampusünde IL-1 $\beta$  mRNA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Bu deneyde KD'in yağ asidi profilini de modifiye ettiği düşünülmüştür. KD tedavisinden 14 gün sonra total yağ aside sentezi artmıştır. Poliansature yağ asitlerinden (PUFAs) bazı anti-inflamatuar sitokinlerin öncülü olan eikazopentaenoik

asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) seviyeleri bu deneyde düşük ölçülmüştür. Diğer taraftan da bazı proinflamatuvar sitokin öncüllerinden olan araşidonik asit (AA) ve omega-6 PUFAs düzeyleri de bu deneyde düşük bulunmuştur. Bu düzeyler ile Dupuis deneyinde n-3 PUFAs'ların KD'in anti-inflamatuvar özelliklerine aracılık etmediğini iddia etmiştir. Bununla beraber KD ile beslenenlerde düşük AA düzeylerinin pro-inflamatuvar sitokin seviyesinin azaltılmasına aracılık ettiğini söylemiştir (102).

Ketojenik diyet bazı dokularda anti-inflamatuvar özellikler göstermesinin yanı sıra hepatik steatoz, insülin direnci gelişimine neden olan dislipidemiye yol açar. Bu etkisini gösterebilmek için KD'in farklı dokular üzerindeki farklı inflamatuvar özellikleri çalışılmıştır. KD'in FGF21 (karaciğerde üretilir, adipositlerde etki gösterir, adinopektin üretimini ve salınımını artırır) sinyalini etkilediği; böylece karaciğer ve beyaz yağ dokusunda farklı inflamatuvar cevaplar oluşturduğu gösterilmiştir. KD ile karaciğerde artmış bir inflamasyon ve makrofaj birikimi olurken, beyaz yağ dokuda inflamasyon azalmaktadır. FGF21 düzeyleri KD ile plazmada artar. FGF21 gen ekspresyonu karaciğerde artar; ancak beyaz yağ dokuda azalır. Ayrıca TNF-a, IL-6 gibi proinflamatuvar sitokinler ve Emr1, Cd68, Itgam gibi makrofaj birikimini sağlayan molekül düzeylerinin de karaciğerde arttığı, beyaz yağ dokuda azaldığı gösterilmiştir. KD karaciğerde FGF21 sinyalini bozarak, karaciğer lipid metabolizmasında bozulmaya yol açıp insülin direncini arttırmaktadır. Ancak beyaz yağ dokuda bakılan lipid birikim genleri (Lpl ve CD36) KD ile azalmıştır. Yani beyaz yağ dokuda lipoliz olsa bile lipitler karaciğere yönlendirilmektedir. Ayrıca yine KD ile beyaz yağ dokuda ROS'un üretimi daha az olmakta ve bu da inflamasyonun burada daha az olmasının bir nedeni olarak düşünülmektedir (103).

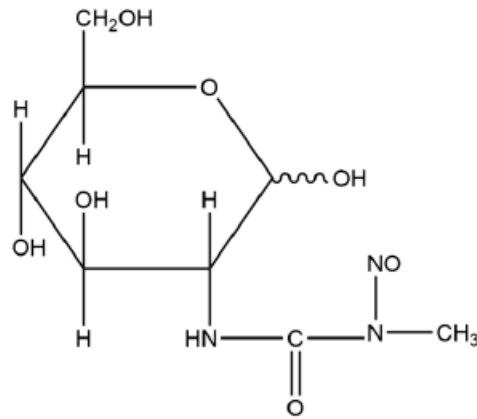
Ketojenik diyetin inflamasyon ilişkili hastalığı bulunan hayvan modellerinde de iyileşme sağladığı gösterilmiştir. Bu hayvan modellerinde genellikle ağrı, gut, bakteriyel-viral inflamasyonlar, multipl skleroz ve parkinson hastalığı kullanılmıştır (100,104).



## 2.6. STREPTOZOTOSİN (STZ) VE ETKİ MEKANİZMASI

STZ, *Streptomyces achromogenes* tarafından veya sentetik olarak elde edilerek üretilir ve başlangıçta bir antibiyotik olarak tanımlanmıştır (105). Nitrosourea yan zincirine sahip bir glikoz molekülünden oluşur. Açık sarıdan beyaza doğru rengi değişiklik gösteren toz halinde ayrıca kimyasal formülü  $C_8H_{15}N_3O_7$  ve molekül ağırlığı 265,2 g/mol olan bir antibiyotiktir (106). Upjohn Laboratories yanlışlıkla STZ'nin hiperglisemi üretebileceğini keşfetti. Ancak köpek ve sıçanlarda tek bir doz STZ'nin nasıl beta hücre ölümüne ve diyabetik duruma yol açtığı kesin olarak bilinmemektedir (107).

STZ'nin glikoz kısmı, pankreatik beta hücre zarında bulunan glikoz taşıyıcı GLUT2'ye bağlanır ve sitotoksik etkilerinden sorumlu olan nitrosourea kısmı ile hücreye girer. STZ beta hücrelerine girdikten sonra, metilasyon, serbest radikallerin salınması veya nitrik oksit oluşumu yoluyla hücre ölümü meydana gelebilir (108). Bu mekanizmalar nedeniyle, STZ pankreatik adacıkların beta hücrelerine seçici olarak sitotoksiktir ve tek bir intravenöz veya intraperitoneal STZ enjeksiyonu (40-60 mg / kg vücut ağırlığı) deney hayvanlarında tip 1 diyabete yol açabilir (109). STZ adacık hasarının yanı sıra böbrek hasarı ve endotel hasarına ve alkileyici özelliğinden ötürü DNA hasarına neden olmaktadır (110). Bu molekül kullanılarak, uygulamadan sonraki 48 saat içinde hiperglisemi ve insülin eksikliği tetiklenir.



Şekil 5: STZ molekülünün açık formülü  $C_8H_{15}N_3O_7$  (111)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 28 adet, 8-10 haftalık, Long Evans cinsi erkek ratlar rastgele seçilerek dört gruba ayrıldı. Çalışma için; 7 adet sağlıklı, diyabet oluşturulmamış, normal rat yemi ile beslenme uygulanmış kontrol grubu (Grup 1); 7 adet diyabet oluşturulmuş normal rat yemi ile beslenme uygulanmış, normal grup (Grup 2); 7 adet diyabet oluşturularak ketojenik diyet ile beslenme uygulanmış, ketojenik grup (Grup 3); 7 adet diyabet oluşturularak western tipi diyet ile beslenme uygulanmış, western grubu (Grup 4) olmak üzere toplam 4 grup oluşturuldu. Ratlarda diyabet oluşturmak için 60 mg/kg streptozotosin (Cayman®) PBS'de çözdürülerek intraperitoneal uygulanıp 72 saat sonra Abbott® Diabetes Care Ltd. FreeStyle Optimum Neo H cihazı ile, kuyruk veninden alınan kanda, glikoz düzeyi 200 mg/dl'nin üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Diyabet kriterlerini karşılamayan hayvanlara tekrar streptozotosin uygulandı. Hayvanlar grup yemlemesine tabi tutuldu ve ad libitum olarak yemlendi. Manuel suluklarda sürekli temiz su bulunduruldu.

On hafta sonunda anestezi altında ekssanguinasyon sonrası gözler enükle edilerek %10 nötral tampedilmiş formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Histolojik doku takip basamaklarını takiben parafin bloklara gömülen doku kesitlerinden histolojik boyama yöntemlerini uygulamak üzere 5 µm kalınlığında doku kesitleri alındı. Alınan kesitlere boyama öncesinde aşağıdaki işlem basamakları ile deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemi uygulandı:

1. 60 °C lik etüvde 2 saat inkübasyon
2. 3 X 5 dk ksilolde bekletme
3. Absolu alkolde 3 dk
4. %96 alkolde 3 dk
5. %80 alkolde 3 dk
6. %70 alkolde 3 dk
7. Distile suda 3 dk

Deparafinize edilerek boyamaya hazır hale getirilmiş olan kesitlere ise aşağıdaki işlem basamakları ile immün boyama ve hematoksilin eozin boyama yöntemi uygulandı.

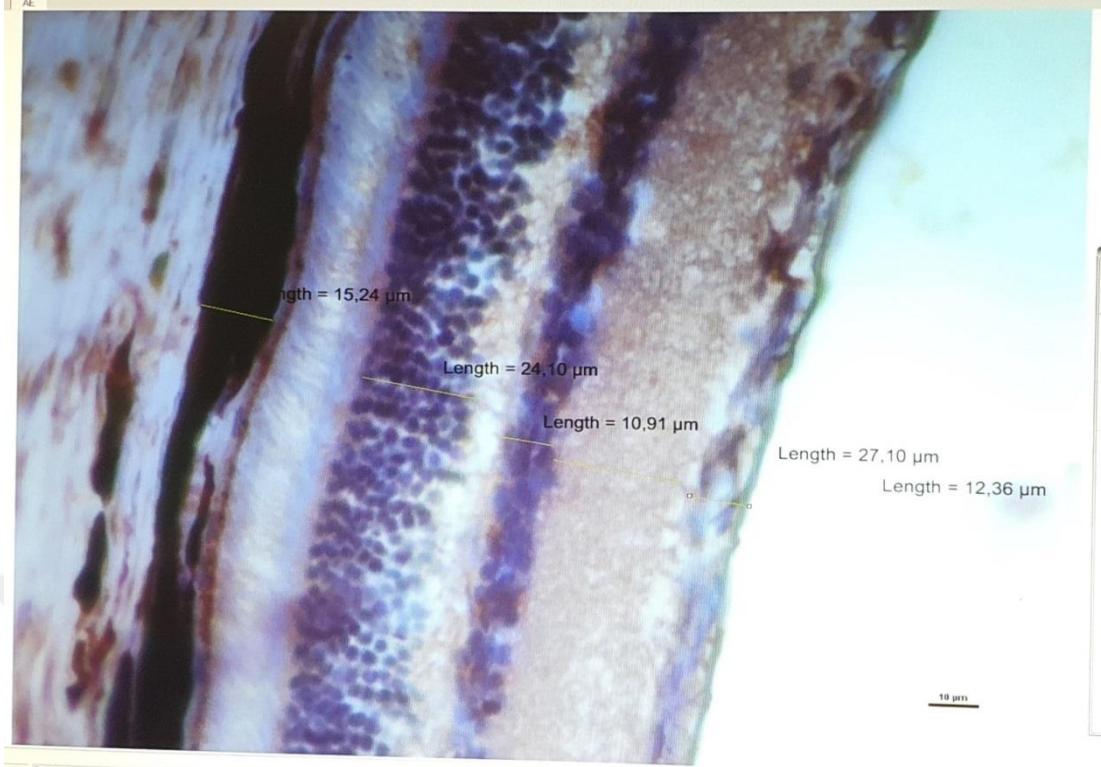
### 3.1. İMMUNOHİSTOKİMYA BOYAMA PROTOKOLÜ

1. Deparafinize ve rehidre edilen kesitlere öncelikle antijen retrieval işlemi uygulandı. Bunun için;
2. Trisodium citrate (dihidrate) 2,94 gr (10 mM)
3. Distile su 1 lt
4. pH yı HCl ile 6 ya ayarlandı.
5. 0,5 ml tween 20 eklenerek karıştırıldı.
6. °C lik etüvde 1 gece bekletildi.
7. 2 defa 5 dk Tris Buffered Saline (TBS+%0,025 Triton X-100) ile oda ısısında yıkama yapıldı,
8. %1 BSA lı TBS ile sulandırılmış %10 normal goat serum ile oda ısısında 2 saat bloklama yapıldı.
9. Lamların etrafı dokuya dokunmadan kurutuldu ve etrafı pappen ile çizildi.
10. %1 BSA lı TBS ile sulandırılmış primer antikör uygulandı (+4 °C de, 1 gece)
11. Oda ısısında 2 defa 5 dk TBS ile yıkama yapıldı.
12. %1 BSA'lı TBS ile sulandırılmış sekonder antikör uygulandı (oda ısısında 1 saat)
13. 1 defa 5 dk TBS ile yıkama yapıldı.
14. Goat anti rabbit HRP oda ısısında 15 dk uygulandı.
15. 3 defa 3 dk TBS ile yıkama yapıldı.
16. DAB substrat karışımında 7 dk bekletildi.
17. Oda ısısında 3 defa 3 dk TBS ile yıkama yapıldı.
18. Distile suda 5 dk yıkama yapıldı.
19. Hematoksilen ile 1 dk zıt boyama yapıldı.
20. Distile su ile yıkandı.
21. Mounting medium ile kapatma işlemi gerçekleştirildi.

### 3.2. HEMATOKSİLEN VE EOZİN (H&E) BOYAMA PROTOKOLÜ

1. Deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemi uygulanmış olan kesitler Hematoksilin boya solüsyonunda 10 dk bekletildi.
2. Lamlar musluk suyu altında 2 dakika bekletilerek fazla boya giderildi.
3. Lamlar Asit Alkol solüsyonuna daldırılıp çıkarılarak dokular diferansiye edildi. Hızlı bir şekilde musluk suyu altında tutulup diferansiyasyon durduruldu.
4. Lamlar dilue amonyaklı suda bekletilerek dokuların mavileşmesi sağlandı.
5. Musluk suyu altında doku rengi berrak mavi renk kazanıncaya kadar bekletildi.
6. Eozin Y (%1; Suda) boyasında 1 dakika bekletildi.
7. Musluk suyu altında lamlar yıkanarak boya işlemi bitirildi.
8. %70 alkol solusyononunda 3 dk bekletildi,
9. %80 alkol solusyononunda 3 dk bekletildi,
10. %96 alkol solusyononunda 3 dk bekletildi,
11. %96 alkol solusyononunda 3 dk bekletildi,
12. Absolu alkol solusyononunda 3 dk bekletildi,
13. Rehidre edilen kesitler entellan ile kapatılarak mikroskopik değerlendirmeye hazır hale getirildi.

Göz dokuları her grup kendi içinde aynı parafin bloklara gömülüp kesit alındı. Tüm kesitler, Nikon Eclipse Ni-U model ışık mikroskobu ile değerlendirildi; H&E ile boyanan kesitlerde aşağıdaki şekilde (Şekil 6) görüldüğü gibi Nikon NIS Elements İmaging Software Version 4.0 programı ile retina kalınlıkları ölçüldü. Kaspaz-3 ve VEGF immnohistokimyasal boyanmanın yaygınlığı ve şiddeti gözle değerlendirilerek semikantitatif olarak histolojik skorlama yapıldı (112). Skorlama “az yoğun, orta derecede yoğun, çok yoğun” olarak derecelendirildi ve tüm grupların fotomikrografları çekildi.



Şekil 6: Retina tabakalarının kalınlık ölçümünü gösteren bir örnek

### 3.3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tanımlayıcı istatistikler; kategorik değişkenler için sayı ve yüzde olarak, sayısal değişkenler için ortalama, standart sapma, en küçük değer, ortanca ve en büyük değer olarak verildi. Kategorik değişkenlerin çoklu grup karşılaştırmalarında Pearson ki-kare testi kullanıldı. İki'den fazla bağımsız grubun sayısal verilerinin karşılaştırılmasında normal dağılıma uygun ise ve varyans homojenitesi gösteriyorsa One Way ANOVA testi kullanılırken, varyans homojenitesi göstermiyorsa Welch ANOVA testi kullanıldı. Anlamli farkın saptandığı karşılaştırmalarda One Way ANOVA sonrası Tukey ikili karşılaştırma testi, Welch ANOVA sonrası Tamhane T2 ikili karşılaştırma testi kullanıldı. İki'den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen sayısal verilerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı. Kruskal Wallis testi sonrası anlamlı fark çıkan karşılaştırmalarda ikili karşılaştırma için Dunn testi kullanıldı. Normal dağılıma uygunluk durumu ise Shapiro-Wilk normallik testi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi  $p < 0,05$  olarak kabul edildi. Analizler için SPSS v20.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0; Armonk, NY, USA) paket programı kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

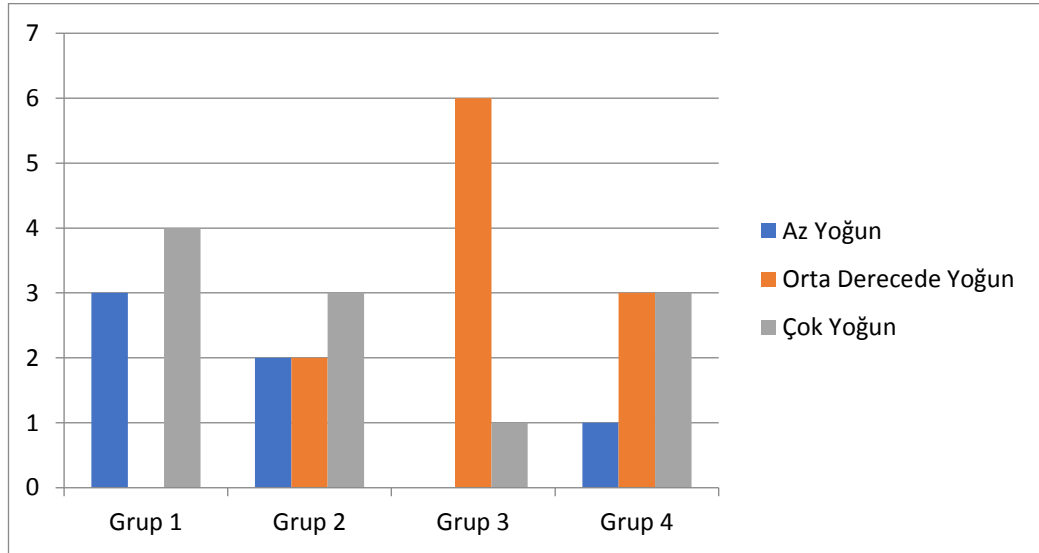
Sağlıklı grup, diyabetik normal rat yemi ile beslenen grup, diyabetik ketojenik diyetle beslenen grup, diyabetik western tipi diyetle beslenen gruptaki hayvanlara ait VEGF ve Caspase-3 immünohistokimya tekniği uygulanan retina kesitlerinde immünreaktivitenin yaygınlığı ve şiddeti esas alınarak yapılan histolojik skorlamalara göre aşağıdaki bulgular elde edildi:

Caspase-3 ile retinanın immünohistokimyasal boyamasında; ketojenik diyet ile beslenen diyabetik grupta 6 hayvanda (%85,7) orta derecede yoğun, 1 hayvanda (%14,3) çok yoğun boya tutulumu görüldü. Western diyet ile beslenen diyabetik grupta 1 hayvanda (%14,3) az yoğun, 3 hayvanda orta derecede yoğun (%42,9), 3 hayvanda (%42,9) çok yoğun boya tutulumu olduğu görüldü. Normal diyet ile beslenen diyabetik grupta 2 hayvanda (%28,6) az yoğun, 2 hayvanda (%28,6) orta derecede yoğun, 3 hayvanda (%42,9) çok yoğun boya tutulumu görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda 3 hayvanda (%42,9) az yoğun, 4 hayvanda (%57,1) çok yoğun boyanma görüldü. Kaspaz-3 ile retina boyamasında gruplar arasında anlamlı fark görülmemiştir (p: 0,65). Kaspaz-3 ile retina boyamasının tüm gruplardaki yüzde değerleri Tablo-1’de, rat sayıları Grafik 1’de görülmektedir.

Tablo-1: Retina kesitlerinin Caspase-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki yüzde değerleri görülmektedir.

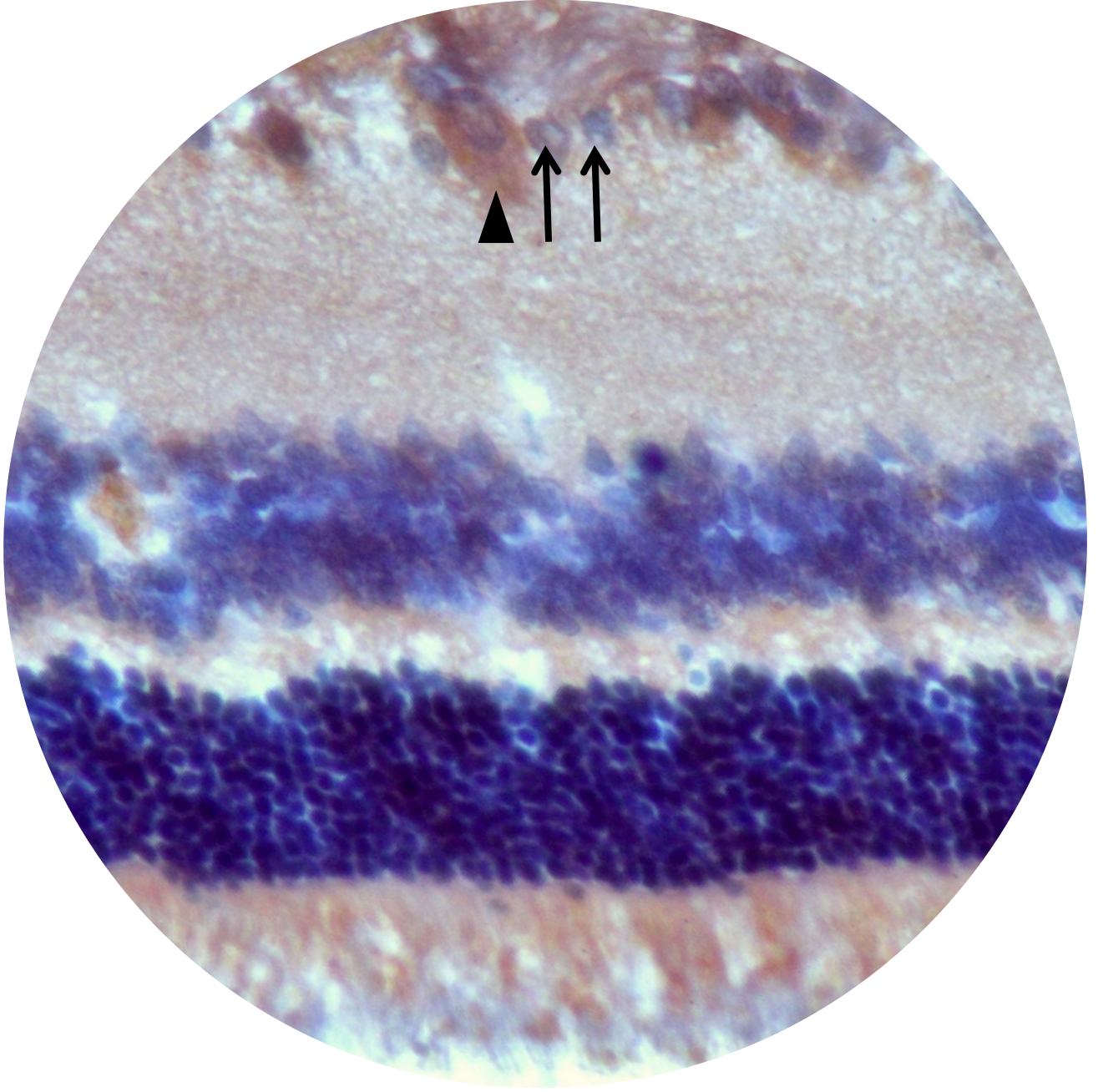
Her grup için (n=7)	Az yoğun boyanma	Orta derecede yoğun boyanma	Çok yoğun boyanma	p
Grup 1 (Sağlıklı Kontrol)	42,9	0,0	57,1	0,65
Grup 2 (Diabetik-Normal beslenen)	28,6	28,6	42,9	
Grup 3 (Diabetik-Ketojenik beslenen)	0,0	85,7	14,3	
Grup 4 (Diabetik-Western beslenen)	14,3	42,9	42,9	

Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0,065).



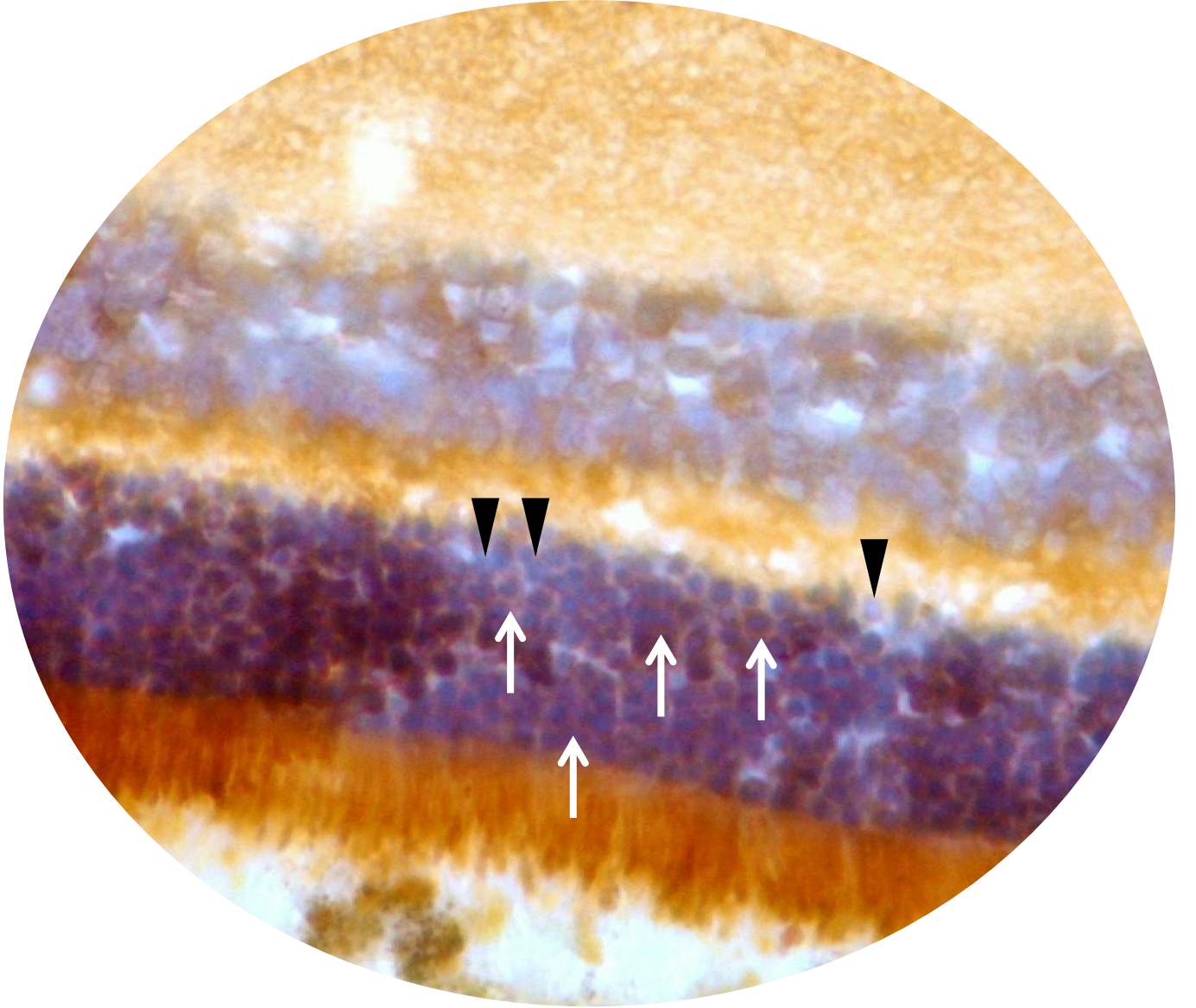
Grafik 1: Retina kesitlerinin Caspase-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p:0,065).



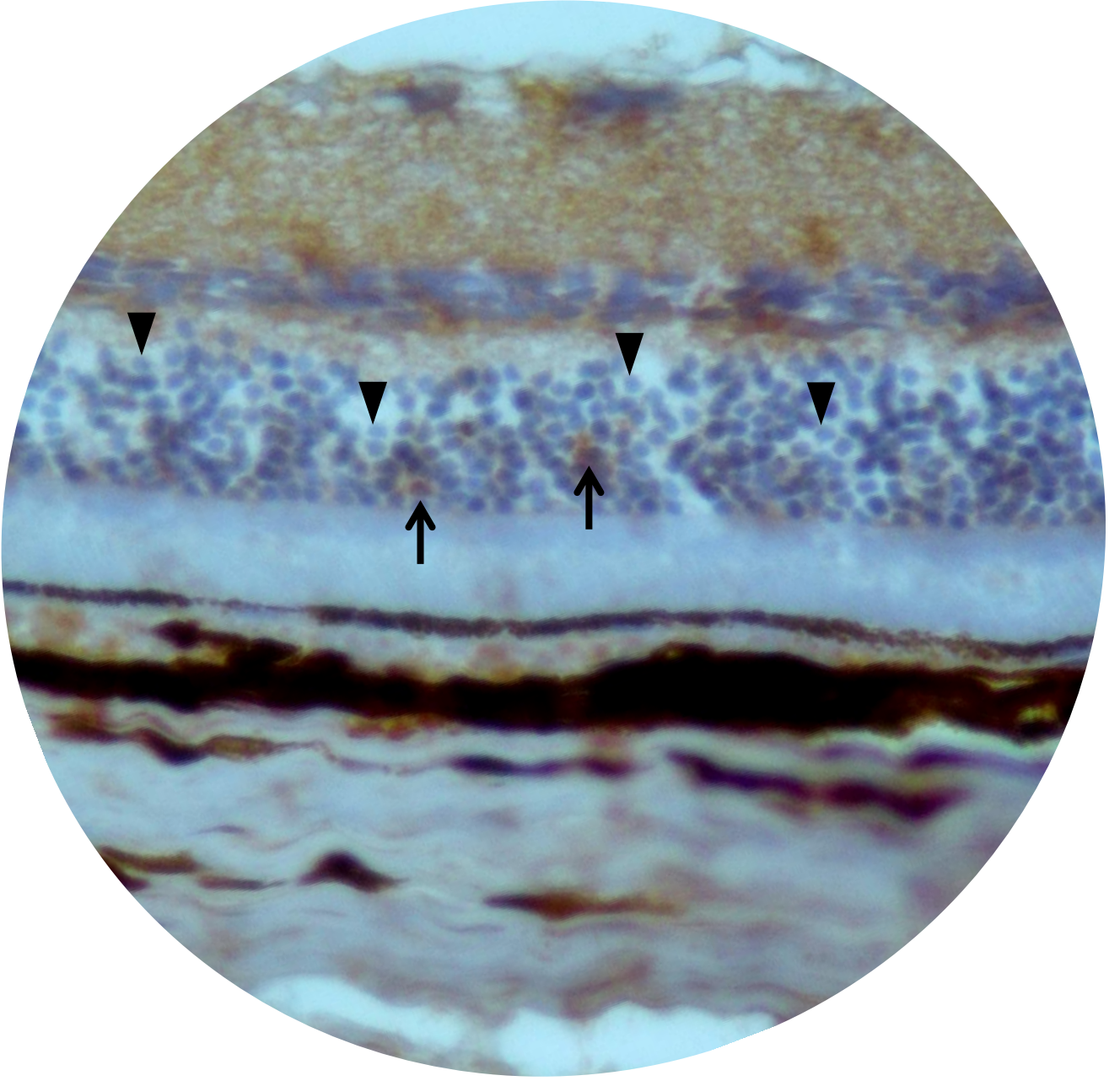


Şekil 7: Western diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir ratın retinasının Caspase-3 ile immünohistokimyasal boyamasında pozitif boyanan gangliyon hücresi siyah ok ucu ile negatif boyanan gangliyon hücreleri siyah ok ile gösterilmiştir (x400 büyütme).





Şekil 8: Western diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir ratın retinasında çok yoğun Caspase-3 immünohistokimyasal boyanması görülmektedir. Caspase-3 ile pozitif boyanan bazı hücreler beyaz ok ile negatif hücreler siyah ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).



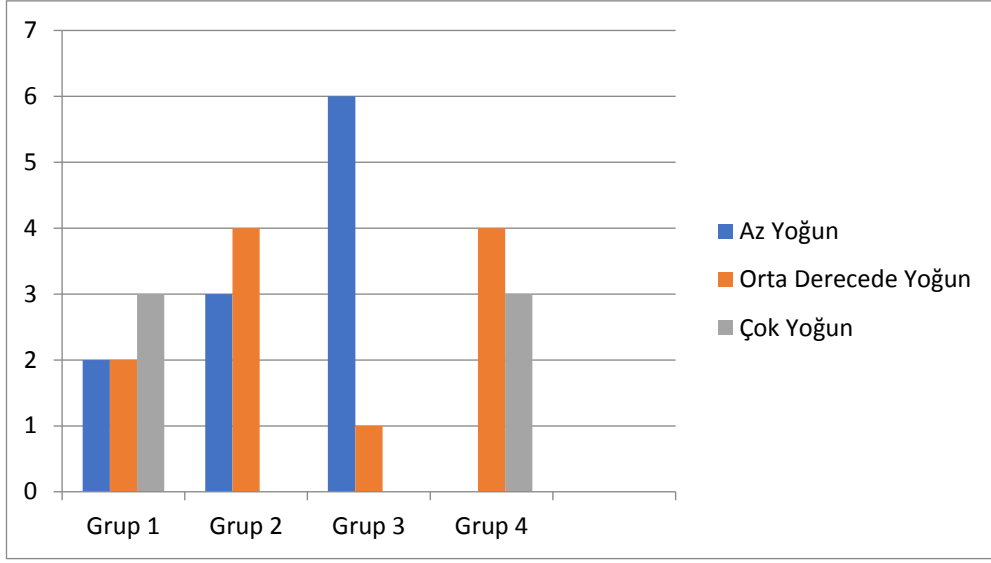
Şekil 9: Ketojenik diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir ratın retinasının Caspase-3 immünohistokimya boyamasında az yoğun immunreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).

Tablo-2 ve Grafik 2’de de görüldüğü gibi VEGF ile retinanın immünohistokimyasal boyamasında; ketojenik diyet ile beslenen diyabetik grupta 6 hayvanda (%85,7) az yoğun, 1 hayvanda (%14,3) orta derecede yoğun boya tutulumu görüldü. Western diyet ile beslenen diyabetik grupta 4 hayvanda(%57,1) orta derecede yoğunlukta, 3 hayvanda (%42,9) çok yoğun boya tutulumu görüldü. Normal diyet ile beslenen diyabetik grupta 3 hayvanda (%42,9) az yoğun, 4 hayvanda (%57,1) orta derecede yoğun boya tutulumu görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda 2 hayvanda (%28,6) az yoğun, 2 hayvanda (%28,6) orta derecede yoğun, 3 hayvanda (%42,9) çok yoğun boya tutulumu görüldü. VEGF ile retina boyamasında gruplar arasında anlamlı fark olduğu saptandı (p: 0,018). Ketojenik diyetle beslenen diyabetik grupta diğer gruplara göre daha yüksek oranda (%85,7) az yoğun boyanma dikkat çekmektedir.

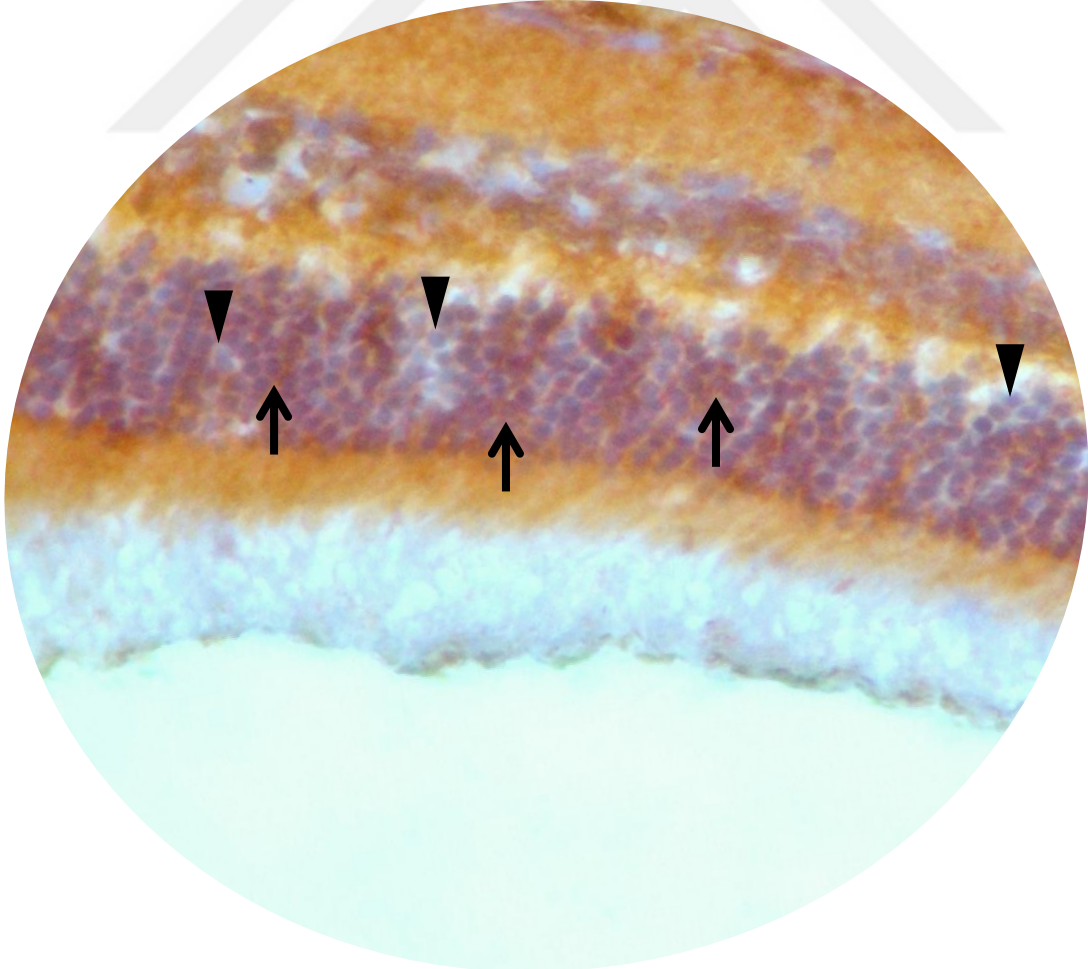
Tablo-2: Retina kesitlerinin VEGF immunohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki yüzde değerleri görülmektedir.

Her grup için n=7	Az yoğun boyanma	Orta derece yoğun boyanma	Çok yoğun boyanma	p
Grup 1 (Sağlıklı Kontrol)	28,6	28,6	42,9	<b>0,018</b>
Grup 2 (Diyabetik Normal beslenen)	42,9	57,1	0,0	
Grup 3 (Diyabetik Ketojenik beslenen)	85,7	14,3	0,0	
Grup 4 (Diyabetik Western beslenen)	0,0	57,1	42,9	

Gruplar arasında anlamlı fark bulunmaktadır (p: 0,018).

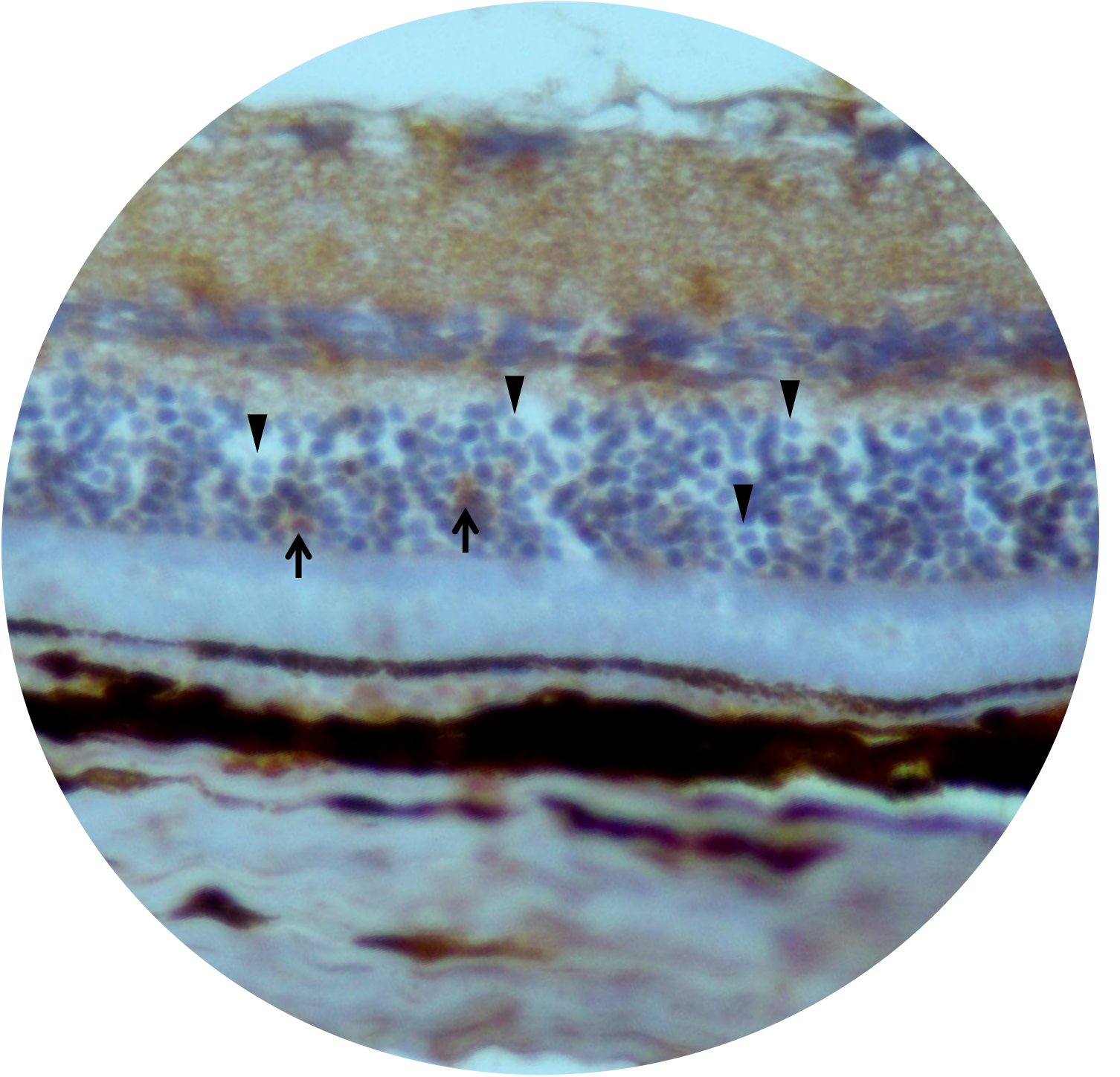


Grafik 2: Retina kesitlerinin VEGF immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (p: 0,018).

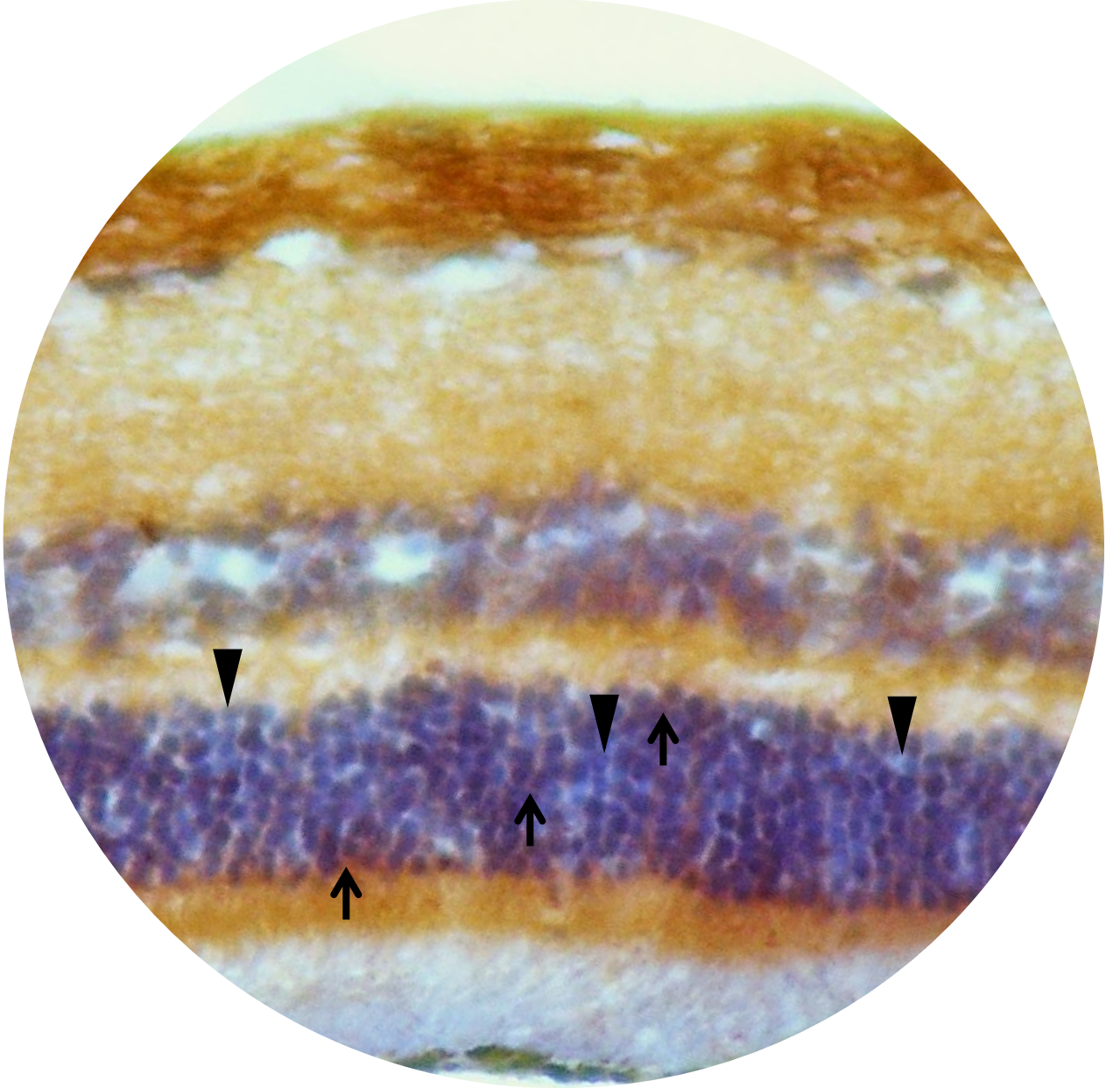


Şekil 10: Western diyet ile beslenen diyabetik grupta bir hayvanda retinanın VEGF immünohistokimyasal boyamasında çok yoğun immünreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).





Şekil 11: Ketojenik diyet ile beslenen diyabetik gruptaki bir hayvanda retinanın VEGF immünohistokimyasal boyamasında az yoğun immünreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).



Şekil 12: Kontrol grubundaki bir ratın retinasının VEGF immünohistokimyasal boyanmasında orta derecede yoğunlukta immünreaktivite görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme)

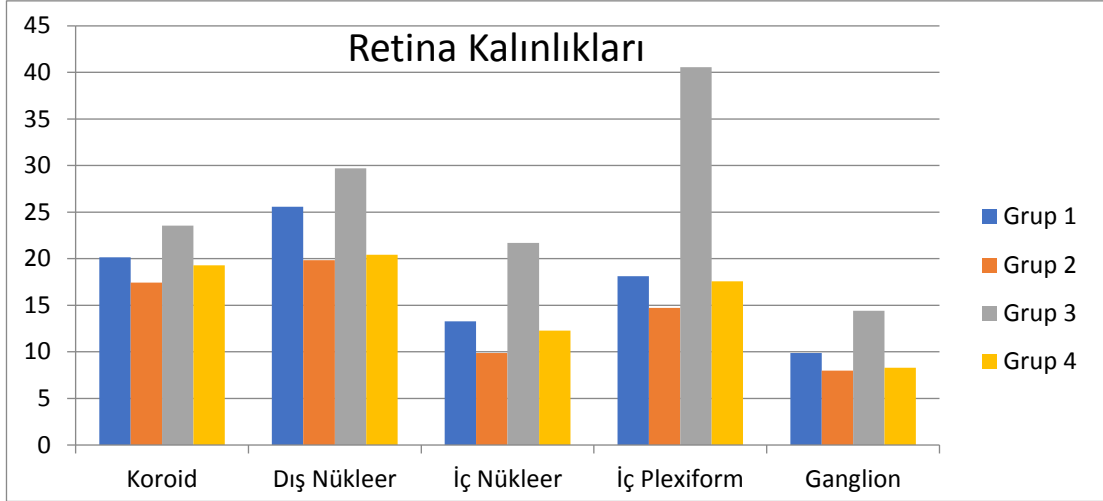
Retina tabakalarının kalınlıklarının karşılaştırmasında iç nükleer, iç plexiform, ganglion ve dış nükleer tabaka kalınlıklarında gruplar arasında anlamlı fark görüldü. Bu grupların hepsinde western diyet ile beslenme grubunda diğer gruplara göre anlamlı kalınlaşma dikkati çekmektedir. P değeri iç nükleer tabaka karşılaştırmasında <0,01, dış nükleer tabaka karşılaştırmasında 0,006, iç plexiform tabaka karşılaştırmasında 0,013, ganglion tabaka karşılaştırmasında 0,017 bulunmuştur. Koroid kalınlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (p: 0,118). Retina tabakalarının kalınlıklarının karşılaştırması Tablo-3'te görülmektedir.

Tablo-3: Tüm gruplara ait retina tabakalarının kalınlıklarının karşılaştırılması

Her grup için n=7	Grup 1 (Sağlıklı Kontrol) Ort±SS EKD-Ortanca- EBD	Grup 2 (Diyabetik- Normal beslenen) Ort±SS EKD-Ortanca- EBD	Grup 3 (Diyabetik- Ketojenik beslenen) Ort±SS EKD-Ortanca- EBD	Grup 4 (Diyabetik- Western beslenen) Ort±SS EKD-Ortanca- EBD	p
Koroid	20,14±5,79 12,00-19,00- 29,00	19,29±4,61 12,00-21,00- 24,00	17,43±3,31 14,00-16,00- 23,00	23,57±4,43 17,00-24,00- 29,00	0,118 <sup>a</sup>
Dış nükleer	25,57±7,63 19,00-23,00- 40,00	20,43±4,61 14,00-22,00- 27,00	19,86±4,18 13,00-22,00- 23,00	29,71±2,06 26,00-30,00- 33,00	<b>0,006<sup>b</sup></b> 4>3 (0,013) 4>2 (0,018)
İç nükleer	13,29±4,31 7,00-14,00- 20,00	12,29±4,79 7,00-13,00- 19,00	9,86±2,34 7,00-9,00- 14,00	21,71±5,74 13,00-23,00- 27,00	<b>&lt;0,001<sup>a</sup></b> 4>1 (0,009) 4>3 (>0,001) 4>2 (0,003)
İç plexiform	18,14±11,05 7,00-15,00- 37,00	17,57±7,81 9,00-16,00- 29,00	14,71±5,38 9,00-13,00- 23,00	40,57±15,15 17,00-44,00- 53,00	<b>0,013<sup>b</sup></b> 4>3 (0,018)
Ganglion	9,86±4,02 6,00-8,00- 17,00	8,29±1,98 6,00-9,00- 11,00	8,00±2,71 5,00-7,00- 13,00	14,43±3,15 8,00-15,00- 17,00	<b>0,017<sup>b</sup></b> 4>3 (0,019)

Ort: Ortalama SS: Standart Sapma EKD: En küçük değer EBD: En büyük değer

<sup>a</sup>One way ANOVA <sup>b</sup> Kruskal Wallis Test



Grafik 3: Tüm gruplara ait retina tabakalarının kalınlıklarının karşılaştırması görülmektedir.

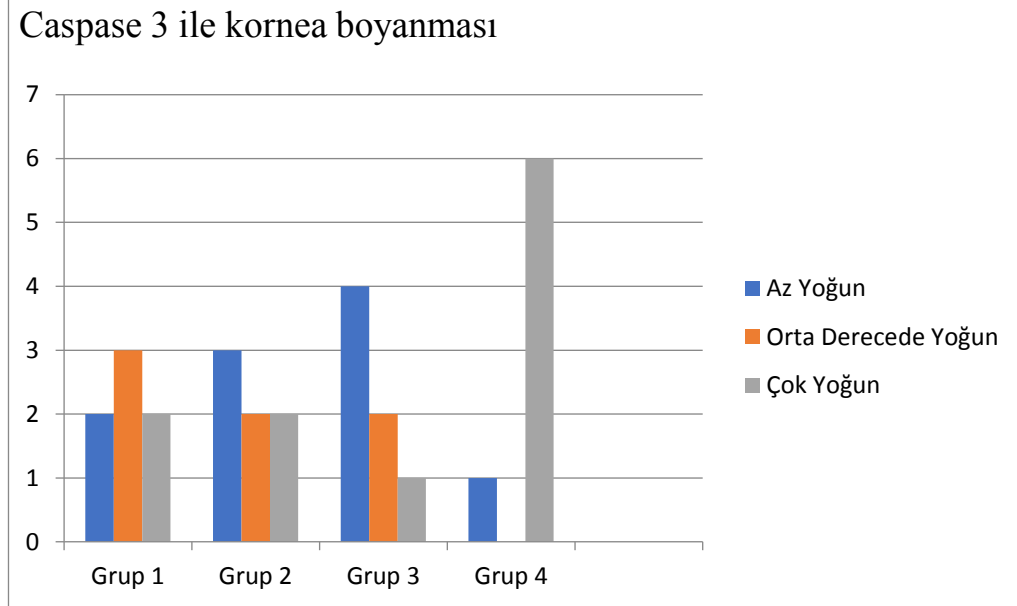
Caspase-3 ile korneanın immünohistokimyasal boyamasında western diyet ile beslenen diyabetik grupta 6 hayvanda (%85,7) çok yoğun, 1 hayvanda (%14,3) az yoğun boya tutulumu görüldü. Ketojenik diyet ile beslenen diyabetik grupta 4 hayvanda (%57,1) az yoğun, 2 hayvanda (%28,6) orta derecede yoğun, 1 hayvanda (%14,3) çok yoğun boya tutulumu olduğu görüldü. Normal diyet ile beslenen diyabetik grupta 3 hayvanda (%42,9) az yoğun, 2 hayvanda (%28,6) orta derecede yoğun, 2 hayvanda (%28,6) çok yoğun boya tutulumu görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda 2 hayvanda (%28,6) az yoğun, 3 hayvanda (%42,9) orta derecede yoğun, 2 hayvanda (%28,6) çok yoğun boya tutulumu görüldü. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı (p: 0,121).



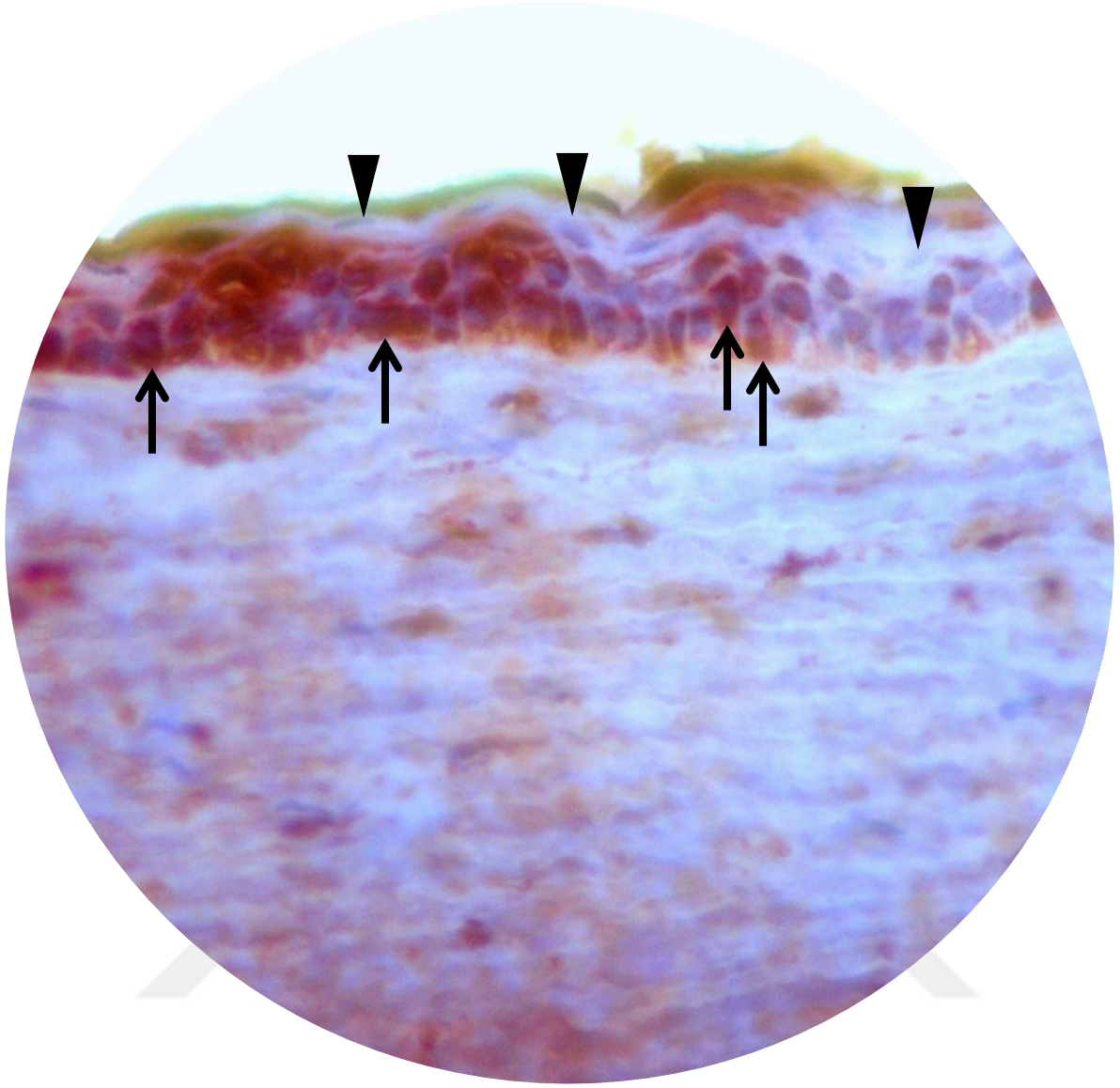
Tablo 4: Kornea kesitlerinin Caspase-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki yüzde değerleri görülmektedir.

Her grup için n=7	Az yoğun boyanma	Orta derece yoğun boyanma	Çok yoğun boyanma	p
Grup 1 (Sağlıklı Kontrol) (n=7)	28,6	42,9	28,6	0,121
Grup 2 (Diyabetik-Normal beslenen)	42,9	28,6	28,6	
Grup 3 (Diyabetik-Ketojenik beslenen)	57,1	28,6	14,3	
Grup 4 (Diyabetik-Western beslenen)	14,3	0,0	85,7	

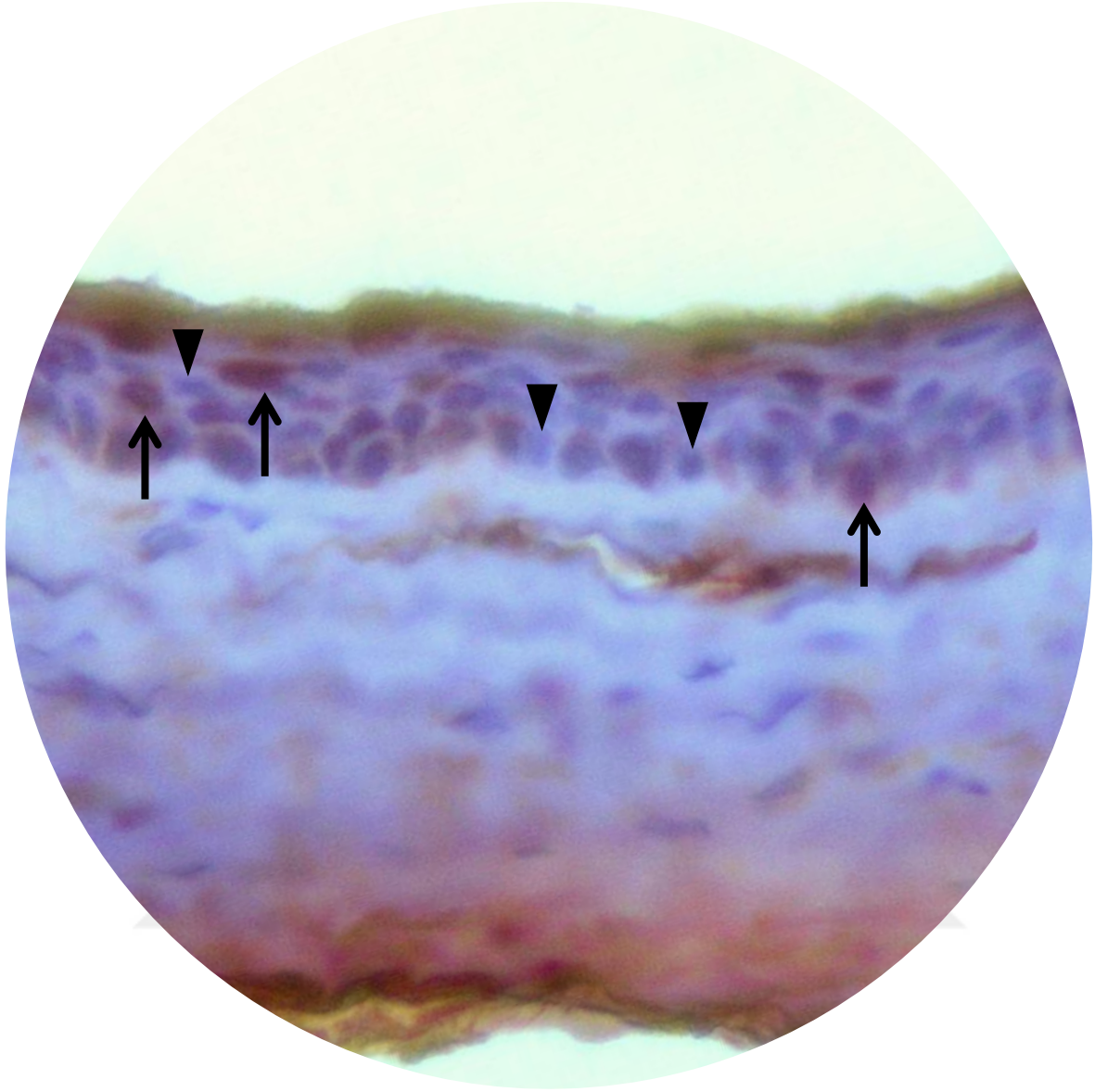
Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamaktadır (p:0,121).



Grafik 4: Kornea kesitlerinin Caspase-3 immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.



Şekil 13: Western diyet ile beslenme grubundaki bir hayvanın korneasında çok yoğun Caspase-3 immünohistokimya boyanması görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme).



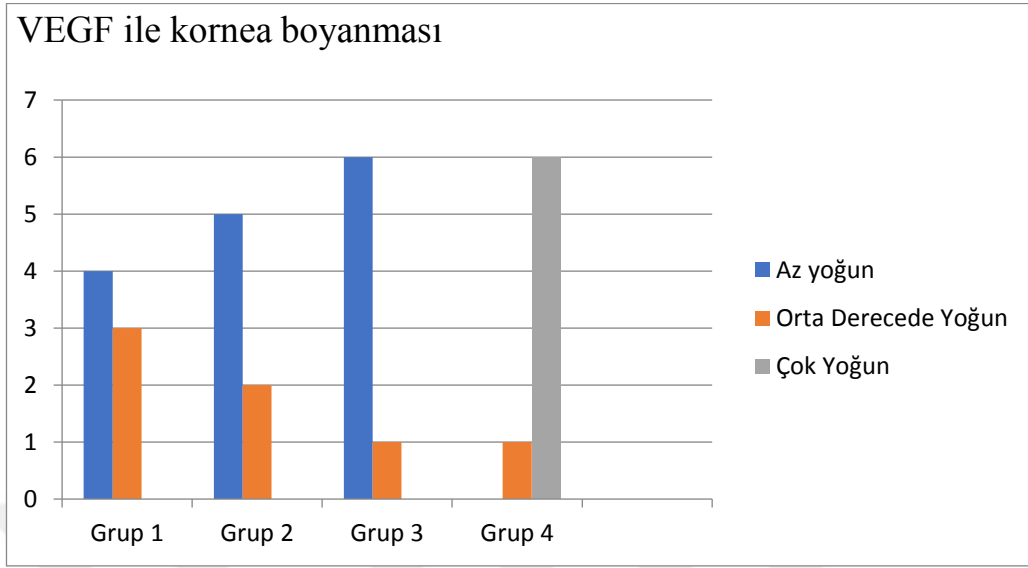
Şekil 14: Western diyet ile beslenen gruptaki bir hayvanın korneasında az yoğun Caspase-3 immnohistokimya boyanması görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterimiştir (x400 büyütme)

VEGF ile korneanın immünohistokimyasal boyamasında western diyet ile beslenen diyabetik grupta 6 hayvanda (%85,7) çok yoğun, 1 hayvanda (%14,3) orta derecede yoğun boyanma görüldü. Ketojenik diyetle beslenen diyabetik grupta 6 hayvanda (%85,7) az yoğun, 1 hayvanda (%14,3) orta derecede yoğun boya tutulumu görüldü. Normal diyetle beslenen diyabetik grupta 5 hayvanda (%71,4) az yoğunlukta, 2 hayvanda (%28,6) orta derecede yoğun boya tutulumu görüldü. Sağlıklı kontrol grubunda 4 hayvanda (%57,1) az boya tutulumu, 3 hayvanda (%42,9) orta derecede yoğun boya tutulumu görüldü. Gruplar arasında anlamlı fark saptandı ( $p<0,001$ ). Ketojenik diyet ile beslenen ve normal diyetle beslenen diyabetik grupta diğer gruplara göre az yoğun boya tutulumu, western diyet ile beslenen diyabetik grupta diğer gruplara göre çok yoğun boya tutulumu dikkat çekmiştir.

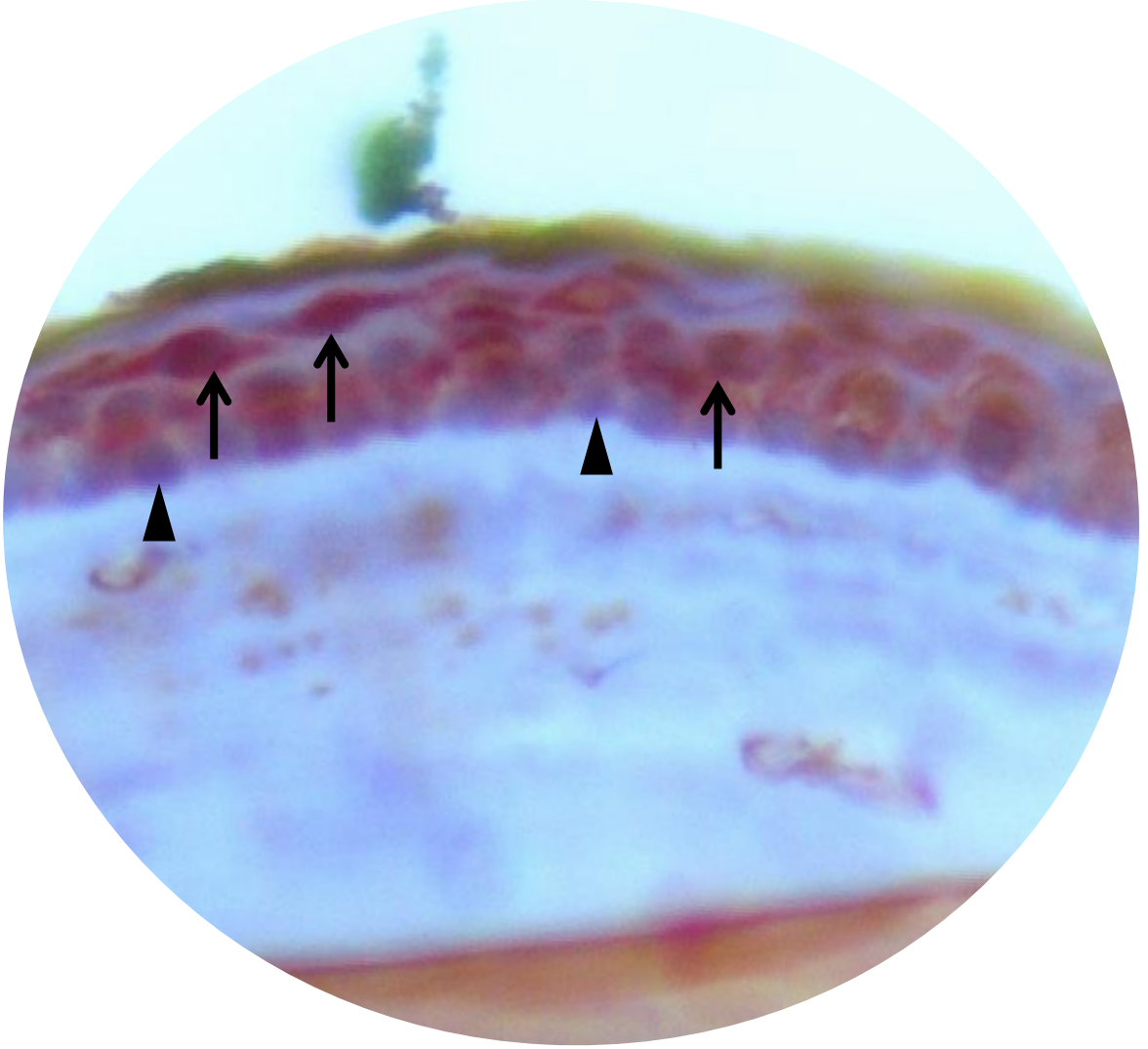
Tablo-5: Kornea kesitlerinin VEGF immünohistokimya skorlarına göre tüm gruplardaki yüzde değerleri görülmektedir.

Her grup için n=7	Az yoğun boyanma	Orta derecede yoğun boyanma	Çok yoğun boyanma	p
Grup 1 (Sağlıklı kontrol)	57,1	42,9	0,0	<b>&lt;0,001</b>
Grup 2 (Diyabetik-normal beslenen)	71,4	28,6	0,0	
Grup 3 (Diyabetik-ketojenik beslenen)	85,7	14,3	0,0	
Grup 4 (Diyabetik western beslenen)	0,0	14,3	85,7	

Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p<0,001$ ).



Grafik 5: Kornea kesitlerinin VEGF immunohistokimya skorlarına göre tüm gruptaki hayvan sayılarının grafiği görülmektedir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır ( $p < 0,001$ )



Şekil 15: Western diyet ile beslenen grupta bir hayvanın korneasında çok yoğun VEGF immunohistokimya boyanması görülmektedir. Pozitif boyanan hücreler siyah ok ile negatif hücreler ok başı ile gösterilmiştir (x400 büyütme)

## 5. TARTIŞMA

Diabetes mellitus (DM) dünya çapında yaygın bir endokrin bozukluktur ve sıklığı artmaya devam etmektedir. Diyet bileşenlerinin DM'nin klinik yönetiminde önemli bir rolü olduğu yaygın olarak kabul edilmiştir. Diyabet tedavisi, beslenme, fiziksel aktivite ve farmakolojik tedavinin bir arada yürütüldüğü interdisipliner bir tedavi sürecini gerektirir. DM' nin önlenmesi ve kontrolü; egzersiz, düşük kalorili besinlerle beslenme, obez kişilerde kilo kaybı ve hareketsizlikten uzak bir yaşamdan geçmektedir (8).

Ketojenik diyet, açlık durumunu taklit etmek amacıyla; kalori kaynağının karbonhidratlar yerine ağırlıklı olarak yağlardan sağlanarak; yağ metabolizmasıyla keton cisimciği üretiminin indüklendiği, düşük karbonhidratlı ve yüksek yağlı bir beslenme formudur (113). Ketojenik diyetin kilo kaybını sağlamada etkili olduğu ve diyabetik hastalarda glisemik kontrol, trigliserit seviyeleri ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol düzeyleri üzerinde yararlı etkileri olabileceği gösterilmiştir (114-117). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda BOHB'ın direkt anti-inflamatuar mediyatör olduğu görüşü desteklenmektedir. Bu görüşle ilgili ilk çalışma 2009 yılında Ruskin ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Bu çalışma ile KD'in ROS'ları azaltarak ve santral adenoziyi artırarak termal nosisepsiyonu ve periferik ödemi azalttığı gösterilmiştir (100,101). Daha sonra 2015 yılında Dupuis ve arkadaşları tarafından ratlara 2 hafta KD verilip iki haftanın sonunda intraperitoneal (ip) LPS yapılmıştır. Deney sonunda ateşin ve proinflamatuar sitokinlerin (TNF-a ve IL-1 $\beta$ ) seviyelerinin azaldığı görülmüştür. KD alan grupların hipokampusünde IL-1 $\beta$  mRNA seviyeleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Bu deneyde KD'in yağ asidi profilini de modifiye ettiği düşünülmüştür. KD tedavisinden 14 gün sonra total yağ aside sentezi artmıştır. Poliansature yağ asitlerinden (PUFAs) bazı anti-inflamatuar sitokinlerin öncülü olan eikazopentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) seviyeleri bu deneyde düşük ölçülmüştür. Diğer taraftan da bazı proinflamatuar sitokin öncüllerinden olan araşidonik asit (AA) ve omega-6 PUFAs düzeyleri de bu deneyde düşük bulunmuştur. Bu düzeyler ile Dupuis deneyinde n-3 PUFAs'ların KD'in anti-inflamatuar özelliklerine aracılık etmediğini iddia etmiştir. Bununla beraber KD ile

beslenenlerde düşük AA düzeylerinin pro-inflamatuar sitokin seviyesinin azaltılmasına aracılık ettiğini söylemiştir (102).

Diyabetik retinopati patogenezinde enflamasyon önemli role sahiptir. VEGF A proenflamatuar özellik gösterir. Fakat mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. VEGF A T-hücre kemoatraktan kemokin interferon gama sentezini arttırabilir (53). Çalışmamızda, diyabetik retinopati patogenezinde de inflamasyonun rolü olduğundan ketojenik diyet ile beslenmenin diyabetik retinopati oluşumunun engellenmesinde, oluştuktan sonra progresyonun yavaşlatılmasında kullanılabileceğini düşünerek, diyabet oluşturulan ratların ketojenik diyet, western (batı tipi) diyet ve normal rat yemi ile beslenme sonrası kornea ve retina dokularında immünohistokimyasal olarak VEGF ve Caspase-3 boya tutulumunu karşılaştırdık. Caspase-3 ile retina ve kornea boyamasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamasına karşın VEGF boyamasında retinada gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. VEGF ile retina boyamasında ketojenik diyetle beslenme grubunda az yoğun boya tutulum oranının en yüksek (%85,7) bulunması ketojenik diyetle beslenmenin retina gibi göz içi yapıların diyabetin kötü etkisinden nispeten daha az etkilenmiş olduğunu gösterebilir. Western diyet ile beslenme grubunda VEGF ile boyanma oranı nispeten daha yüksek bulunmuştur. Bu fark western tip diyetle hipoksinin etkisinin daha belirgin görüldüğü şeklinde yorumlanabilir. Çünkü VEGF en çok hipoksiden etkilenmektedir.

Retina tabaka kalınlıkları karşılaştırıldığında; iç nükleer tabaka, iç plexiform tabaka ve ganglion tabaka kalınlıklarında gruplar arasında anlamlı fark görüldü. Bu üç tabakanın western diyet ile beslenme grubunda diğer gruplardan anlamlı olarak kalın olduğu görüldü. Dış nükleer tabakanın western diyet ile beslenme grubunda ketojenik diyet ile beslenme ve normal diyet ile beslenme grubuna göre anlamlı olarak kalın olduğu görüldü. VEGF'in bir diğer etkisi de vasküler permeabilityi artırmasıdır. Bunun sonucunda inflamasyon ve ödem miktarı da artar. Netice de her iki durum da doku kalınlaşması olarak karşımıza çıkar. Önceden de bahsedildiği gibi retinal ve korneal dokuların VEGF ile boyamalarında western tipi diyetle daha yoğun boyanma paterni izlendi. Bu durum kalınlık artışını açıklar mahiyettedir.



Koroid kalınlıkları karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı fark görülmedi (p: 0,118). Bu durumda koroidal etkilenme olmadığı sonucuna varılabilir. Ancak çalışmamızda histolojik kesitler değerlendirildiği için kesitin geçtiği anatomik bölge gruplar arasında standardize edilememiştir. Koroidal kalınlıkta bölgesel farklılıklar olabileceği bilinmektedir. Normalde koroid arka kutupta en fazla kalınlığa sahip olup (yaklaşık 200 µm) öne doğru giderek incelmektedir (yaklaşık 55 µm) (131).

LCHF diyetlerinin kısa vadede faydalı olabileceğini destekleyen yayınlar olmasına karşın uzun vadeli etkililiğini, güvenliğini ve sağlık yararlarını destekleyen az sayıda veri vardır (118). Sistematik bir inceleme ve meta-analizden sonra Naude ve ark., aşırı kilolu ve obez yetişkinler, tip 2 diyabeti olan veya olmayan, düşük CHO diyetlerine ve izoenerjetik dengeli kilo verme diyetleri randomize edildiğinde, 2 yıla kadar takipte kilo kaybı ve kardiyovasküler risk faktörlerinde muhtemelen çok az fark olduğu veya hiç fark olmadığı sonucuna varmıştır (119). Dyson, “Düşük karbonhidratlı diyetler ve tip-2 diyabeti konulu çalışmasında, durumun pek değişmediğini ifade etti (120). Tip-2 diyabetli insanlar için düşük karbonhidratlı diyetlerin kısa vadede kan şekeri regülasyonunda, kilo kaybında ve kardiyovasküler risk faktörlerinde azalmaya yol açabileceği sonucuna vardı. Genel olarak, LCHF diyetleri, daha yüksek karbonhidrat alımına sahip diyetlere kıyasla herhangi bir üstünlük göstermedi. Bu bulgulara dayanarak, düşük karbonhidratlı diyetlerin kısa vadede gerçekten güvenli ve etkili olduğu, ancak daha yüksek karbonhidrat içeriği içeren diyetlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak hiçbir fark olmadığı sonucuna varmıştır. Bu nedenle Dyson, tip-2 diyabetli kişilerin standart tedavisi olarak LCHF diyetinin önerilmemesi gerektiğini öne sürmektedir (120). Uzun vadeli LCHF diyetlerinin sağlık riskleri oluşturup oluşturmayacağı sorusuyla ilgili olarak, son zamanlarda LCHF diyetinin örneğin kolesterol, homosistein, vasküler esneklik parametrelerine etkileri üzerine yapılan bir dizi hayvan deneyinin ve insan çalışmalarının sonucu olarak vasküler sağlık üzerinde olumsuz etkilerinin gösterdiğinin göz ardı edilemeyeceği belirtildi. Düşük karbonhidratlı diyetlerin en tartışmalı yönü, daha yüksek yağ alımıyla ilişkili kardiyovasküler hastalık riskini artırabilmeleridir. Çok az sayıda çalışma olduğu için tip 2 diyabetli kişilerde bunun için çok az kanıt vardır (121-124). Düşük karbonhidratlı diyetlerin olumsuz yönleriyle ilgili diğer iddialar arasında beslenme eksiklikleri, yani vitaminler,

mineraller, diyet lifi ve antioksidan özelliklere sahip fitokimyasallar yer almaktadır (125).

Retina lezyonlarının başlangıcı, sıçan türleri arasında farklılık gösterir, ancak gözlemlenen birkaç fenotipte, diyabet başlangıcından 2 hafta sonra kan retina bariyeri yıkılır (126,127), dördüncü haftada dış nükleer tabaka incilmesi (126), 8 hafta sonra aselüler kapillerlerde artış, hem perisit hem de endotel hücre sayısında azalma (128) ve 1 yıl sonra bazal membran kalınlaşması (129) görülür. Her ne kadar belli süreler verilmiş olsa da bazen bu sürelerin bireysel farklılık gösterebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızda ketojenik diyet ile beslenme grubu, normal diyet ile beslenme grubu ve kontrol grubu arasında ne retina kalınlık karşılaştırmasında ne de immünohistokimyasal boyamalarda istatistiksel açıdan anlamlı fark görülmemiştir. Bu durum hayvanlarda diyabet oluşmasına rağmen deney süresinde diyabetik retinopati gelişmemiş olma ihtimalini de düşündürür. Her ne kadar yapılan çalışmalarda diyabetik ratlarda retinopatinin 2 haftadan sonra gelişmeye başlayacağı söylene de (126,127) ketojenik ve normal beslenme grubunda DRP gelişmemiş olma ihtimali varken western diyetle DRP'ye ait bulgular mevcuttur.

Çalışmamız bildiğimiz kadarıyla ketojenik diyet ve western diyetin ratlarda diyabetik retinopatiye etkileri üzerine yapılan ilk çalışmadır. Bu nedenle birbirine kıyaslayabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak, A. Al-Khalifa ve arkadaşlarının 2010 yılında yayınladığı, ratlarda ketojenik diyetin streptozotosin ile indüklenen diyabetten koruduğunu araştıran çalışmanın toplam süresi 12 haftadır. Streptozotosin enjekte edilmeden 8 hafta farklı beslenme modeli uygulanmış, streptozotosin uygulandıktan 4 hafta sonra çalışma sonlandırılmıştır. Çalışmanın sonucunda ketojenik diyet ile beslenen grupta kontrol grubuna göre diyabet açısından fark saptanmamış. Yani ketojenik diyetin diyabet oluşumundan koruduğu sonucuna varılmıştır. Bizim çalışmamızın süresi 10 hafta olarak planlandı. Ortalama rat ömrü dikkate alındığında bu sürenin diyabetik retinopati gelişmesi ve beslenmenin retinopatiye etkisinin ortaya çıkması için yeterli olacağını düşündük.

## 6. SONUÇLAR

Çalışmamızda DRP oluşturulmuş ratlarda western ve ketojenik diyetin kornea ve retina üzerine etkilerini irdeledik ve şöyle sonuçlar elde ettik:

Western tipi diyetin inflamasyonu artırdığı, çeşitli metabolik hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Çalışmamızda iç nükleer tabaka, dış nükleer tabaka, iç plexiform tabaka ve ganglion tabaka kalınlıklarının western diyet ile beslenme grubunda diğer gruplardan anlamlı olarak kalın olduğu görüldü. Buna göre western tipi diyetin vasküler permeabiliteyi, inflamasyonu ve dolayısıyla hücrel ödemi artırdığı, sonuç olarak doku kalınlaşmasına neden olduğu söylenebilir.

Ketojenik diyet son zamanlarda gündemde olan, kısa vadede olumlu sonuçlar bildirilmesine karşın uzun vadede etkisi bilinmeyen bir beslenme türüdür. Çalışmamızda VEGF boyamasında ve retinal doku kalınlıkları karşılaştırmasında ketojenik diyetin western tipi diyete göre diyabetin yıkıcı etkilerini daha az gösterdiği görülmektedir. Ancak bu durum çalışmamızın mevcut süresi içinde geçerli olup uzun vadede nasıl sonuçlanacağı yapılacak daha uzun süreli deneysel ve klinik araştırmalarca değerlendirilmelidir.

## KAYNAKÇA

1. *Classification of newly diagnosed diabetic patients as insulin-requiring or non-insulin-requiring based on clinical and biochemical variables.* . Hother-Nielsen O, Faber O, Sørensen NS, Beck-Nielsen H. 11, 1988, Diabetes Care , s. 531-537.
2. *Streptozotosin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Meşe Palamudu (Quercus branti Lindl.) Ekstraktların Karaciğer ve Pankreası Koruyucu Etkileri.* YAMAN, Turan ve DOĞAN, Abdulahad. 2016, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.
3. *The endocrine system: 8th Ed.* Marieb, E ve Hoehn, K. United States of America : yazarı bilinmiyor, Benjamin Cummings, s. 626-627.
4. *Diabetes and vascular disease pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy.* Paneni, F, ve diğerleri. 34, 2013, Heart, s. 2436-2443.
5. *Kanski JJ. Clinical ophthalmology. 7th ed. China: Elsevier Saunders; . 2011. s. 534-51.*
6. *The vascular endothelial growth factor (VEGF)/VEGF receptor.* Takahashi, H ve Shibuya, M. 2005, Clin Sci (Lond).
7. *Pathways to caspase activation.* Wang, Zi-Bing, Liu, Yu-Qing ve Cui, Yu-Fang . 2005, Cell Biology International.
8. *Antihyperglycemic effect of thymoquinone and oleuropein, on streptozotocin induced diabetes mellitus in experimental animals.* Sangi, S.M, ve diğerleri. 11, 2,armacogn Mag, s. 251-257.
9. *Broccoli sprouts reduce oxidative stress in type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial.* Bahadoran, Z, ve diğerleri. 65, Eur J Clin Nutr, s. 972-977.
10. *Lifestyle management: Standards of Medical Care in Diabetes.* 41, 2018, American Diabetes Association, s. 38-50.
11. *Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes.* Evert, A.B., ve diğerleri. 36, 2013, Diabetes Care, s. 3821-3824.
12. *Prevention and management of type 2 diabetes: Dietary components and nutritional strategies.* Ley, S.H, ve diğerleri. 2014, Lancet, s. 383.
13. *The ketogenic diet: from molecular mechanisms to clinical effects.* . Freeman, J, ve diğerleri. 68, 2006, Epilepsy Res, s. 145-80.
14. Müftüoğlu, G, Aydın O'Dwyer, Pınar ve Aydın Akova, Yonca. *Retinanın vasküler hastalıkları. In: Temel Göz Hastalıkları.* basım yeri bilinmiyor : Güneş Tıp Kitabevleri, 2010.
15. LA, Remington. *Clinical anatomy and physiology of the visual system.* 2009.
16. Ryan, SJ. *Retina.* 4. Philadelphia : yazarı bilinmiyor, 2006.
17. *The molecular control of angiogenesis.* Distler, O, ve diğerleri. 21(1), 2002, Int Rev Immunol, s. 33-49.
18. *Vascular endothelial growth factor and its receptors.* . Klagsbrun, M ve D'Amore, PA. 7(3), 1996, Cytokine Growth Factor, s. 259-270.
19. Rosenblatt, B.J. ve Benson, W.E. Diabetic Retinopathy. *Ophthalmology. Second ed. Eds: Yanoff M, Duker J. By Mosby.* 2003, s. 877-886.
20. *Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes.* . Lillioja S, Mott DM, Spraul M, et al. 1993;1988, Prospective Study of Pima Indians N Engl J Med, s. 329,92.
21. Gedik, Olcay, ve diğerleri. *Diabetes mellitus. Hacettepe İç Hastalıkları Kitabı.2 Baskı.* basım yeri bilinmiyor : Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 2004, s. 495-529.

22. Wing, Rena R , ve diğeri. Caloric restriction per se is a significant factor in improvements in glycemic control and insulin sensitivity during weight loss in obese NIDDM patients. *Diabetes Care*. 1994, s. 17:30-6.
23. *Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus*. Cheng AY, Fantus IG. 2005; CMAJ, s. 172:213-26.
24. Satman, İ. Diabetes Mellitus'un epidemiyolojisi, Her Yönüyle Diabetes Mellitus. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevleri, 2001, s. 69-84.
25. *The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis is less than 30 years*. Klein, R, ve diğeri. 102, 1984, Arch Ophthalmology, s. 520-6.
26. *The Wisconsin epidemiologic study of diabetic retinopathy: III. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age at diagnosis 30 or more years*. Klein R, Klein BE, Moss SE, et al. 102, 1984, Arch Ophthalmol, s. 527-32.
27. Retinanın Vasküler Hastalıkları . *J.J. Kanski Klinik Oftalmoloji 4. Baskı* . basım yeri bilinmiyor : NOobel Tıp kitapevleri, 2001 , s. 463-79.
28. Retinal Vascular Disease. *J.J. Kanski Clinical Ophthalmology 6th*. 2007, s. 566-84.
29. *İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fak. Diyabetes Mellitus Sempozyumu* . Karaçorlu, Murat. İstanbul : yazarı bilinmiyor, 18–19 Aralık 1997. Diyabetik Retinopati.
30. Med, N Engl J. *The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus*. basım yeri bilinmiyor : Diabetes Control and Complications Trial Research Group, 1993.
31. *Standards of medical care for patients with diabetes mellitus*. . Association, American Diabetes. 21, 1998, Diabetes Care, s. 23–31.
32. E, Rosenblatt B.J. Benson W. Diabetic retinopathy. *Yanoff M, Duker JS, Editor. Ophthalmology İkinci Basım*. 2004, s. 877–886. .
33. J, Br Med. *UK Prospective Diabetes Study Group: Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes*. UK : yazarı bilinmiyor, 1998.
34. Klein R, Klein BEK, Moss SE, Cruickshanks KJ. *The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy: XVII. The 14-year incidence and progression of diabetic retinopathy and associated risk factors in type1 diabetes*. 1998.
35. *Progression of diabetic retinopathy in pregnancy: association with hypertension in pregnancy*. Rosenn, Barak, Miodovnik, Menachem ve Kranias, George. 1992, American Journal of Obstetrics and Gynecology, Cilt 114, s. 1219-28.
36. *Epidemiology of diabetic retinopathy*. Klein R, Kklein B. 1992, Diabetes Care, Cilt 91, s. 15.
37. Klein R, Klein BEK, Moss SE, et al. *The Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy. II. Prevalence and risk of diabetic retinopathy when age is less than 30 years*. 1984;102:520–6.
38. *Lipid lowerind drug atorvastatin as an adjunct in the management of diabetic macular edema*. Gupta A, Gupta V. 2004, Am J ophthalmology, Cilt 137, s. 675-682.
39. *The relationship between hemoglobin levels and diabetic retinopathy*. . Qiao, Q, Keinanen-Kiukaanniemi, S ve Laara, E. 50, 1997, J Clin Epidemiol, s. 153–8.

40. *Risk factors for diabetic retinopathy: Findings from The Andhra Pradesh Eye Disease Study*. Krishnaiah S, Das T, Nirmalan PK, Shamanna BR, Nutheti R, Rao GN, Thomas R. 2007;1:475-82. , Clin Ophthalmol .
41. *Cigarette smoking diabetes:an update.* . I., Muhlhauser. 1994;11: 36-3 , Diabet Med .
42. *Effect of alcohol consumption on diabetes mellitus.* Howard A, Arnsten J, Gourevitch M. 3, 2004, Ann İnt Med, s. 211-6.
43. *Laser Treatment of Diabetic Retinopathy.* . GE., Lang. 39, 2007, Dev Ophthalmol, s. 48-68.
44. *Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in US adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994.* . Harris M, Flegal KM, Cowie CC, et al. 21, 1998, Diabetes Care , s. 518–24.
45. Frank, NR. On the Pathogenesis of Diabetic Retinopathy. . *Ophthalmology* . 1984, s. 626- 34.
46. *Aldose reductase in retinal muracells.* Buzney, SM, Frank, RN ve Varna, SD. 1977, Invest Ophtalmol Vis Sci, s. 392-6.
47. Frank, RN. Etiologic mechanism in diabetic retinopathy. *Ryan S S, ed. Retina Vol: 2 Medical retina St. Louis CV Mosby.* 1989, s. 301-26.
48. Pierce, E, Foley, E ve Smith, L. Regulation of vascular endothelial growth factor by oxygen in a model of retinopathy of prematurity. *Ophthalmology.* 1996, Cilt 114, s. 1219-28.
49. *Vascular endothelial growt factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders.* Aiello, L, Avery, R ve Arrigg, P. 331, 1994, N Engl J Med., s. 1480-7.
50. *Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.13.* Vincenti, V, ve diğerleri. 93(8), 1996, Circulation, s. 1493-1495.
51. *HIF alpha targeted for VHL-mediated destruction by Proline Hydroxylation: Implications for O2 Sensing.* Ivan M, Kondo K, Yang H, et al. 2001, science.
52. *Identification of a new endotelial growth factor receptor tyrosine kinase.* Terman, BI, ve diğerleri. 1991, Oncogene.
53. *Role of vascular endothelial growth factor in ocular angiogenesis.* Shams, N ve Ianchulev, T. 2006, Clinical Ophthalmology.
54. *Distribution of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in tumors:concentration in tumor blood vessels.* Dvorak HF, Sioussat TM, Brown LF, Berse B, Nagy JA, Sotrel A, Manseau EJ, Van de. 1991, J Exp Med.
55. *Regulation of cardiac myocyte cell death.* Clerk A, Cole SM, Cullingford TE, Harrison JG, Jormakka M, Valks DM. 2003, Pharmacol Ther.
56. *The inhibitor of apoptosis protein family (IAPs): an emerging therapeutic target in cancer.* Nachmias B, Ashhab Y, Ben-Yehuda D. 2004, Semin Cancer Biol.
57. *Protease signalling in cell death: caspases versus cysteine cathepsins.* Turk, Boris ve Stoka, Veronica. 2007, FEBS letters, s. 581:2761-7.
58. *Detection of DNA fragmentation and endonucleases in apoptosis.* Walker, P.Roy, ve diğerleri. 1999, Methods, s. 17:329-38.
59. *Laser Treatment of Diabetic Retinopathy.* Lang, GE. 39, 2007, Dev Ophthalmol, s. 48-68.
60. *Diabetic microangiopathy. physiopathological, clinical and therapeutic aspects.* Camera, A, Hopps, E ve Caimi, G. 32, 2007, Minerva Endocrinol., s. 209-29.

61. *Factors controlling ocular angiogenesis*. Casey, R ve Li, WW. 124, 1997, Am J Ophthalmol, s. 521-9.
62. *Diabetic Retinopathy Disease Severity Scale*. 2002, American Academy of Ophthalmology.
63. *Diabetic Retinopathy*. . Aiello, LM, Covallareno, JD ve Aiello, LP. 1999, Retina. Vitreous. Macula. WB Saunders Co. Toronto, s. 316-344.
64. Bayraktar, MZ, ve diğlerleri. Diyabetik Makülopati ve Tedavisi. *Diyabetik retinopati*. İstanbul : Dilek Ofset, 2000, s. 23-36.
65. *Background diabetic retinopathy*. *The CV Mosby Company, St Louis, Baltimore, Toronto*.8. Bresnick, GH. 1994, Retina. , s. 1277-1318.
66. *Clinically significant macular edema in type I diabetes. Incidence and risk factors*. . Vitale, S, Maguire, MG ve Murphy, RP. 102, 1995, Ophthalmology, s. 1170-1176.
67. *Association of elevated serum lipid levels with retinal hard exudate in diabetic retinopathy*. Chew, EY, Klein, ML ve Ferris, FL. 114, 1996, Arch Ophthalmol, s. 1079-84.
68. *Risk factors for high risk proliferative diabetic retinopathy and severe visual loss: ETDRS Report 18*. Davis, D, ve diğlerleri. 1998, Invest. Ophthalmol Vis. Sci., s. 233-252.
69. *The effect of patient characteristics on response to focal laser treatment for diabetic macular edema*. Browning, DJ, ve diğlerleri. 1997, Ophthalmology, s. 466-472.
70. *Diyabetik maküla ödemi ve tedavisi. Maküla hastalıkları*. Bayraktar, MZ. Ankara : yazarı bilinmiyor, 2001:119-128. TOD Ankara Şubesi XXI. Ulusal Oftalmoloji Kursu.
71. *Focal photocoagulation treatment of diabetic macular edema: Relationship of treatment effect to fluorescein angiography and other retinal characteristics at baseline. ETDRS Report Number 19*. ETDRS Research Group. 113:, 1995, Arch Ophthalmol., s. 1144-1155.
72. *New surgical approach for removing massive foveal hard exudates in diabetic macular edema*. Takagi, H, ve diğlerleri. 106, 1999, Ophthalmology, s. 249-256.
73. *Surgical Treatment for severe Diabetic Macular Edema with Massive Hard Exudates Retina*. Chung, May ve Yong. 2, s. 121-125.
74. *Vitreotomy for diabetic macular edema associated with a taut premacular posterior hyaloid*. Pendergast, S.D. 9, 1998, Curr. Opin., s. 71-75.
75. *Association between the short term natural history of diabetic macular edema and the vitreomacular relationship in type II diabetes mellitus*. Hikich, T, ve diğlerleri. 1997, Ophthalmology, s. 473-8.
76. *Resolution of Diabetic Macular Edema After Surgical Removal of the Posterior Hyaloid and the Inner Limiting Membrane*. Gandorfer, A, Messmer, E.M ve Ulbig, at el.: vol. 20, Number 2:, 2000, Retina., s. 126-133.
77. *A pilot study of multiple intravitreal injections of ranibizumab in patients with center-involving clinically significant diabetic macular edema*. Chun, DW, ve diğlerleri. 113, 2006, Ophthalmology, s. 1706-12.
78. *Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy*. . Avery, rl, ve diğlerleri. 113, 2006, Ophthalmology, s. 1695.e1-15.
79. *Diyabetik Makülopatide Medikal Tedavi*. . A.O, Saatci. 2004, Ret-Vit , s. 12:267-70.

80. *Standards of medical care for patients with diabetes mellitus*. Association, American Diabetes. 23–31, 1998, *Diabetes Care*, Cilt 21.
81. *Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes*. UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. 317, 1998, *Br Med J*, s. 703-13.
82. Eğrilmez, Sait. Korneanın Anatomi, Fizyoloji ve Doku İyileşmesi. *Akademik Eğitim Programı 27. Ulusal Oftalmoloji Kurs Kitabı*. Ankara, : yazarı bilinmiyor, 2007, s. 201-213.
83. *Corneal Thickness*. Saiichi, Michima. 13, 1968, *Survey of Ophthalmology*, s. 57-96.
84. Aydın Akova, Yonca ve Aydın, Pınar. Kornea Hastalıkları. *Temel Göz Hastalıkları*. 2. Basım . basım yeri bilinmiyor : Güneş Tıp Kitapevleri., 2010, s. 205-206.
85. Ming, XW, ve diğerleri. Corneal Disease. *In Ophthalmology Yanoff M & Duker JS*. 2011.
86. *Epithelial-stromal interactions in human keratotomy wound healing*. Melles, G.R, ve diğerleri. 113, 1995, *Arch Ophthalmol*, s. 1124-1130.
87. *Type V collagen and Bowman's membrane. Quantitation of mRNA in corneal epithelium and stroma*. Gordon, M.K, ve diğerleri. 269, 1994, *J Biol Chem*, s. 24959-24966.
88. *Bowman's layer structure and function: critical or dispensable to corneal function? A hypothesis*. Wilson, S.E. ve Hong, J.W. 19, 2000, *Cornea* , s. 417-420.
89. *Cornea: fundamentals, diagnosis and management*. Krashmer, JH, Mannis, MJ ve Holland, EJ. 1, 2005, *Cornea*, s. 3-27.
90. *Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer)*. Dua, HS, ve diğerleri. 120(9), 2013, *Ophthalmology*, s. 1778-85.
91. *Efficacy, safety, and tolerability of the low glycemic index treatment in pediatric epilepsy*. Muzykewicz, David A, ve diğerleri. 2009, *Epilepsia*.
92. *The Ketogenic Diet: One Decade Later*. John M. Freeman, MD, Eric H. Kossoff, MD, Adam L. Hartman, MD. 2019, *Pediatrics*, s. 119.
93. *History of the ketogenic diet*. JW, Wheless. 2008, *Epilepsia*.
94. *Ketogenic diet for treatment of epilepsy*. Alexander L. Rogovik, Ran D. Goldman. 2010., *Canadian Family Physician*.
95. *Differential Metabolic Effects of Saturated Versus Polyunsaturated Fats in Ketogenic Diets*. Brian SF, Michael S. Rutenberg JN. Silver MW, Warren DW, Theriaque GE, Duncan P, Stacpoole W, Mark LB. 2004, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, s. 89(4):1641–1645.
96. Champe, Pamela C., Harvey, Richard A. ve Ferrier, Denise R. *Lippincott's Illustrated Reviews serisi*. basım yeri bilinmiyor : Nobel Tıp Kitapevleri, 2007.
97.  *$\beta$ -Hydroxybutyrate in the Brain: One Molecule, Multiple Mechanisms*. Lavanya B. Achanta, Caroline DR. 2016, *Springer Science+Business Media*.
98. *The ketogenic diet changes metabolite levels in hippocampal extracellular fluid*. Samala, Ramakrishna , Klein, Jochen ve Borges, Karin . *Neurochemistry International*.
99. *The contribution of ketone bodies to basal and activity-dependent neuronal oxidation in vivo*. Chowdhury GM, Jiang L, Rothman DL, Behar KL. 2014, *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*.



100. *Ketogenic diet and metabolic therapies: expanded roles in health and disease.* . (Ed.), Masino SA. 2016, Oxford University Press.
101. *Reduced pain and inflammation in juvenile and adult rats fed a ketogenic diet.* Ruskin, David N. , Kawamura, Masahito ve Masino , Susan A. 4, 2009, Plos One, s. 12.
102. *Ketogenic diet exhibits anti-inflammatory properties.* Nina D, Niccolo C, Jean-François B, Stephane A. 56, 2017, Epilepsia. , s. 7.
103. *Ketogenic Diet Impairs FGF21 Signaling and Promotes Differential Inflammatory Responses in the Liver and White Adipose Tissue.* Mohamed Asrih, Jordi Altirriba, Françoise Rohner-Jeanrenaud, François R. Jornayvaz. 2015, Plos One, Geneva.
104. *Inflammation-mediated memory dysfunction and effects of a ketogenic diet in a murine model of multiple sclerosis.* Kim DY, Hao J, Liu R, Turner G, Shi FD, Rho JM. 2012;7(5): e35476, Plos One.
105. *Streptozotocin, a new antibiotic in vitro and in vivo evaluation.* Lewis, C ve Barbiere, AR. 22, 1960, Antibiot Ann , s. 247–54.
106. *Streptozotocin.* White, F.R. 30, Cancer Chemotherapy Reports, s. 49–53.
107. *Experimental models of diabetes. 1st ed.* . McNeill , J. Florida : yazarı bilinmiyor, 1999, CRC Press LLC.
108. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas.* . Szkudelski, T. 50, 2001, Physiol Res, s. 537–46.
109. *Genotoxicity of streptozotocin.* Bolzán, AD ve Bianchi, MS. 512(2–3), 2002, Mutat Res, s. 121–34.
110. *Inducement by fat feeding of basal hyperglycemia in rats with abnormal  $\beta$ -cell function: model for study of etiology and pathogenesis of NIDDM.* Pascoe, W.S. ve Storlien, L.H. 39 (2), 1990, Diabetes, s. 226-233.
111. *Streptozotocin.* Schafer, Q.F., Spitz, D.R. ve Domann, F.E. 342, 2001, Free Radicals in Biology and Medicine. , s. 63-64.
112. *Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies.* . McCarty , KS, ve diğerleri. 109, 1985, Arch Pathol Lab Med, s. 716-721.
113. *Empiric use of oral potassium citrate reduces symptomatic kidney stone incidence with the ketogenic diet.* .; McNally, MA, Pyzik, PL ve Rubenstein, JE. 124, 2009, Pediatrics, s. 300–304.
114. *Ketogenic diet modifies the risk factors for heart disease in obese patients.* Dashti, HM, ve diğerleri. 19, 2003, Nutrition, s. 901-2.
115. *Long term effects of ketogenic diet in obese subjects.* Dashti, HM, ve diğerleri. 9(3, 2004, Exp Clin Cardiol, s. 200-5.
116. *Long term effects of ketogenic diet in obese subjects with high cholesterol level.* Dashti, HM, ve diğerleri. 286, 2006, Mol Cell Biochem, s. 1-9.
117. *Beneficial effects of ketogenic diet in obese diabetic subjects.* Dashti, HM, ve diğerleri. 302(1–2), 2007, Mol Cell Biochem, s. 249–56.
118. *Global status report on noncommunicable communicable diseases.* basım yeri bilinmiyor : World Health Organization, 2015.
119. *Low carbohydrate versus isoenergetic balanced diets for reducing weight and cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis.* . Naude, CE, ve diğerleri. 9(7):e100652, PLoS One.

120. *Low carbohydrate diets and type 2 diabetes: what is the latest evidence?* Dyson, P. 6(4), 2015, Diabetes Therapy, s. 411–424.
121. *Low-carbohydrate nutrition and metabolism.* Westman, EC, ve diğerleri. 86(2), 2007, Am J Clin Nutr, s. 276–284.
122. *Effects of low-carbohydrate diets versus low-fat diets on metabolic risk factors: a metaanalysis of randomized controlled clinical trials.* Hu, T, ve diğerleri. Am J Epidemiol, s. 44–54.
123. *Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials.* Mansoor, N, ve diğerleri. 115(03), 2016, Br J Nutr, s. 466–479.
124. *The cardiovascular risk reduction benefits of a low-carbohydrate diet outweigh the potential increase in LDL-cholesterol.* Wood, TR, ve diğerleri. 115(6), 2016, Br J Nutr, s. 1126.
125. *When and why carbohydrate restriction can be a viable option.* Liebman, M. 30, 2014, Nutrition, s. 748–754.
126. *Intravitreal injection of erythropoietin protects both retinal vascular and neuronal cells in early diabetes.* Zhang, J, ve diğerleri. 49(2), 2008, Invest Ophthalmol Vis Sci Assoc Res Vis Ophthalmol., s. 732–42.
127. *Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy.* Rungger-Brändle, E, Dosso, AA ve Leuenberger, PM. 41(7), 2000, Invest Ophthalmol Vis Sci Assoc Res Vis Ophthalmol., s. 1971–80.
128. *Jiangtang Xiaozhi recipe (降糖消脂方) prevents diabetic retinopathy in streptozotocininduced diabetic rats.* Li, L, ve diğerleri. 2016, Chin J Integr Med Springer, s. 1–8.
129. *Induction of alloxan/streptozotocin diabetes in dogs: a revised experimental technique.* Anderson, HR, ve diğerleri. 27(3), UK: London, England. : yazarı bilinmiyor, 1993, Lab Anim SAGE Publications Sage, s. 281–5.
130. *Vitrectomy for diffuse diabetic macular edema associated with a taut premacular posterior hyaloid.* Pandergast, S.D., Hassan, T.S ve Williams, at el.: 130 (12), 2000, AMJ. Ophth, s. 175-86.
131. *Zewis, H., Abrams, G.W., Blumenkranz, M.S.et al.:Vitrectomy for diabetic macular traction and edema associated with posterior hyaloid traction.* Zewis, H, ve diğerleri. 99, 1992, Ophthalmology, s. 753-59.
132. *Intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes( UKPDS 34).* UK Prospective Diabetes Study Group. 21, 1998, Lancet, s. 23-31.
133. *Primate Retina and Choroid: Atlas of Fine Structure in Man and Monkey.* Krebs, W ve Krebs, I. New York : yazarı bilinmiyor, 1991, Springer-Verlag.

# ÖZGEÇMİŞ

## **I- Bireysel Bilgiler**

Adı-Soyadı: Halil İbrahim Sönmezoğlu

Uyruğu: Türk

Yabancı dili: İngilizce

## **II- Eğitimi**

2009-2015 Düzce Üniversitesi

2005-2009 Malatya Anadolu Lisesi

2002-2005 Cumhuriyet İlköğretim Okulu

## **III- Ünvanları**

2015-Tıp Doktoru

2016-Araştırma Görevlisi

## **IV- Mesleki Deneyimi**

2015-2016 Kocaeli Derince Toplum Sağlığı Merkezi

2016-Halen Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Araştırma Görevlisi