



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

**YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU GELİŞİMİNDE APO
A1 GENİNDE GENETİK VARYASYONLARIN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Yakup YILDIZLI

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Seyhan DİKCİ**

MALATYA-2021



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

**YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU GELİŞİMİNDE APO
A1 GENİNDE GENETİK VARYASYONLARIN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Dr. Yakup YILDIZLI
ORCID ID: 0000-0001-7275-351X**

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Doç. Dr. Seyhan DİKCİ**

MALATYA-2021

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Retinanın Anatomik Yapısı.....	3
2.1.1. Fovea	3
2.1.2. Retina Tabakaları.....	4
2.1.3. Retina Pigment Epiteli.....	5
2.1.4. Koroid.....	6
2.2. Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu.....	6
2.2.1. Kuru Tip YBMD	7
2.2.2. Yaş tip YBMD.....	9
2.3. YBMD Etiyolojisi	13
2.3.1. Oksidatif Stres	13
2.3.2. Genetik	15
2.3.3. Hidrodinamik Değişiklikler	17
2.3.4. Hemodinamik Değişiklikler	18
2.3.5. Koroidal Neovaskülarizasyon ve Anjiogenezis.....	19
2.3.6. Hücre Dışı Matriks	22
2.3.7. Subklinik inflamasyon	23
2.4. YBMD Risk Faktörleri.....	23
2.4.1. Yaş	24
2.4.2. Etnik Köken.....	24
2.4.3. Sigara	24
2.4.4. Işık Maruziyeti.....	25
2.4.5. Diyet	25
2.4.6. Katarakt Ameliyatı	26

2.4.7. Hipertansiyon	27
2.4.8. Genetik Yatkınlık	27
2.5. <i>Apo A1</i> Geni	27
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	30
3.1. Etik Kurul Onayı.....	30
3.2. Olgı seçimi	30
3.3. Oftalmolojik Değerlendirme	31
3.4. DNA İzolasyonu.....	32
3.5. PCR Protokolü	33
3.6. İstatiksel Analiz.....	34
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR	47
EKLER.....	64
EK-1. Etik Kurul Kararı.....	64

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi birikimleri ve tecrübeleriyle klinik ve cerrahi eğitimim için emek veren kıymetli hocalarım Prof. Dr. Tongabay Cumurcu'ya, Prof. Dr. Abuzer Gündüz'e, Prof. Dr. Penpegül Fırat'a, Doç. Dr. Cem Çankaya'ya, Doç. Dr. Nihat Polat'a, Doç. Dr. Soner Demirel'e,

Tez çalışmam boyunca bana her konuda destek veren, aynı zamanda klinik ve cerrahi eğitimim için emek veren değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Seyhan Dikci'ye,

Tez çalışmamızın genetik değerlendirmelerini yapıp, bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan Doç. Dr. İbrahim Halil Yıldırım'a,

Tez çalışmamda desteğini her zaman hissettiğim Dr. Burak Esener'e ve klinikte birlikte çalışmaktan zevk aldığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Çalışmama biyoistatistik konusunda rehberlik eden Arş. Gör. Şeyma Yaşar'a,

Çalışma için destek veren retina polikliniğimizdeki çalışma arkadaşımız Nesrin Uyumaz'a, kornea bankasındaki çalışma arkadaşımız Mehmet Çelik'e,

İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları servisimiz, polikliniğimiz ve ameliyathanemizdeki tüm çalışma arkadaşlarıma,

Sevgi ve desteğini daima hissettiğim aileme ve eğitim hayatım boyunca maddi-manevi katkısı olan bütün öğretmenlerime,

Her daim olduğu gibi uzmanlık eğitimim boyunca da manevi destek ve teşviklerini her zaman hissettiğim kıymetli eşim Aysel Yıldızlı'ya ve minik kızım Defne Yıldızlı'ya, teşekkür ederim.

ÖZET

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu Gelişiminde Apo A1 Geninde Genetik Varyasyonların Araştırılması

Amaç: Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) ile Apo A1 geni rs1799837 ve rs5069 polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem: Bu prospektif kesitsel çalışmaya Mart 2020 ve Mart 2021 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Birimi'ne başvuran kuru tip veya yaş tip YBMD tespit edilen olgular ile benzer yaş ve cinsiyette YBMD saptanmayan kontrol grubunu oluşturan olgular dahil edilmiştir. Kuru tip YBMD olan 42, yaş tip YBMD olan 112 olgu ve kontrol grubunda ise 87 olgu bulunmaktadır. Olguların hepsine tam bir oftalmolojik muayene yapılmıştır. Biyomikroskopik muayeneye ek olarak optik koherens tomografi (OKT), OKT anjiyografi ve lüzum halinde fundus florosein anjiyografi görüntüleme tetkiklerine dayanarak YBMD tanısı konulmuştur. Olgulardan 3cc periferik venöz kan alınarak uygun ticari kitler aracılığıyla DNA izolasyonları gerçekleştirilmiştir. Apo A1 geni rs1799837 ve rs5069 polimorfizmleri için uygun primerler tasarlanmıştır. Bu primerler aracılığıyla DNA dizileri polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılmıştır ve agaroz jelde yürütülerek PCR işlevi kontrol edilmiştir.

Bulgular: Kontrol grubunda çalışmaya dahil edilen olguların 34'ü (%39,1) kadın, 53'ü (%60,9) erkek iken; yaş tip YBMD grubunda 41'i (%36,6) kadın, 71'i (%63,4) erkek; kuru tip YBMD grubunda 15'i (%35,7) kadın ve 27'si (%64,3) ise erkekti. Olguların ortalama yaşı kontrol grubunda $69,67 \pm 6,2$ yıl, kuru tip YBMD grubunda $70,02 \pm 5,36$ yıl ve yaş tip YBMD grubunda $70,55 \pm 6,63$ yıl olarak bulunmuştur. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Apo A1 geni rs1799837 polimorfizmi 'CC' homozigot genotip farkı hem kuru tip YBMD hem de yaş tip YBMD grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplar arasında Apo A1 geni rs1799837 SNP için C ya da T alleli dağılımı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p > 0,05$). Apo A1 geni rs5069 polimorfizmi 'GG' homozigot genotip farkı kuru tip YBMD ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$). Gruplar arasında Apo A1 geni rs5069 SNP için G ya da A allel dağılımı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p > 0,05$).

Sonuç: Apo A1 geni rs1799837 polimorfizmi kuru tip YBMD ve yaş tip YBMD grubunda kontrol grubuna göre, Apo A1 geni rs5069 polimorfizmi ise kuru tip YBMD grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak yüksek saptamıştır. Bu bulgular bu polimorfizmler ile YBMD gelişme riskinin artışı arasında ilişki olabileceği sonucunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Apo A1, Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu, HDL, rs1799837, rs5069,

ABSTRACT

Investigation of Genetic Variations in the *Apo A1* Gene in the Development of Age-Related Macular Degeneration

Objective: To evaluate the relationship between age-related macular degeneration (ARMD) and the rs1799837 and rs5069 polymorphisms of the *Apo A1* gene.

Materials and Methods: This is a prospective and cross-sectional study in which dry-type ARMD, wet-type ARMD and control group without ARMD similar age and gender-matched patients who addmitted to the Inonu University Faculty of Medicine Ophthalmology Unit between March 2020 and March 2021 were included. The study was conducted with 42 patients from dry-type ARMD, 112 from wet-type ARMD, and 87 patients from the control group without ARMD. A complete ophthalmologic examination was performed in all cases. In addition to slit-lamp examination, ARMD was diagnosed based on optical coherence tomography (OCT), OCT angiography and, if necessary, fundus fluorescein angiography imaging studies. 3cc of peripheral venous blood was taken from the cases and DNA isolation was carried out using appropriate commercial kits. Appropriate primers were designed for the rs1799837 and rs5069 polymorphisms of the *Apo A1* gene, and DNA sequences were amplified by these primers by polymerase chain reaction (PCR) and run on agarose gel to check the PCR function.

Results: The gender distribution of the cases included in the study was 34 (39.1%) female and 53 (60.9%) male in the control group; 41 (36.6%) female and 71 (63.4%) male in the wet-type ARMD group; 15 (35.7%) female and 27 (64.3%) male in the dry type ARMD group. The mean age of the cases was 69.67 ± 6.2 years in the control group, 70.02 ± 5.36 years in the dry-type ARMD group and 70.55 ± 6.63 years in the wet-type ARMD group. There was no statistically significant difference between the groups in terms of age and gender ($p > 0.05$). *Apo A1* gene rs1799837 polymorphism 'CC' homozygous genotype difference was statistically significant in both dry-type ARMD and wet-type ARMD groups compared to the control group ($p < 0,05$). There was no statistical difference between the groups in terms of C or T allele distribution for the *Apo A1* gene rs1799837 SNP ($p > 0.05$). *Apo A1* gene rs5069 polymorphism 'GG' homozygous genotype difference was statistically significant between the dry-type ARMD and control groups ($p < 0,05$). There was no statistical difference between the groups in terms of G or A allele distribution for the *Apo A1* gene rs5069 SNP ($p > 0.05$).

Conclusion: *Apo A1* gene rs1799837 polymorphism was found to be significantly higher in the dry-type ARMD and wet-type ARMD groups, and the *Apo A1* gene rs5069 polymorphism was significantly higher in the dry-type ARMD group compared to control group. These findings show that there may be a relationship between polymorphisms and the increased risk of ARMD.

Keywords: *Apo A1*, Age-Related Macular Degeneration, HDL, rs1799837, rs5069

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABCA1	: ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1
ARMĐ	: Age-Related Macula Degeneration
Ang-1	: Anjiyopoietin-1
Ang-2	: Anjiyopoietin-2
AREDS	: Age Relates Eye Disease Study
ARMS-2	: Age-Related Maculopathy Susceptibility 2
AUC	: Area Under Curve
BM	: Bazal Membran
C2	: Kompleman Faktör 2
C3	: Kompleman Faktör 3
CETP	: Kolestrol Ester Transfer Proteini
CFB	: Kompleman Faktör B
DM	: Diyabetes Mellitus
ECM	: Ekstra Selüler Matriks
EDGK	: En İyi Düzeltilmiş Görme Keskinliği
ETDRS	: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study
FA	: Florosein Anjiografi
FFA	: Fundus Florosein Anjiografi
FGF	: Fibroblast Growth Faktör
GİB	: Göz İçi Basıncı
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HİF-1	: Hipoksiyle İndüklenen Faktör

HSC-70	: Isı Şok Proteini
HT	: Hipertansiyon
HTRA-1	: High-Temperature Requirement Protein A1
ICAM-1	: Hücreler Arası Adezyon molekülü
ICGA	: İndosiyanin Yeşili Anjiyografi
IDL	: Orta Yoğunluklu Lipoprotein
IGF-1	: İnsülin Benzeri Growth Faktör
IgG	: İmmunglobulin G
KAH	: Koroner Arter Hastalığı
KNV	: Koroidal Neovaskülarizasyon
KNVM	: Koroidal Neovasküler Membran
KOAH	: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
LCAT	: Lesitin Kolesterol Açıl Transferaz
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LPL	: Lipoprotein Lipaz
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
MI	: Miyokart Enfarktüsü
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
NIH	: Ulusal Sağlık Enstitüleri
NO	: Nitrik Oksit
OCT	: Optic Kohrens Tomografi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PCR-RFLP	: Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism
PKV	: Polipoidal Koroidal Vaskülopati

PDGF	: Platelet Kökenli Growth Faktör
PDGFRA	: Platelet Kökenli Growth Faktör Reseptörü Alfa
PED	: Pigment Epitel Dekolmanı
RAP	: Retinanın Anjiyomatöz Proliferasyonu
ROI	: Reaktif Oksijen Ara Ürünleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
RPE	: Retina Pigment Epiteli
SD-OCT	: Spektral Domain Optic Cohorens Tomografi
SFD	: Sorsby'in Fundus Distrofisi
SNP	: Single Nükleotide Polimorfizm
SVO	: Serebrovasküler Olay
TGF-β	: Transforming Growth Faktör Beta
TIMP	: Tissue İnhibitors of Metalloproteinases
Tie-2	: Anjiyopoietin Reseptörü
TNF-α	: Tümör Nekrozis Faktör Alfa
VCAM-1	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1
VEGF	: Vasküler Endotelyal Growth Faktör
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
YBMD	: Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. OKT’de retina katmanları.....	5
Şekil 2.2. Kuru tip YBMD renkli fundus fotoğrafı. Sol göz makulada çok sayıda büyük, yumuşak druzenler izlenmektedir	8
Şekil 2.3. Kuru tip YBMD OKT görüntülemesi. OKT incelemesinde çok sayıda druzenoid pigment epitel dekolmanları görülmektedir.	9
Şekil 2.4. Yaş tip YBMD renkli fundus fotoğrafı.....	12
Şekil 2.5. Yaş tip YBMD OKT görüntülemesi. Pigment epitel dekolmanları ve subretinal sıvı görülmektedir.....	12
Şekil 4.1. Yaş tip YBMD, kuru tip YBMD ve kontrol grubu için <i>Apo A1</i> geni rs1799837 SNP’de CC, CT ve TT genotipine sahip olgu sayıları.	38
Şekil 4.2. Yaş tip YBMD, kuru tip YBMD ve kontrol grubu için <i>Apo A1</i> geni rs5069 SNP’de GG, GA ve AA genotipine sahip olgu sayıları.	40

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. SNP'ler, primerler, restriksiyon enzimleri	34
Tablo 4.1. Grupların cinsiyet dağılımı açısından özellikleri	35
Tablo 4.2. Grupların lens durumu dağılımı açısından özellikleri.....	36
Tablo 4.3. Grupların SVO dağılımı açısından özellikleri	36
Tablo 4.4. Grupların HT dağılımı açısından özellikleri	37
Tablo 4.5. Grupların KOAH dağılımı açısından özellikleri.....	37
Tablo 4.6. Grupların KAH dağılımı açısından özellikleri.....	37
Tablo 4.7. Grupların sigara kullanımı açısından özellikleri.....	38
Tablo 4.8. Apo A1 geni rs1799837 polimorfizmi C ve T allel sayıları	39
Tablo 4.9. Apo A1 geni rs5069 polimorfizmi G ve A allel sayıları.....	40

1. GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerde tedavi edilemeyen görme kaybının ana nedeni olan yaşa bağlı maküla dejenerasyonu (YBMD) primer olarak retina pigment epiteli (RPE), Bruch membranı (BM) ve koriokapillaris'in etkilendiği ve sekonder olarak fotoreseptörlerin etkilenmesiyle görmeyi tehdit eden patogenezi tam açıklanamamış bir dejenerasyondur. Koroid neovasküler membran (KNV) gelişimi bu hastaların az bir kısmında görülmesine rağmen çoğu olguda görme kaybının esas nedenidir (1). YBMD'nin klinik ve histopatolojik temel belirtisi, histolojik olarak RPE ve BM arasında biriken druzen varlığıdır. Druzen yaşla birlikte artar ve büyük boyutlu yumuşak druzenler yaş tip YBMD'ye ilerlemenin göstergesidirler (2, 3). Transmisyon elektron mikroskopisini içeren kapsamlı klinikopatolojik incelemelerde yumuşak druzenin temel bileşeninin lipidlerden zengin olduğu bildirilmiştir (4, 5). Druzen, kolesterol esteraz ile hidrolize olan nötr lipidler ve Apo A1, B ve E'yi içerir (6-10). Yetişkinlik boyunca BM'de belirgin bir şekilde esterlenmiş ve esterleşmemiş kolesterolü içeren lipoprotein parçacıkları birikir (7, 11). Bu lipoproteinler, oksidatif stres veya başka şekilde modifiye edilebilen pro-enflamatuar, pro-anjiyojenik lipidlerin kaynağıdır ve RPE altında gelişen neovaskülarizasyonun yayılmasını kolaylaştıran bir ortam oluşturur (12-16). RPE ve retina, lipoprotein ve kolesterol yollarında disfonksiyonu pigmenter retinopati ile sonuçlanan Apo B ve mikrozomal trigliserit transfer proteini genleri de dahil olmak üzere çok sayıda gen eksprese eder (10, 17-19). Genetik olarak veya diyetle indüklenen hiperkolesterolemili hayvan modellerinde yaşlılıkta görülen BM'deki lipoprotein partiküllerinin birikimine bağlı görülen bulguların gözlenmemesine rağmen gözde muhtemelen yeni bir lipoprotein üretildiğine dair ikincil kanıtlara ulaşılmıştır (20, 21). Yaşlı insan donör gözlerinin BM'sinden izole edilen ApoA-1 içeren lipoproteinler analiz edilmiştir. Bu lipoproteinlerin aynı bireylerin plazmasından izole edilen yüksek yoğunluklu lipoproteinden (HDL) farklı ApoA-1 benzeri bir proteom bulundurduğu bildirilmiştir. Farelerde çalışılan YBMD modelinde, bu ApoA-1 benzeri peptit, dolaşımdaki HDL'nin proteomik profilini değiştirmiş ve yüksek yağlı, yüksek kolesterolü diyetten kaynaklanan potansiyel olarak zararlı, protein bileşimindeki değişikliklerin bazılarını iyileştirmiştir (22).Yapılan çalışmalarda Apo A1'i taklit eden bir peptidin, BM'de yaşa bağlı lipid birikimini azalttığı ve yapısal remodelinge neden olduğu bildirilmiştir (23, 24).

YBMD yaşı hastalarda körlüğe neden olan ilk dört hastalıktan biridir. Bu çalışmada YBMD gelişiminde *Apo A1* geninde genetik varyasyonların varlığı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda elde edilecek verilerin hem söz konusu hastalığın patogenezi açıklamaya yardımcı olması, hem de riskli olguların tespitiyle bu hastalarda tanı ve tedavideki gecikmelerin önlenmesi beklenmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Retinanın Anatomik Yapısı

Retina, kalınlığı optik sinirden ora serrataya doğru gittikçe azalan ince saydam bir dokudur. Retinanın iç kısmı vitreus ile bağlantılı olup dış kısmı RPE'den potansiyel bir boşluk ile ayrılmıştır. Ora serrata ve optik sinir başında ise RPE'ye sıkı bir şekilde yapışıktır. Retinanın en iç kısmında ikinci nöronu oluşturan ganglion hücreleri, ortasında birinci nöronu oluşturan bipolar hücreler, en dış kısımda ise fotoreseptörler yer almaktadır. Bu hücrelerin birbiri arasındaki sinirsel bağlantıyı sağlayan yapılar pleksiform tabakaları oluşturmaktadır (25).

Santral retina yani makula olarak isimlendirdiğimiz temporal vasküler arkadlar içerisinde kalan, yaklaşık 5,5 mm çapındaki alan umbo, foveola, fovea, parafovea ve perifoveadan oluşmaktadır. Periferik retina ora serrataya doğru gittikçe incelmekte ve ora serratada sonlamaktadır. Ora serrata temporalde 2,1 mm nasalde 0,7-0,8 mm genişliğindedir. Ekvator ora serratanın 6-8 mm gerisinde bulunan alandır (25).

2.1.1. Fovea

Optik diskin 4 mm temporalı ve 0,8 mm inferiorunda yer alan yaklaşık 1,5 mm çapındaki alandır. Keskin görme ve renkli görmeden sorumludur. Ortalama retina kalınlığı foveada 0,25 mm iken, bunu çevreleyen alanda foveal kalınlığın yaklaşık iki katıdır. Retina sinir lifi, ganglion hücre ve iç pleksiform tabakaları foveada bulunmaz. Foveanın merkezi 0,57 mm bölgesinde rod hücreleri bulunmaz. Makulanın merkezindeki yaklaşık 0,4 mm çaplı bölge, retinal kapilleri bulundurmaz ve bu bölge foveal avasküler zon olarak adlandırılır.

Foveola rodların olmadığı, sadece konilerin bulunduğu 350 mikron çapında, 150 mikron kalınlığında, foveal avasküler zon ile çevrelenmiş fovea çukurluğudur. Foveola santralindeki en keskin görmeden sorumlu olan, 150-200 mikron çapındaki alan umbo olarak adlandırılmaktadır. Foveanın etrafındaki 500 mikron genişliğindeki dairesel bölge parafovea, parafoveyı çevreleyen 1500 mikron genişliğindeki halkasal bölge perifovea olarak bilinir (26).

2.1.2. Retina Tabakaları

Histolojik kesitlerde retina hücre tabakalarının organizasyonu içte vitreustan dışta RPE'ye doğru dokuz tabakadan oluşur.

İç limitan membran; müller hücrelerinin ayaksı çıkıntılarından oluşan gerçek bir membrandır. Vitreus ince fibrillerle iç limitan membrana yapışıktır.

Sinir lifi tabakası; demyelinize ganglion hücrelerinin aksonlarından oluşur. Kalınlığı retinanın bölgelerine göre farklılık göstermekte olup en kalın olduğu yer optik sinir başıdır. Fovedan çıkan aksonlar doğrudan mediale uzanarak optik sinire katılırken, temporaldeki aksonlar radyal tarzda alt ve üst kısımdan geçerek optik sinire katılır.

Ganglion hücre tabakası; ganglion hücrelerinin gövdelerinin bulunduğu tabakadır. Ganglion hücrelerinin aksonları retina sinir lifi tabakasında yer alır. Ganglion hücrelerinin dendritleri amakrin ve bipolar hücreler ile bağlantı yaparlar. Ganglion hücre tabakasının kalınlığı periferden makulaya doğru artarken, foveaya doğru azalır ve foveolada kaybolur. En kalın olduğu yer fovea kenarıdır. Makulada her bir reseptöre bir ganglion hücresi denk gelirken, bütün retinada 130 reseptöre bir ganglion hücresi denk gelir.

İç pleksiform tabaka; bipolar-ganglion hücre sinapsları ve amakrin-ganglion hücre sinapslarının yer aldığı tabakadır.

İç nükleer tabaka; bipolar, horizontal, amakrin, interpleksiform ve müller hücrelerinin gövdeleri yer alır.

Dış pleksiform tabaka; bipolar hücreler ve fotoreseptör hücreler arasındaki sinapslar yer alır. Makula bölgesinde fotoreseptörlerin aksonları daha uzundur ve foveadan dışa doğru yayılarak henle tabakası adı verilen tabakayı oluştururlar. Kanama, eksuda, kist oluşumuna en yatkın olan bölümdür.

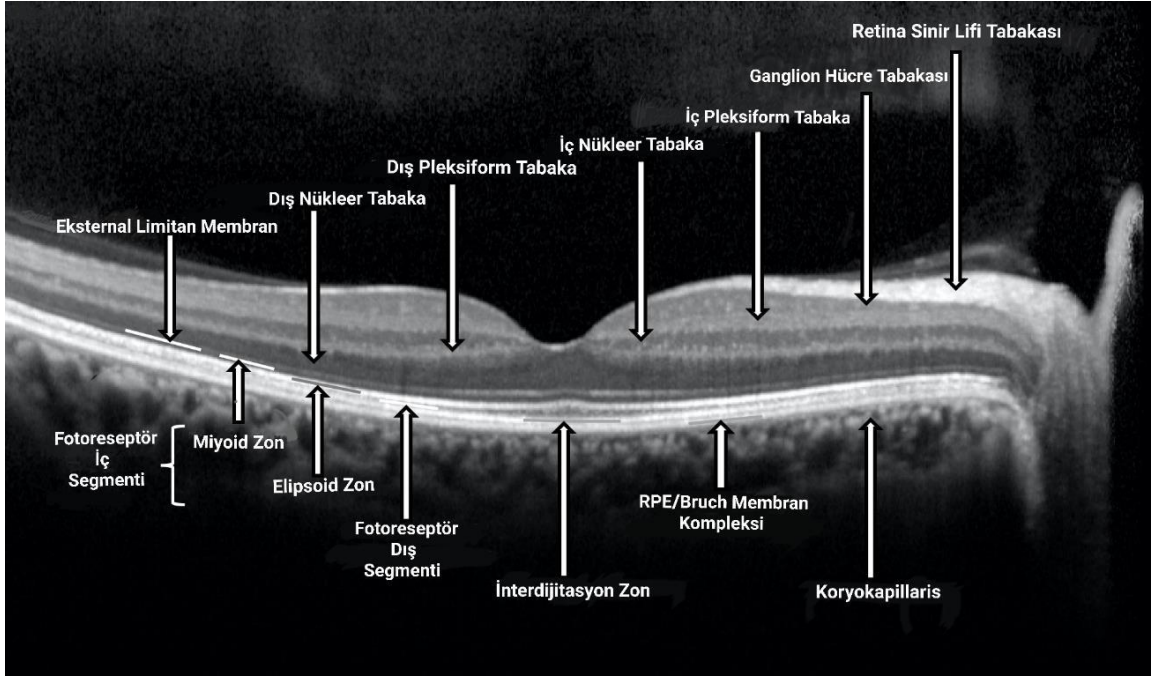
Dış nükleer tabaka; fotoreseptör nükleuslarının bulunduğu tabakadır.

Dış limitan membran; fotoreseptör ile müller hücre uzantılarının arasındaki bağlantıların kesişme noktasıdır. Gerçek bir membran değildir. Difüzyon bariyeri olup içinden fotoreseptör liflerinin geçtiği delikler vardır.

Fotoreseptör tabakası; rod ve kon hücrelerinin iç ve dış segmentlerinin yer aldığı tabakadır.

Bazı yazarlar tarafından kabul edilen retinanın iç vasküler bölümü ile dış vasküler bölümü arasındaki sınırı oluşturan, sinapslardan oluşan orta limitan membran adı verilen bir tabaka bulunmaktadır. Orta limitan membran ile internal limitan membran arasındaki retina bölümü santral retinal arterden beslenirken, orta limitan membran ile RPE arasındaki kısım koryokapillaristen beslenir (27, 28).

Uluslararası optik koherens tomografi (OKT) panelinde ortak bir terminoloji oluşturulması için vitreustan koroid sklera bileşkesine kadar 18 tabaka belirlenerek numaralandırılmıştır (Şekil 2.1). Zon 10-11-12 fotoreseptörlerle ilişkili tabakalar olup, Zon-10 fotoreseptör iç segmentlerinin miyoid kısımlarından oluşur ve miyoid zon olarak adlandırılır. Zon-11 fotoreseptör iç segmentinin yoğun mitokondriye sahip olan kısmı olup elipsoid zon olarak isimlendirilmiştir. Zon-12 fotoreseptör dış segmentleri tarafından oluşturulur. Zon-13 kon-RPE bileşkesinden, zon-14 RPE-BM kompleksinden, zon-15-16-17 koryokapillaris ile iç ve dış koroid damarları tarafından oluşturulur. Zon-18 en dışta koroid-sklera bileşkesinden oluşur (29).



Şekil 2.1. OKT’de retina katmanları.

2.1.3. Retina Pigment Epiteli

Tek katlı hegzagonal hücrelerden oluşan, üstündeki fotoreseptör tabakaya gevşek olarak, altındaki BM’ye sıkı bir şekilde yapışık olan, uç kısma yakın lateral yüzlerindeki sıkı bağlantılar sayesinde dış kan retina bariyerini oluşturan tabakadır. Retinanın

periferinde siliyer cismin pigmente epiteli ile devamlılık gösterir. Embriyogenez sırasında fotoreseptör hücrelerin gelişmesine yardımcıdır. Retinaya düşen ışığın absorpsiyonunu sağlamak, fotoreseptör dış segment fagositozunu sağlamak, retina hücrelerinin dış yarısında kalan kısmının beslenmesini sağlamak, subretinal alandan sıvı transportundan sorumlu olmak, yağ asidi metabolizmasına katılmak, fotoreseptörler için vitamin A deposu oluşturmak, yara iyileşmesi ve skar dokusu oluşumunda görev almak gibi birçok önemli rolü bulunmaktadır (30).

2.1.4. Koroid

RPE ile sklera arasında seyreden koroid, retinadan skleraya doğru sırasıyla BM, koryokapillaris, orta büyüklükteki ve büyük koroid damarlarından oluşmaktadır. Koroid, fotoreseptörleri de içine alan retinanın dış 1/3 kısmının beslenmesinden sorumludur. Koroid vücuttaki kan akımının ve venöz sistemdeki oksijen oranının en yüksek olduğu dokulardan biridir. BM; RPE dış tabakasında yer alan RPE bazal membranı ile koroid iç tabakasında yer alan koryokapillaris endotel bazal membranından oluşan kollojen ve elastinden zengin 2-4 mikron kalınlığındaki ekstraselüler matriks dokusudur. Koryokapillaris koroidin kapiller damar yapısını oluşturur. Koryokapillarisdeki fenestralar BM ile karşı karşıyadır. Koryokapillarisin stabilitesi BM ve üstteki RPE'nin sağlığı ve devamlılığı ile ilişkilidir (31).

2.2. Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

YBMD, yaşlı bireyleri etkileyen ve fotoreseptör, retina pigment epiteli, BM ve koroid kompleksindeki anormalliklerin bir sonucu olarak coğrafik atrofi veya KNV ile sonuçlanarak santral görme kaybına sebep olan yaygın, kronik, ilerleyici dejeneratif bir bozukluktur. YBMD sık görülen önemli bir hastalık olmakla birlikte halen altta yatan nedenler net olarak açığa çıkarılamamıştır. Fotoreseptörlerin metabolik aktivitesi sonucunda üretilen atıkların RPE tarafından uzaklaştırılma kabiliyetlerinin yok olması nedenlerden biri olarak gösterilmektedir. Yine koroid dolaşımında yaşa ve diğer sebeplere bağlı olarak meydana gelen değişikliklerin de patogeneizde rol oynayabileceği belirtilmiştir (32). YBMD genel olarak kuru (non-eksudatif) ve yaş (eksudatif ya da neovasküler) olmak üzere iki tip olarak sınıflandırılabilir. Kuru tip YBMD, teşhis edilen tüm vakaların çoğunu oluştursa da yaş tip YBMD ciddi görme kaybının çoğundan sorumludur. Neovaskülarizasyon ciddi görme kaybının en yaygın nedeni olmasına

rağmen, kuru tip YBMD'nin son evresi olan coğrafik atrofi de önemli görme kayıplarına neden olabilir (33).

YBMD için, genellikle druzen büyüklüğüne, druzenin bulunduğu bölgeye, ilk gözdeki pigment anormalliklerine ve ikinci gözü nasıl etkilediğine dayanan çoklu sınıflandırma sistemleri mevcuttur. Yaşa Bağlı Göz Hastalığı Çalışması'nda (AREDS) YBMD beş kategoriye ayrılmıştır:

Kategori 1- her iki gözde birkaç küçük druzen olması veya druzen olmaması (yani, YBMD'nin klinik belirtileri yok);

Kategori 2- en az bir gözde yaygın küçük druzen, yaygın olmayan orta druzen veya pigment anormallikleri;

Kategori 3- en az bir gözde büyük druzen, yaygın orta druzen veya merkezi olmayan coğrafi atrofi;

Kategori 4- Coğrafik atrofi veya en az bir gözde foveada büyük druzen gibi ilerlemiş YBMD lezyonlarına atfedilmeyen 20/32'den az görme keskinliği;

Kategori 5- yaş tip YBMD.

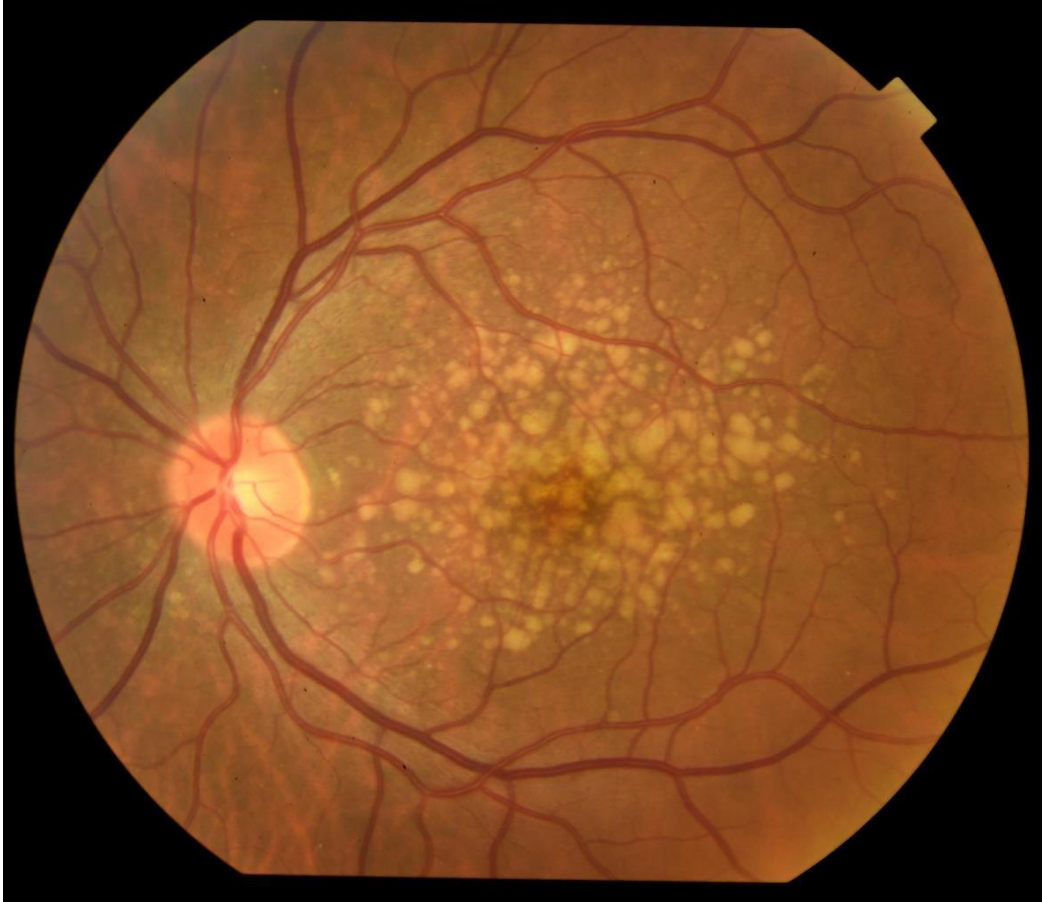
Hastalık gelişimi açısından, kategori 2 YBMD'nin erken bir formu olarak kabul edilir, kategori 3 ara formdur ve kategori 4 ve 5 ileri veya geç YBMD formlarıdır. Erken YBMD' de görme kaybı genellikle hafif ve asemptomatiktir ancak bulanık görme, azalmış kontrast duyarlılığı, bozulmuş karanlık adaptasyonu ve küçük yazıları okumak için parlak ışık veya ek büyütme ihtiyacı gibi bazı semptomlar ortaya çıkabilir. Bu semptomlar, RPE atrofisi ve fotoreseptörlerin katlanmasına bağlı olarak yavaş yavaş gelişebilir. Hastalık erken formdan orta ve ileri formlara doğru ilerleyebilir (34).

2.2.1. Kuru Tip YBMD

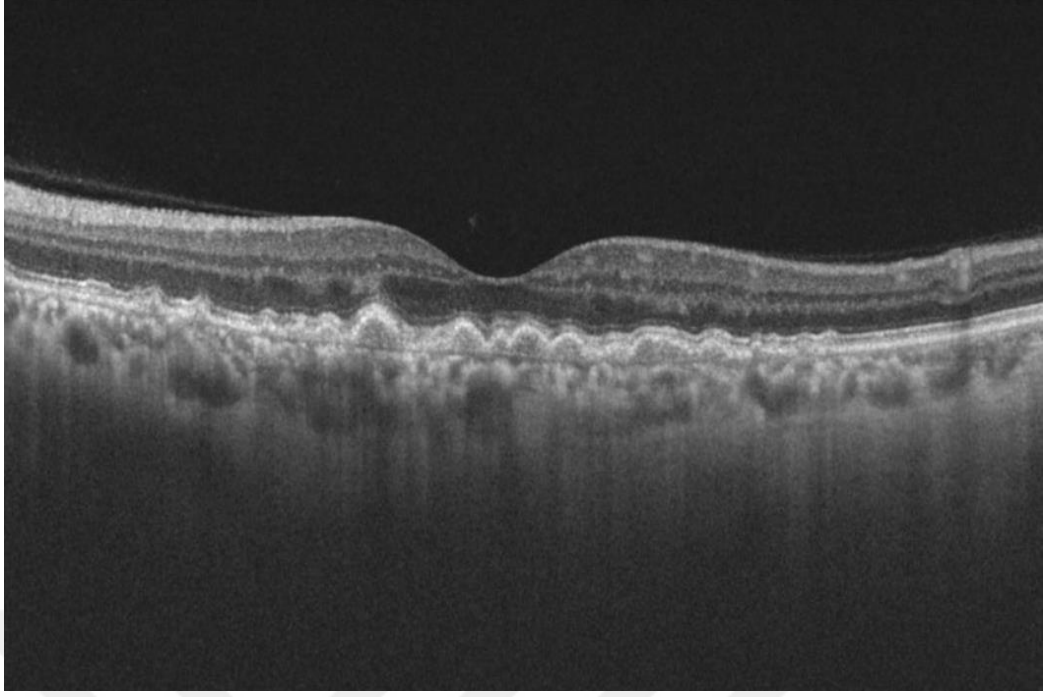
AREDS sınıflamasına göre coğrafik atrofi ve kategori 2-4 genellikle kuru tip YBMD olarak tanımlanır. Kuru tip YBMD'nin ayırt edici bulgusu erken dönemde makulada yerleşik druzendir. Kuru tip YBMD ayrıca RPE değişikliği ve hastalığın geç evresinde ortaya çıkan coğrafik atrofi ile prezente olabilir (35). Druzen, retinanın en derin tabakası RPE ve retinayı koriokapillaristen ayıran BM arasında birikim gösterir. Druzen oftalmoskopik muayenede tipik olarak yuvarlak ve sarı olarak görünür. Klinik olarak yaşa bağlı druzen, sert veya yumuşak olarak sınıflandırılır. Yumuşak belirgin

druzen aynı yoğunluğa ve keskin kenarlara sahipken, yumuşak belirsiz druzen merkezden dışarıya düşen yoğunluğa ve bulanık kenarlara sahiptir.

Druzen boyutu sınıflaması optik diskin büyüklüğüne göre göreceli olarak yapılmıştır. Optik disk büyüklüğü yaklaşık 1500 mikron alındığında, optik diskin boyutunun yaklaşık 1/24'ü 63 mikron olup, 63 mikrondan az olanlar küçük druzen olarak adlandırılır. 63-124 mikron arası orta druzen, 124 mikronun üzerinde olanlar büyük druzen olarak sınıflandırılır (36). Druzende dendritik hücreler, proteinler, lipidler ve şeker içeren moleküller olmak üzere çok sayıda hücre ve molekül türü bulunmuştur (35). İmmünohistokimyasal analizler, apolipoproteinler B ve E, farklı immünooglobulinler, faktör X, amiloid P bileşeni, kompleman C5 ve C5b-9 terminal kompleksleri, fibrinojen, vitronektin gibi çeşitli moleküler bileşenlerin sert ve yumuşak druzenin bütün fenotiplerinde mevcut olduğunu göstermiştir (37). Şekil 2.2'de kuru tip YBMD bulunan bir olgunun sol gözüne ait renkli fundus fotoğrafı, Şekil 2.3'te ise aynı göze ait OKT görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 2.2. Kuru tip YBMD renkli fundus fotoğrafı. Sol göz makulada çok sayıda büyük, yumuşak druzenler izlenmektedir.



Şekil 2.3. Kuru tip YBMD OKT görüntülemesi. OKT incelemesinde çok sayıda druzenoid pigment epitel dekolmanları görülmektedir.

2.2.2. Yaş tip YBMD

Yaş tip YBMD patolojik kan damarları, RPE dekolmanı, lipid sızıntıları ve diskiform skar oluşumu ile seyreden bir hastalıktır. Koroidden köken alan patolojik neovasküler kan damarlarının BM'den geçerek retina tabakalarının altında ve iç kısmında çoğalması KNV olarak adlandırılmakta ve YBMD kaynaklı görme kayıplarının %90'ını oluşturmaktadır. BM'deki fokal ve yaygın birikintiler, relatif hipoksi, yaşa bağlı gelişen çatlaklar ve inflamatuvar olaylar yeni damarların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Anjiogenezis ve antianjiogenezis arasındaki denge yaşlanmaya bağlı olarak bozulmaktadır. Koroidden köken alarak oluşan neovasküler damarlar BM'yi geçerek RPE'nin altında veya üstünde horizontal olarak yayılım göstermektedir. Neovasküler yapıların onarımında RPE ve bağ dokunun çoğalması görev almaktadır. İyileşme sürecinin sonucunda oluşan fibröz ve nispeten vaskülarize skar dokusu üstünde bulunan retinanın dejenerasyonuna neden olur (38). Yaş tip YBMD hastaları kliniklere ani başlayan görme kaybı, şekilleri düzensiz ve eğri görme, baktıkları yerlerin santral bölgelerini görememe şikayetiyle başvurabilirler. Şikayetlerine ağrı eşlik etmez. Subretinal hemoraji ya da yoğun subretinal sıvısı olan yaş tip YBMD'ye sahip hastalarda belirtiler birdenbire ortaya çıkarken, RPE dekolmanı ve subretinal sıvısı az

olanlarda belirtiler sinsi seyrederek (28). Şekil 2.4'te yaş tip YBMD olan bir hastanın sağ göz renkli fundus fotoğrafı görülmektedir.

Yaş tip YBMD'nin sınıflandırılması ilk olarak 1991'de 'Macular Photocoagulation Study (MPS)' çalışmasıyla floresein anjiyografi (FA) görüntüleme yöntemi esas alınarak yapılmış ve yaş tip YBMD klasik veya gizli KNV olarak iki alt gruba ayrılmıştır (39). Yazarların çoğu, KNV'nin FA tanımlarına odaklanırken, Gass, anjiyografik görünümlere ek olarak RPE tabakasına göre subretinal veya sub-RPE olmak üzere neovasküler kompleksin konumunun tedaviye yanıtı tahmin etmede önemli olabileceğini öne sürmüştür. Gass, sub-RPE alanda sınırlı bulunan damarları Tip 1 ve nörosensöryel tabakanın altında RPE'nin üzerinde çoğalan damarları Tip 2 şeklinde tanıtarak KNV'nin alternatif bir sınıflandırmasını yapmıştır (40). Tip 1'in az sızıntıya neden olarak daha az aktif olduğu, Tip 2'nin ise çok sızıntıya neden olarak daha çok aktif özellik gösterdiği ifade edilmiştir (41). 1980'lerde indosiyanin yeşili anjiyografisinin (İSYA) ortaya çıkışı, gizli veya yetersiz tanımlanmış KNV'nin tespitini ve sınırlarının belirlenmesini kolaylaştırmıştır. Bu yeni teknik, "plak" ve "sıcak nokta" terimlerini içeren yeni bir dil ortaya çıkarmış ve "idiyopatik polipoidal koroidal vaskülopati (PKV)" ve "retina anjiyomatoz proliferasyonu (RAP)" (RAP artık tip 3 neovaskülerizasyon olarak da bilinir) olarak adlandırılan iki yeni patolojik oluşumun keşfedilmesine yol açmıştır (42). FA ve İSYA bilgilerinin birlikte kullanılmasının avantajlarına rağmen, klinisyenlerin Gass tarafından tanımlanan tip 1 sub-RPE ve tip 2 subretinal neovasküler membranlar arasında güvenilir bir ayrım yapılmasını kolaylaştıracak araçlara sahip olması 10 yıl daha sürmüştür. OKT, retina yapısını neredeyse histopatolojik düzeyde gösterebilen yeni bir görüntüleme aracıdır. Sonraki yıllarda yüksek çözünürlüklü spektral domain OKT'nin (SD-OKT) kullanıma girmesiyle koroid de detaylı olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Son zamanlarda FA, OKT ve gerektiğinde İSYA kullanılarak elde edilen multimodal görüntüleme ile KNV'nin anatomik lokalizasyonuna dayalı bir sınıflandırma önerilmiştir. Gass'ın tip 1 ve tip 2 histolojik sınıflandırmasına, RAP olarak da bilinen intraretinal neovaskülerizasyon ile karakterize tip 3 neovaskülerizasyon eklenmiştir. Okkült KNV ve PKV; tip 1 neovaskülerizasyon, klasik KNV; tip 2 neovaskülerizasyon, RAP ise tip 3 neovaskülerizasyon olmak üzere 3 ayrı kategoride sınıflandırılmıştır (40).

Klasik KNV: Gass'ın histolojik olarak RPE üzerinde geliştiğini belirttiği tiptir. Koroidal damarların BM'yi geçip çoğalmasıyla ortaya çıkar. Fundus muayenesinde

etrafı hiperpigmente halka ile çevrili grimsi subretinal lezyonlar şeklinde görülür. FA'nın erken evresinde, sınırları iyi belirlenmiş hiperfloresans, geç evresinde ise erken hiperfloresans bölgesinden kaynaklanan yoğun sızıntı sonucu göllenme görülür. OKT'de RPE üzerinde hiperreflektif materyal birikimi görülür. FA'da görülen sızıntının karşılığı OKT'de intraretinal ödem ve subretinal sıvı olarak görülür (43). Şekil 2.5'te klasik KNV'si bulunan bir gözün OKT görüntüsü izlenmektedir.

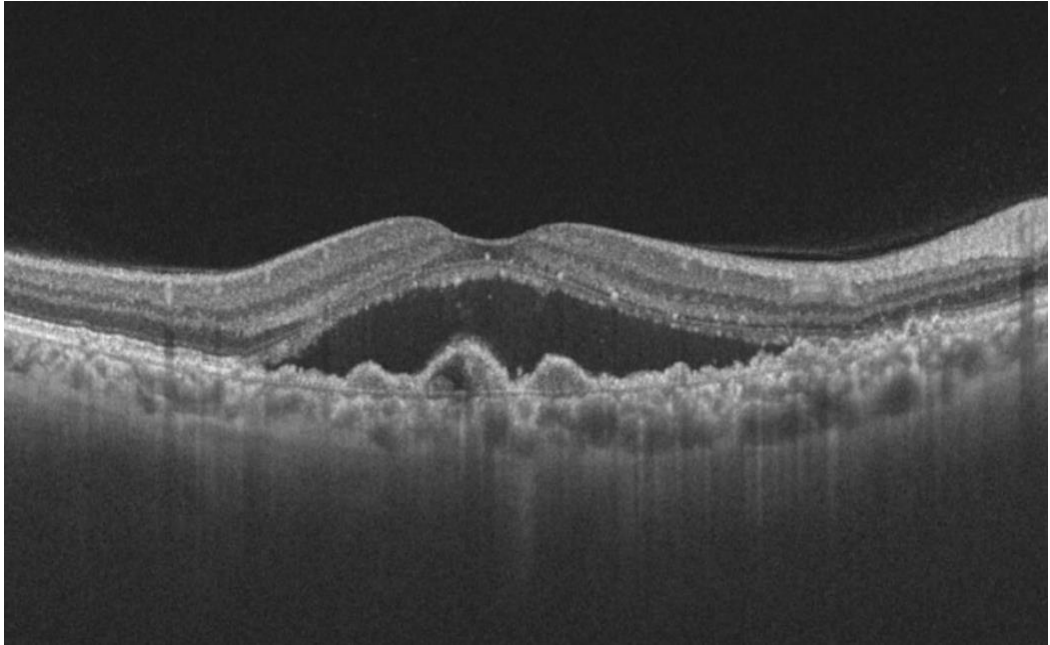
Okkült KNV: Histolojik olarak RPE altında gelişen tiptir. Gizli KNV, fibrovasküler PED veya belirsiz kaynağın geç sızıntısı olarak tanımlanmıştır. Erken hiperfloresansın kasık tipteki kadar parlak olmaması ve sınırlarının genellikle belirsiz olması nedeniyle klasik KNV'den ayrılır. Fundus muayenesinde düzensiz şekle ve yüksekliğe sahip RPE elevasyonları ile birlikte pigment beneklenmeleri görülür. OKT'de boyanan alanlara denk gelen kısımda, mikst reflektiviteye sahip RPE altı birikimler ve subretinal sıvı izlenir. İntraretinal sıvı daha az yaygındır (43).

PKV: Tanı fundoskopik muayene bulguları, İSYA ve OKT bulgularına dayanarak konulur. Fundus muayenesinde eleve turuncu lezyonlar ve hemorajik PED'ler bulunur. Hemorajik PED'e subretinal hemoraji ve seröz PED eşlik edebilir veya etmeyebilir. OKT bulguları subretinal neovaskülarizasyon olmaksızın tek veya çok sayıda kubbe şeklinde RPE elevasyonlarını içerir. İSYA bulguları polipoidal lezyonlar, üzüm salkımı şeklinde polip benzeri yapılar ve koroidal damarların anevrizmal dilatasyonlarını içerir (44).

RAP: Derin retinal vasküler anormal kompleks veya retinokoroidal anastomoz olarak da adlandırılan RAP, özel bir neovasküler YBMD formu olarak kabul edilmiştir (45). RAP tanısı PED olsun veya olmasın, FA ve İSYA'da besleyici arter ve venüllerin intraretinal veya subretinal neovaskülarizasyon bulgularını içerir. OKT tarafından intraretinal neovaskülarizasyonların ortaya çıkarılmasıyla tanı konulan RAP sayısının artacağı düşünülmektedir (44).



Şekil 2.4. Yaş tip YBMD renkli fundus fotoğrafı.



Şekil 2.5. Yaş tip YBMD OKT görüntülemesi. Pigment epitel dekolmanları ve subretinal sıvı görülmektedir.

2.3. YBMD Etyolojisi

Hastalığın etyolojisi halen tam olarak bilinmemekle birlikte bazı hipotezler öne sürülmüştür.

2.3.1. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen ara ürünlerinin (ROS) neden olduğu hücresel hasar ve bunlara karşı koruyucu etkiye sahip antioksidanlar arasındaki dengenin bozulmasını ifade eden oksidatif stres, birçok hastalık sürecinde, özellikle yaşa bağlı bozukluklarda rol oynamaktadır. ROS'lar arasında serbest radikaller, süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), lipid peroksil radikali, tekli oksijen bulunur ve bunlar genellikle oksijen metabolizmasının yan ürünleridir. ROS üretimi çevresel faktörlerin etkisi ile olduğu kadar hücresel metabolik aktiviteler sonucunda da gerçekleşir. ROS'lar yörüngesinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran son derece kararsız moleküller olup bağlandığı molekülün yörüngesinden elektron alarak bağlandığı molekülü kararsız hale getirmekte ve sitotoksik oksidatif zincir reaksiyonuna yol açmaktadır (46). ROS'lar hücresel yapıyı meydana getiren protein, lipid, DNA gibi çeşitli moleküllerin yapısında ve işlevinde değişikliğe neden olarak etki göstermektedir. Başta doymamış yağ asitleri olmak üzere, lipidler atom yapısındaki özelliklerinden dolayı peroksidasyona daha çok duyarlıdır. Serbest radikaller biyolojik membranlarda yer alan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu tetikleyerek lipid peroksidasyonunu başlatırlar (47). Antioksidanların ortamda bulunmaması durumunda peroksil radikalleri kendi aralarında çapraz kovalent bağ yaparak membran yapısında değişikliğe neden olarak hücresel membranı hasara yatkın duruma sokar. Membranlarda oluşan peroksidasyon, membran akışkanlığında bozulma, membran potansiyelinde azalma yapar. Membranların H^+ gibi iyonlara geçirgenliğini arttırıp membranların parçalanmasına ve hücre içeriğinin sitoplazma dışına çıkmasına neden olur. Tüm bu olayların sonunda hücre hasarı veya hücre ölümü gerçekleşir (48). Retina, aşağıdaki nedenlerden dolayı oksidatif hasara özellikle duyarlıdır:

- Retina tarafından oksijen tüketimi diğer dokulardan çok daha fazladır ve yüksek oksijen düzeyine sahiptir (49).
- Retina yüksek ışığa maruz kalmaktadır.

- Retina fotoreseptör dış segmentlerinde kolaylıkla oksitlenebilen ve sitotoksik bir zincir reaksiyonu başlatabilen yüksek oranda çoklu doymamış yağ asidi içermektedir (50).
- Retina ve RPE çok sayıda kromofor (lipofuksin, melanin, rodopsin, sitokrom c oksidaz) içermektedir (51).
- Fotoreseptörlerin RPE tarafından fagositoz sürecinin kendisi oksidatif stresdir ve ROS oluşur (52).

ROS'lardan biri olan H_2O_2 'nin oksidatif stresle RPE hücrelerinde mitokondrial disfonksiyona yol açarak apoptozisi indüklediği gösterilmiştir. Oksidatif stresle antiapoptik genlerden biri olan bcl-2 protein ekspresyonunun azaldığı, proapoptotik genlerden p53 ve p21 protein ekspresyonunun arttığı, caspaz-3 aktivasyonunun arttığı bildirilmiştir (53). Yaşla birlikte, RPE hücrelerinde mitokondriyal DNA'da oluşan hasara bağlı olarak apoptozise duyarlılık oluşur. Isı şoku proteinlerinin, hücrelerin hipertermiden ve diğer stres türlerinden korunmasında kritik bir rol oynadığı bilinmektedir. Bilinen ısı şok proteinlerinden biri olan HSC70 ekspresyonu yaşla birlikte azalmaktadır. Yaşlanma sırasında HSC70 ekspresyonunun azalması metabolik olarak aktif retinanın stres tepki mekanizmasını tehlikeye atabilir ve stres kaynaklı apoptozise duyarlılığı artırabilir (54).

İnsan RPE hücrelerinin in vitro ve in vivo iskemi-reperfüzyon modellerinde retinadan salınan vasküler endotelial büyüme faktörlerinin (VEGF) mRNA düzeylerini arttırdığı ve antioksidanların retinada reperfüzyonla ilişkili VEGF mRNA artışlarını önlediği gösterilmiştir. Ayrıca ROS'ların in vitro ve in vivo olarak iskemik retinanın reperfüzyonu sırasında VEGF gen ekspresyonunu arttırdığı sonucuna varılmıştır (55). Oksidatif stres neovaskülarizasyonu da teşvik edebilir. Koriokapiller endotelin, protoporfirin IX gibi kanla taşınan fotosensitizerler ile ışığa duyarlılaşması YBMD'de görülen BM birikintileri ve koriokapiller skleroz için olası bir mekanizma olabilir. Protoporfirin IX seviyesinde yaklaşık 10 kat artış ve şiddetli mavi ışığa uzun süre maruz kalma ile koriokapillaris ve RPE'de bazal laminar druzen benzeri birikimlerde artış olduğu gösterilmiştir (56).

Dolaşımda serbest olarak bulunan ve proteinlerin yapısında yer alan amino asitler serbest radikallerin okside edici etkilerine karşı oldukça duyarlıdır. Proteinler canlı organizmalarda yapısal ve işlevsel olarak önemli göreve sahip biyomoleküller

olduğundan proteinlerin ROS ile oksidasyonu önem arz etmektedir (57). Yaşlanmayla oksidatif olarak modifiye olmuş proteinlerin miktarı yükselir. Protein oksidasyonunu azaltan durumların canlıların hayatta kalma süresini arttırdığı bilinmektedir. DM, koroner arter hastalığı (KAH), nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığa ve yaşlılığa bağlı protein oksidasyon ürünlerinin fazla oluşumu nedeniyle hücre ve dokularda aşırı birikiminin olduğu gösterilmiştir (58).

Lipofuksin, RPE hücrelerinde biriken çeşitli otofloresan özellikte lipid ve protein agregatları grubunu ifade eder. Lipofuksin oluşumunu otooksidatif doku hasarıyla ilişkilendiren, lipofuksinin en azından kısmen bir otooksidasyon ürünü olduğunu gösteren önemli kanıtlar vardır. RPE tarafından fotoreseptör dış segmentlerinin bozulmuş fagositozunun lipofuksin oluşumu ile sonuçlandığına inanılmaktadır (59). RPE'de lipofuksin birikimi yaşla birlikte artar ve makulada en fazla olarak rodların en yoğun olduğu parafoveal halkada yoğunlaşır (60). Lipofuksinin mekanik distorsiyonla RPE hücre yapısını bozarak ve fototoksiteyi artırarak RPE fonksiyonunu bozduğu iddia edilmektedir. Lipofuksin birikiminin artması RPE'nin fagositik kapasitesini azaltmaktadır (61). RPE lizozomlarında, lipofuksinin yapısında bulunan N-retinylidene-N-retinylethanolamine (A2E) fosfolipidlerin etkili bir şekilde parçalanmasını engelleyerek, RPE'de birikime yol açarak YBMD gelişmesinde rol almaktadır (62). Lipofuksin granülleri ile beslenen ve kısa dalga boyunda görünür ışığa (390-550 nm) maruz kalan RPE hücreleri, lipid peroksidasyonuna uğrar, yapısı bozulur ve katalaz, süperoksit dismutaz ve katalaz D'nin aktivitesinde belirgin azalma sonucu hücre ölümü gerçekleşir (63). Bu fotooksidatif değişiklikler mavi ışığa maruz kaldığında daha belirgindir (64).

2.3.2. Genetik

Genetik veya kalıtım bilimi biyolojinin organizmalardaki kalıtım ve çeşitliliğini inceleyen, bir hastada hastalığın fenotipi ile mevcut varyasyonu arasındaki ilişkiyi belirleyen bilim dalıdır. Bazı hastalıkların bir veya daha fazla genetik risk faktörü olabilir. Monogenik hastalıklar tek gendeki hasarın sebep olduğu nadir görülen hastalıklardır. Otozomal dominant, otozomal resesif, X'e bağlı veya mitokondrial kalıtım ile geçiş gösterebilmekte ve mutlaka aile ağacına yansıyan bir aile öyküsü olmaktadır.

Kompleks genetik hastalıklar daha sık izlenmekte olup çoklu gen polimorfizmi ile çevresel faktörlerin etkileşmesiyle meydana çıkabilirler. Bu durumun ortaya çıkmasını sağlayan genetik değişiklikler risk allelleri olarak tanımlanmaktadır. Bazen bir veya daha fazla risk allellerini taşıyanlarda hastalık ortaya çıkmazken, risk alleli taşımayan kişide hastalık ortaya çıkabilir. SNP (single-nucleotide polymorphism), insan genomundaki bir nükleotidin bulunması gereken yerde bazen farklı bir nükleotidin bulunması durumudur. Örneğin belirli bir nükleotid pozisyonunda, çoğu bireyde G nükleotidi görülürken, bireylerin az bir kısmında A nükleotidi bulunabilir. Bu spesifik pozisyonda bir SNP olduğu anlamına gelir ve iki olası nükleotid varyasyonunun – G veya A – bu spesifik pozisyon için alleller olduğu söylenir.

Genetik ve epidemiyolojik çalışmalarda YBMD etiyolojisinde genetik değişkenliğin etkisinin %45-70 arasında olabileceğini belirtilmiştir (65). Aile çalışmalarında ise hastalık bulunan bireyin birinci derece akrabalarında riskin 2-3 kat arttığı vurgulanmıştır (66). 1980-2014 yılları arasında yapılan insan genom sekanslama projesinin tamamlanmasıyla sadece retina hastalıklarıyla ilgili yaklaşık 200 gen ve 249 lokus bulunmuştur (67). Başlangıçta sadece mendel yasalarının geçerli olduğu ailesel geçişli retinal hastalıkları tespit eden sistem kullanılırken zamanla tek nükleotid polimorfizm, yüksek throughput genotipleme ve tek mikro diziliş sistem çiplerin kullanımıyla defekti tespit etmek oldukça hızlanmıştır. Nadir görülen hastalıklarla birlikte YBMD gibi milyonları da etkileyen hastalıkların genetik yönünden araştırılmalarına ihtiyaç duyulmuştur. Özellikle neovaskülerizasyon yolağını araştıran moleküler düzeydeki çalışmalar neovasküler membranların gelişmesinin önlenmesini veya ilerleme hızını yavaşlatmayı amaçlamaktadır (68).

YBMD çevresel ve genetik faktörlerin etkili olduğu, multifaktöryel, kompleks genetik hastalıkların en iyi örneklerinden biridir (69). Örnek olarak sigara kullanımı YBMD için önemli bir risk faktörü olup, bu riskin *nitrik oksit sentaz 2A* varyasyonu olan kişilerde arttığı bilinmektedir (70). Coğrafik atrofi ve yaş tip YBMD, YBMD'nin iki ayrı ucu olup, çok sayıda risk alleli bulunmaktadır. Hangi hastada hangisinin gelişeceği kesin bilinmemektedir. Yapılan çalışmalarda *matrix metalloproteinase 9* varyasyonunun yalnızca yaş tip YBMD ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (71).

Uluslararası Retina Veri Tabanı, YBMD riskiyle bir bağlantısı olduğu belirlenen 16 geni tanımlamıştır (72). *Kompleman faktör H (CFH)*, genom çalışmasıyla YBMD ile

ilişkili bulunan ilk önemli gendir. *Kompleman faktörleri B (CFB)*, 2 (*C2*) ve 3 (*C3*), YBMD gelişme riski ile yüksek oranda ilişkili diğer önemli genlerdir (73). *Kompleman faktör H* geni 1q32 kromozomunda yer alıp kan plazmasında dolaşımı olan, hücre ve doku düzeyinde koruması olan önemli bir glikoproteindir. İlk kez 2005 yılında Klein ve ark. tarafından *Kompleman faktör H* geni tek nükleotid polimorfizmi rs1061170 (Y402H)'ın YBMD ile bağlantısı bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada riskli alleli taşıyan kişilerde YBMD gelişiminin 7 kat arttığı belirtilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda farklı kompleman çeşitleri ile YBMD arasında ilişki saptanması YBMD ile immün sistem arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir (74). YBMD risk faktörü olan ikinci büyük gen lokusu *HTRA1* ve *Age Related Macular Susceptibility 2 (ARMS2)* genleriyle bağlantılıdır. 2013 yılında yapılan genom çalışmasında yeni lokusların keşfedilmesiyle birlikte mevcut durumda YBMD ile ilgili 36 gen lokusu ve 52 gen varyantı tanımlanmıştır. Bu lokusların bazıları yüksek etkili, bazıları düşük etkili ve bir kısmı da bilinmeyen etkili olarak sınıflanmıştır (75).

Dünyanın çeşitli merkezlerindeki farklı çalışma grupları bir araya gelerek 'Yaşa Bağlı Makula Dejeneransında Uluslararası Gen Konsorsiyumu'nu kurmuşlardır. Avrupa ve Asya kökenlilerin tarandığı bu uluslararası çalışmada 17,000 YBMD hastası ve 60000 kontrol grubu taranmıştır. Çalışma sonucunda 19 lokus tespit etmişlerdir. Bu lokusların kompleman aktivasyonu, lipid metabolizması, hücre dışı matriksin yeniden şekillenmesi ve anjiyogenezin düzenlenmesi ile ilgili genlerle kuvvetle ilişkili olduğu görülmüştür. Bunlardan 7 tanesi *RAD51B*, *TGFBR1*, *B3GATL*, *SLC16A8*, *IER3-DDR1*, *ADAMTS9* ve *COL8A1* genlerinde bulunmaktadır (76).

2.3.3. Hidrodinamik Değişiklikler

BM, beslenmeden sorumlu koriokapillaris ile fotoreseptör hemostazisine yardımcı olan metabolik aktiviteden sorumlu RPE arasında yer alan stratejik öneme sahip bir dokudur. Yaşla birlikte BM'deki lipid içeriğindeki devam eden artış, makulada perifer retinaya kıyasla daha fazladır. Bu nötr yağ birikintileri, periferik kandan değil, hücrel bir kaynaktan türetildiklerinden başlıca plazma lipidleri olan kolesterol ester ve fosfatidilkolini düşük seviyelerde içerirler. Bu yüzden yapıları ateromlardan farklıdır (77). BM'de lipid içeren hücre dışı materyalin aşamalı birikiminin membran difüzyon özelliklerini değiştirerek YBMD gelişimine neden olabileceğine inanılmaktadır. Yaşla birlikte, BM kalınlığı artar (10 dekat boyunca %135), böylece difüzyon yolunun

uzunluğu artar. Koryokapillaris yoğunluğundaki %45 yaşa bağlı düşüş, BM'den klirensi azaltarak difüzyonu daha da bozar (78). Sonuç olarak BM filtreleme özelliği önemli ölçüde değişikliğe uğrar (79). Yaşlı gözlerde BM kalınlığı ile lipofuksin birikiminin bir göstergesi olan RPE otofloresansı arasında doğrudan bir ilişki olduğu gösterilmiştir (80).

BM'deki anormal birikimlerin kökeninin RPE'den kaynaklandığına inanılmaktadır. Yüksek metabolik aktiviteye sahip fotoreseptörlerin dış segmentleri dökülür, daha sonra RPE tarafından fagositoz edilir ve lizozomal enzimler tarafından parçalanır. İnsan RPE hücreleri içindeki bazı lizozomal enzimlerin aktivitesi yaşlı gözlerde azalır (81). BM'ye dökülen materyalin, fagolizozomal yetersizlikten dolayı anormal olması ve özellikle difüzyonu engelleyen büyük moleküller ve membran kompleksleri içermesi mümkündür.

RPE'de oluşan yıkım ürünlerinin birikiminin, RPE dekolmanlarının uyarılmasında ve BM altında neovaskülarizasyon gelişmesinde önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır. Büyük konfluent hipofloresan, hidrofobik druzenler RPE dekolmanlarına yatkınlık oluştururken; hiperfloresan, hidrofilik druzenler KNV gelişimine yatkınlık oluşturur (82). Buna göre, RPE altında biriken sıvının RPE'den kaynaklanmakta olduğu düşünülmektedir ve BM'nin hidrofobikliğinin RPE'den koroide sıvı akışına karşı direnç oluşturarak RPE dekolmanlarına neden olduğuna inanılmaktadır. İkinci durumda ise, serumdan kaynaklanan anjiyojenik faktörlere daha fazla maruz kalmanın KNV'yi teşvik ettiği düşünülmektedir (83).

2.3.4. Hemodinamik Değişiklikler

Koroidal dolaşım retinanın dış yarısının beslenmesini sağlar ve atık ürünleri uzaklaştırır. Anormal koroidal kan akışı normal retina fonksiyonunu bozabilir ve görsel bozulmaya yol açabilir. Daha önce yapılan çalışmalarda makular mikrosirkülasyondaki kan akışının yaşla birlikte azaldığı gösterilmiştir. Sonraki yıllarda yapılan bir çalışmada ise foveolar koroidal kan akımının yaşla birlikte azaldığı belirtilmiştir. Bu değişiklik muhtemelen artan yaşla ortaya çıkan koriokapillerlerin yoğunluğundaki ve çapındaki azalmayla ilişkilidir (84). FA ve İSYA'da uzamış koroidal dolum fazı erken YBMD'nin ortak bir özelliğidir. Uzamış koroidal dolum fazı, BM'nin difüzyon özelliklerindeki değişimin neden olduğu azalmış koroid perfüzyonunu göstermektedir. Uzamış koroidal

dolum fazı, BM'deki yaygın birikintiler için klinik bir belirteçtir ve coğrafik atrofi gelişimi için bir risk faktörüdür (85).

Friedman ve ark. YBMD'nin vasküler bir hastalık olabileceği tezini öne sürmüşlerdir. Kardiyovasküler veya serebrovasküler sistemlerin etkilendiği gibi başka organları da etkileyen ateroskleroz olarak adlandırılan lipid infiltrasyon sürecinin hemodinamik sonucu oluşan bir hastalık olabilir. Burada ifade edilen hemodinamik modelde, YBMD'de, koroiddeki kan akışına dirençteki artışın, yaşa ve diyetle bağlı olarak skleranın kompliyansındaki bir azalmadan kaynaklandığı varsayılmaktadır. Ayrıca oftalmik ve serebral dolaşımların nispi dirençleri de etkili olabilir. Serebral dolaşımın direncinin koroidinkinden nispeten düşük olması sonucu perfüzyonda bir azalma, YBMD'nin atrofik formuna yol açar. Tersine, koroid damarlarındaki hidrostatik basınçtakinden daha fazla artış ise, hastalığın eksüdatif formuna yol açar (86).

2.3.5. Koroidal Neovaskülarizasyon ve Anjiyogenezis

Gözün damarsal gelişimi normalde embriyojenik gelişim içinde meydana gelmekte ve yetişkinlerde yeni damar gelişimi olmamaktadır (87). Neovaskülarizasyon ile seyreden oküler hastalıklarda bu denge değişmektedir. YBMD, diyabetik retinopati ve prematüre retinopatisi gibi görme kaybı yapan hastalıklarda anjiyogenez önemli role sahiptir (88). Tümör oluşumu, yara iyileşmesi ve patolojik olaylardaki etkisi nedeniyle anjiyogenezin oftalmoloji, onkoloji, kardiyooloji ve romatoloji dallarında çalışmaları artmıştır. Anjiyogenezis fizyolojik veya patolojik olabilir. Fizyolojik anjiyogenezis yara iyileşmesi, menstrüel döngü ve embriyogenez sırasında görülebilir. Patolojik anjiyogenezis ise ilk sırada tümörler yer almak üzere retinanın vasküler hastalıkları ve kollajen doku hastalıklarında izlenebilir (89). Oküler vasküler hastalıklarda ve retinanın embriyonel gelişiminde anjiyogenezin önemi önceden beri bilinmektedir. Anjiyogenez özelleşmiş bir hücre olan perisitleri ve endoteli ilgilendirir. Anjiyogenezis çok sayıda olay zincirinin birbirini izlemesiyle meydana gelir. Öncelikle hipoksi veya iskemik kalan dokudan anjiyojenik faktörler salınır. Anjiyojenik faktörlerin matriks metalloproteinaz (MMP) enzimiyle bazal membranı parçalamasıyla süreç başlar. Bu sürecin devamında endotel hücrelerinin aktivasyonu, adezyonu, göçü, çoğalması ve tüp oluşumu gerçekleşir, nihayetinde normal olarak bulunan kan damarlarından yeni kan damarları oluşumu gerçekleşir (90). Anjiyogenezisi uyaran birçok hormon ve/veya büyüme faktörleri bulunmaktadır. Bu büyüme faktörlerinden VEGF ve fibroblast

büyüme faktörünün (FGF) birlikte gösterdikleri etki, tek başlarına gösterdiklerine göre daha güçlüdür (91).

Anjiyogenezisi uyaran ve/veya inhibe eden bazıları endojen ve sinerjist olan çok sayıda faktör ya da hormon bulunmuştur. Vücudun herhangi bir noktasındaki anjiyogenezis, endojen anjiyojenik aktivatörler ve inhibitörler ile çok ince bir şekilde denetlenmektedir. Bunlardan VEGF güçlü mitojenik etkiye sahiptir. İn vitro veya in vivo olarak hipoksik ya da iskemik dokulardan salınarak anjiyogenezisi uyarır (90). Heparin-bağlayan glikoprotein yapısında olan ve iki özdeş monomerin bir araya gelmesiyle oluşan VEGF'in çeşitli alt grupları tespit edilmiştir. VEGF'in tirozin kinaz yapısında üç farklı reseptörü bulunur. Bu reseptörlerden ikisi endotelde bulunurken, birisi lenf damarları üzerinde yer almaktadır (92). Reseptörler hücre membranının dış kısmında yer alırken, enzimatik reaksiyon hücrenin içinde gerçekleşir. Tirozin kinaz aracılığı ile ATP'den fosfolipaz-C, fosfoinositol-3 kinaz ve ras/GTPaz aktivatör gibi proteinlere fosfat grubu aktarılır. Bu fosforillenme endotelde çoğalma, göç ve farklılaşmayı regüle eder. Nitrik oksit (NO), NO sentaz enzimini stimüle ederek, endotel hücre göçünde yer alan VEGF bağımlı bir aracı olup, anjiyogenezisin oluşmasında yer almaktadır (93). VEGF seviyesi vücutta yer alan çok sayıda aracı molekül ile regüle edilmektedir. İlk sırada onkogen grubunda bulunan RAS, SRC ve HER-2 molekülleri bulunmaktadır. Sitokinlerden IL-1, IL-6, IL-10, IL-13 bulunurken, büyüme faktörlerinden transforme edici büyüme faktör- β (TGF- β), fibroblast büyüme faktörü-4 (FGF-4), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), platelet kökenli büyüme faktörü (PDGF), proinflamatuvar olarak NO ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) bulunmaktadır. Hipoksiyle indüklenen faktör-1 (HIF-1), VEGF salınımında önemli görev almaktadır. HIF-1 düzeyi hipoksik ortam, hipoglisemi ve oksidatif stres koşullarında artmaktadır (94). Ek olarak VEGF damarlarda endotel hücrelerinde bazı değişiklikler yaparak vasküler geçirgenliği arttırmaktadır. MMP ve doku-tipi plazminojen aktivatörlerini stimüle ederek ekstra selüler matriksin parçalanmasına neden olmaktadır. Bu da invazyon ve metastazın daha kolay oluşmasını sağlamaktadır (95).

KNV oluşumunda VEGF yanında daha birçok molekülün etkili olduğu bildirilmiştir. Fibroblast büyüme faktörü 2 (FGF-2), Ang1 ve Ang2 bunlardan bazılarıdır. Ang1 preendotelial destek hücrelerini toplamak ve hücre dışı matriks ve mezenkim ile birleştirmek üzere endotel hücrelerini indükleyerek vasküler bütünlüğü

teşvik eder (96). Ang2, aynı endotel hücre reseptörü Tie2'ye bağlanan Ang1'in doğal bir antagonistidir. Ang2'nin aşırı ekspresyonu, Ang1'in eksik olduğu durumda görülen anjiyojenik duruma neden olur. Her iki molekül de, VEGF ile indüklenen neovaskülarizasyonu modüle eder (97). Ang1; ICAM-1, vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ve E-selektin üretimini engelleyerek VEGF'nin neden olduğu lökostaz ve enflamasyonu baskıladığı için potansiyel bir terapötik kullanıma sahip olabilir (98).

PDGF, ilk olarak 1970'lerin başında trombosit ekstratlarından izole edilmiştir ve mezenkimal kökenli fibroblastlar ve hücreler için bir mitojen olarak sınıflandırılmıştır. PDGF, tirozin kinaz ile yakından ilişkili, PDGFRA ve PDGFRB genleri tarafından kodlanan PDGF reseptör α and β 'ye bağlanır (99). Trombositlerin α granüllerinin PDGF için önemli bir depolama alanı olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, son çalışmalar, diğer bazı hücre tiplerinde de PDGF'nin varlığını göstermiştir. Farelerde yapılan araştırmalarda, PDGF'nin embriyonun erken gelişiminde önemli rol oynadığı ve eksikliğinin akciğerlerin, damarların, plasenta, beyin ve iskeletin kusurlu oluşumuyla sonuçlandığı bulunmuştur. Bu organlarda mezenkimal hücreler, perisitler, fibroblastlar ve glial hücreler gibi hücre tiplerinin PDGF'ye bağımlı olduğu gösterilmiştir (100). İn vitro çalışmalar, PDGF'nin anjiyogenez sürecindeki rolünü göstermiştir. Perisitlerin toplanmasını arttırarak endotel hücrelerinin göçünü ve proliferasyonunu desteklediği gösterilmiştir. Bu bulgular, PDGF'nin anjiyogenez kaskadında anahtar bir rol oynadığını göstermektedir. PDGF antagonistleri perisitlerin toplanmasını, hayatta kalmasını ve olgunlaşmasını bloke ederek, yeni oluşan damarların gelişimini ve olgunlaşmasını engeller, böylece yaş tip YBMD'li hastalar için heyecan verici bir tedavi seçeneği oluşturur (101).

Yapılan bir çalışmada rekombinant PEDF'nin (pigment epiteli kaynaklı faktör) sistemik olarak verilmesi, farelerde iskemi kaynaklı retinopatiyi ve diyabetik sıçanlarda VEGF kaynaklı retinal vasküler sızıntıyı inhibe etmiştir (102). BM'nin lazerle rüptüre edilmesiyle KNV oluşturulan farelerde, PEDF vektörünün intravitreal enjeksiyonu ile, boş vektörün enjeksiyonu veya enjeksiyon yapılmamasına kıyasla KNV'nin önemli ölçüde gerilediği gösterilmiştir. Bu veriler, gen terapisi ile PEDF'nin sürekli artan intraoküler ekspresyonunun, oküler neovaskülarizasyon tedavisi için umut verici bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir (103).

2.3.6. Hücre Dışı Matriks

Arter duvarı ve koryopakillaris bazal membranındaki ekstraselüler matriks yapısı birçok açıdan aynı özelliklere sahiptir. Arter duvarı ve bazal membranda ileri yaşta meydana gelen değişimlerin de benzer olduğu görülmüştür (104). Anjiyogenezin anjiyojenik mediyatörler ile proteolitik enzimler arasındaki hassas bir denge ile meydana geldiği bilinmektedir. MMP, proteolitik enzimler grubunda yer alır ve KNV gelişmesinde etkileri olduğuna dair çalışmalar vardır (105). MMP proenzim şeklinde salınan, yapısında bulundurduğu çinko ve sistein bağının kopmasıyla aktifleşen enzimler olup vücutta yara iyileşmesi, anjiyogenez gibi birçok fizyolojik durumlarda görev alır. Bununla birlikte romatoid artrit, tümör invazyonu, metastazı ve anjiogenezi gibi patolojik durumlarda da görev aldığı bilinmektedir.

Anjiyogenez inhibitörleri, MMP ve MMP inhibitörleri ekstraselüler matriksin dinamik dengesinin sürekliliğinin sağlanmasında uyum içindedir (106). MMP, ekstraselüler matriks yapılarını yıkarak, migrasyon yapan endotel hücrelerine lazım olan yolu sağlar (107). Anjiyogenez oluşumunda bulunması gereken MMP, endotel hücresinin kendisinden salınabildiği gibi stroma hücresi ve enflamatuvar hücrelerden de salınabilmektedir. MMP'lerin salınması ve aktivitesi endotelde bFGF veya VEGF gibi anjiyojenik faktörlerin etkisiyle artış göstermektedir (108). Anjiyojenik faktörlerin MMP'lerin salınmasını artırması, ekstraselüler matriksin yıkılmasıyla VEGF, bFGF ve TGF- β gibi anjiyojenik faktörlerin meydana çıkmasını sağlayarak aktivasyonun daha çok artmasına neden olur (109). TIMP'lerin (endojen doku inhibitörleri "Tissue inhibitors of metalloproteinases) anjiyogenezin farklı basamaklarını etkileyerek antianjiyojenik aktivite gösterdiği çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur (110). TIMP-1 endotel hücre migrasyonunu, TIMP-2 endotel hücre proliferasyonunu, TIMP-3 endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonunu, TIMP-4 ise endotel tüpü oluşmasını engelleyerek antianjiyojenik etki göstermektedir (111).

YBMD'de MMP'lerin etkili olduğuna dair son zamanlarda ilgi çekici çalışmalar yapılmıştır. Steen ve ark. YBMD hastalarında ameliyatla aldıkları KNV membranlarını değerlendirdikleri çalışmada, MMP-2 ve MMP-9'u bütün hastalarda, TIMP-1 ve TIMP-3'ü hastaların çoğunda ve TIMP-2 mRNA'sını hastaların yarısında tespit etmişlerdir. KNV membranların progresyonunda MMP-2 ve MMP-9'un birlikte görev alabileceklerini ifade etmişlerdir (112). Lambert ve ark. fareler üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada, MMP-2 ve MMP-9 salınmasının durdurulduğu mutant farelerde,

KNV membranların progresyonunun kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığını tespit etmişlerdir (113). Günümüzde, YBMD gelişiminde MMP ve TIMP'lerin nasıl ve ne kadar etkili olduğuna dair bilgiler sınırlıdır. Şu an kullanılmakta olan anti-VEGF tedavilerinin yanına ek olarak, MMP blokajı sağlayan moleküller ileride yeni tedavi seçenekleri olabilir.

2.3.7. Subklinik İnflamasyon

Druzenin moleküler yapısını aydınlatmaya yönelik yapılan çalışmalarda akut faz reaktanlarının ve IgG ve terminal kompleman kompleks C5b-9 gibi immun aracılı reaksiyonda görev alan plazma proteinlerinin saptanması inflamasyonun da etyopatogeneze rol aldığını düşündürmüştür (114). Çalışmalar monositlerin, lenfositlerin, fibroblastların ve mast hücrelerinin, YBMD'nin erken ve geç aşamalarında BM'de kırılmaların oluşumunda rol oynayabileceğini böylelikle KNV gelişebileceğini göstermektedir (115). Aktive edilmiş makrofajlar, incelmış BM'yi aşındırabilen ve koroid kılcal damarlarının göçünü kolaylaştıran kollajenaz ve elastaz gibi proteolitik enzimler salgıladıklarından, bunların varlığı pasif, nonspesifik bir enflamasyondan ziyade aktif bir role işaret eder. Hücre içi hibridizasyon çalışmaları, KNV'de makrofajların varlığını açıklayabilecek, YBMD'li gözlerin RPE hücrelerinde yüksek seviyelerde monosit kemoatraktan protein-1 (MCP-1) ortaya çıkarmıştır. MCP-1, vasküler endotele lökosit yapışmasını indükleyebilir (116). VEGF, ICAM-1'in tümör ve retinal damar endoteli üzerinde ekspresyonunu indükler ve endotelyal hücrelere lökosit yapışmasını düzenler. ICAM-1 blokajı, retinada VEGF'in neden olduğu lökostazi ve korneadaki anjiyogenezi azaltır (117).

BM'deki druzen ve bazal laminar depozitin histokimyasal boyaması, yaşla birlikte nötr yağların ve fosfolipidlerin birikimini gösterir. Bu bileşiklerin, muhtemelen bir kompleman kaskadıyla hareket ederek, lökositler için güçlü bir kemotaktik uyarın üretebileceği öne sürülmüştür. Makrofajların, YBMD'li hastalarda bazal laminar depozitin geniş bantlı kollajenini tercihi olarak fagosite ettiği görülmektedir (118).

2.4. YBMD Risk Faktörleri

YBMD, genetik ve çevresel nedenlerin etkileşimiyle ortaya çıkan multifaktöriyel bir hastalıktır. Hastalığın gelişiminde en önemli risk faktörlerinden biri ileri yaş olmakla birlikte, sigara kullanımı ve genetik faktörlerin de başlıca risk faktörlerinden olduğu bilinmektedir. YBMD'de genetik yatkınlık vaka-kontrol çalışmaları ile gösterilmiş ve

sonrasında ailesel segregasyon, agregasyon analizleri, klasik linkage analizleri ve ikiz çalışmaları ile desteklenmiştir (119). İleri yaş ve sigara kullanımının geç YBMD için önemli derecede risk oluşturduğu belirtilmiştir (120). Druzen depolanması ile ateroskleroz gelişimi arasındaki benzerlik nedeniyle, geleneksel kardiyovasküler risk faktörleri YBMD için de risk faktörü sayılmaktadır (121). Bazı çalışmalarda, YBMD hastalarında inme ve koroner kalp hastalığı riskinin arttığı belirtilirken, bazı çalışmalarda ise riskin arttığına dair bir pozitif korelasyon bulunmamıştır (122). Bunlara ek olarak hipertansiyon, cinsiyet, obezite, beslenme tarzı ve hormonların da risk faktörü olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır.

2.4.1. Yaş

YBMD'nin tüm formlarının yaşla birlikte insidans, prevelans ve progresyonunun arttığı bilinmektedir (123). Deneysel hayvan çalışmalarında yaşlı hayvanların KNV gelişimine daha yatkın oldukları gösterilmiştir (124). Yaşı 60'tan daha küçük olan insanlarda, 60-80 yaşları arasında bulunan insanlara göre YBMD ortaya çıkma riskinin üç kat daha az olduğu tespit edilmiştir (125).

2.4.2. Etnik Köken

Friedman ve ark. yaptığı çalışmada 40 yaşın üzerindeki kişilerde hem beyaz hem siyah ırkta druzeni yaygın olarak saptarken, geç ve daha ileri evre YBMD'yi beyaz ırkta daha sık tespit etmişlerdir (126). Melanin pigmentinin KNV gelişimine karşı koruyucu olduğuna inanılmaktadır. Bazı deneysel çalışmalarda pigmentli hayvanlarda daha az KNV geliştiği görülmüştür (127). Gözün melanin içeriği ile YBMD görülme sıklığı arasında ters bir korelasyon vardır. RPE hücrelerinde lipofuksin birikimi yaşlanma sürecine eşlik eder ve ayrıca YBMD ile ilişkili olabilir. Melaninin geçiş metalleri ile etkileşime girerek etkili bir antioksidan görevi gördüğü düşünülmektedir (128). Yapılan bir çalışmada açık iris renginin hem geç hem de erken YBMD riskinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Güneş ışığına karşı anormal cilt hassasiyeti de artmış geç YBMD riski ile ilişkili bulunmuştur (129).

2.4.3. Sigara

Popülasyon temelli araştırmaların çoğunda sigara içmek, YBMD gelişme riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Hem eski sigara içicileri hem yeni sigara içicileri artmış risk altında bulunmuştur. Eski sigara içicilerinde 5-10 yıl daha erken YBMD

riski tespit edilirken, geç YBMD riskinin daha da arttığı vurgulanmıştır (130). Sigara içmenin damarsal yapılarda oluşturduğu değişikliklere bağlı olarak hedef organların kanlanmasını azalttığı bilinmektedir. Hara, sigaranın oküler vasküler dolaşıma olan etkisini incelediği deneysel çalışmasında, sigaranın orbitanın en vasküler tabakası olan koroidde, vasküler direnci arttırdığını tespit etmiştir (131). Akut dönemde retinal kan akım değişikliği, sigaradaki nikotinin sempatik sistemi stimüle etmesi ve vazokonstriksiyon ile ilgiliyken, zamanla vasküler yapıdaki kalıcı değişikliklere bağlı vasküler direncin artmasıyla olmaktadır (132). Sigara içimi ile yapılan birçok araştırmada, sigara içiminin özellikle yaş tip YBMD oluşumunu ve bu olgulardaki subretinal neovaskularizasyon rekürrens sıklığını arttırdığı belirtilmiştir. Sigara oksidatif stresi arttırıp, antioksidanları baskılamakta ve koroidal kan akımın azaltmakta ve bu şekilde YBMD gelişiminde önemli bir risk faktörü oluşurmaktadır (133).

2.4.4. Işık Maruziyeti

Mor tesi (UV) veya insan gözünün algıladığı dalga boyu aralığında olan görünür ışık ile YBMD arasındaki bağlantı için çeşitli sonuçlar tespit edilmiştir. Işığa karşı hassasiyet ve zayıf bronzlaşma yeteneği artmış YBMD riskinin belirtelerindendir. Işığa maruziyetle retinada oluşan ROS'lar aracılığı ile YBMD oluştuğu düşünülmektedir. Lipofuksin granülleri ile beslenen ve kısa dalga boyunda görünür ışığa (390-550 nm) maruz kalan RPE hücreleri, lipid peroksidasyonuna uğrar, yapısı bozulur. Katalaz, SOD ve katalazD'nin aktivitesinde belirgin azalma ve sonuçta oksidatif hasara bağlı hücre ölümü gerçekleşir (63). Bu fotooksidatif değişiklikler mavi ışığa maruz kalındığında daha da belirgindir (64).

2.4.5. Diyet

Beslenme şeklinin birçok hastalığı tetiklediği veya hastalıkların oluşmasına engel olduğu görüşü yaygın olmasına rağmen hangi besinin, hangi vitaminin veya antioksidan özellikli molekülün nasıl etkili olduğunu bilimsel bir şekilde ortaya koymak çok zordur. Kişilerin farklı beslenme tarzlarına sahip olması, sigara kullanımı veya ek hastalıklara sahip olması diyetin YBMD zerindeki etkisini bilimsel olarak ortaya çıkarılmasına engel olmaktadır. Fakat meyve, sebze ve balık tüketiminin arttırılmasının YBMD için koruyucu olduğuna dair kuvvetli deliller tespit edilmiştir (134, 135). AREDS çalışmasının uzun dönem sonuçlarına bakıldığında orta-ileri YBMD'ye sahip olanlarda B, E, C vitaminlerinin, karoten ve çinko desteğinin yaş tip YBMD gelişmesini

anlamlı seviyede azalttığı bulunmuştur. Diğer taraftan atrofi gelişimini durduramamıştır (136). Orta-ileri YBMD hastalarında çinko desteğinin progresyon riskini %25 oranında azalttığı tespit edilmiştir. AREDS 1 çalışmasında kullanılan formül sigara kullanan kişilerde beta karotenin akciğer kanseri riskini arttırması nedeniyle değiştirilmiştir. AREDS 2 çalışmasında beta karoten içerikten çıkarılmış, onun yerine içeriğe makulada yoğun olarak bulunan lutein-zeaksantin ile omega 3 yağ asitleri eklenmiştir. Bu iki çalışmada da antioksidanlar, vitaminler ve minerallerin YBMD'nin ilerlemesinin durdurulmasında etkili olabileceği gösterilmiştir (137). Omega 3 yağ asitleri ve doymamış yağ asitlerinin (dokazohexanoik asit, eikozapentanoik asit) YBMD'de koruyucu etkisi bulunduğu dair veriler elde edilememiştir. Sağlıklı gıdalar; sebze ağırlıklı besinler, narenciye, tam tahıl ekmekler gibi işlenmemiş gıdalar ve soğuk su balıklarından oluşur (138). Obez hastalarda bel-kalça oranı ve vücut kitle endeksiyle YBMD arasında güçlü ilişki bulunmuştur. Obezitenin YBMD riskini artırdığı mekanizma, bu durumda meydana gelen artan oksidatif stres, lipoprotein profilindeki değişiklikler ve artmış inflamasyon gibi fizyolojik değişikliklerle ilişkili olabileceği ifade edilmiştir. Bu değişikliklerin ayrıca artmış yıkıma ve lutein-zeaksantin makula dolaşımında azalmasına neden olacağı düşünülmektedir (139). YBMD'li hastalara diyabet hastaları gibi düşük glisemik indeksli besinlerden oluşan diyet yapması önerilir. Sheldon ve ark. fareler üzerinde yaptığı çalışmada yüksek glisemik indeksli diyet tüketiminin, RPE hipopigmentasyonu ve atrofi, lipokfusin birikimi ve fotoreseptör dejenerasyonu gibi YBMD'de görülen bulgulara neden olduğunu göstermiştir. Yazarlar aynı çalışmada bağırsak florasının diyetle duyarlı olduğunu, serotonin gibi metabolitlerin ve mikrobiyotanın azalmasının YBMD'ye karşı koruyuculuğu azalttığını belirtmişlerdir (140).

2.4.6. Katarakt Ameliyatı

YBMD ve kataraktı olan hastalarda katarakt cerrahisinin gerekliliği tartışma konusudur. Bu konudaki görüş ayrılıklarının başlıca iki nedeni; YBMD olan gözlerde katarakt cerrahisinin görsel sonuçları ve katarakt cerrahisinin YBMD'nin ilerlemesi üzerine etkisidir. Bazı çalışmalarda YBMD olan gözlerde katarakt cerrahisinin görsel sonuçlarının oldukça kötü olduğu ve bu gözlerde katarakt cerrahisinin çok gerekli olmadığı belirtilmiştir (141). Bazı çalışmalarda tam tersine hafif ve orta tip YBMD olan gözlerde katarakt cerrahisinin görsel düzelme sağladığı ve bu hastaların katarakt cerrahisinden yarar gördükleri ifade edilmiştir (142). Diğer tartışma konusu katarakt

cerrahisinin YBMD'nin ilerlemesi üzerine etkisi ile ilgilidir. Yapılan bazı çalışmalarda katarakt cerrahisi uygulanan YBMD'ye sahip gözlerde cerrahi sonrası makula dejenerasyonunun kontrol grubuna göre daha hızlı ilerlediği ve YBMD sıklığının katarakt cerrahisi geçirmeyen gözlerle göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Katarakt cerrahisinin YBMD'nin ilerlemesini inflamatuvar cevap oluşturarak tetikleyebilir olabileceği sanılmaktadır (143). Katarakt cerrahisi sonrası lensin oluşturduğu ışıktan koruyucu mekanizmanın ortadan kalkmasıyla retina üzerine ışık toksisitesinin arttığı ve bunun YBMD'nin ilerlemesine neden olduğu ileri sürülmüştür (144).

2.4.7. Hipertansiyon

Antihipertansif tedavi alan orta ve şiddetli hipertansiyon hastalığı ile yaş tip YBMD'nin ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, kuru ve yaş tip YBMD formlarının farklı bir patogeneze sahip olabileceği ve yaş tip YBMD ve hipertansif hastalığın altta yatan benzer bir sistemik sürecin sonucu olabileceği hipotezleri öne sürülmüştür.

2.4.8. Genetik Yatkınlık

Hammond ve ark. monozygotik ve dizigotik tek yumurta ikizlerinde YBMD genetiğindeki subfenotipleri değerlendirdikleri çalışmada monozygotik tek yumurta ikizlerinde kalıtsal subfenotipleri daha yüksek oranda bulmuşlardır (145).

2.5. Apo A1 Geni

Apolipoprotein A1, insanlarda Apo A1 geni tarafından kodlanan bir proteindir. Apo A1 geni, 11. kromozomun 11q23.3 spesifik konumunda bulunur. Apo A1, 396 aminoasitten oluşan 45,4 kDa'lık bir proteini kodlar ve 4 adet ekson içerir (146). İnsan kromozomu 11q23.3 üzerindeki Apo A1 / C3 / A4 / A5 gen kümesi, Apo A1, Apo A4 ve Apo A5 genlerinin aynı yönde kopyalanması ve Apo C3 geninin ters yönde transkripsiyonu ile baskın olarak karaciğer ve bağırsakta eksprese edilir. Bu genler, lipoproteinlerin ve lipidlerin metabolizması ve yeniden dağıtılması için çok önemlidir. Apo A1, Apo A4 ve Apo A5 HDL'nin ana bileşenleridir ve bu proteinlerin plazma seviyeleri, aterosklerotik hastalıkların gelişimi ile negatif olarak ilişkilidir (147).

Plazma lipoprotein metabolizması, çeşitli lipoprotein sınıflarının spesifik apolipoprotein (apo-) bileşenleri tarafından düzenlenir ve kontrol edilir. Ana apolipoproteinler arasında apoE, apoB, apoA-1, apoA-2, apoA-4, apoC-1, apoC-2 ve apoC-3 bulunur. Spesifik apolipoproteinler, lipoprotein metabolizmasının

düzenlenmesinde, lipidlerin çeşitli hücreler ve dokular arasında taşınmasına ve yeniden dağılımında görev alır. Lipid metabolizmasının lesitin kolesterol açıl transferaz (LCAT), lipoprotein lipaz (LPL) ve hepatik lipaz gibi enzimleri için kofaktörler olarak yer alarak, reseptörlere tanınma alanları sağlayarak veya lipoprotein partiküllerinin yapısını düzenlemeleri yoluyla işlev görürler. Ek olarak lipoproteinlerin yapısının korunmasında ve fosfolipitlerle birlikte hidrofilik bir yüzey sağlayarak suda çözünmeyen lipidlerin suda çözünmesini sağlarlar (148). Plazma lipoproteinleri ultrasantrifüj yöntemi, kromatografi ve elektroforez yöntemiyle bulundukları yere göre çeşitli gruplara ayrılır. İnsan plazma lipoproteinleri yoğunluklarına göre HDL, orta yoğunluklu lipoproteinler (IDL), LDL, çok az yoğunluklu lipoproteinler (VLDL) ve şilomikronlar şeklinde sınıflandırılabilir. Şilomikronlar hacim olarak en büyük olan lipoproteindir. İnce bağırsaktan emilen yağların karaciğere taşınmasını ve dolaşımını sağlar. VLDL'ler başlıca karaciğerde sentezlenir ve trigliserit bakımından zengindirler. Periferik dokularda lipoprotein lipaz enzimi aracılığıyla trigliseritlerden arındırılır ve LDL'nin prekürsör molekülünü oluşturur. LDL'nin başlıca işlevi kolesterölü karaciğerden periferik dokulara transportunun sağlanmasıdır. HDL ise çap olarak en küçük, yoğunluk olarak ise en yoğun moleküldür. Karaciğer ve ince bağırsak duvarında üretilen HDL'nin primer işlevi kolesterölü periferal dokulardan karaciğere taşınmasıdır (149).

Apolipoprotein B Şilomikron, VLDL, IDL ve LDL'nin primer apolipoproteini olup, apoB-100 ve apoB-48 olmak üzere temelde iki formda bulunur. Apolipoprotein B-100, karaciğer tarafından sentezlenir ve VLDL, IDL ve LDL'nin bileşeninde yer alır. İnsanda apoB-48, bağırsak tarafından sentezlenir ve şilomikronlarda ve şilomikron kalıntılarında bulunur (150). İnsan apoA-1'i, plazmada esas olarak HDL'nin bir bileşeni olarak dolaşır. Apolipoprotein A-1'in bağırsak ve karaciğer olmak üzere iki ana sentez bölgesi vardır. Bağırsaktan üretilen apoA-1, şilomikronlarla ilişkili dolaşıma girer, ancak şilomikronların lipaz hidrolizi sırasında hızla HDL parçacıklarına aktarılır. Hepatik apoA-1, muhtemelen çok az kolesteril ester çekirdeğine sahip olan veya hiç kolesteril içermeyen yeni oluşan HDL partikülleriyle ilişkili dolaşıma girer. ApoA-1 lipidleri bağladığından ve HDL'nin ana protein bileşeni olduğundan, lipoproteinlerin önemli bir yapısal bileşeni olması gerektiği açıktır. Diğer önemli işlevi, LCAT için bir kofaktör olarak hizmet etmektir. In vitro, LCAT aktivitesi için apoA-I'e mutlak bir gereksinim var gibi görünmektedir (151).

LCAT, karaciğer tarafından salgılanan ve kanda HDL ile dolaşan bir enzimdir. Enzim, plazma kolesterolünü esterleştirir ve HDL'nin kolesterolü taşıma ve dokulardan potansiyel olarak uzaklaştırma kapasitesini artırır. Genetik LCAT eksikliği olan kişilerde kolesterol, kornea stromasının hücre dışı bağ dokusu matriksinde birikir. LCAT, ApoD ve Apo-A1 dahil olmak üzere apolipoproteinler tarafından etkinleştirilebilir. Yapılan bir çalışmada korneanın önden arkaya doğru üç katmanını oluşturan epitel hücreleri, keratositler ve endotel hücrelerinde LCAT'nin ekspresyonu incelenmiştir. LCAT ve Apo-D, kornea içindeki üç hücre tipinin hepsinde immünohistokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Apo-A1, keratositlerde ve endotelde gösterilirken, kornea epitelinde gösterilememiştir (152).

Yumuşak druzen ve bazal lineer birikintiler, YBMD'ye özgü lipid açısından zengin hücre dışı lezyonlardır ve druzenin yapısında nötr lipidlerin ve kolesterol içeren apoproteinlerin, Apo A1, ApoE ve ApoB'nin bulunduğu gösterilmiştir (9). Çok sayıda biyokimyasal, histokimyasal ve ultrastruktürel yöntemlerle elde edilen ve epidemiyolojik verilerle desteklenen sonuçlar, RPE'nin olağandışı bileşime sahip Apo-B partiküllerini BM'ye salgıladığını ve yaşla birlikte biriktiklerini göstermektedir. Yazarlar bu lezyonların bileşenlerinin, ROS ile etkileşime girerek proinflamatuvar peroksidize lipidler oluşturduğunu ve neovaskülarizasyona sebep olduğunu öne sürmüşlerdir (121). Apo A1, yağ metabolizmasında periferel dokulardan karaciğere kolestrol taşınmasında rol alan HDL'nin apoproteinidir. Daha önceki çalışmalarda YBMD ve HDL'nin genetik lokusları arasında çok sayıda SNP ilişkisi tanımlanmıştır ve bunlardan biri de Apo A1 geninde gösterilen rs964184 SNP'dir (153). Biz bu çalışmada ise Apo A1'in rs5069 ve rs1799837 SNP'leri ile YBMD gelişimi arasında ilişki olup olmadığını araştırdık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Çalışma boyunca Helsinki deklarasyonuna bağlı kalmıştır. 19.02.2020 tarih ve 2019/153 protokol numaralı kararla Malatya Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı alınmıştır (Ek-1). Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından TTU-2020-2128 proje kodu ile desteklenmiştir. Hasta ve yakınları yapılacak olan uygulama hakkında ayrıntılı olarak bilgilendirilmiş olup sözlü onamları ve uygulama hakkında bilgileri içeren yazılı onamları alınmıştır.

3.2. Olgu Seçimi

Bu prospektif ve kesitsel çalışmaya Mart 2020 ve Mart 2021 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Birimi'ne başvuran kuru tip YBMD, yaş tip YBMD tespit edilen ve benzer yaş ve cinsiyette YBMD saptanmayan kontrol grubunu oluşturan olgular dahil edilmiştir. Kuru tip YBMD saptanan 42, yaş tip YBMD saptanan 112 ve kontrol grubunda 87 olgu ile çalışma gerçekleştirilmiştir.

Yaş tip YBMD grubuna alınma kriterleri;

Yaş >55 olması

Gözlerin en az birinde yaş tip YBMD bulunması

Herhangi bir farklı retinal hastalığın olmaması

Kuru tip YBMD grubuna alınma kriterleri;

Yaş >55 olması

Gözlerin en az birinde kuru tip YBMD bulunması. Diğer gözün normal veya kuru tip YBMD olması

Herhangi bir farklı retinal hastalığın olmaması

Kontrol grubuna alınma kriterleri ise;

Yaş >55 olması

Gözlerin her ikisinde de herhangi bir retinal hastalığın olmaması

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri ise;

DM öyküsü bulunan

Glokom teşhisi olan

6 D veya üzerinde miyopu olan

KNV oluşumuna sebep olan diğer retinal hastalıkların bulunması (Anjioid streak, koroid rüptürü, dejeneratif miyopi gibi)

Tam bir göz muayenesi yapılmasına engel olan ortam opasitesi (kornea opasiteleri, fundus görüntülemesine izin vermeyen kataraktlar, vitreus hemorajileri gibi) varlığı idi.

Olgulardan 3cc periferik venöz kan antikoagülanlı tüplere alındı. Alınan kan örnekleri – 80 °C’de derin dondurucuda muhafaza edildi. Çalışma için planlanan sayıya ulaşıldığında, kan örnekleri Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Genetik Anabilim Dalı Laboratuvarına buz zinciri ile transfer edildi. Burada uygun ticari kitler aracılığıyla DNA izolasyonları gerçekleştirildi. Apo A1 geni rs1799837 ve rs5069 polimorfizmleri için uygun primerler tasarlandı ve bu primerler aracılığıyla DNA dizileri PCR ile çoğaltıldı ve agaroz jelde yürütülerek PCR işlevi kontrol edildi. PCR-RFLP 29 (Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism) yöntemi ile araştırıldı. Olgulardan elde edilen SNP sonuçları kuru veya yaş tip YBMD’si olan ya da YBMD saptanmayan olgular arasında (Genotip ve Allel düzeyinde) kıyaslandı.

3.3. Oftalmolojik Değerlendirme

Çalışmaya katılan bütün hastalara en iyi düzeltilmiş görme keskinliği (EDGK), göz içi basınç ölçümü (GİB), biomikroskop ile ön segment muayenesi, pupil dilatasyonunun ardından +90D lens kullanılarak fundus muayenesi ve gerekli görüntüleme yöntemlerini içeren tam bir göz muayenesi yapılmıştır. EDGK’i Snellen ya da ETDRS (Early Treatment Diabetic Retinopathy Study) eşelleri kullanılarak değerlendirilmiş ve veriler logMAR’a dönüştürülmüştür. GİB, Goldman aplanasyon tonometrisi ile değerlendirilmiştir. Bütün hastalara OKT (Topcon DRI OCT Triton, Tokyo, Japan ve NIDEK RS3000, Aichi, Japan) görüntüleme tetkiki yapılmıştır. Gerekli görülen hastalara, FA (Topcon TRC-50DX Retinal Camera Tokyo, Japan) ve OKT-A (Topcon DRI OCT Triton, Tokyo, Japan) görüntüleme tetkikleri yapılmıştır.

Kuru tip YBMD retina pigment epiteli değişiklikleri, druzen ve coğrafik atrofi bulunması, yaşıp tip YBMD ise koroid neovaskülarizasyonu veya sekellerinin bulunması şeklinde belirlenmiştir. Her iki gözü de çalışma için elverişli olan hastalarda hangi göze ait verilerin istatistiksel hesaplamalarda kullanılacağı randomizasyon yoluyla seçilmiştir.

3.4. DNA İzolasyonu

Kit bileşenleri:

PBS Solüsyonu, Buffer CL(a), CW1 solüsyon, CW2 solüsyon, CE Buffer (pH 9.0), Buffer TBP, Proteinaz K(c), EZ-10 Column (2.0-ml santrifüj tüpüyle), Protokol

Prosedür öncesi adımlar:

Su banyosu 56°C'ye ayarlandı.

56°C'de su banyosunda tutularak elüsyon tamponu ısıtıldı.

Numune başına taze 1.2 ml %70 etanol hazırlandı.

Prosedür:

200 µl kan nükleaz içermeyen 1.5ml mikrosantrifüj tüpüne eklendi ve aşağıdaki adımlar gerçekleştirildi.

1. 400µl lizis tamponu eklendi.
2. Hemen birkaç kez alt üst ederek hafifçe vortekslendi.
3. 20µl proteinaz K eklendi.
4. Vortekslenerek 10 saniye kadar karıştırıldı.
5. 300µl isopropanolol eklendi ve ters çevrilerek birkaç defa iyice karıştırıldı.
6. Örnek 2.0 ml Collection Tube içindeki bir EZ-10 kolonuna alındı.
7. 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi.
8. Üst kısımdaki akışkan sıvıdan bir miktar alınıp benzer başka santrifüj tüpüne konuldu.
9. Santrifüj tüpüne 500µl Wash buffer I eklendi.

10. 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj işlemi yapıldı. Süpernatant kısmı atılarak aynı toplama tüpü yerine yerleştirilir.
11. Santrifüj tüpüne 500µl yıkama tamponu II eklendi
12. 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüjlendi ve süpernatant kısmı atılan tüp aynı pozisyona geri yerleştirildi.
13. 2 dakika 13000rpm'de santrifüj yapıldı.
14. Süpernatant kısım atıldı. Bu adım, geriye kalan etanolden arınmak için gerekliydi.
15. Santrifüj tüpündeki içerik yeni bir 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı.
16. 60µl önceden ısıtılmış elüsyon tamponu kolon membranının merkezine eklendi.
17. Pipet ucunun membrana temas etmemesine dikkat edildi. Önceden ısıtılmış oda sıcaklığında iki dakika inkübe edilip 2 dakika santrifüj yapıldı.
18. Kolon kısmı atıldı ve saflaştırılmış DNA elde edildi. Derin dondurucuda -20 derecede donduruldu.

Ekstrakte edilen DNA, %1 agaroz jel elektroforezi ve moleküler ağırlığı bilinen 1 kb DNA ladder (Lambda DNA) ile karşılaştırma yapılarak tanımlandı.

3.5. PCR Protokolü

SNP'ler için oligonükleotid primerleri daha önce *Apo A1* geninde yapılan araştırmalardan seçilmiş ve laboratuvarımızın çalışmaya uygun PCR şartları için gereklilikleri yerine getirilmiştir. Genotiplendirmeler, enzimleri temin eden firmaların belirttiği protokollere uygun şekilde amplikonların restriksiyon enzimi tarafından kesimi ile yapılmıştır. *Apo A1* geni rs1799837 ve *Apo A1* geni rs5069 polimorfizmi, amplifiye edilmiş PCR ürününün MspI restriksiyon enzimi ile kesilmesi ve ardından %2,5 agaroz jel elektroforezinde çalıştırılmasıyla tespit edilmiştir.

Tablo 3.1. SNP'ler, primerler, restriksiyon enzimleri

SNP'ler	Primerler	Restriksiyon enzimleri
<i>Apo A1</i>	Forward primer: 5''GGCCACGGGGATTAGGGAGAA-3''	MspI
	Reverse primer: 5''AGCTGGCTGCTTAGAGACTGCGA-3''	
	Forward primer : 5''-GCAGCTTGCTGTTTGCCCACTC-3''	MspI
	Reverse primer : 5''-ACGCACCTCCTTCTCGCAGTCT-3''	

3.6. İstatiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SPSS 18.0 paketi kullanıldı. Polimorfizmlere ait genotip ve allel sıklıkları yaş tip YBMD, kuru tip YBMD ve kontrol grubunda ikişerli olarak birbiri içerisinde ki-kare testi ile kıyaslandı. Herbir genotip ve allel dağılımı için Odds Ratio'lar hesaplandı. Dağılımı normal olan sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma değeriyle, dağılımı normal olmayan sürekli değişkenler ortanca ve minimum-maksimum değerleri ile tespit edildi. Dağılımı normal olan sayısal verilere tek yönlü varyans analiziyle (ANOVA) bakıldı. Dağılımı normal olmayan veriler için Kruskal Wallis testi ve bu gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark olup olmadığını belirlemek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tanımlayıcı özellikler, kategorik değişkenlere sayı ve yüzde olarak bakıldı. Kategorik değişkenlerdeki farklılıklar Pearson ki kare testi kullanılarak tespit edildi. İstatistiksel açıdan $p < 0,05$ olması anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızda kontrol grubunda 87, yaş tip YBMD grubunda 112, kuru tip YBMD grubunda ise 42 hasta değerlendirmeye alınmıştır. Olguların ortalama yaşı kontrol grubunda $69,67 \pm 6,2$ yıl (range), kuru tip YBMD grubunda $70,02 \pm 5,36$ (range), yıl ve yaş tip YBMD grubunda $70,55 \pm 6,63$ (range), yıl olarak bulunmuştur. Gruplar arasında yaş açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p > 0,05$).

Çalışmaya dahil edilen olguların cinsiyet dağılımı; kontrol grubunda 34 kadın (%39,1) ve 53 erkek (%60,9); yaş tip YBMD grubunda 41 kadın (%36,6) ve 71 erkek (%63,4); kuru tip YBMD grubunda ise 15 kadın (%35,7) ve 27 erkek (%64,3) şeklindeydi. Gruplar arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir ($p > 0,05$). Grupların cinsiyet dağılımı Tablo 4.1.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.1. Grupların cinsiyet dağılımı açısından özellikleri

		Grup			Total
		Kontrol	Yaş Tip	Kuru Tip	
Cinsiyet	Kadın (olgu sayısı-%)	34 (%39,1)	41 (%36,6)	15 (%35,7)	90 (%37,3)
	Erkek (olgu sayısı-%)	53 (%60,9)	71 (%63,4)	27 (%64,3)	151 (%62,7)
	Total (olgu sayısı-%)	87 (%100)	112 (%100)	42 (%100)	241 (%100)

Median EDGK değeri kontrol grubunda 0,15 logMAR (0-1,3), yaş tip YBMD grubunda 1,3 logMAR (0,05-3,1), kuru tip YBMD grubunda 0,52 logMAR (0-3,1) olarak tespit edilmiştir. Median EDGK, yaş tip YBMD grubunda hem kontrol grubuna hem de kuru tip YBMD grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük tespit edilmiştir ($p < 0,05$). Kuru tip YBMD grubunda da kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha düşük median EDGK saptanmıştır ($p < 0,05$).

Median GİB değeri kontrol grubunda 13mmHg (7-19), yaş tip YBMD grubunda 13mmHg (8-20), kuru tip YBMD grubunda 13mmHg (10-19) olarak tespit edilmiştir. GİB açısından gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir ($p > 0,05$).

Kontrol grubundaki hastaların 73'ü (%83,9) fakik, 14'ü (%16,1) psödo fakik, yaş tip YBMD grubundaki hastaların 69'u (%61,7) fakik, 43'ü (%38,3) psödo fakik, kuru tip

YBMD grubundaki hastaların 35'i (%83,4) fakik, 7'si (%16,6) psö dofakikti. Yaş tip YBMD grubunda diğer iki gruba göre psö dofakik olgu sayısı istatiks el olarak anlamlı yüksek çı kmıştır ($p<0,05$). Grupların lens durumu özelliği Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Grupların lens durumu dağılımı açısından özellikleri

		Kontrol	Grup		Total
			Yaş Tip	Kuru Tip	
Lens durumu	Fakik (olgu sayısı-%)	73 (%83,9)	69 (%61,7)	35 (83,4)	177(%73,5)
	Psö dofakik (olgu sayısı-%)	14 (%16,1)	43 (%38,3)	7 (%16,6)	64 (%26,5)
Total (olgu sayısı-%)		87 (%100)	112(%100)	42 (%100)	241 (%100)

Fundus muayenesinde yaş tip YBMD hastalarının tamamında KNV ya da KNV sekeli mevcuttu. Kuru tip YBMD hastalarının fundus muayenesinde ise 5'inde (%11,9) RPE düzensizliği, 26'sında (%61,9) druzen, 11'inde (%26,2) ise coğrafik atrofi mevcuttu.

Hastalar serebrovasküler olay (SVO) dağılımı açısından incelendiğinde kontrol grubunda 87 hastanın 6'sında (%6,8), yaş tip YBMD grubunda 112 hastanın 9'unda (%8), kuru tip YBMD grubunda 42 hastanın 1'inde (%2,3) SVO öyküsü mevcuttu. SVO dağılımı açısından gruplar içerisinde istatiks el olarak anlamlı farklılık izlenmemiştir. Grupların SVO dağılımı Tablo 4.3.'de özetlenmiştir.

Tablo 4.3. Grupların SVO dağılımı açısından özellikleri

		Kontrol	Grup		Total
			Yaş Tip	Kuru Tip	
SVO	Var (olgu sayısı-%)	6 (%6,8)	9 (%8)	1 (%2,3)	16 (%6,6)
	Yok (olgu sayısı-%)	81 (%93,2)	103 (%92)	41 (%97,7)	225 (%93,4)
Total (olgu sayısı-%)		87 (%100)	112 (%100)	42 (%100)	241 (%100)

Hasta grupları hipertansiyon (HT) dağılımı açısından incelendiğinde kontrol grubundaki 33 (%37,9) hastada, yaş tip YBMD grubundaki 49 (%43,7) hastada ve kuru tip YBMD grubundaki 12 (%28,5) hastada HT mevcuttu. Gruplar arasında HT dağılımı açısından istatiks el olarak anlamlı sonuç izlenmemiştir ($p>0,05$). Grupların HT dağılımı Tablo 4.4.'de belirtilmiştir.

Tablo 4.4. Grupların HT dağılımı açısından özellikleri

		Grup		Total
		Kontrol	Yaş Tip	
HT	Var (olgu sayısı-%)	33 (%37,9)	49 (%43,7)	94 (%39,0)
	Yok (olgu sayısı-%)	54 (%62,1)	63 (%56,3)	147 (%61,0)
Total (olgu sayısı-%)		87 (%100)	112 (%100)	241 (%100)

Hasta grupları kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) dağılımı açısından incelendiğinde kontrol grubundaki 87 hastanın 9'unda (%10,3), yaş tip YBMD grubunda 112 hastanın 24'ünde (%21,4), kuru tip YBMD grubunda 42 hastanın 5'inde (%11,9) KOAH tespit edilmekle birlikte bulunan sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grupların KOAH dağılımı Tablo 4.5.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Grupların KOAH dağılımı açısından özellikleri

		Grup		Total
		Kontrol	Yaş Tip	
KOAH	Var (olgu sayısı-%)	9 (%10,3)	24 (%21,4)	38 (%15,7)
	Yok (olgu sayısı-%)	18 (%89,7)	88 (%78,6)	203 (%84,3)
Total (olgu sayısı-%)		87 (%100)	112 (%100)	241 (%100)

Koroner arter hastalığı (KAH) bulunma sıklığı açısından gruplar değerlendirildiğinde kontrol grubunda 87 hastanın 18'inde (%20,6), yaş tip YBMD grubunda 112 hastanın 26'sında (%23,2), kuru tip YBMD grubunda 42 hastanın 5'inde (%11,9) KAH bulunmuştur. Gruplar arasında KAH dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmamıştır. Grupların KAH dağılımı Tablo 4.6.'da özetlenmiştir.

Tablo 4.6. Grupların KAH dağılımı açısından özellikleri

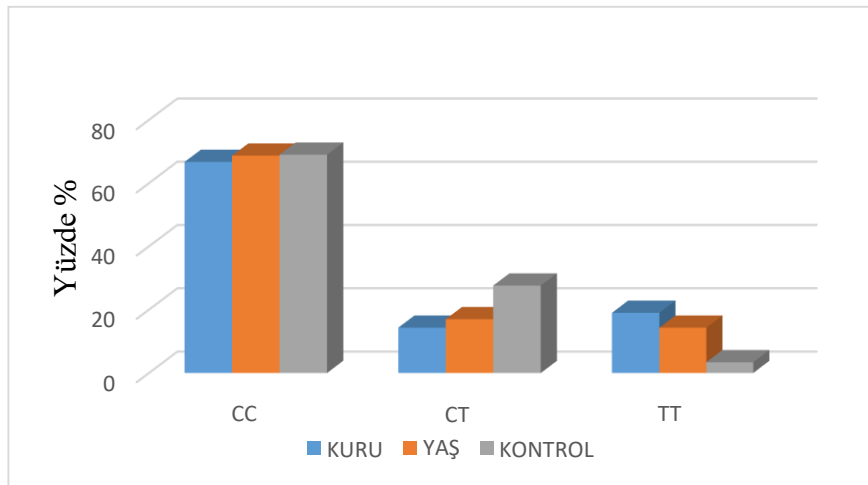
		Grup		Total
		Kontrol	Yaş Tip	
KAH	Var (olgu sayısı-%)	18 (%20,6)	26 (%23,2)	49 (%20,3)
	Yok (olgu sayısı-%)	69 (%79,4)	86 (%76,8)	192 (%79,7)
Total (olgu sayısı-%)		87 (%100)	112 (%100)	241 (%100)

Kontrol grubunda 87 hastanın 13'ü (%14,9), yaş tip YBMD grubunda 112 hastanın 20'si (%17,8), kuru tip YBMD grubunda 42 hastanın 8'i (%19) sigara kullanıyordu. Sigara kullanımı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunmamıştır. Gruplar arasında sigara kullanım oranı Tablo 4.7.' de gösterilmiştir.

Tablo 4.7. Grupların sigara kullanımı açısından özellikleri

		Kontrol	Grup		Total
			Yaş Tip	Kuru Tip	
Sigara Kullanımı	Var (olgu sayısı-%)	13 (%14,9)	20 (%17,8)	8 (%19)	41 (%17,0)
	Yok (olgu sayısı-%)	74 (%85,1)	92 (%82,2)	34 (%81)	200 (%83,0)
Total (olgu sayısı-%)		87 (%100)	112 (%100)	42 (%100)	241 (%100)

Apo A1 geni rs1799837 SNP için CC, CT ve TT genotipine sahip olgu sayıları kontrol grubunda sırasıyla 60 (%69), 24 (%27,6), 3 (%3,4); yaş tip YBMD grubunda sırasıyla 77 (%68,7), 19 (%17), 16 (%14,3); kuru tip YBMD grubunda sırasıyla 28 (%66,7), 6 (%14,3), 8 (%19) bulunmuştur. *Apo A1* geni rs1799837 polimorfizminin vakalar arasında 'CC' homozigot genotipinin hem kuru tip YBMD hem de yaş tip YBMD olgularında daha yüksek olduğu, her iki tip YBMD grubu ve kontrol grubu arasındaki genotip farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). YBMD grupları arasında ise genotip farkı açısından anlamlı sonuç saptanmamıştır ($p>0,05$). *Apo A1* geni rs1799837 SNP için gruplardaki CC, CT ve TT genotip yüzdeleri şekil 4.1. ile gösterilmiştir.



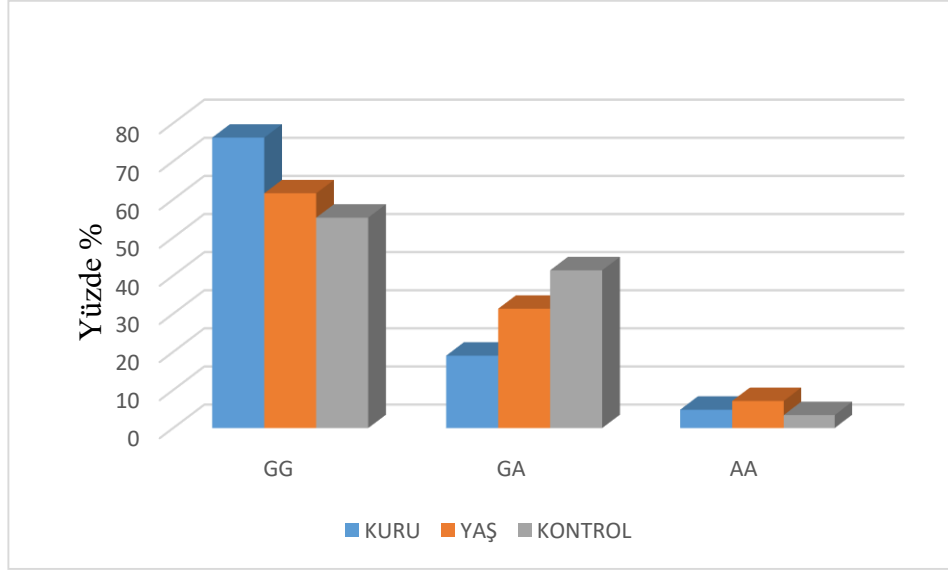
Şekil 4.1. Yaş tip YBMD, kuru tip YBMD ve kontrol grubu için *Apo A1* geni rs1799837 SNP'de CC, CT ve TT genotipine sahip olgu sayıları.

Apo A1 geni rs1799837 SNP için C ya da T alleli dağılımını tespit etmek amacıyla C ve T alleli sayıları bakıldı. Yaş tip, kuru tip ve kontrol grubu ikişerli olarak birbiri içerisinde ki-kare testi ile kıyaslandı. C ve T alleli sayısı kontrol grubunda sırasıyla 144, 30; yaş tip YBMD grubunda sırasıyla 173, 51; kuru tip YBMD grubunda sırasıyla 62, 22 bulunmuştur. Yaş tip YBMD ve kuru tip YBMD ile kontrol grubu arasında allel sayısı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0,05$) ve odds oranları sırasıyla 1,14 ve 1,70 olarak tespit edilmiştir. Yaş tip YBMD ile kuru tip YBMD allel sayısı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0,05$) ve odds oranı 0,83 olarak bulunmuştur. Allel kıyaslamalarında her 3 grupta da C alleli yüksek saptanmış olup gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Gruplardaki C ve T allel sayıları Tablo 4.8. ile gösterilmiştir.

Tablo 4.8. *Apo A1* geni rs1799837 polimorfizmi C ve T allel sayıları

Alleller	Grup		
	Kontrol	Yaş Tip	Kuru Tip
C (Allel sayısı)	144	173	62
T (Allel sayısı)	30	51	22

Apo A1 geni rs5069 SNP için GG, GA ve AA genotipine sahip olgu sayıları kontrol grubunda sırasıyla 48 (%55,2), 36 (%41,4), 3 (%3,4); yaş tip YBMD grubunda sırasıyla 69 (%61,6), 35 (%31,3), 8 (%7,1); kuru tip YBMD grubunda sırasıyla 32 (%76,2), 8 (%19), 2 (%4,8) bulunmuştur. *Apo A1* geni rs5069 polimorfizminin vakalar arasında 'GG' homozigot genotipinin her 3 gruptaki olgularda da yüksek olduğu, kuru tip YBMD ve kontrol grubu arasındaki genotip farkının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p<0,05$). Her iki tip YBMD grupları arasında ve kontrol grubu ile yaş tip YBMD arasında genotip farkı açısından anlamlı sonuç saptanmamıştır ($p>0,05$). *Apo A1* geni rs5069 SNP için gruplardaki GG, GA ve AA genotip bulunma yüzdeleri Şekil 4.2. ile gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Yaş tip YBMD, kuru tip YBMD ve kontrol grubu için Apo A1 geni rs5069 SNP’de GG, GA ve AA genotipine sahip olgu sayıları.

Apo A1 geni rs5069 SNP için G ya da A alleli dağılımını tespit etmek amacıyla G ve A alleli sayıları bakıldı. Yaş tip, kuru tip ve kontrol grubu ikiyeşerli olarak birbiri içerisinde ki kare testi ile kıyaslandı. G ve A alleli sayısı kontrol grubunda sırasıyla 132, 42; yaş tip YBMD grubunda sırasıyla 173, 51; kuru tip YBMD grubunda sırasıyla 72, 12 bulunmuştur. Yaş tip YBMD ve kuru tip YBMD ile kontrol grubu arasında allel sayısı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0,05$) ve odds oranları sırasıyla 0,92 ve 0,52 olarak tespit edilmiştir. Yaş tip YBMD ile kuru tip YBMD allel sayısı açısından istatistiksel fark bulunmamıştır ($p>0,05$) ve odds oranı 1,76 olarak bulunmuştur. Allel kıyaslamalarında her 3 grupta da G alleli yüksek saptanmış olup gruplar arasında anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0,05$). Gruplardaki G ve A allel sayıları Tablo 4.9. ile gösterilmiştir.

Tablo 4.9. Apo A1 geni rs5069 polimorfizmi G ve A allel sayıları

Alleller	Grup		
	Kontrol	Yaş Tip	Kuru Tip
G (Allel sayısı)	132	173	72
A (Allel sayısı)	42	51	12

5. TARTIŞMA

YBMD birincil olarak RPE, BM ve koriokapillaris'in etkilendiği ve buna ikincil olarak fotoreseptörlerin etkilenmesine bağlı görmeyi ciddi şekilde azaltan patogenezi tam olarak açıklanamamış bir dejenerasyondur (1). YBMD, gelişmiş ülkelerde 60 yaşından büyük bireyler arasında geri döndürülemez körlüğün önde gelen nedenidir. Gerek kuru tip YBMD gerekse yaş tip YBMD insidans ve prelevansının yaşla arttığı bilinmektedir (154). Bizim çalışmamızda tüm gruplarda ortalama yaş 70 civarı olmakla birlikte gruplar arasında ortalama yaş açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır. Median EDGK'ı yaş tip YBMD grubunda 1,3 logMAR (0,05-3,1), kuru tip YBMD grubunda 0,52 logMAR (0-3,1) ve kontrol grubunda 0,15 logMAR (0-1,3) olarak bulunmuştur. Beklenildiği gibi yaş ve kuru tip YBMD gruplarında görme keskinliği kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük izlenmiştir. Ayrıca yaş tip YBMD grubunda kuru tip YBMD grubuna göre median görme keskinliği daha düşük saptanmıştır. Cinsiyetin YBMD üzerine etkisi üzerine çeşitli görüşler olmasına rağmen bu konuda fikir birliği bulunmamaktadır. Bir çalışmada erkek cinsiyetin erken YBMD için risk faktörü olduğu ifade edilirken, başka bir çalışmada kadın cinsiyetin ileri YBMD için risk faktörü olduğu belirtilmiştir (155, 156).

Multifaktöriyel bir hastalık olan YBMD patogenezinde ileri yaştan yanı sıra, cinsiyet, ırk, kardiyovasküler hastalıklar, hormonal, inflamatuvar, genetik ve göz kaynaklı çeşitli risk faktörleri tanımlanmıştır (157,158). Literatürde aile öyküsü vakalarının yaklaşık %25'inde risk olarak bildirilmiştir ve özellikle ikiz çalışmalarında YBMD görülme sıklığının dizigotik ikizlere kıyasla monozigotik ikizlerde yaklaşık iki kat daha fazla olması YBMD'nin genetik temeli olduğunu desteklemektedir (159-161).

Yapılan çok sayıda farklı çalışmalarda druzenin lipid bakımından zengin olduğu, druzenin yapısında nötr lipidlerin, esterlenmiş ve esterlenmemiş kolesterol içeren apoproteinlerin, Apo A1, ApoE ve ApoB'nin bulunduğu gösterilmiştir (9). Druzen bileşiminin lipid açısından zengin olması lipid metabolizmasındaki yolakların işleyişinde bir problem olacağını düşündürmüştür. Bu yolaklarda yer alan enzimler ve düzenleyiciler ile onların genetiğiyle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda Apo A1'i taklit eden bir peptidin, BM'de yaşa bağlı lipid birikimini azalttığı, yapısal remodelinge neden olduğu ve YBMD tedavisinde önemli bir rol

oynayabileceği bildirilmiştir (23, 24). Ayrıca başka bir çalışmada yüksek plazma apolipoprotein A1 ve HDL kolesterol seviyeleri ile düşük plazma LDL kolesterol seviyelerinin artan YBMD riski ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (162). Biz de çalışmamızda yağ metabolizmasında periferel dokulardan karaciğere kolestrol taşınmasında rol alan HDL'nin apoproteini olan *Apo A1*'in genetik varyasyonlarını inceledik ve *Apo A1* genindeki polimorfizmlerin YBMD riskini arttırabileceğine dair veriler elde ettik.

YBMD ve HDL metabolizmasında rol oynayan birkaç genetik lokus arasında ilişki tanımlanmıştır. Yapılan bir çalışmada YBMD ile HDL yolağındaki *hepatik lipaz* genindeki (*LIPC*) varyantlar arasındaki ilişki değerlendirilmiştir ve rs493258 ve rs10468017 varyantlarının YBMD ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. *LIPC* genindeki SNP'nin T alelinin HDL seviyelerini arttırdığı ve YBMD riskini azalttığı gösterilmiştir. Buna karşılık, *ABCA1* ve *CETP*'nin HDL'yi yükselten alellerinin AMD riskini arttırabileceğini, ancak bu sonuçların şu anda genom çapında önemli olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, ileri YBMD ve *LIPC* arasındaki ilişki, serum HDL'nin fenotipik korelasyonunu veya nedensel bir etkisini temsil etmeyebilir, ancak kolesterol yolunu içeren ortak bir altta yatan biyolojik mekanizmayı gösterebilir. HDL'nin lutein ve zeaksantin taşınmasında rol aldığı, makulanın lutein ve zeaksantin zengin olduğu bilinmektedir. Bu yolaktaki bir aksaklığın da YBMD riskini arttırabileceği düşünülmektedir (153). Yine bir çalışmada birbirini destekleyen sonuçlar bulunmuştur. Kromozom 15'te *LIPC*'ye yakın rs493258'deki yaygın allel ile kromozom 16'daki *CETP*'ye yakın rs3764261'deki nadir alel, YBMD riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir. Makula ve RPE'deki kolesterol seviyelerini etkileyen genetik varyantlar, druzen oluşumunu etkileyebilir ve böylece YBMD riskini modüle edebilir. Kandaki azalmış HDL seviyeleri ile ilişkili *CETP* ve *LPL*'ye yakın aleller YBMD riskini artırıyor gibi görünürken, kandaki azalmış HDL seviyeleri ile ilişkili *LIPC* ve *ABCA1*'e yakın aleller YBMD riskini azaltıyor gibi görünmektedir. Buradan hareketle aleller kandaki ve makuladaki kolesterol seviyelerini zıt yönlerde etkilediğini, dokular arasında kolesterol taşınmasını etkileyen bir varyantın, HDL'nin makuladan kana taşınmasını kolaylaştırabileceğini veya tam tersini yapabileceği bildirilmiştir. *CETP* ve *LPL*, HDL'nin sentezi ve bozulmasında büyük rol oynar, oysa *LIPC* ve *ABCA1*, hücre yüzeyinde HDL alımına aracılık etmede rol oynar (163).

YBMD etyopatogenezinde araştırılan HDL metabolizmasında rol oynayan gen polimorfizmlerinden biri *Apo A5-A4-C3-A1* gen kompleksinde tanımlanan rs964184 adlı SNP'dir (153). Bizim çalışmamızda araştırılan rs5059 ve rs1799837 SNP'leri MI, ateroskleroz, dislipidemi, osteonekroz, renal kanser ile ilişkili bulunmuştur. Bildiğimiz kadarıyla bu SNP'lerin ilk kez YBMD ilişkisi araştırılmıştır. Non travmatik osteonekrozun lipid metabolizmasındaki bozukluk nedeniyle ortaya çıktığı bilinmektedir. Çin'de yapılan bir çalışmada *Apo A1* genindeki G-75A polimorfizminin osteonekroz riskini arttırdığı tespit edilmiştir (164). Farklı bir çalışmada *Apo A1-75 AA* genotipinin artmış renal kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu olayda *Apo A1*'in tümör metastazı ve anjiyogeneizde rol almasının etkili olabileceği ifade edilmiştir (165). Saha ve ark. yaptığı çalışmada *Apo A1* geninin rs1799837 polimorfizminde guanidin'den adenin'e (G/A) yer değiştirmesini, sigara içmeyen Çinli'lerde yüksek serum *Apo A1* ve HDL seviyeleri ile ilişkili bulmuşlardır (166).

Apo A5-A4-C3-A1 gen kompleksindeki tek nükleotid polimorfizmleri, sağlıklı popülasyonlarda yüksek plazma trigliseritleri ve yüksek vasküler hastalık riskleri ile ilişkilidir. Klinik olarak belirgin vasküler hastalığı olan hastalarda hipertrigliseridemi ve metabolik sendrom sıklıkla bulunur ve bu hastalarda rs964184 tek nükleotid polimorfizminin (*Apo A5-A4-C3-A1*), yüksek plazma trigliserit konsantrasyonları ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (167). *Apo A1*, miyokard infarktüsünün (MI) temel nedeni olan aterosklerozisin gelişiminin önlenmesinde ana rol oynar. Yapılan bir çalışmada, *Apo A1* geninin rs5069 polimorfizminde kontrol grubuna kıyasla vakalarda T alleli önemli ölçüde artmış olarak bulunmuştur. T allelinin varlığının MI gelişimini artırabileceği ifade edilmiştir (168). Bizim çalışmamızda rs5069 polimorfizminde 'GG' genotipi kuru tip YBMD'de yaş tip YBMD ve kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ve bu sonuç ilgili genotipin kuru tip YBMD için risk faktörü olacağı şeklinde yorumlanabilir. Çalışmamızda ayrıca *Apo A1* geninin rs1799837 polimorfizminde 'CC' genotipi kontrol grubuna göre yaş ve kuru tip YBMD'de anlamlı olarak yüksek çıkmıştır. Ancak çalışmamızda ise rs1799837 ve rs5069 için 'AA' genotipi ve A allel sayısı ile ilgili anlamlı sonuç çıkmamıştır.

HT sıklığının yaşla birlikte arttığı bilinmektedir. Orta ve ileri evre hipertansiyon hastalığı ile yaş tip YBMD hastalığı arasında ilişki olabileceği, hipertansiyon ve KNV patogenezinde benzer sistemik sorunların olabileceği ve neovaskülarizasyonlara sebep olan anjiotensin-2'nin KNV oluşumunda da sorumlu olabileceği düşünülmüştür (169).

Bizim çalışmamızdaki hasta gruplarında HT bulunma sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır.

Yapılan çalışmaların çoğunda sigara kullanımının YBMD riskini arttırdığı vurgulanmıştır. Gerek eskiden beri sigara kullananlar gerekse yeni sigara kullanmaya başlayanlar artmış risk altında bulunmuştur. Uzun süredir sigara kullananlarda yeni içicilere göre 5-10 yıl daha erken YBMD gelişimi gözlenmiş ve ileri evre YBMD daha sık izlenmiştir (130). Bizim çalışmamızda sigara kullananlar ile kullanmayanlar arasında YBMD bulunma olasılığı açısından anlamlı fark görülmemiştir.

Katarakt cerrahisinin YBMD riskini artırıp artırmadığı tartışmalı bir konudur (170, 171). Katarakt ameliyatının inflamasyona sekonder ve katarakt ameliyatından sonra lensin UV koruyucu özelliğinin kaybolmasıyla ışığın retinaya hasar vermesi sonucu YBMD riskini arttırdığı belirtilmiştir (143, 144). Bu çalışmada yaş tip YBMD grubunda psödo-fakik olgu sayısı kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır. Yaş tip YBMD grubunda psödo-fakik olgu sayısının fazla saptanması etyolojide nedenlerden biri olabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. *Apo A1* geni rs1799837 polimorfizmi genotip farkı hem kuru tip YBMD hem de yaş tip YBMD grubunda, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. C/T allel sayıları bakımından kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç izlenmemiştir.
2. *Apo A1* geni rs5069 polimorfizmi, kuru tip YBMD ve kontrol grubu arasındaki genotip farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Her iki tip YBMD grubu arasında ve kontrol grubu ile yaş tip YBMD grubu arasında genotip farkı açısından istatistiksel olarak anlamlı sonuç saptanmamıştır. G/A allel sayıları bakımından kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuç izlenmemiştir.
3. Median EDGK yaş tip YBMD ve kuru tip YBMD grubunda kontrol grubuna göre daha düşük saptanmıştır ve istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır.
4. Yaş tip YBMD grubunda psödo fakik hasta sayısı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edilmiştir.
5. Her üç çalışma grubunda yaş ve cinsiyet dağılımı bakımından istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır.
6. Her üç çalışma grubu arasında HT, KOAH, KAH, SVO gibi başlıca sistemik kronik hastalıkların bulunması bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir.
7. Sigara ve alkol kullanımı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.
8. Median GİB değeri bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Özetle bu çalışmada *Apo A1* genindeki rs1799837 ve rs5069 polimorfizmlerinin artmış YBMD riski ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. YBMD multifaktöryel bir hastalık olup etyopatogenez halen tam olarak belirlenememiştir. Gerek bu çalışma sonucunda gerekse daha sonraki yapılacak çalışmalardan elde edilecek verilerin hem

söz konusu hastalığın patogenezi açıklamaya yardımcı olması, hem de riskli olguların tespitiyle bu hastalarda tanı ve tedavideki gecikmelerin önlenmesi beklenmektedir.



KAYNAKLAR

1. Li CM, Clark ME, Chimento MF, Curcio CA. Apolipoprotein localization in isolated drusen and retinal apolipoprotein gene expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2006;47(7):3119-28.
2. van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Oron FG, Mulder PG, de Jong PT. Histologic features of the early stages of age-related macular degeneration. A statistical analysis. *Ophthalmology.* 1992;99(2):278-86.
3. Pauleikhoff D BM, Minassian D, Chisholm IH, Bird AC. Am. Arisen as risk factors in age-related macular disease. . *DJ Ophthalmology*
1. 1990;109:38-43.
4. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of soft drusen in age-related macular degeneration. *Eye (Lond).* 1994;8 (Pt 3):269-83.
5. Sarks S, Cherepanoff S, Killingsworth M, Sarks J. Relationship of Basal laminar deposit and membranous debris to the clinical presentation of early age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48(3):968-77.
6. Anderson DH, Ozaki S, Nealon M, Neitz J, Mullins RF, Hageman GS, et al. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: implications for the process of drusen formation. *Am J Ophthalmol.* 2001;131(6):767-81.
7. Curcio CA, Millican CL, Bailey T, Kruth HS. Accumulation of cholesterol with age in human Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(1):265-74.
8. Haimovici R, Gantz DL, Rumelt S, Freddo TF, Small DM. The lipid composition of drusen, Bruch's membrane, and sclera by hot stage polarizing light microscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(7):1592-9.
9. Li CM, Chung BH, Presley JB, Malek G, Zhang X, Dashti N, et al. Lipoprotein-like particles and cholesteryl esters in human Bruch's membrane: initial characterization. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005;46(7):2576-86.

10. Malek G, Li CM, Guidry C, Medeiros NE, Curcio CA. Apolipoprotein B in cholesterol-containing drusen and basal deposits of human eyes with age-related maculopathy. *Am J Pathol.* 2003;162(2):413-25.
11. Huang J-D, Presley JB, Chimento MF, Curcio CA, Johnson M. Age-related changes in human macular Bruch's membrane as seen by quick-freeze/deep-etch. *Exp Eye Res.* 2007;85(2):202-18.
12. Amaral J, Lee JW, Chou J, Campos MM, Rodriguez IR. 7-Ketocholesterol induces inflammation and angiogenesis in vivo: a novel rat model. *PLoS One.* 2013;8(2):e56099.
13. Armstrong D, Ueda T, Ueda T, Aljada A, Browne R, Fukuda S, et al. Lipid hydroperoxide stimulates retinal neovascularization in rabbit retina through expression of tumor necrosis factor-alpha, vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor. *Angiogenesis.* 1998;2(1):93-104.
14. Grossniklaus HE, Miskala PH, Green WR, Bressler SB, Hawkins BS, Toth C, et al. Histopathologic and ultrastructural features of surgically excised subfoveal choroidal neovascular lesions: submacular surgery trials report no. 7. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(7):914-21.
15. Rodriguez IR, Clark ME, Lee JW, Curcio CA. 7-ketocholesterol accumulates in ocular tissues as a consequence of aging and is present in high levels in drusen. *Exp Eye Res.* 2014;128:151-5.
16. Spaide RF, Armstrong D, Browne R. Continuing medical education review: choroidal neovascularization in age-related macular degeneration--what is the cause? *Retina.* 2003;23(5):595-614.
17. Li CM, Presley JB, Zhang X, Dashti N, Chung BH, Medeiros NE, et al. Retina expresses microsomal triglyceride transfer protein: implications for age-related maculopathy. *J Lipid Res.* 2005;46(4):628-40.
18. Li M, Jia C, Kazmierkiewicz KL, Bowman AS, Tian L, Liu Y, et al. Comprehensive analysis of gene expression in human retina and supporting tissues. *Hum Mol Genet.* 2014;23(15):4001-14.

19. Zheng W, Reem RE, Omarova S, Huang S, DiPatre PL, Charvet CD, et al. Spatial distribution of the pathways of cholesterol homeostasis in human retina. *PLoS One*. 2012;7(5):e37926.
20. Dithmar S, Sharara NA, Curcio CA, Le NA, Zhang Y, Brown S, et al. Murine high-fat diet and laser photochemical model of basal deposits in Bruch membrane. *Arch Ophthalmol*. 2001;119(11):1643-9.
21. Espinosa-Heidmann DG, Sall J, Hernandez EP, Cousins SW. Basal laminar deposit formation in APO B100 transgenic mice: complex interactions between dietary fat, blue light, and vitamin E. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004;45(1):260-6.
22. Kelly UL, Grigsby D, Cady MA, et al. High-density lipoproteins are a potential therapeutic target for age-related macular degeneration. *J Biol Chem*. 2020;295(39):13601-13616.
23. Rudolf M, Curcio CA, Schlotzer-Schrehardt U, Sefat AMM, Tura A, Aherrahrou Z, et al. Apolipoprotein A-I Mimetic Peptide L-4F Removes Bruch's Membrane Lipids in Aged Nonhuman Primates. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2019;60(2):461-72.
24. Rudolf M, Mir Mohi Sefat A, Miura Y, Tura A, Raasch W, Ranjbar M, et al. ApoA-I Mimetic Peptide 4F Reduces Age-Related Lipid Deposition in Murine Bruch's Membrane and Causes Its Structural Remodeling. *Curr Eye Res*. 2018;43(1):135-46.
25. Akar S, Akyol S. Retina embriyogenezisi-Fizyolojisi, muayene yöntemleri, retina dejeneransları. Kısım 13, Bölüm 51. Editör: Pınar Aydın O'Dwyer. Temel Göz Hastalıkları. 3. Baskı Ankara Ayrıntı Basımevi2015. p. 634-8.
26. Bringmann A, Syrbe S, Gerner K, Kacza J, Francke M, Wiedemann P, et al. The primate fovea: Structure, function and development. *Prog Retin Eye Res*. 2018;66:49-84.
27. Nag TC, Wadhwa S. Ultrastructure of the human retina in aging and various pathological states. *Micron*. 2012;43(7):759-81.
28. Özdemir H, Arf S, Karaçorlu M. Maküla hastalıklarında optik koherens tomografi. Günes Kitabevi. 2015:8-9.

29. Staurengi G, Sadda S, Chakravarthy U, Spaide RF. Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: the IN*OCT consensus. *Ophthalmology*. 2014;121(8):1572-8.
30. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev*. 2005;85(3):845-81.
31. Fields MA, Del Priore LV, Adelman RA, Rizzolo LJ. Interactions of the choroid, Bruch's membrane, retinal pigment epithelium, and neurosensory retina collaborate to form the outer blood-retinal-barrier. *Prog Retin Eye Res*. 2019:100803.
32. Akkoyun İ. Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu Sınıflandırma ve Patogenez. *Turk J Ophthalmol*. 2014;44:476-80.
33. Gheorghe A, Mahdi L, Musat O. AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION. *Romanian journal of ophthalmology*. 2015;59(2):74-7.
34. Cheung LK, Eaton A. Age-related macular degeneration. Pharmacotherapy: *The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2013;33(8):838-55.
35. Williams MA, Craig D, Passmore P, Silvestri G. Retinal drusen: harbingers of age, safe havens for trouble. *Age Ageing*. 2009;38(6):648-54.
36. Age-Related Eye Disease Study Research G. Risk factors associated with age-related macular degeneration. A case-control study in the age-related eye disease study: Age-Related Eye Disease Study Report Number 3. *Ophthalmology*. 2000;107(12):2224-32.
37. Anderson DH, Ozaki S, Nealon M, Neitz J, Mullins RF, Hageman GS, et al. Local cellular sources of apolipoprotein E in the human retina and retinal pigmented epithelium: implications for the process of drusen formation. *Am J Ophthalmol*. 2001;131(6):767-81.
38. Karaçorlu M, Karaçorlu S, Özdemir H. Koroid Neovaskülarizasyonları & Fotodinamik Tedavi. Neovasküler Yaşa Bağlı Makula Dejeneransının Anjiyografik İstanbul: Yelken Basım; 2006. p. 5.
39. Laser photocoagulation of subfoveal neovascular lesions in age-related macular degeneration. Results of a randomized clinical trial. Macular Photocoagulation Study Group. *Arch Ophthalmol*. 1991;109(9):1220-31.

40. Freund KB, Zweifel SA, Engelbert M. Do We Need a New Classification for Choroidal Neovascularization in Age-Related Macular Degeneration? *Retina*. 2010;30(9):1333-49.
41. Grossniklaus H, Gass JD. Clinicopathologic correlations of surgically excised type 1 and type 2 submacular choroidal neovascular membranes. *Am J Ophthalmol*. 1998;126(1):59-69.
42. Yannuzzi LA, Sorenson J, Spaide RF, Lipson B. Idiopathic polypoidal choroidal vasculopathy (IPCV). 1990. *Retina*. 2012;32 Suppl 1:1-8.
43. Jung JJ, Chen CY, Mrejen S, Gallego-Pinazo R, Xu L, Marsiglia M, et al. The incidence of neovascular subtypes in newly diagnosed neovascular age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 2014;158(4):769-79. e2.
44. Chen P-J, Chen S-N. Clinical characteristics of exudative age-related macular degeneration in Taiwan. *Taiwan Journal of Ophthalmology*. 2012;2(4):127-30.
45. Hartnett ME, Weiter JJ, Garsd A, Jalkh AE. Classification of retinal pigment epithelial detachments associated with drusen. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*. 1992;230(1):11-9.
46. Southorn PA, Powis G, editors. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc*; 1988: Elsevier.
47. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res*. 1998;39(8):1529-42.
48. Catalá A. An overview of lipid peroxidation with emphasis in outer segments of photoreceptors and the chemiluminescence assay. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 2006;38(9):1482-95.
49. Alder VA, Cringle SJ. The effect of the retinal circulation on vitreal oxygen tension. *Curr Eye Res*. 1985;4(2):121-30.
50. Bazan NG. The metabolism of omega-3 polyunsaturated fatty acids in the eye: the possible role of docosahexaenoic acid and docosanoids in retinal physiology and ocular pathology. *Prog Clin Biol Res*. 1989;312:95-112.
51. Gaillard ER, Atherton SJ, Eldred G, Dillon J. Photophysical studies on human retinal lipofuscin. *Photochem Photobiol*. 1995;61(5):448-53.

52. Tate D, Miceli MV, Newsome DA. Phagocytosis and H₂O₂ induce catalase and metallothionein gene expression in human retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36(7):1271-9.
53. Jin G-F, Hurst JS, Godley BF. Hydrogen peroxide stimulates apoptosis in cultured human retinal pigment epithelial cells. *Curr Eye Res.* 2001;22(3):165-73.
54. Gutschmann-Conrad A, Heydari AR, You S, Richardson A. The Expression of Heat Shock Protein 70 Decreases with Cellular Senescence in Vitro and in Cells Derived from Young and Old Human Subjects. *Exp Cell Res.* 1998;241(2):404-13.
55. Kuroki M, Voest EE, Amano S, Beerepoot LV, Takashima S, Tolentino M, et al. Reactive oxygen intermediates increase vascular endothelial growth factor expression in vitro and in vivo. *The Journal of clinical investigation.* 1996; 98 (7): 1667-75.
56. Gottsch JD, Bynoe LA, Harlan JB, Rencs EV, Green WR. Light-induced deposits in Bruch's membrane of protoporphyric mice. *Arch Ophthalmol.* 1993;111(1):126-9.
57. Rao RSP, Møller IM. Pattern of occurrence and occupancy of carbonylation sites in proteins. *Proteomics.* 2011;11(21):4166-73.
58. Buyukguzel E. Protein oksidasyonun biyokimyasal ve moleküler mekanizması. *Karaelmas Science and Engineering Journal.* 2013;3(1):40-51.
59. Kennedy CJ, Rakoczy PE, Constable IJ. Lipofuscin of the retinal pigment epithelium: a review. *Eye.* 1995;9(6):763-71.
60. Delori FC, Goger DG, Dorey CK. Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001;42(8):1855-66.
61. Sundelin S, Wihlmark U, Nilsson SEG, Brunk UT. Lipofuscin accumulation in cultured retinal pigment epithelial cells reduces their phagocytic capacity. *Curr Eye Res.* 1998;17(8):851-7.
62. Finnemann SC, Leung LW, Rodriguez-Boulan E. The lipofuscin component A2E selectively inhibits phagolysosomal degradation of photoreceptor phospholipid by the retinal pigment epithelium. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2002;99(6):3842-7.

63. Davies S, Elliott MH, Floor E, Truscott TG, Zareba M, Sarna T, et al. Photocytotoxicity of lipofuscin in human retinal pigment epithelial cells. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(2):256-65.
64. Wihlmark U, Wrigstad A, Roberg K, Nilsson SEG, Brunk UT. Lipofuscin accumulation in cultured retinal pigment epithelial cells causes enhanced sensitivity to blue light irradiation. *Free Radic Biol Med*. 1997;22(7):1229-34.
65. Seddon JM, Cote J, Page WF, Aggen SH, Neale MC. The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences. *Arch Ophthalmol*. 2005;123(3):321-7.
66. Klaver CC, Wolfs RC, Assink JJ, van Duijn CM, Hofman A, de Jong PT. Genetic risk of age-related maculopathy. Population-based familial aggregation study. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(12):1646-51.
67. Riaz M, Baird PN. Genetics in Retinal Diseases. *Dev Ophthalmol*. 2016;55:57-62.
68. Rakoczy EP, Lai CM, Magno AL, Wikstrom ME, French MA, Pierce CM, et al. Gene therapy with recombinant adeno-associated vectors for neovascular age-related macular degeneration: 1 year follow-up of a phase 1 randomised clinical trial. *Lancet*. 2015;386(10011):2395-403.
69. Schwartz SG, Hampton BM, Kovach JL, Brantley Jr MA. Genetics and age-related macular degeneration: a practical review for the clinician. *Clinical Ophthalmology (Auckland, NZ)*. 2016;10:1229.
70. Ayala-Haedo JA, Gallins PJ, Whitehead PL, Schwartz SG, Kovach JL, Postel EA, et al. Analysis of single nucleotide polymorphisms in the NOS2A gene and interaction with smoking in age-related macular degeneration. *Ann Hum Genet*. 2010;74(3):195-201.
71. Fritsche LG, Igl W, Bailey JN, Grassmann F, Sengupta S, Bragg-Gresham JL, et al. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nat Genet*. 2016;48(2):134-43.
72. Ran X, Cai W-J, Huang X-F, Liu Q, Lu F, Qu J, et al. 'RetinoGenetics': a comprehensive mutation database for genes related to inherited retinal degeneration. *Database*. 2014;2014.

73. Francis PJ, Hamon SC, Ott J, Weleber RG, Klein ML. Polymorphisms in C2, CFB and C3 are associated with progression to advanced age related macular degeneration associated with visual loss. *J Med Genet.* 2009;46(5):300-7.
74. Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai J-Y, Sackler RS, Haynes C, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science.* 2005;308(5720):385-9.
75. Sergejeva O, Botov R, Liutkevičienė R, Kriauciūnienė L. Genetic factors associated with the development of age-related macular degeneration. *Medicina (Kaunas).* 2016;52(2):79-88.
76. Fritsche LG, Chen W, Schu M, Yaspan BL, Yu Y, Thorleifsson G, et al. Seven new loci associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet.* 2013;45(4):433-9, 9e1-2.
77. Holz FG, Sheraidah G, Pauleikhoff D, Bird AC. Analysis of lipid deposits extracted from human macular and peripheral Bruch's membrane. *Arch Ophthalmol.* 1994;112(3):402-6.
78. Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, De Bruijn W, Mulder P, De Jong P. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35(6):2857-64.
79. Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Ianchulev S, Adamis AP. Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol.* 2003;48(3):257-93.
80. Okubo A, Rosa R, Bunce CV, Alexander RA, Fan JT, Bird AC, et al. The relationships of age changes in retinal pigment epithelium and Bruch's membrane. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(2):443-9.
81. Boulton M, Moriarty P, Jarvis-Evans J, Marcyniuk B. Regional variation and age-related changes of lysosomal enzymes in the human retinal pigment epithelium. *Br J Ophthalmol.* 1994;78(2):125-9.
82. Chuang EL, Bird AC. The pathogenesis of tears of the retinal pigment epithelium. *Am J Ophthalmol.* 1988;105(3):285-90.

83. Blaauwgeers HG, Holtkamp GM, Rutten H, Witmer AN, Koolwijk P, Partanen TA, et al. Polarized vascular endothelial growth factor secretion by human retinal pigment epithelium and localization of vascular endothelial growth factor receptors on the inner choriocapillaris: evidence for a trophic paracrine relation. *The American journal of pathology*. 1999;155(2):421-8.
84. Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J. Effect of aging on foveolar choroidal circulation. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(2):150-4.
85. Pauleikhoff D, Spital G, Radermacher M, Brumm GA, Lommatzsch A, Bird AC. A fluorescein and indocyanine green angiographic study of choriocapillaris in age-related macular disease. *Arch Ophthalmol*. 1999;117(10):1353-8.
86. Friedman E. A hemodynamic model of the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol*. 1997;124(5):677-82.
87. Garner A. Ocular angiogenesis. *Int Rev Exp Pathol*. 1986;28:249-306.
88. Jampol LM, Ebrown DA, Goldbaum MH. Peripheral proliferative retinopathies: an update on angiogenesis, etiologies and management. *Surv Ophthalmol*. 1994;38(6):519-40.
89. Hudlicka O. Growth of vessels—historical review. *Angiogenesis*. 4: Karger Publishers; 1984. p. 1-8.
90. Distler O, Neidhart M, Gay RE, Gay S. The molecular control of angiogenesis. *Int Rev Immunol*. 2002;21(1):33-49.
91. Asahara T, Bauters C, Zheng LP, Takeshita S, Bunting S, Ferrara N, et al. Synergistic effect of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on angiogenesis in vivo. *Circulation*. 1995;92(9 Suppl):Ii365-71.
92. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol*. 1995;146(5):1029-39.
93. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997;18(1):4-25.
94. Folkman J, Klagsbrun M. Angiogenic factors. *Science*. 1987;235(4787):442-7.

95. Cherrington JM, Strawn LM, Shawver LK. New paradigms for the treatment of cancer: the role of anti-angiogenesis agents. *Adv Cancer Res.* 2000;79:1-38.
96. Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonpierre PC, Davis S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell.* 1996;87(7):1171-80.
97. Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science.* 1997;277(5322):55-60.
98. Kim I, Moon S-O, Park SK, Chae SW, Koh GY. Angiopoietin-1 reduces VEGF-stimulated leukocyte adhesion to endothelial cells by reducing ICAM-1, VCAM-1, and E-selectin expression. *Circ Res.* 2001;89(6):477-9.
99. Demoulin JB, Montano-Almendras CP. Platelet-derived growth factors and their receptors in normal and malignant hematopoiesis. *Am J Blood Res.* 2012;2(1):44-56.
100. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev.* 2008;22(10):1276-312.
101. Sadiq MA, Hanout M, Sarwar S, Hassan M, Do DV, Nguyen QD, et al. Platelet derived growth factor inhibitors: A potential therapeutic approach for ocular neovascularization. *Saudi journal of ophthalmology : official journal of the Saudi Ophthalmological Society.* 2015;29(4):287-91.
102. Stellmach V, Crawford SE, Zhou W, Bouck N. Prevention of ischemia-induced retinopathy by the natural ocular antiangiogenic agent pigment epithelium-derived factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2001;98(5):2593-7.
103. Mori K, Duh E, Gehlbach P, Ando A, Takahashi K, Pearlman J, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits retinal and choroidal neovascularization. *J Cell Physiol.* 2001;188(2):253-63.
104. Sivaprasad S, Bailey TA, Chong VN. Bruch's membrane and the vascular intima: is there a common basis for age-related changes and disease? *Clin Exp Ophthalmol.* 2005;33(5):518-23.

105. Kvanta A, Shen WY, Sarman S, Seregard S, Steen B, Rakoczy E. Matrix metalloproteinase (MMP) expression in experimental choroidal neovascularization. *Curr Eye Res.* 2000;21(3):684-90.
106. Plantner JM, Smine A, Quinn TA. Matrix metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors in human interphotoreceptor matrix and vitreous. *Curr Eye Res.* 1998;17(2):132-40.
107. Rundhaug JE. Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *J Cell Mol Med.* 2005;9(2):267-85.
108. Taraboletti G, D'Ascenzo S, Borsotti P, Giavazzi R, Pavan A, Dolo V. Shedding of the matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-9, and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am J Pathol.* 2002;160(2):673-80.
109. Kalluri R. Basement membranes: structure, assembly and role in tumour angiogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2003;3(6):422-33.
110. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry. *Circ Res.* 2003;92(8):827-39.
111. Jiang Y, Goldberg ID, Shi YE. Complex roles of tissue inhibitors of metalloproteinases in cancer. *Oncogene.* 2002;21(14):2245-52.
112. Steen B, Sejersen S, Berglin L, Seregard S, Kvanta A. Matrix metalloproteinases and metalloproteinase inhibitors in choroidal neovascular membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39(11):2194-200.
113. Lambert V, Wielockx B, Munaut C, Galopin C, Jost M, Itoh T, et al. MMP-2 and MMP-9 synergize in promoting choroidal neovascularization. *The FASEB journal.* 2003;17(15):2290-2.
114. Johnson LV, OZAKI S, STAPLES MK, ERICKSON PA, ANDERSON DH. A potential role for immune complex pathogenesis in drusen formation. *Exp Eye Res.* 2000;70(4):441-9.
115. MPhil PP, BSppSc MK, FRACO SS. An ultrastructural study of the role of leucocytes and fibroblasts in the breakdown of Bruch's membrane. *Australian Journal of Ophthalmology.* 1984;12(1):23-31.

116. Grossniklaus HE, Ling JX, Wallace TM, Dithmar S, Lawson DH, Cohen C, et al. Macrophage and retinal pigment epithelium expression of angiogenic cytokines in choroidal neovascularization. *Mol Vis*. 2002;8(8):119-26.
117. Miyamoto K, Khosrof S, Bursell SE, Moromizato Y, Aiello LP, Ogura Y, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-induced retinal vascular permeability is mediated by intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). *Am J Pathol*. 2000;156(5):1733-9.
118. Killingsworth M, Sarks J, Sarks S. Macrophages related to Bruch's membrane in age-related macular degeneration. *Eye*. 1990;4(4):613-21.
119. Ryu E, Fridley BL, Tosakulwong N, Bailey KR, Edwards AO. Genome-wide association analyses of genetic, phenotypic, and environmental risks in the age-related eye disease study. *Mol Vis*. 2010;16:2811-21.
120. Thornton J, Edwards R, Mitchell P, Harrison RA, Buchan I, Kelly SP. Smoking and age-related macular degeneration: a review of association. *Eye (Lond)*. 2005;19(9):935-44.
121. Curcio CA, Johnson M, Rudolf M, Huang JD. The oil spill in ageing Bruch membrane. *Br J Ophthalmol*. 2011;95(12):1638-45.
122. Tan JS, Wang JJ, Liew G, Rochtchina E, Mitchell P. Age-related macular degeneration and mortality from cardiovascular disease or stroke. *Br J Ophthalmol*. 2008;92(4):509-12.
123. Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: pooled findings from three continents. *Ophthalmology*. 2001;108(4):697-704.
124. Espinosa-Heidmann DG, Suner I, Hernandez EP, Frazier WD, Csaky KG, Cousins SW. Age as an independent risk factor for severity of experimental choroidal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43(5):1567-73.
125. Friedman DS, Katz J, Bressler NM, Rahmani B, Tielsch JM. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey. *Ophthalmology*. 1999;106(6):1049-55.

126. Friedman DS, Katz J, Bressler NM, Rahmani B, Tielsch JM. Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey. *Ophthalmology*. 1999;106(6):1049-55.
127. Rohan RM, Fernandez A, Udagawa T, Yuan J, D'Amato RJ. Genetic heterogeneity of angiogenesis in mice. *The FASEB Journal*. 2000;14(7):871-6.
128. Sundelin SP, Nilsson SEG, Brunk UT. Lipofuscin-formation in cultured retinal pigment epithelial cells is related to their melanin content. *Free Radic Biol Med*. 2001;30(1):74-81.
129. Mitchell P, Smith W, Wang JJ. Iris color, skin sun sensitivity, and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1998;105(8):1359-63.
130. Delcourt C, Diaz J-L, Ponton-Sanchez A, Papoz L. Smoking and age-related macular degeneration: the POLA Study. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(8):1031-5.
131. Hara K. [Effects of cigarette smoking on ocular circulation chronic effect on choroidal circulation]. *Nippon Ganka Gakkai zasshi*. 1991;95(10):939-43.
132. Steigerwalt RD, Jr., Laurora G, Incandela L, Cesarone MR, Belcaro GV, De Sanctis MT. Ocular and orbital blood flow in cigarette smokers. *Retina*. 2000;20(4):394-7.
133. Klein R, Klein BE, Linton KL, DeMets DL. The Beaver Dam Eye Study: the relation of age-related maculopathy to smoking. *Am J Epidemiol*. 1993;137(2):190-200.
134. Cho E, Seddon JM, Rosner B, Willett WC, Hankinson SE. Prospective study of intake of fruits, vegetables, vitamins, and carotenoids and risk of age-related maculopathy. *Arch Ophthalmol*. 2004;122(6):883-92.
135. Christen WG. Dietary Carotenoids, Vitamins A, C, and E, and Macular Degeneration. *JAMA*. 1995;273(23):1835-.
136. Chew EY, Clemons TE, Agrón E, Sperduto RD, Sangiovanni JP, Kurinij N, et al. Long-term effects of vitamins C and E, β -carotene, and zinc on age-related macular degeneration: AREDS report no. 35. *Ophthalmology*. 2013;120(8):1604-11.e4.

137. Gorusupudi A, Nelson K, Bernstein PS. The Age-Related Eye Disease 2 Study: Micronutrients in the Treatment of Macular Degeneration. *Adv Nutr.* 2017;8(1):40-53.
138. <http://www.ozcankayikcioglu.com/retina-sa2871305287305-iccedilin-beslenme.html>. 6 Ekim 2021
139. Johnson EJ. Obesity, lutein metabolism, and age-related macular degeneration: a web of connections. *Nutr Rev.* 2005;63(1):9-15.
140. Rowan S, Jiang S, Korem T, Szymanski J, Chang ML, Szelog J, et al. Involvement of a gut-retina axis in protection against dietary glycemia-induced age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114(22):E4472-e81.
141. Lundström M, Stenevi U, Thorburn W. Outcome of cataract surgery considering the preoperative situation: a study of possible predictors of the functional outcome. *Br J Ophthalmol.* 1999;83(11):1272-6.
142. Pham TQ, Wang JJ, Maloof A, Mitchell P. Cataract surgery in patients with age-related maculopathy: preoperative diagnosis and postoperative visual acuity. *Clin Exp Ophthalmol.* 2005;33(4):360-3.
143. Klein R, Klein BEK, Jensen SC, Cruickshanks KJ. The Relationship of Ocular Factors to the Incidence and Progression of Age-Related Maculopathy. *Arch Ophthalmol.* 1998;116(4):506-13.
144. Smith BT, Belani S, Ho AC. Light energy, cataract surgery, and progression of age-related macular degeneration. *Curr Opin Ophthalmol.* 2005;16(3):166-9.
145. Hammond CJ, Webster AR, Snieder H, Bird AC, Gilbert CE, Spector TD. Genetic influence on early age-related maculopathy: a twin study. *Ophthalmology.* 2002;109(4):730-6.
146. apoA1 gen data [Internet]. Available from: https://www.genenames.org/data/gene-symbol-report/#!/hgnc_id/HGNC:600 6 Ekim 2021
147. Lai CQ, Parnell LD, Ordovas JM. The APOA1/C3/A4/A5 gene cluster, lipid metabolism and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol.* 2005;16(2):153-66.
148. Mahley RW, Innerarity TL, Rall Jr SC, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res.* 1984;25(12):1277-94.

149. Tall AR, Small DM. Plasma high-density lipoproteins. *N Engl J Med*. 1978;299(22):1232-6.
150. Kane JP. Apolipoprotein B: structural and metabolic heterogeneity. *Annu Rev Physiol*. 1983;45(1):637-50.
151. Fielding C, Shore V, Fielding P. A protein cofactor of lecithin: cholesterol acyltransferase. *Biochem Biophys Res Commun*. 1972;46(4):1493-8.
152. Flores R, Jin X, Chang J, Zhang C, Cogan DG, Schaefer EJ, et al. LCAT, ApoD, and ApoA1 Expression and Review of Cholesterol Deposition in the Cornea. *Biomolecules*. 2019;9(12).
153. Neale BM, Fagerness J, Reynolds R, Sobrin L, Parker M, Raychaudhuri S, et al. Genome-wide association study of advanced age-related macular degeneration identifies a role of the hepatic lipase gene (LIPC). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(16):7395-400.
154. Klein R, Klein BE, Linton KL. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 1992;99(6):933-43.
155. Rudnicka AR, Jarrar Z, Wormald R, Cook DG, Fletcher A, Owen CG. Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalence in populations of European ancestry: a meta-analysis. *Ophthalmology*. 2012;119(3):571-80.
156. Kawasaki R, Wang JJ, Aung T, Tan DT, Mitchell P, Sandar M, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in a Malay population: the Singapore Malay Eye Study. *Ophthalmology*. 2008;115(10):1735-41.
157. Seddon JM, Reynolds R, Yu Y, Daly MJ, Rosner B. Risk models for progression to advanced age-related macular degeneration using demographic, environmental, genetic, and ocular factors. *Ophthalmology*. 2011;118(11):2203-11.
158. Fritsche LG, Fariss RN, Stambolian D, Abecasis GR, Curcio CA, Swaroop A. Age-related macular degeneration: genetics and biology coming together. *Annual review of genomics and human genetics*. 2014;15:151-71.
159. Seddon JM, Ajani UA, Mitchell BD. Familial aggregation of age-related maculopathy. *Am J Ophthalmol*. 1997;123(2):199-206.

160. Meyers S, Greene T. Gutman-FA: A twin study of age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 1995;120(6):757-66.
161. Hammond CJ, Webster AR, Snieder H, Bird AC, Gilbert CE, Spector TD. Genetic influence on early age-related maculopathy: a twin study. *Ophthalmology.* 2002;109(4):730-6.
162. Nordestgaard LT, Tybjaerg-Hansen A, Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BG. Elevated Apolipoprotein A1 and HDL Cholesterol Associated with Age-related Macular Degeneration: 2 Population Cohorts. *J Clin Endocrinol Metab.* 2021;106(7):e2749-e2758.
163. Chen W, Stambolian D, Edwards AO, Branham KE, Othman M, Jakobsdottir J, et al. Genetic variants near *TIMP3* and high-density lipoprotein-associated loci influence susceptibility to age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2010;107(16):7401-6.
164. Yin JM, Liu Z, Zhao SC, Guo YJ, Liu ZT. Relationship between the Apolipoprotein AI, B gene polymorphism and the risk of non-traumatic osteonecrosis. *Lipids Health Dis.* 2014;13:149.
165. Liu Z, Xiao Y, Tang L, Jiang L, Wang Y, Zhang R, et al. Apolipoprotein A1-75 G/A and+ 83 C/T polymorphisms and renal cancer risk. *Lipids Health Dis.* 2015;14(1):1-6.
166. Curti MLR, Jacob P, Borges MC, Rogero MM, Ferreira SRG. Studies of gene variants related to inflammation, oxidative stress, dyslipidemia, and obesity: implications for a nutrigenetic approach. *J Obes.* 2011;2011.
167. van de Woestijne AP, van der Graaf Y, de Bakker PI, Asselbergs FW, Spiering W, Visseren FL. Rs964184 (APOA5-A4-C3-A1) is related to elevated plasma triglyceride levels, but not to an increased risk for vascular events in patients with clinically manifest vascular disease. *PLoS One.* 2014;9(6):e101082.
168. Udaya Kumari G. ApoA1 Gene Polymorphism G-75A (rs 1799837) and C+ 83T (rs 5069) and Its Association with Coronary Artery Disease: *Kilpauk Medical College, Chennai*; 2015.

169. Hyman L, Schachat AP, He Q, Leske MC, Group ftA-RMDRFS. Hypertension, Cardiovascular Disease, and Age-Related Macular Degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2000;118(3):351-8.
170. Lundqvist B, Monestam E. Longitudinal changes in subjective and objective visual function 5 years after cataract surgery Prospective population-based study. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(11):1944-50.
171. Wang JJ, Klein R, Smith W, Klein BE, Tomany S, Mitchell P. Cataract surgery and the 5-year incidence of late-stage age-related maculopathy: pooled findings from the Beaver Dam and Blue Mountains eye studies. *Ophthalmology*. 2003;110(10):1960-7.



EKLER

EK-1. Etik Kurul Kararı







