



KİŞİYE ÖZEL
T.C.
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü
Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı Başkanlığı



Sayı : E-72011914-604.01.02-264820
Konu : Proje Sonuç Raporu

GÜNLÜDÜR
29.11.2023

BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİNE

Proje Yürütücülüğünü yapmış olduğum 2019/5-24 M No'lu ve "Diabetik retinopatisi olan olgularda G Protein Associated Estrogen Reseptör (GPER) 1 düzeylerinin değerlendirilmesi." proje sonuç raporu olarak ekte sunulmuştur.

Doç. Dr. Abdullah BEYOĞLU
Öğretim Üyesi

Ek: Abdullah Beyoğlu Proje Sonuç Kitabı (25 Sayfa)

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu :BS4NMSKVHH Pin Kodu :26103

Belge Takip Adresi : <https://www.turkiye.gov.tr/sutcu-imam-universitesi-ebys>

Adres:Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi - Avşar Mah. Batı Çevreyolu Blv.

No: 251/A 46040 - Onikişubat/Kahramanmaraş

Telefon:+90 (344) 300 34 08 Faks:+90 (344) 300 34 09

e-Posta:genelsekreterlik@ksu.edu.tr Elektronik Ağ:http://tipfakultesi.ksu.edu.tr/

Bilgi için: Abdullah BEYOĞLU

Unvanı: Öğretim Üyesi



Bu belge güvenli Elektronik imza ile imzalanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=5637&ed=BSCNMSK906&es=264820> adresinden yapılabilir.



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ
SONUÇ RAPORU

F-6

Proje Adı

Diabetik retinopatisi olan olgularda G Protein Associated Estrogen Reseptör (GPER) 1 düzeylerinin değerlendirilmesi

Proje No	Başlama Tarihi	Bitiş Tarihi	
2019/5-24 M	05-11-2019	05-08-2021	
Rapor Türü	Raporun Kapsadığı Dönemin Tarihleri		
Sonuç Raporu	08-08-2021	05-02-2022	
Bilimsel Araştırmalar Birimi Tarafından Sağlanan Destek Miktarı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan
16.200,00 TL		16.193,52 TL	6,48 TL
Destek Sağlayan Diğer Kuruluşların Katkısı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan

SAĞLANAN DESTEKTEN ŞİMDİYE KADAR YAPILAN HARCAMALARIN FASILLARA GÖRE DAĞILIMI

Fasıl	Harcanan	Kalan
TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	16.193,52 TL	6,48 TL

RAPOR DÖNEMİNE AİT İLGİLİ YAYINLAR

No	Yayın
1	Abdullah BEYOĞLU, Ergül Belge Kurutaş, Yalçın Karaküçük, Ayşegül Çömez, Ali Meşen, Comparing the effects of serum GPER-1 and oxidant/ antioxidant levels on retinopathy in patients with diabetes and healthy individuals: a pilot study, Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, 87(1), xx (2024).

RAPOR DÖNEMİNE AİT İLGİLİ FİKRİ MÜLKİYETLER

No	Fikri Mülkiyet Adı	Fikri Mülkiyet No	Alındığı Ülke	Tescil Tarihi
----	--------------------	-------------------	---------------	---------------

RAPOR DÖNEMİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR VE ELDE EDİLEN SONUÇLAR

Sonuç Rapor Özeti :

Amaç: Diabetik hastaların serum G reseptör aracılı protein-1 (GPER-1) düzeylerinin retinopati gelişimi ve prognoza etkisini sağlıklı bireyler ile karşılaştırarak tespit etmek ve yeni tedavi seçeneklerine katkıda bulunmak amaçlandı. Materyal ve Metod: Prospektif çalışmaya 80 Tip 2 diyabetik hasta (40 Diyabetik retinopati (DR)(Grup 1) + 40 diyabetik retinopati olmayan (NDR)(Grup 2)) ve 40 sağlıklı birey (Grup 3) dahil edildi. Tam bir oftalmolojik muayeneden sonra hastalardan venöz kan alındı. Alınan örneklerde serum oksidan/anti-oksidan, GPER-1, östrodiol, progesteron ve Tiroid salgılatıcı hormon (TSH) bakılarak sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldı. Grupların normal dağılıma uyduğu görüldü. Demografik veriler için Ki-Kare testi, grupların analizi için ANOVA testi yapıldı. Subgrup karşılaştırma için posthoc analiz uygulandı. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi. Bulgular: Gruplar arası yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel fark yoktu. (sırası ile; $p = 0.527$, $p = 0.699$) GPER-1, oksidan/anti-oksidan ve östrodiol açısından gruplar arasında fark vardı. (all group; $p < 0.01$) TSH ve Progesteron açısından gruplar arası fark saptanmadı. (sırası ile; $p = 0.496$, $P = 0.220$) İstatistiksel anlamlı grupların posthoc analizinde GPER-1 ve oksidan/anti-oksidanlar açısından tüm gruplar arasında fark vardı. (all group; $p < 0.05$) Östrodiol açısından Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı fark saptandı. ($p = 0.002$) GPER-1 ile oksidan arasında pozitif yönlü korelasyon, anti-oksidan ile negatif yönlü korelasyon görüldü. (sırası ile; $r = 0.622/p < 0.01$, $r = 0.453/p < 0.01$, $r = 0.460/p < 0.01$) Çoklu regresyon analizinde DR varlığında diyabet süresi ile birlikte GPER-1'in anlamlı yüksekliği saptandı. Sonuç: Çalışmamızda GPER-1 seviyesi DR grupta en yüksek seviyede bulundu. Oksidan/anti-oksidan dengesi oksidatif stres lehine bozuldukça GPER-1 seviyesinin daha fazla arttığı saptandı. Bu durum nöronal hasarın önüne geçmek için oluşturulan savunma mekanizmalarından olabilir. Bu nedenle GPER-1, DR açısından erken dönemde komplikasyonların önüne geçilmesinde ve yeni tedavi modellerini oluşturmada önemli olabilir. Anahtar Kelimeler: Diyabetik retinopati, GPER-1, östrodiol, progesteron, TSH, oksidatif stres.

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5637&eD=BSCNMSK906&eS=264820> adresinden yapılabilir.

Rapor içeriği için lütfen eke bakınız.

EK: [Proje Sonuç Kitabı Abdullah Beyoğlu.pdf](#)

Demirbaş[Taşınır Alımları

Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Proje Yürütücü Unvanı, Adı SOYADI	İmzası	Tarih
Doç.Dr. Abdullah BEYOğLU		07-11-2023



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİNE

Proje Numarası :	2019/5-24 M
Projenin Adı :	Diabetik retinopatisi olan olgularda G Protein Associated Estrogen Reseptör (GPER) 1 düzeylerinin değerlendirilmesi
Projenin Türü :	Münferit Proje (M)
Proje Yön. Univ.-Adı-Soyadı :	Doç.Dr. Abdullah BEYOĞLU
Görev Yeri :	Tıp Fakültesi
Bölümü :	Cerrahi Tıp Bilimleri
Sözleşmeye Göre Projenin	
Başlangıç Tarihi :	05-11-2019
Bitiş Tarihi :	05-08-2021
Alınan Ek Süre :	15 Ay
Sonuç Raporu Tarihi :	07-11-2023
Proje Bütçesi :	11.000,00 TL
Alınan Ek Ödenek :	5.200,00 TL
Projenin Toplam Bütçesi :	16.200,00 TL
Harcanan Miktar :	16.193,52 TL
Proje Kalan Bütçesi :	6,48 TL
İşyeri Telefon Numarası :	(530)960-4594
Cep Telefon Numarası :	(530)960-4594
Proje Yöneticisinin İş Adresi :	ksü tıp fakültesi göz hastalıkları anabilim dalı
Demirbaş[Taşınır Alımları	Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Projemin sonuç raporunun kabulünü arz ederim./...../202..

Doç.Dr. Abdullah BEYOĞLU
(İmza)

Projemin Sonuç Raporunun, Üniversitemiz BAP/Kütüphane İnternet Sayfasında;

- | | |
|---|-------------------------------------|
| 1.Yayınlanmasına İzin Vermiyorum. | ☐ |
| 2.Sadece Özetin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. | ☐ |
| 3.Tam Metin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. | ☒ |
| 4. Tarihinden İtibaren Tam Metin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. | ☐ |



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM
ÜNİVERSİTESİ**

DIABETİK RETİNOPATİSİ OLAN OLGULARDA G PROTEİN İLİŞKİLİ
ÖSTROJEN RESEPTÖR 1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ**

2023 KAHRAMANMARAŞ

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?eK=5637&eD=BSCNMSK906&eS=264820> adresinden yapılabilir.

PROJE KONUSU

DIABETİK RETINOPATİSİ OLAN OLGULARDA G PROTEİN İLİŞKİLİ
ÖSTROJEN RESEPTÖR 1 DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Proje No: 2019/5-24 M

**DOÇ. DR. ABDULLAH BEYOĞLU
DOÇ. DR. YALÇIN KARAKÜÇÜK
DOÇ. DR. AAYŞEGÜL ÇÖMEZ
PROF. DR. ERGÜL BELGE KURUTAŞ**

2023 KAHRAMANMARAŞ

ÖNSÖZ

G-protein bağılı östrojen reseptörü (GPER) 17 β -estradiole yüksek afinite ile bağlanan bir transmembran östrojen reseptörüdür. GPER, endoplazmik retikulumda (ER) lokalizedir. Üreme sistemi, sinir sistemi, endokrin, bağışıklık ve kardiyovasküler sistemler gibi birçok dokuda varlığı ispatlanmıştır. Ayrıca retinada GPER ekspresyonu bildirilmiştir.

Oksidatif stres, oluşturduğu protein hasarı nedeni ile ER üzerinde stres yaparak homeostatic dengenin bozulmasına yol açar. Bu durum hücrelerin hasarlanması ve apoptoza gitmesine neden olur. GPER'in uyarılmasına bağılı aktivasyonu ile hücrelerde serbest oksijen radikallerinin (ROS) azalması sağlanarak ER üzerindeki stresin hızla azaldığı bildirilmiştir. DR'nin patogeneğinde oluşan oksidasyon ve inflamatuvar mediatörlerin azaltılması için çeşitli tedavi yöntemleri kullanılmaktadır (Anti-VEGF, Steroid, Laser). Ancak retina nörodejenerasyonunun DR'nin bağımsız bir patofizyolojisi olabileceği ve daha erken hasarın saptanarak tedavisine başlanması için yeni moleküler mekanizmaların araştırılması gereksimi bildirilmiştir.

Çalışmamızda nöroprotektif etkisi olduğu kanıtlanmış GPER'in retina üzerindeki etkinliklerini belirlemede yol gösterici olmasını düşündüğümüz diyabetik hastalar ile sağlıklı bireylerin serum GPER seviyeleri arasında karşılaştırma yapılmıştır. Bunun ilerde DR tedavisinde yeni tedavi molekülleri çalışmalarına katkı sağlaması amaçlanmıştır.

Bu bilimsel araştırma projesi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi tarafından proje numarası 2019/5-24 M ile desteklenmiştir. Destekleri için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Projenin başlama tarihi 05/11/2019 ve bitiş tarihi 05/11/2022'tür.

Proje Yürütücüsü
Doç. Dr. Abdullah Beyoğlu

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ.....	III
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2. MATERYAL VE YÖNTEM (METOD)	15
2.1. İKİNCİ DERECEDEN BAŞLIK	15
2.1.1. Üçüncü Dereceden Başlık	15
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	16
3.1. İKİNCİ DERECEDEN BAŞLIK	16
3.1.1. Üçüncü Dereceden Başlık	16
3.1.2. Üçüncü Dereceden Başlık	16
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	17
KAYNAKLAR.....	18

TABLÖLAR DİZİNİ

Table 1: Demographic and clinical characteristic of groups

Chacteristic	Group 1 (n ₁ :40)	Group 2 (n ₂ :40)	Group 3 (n ₃ :40)	p value*
	Mean+SD	Mean+SD	Mean+SD	
Age (years)	57.47±6.40	56.02±6.79	55.75±8.52	0.527*
Gender	19/21	21/19	20/20	
(Male/Female)	47.5% / 52.5%	52.5% / 47.5%	50.0% / 50.0%	0.699*
DM (years)	11.82±5.95	6.1±2.47	N	<0.01*

n₁: Number of Diabetic Retinopathy subject.

n₂: Number of Non-Diabetic Retinopathy subject.

n₃: Number of Control subject.

DM; Diabetus Mellitus, SD; Standart deviation.

*Chi-square test.

P value of <0.05 was considered as significant, shown in bold.

Table 2: Comparison of groups in terms of GPER-1, hormones and oxidative markers.

	Group 1^a	Group 2^b	Group 3^c	P value
	n₁:40	n₂:40	n₃:40	
	mean±SD	mean±SD	mean±SD	
GPER-1(ng/ml)	0.501±0.09 ^{b,c}	0.455±0.06 ^{a,c}	0.379±0.03 ^{a,b}	<0.01
Estradiol (ng/ml)	56.27±5.85 ^c	58.27±5.14	62.65±11.84 ^a	0.02
Progesterone (ng/ml)	11.56±1.12	11.66±0.77	11.92±0.83	0.220
TSH (ng/ml)	1.29±0.10	1.28±0.06	1.27±0.09	0.496
MDA (nmol/mg prt)	4.97±1.38 ^{b,c}	2.97±0.56 ^{a,c}	1.92±0.53 ^{a,b}	<0.01
CAT (u/mg prt)	93.09±5.98 ^{b,c}	122.25±9.91 ^{a,c}	174.82±11.33 ^{a,b}	<0.01
SOD (u/mg prt)	0.79±0.11 ^{b,c}	1.16±0.19 ^{a,c}	1.55±0.28 ^{a,b}	<0.01

n₁/n₂/n₃: Number of groups subject.

GPER-1; G-protein coupled estrogen receptor-1, TSH; Thyroid stimulating hormone, MDA;

Malondialdehyde, CAT; Catalase, SOD; Superoxide dismutase, SD; Standart deviation.

Groups were coded with the letters a, b, c. One-way ANOVA test was used to compare the means.

Tamhane's T2 post-hoc analysis was performed in paired comparison. Statistical significance was p<0.05, shown in bold. In paired comparisons, the letters shown as superscript indicate the group in which there is a significant difference between them.

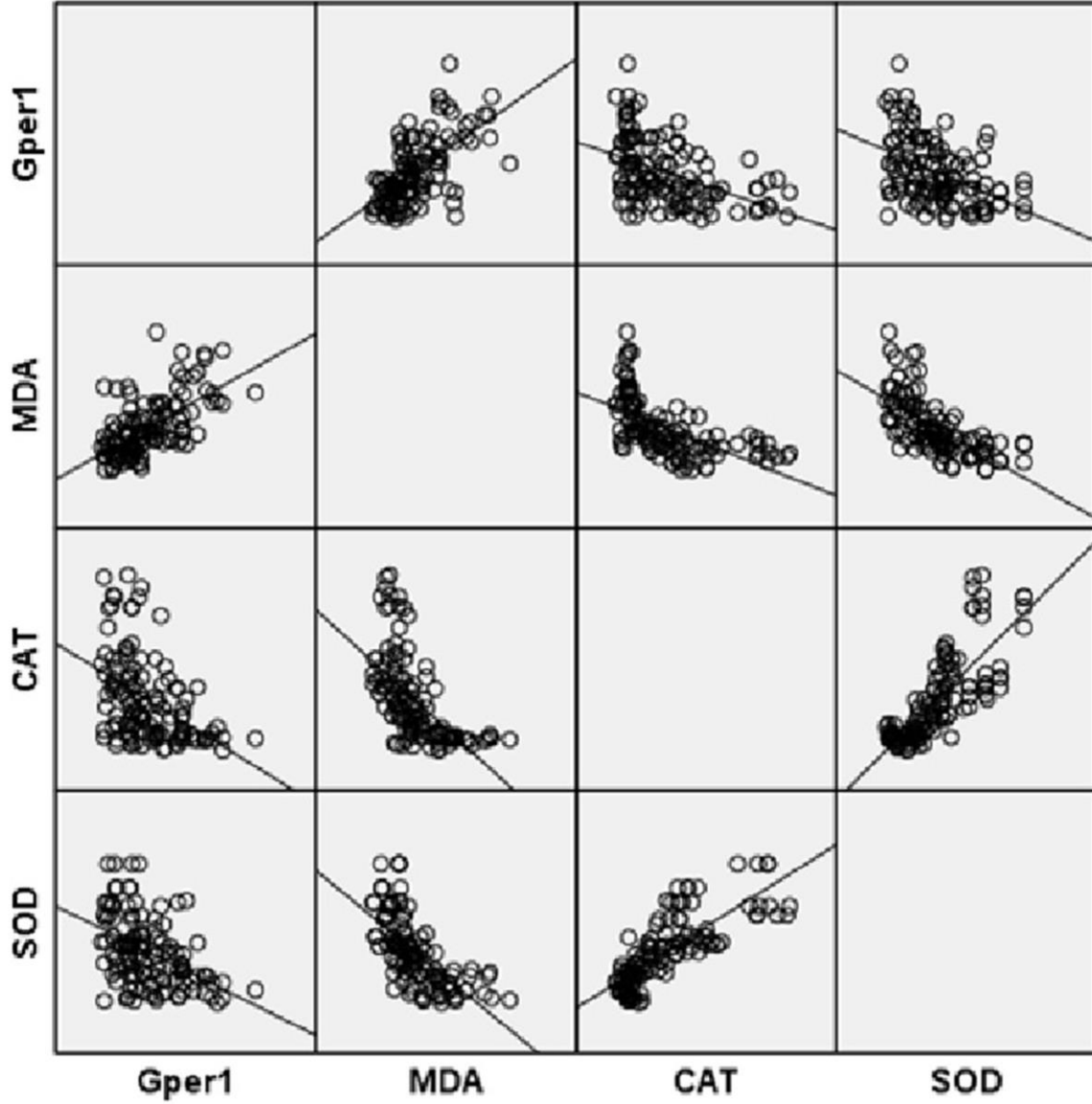
Table 3: Multivariate logistic regression analysis in the model created with GPER-1, age, gender and duration of diabetes.

	<i>P value</i>	OR	95% CI
Age (years)	0.418	0.962	0.875-1.057
Gender	0.423	0.633	0.207-1.937
(Male/Female)			
DM (years)	<0.01*	1.531	1.284-1.825
GPER -1 (ng/ml)	0.045*	1.023	1.012-1.943

DM; Diabetes mellitus GPER-1; G-protein coupled estrogen receptor-1
P value of <0.05 was considered as significant. *Shown in bold

ŞEKİLLER DİZİNİ

Figure 1: Correlation of GPER-1 with MDA, CAT, and SOD. GPER-1, G protein-coupled estrogen receptor-1; MDA, malondialdehyde; CAT, catalase; SOD, superoxide dismutase.



GPER-1&MDA: $r:0.622$ $p<0.01$ GPER-1&CAT: $r:0.453$ $p<0.01$ GPER-1&SOD: $r:0.460$ $p<0.01$

ÖZET

Amaç: Diyabetik hastaların serum G reseptör aracılı protein-1 (GPER-1) düzeylerinin retinopati gelişimi ve prognoza etkisini sağlıklı bireyler ile karşılaştırarak tespit etmek ve yeni tedavi seçeneklerine katkıda bulunmak amaçlandı.

Materyal ve Metod: Prospektif çalışmaya 80 Tip 2 diyabetik hasta (40 Diyabetik retinopati (DR)(Grup 1) + 40 diyabetik retinopati olmayan (NDR)(Grup 2)) ve 40 sağlıklı birey (Grup 3) dahil edildi. Tam bir oftalmolojik muayeneden sonra hastalardan venöz kan alındı. Alınan örneklerde serum oksidan/anti-oksidan, GPER-1, östrodiol, progesteron ve Tiroid salgılatıcı hormon (TSH) bakılarak sağlıklı bireyler ile karşılaştırıldı. Grupların normal dağılıma uyduğu görüldü. Demografik veriler için Ki-Kare testi, grupların analizi için ANOVA testi yapıldı. Subgrup karşılaştırma için posthoc analiz uygulandı. $p<0.05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Gruplar arası yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel fark yoktu. (sırası ile; $p=0.527$, $p=0.699$) GPER-1, oksidan/anti-oksidan ve östrodiol açısından gruplar arasında fark vardı.(all group; $p<0.01$) TSH ve Progesteron açısından gruplar arası fark saptanmadı. (sırası ile; $p=0.496$, $P=0.220$) İstatistiksel anlamlı grupların posthoc analizinde GPER-1 ve oksidan/anti-oksidanlar açısından tüm gruplar arasında fark vardı.(all group; $p<0.05$) Östradiol açısından Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı fark saptandı. ($p=0.002$) GPER-1 ile oksidan arasında pozitif yönlü korelasyon, anti-oksidan ile negatif yönlü korelasyon görüldü. (sırası ile; $r=0.622/p<0.01$, $r=0.453/p<0.01$, $r=0.460/p<0.01$) Çoklu regresyon analizinde DR varlığında diyabet süresi ile birlikte GPER-1'in anlamlı yüksekliği saptandı.

Sonuç: Çalışmamızda GPER-1 seviyesi DR grupta en yüksek seviyede bulundu. Oksidan/anti-oksidan dengesi oksidatif stres lehine bozuldukça GPER-1 seviyesinin daha fazla arttığı saptandı. Bu durum nöronal hasarın önüne geçmek için oluşturulan savunma mekanizmalarından olabilir. Bu nedenle GPER-1, DR açısından erken dönemde komplikasyonların önüne geçilmesinde ve yeni tedavi modellerini oluşturmada önemli olabilir.

Anahtar Kelimeler: Diyabetik retinopati, GPER-1, östradiol, progesteron, TSH, oksidatif stres.

ABSTRACT

Background/Aims: This research sought to determine the impact of serum G receptor-mediated protein-1 (GPER-1) levels on the development of retinopathy in diabetic patients, comparing them to healthy individuals.

Methods: Forty patients with diabetic retinopathy (DR) (Group 1), 40 patients without DR (NDR) (Group 2) and 40 healthy individuals (Group 3) were included in this study. Serum progesterone, GPER-1, oestradiol, oxidant/antioxidant and thyroid-releasing hormone (TSH) levels were analysed and compared among the groups. Post hoc analysis was performed to compare the sub-groups in which statistically significant differences were found.

Results: A significant difference was found among all groups in terms of GPER-1, oxidant/antioxidant and oestradiol levels ($p<0.01$), but no significant difference was found in terms of TSH or progesterone ($p=0.496$, $p=0.220$, respectively). In the post hoc analysis of the groups with statistically significant differences, another significant difference was found among all groups for GPER-1 and oxidant/antioxidant levels ($p<0.05$). GPER-1 and oxidant levels were positively correlated, while GPER-1 and antioxidant levels were negatively correlated ($r=0.622/p<0.01$, $r=0.453/p<0.01$, $r=0.460/p<0.01$, respectively). The multiple regression analysis showed that increased GPER-1 may help prevent DR.

Conclusion: GPER-1 levels, which were highest in the DR group, increased as the oxidant/antioxidant balance changed in favour of oxidative stress. This seems to be a defence mechanism for preventing neuronal damage.

Keywords: Diabetic retinopathy, GPER-1, oestradiol, progesterone, TSH, oxidative stress.

1. GİRİŞ

Diabetik retinopati (DR); mikroangiopati, hemoraji, eksuda, maküler ödem, neovaskülarizasyon vb, gibi bulgularla karşımıza gelebilen diyabetin en sık görülen komplikasyonlarından. (1) Dünya üzerindeki en sık önlenabilir körlük nedenidir. (2) DR tanısı retinadaki vasküler patolojilerin klinik belirtileri ile konur. (1) Klinik olarak DR proliferatif DR (PDR) ve non-proliferatif DR (NPDR) olmak üzere iki ana aşamaya ayrılır. (3) NPDR aşamasında mikroanevrizmalar, hemorajiler ve eksuda gibi patolojiler görülmekle birlikte hastalar asemptomatik seyredebilir. PDR de ise neovaskülarizasyon gelişimine bağlı vitre içi hemorajiler veya traksiyonel retina dekolmanı gibi ciddi sonuçlar oluşturabilmektedir. (1,3,4) DR 'nin etyolojisinde vasküler perisit ve endotel hasarları ile retinal iskeminin oluşması, inflamatuvar mediyatörlerin artması ile glial hücre disfonksiyonu ve oksidan/antioksidan dengesinin değişmesine bağlı serbest oksijen radikallerinin (ROS) artması ile homeostazın bozulması gibi birçok karışık mekanizma yer almaktadır. (5,6) Astrositler, müller hücreleri ve mikroglia dahil olmak üzere retinadaki glial hücreler yapısal destek sağlamaktan ve retinadaki homeostazı sürdürmekten sorumludur. (6) Hiperglisemik stres altında mikroglia aktif olur ve TNF-a, IL-6, MCP-1 ve VEGF'in sekresyonları artar. (7) Müller hücrelerinin ve astrositlerin katılımı ile proinflamatuvar sitokinlerin üretimi sağlanarak inflamasyon durumu iyice alevlenir. (6,7)

GPER-1, 17 β -estradiol'e yüksek afinite ile bağlanan bir transmembran östrojen reseptörüdür. (8) Endoplazmik retikulumda (ER) lokalize olduğu gösterilmiştir. (9) Üreme sistemi, sinir sistemi, endokrin, bağışıklık ve kardiyovasküler sistemler gibi birçok dokuda varlığı ispatlanmıştır. (10) Ayrıca retinada GPER-1 ekspresyonu bildirilmiştir. (11)

Oksidatif stres, oluşturduğu protein hasarı nedeni ile ER üzerinde stres yaparak homeostatik dengenin bozulmasına yol açar. Bu durum hücrelerin hasarlanması ve apoptoze gitmesine neden olur. (12) GPER-1'in aktivasyonu ile hücrelerde ROS azalması sağlanarak ER üzerindeki stresin hızla azaldığı bildirilmiştir. (10,12)

Günümüzde DR'nin patogenezinde oluşan oksidasyon ve inflamatuvar mediyatörlerin azaltılması için çeşitli tedavi yöntemleri kullanılmaktadır (Anti-VEGF, Steroid, Laser). (6,13) Ancak retina nörodejenerasyonunun DR'nin bağımsız bir patofizyolojisi olabileceği ve daha erken hasarın saptanarak tedavisine başlanması için yeni moleküler mekanizmaların araştırılması gereksinimi bildirilmiştir. (1,14)

Çalışmamızda nöroprotektif etkisi olduğu kanıtlanmış GPER-1'in, retina üzerindeki etkinliklerini belirlemede yol gösterici olmasını düşündüğümüz diyabetik hastalar ile sağlıklı

bireylerin serum GPER-1 ve oksidatif stres markır seviyeleri (MDA; Malondialdehyde, CAT; Catalase, SOD; Superoxide dismutase) arasında karşılaştırma yapılmıştır. Bunun ileride DR tedavisindeki yeni gelişmelere fikir verebileceği düşünüldü.

2. MATERYAL VE YÖNTEM (METOD)

Study Design and Participants

Bu prospektif çalışmaya 80 Tip 2 diyabet (40 DR(Grup 1) + 40 NDR(Grup 2)) ve kontrol grubu için 40 sağlıklı birey (Grup 3) dahil edildi. Helsinki bildirilerine uygun şekilde Yerel Etik kuruldan onay alındı (Karar no:03-2018/20 Tarih: 07.11.2018). Katılımcılardan yazılı bilgilendirme onam formu alındı. Dahil edilme kriterleri; DR'li 40 birey, NDR'li 40 birey ve herhangi bir sistemik hastalığı olmayan 40 sağlıklı birey. Hariç tutulma kriterleri; Diyabet dışı retinopatisi olan, oküler travma sekeli bulunan, glokom, geçirilmiş oküler cerrahi öyküsü, patolojik miyopi, fundus muayenesine engel oluşturan opasiteler (korneal, lens kesafeti, diyabetik hemoraji dışı vitre bulanıklılığı, vb), hormon replasman tedavisi alanlar, endokrin bozuklukları olanlar (tiroidopatiler, adrenal bez bozuklukları, hipofizer patolojiler), alkol ve madde bağımlıları ve cinsiyete bağlı karmaşıklığı önlemek amacı ile menapoz öncesi kadınlar, dahil edilmedi. Tam bir oftalmolojik muayene sonrası bireylerden açlık venöz kan örneği alındı. Elde edilen serumda; GPER-1, MDA, CAT, SOD, Ostradiol, TSH ve Progesteron bakılarak gruplar arası karşılaştırma yapıldı.

Preparation of Blood Samples

Fasting 5 ml of blood were taken from the cubital median vein of the patients and controls. Circadian variations were avoided by always drawing samples between 8:00 a.m. and 9:00 a.m.

Serum

The blood samples was immediately centrifuged 2,000 rpm for 10 min at 4°C. Supernatant serum was separately stored in -80°C before measurement of serum, estrogen, progesterone and GPER-1 levels by ELISA.

Biochemical Analysis

Serum GPER-1, östradiol, progesteron ve TSH seviyeleri, üreticinin talimatlarına göre ticari bir kit (SEG 045 Hu, Cloud-Clone Corp., Houston, TX, ABD) ile kantitatif sandviç enzim immünoassay (ELISA) yöntemi kullanılarak ölçüldü.

SOD activity was measured in the samples according to the method described by Fridovich (15). This method employs xanthine and xanthine oxidase to generate superoxide radicals which react with p-iodonitrotetrazlium violet (INT) to form a red formazan dye which was measured at 505 nm. Assay medium consisted 0.01 M phosphate buffer, CAPS (3-cyclohexilamino-1- propanesulfonicacid) buffer solution (50 mM CAPS, 0.94 mM EDTA, saturated NaOH) with pH 10.2, solution of substrate (0.05 mM xanthine, 0.025 mM INT) and

80 UL xanthine oxidase. SOD activity was expressed as U/mg protein.

CAT activity was determined by measuring the decrease in hydrogen peroxide concentration at 230 nm by the method of Beutler (16). Assay medium consisted 1 M Tris HCl, 5 mM Na₂EDTA buffer solution (pH 8.0), 10 mM H₂O₂ and tissue sample in a final volume of 1.0 ml. CAT activity was expressed as U/mg protein.

MDA level in the samples was measured with the TBA test (17). The reaction mixture contained 0.1 ml sample, 0.2 ml of 8.1 % sodium dodecyl sulphate (SDS), 1.5 ml of 20 % acetic acid and 1.5 ml of 0.8 % aqueous solution of TBA. The pH of the mixture was adjusted to 3.5 and the volume was finally brought up to 4.0 ml with distilled water and 5.0 ml of the mixture of n-butanol and pyridine (15:1, v/v) was then added. The mixture was shaken vigorously. After centrifugation at 4000 rpm for 10 min, the absorbance of the organic layer was measured at 532 nm.

Statistical Analysis

Data obtained in the study were analysed statistically using SPSS for Windows vn. 22.0 software (Statistical Package for the Social Sciences). The conformity of the data to normal distribution was assessed with the Shapiro-Wilk test. Categorical data were analysed using the Chi-square test. In the group comparisons, it was seen that the data had a normal distribution. ANOVA test was used to compare groups. Post hoc analysis was performed of the difference between meaningful data. Continuous data were stated as mean $\pm$ standard deviation (SD) values, and categorical data as number (n) and percentage (%). A value of $p < 0.05$ was accepted as statistically significant.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Grupların demografik verileri ve diyabet süreleri ile ilgili bilgiler **Table I** de gösterildi. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel fark yoktu. (sırası ile; $p=0.527$, $p=0.699$) Diyabet süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel fark vardı. ($p<0.01$)

Gruplar arasında serum GPER-1, MDA, CAT, SOD ve Östrodiol açısından istatistiksel anlamlı fark saptandı. (all group; $p<0.01$) Progesteron ve TSH açısından anlamlı fark yoktu. (sırası ile; $p=0.496$, $p=0.220$) İstatistiksel farklılık olan parametrelerin post hoc analizinde; GPER-1, MDA, CAT ve SOD arasında tüm gruplarda anlamlı farklılık bulundu. Östradiol açısından Grup 1 ile Grup 3 arasında anlamlı fark saptandı. ($p<0.01$) (**Table II**)

GPER-1 ile oksidan/antioksidanlar arasında korelasyon analizi yapıldığında; MDA ile pozitif yönde, SOD ve CAT ile negatif yönde korelasyon olduğu saptandı. (sırası ile; $r=0.622/p<0.01$, $r=0.453/p<0.01$, $r=0.460/p<0.01$) (**Figure I**) DR gelişiminde etkili olduğunu bilinen bağımsız risk faktörlerinden; yaş, cinsiyet ve diyabet süresi ile birlikte GPER-1'in dahil edildiği modelin multivaryans regresyon analizinde; GPER-1 ve diyabet süresinin retinopatide istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu görüldü. (**Table III**)

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sonuç olarak diyabetik hastaların progresyonunun takibinde, DR'nin erken evrede saptanmasında ve nöronal hasarın önlenmesinde GPER-1 önemli bir reseptör olarak görünmektedir. Ayrıca doğal östrojen veya konjugat östrojenlerin aksine, diğer endokrinolojik etkilerden yoksun G-1 benzeri retinal hücrelerdeki GPER-1'e spesifik ilaçların geliştirilmesi DR'ye erken müdahale için ve mevcut tedavilerle kombine olarak yanıt alınamayan DR'ler için potansiyel teröpatik hedefler sağlayabilir. Bu konuda daha geniş gruplarda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- 1) Altmann C, Schmidt MHH. The Role of Microglia in Diabetic Retinopathy: Inflammation, Microvaculature Defects and Neurodegeneration. *Int J Mol Sci*. 2018 Jan 1;19(1):110.
- 2) Dehdashtian E, Mehrzadi S, Yousefi B, Hosseinzadeh A, Reiter RJ, Safa M, et al. Diabetic Retinopathy Pathogenesis and The Ameliorating Effects of Melatonin; Involvement of Autophagy, Inflammation and Oxidative Stress. *Life Sci*. 2018 Jan 15;193:20-33.
- 3) Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, Lee PP, Agardh CD, Davis M et al. Proposed International Clinical Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema Disease Severity Scales. *Ophthalmology* 2003;110:1677-82.
- 4) Kowluru RA, Chan PS. Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy. *Exp. Diabetes Res*. 2007;2007:4363.
- 5) Lechner J, O'Leary EO, Stitt AW. The Pathology Associated with Diabetic Retinopathy. *Vision Res*. 2017 Oct;139:7-14.
- 6) Wang W, Lo ACY. Diabetic Retinopathy: Pathophysiology and Treatments. *Int J Mol Sci*. 2018 Jun 20;19(6):1816.
- 7) Safi H, Safi S, Moghadam AH, Ahmadi H. Early Detection of Diabetic Retinopathy. *Surv. Ophthalmol*. 2018;63(5):601-8.
- 8) Bian C, Bai B, Gao Q, Li S, Zhao Y. 17 β - Estradiol Regulates Glucose Metabolism and Insulin Secretion in Rat Islet β Cells Through GPER and Akt/mTOR/GLUT2 Pathway. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Aug 6;10:531.
- 9) Li R, Wang Y, Chen P, Meng J, Zhang H. G-Protein Coupled Estrogen Receptor Activation Protects The Viability of Hyperoxia-Treated Primary Murine Retinal Microglia by Reducing ER Stress. *Aging (Albany NY)*. 2020 Sep 13;12(17):17367-79.
- 10) Li R, Wang Y, Chen P, Meng J, Zhang H. Inhibiting Endoplasmic Reticulum Stress by Activation of G- Protein Coupled Estrogen Receptor to Protect Retinal Astrocytes Under Hyperoxia. *J Biochem Mol Toxicol*. 2020 Sep 29;e22641.

- 11) Molina L, Figueroa CD, Bhoola KD, Ehrenfeld P. GPER-1/GPR 30 A Novel Estrogen Receptor Sited in The Cell Membrane: Therapeutic Coupling to Breast Cancer. *Expert Opin Ther Targets*. 2017;21:755-66.
- 12) Prossnitz ER, Barton M. The G-Protein Coupled Estrogen Receptor GPER in Health and Disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2011;7:715-26.
- 13) Whitehead M, Wickremasinghe S, Osborne A, Wijngaarden PV, Martin KR. Diabetic Retinopathy: A Complex Pathophysiology Requiring Novel Therapeutic Strategies. *Expert Opin Biol Ther*. 2018 Dec;18(12):1257-70.
- 14) Hurley JB, Lindsay KJ, Du J. Glucose Lactate and Shuttling of Metabolites in Vertebrate Retinas. *J Neurosci Res*. 2015 Jul;93(7):1079-92.
- 15) Beutler E. Red Cell Metabolism. *A Manual of Biochemical Methods*. 2nd ed. New York: Grune and Stratton Inc; 1984: 68-70.
- 16) Fridovich I. Superoxide Dismutase. *Adv Enzymol* 1974; 41: 35-97.
- 17) Ohkawa H, Ohishi N, Tagi K. Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-8.
- 18) Barton M, Prossnitz ER. Emerging Roles of GPER in Diabetes and Atherosclerosis. *Trends Endocrinol Metab*. 2015 Apr; 26(4): 185-92.
- 19) Calderon GD, Juarez OH, Hernandez GE, Punzo SM, De la Cruz ZD. Oxidative Stress and Diabetic Retinopathy: Development and Treatment. *Eye(London)*, 2017; 31(8): 1122-30.
- 20) Tawfik A, Sanders T, Kahook K, Akeel S, Elmarakby A, Al-Shabrawey M. Suppression of Retinal Peroxisome Proliferator- Activated Receptor Gamma in Experimental Diabetes and Oxygen – Induced Retinopathy: Role of NADPH Oxidase. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009; 50(2):878-84.
- 21) Mancino R, Di Pierro D, Varesi C, Cerulli A, Feraco A, Cedrone C, et al. Lipid Peroxidation and Total Antioxidant Capacity in Vitreous, Aqueous Humor, and Blood Samples From Patients With Diabetic Retinopathy. *Mol Vis*. 2011; 17: 1298-304.

- 22) Wu Y, Tang L, Chen B. Oxidative Stress: Implications for The Development of Diabetic Retinopathy and Antioxidant Therapeutic Perspectives. *Oxid Med Cell Longev*. 2014; 2014: 752387.
- 23) Han ZW, Chang YC, Zhou Y, Zhang H, Chen L, Zhang Y, et al. GPER Agonist G1 Suppresses Neuronal Apoptosis Mediated by Endoplasmic Reticulum Stress After Cerebral Ischemia / Reperfusion Injury. *Neural Regen Res*. 2019 Jul; 14(7): 1221-9.