

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU İLE *CFH*, *HIF1A*,
SKIV2L VE *MYRIP* GENLERİNİN POLİMORFİZMLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. VOLKAN OKUR

**DANIŞMAN
YARD. DOÇ. DR. G. OZAN ÇETİN**

DENİZLİ-2013

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU İLE *CFH*, *HIF1A*,
SKIV2L VE *MYRIP* GENLERİNİN POLİMORFİZMLERİ
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN BELİRLENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. VOLKAN OKUR

**DANIŞMAN
YARD. DOÇ. DR. G. OZAN ÇETİN**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 14/05/2012 tarih ve 2012TPF021 nolu kararı ile desteklenmiştir.

DENİZLİ-2013

Yard. Doç. Dr. G. Ozan ÇETİN danışmanlığında Dr. Volkan OKUR tarafından yapılan “Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu ile *CFH*, *H1F1A*, *SKIV2L* ve *MYRIP* Genlerinin Polimorfizmleri Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi” başlıklı tez çalışması .15..10.2013 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Tıbbi Genetik Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Galseren Başçı
G. Başçı

ÜYE

Prof. Dr. Fikri Düzcan
F. Düzcan

ÜYE

Yard. Doç. Dr. G. Ozan ÇETİN
G. Ozan ÇETİN

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

27.10.2013

Prof. Dr. Mustafa KILIÇ
Pamukkale Üniversitesi
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Can YÜCEL ve Samuel BECKETT'e...

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimleri ile yetişmemde emekleri olan değerli hocalarım Prof. Dr. Gülseren BAĞCI, Prof. Dr. Füsün DÜZCAN, Prof. Dr. Hülya KAYSERİLİ, Prof. Dr. N. Lale ŞATIROĞLU TUFAN, Doç. Dr. C. Nur SEMERCİ, Doç. Dr. Vildan Caner, Yard. Doç. Dr. Emre TEPELİ, ve bu sürede önce ağabey sonra hocam olan Yard. Doç. Dr. G. Ozan ÇETİN'e; tez çalışmam sürecinde klinik bilgi ve birikimlerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Ebru Nevin ÇETİN'e, istatistik hesaplamalarında yardımcı olan sayın Prof. Dr. Mehmet ZENCİR'e; asistanlık eğitimim ve tezimin hazırlanması sürecinde bana destek olan tüm asistan arkadaşlarıma ve başta Münevver ATMACA ve Sevilay ATLI TEKİN olmak üzere Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'ndaki tüm çalışma arkadaşlarıma; teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
SİMGELER VE KISALTMALAR	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	IX
ÖZET	XI
SUMMARY	XII
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	4
YBMD'NİN EPİDEMIYOLOJİSİ.....	6
Prevalans ve İnsidans.....	6
Risk Faktörleri.....	6
YBMD TANI ve TEDAVİSİ.....	7
YBMD ve GENETİK.....	8
CFH.....	10
HIF1A.....	12
SKIV2L.....	15
MYRIP.....	16
GEREÇ VE YÖNTEM	19
BULGULAR.....	26
TARTIŞMA	44
SONUÇLAR.....	56
KAYNAKLAR	58
EKLER.....	

SİMGELER VE KISALTMALAR

AREDS	Age Related Eye Disease Study
bç	Baz çifti
CFH	Complement Factor H
CRP	C-Reaktif Protein
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EUREYE	The European Eye Study
FFA	Fundus Floresein Anjiografi
GWAS	Genome Wide Association Study
HIF1A	Hypoxia Inducible Factor 1A
KNV	Koroid neovaskülarizasyonu
MYRIP	Myosin VIIa- and –Rab-Interacting Protein
OCT	Optical Coherence Tomography
PCR	Polimerase Chain Reaction
PKV	Polipoidal Koroidal Vaskülopati
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RPE	Retina Pigment Epiteli
rpm	Rounds per minute
SKIV2L	Superkiller Viralicidic Activity 2, <i>S. Cerevisiae</i> Homolog-Like
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
YBMD	Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu
3' UTR	3' Untranslated Region
5' UTR	5' Untranslated Region

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1 2002 yılı verilerine göre kırma kusurları dışında göz hastalıklarına bağlı körlüğün nedenleri.....	2
Şekil 2 2006 yılı verilerine göre düzeltilmemiş kırma kusurları ve göz hastalıklarına bağlı körlüğün nedenleri	3
Şekil 3 YBMD fundus fotoğrafları	4
Şekil 4 YBMD'nin patofizyolojisi	5
Şekil 5 HIF-1'in rol aldığı metabolik süreçler.....	12
Şekil 6 HIF-1 α 'nın VHL proteini aracılığıyla degradasyonu.....	13
Şekil 7 Rab27a-Myozin Va/VIIa-Melanofilin/MyRIP arasındaki ilişki..	17
Şekil 8 <i>CFH</i> geni rs1061170 polimorfizmini içeren bölgeye ait PCR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	27
Şekil 9 <i>CFH</i> geni rs1061170 polimorfizminin heterozigot değişimini gösteren dizi analizi sonucu.....	28
Şekil 10 <i>CFH</i> geni rs1061170 genotiplerinin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	29
Şekil 11 <i>HIF1A</i> geni rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerinin yer aldığı bölgeye ait PCR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü.....	31
Şekil 12 <i>HIF1A</i> geni rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerini gösteren dizi analizi sonucu.....	32
Şekil 13 <i>HIF1A</i> geni rs11549465 polimorfizmine ait genotiplerin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı.....	33
Şekil 14 <i>SKIV2L</i> geni rs429608 polimorfizmini içeren gen bölgesine ait PCR ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi.....	35
Şekil 15 <i>SKIV2L</i> geni rs429608 polimorfizminin heterozigot değişimini gösteren dizi analizi sonucu.....	35

Şekil 16	<i>MYRIP</i> geni rs2679798 polimorfizmini içeren gen bölgesine ait PCR ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi.....	38
Şekil 17	<i>MYRIP</i> geni rs2679798 polimorfizminin heterozigot değişimini gösteren dizi analizi sonucu.....	38
Şekil 18	Hasta ve kontrol grupları arasında <i>MYRIP</i> geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip dağılımları.....	39

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 1	YBMD’de rolü olan genler, lokusları ve etki mekanizmaları. 9
Tablo 2	YBMD’ye karşı koruyucu etkiye sahip bazı polimorfizmler.. 10
Tablo 3	HIF-1 hedef genlerinden bazıları..... 14
Tablo 4	İlgili gen bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primer çiftleri ve ürün büyüklükleri..... 22
Tablo 5	Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan bileşenler ve miktarları..... 22
Tablo 6	Her bir gen bölgesi için polimeraz zincir reaksiyonu termal profilleri..... 22
Tablo 7	Dizileme reaksiyonunda kullanılan bileşenler..... 24
Tablo 8	Dizileme reaksiyonu termal profili..... 24
Tablo 9	Çalışma grubunun demografik özellikleri..... 26
Tablo 10	Kuru ve yaş tip YBMD’nin cinsiyete göre dağılımı..... 27
Tablo 11	Hasta ve kontrol grupları arasında <i>CFH</i> geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları..... 29
Tablo 12	Kuru ve yaş tip olgular arasında <i>CFH</i> geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları..... 30
Tablo 13	Kuru tip olgularla kontrol grubundaki <i>CFH</i> geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması..... 30
Tablo 14	Yaş tip olgularla kontrol grubundaki <i>CFH</i> geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması..... 31
Tablo 15	Hasta ve kontrol grupları arasında <i>HIF1A</i> geni rs11549465 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları..... 33
Tablo 16	Kuru ve yaş tip olgular arasında <i>HIF1A</i> geni rs11549465 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları..... 34

Tablo 17	Kuru ve yaş tip olgularla kontrol grubundaki <i>HIF1A</i> geni rs11549465 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması.....	34
Tablo 18	Hasta ve kontrol grupları arasında <i>SKIV2L</i> geni rs429608 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları.....	36
Tablo 19	Kuru ve yaş tip olgular arasında <i>SKIV2L</i> geni rs429608 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları.....	37
Tablo 20	Kuru ve yaş tip olgularla kontrol grubundaki <i>SKIV2L</i> geni rs429608 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması.....	37
Tablo 21	Hasta ve kontrol grupları arasında <i>MYRIP</i> geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları.....	39
Tablo 22	Kuru ve yaş tip olgular arasında <i>MYRIP</i> geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları.....	40
Tablo 23	Kuru ve yaş tip olgularla kontrol grubundaki <i>MYRIP</i> geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması.....	41
Tablo 24	Hasta ve kontrol grubunda <i>CFH</i> , <i>SKIV2L</i> , <i>MYRIP</i> genlerindeki polimorfizmlerin birlikteliği.....	42
Tablo 25	Kuru ve yaş tip YBMD'li olgularda <i>CFH</i> , <i>SKIV2L</i> , <i>MYRIP</i> genlerindeki polimorfizmlerin birlikteliği.....	43

ÖZET

Yaşa bağı makula dejenerasyonu ile *CFH*, *HIF1A*, *SKIV2L* ve *MYRIP* genlerinin polimorfizmleri arasındaki ilişkinin belirlenmesi

Dr. Volkan OKUR

Yaşa bağı makula dejenerasyonu (YBMD), özellikle gelişmiş ülkelerdeki geri dönüşümsüz görme kaybının en önemli nedenidir. YBMD gelişimindeki en önemli risk faktörü ileri yaştır. *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizminin YBMD gelişimi açısından bağımsız bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte bu polimorfizme sahip hastalarda hastalığın gelişmemesi sonucunda YBMD ile ilişkili farklı genlerin araştırıldığı çalışmalarda, birçok gende YBMD'ye karşı koruyuculuk yaratabilecek polimorfizmler saptanmakla birlikte, YBMD ile ilişkili olabilecek yeni genler de araştırılmaya devam edilmektedir.

Bu olgu-kontrol çalışmamızda, YBMD'ye sahip 87 hasta ve sağlıklı 80 bireyde, *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizmine ek olarak, *SKIV2L* ve *MYRIP* genlerindeki rs429608 ve rs2679798 ve *HIF1A* genindeki rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerinin dağılımlarını dizi analizi yöntemiyle belirledik. *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleli taşımanın YBMD gelişimini yaştan bağımsız olarak arttırdığını bulduk (OR= 2.42; 95%CI 1.22-4.81). Ek olarak, aynı polimorfizmdeki atasal T allelinin de YBMD'ye karşı koruyucu etkiye sahip olduğu görüldü (OR=0.53; 95%CI 0.34-0.83). Diğer genlerdeki polimorfizmlerin dağılımları açısından ise hasta ve kontrol gruplarımız arasında istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

Bu çalışma sonucunda *CFH* geni rs1061170 polimorfizminin ülkemiz popülasyonu için de YBMD ile ilişkili olduğu belirlendi. Araştırma sonucunda diğer genlerde yer alan polimorfizmlerin YBMD ile ilişkisi gösterilememiştir ancak bu konuda daha geniş gruplarla yapılacak çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: YBMD, *CFH*, *SKIV2L*, *MYRIP*, *HIF1A*, Polimorfizm

SUMMARY

Identifying associations between *CFH*, *HIF1A*, *SKIV2L* and *MYRIP* gene polymorphisms and age-related macular degeneration (AMD)

Volkan OKUR, MD

Age-related macular degeneration (AMD) is, especially in developed countries, one of the most important reasons of irreversible vision loss in advanced age. The most important risk factor is an advanced age. It has been shown that rs1061170 polymorphism in *CFH* gene is also an independent risk factor for AMD. However, disease-free patients with this polymorphism necessitate the investigation of other possible candidate genes. Thus, several number of polymorphisms both the ones with protective effect and the ones with causative effect have been identified and still being investigated.

In this case-control study, we determine the distributions of rs1061170 (*CFH*), rs429608 (*SKIV2L*), rs2679798 (*MYRIP*) and rs11549465 and rs11549467 (*HIF1A*) polymorphisms via sequencing in 87 AMD patients and 80 healthy subjects. We found that having at least one C allele for rs1061170 polymorphism increases AMD risk independent from age (OR= 2.42; 95%CI 1.22-4.81). Furthermore, the ancestral T allele for rs1061170 polymorphism has protective effect for AMD (OR=0.53; 95%CI 0.34-0.83). There is no statistically significant difference for distributions of the other studied gene polymorphisms between patients and healthy subjects.

As a conclusion, it has been identified that rs1061170 polymorphism of *CFH* gene is also associated with AMD in our population. Although no associations were documented for other polymorphisms, large-scale studies should be designed to clearly identify these associations in our population.

Key Words: AMD, *CFH*, *SKIV2L*, *MYRIP*, *HIF1A*, Polymorphism

GİRİŞ

Yirminci yüzyılın ilk çeyreğinden başlayarak süregelen tıp ve teknoloji alanındaki gelişmelerin sonucunda daha fazla hastalığa tanı konulmakta ve tedavisi planlanmaktadır. Bu gelişmelere paralel olarak ortalama yaşam süreleri de yükselmiş ve çevresel faktörlerin de önemli rol oynadığı, yaşlanma sürecinin doğal sonucu olan hastalıklar (kanserler, nörodejeneratif hastalıklar, görme problemleri vs.) ön plana çıkmaya başlamıştır.

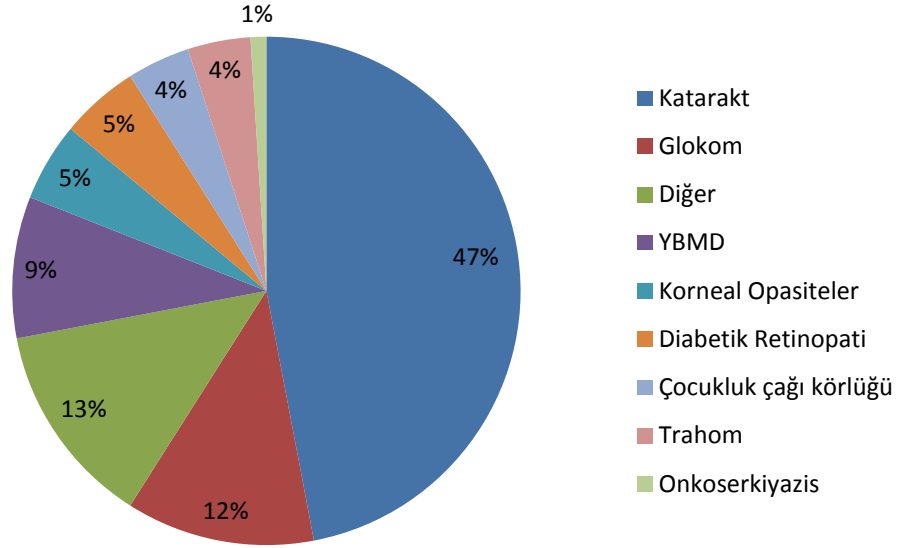
Dünya nüfusunun 2020 yılında 7.9 milyar kişiye ulaşacağı ve bu nüfusu oluşturacak olan 6 milyar kişinin de sadece Afrika ve Asya'da yaşayacağı öngörülmektedir (1). Afrika'daki yüksek neonatal mortalite hızları ve Asya'daki nüfusun önemli çoğunluğunu oluşturan Çin ve Hindistan gibi ülkelerdeki nüfus planması uygulamaları göz önüne alındığında yaşlı nüfusun genel nüfusa oranının da artması beklenmektedir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2012 yılı sağlık istatistiklerine göre; Türkiye'de, her iki cinsiyet için doğumda ve 60 yaşından sonra beklenen yaşam süreleri 1990 yılında sırasıyla 65 ve 17 yıl iken; 2009 yılında sırasıyla 75 ve 20 yıla yükselmiştir (2).

2020 yılında önlenebilir görme kaybının önüne geçmek ve öngörülen görme kaybı prevalansının 1990 yılına oranla iki katına çıkmasını engellemek için, 1999 yılında DSÖ ve Uluslararası Körlüğü Önleme Derneği (IAPB; International Agency for Prevention of Blindness) tarafından 'VISION 2020: the Right to Sight' adında ortak bir girişim oluşturulmuştur. Bu girişimin nihai amacı ülkelerin ulusal sağlık sistemlerine sürdürülebilir, yüksek kaliteli ve herkesin eşit biçimde ulaşabileceği bir göz hastalıkları bakım sisteminin entegre edilmesidir (3).

Yirminci yüzyılın başlarında önlenebilir görme problemlerinin önde gelen sebepleri arasında, enfeksiyöz (Trahom, onkoserkiyazis) ve nütrisyonel (A vitamini eksikliği) etkenler ön plandayken; yüzyılın ikinci yarısında bu nedenleri ortadan

kaldırmak için gerçekleştirilen başarılı politikalar sayesinde önlenebilir ve tedavi edilebilir görme problemlerinde glokom, katarakt ve yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) gibi yaşa bağlı hastalıklar ön plana çıkmaya başlamıştır. 2002 ve 2006 yıllarında DSÖ tarafından yayımlanan istatistiklere göre her yaştaki körlüğün en sık nedeni kataraktır (Şekil 1 ve 2).

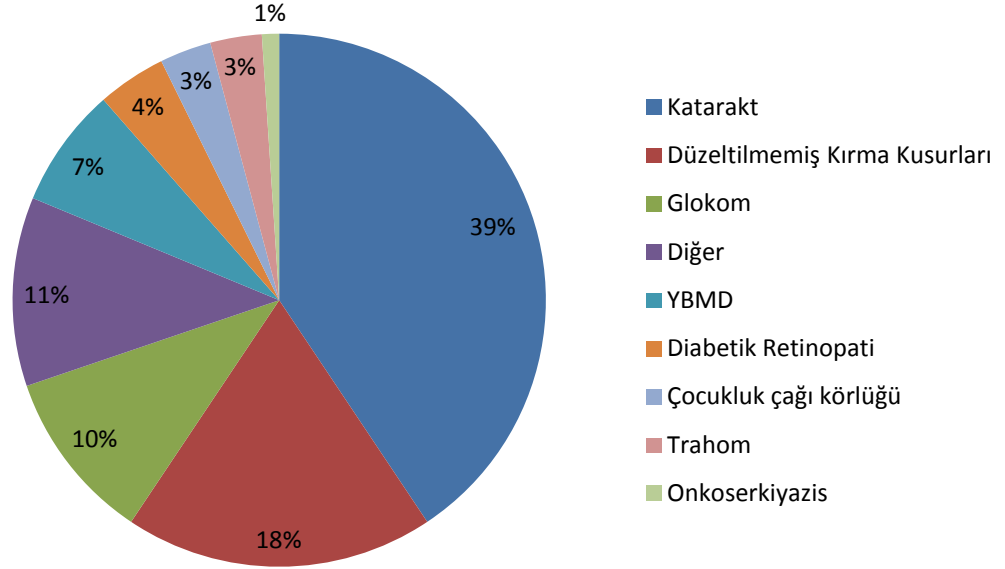


Şekil 1: 2002 yılı verilerine göre kırma kusurları dışında göz hastalıklarına bağlı körlüğün nedenleri

Günümüzde katarakt, glokom, diabetik retinopati, enfeksiyöz ve nutrisyonel nedenler için geliştirilen önleyici ve tedavi edici yaklaşımlar YBMD'ye oranla daha fazladır ve buna bağlı olarak gelişmiş ülkelerdeki körlüğün en sık nedeni YBMD'dir (4). Şu anda dünya genelinde yaklaşık 3 milyon kişinin YBMD'den etkilendiği bildirilmekte ve 2020 yılında bu rakamın iki katına çıkması öngörülmektedir (3).

Son yıllarda YBMD'nin prevalansını, risk faktörlerini, klinik gidişini ve önleyici/tedavi edici yaklaşımlarını araştıran çalışma sayısı artmış ve AREDS (Age Related Eye Disease Study), 'The Tromso Eye Study', EUREYE (The European Eye Study), 'The Beaver Dam Eye Study' gibi geniş kapsamlı çalışma grupları oluşturulmuştur. Bu çalışmalara dahil edilen hastalarla yapılan araştırmalarda hastalığın tedavisinde ve korunmada kullanılabilecek nutrisyonel, medikal ve cerrahi

yöntemlerin yanı sıra hastalığa yatkınlık yaratabilecek genetik nedenler de araştırılmaktadır.



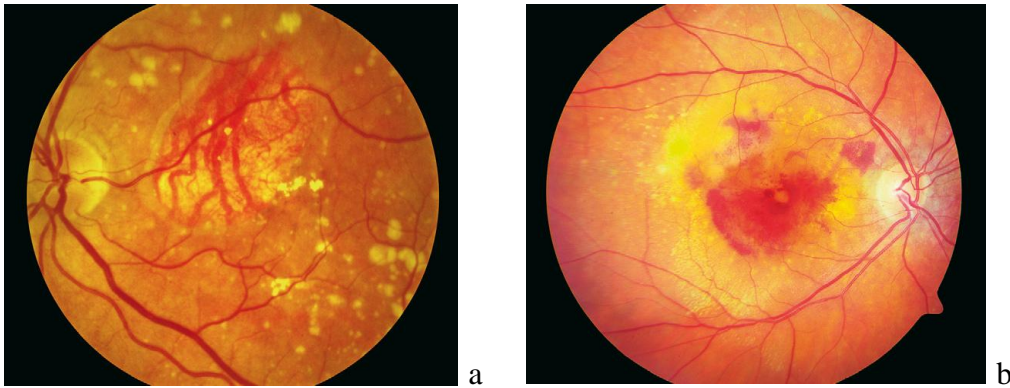
Şekil 2: 2006 yılı verilerine göre düzeltilmemiş kırma kusurları ve göz hastalıklarına bağlı körlüğün nedenleri

YBMD gibi klasik mendelyen kalıtım göstermeyen ve birçok sorumlu etkeni bulunan multifaktöriyel hastalıklarda hastalığı açıklayacak tek bir genetik neden saptamak oldukça zordur. Bu gibi durumlarda hastalığa yatkınlık yaratan polimorfizmleri saptamak da korunma, erken tanı ve tedavi açısından önemlidir. Bu çalışmadaki amacımız; i) İlk defa 2005 yılında YBMD ile direkt ilişkisi gösterilmiş olup tekrarlayan çalışmalarda bu ilişkiyi destekleyen bulguların elde edildiği *CFH* genindeki rs1061170 (Y402H) polimorfizminin ülkemiz popülasyonundaki durumunu; ii) YBMD'nin patofizyolojisinde önemli rolü olduğu gösterilen ve mevcut medikal tedavilerde hedef alınan *VEGF* geninin major düzenleyicisi olan *HIF1A* genindeki rs11549465 (P582S) ve rs11549467 (A588T) polimorfizmlerinin YBMD ile ilişkisini; ve iii) YBMD'ye yatkınlık yaratan bir allel varlığında da koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilen *SKIV2L* ve *MYRIP* genlerindeki, sırasıyla, rs429608 ve rs2679798 polimorfizmleri ile YBMD arasındaki ilişkiyi belirlemektir.

GENEL BİLGİLER

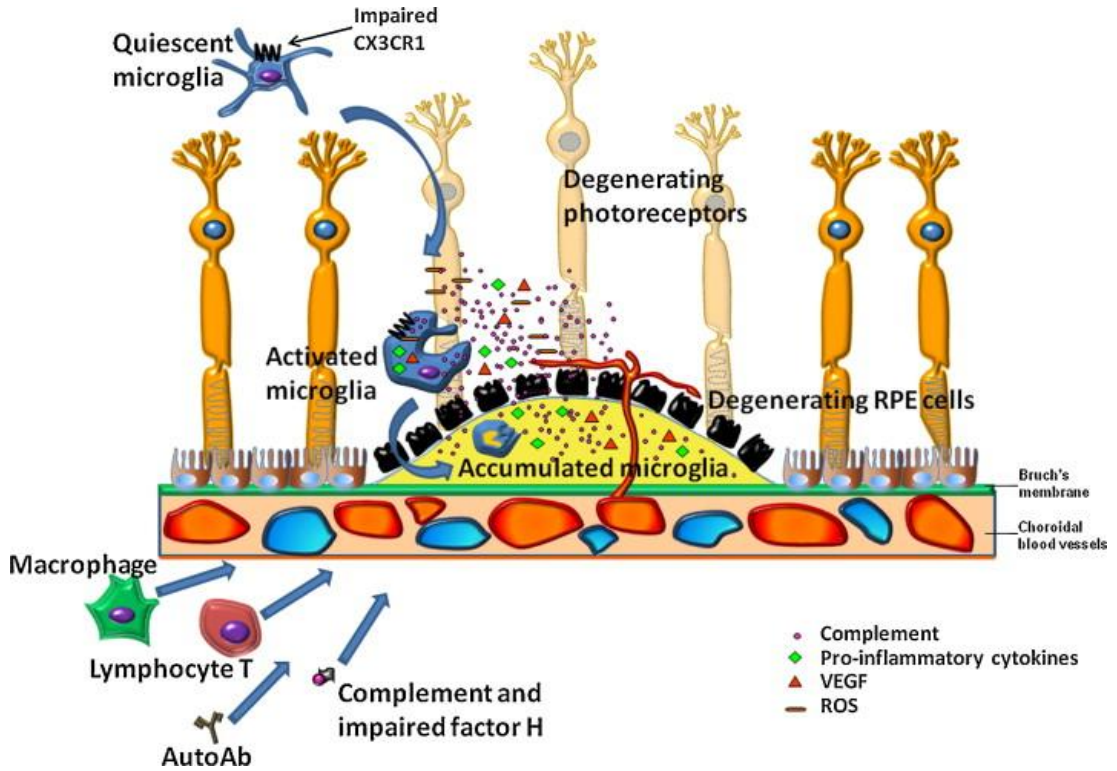
Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD, MIM: 603075), katarakt ile birlikte, özellikle gelişmiş ülkelerde, kalıcı görme kaybının en önemli nedenidir. Görülme sıklığı yaşla birlikte anlamlı oranda artış göstermektedir. Örneğin; 55-64 yaşları arası popülasyonun %0.2'sinde YBMD gözlenirken; 85 yaşından sonra popülasyonun %13'ünde gözlenmektedir (5). 2020 yılında 85 yaş ve üzerindeki popülasyonun yaklaşık %107 artacağı beklenirse YBMD prevalansının da önemli ölçüde artacağı öngörülebilir (1).

YBMD; retina pigment epitelindeki (RPE) pigment değişiklikleri ile birlikte sayı, boyut ve yerleşim yerine göre hastalığın şiddetini belirleyen 'drusen' adı verilen depozitlerin RPE altında birikmesi ile karakterize bir makula hastalığıdır (6). Erken, orta ve ileri evre YBMD olarak üçe ayrılır. Erken ve orta evre YBMD; drusen varlığı, sayısı ve boyutlarına göre birbirlerinden ayrılırlar. İleri evre YBMD de kendi içerisinde; RPE, fotoreseptör ve koryokapiller kaybı ile karakterize kuru tip (atrofik veya neovasküler olmayan) (Şekil 3a) ve nöral retinanın hasarlanması sonucu subretinal boşlukta anormal yeni damar oluşumu ile karakterize yaş tip (eksüdatif veya neovasküler) (Şekil 3b) olmak üzere iki fenotipe ayrılmaktadır (6,7). Olguların çoğunluğunda kuru tip görülmeyle birlikte klinik açıdan görme kayıplarının büyük çoğunluğundan yaş tip sorumludur.



Şekil 3: YBMD fundus fotoğrafları. **a)** Kuru Tip **b)** Yaş Tip

Yaşlanma ile birlikte RPE hücrelerinin de antioksidan kapasitesi azalır ve birikmeye başlayan reaktif oksijen ürünleri RPE hücrelerinin lizozomal membranlarını yıkıma uğratar. Bu yıkım sonucunda RPE’lerde retinoid son ürünü olan lipofusin birikmeye başlar. Lipofusin birikmesiyle hücre fonksiyonlarında azalma, dejenerasyon ve sonunda apoptoz meydana gelir ve bunun sonucunda jeografik atrofi oluşur. Neovasküler YBMD’de; biriken toksik ürünlerin RPE’de yırtık oluşturmasıyla subretinal boşluğa sıvı (eksuda, kan) kaçıışı olur. Bu sıvı kaçıışı inflamatuvar mediatörlerin bölgeye göçüne ve kronik bir enflamasyon sürecinin başlamasına neden olur. Aktive olan makrofajlar ve mikroglialardan salınan CCR2, CX3CR1 gibi kemokin ve IL-22, IL-17 gibi sitokinler hücre hasarının artışı, Bruch’s membranının degradasyonu, hipoksi, iskemi ve anjiogenezle sonuçlanır (8-11). Şekil 4’te YBMD’nin patofizyolojisi özetlenmiştir.



Şekil 4: YBMD'nin patofizyolojisi. *Elisa Buschini ve ark. (2011)*'den alınmıştır.

YBMD'NİN EPİDEMİYOLOJİSİ

Prevalans ve İnsidans

YBMD multifaktöriyel bir hastalık olduğu için prevalans hesaplama çalışmalarında da bu faktörlerdeki değişikliğe bağlı olarak çok farklı sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Ayrıca, yaş arttıkça hastalığın tipinde ve seyrinde meydana gelen değişiklikler de prevalans oranlarını değiştirmektedir. Buna bağlı olarak hastalığın farklı evreleri için ayrı prevalans hesaplamaları yapılmaktadır. Yaş dışında etnik köken, çalışma biçimi, tanı yöntemleri, evreleme sistemi, hastalık tipi, tedavi durumu da çalışmalarda prevalans farklılıklarını açıklayabilecek diğer etkenlerdir. Örneğin; EUREYE çalışmasında 65 yaşından büyük Avrupa popülasyonunda en az 1 gözdeki YBMD prevalansı %3.3 olarak bulunmuştur (12). Reykjavik çalışmasında ise 70-74 yaşları arasındaki olguların %1'inde yaş tip YBMD, %0.5'inde kuru tip YBMD gözlenmişken; 85 yaş ve üzeri olgularda oranlar sırasıyla %11.4 ve %7.6'ya yükselmiştir (13). Farklı çalışmalarda erken evre YBMD oranları 70-79 yaşları arasında %18.3 (Reykjavik), %8.4 (Blue Mountains Eye Study), %12.8 (Los Angeles Latino Study), %29.6 (Beaver Dam Eye Study); 80 yaşından sonra sırasıyla %31.2, %14.7, %27.1, %39.7 olarak bulunmuştur (13-15).

YBMD ile ilgili popülasyon çalışmaları genellikle kesitsel olduğu için insidans hesaplamaları da direkt prospektif çalışmalardan ziyade prevalans çalışmalarından öngörülmeye çalışılmaktadır. Blue Mountains çalışmasında 5 yıllık ileri evre YBMD (atrofik ve neovasküler) insidansı toplamda %1.1, ≤ 60 yaş için %0, 60-69 yaş için %0.6, 70-79 yaş için %2.4 ve ≥ 80 yaş için %5.4 olarak bulunurken; 5 yıllık erken evre YBMD insidansı toplamda %8.7, ≤ 60 yaş için %3.2, 60-69 yaş için %7.4, 70-79 yaş için %18.3 ve ≥ 80 yaş için %14.8 olarak bulunmuştur (14).

Risk Faktörleri

YBMD'deki risk faktörlerini genel olarak 'modifiye edilebilir' ve 'modifiye edilemeyen' olarak 2 grupta sınıflayabiliriz. Modifiye edilemeyen risk faktörleri olan "genetik", "yaş", "cinsiyet" ve "ırk" içerisinde YBMD'nin en belirleyici risk faktörü

ileri yaştır. Yaş ilerledikçe YBMD gelişme riski de artmaktadır. Bazı çalışmalarda kadınlarda YBMD gelişim riskinin erkeklere göre daha fazla olduğu gözlenmiştir (12,16). Bu durum kadınların beklenen yaşam sürelerinin uzun olmasına, menapozdan sonra östrojenin koruyucu etkisinin ortadan kalkmasına bağlanabilir (17). Siyah ırkta melanin pigmentinin daha yoğun olarak bulunmasının koruyucu etkisinin doğal bir sonucu olarak beyaz ırkta ileri evre YBMD gelişiminin daha fazla olabileceğine dair yayınlar bulunmaktadır (18).

Modifiye edilebilir risk faktörleri arasında YBMD ile arasında bağımsız ilişki gösterilen en büyük risk faktörü sigara kullanımınıdır. Birçok çalışmada olgular yaş ve cinsiyet açısından eşleştirildiğinde sigara kullanımı ile YBMD gelişiminin 1.5-2 kat arttığı gösterilmiştir (19-25). Sigara bu etkisini, YBMD'nin patogeneğinde rol alan oksidatif stresi arttırarak; koroidal kan akımını azaltıp iskemi, hipoksi ve mikroinfarktlara yol açarak ve retinayı oksidatif hasardan koruyan makular pigment içeriğini azaltarak göstermektedir (19). Sigaraya ek olarak hipertansiyon, vücut kitle indeksi (VKİ), beslenme özellikleri, egzersiz, kan lipit düzeyleri ve güneş ışığına maruziyetin de YBMD gelişimini etkilediğine yönelik çeşitli yayınlar bulunmaktadır (25-29).

Bu faktörlere ek olarak kırma kusuru veya katarakt bulunması, katarakt cerrahisi geçirmiş olmak, iris rengi gibi oküler faktörler de YBMD gelişimi açısından önemli faktörlerdir (7,25,30).

YBMD TANI ve TEDAVİSİ

Erken evre YBMD'ye sahip hastalar genelde asemptomatiktirler ve rutin göz muayenelerinde RPE altında drusen, RPE'de hiper/hipopigmente alanlar görülmesi ile YBMD tanısı konur. İleri evre YBMD'de hastalar ani görme kaybı, metamorfopsi, skotom tarifler. Fundus muayenesinde makulada drusen, neovaskülarizasyon veya atrofi görülür. Hastalığın derecesini, prognozunu, tedaviye

yanıtını belirlemek için FFA (fundus floresein anjiyografi), optik koherens tomografi (OCT), fundus otofloresans görüntüleme gibi radyolojik yöntemler kullanılmaktadır.

YBMD'nin henüz kesin bir tedavisi bulunmamaktadır. Kuru tip YBMD'de hastalığın progresyonunu engelleyecek semptomatik tedaviler dışında medikal bir tedavi seçeneği bulunmamaktadır. Yaş tip YBMD'de ise 1980'lerde lazer fotokoagülasyon, 1990'larda fotodinamik tedavi kullanılmaya başlanmış fakat Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü'nün (VEGF) koroidal neovaskülarizasyondaki rolünün anlaşılmasıyla birlikte VEGF-inhibe edici ajanlar günümüzde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. İntravitreal enjeksiyon şeklinde uygulanan bu ajanlar pegaptanib, ranibizumab, bevasizumab ve son yıllarda geliştirilen aflibersept'tir (7). Aylık olarak uygulanan ranibizumab veya bevasizumab tedavisi ile görmede iyileşme olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (31-33). VEGF inhibitörlerine ek olarak kronik inflamasyon sürecini inhibe etmek için kortikosteroid tedavileri de kullanılabilir.

Yapılan çalışmalarda vitamin C ve E, çinko gibi antioksidan vitamin ve mineraller, lutein ve zeaksantin gibi makuler karotenoidler ve omega-3 gibi yağ asitleri açısından zengin beslenmenin YBMD riskini azalttığı gösterilmiştir (34-36).

YBMD ve GENETİK

YBMD gibi multifaktöriyel olan ve patofizyolojisinde birden çok mekanizmanın rol aldığı kronik hastalıklar genetik açıdan da oldukça heterojen bir yapıya sahiptir. Bu tarz hastalıklarda hastalığa neden olacak tek bir gen düzeyinde mutasyon saptanmasından ziyade hastalığın ortaya çıkmasından sorumlu yollarla ilgili genlerdeki polimorfizmlerin etkileri bulunmaktadır. YBMD'nin tedavisinde kullanılacak çeşitli tedavi yöntemleri ve destek tedavilerini araştıran AREDS gibi çalışma gruplarında oluşturulan kohortlarla yapılan analizlerde incelenen kromozom lokuslarındaki birçok gendeki polimorfizmin direkt veya indirekt olarak YBMD gelişimine etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu genlerden YBMD ile direkt olarak ilişki kurulabilen ve istatistiksel olarak da anlamlı sonuçlara ulaşılanlar *CFH* ve *ARMS2* genleridir. *CFH* ve *ARMS2* genlerinin YBMD ile ilişkilerinin araştırıldığı çalışmalara

ek olarak YBMD'nin patofizyolojisinden sorumlu olan diğer yolaklardaki genler de incelenmektedir. Tablo 1'de YBMD ile ilişkili olduğu gösterilen genlerden bazıları ve muhtemel etki mekanizmaları gösterilmiştir. Son yıllarda mitokondriyal DNA'daki polimorfizmlerin de YBMD ile ilişkili olabileceğine yönelik yayınlar bulunmaktadır (37-40).

VEGFA tarafından kodlanan VEGF proteini, kanser dahil olmak üzere, patofizyolojisinde anjiogenezin primer olarak rol aldığı birçok hastalıkta etkin rol oynamaktadır. Neovasküler YBMD'li hastaların gözlerinden alınan örneklerde de VEGF'ye rastlanması üzerine *VEGFA* genindeki polimorfizmlerin VEGF fonksiyonunu etkileyip etkilemediğini araştıran çalışmalar yapılmış ve intronik, 3' UTR, 5'UTR bölgelerde yer alan bazı polimorfizmlerin YBMD ile ilişkili olabileceğine yönelik çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (41,42). Bu bulgular YBMD tedavisinde kullanılan medikal ajanların hedeflediği molekül olan VEGF'nin regülasyonunda direkt ve/veya indirekt yolla meydana gelecek değişikliklerin hem hastalık sürecini hem de tedaviye yanıtı önemli oranda etkileyebileceğini desteklemektedir.

Tablo 1: YBMD'de rolü olan genler, lokusları ve etki mekanizmaları

Genler	Lokus	Mekanizma
<i>ARMS2/HTRA1 PLEKHA1</i>	10q26	TGF- β inhibitörü
<i>CFH, CFHR</i>	1q23.3-q31.1	Alternatif Kompleman Yolağı
<i>C2, CFB</i>	6p21.3	Alternatif Kompleman Yolağı
<i>CX3CR1</i>	3p21.3	İmmünregülasyon
<i>TLR3</i>	4q35	Hücrel immünite
<i>APOE</i>	19q13.2	Lipit transportu ve metabolizması
<i>C3</i>	19p13	Kompleman Yolağı
<i>VEGFA</i>	6p21.1	Anjiogenezis
<i>ERCC6</i>	10q11	DNA Onarımı
<i>RORA</i>	15q	<i>ARMS2</i> 'ye benzer
<i>COL10A1, COL8A1</i>	6q22.1,3q12.1	Kollajen matriks yolağı
<i>TIMP3</i>	22q12.3	Ekstraselüler matriks yolağı

YBMD'ye yatkınlık yaratan polimorfizmlere sahip bireylerde hastalığın ortaya çıkmaması sonucunda bu etkileri potansiyelize edebilecek koruyucu faktörleri araştırmak amacıyla çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalarda tek başlarına YBMD'ye karşı koruyucu etkiye sahip polimorfizmlerin yanı sıra, YBMD'ye yatkınlık yaratan mekanizmaların etkilerini potansiyelize ederek dolaylı bir koruyucu etki gösterebilecek polimorfizmler de saptanmıştır (43-45). Bu polimorfizmlerin hangi mekanizmalarla koruyucu etkiye sahip oldukları henüz net olarak bilinmemekle birlikte polimorfizm saptanan genlerin fonksiyonları bu etkileri destekler niteliktedir. Yapılan istatistiksel hesaplamalara göre bu polimorfizmlerden bazıları YBMD'ye yatkınlık yaratan riskli bir allel varlığında da koruyucu etkilerini devam ettirmektedirler (45). Tablo 2'de YBMD'ye karşı koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilen bazı polimorfizmler gösterilmiştir.

Tablo 2: YBMD'ye karşı koruyucu etkiye sahip bazı polimorfizmler

Genler	Lokus	Polimorfizm
<i>SKIV2L</i>	6p21.33	rs429608
<i>MYRIP</i>	3p22.1	rs2679798, rs1344189
<i>BF</i>	6p21.33	rs641153 (R32Q)
<i>C2</i>	6p21.33	rs550605

CFH (Complement Factor H)

Hem baz dizilimi hem de fonksiyonel açıdan birbirleriyle benzerlikler gösteren *CFHR1-5* genleriyle birlikte ardışık olarak 1q32-q32.1 bölgesinde yer alan *CFH* geni; alternatif kompleman yolağında yer alan ve hücre lizisinde etkin rol oynayan C5b-9 kompleksi oluşumunun ilk basamağı olan, C3'ün C3a ve C3b'ye aktive olmasını ve oluşmuş olan C3b'yi inhibe ederek alternatif kompleman yolağının regülasyonundan sorumludur (44,46,47).

YBMD'li hastalardan alınan örnekler incelendiğinde Bruch's membranında, drusenlerde, C5b-9 kompleksi gibi kompleman kaskadının birçok komponentinin yer aldığı gösterilmiştir (46,48,49).

2005 yılında *Klein ve ark.* ve *Edwards ve ark.* tarafından *CFH* geninin 9. ekzonundaki rs1061170 (Y402H) polimorfizminin YBMD ile ilişkili olduğunun gösterilmesinden sonra yapılan birçok çalışmada bu polimorfizm ile özellikle yaş tip YBMD arasında kuvvetli bir ilişki olduğuna yönelik sonuçlara ulaşılmıştır (46,50-54). *CFH* geninin heparin ve C-reaktif protein'e (CRP) bağlanma bölgesinde meydana gelen bu tirozin→histidin değişimi sonucunda inflamasyonun derecesinde artma meydana geldiği ve bu şekilde YBMD'nin patogeneze katkı yaptığı düşünülmektedir (45,50). YBMD'li hastaların serumlarında CRP artışının gösterilmesi bu hipotezi destekleyen bir bulgudur (55).

Bora ve ark.'nin fare modelinde lazer kullanarak koroidal neovaskülarizasyon (KNV) oluşturmaya çalıştıkları çalışmalarında C3^{-/-} ve C5^{-/-} farelerde KNV'nin gelişmediği gözlenmiştir. Yine aynı çalışmalarda kompleman sisteminin klasik yolağı ve lektin yolağındaki defektlerin KNV gelişimi üzerine etkisinin olmadığı gösterilmesi, alternatif kompleman yolağının yaş tip YBMD'deki rolünü destekleyen bir bulgudur (56,57).

Kopplin ve ark. tarafından yapılan çalışmada Y402H varyantının YBMD ile ilişkisinin yanı sıra aynı gendeki intronik rs1329428 polimorfizminin koruyucu etkisi olduğuna yönelik veriler de elde edilmiştir (45). Türk populasyonunda YBMD etyolojisine yönelik yapılan bir çalışmada da YBMD ile *CFH* ve *ARMS2* genlerinin polimorfizimleri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir (58).

Neovasküler YBMD tedavisinde yaygın olarak kullanılan anti-VEGF ajanların yararlılığını etkileyen polimorfizmler saptanmıştır. Bu polimorfizmler arasında tedaviye cevabı en çok etkileyen polimorfizmin *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizmi olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda en az 1 adet C alleleline sahip hastaların tedaviye yanıtlarının düşük olduğu ve tekrarlayan anti-VEGF enjeksiyonlarına ihtiyaç duydukları gösterilmiştir (59-61). Bu nedenle; rs1061170 polimorfizminin YBMD hastalarındaki dağılımını belirlemek bu hastaların tedavi düzenlemeleri açısından da yarar sağlayacaktır.

HIF1A (Hypoxia-Inducible Factor-1 α)

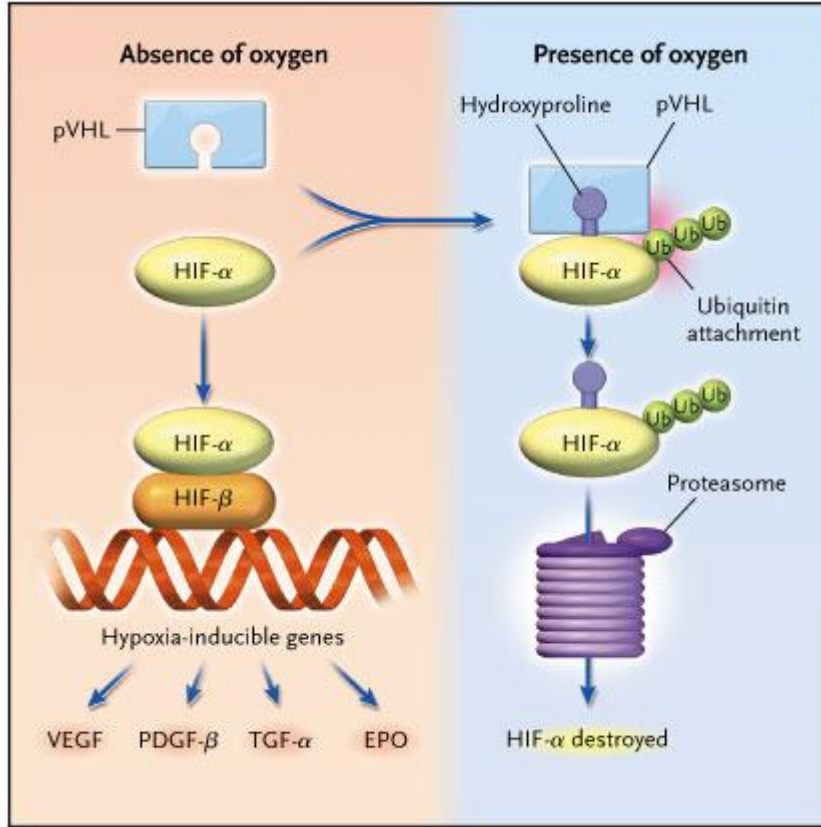
Hücreler birçok yaşamsal reaksiyonda gerekli olan ATP üretimi için büyük oranda oksijene gereksinim duyarlar ve oksijen gereksinimi arttığında veya hipoksi durumunda birçok farklı mekanizmayla bu gereksinimi karşılamaya çalışırlar. Hipoksinin; kanser, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıkların yanı sıra YBMD'nin de patofizyolojisinde direkt veya indirekt olarak rol aldığı bilinmektedir (62). Hipoksiye karşı geliştirilen hücresel ve sistemik cevaplarda en önemli rolün HIF-1'e ait olduğu gösterilmiştir (63). Şekil 5'te HIF-1'in rol aldığı metabolik süreçler gösterilmiştir.



Şekil 5: HIF-1'in rol aldığı metabolik süreçler

HIF-1; 120 kDa'lık α ve 92 kDa'lık β alt birimlerinden oluşan dimerik bir proteindir (63). Bu alt birimlerden sadece α alt birimi HIF-1'e özgüdür. α ve β alt birimleri de kendi içerisinde 3 ayrı alt birimden oluşmaktadır: HIF-1 α /1 β , HIF-2 α /2 β ve HIF-3 α /3 β . Bu dimerler içerisinde en çok çalışılan HIF-1 α /1 β dimeridir. HIF-1 β oksijen konsantrasyonundan etkilenmez. HIF-1 α ise hipoksi durumunda stabilize iken non-hipoksik koşullar altında proteazomlar tarafından hızlıca degrade edilmektedir (63). Bu degradasyon; farklı bölgelerdeki (göz, beyin, pankreas vb.)

hemanjioblastomlarla karakterize herediter bir kanser türü olan von-Hippel Lindau Sendromu'ndan sorumlu, tümör baskılayıcı fonksiyona sahip, *VHL* geninin ürünü olan VHL proteini (pVHL) aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 6) (64,65). *VHL* genindeki delesyonlar sonucu fonksiyon kaybı meydana gelmesinin HIF-1 α 'nın stabilizasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (66).



Şekil 6: HIF-1 α 'nın VHL proteini aracılığıyla degradasyonu. *George DJ ve ark. (2003)*'ten alınmıştır.

HIF-1 α proteini 14q23.2'de lokalize 15 ekzondan oluşan *HIF1A* geni tarafından kodlanmaktadır (67). Hipoksik koşullar meydana geldiğinde degradasyona uğramayan HIF-1 α , HIF-1 β ile dimerize olup HIF-1'i oluşturur (Bkz. Şekil 5). HIF-1 daha sonra hedef genlerindeki HIF-1 bağlayan DNA bölgesine bağlanarak ilgili genin ekspresyonunda değişikliğe yol açar (68). Hipoksi durumunda aktive olan ve HIF-1 proteinini bağlayıcı bölgeye sahip genlerden bazıları Tablo 3'te gösterilmiştir.

Retina insan vücudunda metabolik olarak en aktif dokuların başında gelir. Bu nedenle oksijen konsantrasyonundaki değişimlere karşı oldukça hassastır. Kronik

hipoksi durumunda RPE hücrelerinden VEGF gibi birçok anjiogenik büyüme faktörünün salgılandığı gösterilmiştir (69). Hipoksinin etkin rol oynadığı göz hastalıklarında *HIF1A* ekspresyonunun arttığını gösteren bulgular elde edilmiştir (62,70). Retinal anjiomatöz proliferasyona ve koroidal neovaskülarizasyona sahip gözlerden alınan örneklerle yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda, neovasküler membranlarda HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonu varlığı gösterilmiştir (71,72).

Tablo 3: HIF-1 hedef genlerinden bazıları

Gen	Yolak
<i>VEGF</i>	Anjiogenez
<i>EPO</i>	Eritrosit metabolizması
<i>GLUT1, GLUT3</i>	Glukoz transportu
<i>HK1, HK2</i>	Glukoz metabolizması
<i>IGF2, IGFBP3, IGFBP1,</i>	Hücre proliferasyonu
<i>HMOX1</i>	Demir metabolizması
<i>EDN1, NOS2</i>	Vasküler endotelial cevap

HIF-1 α ; sistemik hipoksi durumunda aktive olan *EPO* geni ile bölgesel hipoksi durumunda aktive olan *VEGF* geninin major düzenleyicisidir (73). Birçok çalışmada, HIF-1 α 'nın transaktivasyon kapasitesini arttırdıkları gösterilen rs11549465 (C1772T, P582S) ve rs11549467 (G1790A, A588T) polimorfizmleri ile patofizyolojisinde kronik hipoksi ve neovaskülarizasyonun önemli rol oynadığı hastalıklar (örn; kanser, myokardiyal iskemi) arasındaki ilişki araştırılmıştır (74-77). Bu çalışmaların bazılarında bu polimorfizmlerle hastalıklar arasında bir ilişki saptanmışken diğerlerinde anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır. Bunun nedeni bu polimorfizmlerin, dokular arasında farklı fonksiyonel etkiye ve ekspresyon profiline sahip olmaları veya popülasyonlar arası dağılımlarında farklılıklar bulunması olabilir.

Son yıllarda, hipoksinin patofizyolojisinde etkin rol oynadığı birçok hastalıkta tedavi hedefi olarak HIF-1 α üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (78). siRNA kullanılarak *HIF1A* ekspresyonunun baskılandığı bir çalışmada aynı zamanda *VEGF* ekspresyonunda da azalma gözlenmiştir (79). Bu nedenle *HIF1A*, yaş tip YBMD'deki rolü iyi bilinen ve tedavi yöntemlerinde hedef alınan *VEGF* geninin major düzenleyicisi olması nedeniyle; hem YBMD'nin patofizyolojisinin

aydınlatılmasında hem de gelecekteki tedavi seçeneklerinin belirlenmesinde önemli role sahip olabilir.

SKIV2L (Superkiller Viralicydic Activity 2, S. Cerevisiae Homolog-Like)

SKIV2L geni 6p21.33 bölgesinde lokalize olup, *Saccharomyces cerevisiae*'den izole edilen antiviral protein Ski2p'yi kodlayan *Ski2* geninin insanlardaki ortoloğudur (80). *S. cerevisiae*'deki *Ski2* geninde intron bulunmaz. *SKIV2L* geni ise; 4 kb uzunluğunda transkript oluşturan ve 1246 aminoasit kodlayan 28 ekzona ayrılmıştır (80,81).

Poly(A) kuyruklarının kısaltılması ve mRNA'nın "decapping" işlemi hücrel RNA'nın yıkımında ve böylece gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli bir basamaktır. Mayalardaki Ski2p'nin de poly(A)⁻ RNA moleküllerinin translasyonel regülasyonu ile antiviral aktivitelere önemli rolü olan bir protein olduğu bilinmektedir (82). İnsanlardaki *SKIV2L* geninin de 'head-to-head' konfigürasyonda olduğu *RDBP* geniyle birlikte benzer fonksiyonel özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir (81). *Dangel ve ark.* tarafından *SKIV2L* proteininin yapısı incelenmiş ve; i) ATPaz ve RNA helikaz aktivitesine, ii) Protein dimerizasyonu için lösin zincirlerine, ve iii) İntegrin ve hücre adezyon molekülleri için ligand görevi gören RGD motifine sahip olduğu gösterilmiştir (80). *Qu ve ark.*, *SKIV2L*'nin hemen hemen bütün dokularda eksprese edildiğini ve hücre içinde hem sitoplazma içinde ribozomlarda (özellikle 40S alt biriminde) ve polizomlarda, hem de nükleolusda lokalize olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, aynı çalışmada, bu genin mRNA degradasyonu aracılığıyla gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rolü olabileceği de öne sürülmüştür (82).

SKIV2L geni, YBMD'de rolü olduğu bilinen kompleman yolağına ait C3 konvertazları (C2, faktör B, C4A ve C4B) kodlayan birçok genle birlikte HLA Class III bölgesi içerisinde ardışık olarak yer alır (80). Son yıllarda HLA Class III bölgesinde yer alan kompleman yolağı genlerindeki polimorfik varyantların YBMD üzerindeki etkilerinin araştırılmasının artmasıyla birlikte bu genlerin yakın

komşuluğunda yer alan genler de araştırılmaya başlanmıştır (43-45, 83). Bu bölgede yer alan *BF* ve *C2* genlerindeki polimorfizmlerin YBMD'yle ilişkili olduğu gözlenirken; *SKIV2L*'nin, RNA biyogenezinde rol aldığı ve antiviral kapasiteye sahip olduğunun düşünülmesi nedeniyle YBMD'ye karşı koruyucu bir etkisi olabileceği öne sürülmüştür. *McKay* ve *ark.* tarafından yapılan çalışmada *SKIV2L*'nin kodlayıcı bölgesinde yer alan rs438999 (R151Q) polimorfizminin, YBMD'ye karşı koruyucu bir etkisinin olduğu gösterilmiş fakat; bu etkinin *BF* geninde yer alan rs641153 (R32Q) polimorfizminden bağımsız olup olmadığı saptanamamıştır (44). Yine bu bölgede yer alan ve *SKIV2L*'nin de aralarında bulunduğu 4 gendeki polimorfizmlerin, neovasküler YBMD'ye benzer özelliklere sahip Polipoidal Koroidal Vaskülopati (PKV) ile ilişkilerinin araştırıldığı bir çalışmada *RDBP*'deki intronik rs3880457 ile *SKIV2L*'nin 3' translyasyona uğramayan bölgesinde (3' UTR) yer alan rs2075702 polimorfizmlerinin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (84).

Kopplin ve *ark.* tarafından yapılan bir tüm genom ilişkilendirme çalışmasında *SKIV2L* geninin intronik bölgesinde yer alan rs429608 polimorfizminin YBMD için koruyucu etkisi olduğu ve bu etkinin YBMD'ye yatkınlık yaratan polimorfizmlerin varlığında da görülmeye devam ettiği gösterilmiştir (45). Bu bağlamda *SKIV2L* genindeki polimorfizmlerle YBMD arasındaki ilişkiyi belirlemek riskli bir allel taşıyan bireylerdeki hastalık gelişimini öngörme açısından değerli olacaktır.

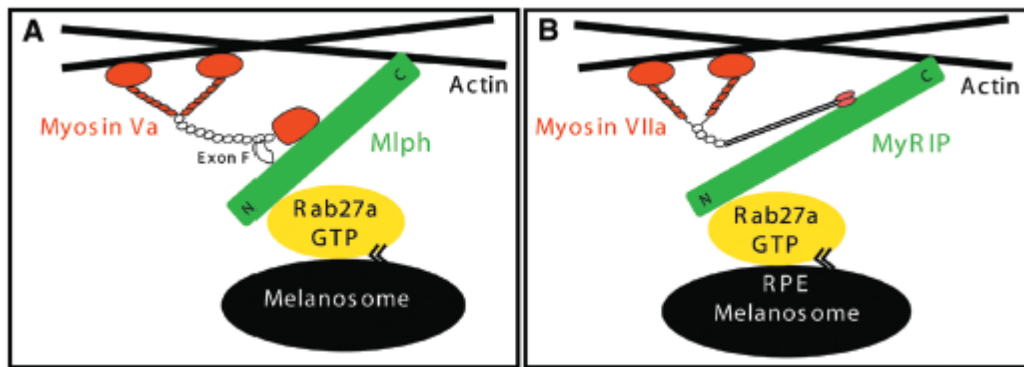
MYRIP (Myosin VIIa- and –Rab-Interacting Protein)

Işığı absorbe etme özelliği bulunan melanin pigmenti organizmada melanozomlar içerisinde bulunmaktadır. Melaninler deride melanositler tarafından, gözde ise RPE tarafından sentezlenmektedirler. Melanozomlar olgunlaştıkları zaman uzun menzilli, çift yönlü, mikrotübül aracılı yer değiştirme ile hücrenin periferine transport edilirler; sonrasında kısa menzilli, lokal hareketlerle de aktin filamanlarına aktarılırlar. Bu yer değiştirme işlemi deride Rab27a, melanofilin ve myozin Va tarafından oluşturulan bir kompleks tarafından kontrol edilirken, retina pigment epitelinde bu kompleksi Rab27a, MyRIP (ekzofilin) ve myozin VIIa oluşturmaktadır (85). Bu üç bileşenden herhangi birinde meydana gelen fonksiyonel ve/veya yapısal

bozuklukların farelerde ve insanlarda görme problemlerine yol açtıkları bildirilmiştir (85,86).

Rab27a; hedef moleküllerine hem direkt hem de indirekt olarak bağlanıp, ökaryotik hücrelerde hücre içi membran alışverişini kontrol ettiği düşünülen Rab protein ailesinin bir alt üyesidir (87). Rab27a; derideki *wild-type* melanositlerde, olgun melanozomların yüzeyinde bulunur. GTP'ye bağlanıp aktive olduktan sonra melanofilinle bağlanır ve melanofilini melanozom yüzeyine stabilize eder. Daha sonra melanofilin, myozin Va'ya tutunur ve myozin Va'nın motor birimi aracılığıyla melanozom-aktin bağlantısı oluşturulup melanozomların dendrit uzantılarına göç hareketi sağlanır (88).

Retinada, melanozomların retina pigment epitelinin apikal kısımlarına lokalize olup fotoreseptör disklerinin RPE hücreleri tarafından fagosite edilebilmesi için myozin VIIa'ya ihtiyaç vardır (89). Rab27a ile myozin VIIa arasındaki bağlantıyı ise melanofilinin homoloğu olan MyRIP proteini sağlar (87). Melanofilin ve MyRIP'in "aracı protein" olarak melanozom-aktin bağlantısını sağlamalarının yanı sıra her iki proteinin de C-terminal bölgelerinin yakınında aktine bağlanan bölümlerinin olduğu düşünülmektedir (87,90). Rab27a-Myozin Va/VIIa-Melanofilin/MyRIP arasındaki ilişkinin şematik gösterimi Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7: Rab27a-Myozin Va/VIIa-Melanofilin/MyRIP arasındaki ilişki. *Seabra and Coudrier (2004)*'ten alınmıştır.

Melanozomların yer değiştirme dinamiğinde meydana gelecek problemler RPE hücrelerinin fagositik ve otofajik süreçlerinde de bozulmaya yol açacak ve ışığa maruziyet sonucu açığa çıkan reaktif oksijen ürünlerinin temizlenmesi de

aksayacaktır. Melanozom transportundan sorumlu bu komplekste yer alan myozin VIIa'yı kodlayan *MYO7A* genindeki mutasyonların konjenital sağırlık ve retinitis pigmentosa ile karakterize Usher Sendromu Tip B (OMIM 276900) hastalığına; *RAB27A*'yı kodlayan *RAB27A* genindeki mutasyonların da albinizm ve immünyetmezlik ile karakterize Griscelli Sendromu'na (OMIM 607624) yol aıtıkları bilinmektedir.

Kopplin ve ark. tarafından yapılan çalışmada *MYRIP* genindeki bazı intronik polimorfizmlerin (rs2679798, rs11129874, rs1344189) YBMD'ye karşı koruyucu etkiye sahip olduğuna yönelik sonuçlara ulaşılmıştır (45). Bu genin melanozom transportundaki rolü de göz önünde bulundurulursa bu gendeki polimorfizmlerin özellikle kuru tip YBMD ile ilişkili olabileceği düşünölmektedir. *SKIV2L* genine benzer şekilde bu gendeki polimorfizmlerin de YBMD ile ilişkisinin belirlenmesi hastalık gelişimini öngörme açısından yararlı olacaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göz Hastalıkları Polikliniği'nde takip altında olan ve çalışma süresinde yeni tanı alan toplam 87 YBMD'li olgu (Hasta Grubu) ve 80 sağlıklı birey (Kontrol Grubu) çalışmaya dahil edildi.

Hasta grubunda rutin poliklinik muayenesi sonucu, en az bir gözünde YBMD tespit edilen 87 olgu çalışmaya alındı. Bu gruptaki hastaların seçiminde şu kriterlere uyuldu:

1. Biyomikroskopla yapılan göz dibi muayenesinde, incelenen gözde YBMD'nin bulunması,
2. Sistemik bir hastalığın (Diabetes mellitus, hipertansiyon vb) bulunmaması,
3. Glokom olmaması,
4. YBMD dışında retinal ya da makuler göz hastalığının bulunmaması,
5. Anjioid streak, yoğun inflamasyon, oküler travma gibi koroid neovaskülarizasyonuna neden olabilecek durumların bulunmaması,
6. >6 D üstü myopi olmaması,
7. Gönüllülerin 55 yaş ve üzerinde olması.
8. Rutin oftalmolojik muayeneyi engelleyecek düzeyde ortam opasitelerinin olmaması (Yoğun katarakt, vitreus hemorajisi, korneal opasite ve skar).

Kontrol grubunda ise Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göz Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran, 80 sağlıklı birey çalışmaya dahil edildi. Bu gruptaki hastaların seçiminde şu kriterlere uyuldu:

1. Biyomikroskopla yapılan göz dibi muayenesinde, her iki gözde de YBMD'ye ait bulguların bulunmaması,
2. Sistemik bir hastalığın (Diabetes mellitus, hipertansiyon vb) bulunmaması,
3. Glokom olmaması,
4. Göz dibi muayenesinde retinal veya makuler hastalıkların bulunmaması,
5. Anjioid streak, yoğun inflamasyon, oküler travma gibi koroid neovaskülarizasyonuna neden olabilecek durumların bulunmaması,

6. >6 D üstü myopi olmaması,
7. Gönüllülerin 55 yaş ve üzerinde olması.
8. Rutin oftalmolojik muayeneyi engelleyecek düzeyde ortam opasitelerinin olmaması (Yoğun katarakt, vitreus hemorajisi, korneal opasite ve skar).

Tüm olguların sosyodemografik verileri, hastalık öyküleri ve iris renkleri kaydedildi, ayrıntılı oftalmolojik muayeneleri yapıp fundus fotoğrafları alındı ve AREDS evreleme sistemine (4) göre hastalıkları evrelendirildikten sonra;

1. Her iki gruba ait bireylerden, genomik DNA izolasyonunda kullanılmak üzere EDTA'lı tüplere 2-5 ml periferik kan örnekleri alındı.
2. İzole edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık değerleri belirlendi.
3. İncelenecek gen bölgelerini kapsayacak özgün primer çiftleri kullanılarak ilgili gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltıldı.
4. PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek PCR işleminin kalitatif kontrolü yapıldı.
5. PCR ürünleri saflaştırıldıktan sonra ilgili bölgenin analizi için dizi analizi işlemleri uygulandı.

Bu çalışma için, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alındı. Tüm katılımcılara uygulamaların ayrıntılı açıklamalarını içeren bilgilendirilmiş gönüllü olur formu okutularak, yazılı izinleri alındı.

Periferik Kan Örneklerinden Genomik DNA İzolasyonu

Periferik kan örneklerinden genomik DNA izolasyonları ticari kit (Quickgene DNA Whole Blood Kit S, Fujifilm) kullanılarak otomatize nükleik asit izolasyon cihazında (Fujifilm Nucleic Acid Isolation System, Quickgene-810, Fujifilm) gerçekleştirildi. DNA izolasyonu için uygulanan basamaklar, aşağıda maddeler halinde verilmiştir:

1. EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden 200µl alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüplerine aktarıldı.
2. 200µl'lik örneklere, kitle birlikte sağlanan 250µl lizis tamponu (Lyzis Buffer; LDB) ve 30µl Proteaz (EDB) eklenerek, maksimum hızda 10-15 sn vortekslendi (pulse-vorteks). Örnekler 56 °C'de 2 dk inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrası örneklere 250 µl >%99 etanol eklenerek maksimum hızda 10-15 sn vortekslendi (pulse vorteks). Kısa bir santrifüj işlemi yapıldı.
4. Lizatlar, kitle birlikte sağlanan kartuşlara aktarıldı, kartuşlar otomatize genomik materyal izolasyon cihazına yerleştirildi ve "DNA WHOLE BLOOD" modu seçilerek DNA izolasyonu gerçekleştirildi.
5. DNA izolasyonunda kullanılmak üzere cihazda bulunan ilgili tüplere 26 ml/8 örnek "Yıkama tamponu" ve 8 ml/8 örnek "Elüsyon Tamponu" eklendi.

Genomik DNA örneklerinin konsantrasyonlarının ve saflık değerlerinin belirlenmesi

Hasta ve kontrol gruplarından alınan periferik kanlardan izole edilen genomik DNA örneklerinin konsantrasyonları ve saflık değerleri, spektrofotometrik yöntemle (NanoDrop 2000c, ThermoScientific) belirlendi. Konsantrasyon ölçümleri, spektrofotometrenin dsDNA programında gerçekleştirildi ve her örneğin "konsantrasyon" ve "A260/280" değerleri kaydedildi (Bkz. EK 1).

PCR yöntemi ile ilgili gen bölgelerinin çoğaltılması

Özgün primerler tasarlanarak (Tablo 4), incelenecek gen bölgeleri PCR yöntemi ile çoğaltıldı. PCR için kullanılan bileşenler ve her bir primer çifti için reaksiyon koşulları Tablo 5 ve 6'da gösterilmiştir.

Tablo 4: İlgili gen bölgelerinin çoğaltılmasında kullanılan primer çiftleri ve ürün büyüklükleri

Gen (Polimorfizm)	Ürün Büyüklüğü (bç)	Primer Çifti
CFH (rs1061170)	240 bç	F-5' TCATTGTTATGGTCCTTAGGAAA 3' R-5' GAAAGACATGAACATGCTAGGA 3'
HIF1A (rs11549465 -rs11549467)	438 bç	F-5' GGACACAGATTTAGACTTGGAG 3' R-5' TACCTTTGACTCAAAGCGAC 3'
SKIV2L (rs429608)	290 bç	F-5' CCTTCGGTGAGAGATGGACACTC 3' R-5' GGAATAAGGGAGACGCTCAACT 3'
MYRIP (rs2679798)	437 bç	F-5' AGCAGACCAGGTAAGAAAGCTGT 3' R-5' TCTCCAACACCCCACTGCAGAA 3'

(F-Forward, R-Reverse)

Tablo 5: Polimeraz zincir reaksiyonunda kullanılan bileşenler ve miktarları

Bileşen Adı	Miktarı
Mastermiks	25 µl
Kalıp DNA	5 µl
Forward Primer	3 µl
Reverse Primer	3 µl
Su	14 µl
Toplam	50 µl

Tablo 6: Her bir gen bölgesi için polimeraz zincir reaksiyonu termal profilleri

Gen (Primer)		CFH	HIF1A	SKIV2L	MYRIP
Basamak		(Derece/Süre)	(Derece/Süre)	(Derece/Süre)	(Derece/Süre)
Başlangıç Denatürasyonu		94°C/5dk	94°C/5dk	94°C/5dk	94°C/5dk
DNA Denatürasyonu	30 dönü	94°C/30sn	94°C/30sn	94°C/30sn	94°C/30sn
Annealing		55°C/30sn	59°C/30sn	59°C/30sn	59°C/30sn
Primer Uzatma		72°C/30sn	72°C/30sn	72°C/30sn	72°C/30sn
Son Uzatma		72°C/10dk	72°C/10dk	72°C/10dk	72°C/10dk

Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda elde edilen spesifik ürünler %2'lik agaroz jel elektroforeziyle kontrol edildikten sonra (100 bç büyüklüğünde markır kullanılarak), bir sonraki aşamada yapılacak olan dizileme reaksiyonunu inhibe edebilecek PCR artıklarının uzaklaştırılması amacıyla, ticari kit (GF-1 PCR Clean-up Kit, Vivantis) kullanılarak PCR ürünleri saflaştırıldı. Bu protokolde sırasıyla aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır:

1. Üzerlerine distile su eklenerek hacimleri 100µl'ye tamamlanan PCR ürünlerine 500µl "Buffer PCR" eklenip, pipetaj ve vorteksleme ile homojenizasyon sağlandıktan sonra örnekler temiz toplama tüplerine yerleştirilmiş kolonlara aktarılıp, 10.000 x g'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
2. Toplama tüplerindeki sıvı atıldıktan sonra kolonlara 750 µl "Wash Buffer" eklenip, 10.000 x g'de 1 dk santrifüj edilmiştir.
3. Toplama tüplerindeki sıvı atıldıktan sonra, rezidüel etanolü uzaklaştırmak için kolonlar bir kez 10.000 x g'de boş olarak santrifüj edilmiştir.
4. Temiz mikrosantrifüj tüplerine aktarılan kolonlara, kolon membranının üzerine denk gelecek şekilde, 50 µl "Elution Buffer" eklenmiş ve oda sıcaklığında 2 dk bekletilip 10.000 x g'de 1 dk santrifüj uygulandıktan sonra kolonlar atılarak saflaştırma işlemi tamamlanmıştır.
5. Saflaştırma işleminden sonra pürifiye PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek ürünlerin kalitatif kontrolü yapılmıştır (Bkz. EK 2).

Dizileme reaksiyonunun kurulması ve etanol çöktürme işlemi

PCR ürünlerinin saflaştırma işlemleri tamamlandıktan ve ürünler %2'lik agaroz jelde yürütüldükten sonra hedeflenen bölgelerin dizilenmesi amacıyla dizi analizi reaksiyonu kurulmuştur. Dizileme reaksiyonu için *CFH*, *MYRIP* ve *HIF1A* gen bölgeleri için reverse primerler; *SKIV2L* gen bölgesi için forward primer kullanılmıştır. Dizileme reaksiyonunda kullanılan bileşenler ve reaksiyon koşulları Tablo 7 ve 8'de gösterilmiştir.

Tablo 7: Dizileme reaksiyonunda kullanılan bileşenler

Kalıp DNA	5 µl
DTCS Quick Start Master Miks	8 µl
Primer (Forward/Reverse)	2 µl
Su	5 µl
Toplam	20 µl

Dizileme reaksiyonu karışımı örneklere eklenmeden önce 96 °C’de 1 dk predenatürasyon uygulanmış, daha sonra tüplere 15’er µl karışım eklenip reaksiyona sokulmuştur.

Tablo 8: Dizileme reaksiyonu termal profili

Basamaklar		Sıcaklık/Süre
Başlangıç Denatürasyonu		94°C/2dk
DNA Denatürasyonu	30 döngü	96°C/20sn
Annealing		50°C/20sn
Primer Uzatma		60°C/4dk

Dizileme reaksiyonundan sonra örneklere 5’er µl terminasyon solüsyonu (2 µl Sodyum Asetat + 2 µl Sodyum EDTA + 1 µl Glikojen) eklenmiş, pipetaj yapıldıktan sonra etanol çöktürme işlemine geçilmiştir. Etanol çöktürme işleminde sırasıyla şu basamaklar uygulanmıştır:

1. Örnekler üzerine, -20 °C’de bekleyen %96’lık etanol solüsyonundan 70 ml eklenip pipetaj ve vorteksleme uygulandıktan sonra, 30 dk -20 °C’de bekletilmiş ve 14.000 rpm’de, 4 °C’de 15 dk santrifüj edilmişlerdir.
2. Santrifüj işleminden sonra dipteki çökelti hareket ettirilmeyecek şekilde üstte kalan etanol uzaklaştırılmış ve -20 °C’de bekletilen %70’lik etanol solüsyonundan 170 ml eklenip, pipetaj uygulanmadan, örnekler 14.000 rpm’de 6 °C’de 7 dk santrifüj edilmiştir.
3. Dipteki çökeltiyi hareket ettirmeyecek şekilde üstte kalan etanol uzaklaştırılarak örnekler önceden 40 °C’ye ayarlanmış dry block’ta 40 dk kurutulmaya bırakılmıştır.

Etanol çöktürme işleminden sonra kurutulan örneklere 40 µl örnek yükleme solüsyonu (formamid) eklenip, uygun biçimde pipetaj yapıldıktan sonra örnekler “Sample Plate”e yüklenmiş, üzerlerine buharlaşmalarını engellemek için mineral yağı eklenmiştir. “Buffer Plate”e tampon solüsyonu eklendikten sonra ürün büyüklüğüne göre uygun okuma programı seçilip dizi analizi işlemi gerçekleştirilmiştir (Beckmann-Coulter CEQ 8000™ Genetic Analysis System). *CFH* ve *SKIV2L* gen bölgeleri için kısa süreli, *MYRIP* ve *HIF1A* genleri için uzun süreli okuma programları seçilmiştir.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için *SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 11.0* programı kullanıldı. Hasta ve kontrol grupları ve hasta grubundaki ‘kuru’ ve ‘yaş tip’ grupları arasında polimorfizm ve allel dağılımları açısından fark olup olmadığını değerlendirmek için *ki-kare* testi kullanıldı. Her bir genotip ve allel dağılımı için *Odds Ratio*’lar hesaplandı. Yaş ve cinsiyete göre düzeltilmiş OR’ler lojistik regresyon analiziyle hesaplandı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ değerleri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya YBMD'li 87 hasta ve kontrol grubu olarak 80 sağlıklı birey dahil edildi. Hasta grubu 48 erkek (% 55), 39 kadın'dan (% 45); kontrol grubu 40 erkek (% 50) ve 40 kadın'dan (% 50) oluşuyordu. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0.537$). Hasta grubun yaş ortalaması 72.13 ± 5.77 ; kontrol grubunun yaş ortalaması 62.80 ± 5.22 idi. Hasta ve kontrol grupları arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.000$). Bu nedenle hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırıldığı bütün istatistiksel analizler yaşa göre düzeltme yapılarak gerçekleştirildi. Grupların demografik özellikleri Tablo 9'da özetlenmiştir.

Tablo 9: Çalışma grubunun demografik özellikleri

	Hasta grubu	Kontrol grubu	<i>p</i> değeri
Yaş (ort \pm SD)			
	72.13 ± 5.77	62.80 ± 5.22	0.000
Cinsiyet			
Erkek (%)	48 (% 55)	40 (% 50)	0.537
Kadın (%)	39 (% 45)	40 (% 50)	

SD=Standard deviyasyon; ort=ortalama. Anlamlı *p* değeri koyu olarak biçimlendirilmiştir.

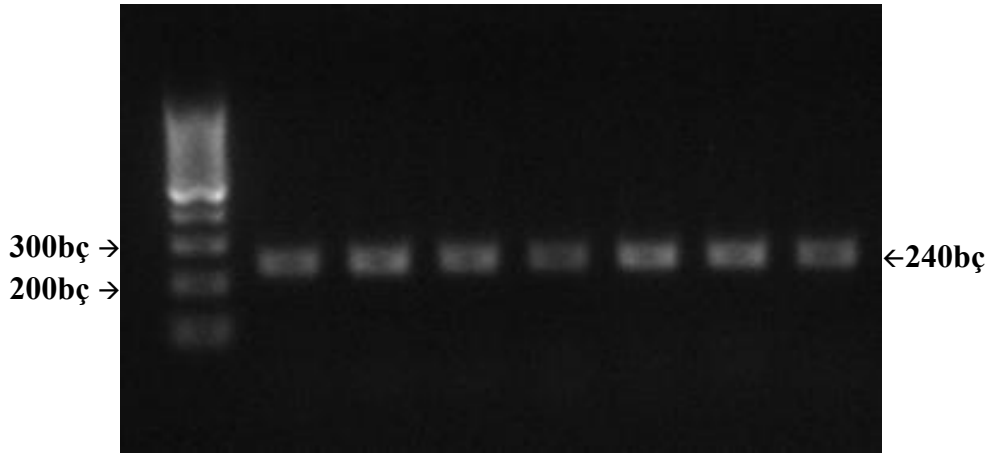
Çalışmaya dahil edilen YBMD hastalarının 42'si (%48) kuru tip, 45'i (%52) yaş tip YBMD'ye sahipti. Yaş tip YBMD'ye sahip olguların yaş ortalaması 73.18 ± 5.61 iken kuru tip YBMD'ye sahip olguların yaş ortalaması 71.02 ± 5.79 olarak hesaplanmıştır. Hasta grubundaki YBMD olgularının tipleri cinsiyete göre sınıflandırıldığında; 42 kuru tip olgunun 15'inin erkek (%35.7), 27'sinin kadın (%64.3) ve 45 yaş tip olgunun 33'ünün erkek (%73.3), 12'sinin kadın (%26.7) olduğu belirlendi (Tablo 10). Erkek hastalarda yaş tip YBMD (%68), kadın hastalarda kuru tip YBMD (%69) daha fazla gözlenmiştir. Kuru ve yaş tip YBMD olguları arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.001$). Yaş tip YBMD için erkek cinsiyete sahip olmak (OR=2.75; 95%CI 1.24-6.07) riskli olarak bulunmuştur.

Tablo 10: Kuru ve yaş tip YBMD'nin cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	YBMD Tipi		Toplam
	Kuru	Yaş	
Erkek	15	33	48
Kadın	27	12	39
Toplam	42	45	87

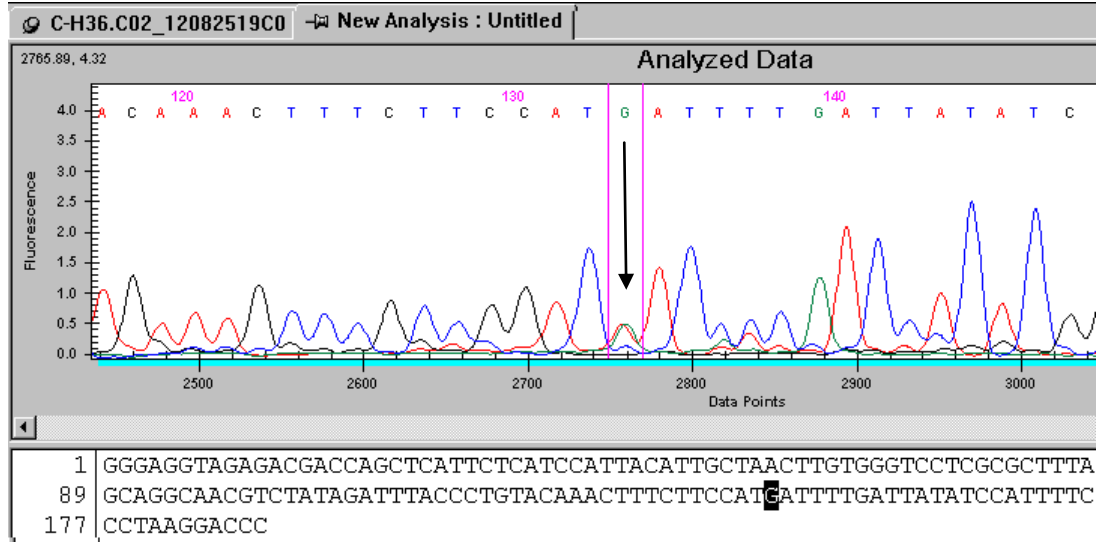
***CFH* genindeki rs1061170 polimorfizminin dağılımının belirlenmesi**

CFH genindeki rs1061170 polimorfizminin yer aldığı bölgeye özgün primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 240 bç büyüklüğünde spesifik reaksiyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 8).



Şekil 8: *CFH* geni rs1061170 polimorfizmini içeren bölgeye ait PCR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Markır 100 bç büyüklüğündedir.

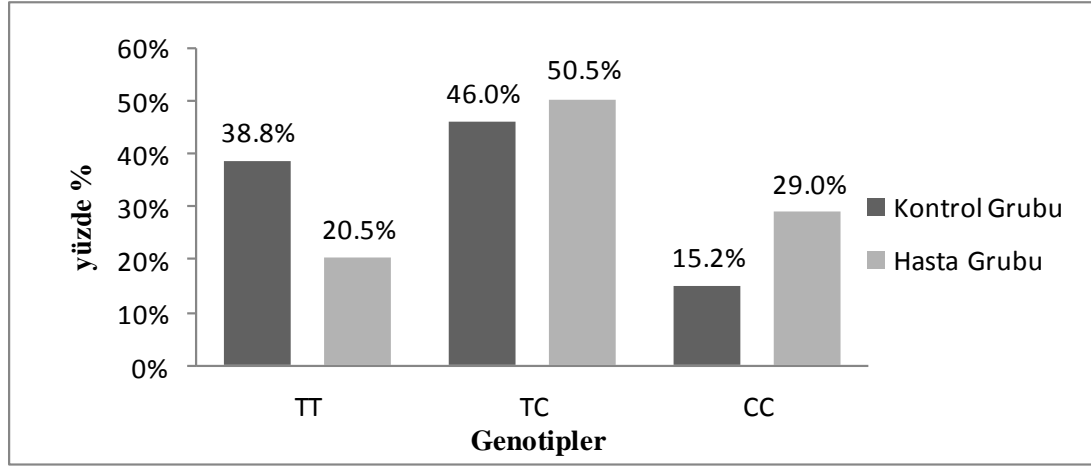
PCR ürünlerine saflaştırma protokolü uygulandıktan sonra kısa okuma programı seçilerek dizi analizi işlemi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi sonucuna göre heterozigot polimorfizm saptanan bir hastanın sonucu Şekil 9'da gösterilmiştir.



Şekil 9: *CFH* geni rs1061170 polimorfizminin heterozigot değişimini gösteren dizi analizi sonucu.

Spesifik DNA ürünleri ile yapılan dizi analizi sonuçlarına göre hasta grubundan 18 (%20.5), kontrol grubundan 31 (%38.8) bireyde TT genotipi; hasta grubundan 44 (%50.5), kontrol grubundan 37 (%46) bireyde TC genotipi ve; hasta grubundan 25 (%29), kontrol grubundan 12 (%15.2) bireyde CC genotipi saptanmıştır (Şekil 10). Hasta ve kontrol grupları arasındaki rs1061170 genotiplerinin dağılım farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.004$). CC genotipine sahip bireylerde YBMD görülme riski, CT veya TT genotipine sahip bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (OR=2.28; 95%CI 1.05-4.93). Ayrıca, TT genotipine sahip olmanın da YBMD açısından koruyucu etkiye sahip olduğu bulunmuştur (OR=0.44; 95%CI 0.22-0.87).

En az bir adet C alleli varlığı açısından değerlendirildiğinde hasta grubundan 69 (%79.3), kontrol grubundan 49 (%61.2) bireyde en az bir adet C alleli saptanmıştır. En az bir adet C alleli varlığı açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0.006$). En az 1 adet C alleli taşıyan bireylerde YBMD görülme riski, T alleli taşıyan bireylere göre daha yüksek bulunmuştur (OR=2.42; 95%CI 1.22-4.81). Ayrıca, en az bir adet T alleli taşımanın da YBMD'ye karşı koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır (OR=0.53; 95%CI 0.34-0.83). Tablo 11'de hasta ve kontrol grupları arasındaki genotip ve allel dağılımları özetlenmiştir.



Şekil 10: *CFH* geni rs1061170 genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarındaki dağılımı

Tablo 11: Hasta ve kontrol grupları arasında *CFH* geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
TT	18 (20.5)	31 (38.8)	0.44 (0.22-0.87)	0.019
TC	44 (50.5)	37 (46.0)	1.13 (0.61-2.08)	0.757
CC	25 (29.0)	12 (15.2)	2.28 (1.05-4.93)	0.040
Allel				
T	81 (46.5)	99 (61.9)	0.53 (0.34-0.83)	0.006
C	93 (53.5)	61 (38.1)	2.42 (1.22-4.81)	0.006

OR: Odds Ratio. Anlamli p değerleri koyu olarak biçimlendirilmiştir.

Hasta grubundan kuru tip YBMD'ye sahip 42 olgunun 9'unda (%21.4) TT, 19'unda (%45.3) TC ve 14'ünde (%33.4) CC genotipi gözlenmiştir. Yaş tip YBMD'ye sahip 9 olguda (%20) TT, 25 olguda (%55.5) TC ve 11 olguda (%24.5) CC genotipi saptanmıştır. Kuru tip YBMD'li 33 (%78.7) ve yaş tip YBMD'li 36 olguda (%80) en az bir adet C alleli saptanmıştır (Tablo 12). Kuru ve yaş tip YBMD'li olgular arasında hem genotip dağılımı açısından hem de en az bir adet C alleleline sahip olma açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p=0.621$ ve $p=1.000$).

Kuru ve yaş tip YBMD'ye sahip olgularda rs1061170 polimorfizmi genotip ve allel dağılımlarının, kontrol grubundaki bireylerdeki dağılımlarıyla karşılaştırılması Tablo 13 ve 14'te verilmiştir.

Tablo 12: Kuru ve yaş tip olgular arasında *CFH* geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Kuru Tip n (%)	Yaş Tip n (%)	OR (95%CI)	p
TT	9 (21.4)	9 (20.0)	1.04 (0.37-2.9)	1.000
TC	19 (45.3)	25 (55.5)	1.38 (0.59-3.21)	0.522
CC	14 (33.4)	11 (24.5)	0.64 (0.25-1.64)	0.478
Allel				
T	37 (44.0)	44 (48.8)	1.16 (0.63-2.12)	0.649
C	47 (56.0)	46 (51.2)	1.06 (0.57-1.97)	0.876

OR: Odds Ratio

Tablo 13: Kuru tip olgularla kontrol grubundaki *CFH* geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması

	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
Kuru YBMD				
TT	9 (21.4)	31 (38.8)	0.43 (0.18-1.02)	0.680
TC	19 (45.3)	37 (46.0)	0.96 (0.45-2.03)	1.000
CC	14 (33.4)	12 (15.2)	2.83 (1.16-6.88)	0.035
TT vs (TC+CC)			2.32 (0.97-5.50)	0.068
T	37 (44.0)	99 (61.9)	0.48 (0.28-0.82)	0.010
C	47 (56.0)	61 (38.1)	2.06 (1.20-3.52)	0.010

OR: Odds Ratio. Anlamli p değerleri koyu olarak biçimlendirilmiştir.

Erkek ve kadın olgular ayrı ayrı değerlendirildiğinde; kuru ve yaş tip grupları arasında, hem genotip (erkeklerde p=0.347, kadınlarda p=0.880) hem de en az 1 adet C alleli görülmesi (erkeklerde p=0.700, kadınlarda p=0.693) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

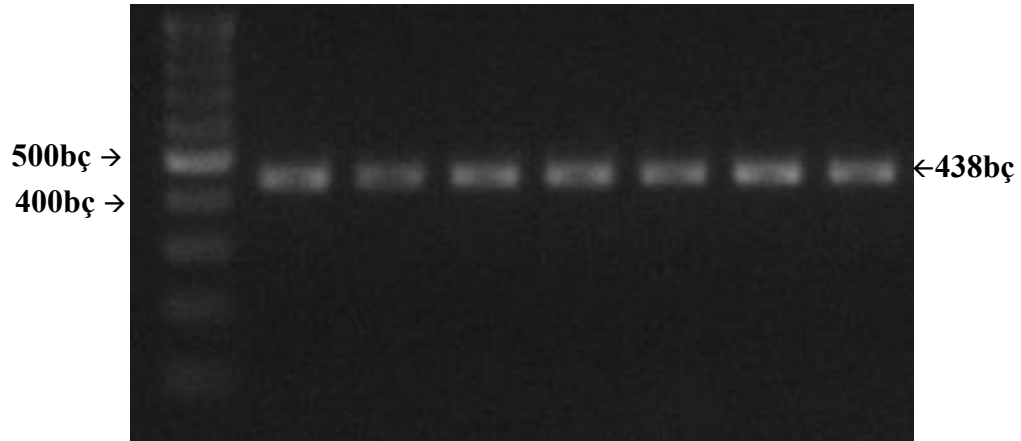
Tablo 14: Yaş tip olgularla kontrol grubundaki *CFH* geni rs1061170 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması

Yaş YBMD	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
TT	9 (20.0)	31 (38.8)	0.39 (0.16-0.93)	0.045
TC	25 (55.5)	37 (46.0)	1.45 (0.69-3.02)	0.355
CC	11 (24.5)	12 (15.2)	1.83 (0.73-4.58)	0.231
TT vs (TC+CC)			2.53 (1.07-5.96)	0.045
T	44 (48.8)	99 (61.9)	0.58 (0.35-0.99)	0.062
C	46 (51.2)	61 (38.1)	1.69 (1.07-2.86)	0.062

OR: Odds Ratio. Anlamli p değerleri koyu olarak biçimlendirilmiştir.

***HIF1A* genindeki rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerinin dağılımının belirlenmesi**

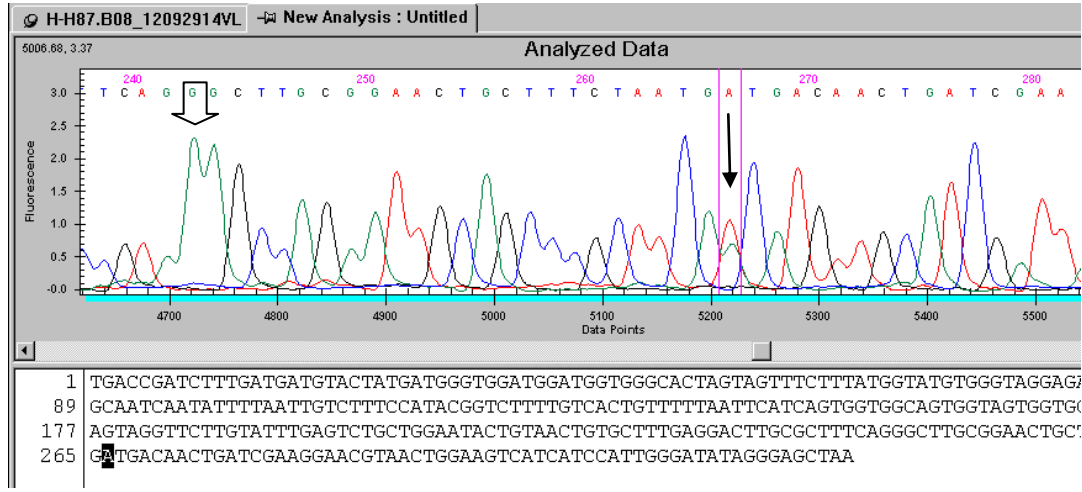
HIF1A genindeki rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerinin yer aldığı bölgeye özgün primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 438 bç büyüklüğünde spesifik reaksiyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 11).



Şekil 11: *HIF1A* geni rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerinin yer aldığı bölgeye ait PCR ürününün %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü. Markır 100 bç büyüklüğündedir.

PCR ürünlerine saflaştırma protokolü uygulandıktan sonra uzun okuma programı seçilerek dizi analizi işlemi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi sonucuna göre

rs11549467 polimorfizmi açısından normal ve rs11549465 polimorfizmi açısından heterozigot değişim saptanan bir hastanın sonucu Şekil 12’de gösterilmiştir.



Şekil 12: *HIF1A* geni rs11549465 (ince ok, heterozigot) ve rs11549467 (kalın ok, wild-type) polimorfizmlerini gösteren dizi analizi sonucu.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin hiçbirisinde rs11549467 (A588T) polimorfizmi saptanmamıştır. Bu nedenle rs11549467 polimorfizmi istatistiksel analizlere dahil edilmemiştir. rs11549465 (P582S) polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde; hasta grubundan 63 (%72.5), kontrol grubundan 54 (%67.5) bireyde CC genotipi; hasta grubundan 23 (%26.4), kontrol grubundan 23 (%28.8) bireyde CT genotipi; hasta grubundan 1 (%1.1) ve kontrol grubundan 3 (%3.7) bireyde TT genotipi saptanmıştır (Tablo 15). TT genotipi saptanan birey sayısının düşük olmasından dolayı bireyler CT veya TT genotipine sahip olma açısından gruplandırıldığında hasta grubundan 24 (%27.5) ve kontrol grubundan 26 (%32.5) bireyde CT veya TT genotipi saptanmıştır (Şekil 13). Hasta ve kontrol grubu arasında rs11549465 polimorfizminin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.504$).

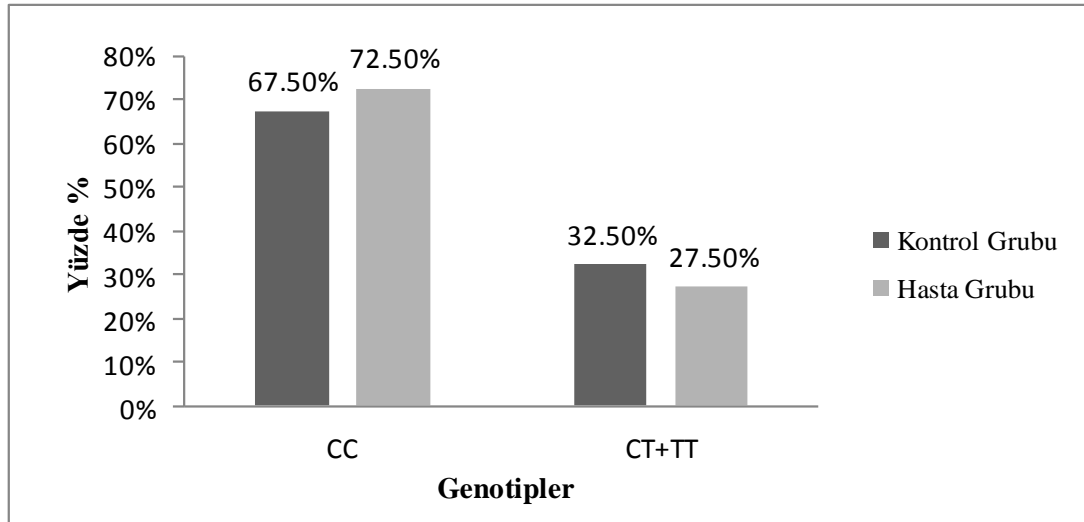
Hasta grubundan kuru tip YBMD’ye sahip 42 olgunun 34’ünde (%81) CC, 7’sinde (%16.6) CT ve 1’inde (%2.4) TT genotipi saptanmışken; yaş tip YBMD’ye sahip 45 olgunun 29’unda (%64.4) CC, 16’sında (%35.6) CT genotipi saptanmıştır. Yaş tip YBMD’ye sahip olgularda TT genotipine rastlanmamıştır. YBMD klinik tipleri arasında rs11549465 polimorfizmi dağılımı açısından istatistiksel olarak

anlamli bir fark saptanmamıştır (p=0.765). Tablo 16’da rs11549465 polimorfizminin kuru ve yaş tip olgular arasındaki dağılımları gösterilmiştir.

Tablo 15: Hasta ve kontrol grupları arasında *HIF1A* geni rs11549465 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
CC	63 (72.5)	54 (67.5)	1.26 (0.65-2.45)	0.504
CT	23 (26.4)	23 (28.8)	0.89 (0.45-1.75)	0.863
TT	1 (1.1)	3 (3.7)	-	-
Allel				
C	149 (85.6)	131 (81.9)	1.31 (0.73-2.36)	0.375
T	25 (14.4)	29 (18.1)	0.75 (0.42-1.35)	0.375

OR: Odds Ratio



Şekil 13: *HIF1A* geni rs11549465 polimorfizmine ait genotiplerin hasta ve kontrol grupları arasındaki dağılımı

Erkek ve kadın olgular ayrı ayrı değerlendirildiğinde; kuru ve yaş tip gruplar arasında, hem genotip (erkeklerde p=0.549, kadınlarda p=0.416) hem de en az 1 adet T alleli görülmesi (erkeklerde p=0.328, kadınlarda p=0.416) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 16: Kuru ve yaş tip olgular arasında *HIF1A* geni rs11549465 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Kuru Tip n (%)	Yaş Tip n (%)	OR (95%CI)	p
CC	34 (81)	29 (64.4)	0.42 (0.16-1.13)	0.098
CT	7 (16.6)	16 (35.6)	2.75 (0.99-7.61)	0.055
TT	1 (2.4)	-	-	-
Allel				
C	75 (89.3)	74 (82.2)	2.14 (1.10-4.17)	0.202
T	9 (10.7)	16 (17.8)	1.80 (0.74-4.33)	0.202

OR: Odds Ratio

Kuru ve yaş tip YBMD'ye sahip olgularda rs11549465 polimorfizmi genotip ve allel dağılımlarının, kontrol grubundaki bireylerdeki dağılımlarının karşılaştırılması Tablo 17'de verilmiştir.

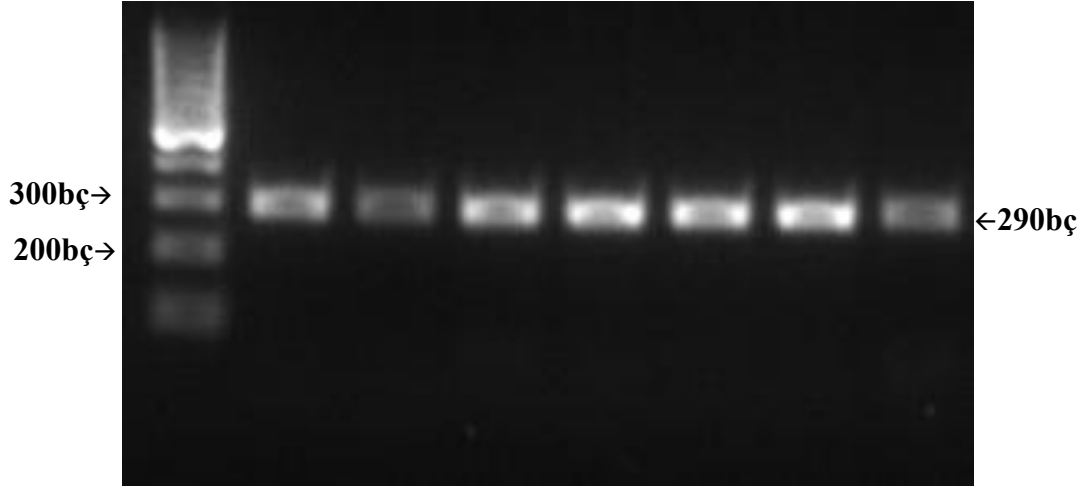
Tablo 17: Kuru ve yaş tip olgularla kontrol grubundaki *HIF1A* geni rs11549465 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması

	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
Kuru YBMD				
CC	34 (81.0)	54 (67.5)	2.04 (0.83-5.03)	0.140
CT	7 (16.6)	23 (28.8)	0.49 (0.19-1.27)	0.185
TT	1 (2.40)	3 (3.70)	-	-
CC vs (CT+TT)			0.48 (0.19-1.20)	0.140
C	75 (89.3)	131 (81.9)	1.85 (0.82-4.10)	0.142
T	9 (10.7)	29 (18.1)	0.54 (0.24-1.20)	0.142
Yaş YBMD				
CC	29 (64.4)	54 (67.5)	0.87 (0.40-1.88)	0.844
CT	16 (35.6)	23 (28.8)	1.36 (0.62-2.98)	0.431
TT	-	3 (3.7)	-	-
CC vs (CT+TT)			1.14 (0.53-2.47)	0.844
C	74 (82.2)	131 (81.9)	1.02 (0.52-2.08)	1.000
T	16 (17.8)	29 (18.1)	0.97 (0.49-1.91)	1.000

OR: Odds Ratio

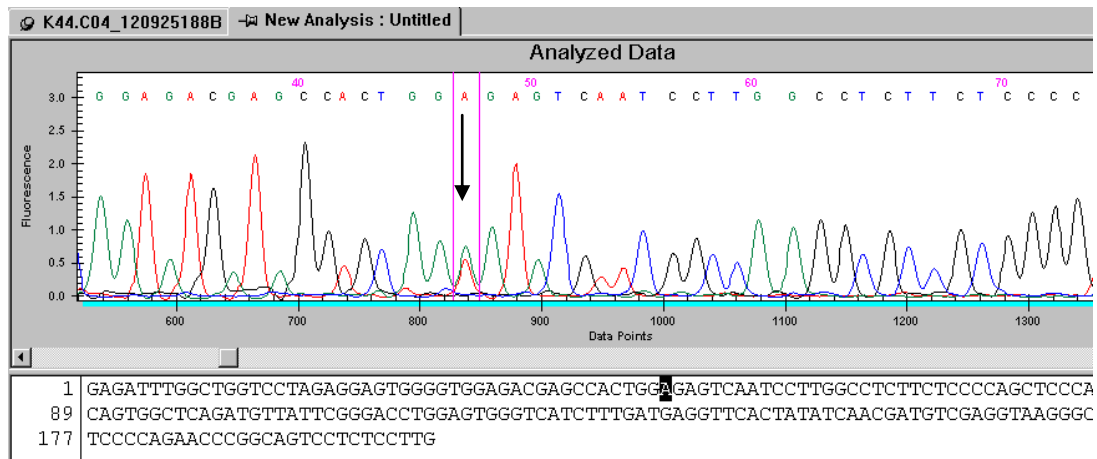
SKIV2L genindeki rs429608 polimorfizminin dağılımının belirlenmesi

SKIV2L genindeki rs429608 polimorfizminin yer aldığı bölgeye özgün primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 290 bç büyüklüğünde spesifik reaksiyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 14).



Şekil 14: SKIV2L geni rs429608 polimorfizmini içeren gen bölgesine ait PCR ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. Markır 100 bç büyüklüğündedir.

PCR ürünlerine saflaştırma protokolü uygulandıktan sonra kısa okuma programı seçilerek dizi analizi işlemi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi sonucuna göre heterozigot polimorfizm saptanan bir hastanın sonucu Şekil 15'te gösterilmiştir.



Şekil 15: SKIV2L geni rs429608 polimorfizminin heterozigot değişimini gösteren dizi analizi sonucu

Hasta grubundan 74 (%85.1), kontrol grubundan 63 bireyde (%78.8) GG genotipi; hasta grubundan 13 (%14.9), kontrol grubundan 16 bireyde (%20) GA genotipi saptanmıştır. Hasta grubunda hiç AA genotipi saptanmamışken kontrol grubundan da sadece 1 bireyde (%1.2) AA genotipi saptanmıştır. Tek bir bireyde AA genotipi saptandığı için bu birey GA genotipi içerisinde gruplandırılmıştır. Polimorfik ‘A’ alleli kontrol grubunda daha fazla gözlenmekle birlikte hem genotip hem de allel dağılımları açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (p=0.318). Tablo 18’de hasta ve kontrol grupları arasındaki rs429608 polimorfizmi genotip ve allel dağılımları özetlenmiştir.

Tablo 18: Hasta ve kontrol grupları arasında *SKIV2L* geni rs429608 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
GG	74 (85.1)	63 (78.8)	1.53 (0.69-3.40)	0.318
GA	13 (14.9)	16 (20)	0.70 (0.31-1.57)	0.419
AA	-	1 (1.2)	-	-
Allel				
G	161 (92.5)	142 (88.8)	1.57 (0.74-3.31)	0.453
A	13 (7.5)	18 (11.2)	0.71 (0.34-1.51)	0.453

OR: Odds Ratio

Hasta grubundan kuru tip YBMD’ye sahip 42 olgunun 33’ünde (%78.6) GG, 9’unda (%21.4) GA genotipi saptanmışken; yaş tip YBMD’ye sahip 45 olgunun 41’inde (%91.1) GG, 4’ünde (%8.9) GA genotipi saptanmıştır. Her iki tipte de AA genotipine rastlanmamıştır. Kuru ve yaş tip YBMD olguları arasında ‘A’ alleleline sahip olma açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.108). Tablo 19’da kuru ve yaş tip olgular arasındaki rs429608 polimorfizmi genotip ve allel dağılımları özetlenmiştir.

Kuru ve yaş tip YBMD’ye sahip olgularda rs429608 polimorfizmi genotip ve allel dağılımlarının, kontrol grubundaki bireylerdeki dağılımlarıyla karşılaştırılması Tablo 20’de verilmiştir.

Tablo 19: Kuru ve yaş tip olgular arasında *SKIV2L* geni rs429608 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Kuru Tip n (%)	Yaş Tip n (%)	OR (95%CI)	p
GG	33 (78.6)	41 (91.1)	2.79 (0.79-9.89)	0.136
GA	9 (21.4)	4 (8.9)	0.35 (0.1-1.26)	0.136
AA	-	-	-	-
Allel				
G	75 (89.3)	86 (95.5)	2.58 (0.76-8.72)	0.152
A	9 (10.7)	4 (4.5)	0.38 (0.11-1.31)	0.152

OR: Odds Ratio

Tablo 20: Kuru ve yaş tip olgularla kontrol grubundaki *SKIV2L* geni rs429608 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması

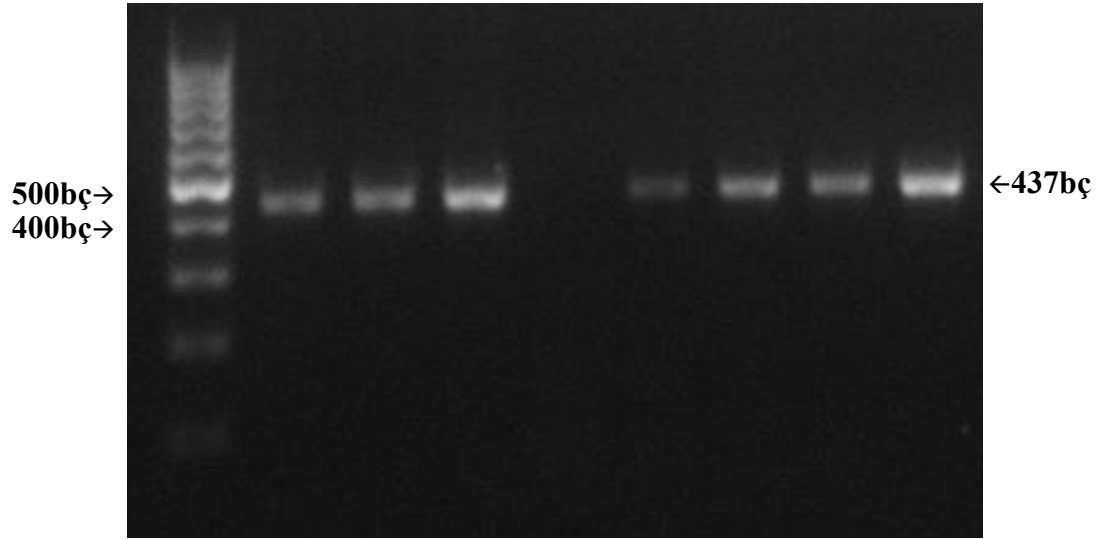
	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
Kuru YBMD				
GG	33 (78.6)	63 (78.8)	0.98 (0.39-2.46)	1.000
GA	9 (21.4)	16 (20)	1.09 (0.43-2.73)	1.000
AA	-	1 (1.2)	-	-
GG vs (GA+AA)			1.01 (0.40-2.51)	1.000
G	75 (89.3)	142 (88.8)	1.05 (0.45-2.46)	1.000
A	9 (10.7)	18 (11.2)	0.94 (0.40-2.21)	1.000
Yaş YBMD				
GG	41 (91.1)	63 (78.8)	2.76 (0.86-8.80)	0.086
GA	4 (8.9)	16 (20)	0.39 (0.12-1.24)	0.131
AA	-	1 (1.2)	-	-
GG vs (GA+AA)			0.36 (0.11-1.15)	0.086
G	86 (95.5)	142 (88.8)	2.72 (0.89-8.32)	0.102
A	4 (4.5)	18 (11.2)	0.36 (0.12-1.12)	0.102

OR: Odds Ratio

Erkek ve kadın olgular ayrı ayrı değerlendirildiğinde; kuru ve yaş tip grupları arasında, en az 1 adet T alleli görülmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.662 ve p=0.151).

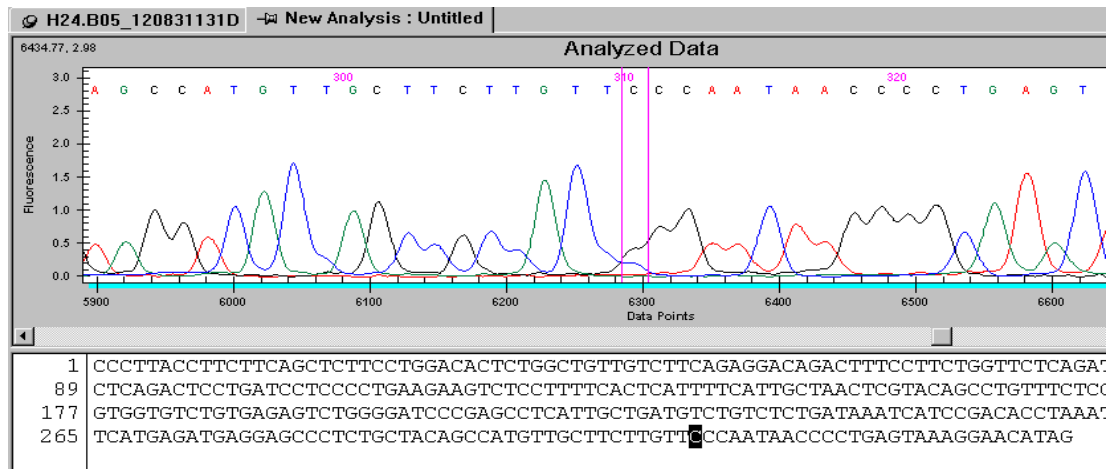
MYRIP genindeki rs2679798 polimorfizminin dağılımının belirlenmesi

MYRIP genindeki rs2679798 polimorfizminin yer aldığı bölgeye özgün primerler kullanılarak yapılan PCR sonucunda 437 bç büyüklüğünde spesifik reaksiyon ürünü elde edilmiştir (Şekil 16).



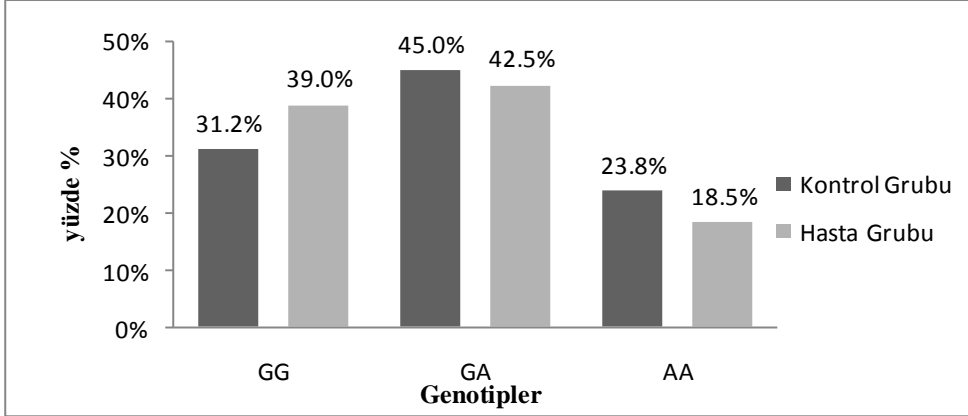
Şekil 16: MYRIP geni rs2679798 polimorfizmini içeren gen bölgesine ait PCR ürününün %2'lik agaroz jelde görüntülenmesi. Markır 100 bç büyüklüğündedir.

PCR ürünlerine saflaştırma protokolü uygulandıktan sonra uzun okuma programı seçilerek dizi analizi işlemi gerçekleştirilmiştir. Dizi analizi sonucuna göre heterozigot polimorfizm saptanan bir hastanın sonucu Şekil 17'de gösterilmiştir.



Şekil 17: MYRIP geni rs2679798 polimorfizminin heterozigot değişimini gösteren dizi analizi sonucu

Hasta grubundan 34 (%39), kontrol grubundan 25 (%31.2) bireyde GG genotipi; hasta grubundan 37 (%42.5), kontrol grubundan 36 (%45) bireyde GA genotipi; hasta grubundan 16 (%18.5) ve kontrol grubundan 19 (%23.8) bireyde AA genotipi saptanmıştır (Şekil 18).



Şekil 18: Hasta ve kontrol grupları arasında *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip dağılımları

Allel dağılımları açısından gruplandırıldığında; hasta grubundan 53 (%61), kontrol grubundan da 55 (%68.7) olguda en az bir adet 'A' alleli saptanmıştır. Hasta ve kontrol grupları arasında hem genotip ($p=0.249$) hem de allel dağılımları ($p=0.332$) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Tablo 21'de rs2679798 polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grupları arasındaki genotip ve allel dağılımları özetlenmiştir.

Tablo 21: Hasta ve kontrol grupları arasında *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Hasta n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
GG	34 (39)	25 (31.2)	1.34 (0.7-2.55)	0.417
GA	37 (42.5)	36 (45)	0.9 (0.49-1.66)	0.757
AA	16 (18.5)	19 (23.8)	0.78 (0.37-1.63)	0.574
Allel				
G	103 (59.1)	86 (53.8)	1.24 (0.8-1.92)	0.322
A	71 (40.9)	74 (46.2)	0.8 (0.51-1.23)	0.322

OR: Odds Ratio

Hasta grubundan kuru tip YBMD'li 15 (%35.7), yaş tip YBMD'li 19 (%42.2) olguda GG genotipi; kuru tip YBMD'li 19 (%45.2) ve yaş tip YBMD'li 18 (%40) olguda GA genotipi ve; kuru tip YBMD'li 8 (%19.1) ve yaş tip YBMD'li 8 (%17.8) olguda AA genotipi saptanmıştır. Kuru tip YBMD'li 27 ve yaş tip YBMD'li 26 olguda en az 1 adet A alleli saptanmıştır. Kuru ve yaş tip YBMD grupları arasında hem genotip ($p=0.621$) hem de allel dağılımları ($p=0.661$) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Tablo 22'de kuru ve yaş tip YBMD'ye sahip olgular arasındaki rs2679798 polimorfizmi genotip ve allel dağılımları özetlenmiştir.

Tablo 22: Kuru ve yaş tip olgular arasında *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımları

Genotip	Kuru Tip n (%)	Yaş Tip n (%)	OR (95%CI)	p
GG	15 (35.7)	19 (42.2)	1.20 (0.5-2.86)	0.825
GA	19 (45.2)	18 (40.0)	0.8 (0.34-1.89)	0.668
AA	8 (19.1)	8 (17.8)	1.06 (0.36-3.07)	1.000
Allel				
G	49 (58.3)	56 (62.2)	1.07 (0.58-1.96)	0.878
A	35 (41.7)	34 (37.8)	0.93 (0.51-1.70)	0.878

OR: Odds Ratio

Erkek ve kadın olgular ayrı ayrı değerlendirildiğinde; kuru ve yaş tip grupları arasında, hem genotip (erkeklerde $p=0.465$, kadınlarda $p=0.367$) hem de en az 1 adet T alleli görülmesi (erkeklerde $p=0.351$, kadınlarda $p=0.276$) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Kuru ve yaş tip YBMD'ye sahip olgularda rs2679798 polimorfizmi genotip ve allel dağılımlarının, kontrol grubundaki bireylerdeki dağılımlarıyla karşılaştırılması Tablo 23'te verilmiştir.

Tablo 23: Kuru ve yaş tip olgularla kontrol grubundaki *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmine ait genotip ve allel dağılımlarının karşılaştırılması

	Hastalar n (%)	Kontrol n (%)	OR (95%CI)	p
Kuru YBMD				
GG	15 (35.7)	25 (31.2)	1.22 (0.55-2.68)	0.686
GA	19 (45.2)	36 (45)	1.01 (0.47-2.13)	1.000
AA	8 (19.1)	19 (23.8)	0.75 (0.29-1.90)	0.649
GG vs (GA+AA)			0.81 (0.37-1.80)	0.686
G	49 (58.3)	86 (53.8)	1.20 (0.70-2.05)	0.502
A	35 (41.7)	74 (46.2)	0.83 (0.48-1.41)	0.502
Yaş YBMD				
GG	19 (42.2)	25 (31.2)	1.60 (0.75-3.42)	0.245
GA	18 (40)	36 (45)	0.81 (0.38-1.71)	0.707
AA	8 (17.8)	19 (23.8)	0.69 (0.27-1.74)	0.503
GG vs (GA+AA)			0.62 (0.29-1.32)	0.245
G	56 (62.2)	86 (53.8)	1.41 (0.83-2.40)	0.232
A	34 (37.8)	74 (46.2)	0.70 (0.41-1.19)	0.232

OR: Odds Ratio

En az bir allelde *CFH* geni rs1061170 polimorfizmine sahip bireylerde *SKIV2L* ve/veya *MYRIP* polimorfizmi birlikteliği

CFH geni rs1061170 polimorfizmi için en az bir adet C alleleline sahip olgularda *SKIV2L* ve *MYRIP* genlerindeki polimorfizmlerin koruyucu etkiye sahip olup olmadıklarını istatistiksel olarak değerlendirmek için bireyleri gruplandırdık. Hasta grubundan 11 (%12.6), kontrol grubundan 9 (%11.2) bireyde *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleli ile birlikte, *SKIV2L* geni rs429608 polimorfizmi açısından da en az 1 adet A alleli bulunuyordu. Hasta ve kontrol grupları arasında *CFH* ve *SKIV2L* gen polimorfizmlerinin birlikteliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0.816) (Tablo 24).

Hasta grubundan 45 (%51.7), kontrol grubundan 30 (%37.5) bireyde *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleli ile birlikte *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmi açısından da en az 1 adet A alleli bulunuyordu. Hasta ve kontrol grupları arasında *CFH* ve *MYRIP* gen polimorfizmlerinin birlikteliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.087$) (Tablo 24).

Hasta grubundan 5 (%5.7), kontrol grubundan 7 (%8.7) bireyde *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleli ile birlikte *SKIV2L* geni rs429608 ve *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmleri açısından da en az 1'er adet A alleli bulunuyordu. Hasta ve kontrol grupları arasında *CFH*, *SKIV2L* ve *MYRIP* gen polimorfizmleri birlikteliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.554$) (Tablo 24).

Tablo 24: Hasta ve kontrol grubunda *CFH*, *SKIV2L*, *MYRIP* genlerindeki polimorfizmlerin birlikteliği

	Hasta		Kontrol		p (OR; 95%CI)
	n (%)		n (%)		
	(+)	(-)	(+)	(-)	
<i>CFH</i> ^{TC/CC} + <i>SKIV2L</i> ^{GA/AA}	11 (12.6)	76 (87.4)	9 (11.2)	71 (88.8)	0.816 (0.87; 0.34-2.23)
<i>CFH</i> ^{TC/CC} + <i>MYRIP</i> ^{GA/AA}	45 (51.7)	42 (48.3)	30 (37.5)	50 (62.5)	0.087 (0.56; 0.30-1.03)
<i>CFH</i> ^{TC/CC} + <i>SKIV2L</i> ^{GA/AA} + <i>MYRIP</i> ^{GA/AA}	5 (5.7)	82 (94.3)	7 (8.7)	73 (91.3)	0.554 (1.57; 0.47-5.17)

OR: Odds Ratio

Hasta grubundan kuru ve yaş tip YBMD'li bireyler arasında da; CFH+SKIV2L (p=0.110), CFH+MYRIP (p=0.831) ve CFH+SKIV2L+MYRIP (p=0.669) gen polimorfizmlerinin birlikteliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 25).

Tablo 25: Kuru ve yaş tip YBMD'li olgularda *CFH*, *SKIV2L*, *MYRIP* genlerindeki polimorfizmlerin birlikteliği

	Kuru Tip		Yaş Tip		p (OR; 95%CI)
	n (%)		n (%)		
	(+)	(-)	(+)	(-)	
CFH ^{TC/CC} + SKIV2L ^{GA/AA}	8 (19)	34 (81)	3 (6.6)	42 (93.4)	0.110 (0.30; 0.07-1.23)
CFH ^{TC/CC} + MYRIP ^{GA/AA}	21 (50)	21 (50)	24 (53.3)	21 (46.7)	0.831 (1.14; 0.49-2.65)
CFH ^{TC/CC} + SKIV2L ^{GA/AA} + MYRIP ^{GA/AA}	3 (7.1)	39 (92.9)	2 (4.4)	43 (95.6)	0.669 (0.60; 0.09-3.81)

OR: Odds Ratio

TARTIŞMA

Tıp alanındaki gelişmeler sonucu beklenen yaşam süresinin artmasına paralel olarak hem dünyadaki hem de ülkemizdeki yaşlı nüfusun genel popülasyona oranı her geçen yıl artmaktadır. Bu gelişmelerin sonucunda, yaşlanmanın doğal sonucu olan dejeneratif sürecin primer rolü üstlendiği multifaktöriyel hastalıklar ile ilgili tanı ve tedavi modalitelerinde yeni arayışlar ön plana çıkmaya başlamıştır. Yaşlanma sürecinin en çok etkilediği organlardan birisi gözdür. Katarakt, glokom gibi hastalıkların tedavilerinde önemli yöntemler geliştirilmiş olmakla birlikte YBMD için henüz kesin bir koruyucu ve/veya tedavi edici yöntem geliştirilememiştir. Bunun sonucu olarak YBMD; özellikle gelişmiş ülkelerdeki santral, kalıcı görme kaybının önemli bir nedeni olup 65 yaş üzerindeki körlüğün en yaygın sebebini oluşturmaktadır (4).

YBMD; erken, orta ve ileri evre YBMD olarak üçe ayrılır. Erken ve orta evre YBMD drusen varlığı, sayısı ve boyutlarına göre birbirlerinden ayrılırlar. İleri evre YBMD de kendi içerisinde; RPE, fotoreseptör ve koryokapiller kaybı ile karakterize 'atrofik' (kuru veya neovasküler olmayan) ve nöral retinanın hasarlanması sonucu subretinal boşlukta anormal yeni damar oluşumu ile karakterize 'neovasküler' (yaş veya eksudatif) tip olmak üzere iki fenotipe ayrılmaktadır (6,7). Biz çalışmamızda ileri evre YBMD hastalarıyla sağlıklı bireyleri karşılaştırdık.

Olguların çoğunluğunda atrofik tip (%80-90) görülmekle birlikte klinik açıdan görme kayıplarının büyük çoğunluğundan neovasküler tip sorumludur. Bizim çalışmamızda hasta grubunda bulunan olguların yaş ve kuru tip YBMD'ye sahip olma oranları birbirine benzerdi (%52 ve %48). Yaş tipin genel YBMD popülasyonundaki beklenen orandan (%10-20) daha fazla olması, hasta grubumuzun yaş ortalamasının yaş tip YBMD'nin daha sık görüldüğü yaş grubu aralığına (>75 yaş) yakın olmasına bağlı olabilir. Bununla birlikte, yaş ve kuru tip YBMD'ye sahip olguların yaş ortalamalarının birbirine yakın olmasından dolayı (73.18 ± 5.61 vs. 71.02 ± 5.79) bu oranların benzer olması başka nedenlerle açıklanabilir. Birincisi; hastanemizin referans hastane olmasından dolayı, yaş tip YBMD'ye sahip hastaların,

tanılarının dış merkezde konmuş olmasına rağmen, tedavilerinin düzenlenmesi için hastanemize yönlendirilmeleri poliklinikte görülen yaş tip YBMD'li hasta sayısını arttırmaktadır. İkincisi; hasta seçiminde, belirlenen kriterlere bağlılık dışında herhangi bir yanlılık bulunmaması nedeniyle çalışma popülasyonunun geniş ölçekli olmaması da oranların tesadüfen bu şekilde oluşmasını etkilemiş olabilir.

YBMD'deki en önemli risk faktörü 'ileri yaş'tır. Yaş ilerledikçe YBMD gelişme riski de artmaktadır. Blue Mountains çalışmasında 5 yıllık ileri evre YBMD (atrofik ve neovasküler) insidansı toplamda %1.1, ≤ 60 yaş için %0, 60-69 yaş için %0.6, 70-79 yaş için %2.4 ve ≥ 80 yaş için %5.4 olarak bulunurken; 5 yıllık erken evre YBMD insidansı toplamda %8.7, ≤ 60 yaş için %3.2, 60-69 yaş için %7.4, 70-79 yaş için %18.3 ve ≥ 80 yaş için %14.8 olarak bulunmuştur (14). Bizim toplam çalışma popülasyonumuzun yaş ortalaması 67.66 ± 7.22 , hasta ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları da sırasıyla 72.13 ± 5.77 ve 62.80 ± 5.22 idi. Her iki grubun yaşları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0.000$). Bu nedenle hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırıldığı istatistiksel analizler yaşa göre düzeltme yapılarak gerçekleştirildi. Kontrol grubunu oluşturan bireylerin %30'u ($n=24$ hasta) 55-59 yaş arasında yer alırken, YBMD grubunda bu yaş aralığında hiç hasta bulunmaması bu farkın nedeni olabilir. Kontrol grubunun yaş ortalamasının daha düşük olmasının nedeni olgularımızın çalışmaya dahil edilme kriterlerine bağlı olabilir. Doğrudan ileri yaşla ilişkili olan ve YBMD hastalığı ile beraber ileri yaş grubunda daha sık görülen, diyabetes mellitus gibi gözü etkileyebilecek sistemik hastalıkların dışlama kriteri olması kontrol grubunda yaş ortalamasının daha düşük olmasını açıklayabilir.

YBMD'de cinsiyetin bir risk faktörü olup olmadığının araştırıldığı çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmıştır. 'Beaver Dam Eye Study' ve 'Blue Mountains Eye Study' çalışmalarında kadınlarda YBMD'nin daha fazla olduğu gözlenmişken; 'Rotterdam Study' çalışmasında kadınlardaki YBMD prevalansı daha düşük olarak bulunmuştur (14,15,91). Kadınlarda YBMD'nin daha fazla gözlenmesi kadınlardaki beklenen yaşam süresinin erkeklerden daha fazla olmasına bağlı olabilir (12). Bizim çalışma popülasyonumuzda erkek ve kadın cinsiyetlerinin yaş ortalamaları birbirine

yakındı (Erkek: 68.25±7.19; Kadın: 67.01 ± 7.24). YBMD grubu ile kontrol grubu arasında cinsiyet dağılımı açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p=0.537). Çalışma popülasyonumuz, hem sigara kullanımı hem de YBMD gelişimi açısından risk oluşturabileceği düşünülen fakat kesin olarak risk faktörü olarak kabul edilmeyen diğer parametreler (alkol kullanımı, obezite, kan lipit düzeyleri gibi) açısından değerlendirmeye alınmadı.

Son on yılda ‘Tüm Genom İlişkilendirme Çalışmaları’nın (GWAS) yaygın olarak kullanılmaya başlanmasıyla YBMD ile ilişkili olabilecek genler ve bu genlerdeki polimorfizmlerle ilgili birçok çalışma gerçekleştirilmiştir. İlk olarak 2005 yılında üç araştırma grubu tarafından *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizminin YBMD ile ilişkili olduğunun gösterilmesinden sonra yapılan geniş ölçekli çalışmalarda da bu polimorfizmin YBMD için bağımsız risk faktörü olduğunu destekleyen bulgular elde edilmiştir (46,50,51). Bu çalışmalarda rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleli taşımanın YBMD gelişim riskini 2-3 kat arttırdığı gösterilmiştir (45,46,50,51,92-94). Bizim çalışmamızda da rs1061170 polimorfizmi açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0.004). En az 1 adet C alleleline sahip olmak YBMD gelişim riskini 1.86 kat artırırken, CC genotipine sahip olmak riski 2.28 kat arttırmaktadır. İleri yaşın YBMD için bağımsız risk faktörü olmasından ve hasta ve kontrol gruplarımız arasında istatistiksel olarak anlamlı yaş farkı bulunmasından dolayı, yaş faktörünün etkisini sıfırlamak için yaşa göre düzeltme yaptığımızda en az 1 adet C alleleline sahip olmanın YBMD gelişimini 2.42 kat (95%CI 1.22-4.81) arttırdığı saptanmıştır. Bu bulgular, *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleli taşımanın yaştan bağımsız olarak YBMD gelişimi açısından risk faktörü olduğunu desteklemektedir. Ek olarak, hem TT genotipine sahip olmanın (OR=0.44; 95%CI 0.22-0.87) hem de en az 1 adet T alleli taşımanın (OR=0.53; 95%CI 0.34-0.83) YBMD açısından koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Çalışma popülasyonumuzun sayısının göreceli olarak az olmasının bu sonuçları etkileyebileceği düşünülebilir. Bununla birlikte, *Klein ve ark.*’nın rs1061170 polimorfizminin YBMD için risk faktörü olduğunu belirledikleri çalışmalarında da, AREDS çalışma grubundan 96 YBMD hastası ve 50 sağlıklı birey bulunuyordu.

Edwards ve ark., 224 YBMD hastası ve 134 sağlıklı bireyle yaptıkları çalışmalarında rs1061170 polimorfizmi açısından en az 1 adet C alleleline sahip olmanın YBMD riskini (OR=2.70; 95%CI 1.9-3.9) arttırdığını göstermişlerdir.

YBMD ile ilgili ülkemizde son yıllarda bir farkındalık oluşturulmaya çalışılmaktadır. Bununla birlikte ülkemizde, YBMD ile çeşitli genlerdeki polimorfizmler arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çok fazla çalışma bulunmamaktadır. *Soysal ve ark.* tarafından yapılan, YBMD'ye sahip 147 hasta ve sağlıklı 105 bireyin dahil edildiği çalışmada Türk popülasyonundaki YBMD hastalarında *CFH* ve *HTRA1* genlerindeki rs1061170 ve A69S polimorfizmleri araştırılmış, hasta ve kontrol grupları arasında rs1061170 polimorfizmi dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur. *Soysal ve ark.*'nın çalışmasında elde edilen genotip oranlarıyla bizim çalışmamızda bulunan genotip oranları birbirine çok benzerdir. Literatürde, rs1061170 polimorfizmi ile YBMD arasında bir ilişkinin tespit edilemediği çalışmalar da bulunmaktadır (52,94-96). *Magnusson ve ark.*, farklı toplumlardaki rs1061170 polimorfizmi dağılımını inceledikleri çalışmalarında bu polimorfizmin Asya toplumlarında (Japonlarda %8.1, Çinlilerde %6.8) diğer toplumlara (Beyaz ırkta %39, Afrikalılarda %30.7) göre daha az saptandığını bulmuşlardır. *Gotoh ve ark.*, Japon hastalarla yaptıkları çalışmalarında rs1061170 polimorfizmi ile YBMD arasında bir ilişki olmadığına yönelik sonuçlara ulaşmışlardır. Toplumlar arasında farklılıkların olduğunu gösteren çalışmalar gibi aynı toplum içinde farklı sonuçların elde edildiği çalışmalar da bulunmaktadır. Örneğin; Çin toplumundan bireylerle yapılan çalışmalarda, *Xu ve ark.*, yaş tip YBMD'li 121 hasta ve sağlıklı 132 birey arasında rs1061170 polimorfizminin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamazken; *Lau ve ark.*, YBMD'li 163 hasta ve sağlıklı 232 bireyle yaptıkları çalışmalarında 'C' allelinin Çin toplumunda görülme frekansını düşük bulmalarına karşın bu allele sahip olmanın YBMD riskini anlamlı olarak arttırdığını göstermişlerdir. *Lau ve ark.*'nın çalışmalarındaki hastaların Çin'in Tayvan bölgesinden olması iki çalışma arasındaki farkı açıklayabilir. *Soysal ve ark.*'nın yaptığı çalışma ve bizim çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler *CFH* geni rs1061170 polimorfizminin ülkemiz popülasyonu açısından da risk teşkil ettiğini destekleyici niteliktedir. Bununla birlikte, hem bizim

çalışmamız hem de *Soysal ve ark*'nın çalışması ülkemizin belli bir coğrafi bölgesinde yapılmıştır (Denizli ve Afyon). Her iki ilin birbirlerine komşu olup benzer sosyodemografik özelliklere sahip olması, çalışmalar sonucunda elde edilmiş verilerin benzerliğini açıklayabilir. Farklı bölgelerde yapılacak çalışmalar bu polimorfizmin ülkemiz genelindeki dağılımını belirlemek açısından daha yararlı olacaktır.

Yapılan çalışmalarda rs1061170 polimorfizminin daha çok yaş tip YBMD'ye sahip olgularda gözleendiğine yönelik veriler bulunmaktadır (46,50-53,97). Bizim çalışmamızda ise kuru ve yaş tip olgular arasında rs1061170 polimorfizminin dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p=1.000$). Kuru ve yaş tip YBMD'li olgular ayrı ayrı kontrol grubundaki bireylerle karşılaştırıldığında; C alleleline sahip olmanın yarattığı riskin kuru tip YBMD'li hasta grubundan kaynaklandığı, T alleleline sahip olmanın yarattığı koruyucu etkinin de yaş tip YBMD'li hastalarla kontrol grubundaki bireyler arasındaki farktan kaynaklandığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, istatistiksel ilişki saptanamayan alt gruplardaki p değerlerinin anlamlılık sınırı olan <0.05 değerine yakın olması, örneklem boyutunun artmasıyla gizli kalmış olan, istatistiksel olarak anlamlı ilişkilerin ortaya çıkabileceğini desteklemektedir. *Magnusson ve ark.*, İzlandalı 278 yaş tip ve 203 kuru tip YBMD hastası ile 171 sağlıklı bireyi karşılaştırdıkları çalışmalarında rs1061170 polimorfizminin her iki tip için de benzer riske sahip olduğunu göstermişlerdir (94).

YBMD'nin tedavisinde cerrahi ve medikal olarak birçok yöntem denenmektedir. VEGF'nin, özellikle yaş tip YBMD'deki rolünün anlaşılması üzerine, esas olarak kanser tedavisinde kullanılan bevasizumab, ranibizumab gibi anti-VEGF ajanlar YBMD tedavisinde de kullanılmaya başlanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (31-33). Bununla birlikte, anti-VEGF tedavisi verilen hastaların bazılarında iyileşme gözlenirken diğerlerinde gözlenmemesi bu tedaviyi etkileyebilecek faktörlerin de araştırılması ihtiyacını doğurmuştur. *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizminin anti-VEGF tedavisine yanıtı etkilediğine dair kümülatif veriler bulunmaktadır (59-61,97). Bu çalışmaların bazılarında C alleli açısından

homozigot olmanın tedaviye yanıtı negatif olarak etkilediği gösterilmişken (59,60); diğerlerinde (61) tedaviye yanıt ile rs1061170 polimorfizmi arasında herhangi bir ilişkili gösterilememiştir. İlginç olarak, bu çalışmalarda, C alleli açısından heterozigot olmanın tedaviyi etkilemediği sonucuna da ulaşılmıştır.

Son yıllarda *VEGF*'nin etkileşimde olduğu diğer genlerdeki polimorfizmlerin de anti-VEGF tedavisine verilen cevap üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yapılmaktadır (60,98,99). *Wang ve ark.* tarafından yapılan çalışmada *PLA2G12A* genindeki rs2285714 polimorfizmi ile anti-VEGF tedavisine iyi yanıt arasında zayıf da olsa bir ilişki saptanmıştır (98). *Wickremasinghe ve ark.* subfoveal koroidal neovaskülarizasyona sahip, anti-VEGF tedavisi verilen 192 YBMD hastasıyla yaptıkları çalışmada *APOE* genindeki $\epsilon 4$ allelinin tedaviye iyi yanıtla ilişkili olduğunu bulmuşlardır (99).

YBMD'nin patofizyolojisinde kronik hipoksi önemli bir yer tutmaktadır. Hücrenin hipoksiye verdiği cevabın düzenlenmesinde major role sahip olan HIF-1 proteininin fonksiyonel etkisi, hipoksik koşullarda stabilize olan α alt birimine bağlıdır. Hücrede hipoksik koşullar meydana geldiğinde, α alt birimini kodlayan *HIF1A* geni, aralarında *VEGF*'nin de bulunduğu birçok genin ekspresyonunu değiştirerek apoptotik, anjiojenik ve glikoz metabolizması ile ilgili yolların aktivitesini regüle eder. *Forsythe ve ark.*, HIF-1'in, hipoksik hücrelerdeki *VEGF* transkripsiyonunun düzenlenmesinde etkili olduğunu göstermişlerdir (73). Non-hipoksik koşullar altında HIF-1 α degrade olduğu için dokularda HIF-1 tespit edilememektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda koroidal neovasküler membranlardan alınan örneklerle yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda HIF-1 α ve HIF-2 α alt birimlerinin varlığı gösterilmiştir (71,72). Literatürde, *HIF1A* genindeki polimorfizmlerle çeşitli kanser türleri ve myokardiyal iskemi gibi kronik hipoksinin rol aldığı hastalıklar arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar bulunmasına rağmen, bu polimorfizmlerin YBMD ile ilişkisinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır.

Yukarıdaki bilgiler ışığında, HIF-1 α 'yı kodlayan *HIF1A* geninin YBMD ile hem direkt (patofizyolojik) hem de indirekt (anti-VEGF tedavisine yanıtı düzenleme) olarak ilişkili olabileceğini düşündüğümüz için çalışmamızda; hem hasta ve kontrol grupları arasında hem de hasta grubumuzdaki kuru ve yaş tip olgular arasında *HIF1A* polimorfizmlerinin dağılımını karşılaştırdık. Çalışmaya dahil edilen hiçbir bireyde rs11549467 (G1790A) polimorfizmine rastlanmamıştır. Ek olarak, hasta ve kontrol grupları arasında rs11549465 (C1772T) polimorfizmi açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Yaş tip YBMD'ye sahip olgularda rs11549465 polimorfizmi kuru tip YBMD'ye sahip olgulara göre daha fazla gözlenmiş olmasına rağmen (sırasıyla %35 ve %19) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (p=0.765). Bununla birlikte, hasta sayısı arttırılırsa kuru ve yaş tip YBMD'ye sahip olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ortaya çıkabilir.

Fransen ve ark., kolorektal kanser hastaları ile yaptıkları çalışmalarında hasta grubuyla kontrol grubu arasında rs11549465 (C1772T) ve rs11549467 (G1790A) polimorfizmleri dağılımı açısından anlamlı bir fark bulamamışlardır; fakat 1772T allelinin ülseratif büyüme paterni gösteren tümöre sahip hastalarda polipoid patern gösteren tümöre sahip hastalara göre anlamlı olarak daha fazla olduğunu bulmuşlardır (100). *Resar ve ark.*, iskemik kalp hastalığına sahip hastalarda C1772T ve G1790A polimorfizmleri ile kollateral oluşumu arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında 1772T allelinin kollateral olmayan hastalarda kollateral gelişen hastalara oranla daha fazla olduğunu bulmuşlar ve 1772CC genotipinin çoklu damar hastalığıyla ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir (77). Bu sonuç C1772T polimorfizminin azalmış HIF-1 aktivitesiyle anjiojenik büyüme faktörlerinin salınımını azalttığını ve sonuç olarak kollateral oluşumunu engellediğini desteklemektedir. Gerek çalışmaya alınan hasta sayısının (n=100) gerekse CT/TT değişimi gözlenen hasta sayısının (n=13/100) az olmasının bu sonuca yol açabileceği ihtimali göz önünde bulundurulmakla birlikte bu polimorfizmin HIF-1'in etkileşimde olduğu farklı genler üzerinde etkili olabileceği veya farklı dokularda farklı fonksiyonel özelliklere sahip olabileceği öne sürülmüştür.

HIF1A polimorfizmlerinin Türk popülasyonundaki dağılımı açısından kanserli hastalarla yapılan 2 çalışma bulunmaktadır. *Apaydın ve ark.*, meme kanserli 102 kadın hastada ve yaş açısından eşleşmiş 102 sağlıklı kadında, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ve dizileme yöntemiyle (olguların %25'i) ekzon 2'deki S28Y (C111A) polimorfizmiyle birlikte, rs11549465 ve rs11549467 polimorfizmlerini araştırmışlar ve rs11549465 polimorfizmi açısından hasta ve sağlıklı grup arasında hem genotip hem de allel frekansları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulamamışlardır. rs11549467 polimorfizmi açısından ise hasta grubundan sadece 4 hastada heterozigot genotip saptamışken kontrol grubunda herhangi bir değişiklik saptamamışlardır. Ek olarak, ekzon 2'deki C111A polimorfizmi açısından tüm hasta popülasyonunda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (75). *Konac ve ark.*, 49 over kanseri, 32 serviks kanseri ve 21 endometriyum kanseri hastasında (toplam 102 jinekolojik kanser olgusu) ve 107 sağlıklı bireyde RFLP yöntemi ile C111A, C1772T ve G1790A polimorfizmlerini araştırmışlar ve 1772T allelinin servikal ve endometriyal kanser hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı ($p<0.001$) olarak daha fazla olduğunu bulmuşlardır. C1772T polimorfizmi açısından over kanserli hastalarla kontrol grubu arasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark bulamamışlardır ($p>0.05$). G1790A polimorfizmi açısından ise tüm çalışma grubundan sadece over kanserli 2 hastada 1790A alleli saptanmıştır. Kontrol grubundaki bireylerde ise herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır (101). Farklı hasta popülasyonlarında yapılan bu iki çalışma ile bizim çalışmamızdan elde edilen bulgular rs11549467 polimorfizminin ülkemiz popülasyonu açısından nadir görülen bir polimorfizm olduğunu desteklemektedir. rs11549467 polimorfizminin dünya genelinde görülme frekansı da %1-5 arasında değişmektedir (102). Örneğin; A allelinin görülme frekansı; Kuzey/Batı Avrupa kökenli, İtalyan ve Meksikalı bireylerde %1, Japonlarda %3 ve Çinli bireylerde %3-5 arasında değişmekteyken; Afrika toplumlarında (Nijerya ve Kenya) hiç A alleli gözlenmemiştir. rs11549465 polimorfizmi açısından elde edilen sonuçlar bu polimorfizmin genelde anjiogenez süreciyle ilişkili olduğunu desteklemekle birlikte YBMD ile ilişkisinin aydınlatılması için daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Iyer ve ark. embriyonik kök hücrelerle yaptıkları çalışmalarında HIF-1 α 'nın non-hipoksik durumlarda da ekspresyonunun arttığını göstermişlerdir (103). Bu durum HIF-1 α ekspresyonunda farklı hücreyel yolakların da yer alabileceğine işaret etmektedir. *Sheridan ve ark.*, koroidal neovasküler membran örneklerinde immünohistokimyasal olarak HIF-1 α ve HIF-2 α dağılımını incelemişler ve bu dokularda HIF-2 α 'nın daha yoğun eksprese edildiğini ve hem HIF-1 α 'nın hem de HIF-2 α 'nın VEGF ile birlikte lokalize olduğunu göstermişlerdir (72). Bu sonuçlar, vücuttaki hemen hemen bütün dokularda eksprese edilen *HIF1A* yerine yeni gelişen vasküler endotelium gibi bazı spesifik dokularda eksprese edilen *HIF2A*'nın da YBMD'de rolü olabileceği görüşünü desteklemektedir. Bu nedenle YBMD'li hastalarda HIF-1'in alt birimlerini kodlayan genlerle ilgili yapılacak daha geniş kapsamlı ve daha geniş ölçekli çalışmalar YBMD-HIF1 ilişkisini aydınlatmada önemli role sahip olacaktır.

YBMD ile ilişkili riskli polimorfizmlere sahip bazı bireylerde hastalığın görülmemesi genomdaki farklı polimorfizmlerin koruyuculuk yaratıp yaratmadığına ilişkin soruları akla getirmiştir. Bu bağlamda yapılan çalışmalarda özellikle 6p21.33 lokusunda yer alan, MHC Class III bölgesi genlerinden, *C2* ve *BF* genlerindeki bazı polimorfizmlerin koruyucu etkilerinin bulunduğuna yönelik sonuçlara ulaşılmıştır (43,45). Son yıllarda, çeşitli kohort gruplarından (AREDS, FARMS vb.) 1896 hasta ve 1866 sağlıklı birey ile yapılan bir GWAS çalışmasında, bu genlerdeki koruyucu polimorfizmlere ek olarak, sahip oldukları fonksiyonlar açısından YBMD ile ilişkili olmaları beklenebilecek *SKIV2L* ve *MYRIP* genlerindeki rs429608 ve rs2679798 polimorfizmlerinin de koruyucu etkiye sahip olduklarına yönelik sonuçlara ulaşılmıştır (45). Bizim çalışmamızda ise hem hasta ve kontrol grupları arasında, hem de hasta grubundaki yaş ve kuru tip YBMD'ye sahip olgular arasında *SKIV2L* ve *MYRIP* genlerindeki bu polimorfizmler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Bu genlerdeki polimorfizmler ile YBMD arasında henüz birkaç çalışmada ilişki tespit edilmesi sonuçlarımızın yorumlanmasını güçleştirmektedir.

Literatürde *SKIV2L* ile YBMD arasındaki ilişkiyi araştıran çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca, yapılan çalışmalarda bu gendeki farklı polimorfizmler araştırılmıştır. *C2* ve *BF* genleri ile birlikte ardışık olarak aynı lokusta yer alan *SKIV2L* geninin, RNA degradasyonunda rolü olması nedeniyle otofajik süreçte yer alabileceği düşünülmektedir (82). YBMD'nin patofizyolojisinden sorumlu olan drusenlerde otofajik markırların bulunması, artmış RPE otofajisinin drusen formasyonu ile ilişkili olabileceğini desteklemektedir (104). *McKay ve ark.* tarafından yapılan çalışmada *SKIV2L*'nin kodlayıcı bölgesinde yer alan R151Q (rs438999) polimorfizminin, YBMD'ye karşı koruyucu bir etkisinin olduğu gösterilmiş fakat; bu etkinin *BF* geninde yer alan R32Q (rs641153) polimorfizminden bağımsız olup olmadığı saptanamamıştır (44). *Kondo ve ark.* tarafından yapılan bir çalışmada da *C2*, *BF*, *RDBP* ve *SKIV2L* genlerindeki polimorfizmlerin, neovasküler YBMD'ye benzer özelliklere sahip Polipoidal Koroidal Vaskülopati (PKV) ile ilişkileri araştırılmış ve *RDBP*'deki intronik rs3880457 ile *SKIV2L*'nin 3' translyasyona uğramayan bölgesinde (3' UTR) yer alan rs2075702 polimorfizmlerinin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (84). *Kopplin ve ark.* tarafından yapılan geniş kapsamlı çalışmada ise rs429608 polimorfizminin koruyucu etkisinin, *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizmi varlığında da devam ettiği gösterilmiştir (45). Han-Çin popülasyonundan 449 yaş tip YBMD'li ve 1025 sağlıklı bireyle yapılan güncel bir çalışmada da rs429608 polimorfizminin YBMD açısından koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (105). Bizim çalışma popülasyonumuzun sayısının bu çalışma gruplarının popülasyonlarına oranla daha düşük olması *SKIV2L* genindeki rs429608 polimorfizmi ile YBMD arasında ilişki kurulamamasına neden olabilir. Bununla birlikte, bu polimorfizmin popülasyonlar arasındaki dağılım farkının da bu sonuca yol açabileceği de akılda tutulmalı ve daha geniş kapsamlı çalışmalarla bu polimorfizmin ülkemiz popülasyonundaki dağılımı araştırılmalıdır.

MYRIP geni; retina pigment epitelindeki melanozom transportundan sorumlu komplekste görevli MyRIP proteinini kodlamaktadır. Bu komplekste yer alan myozin VIIa'yı kodlayan *MYO7A* genindeki mutasyonların Usher Sendromu Tip IB'ye; *RAB27A* proteinini kodlayan *RAB27A* genindeki mutasyonların da Griscelli

Sendromu'na yol açtıkları bilinmektedir. Her iki hastalıkta da göz bulguları bulunmaktadır. Bilgilerimize göre literatürde, MyRIP proteininin retinal pigment epitelindeki fonksiyonu ile ilgili yapılan çalışmalardan başka *MYRIP* geni ile YBMD arasındaki ilişkiyi araştıran çalışma bulunmamaktadır. Sadece *Koplin ve ark.* tarafından yapılan çalışmada, bu gendeki 3 polimorfizmin koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (45). Melanozomun ışığı absorbe etme ve gözü UV ışınların zararlı etkilerinden koruma özelliği göz önünde bulundurulduğunda, melanozomların RPE'nin apikal kısımlarına transportundaki bir bozukluk, UV ışınları aracılığıyla zararlı yıkım ürünlerinin artmasına neden olarak YBMD gelişimine katkıda bulunabilir. Bizim çalışmamızda *MYRIP* geni rs2679798 polimorfizmi ile YBMD arasında bir ilişki bulunamamış olmasına rağmen, bu gendeki polimorfizmlerin daha geniş ölçekli çalışmalarda YBMD ile ilişkisinin aydınlatılmaya çalışılmasıyla farklı sonuçlara ulaşılabilir.

YBMD gelişimini ve/veya prognozunu öngörme açısından sigara, beslenme durumu, VKİ gibi değişkenlerle birlikte bazı genlerdeki polimorfizmlerin varlığının kullanıldığı genetik risk modelleme çalışmaları yapılmıştır (21-24). *Hageman ve ark.*, 1132 neovasküler YBMD hastası ve 822 sağlıklı bireyi dahil ettikleri çalışmalarında, modifiye edilebilir risk faktörlerini dışarıda bırakarak, YBMD ile ilişkili (yatkınlık/koruyuculuk) 11 adet SNP'yi (*CFH*, *CFHR4-5*, *F13B*, *C2*, *CFB*, *C3*, *ARMS2*) analiz etmişler ve bu testin neovasküler YBMD'yi %82 sensitivite ve %63 spesifiteyle predikte ettiğini bulmuşlardır (21). *Jakobsdottir ve ark.*, ileri evre YBMD'li 640 hasta ve sağlıklı 142 bireyle yaptıkları çalışmalarında; *CFH*, *ARMS2/HTRA1* ve *C2* genlerindeki 3 varyantı analiz etmenin tanısal değerinin %74 sensitivite ve %69 spesifiteye sahip olduğunu bulmuşlardır (22). *Seddon ve ark.*, bu polimorfizmlerin yanına modifiye edilebilir risk faktörlerini de ekleyerek yaptıkları analizde, bu risk faktörlerinin aynı genotipe sahip bireylerdeki riski arttırdığını öne sürmüşlerdir (24).

Gelişen teknolojinin genetik bilimine yaptığı katkıyla birlikte, ileri yaş hastalıklarının erken yaşta öngörülmesi ve bireye nasıl bir hastalığa sahip olabileceği ihtimalinin açıklanması ile ilgili etik tartışmalar artmaya başlamıştır. Bu tarz

hastalıklardan olan her türlü kanser tipi ve Huntington ve Alzheimer gibi ağır nörolojik hastalıkların ortaya çıkma ihtimalinin ifade edilmesinin yaratacağı psikolojik yükün, bireyde nasıl bir sonuca yol açacağını tahmin edilememesi bu etik tartışmaların temelini oluşturmaktadır. Bu tarz hastalıklarla karşılaştırıldığında YBMD'nin görece daha hafif bir kliniğe sahip olması ve alınacak koruyucu önlemlerle ortaya çıkışının engellenmesi veya geciktirilmesi daha mümkündür. İleri yaşın dışında, modifiye edilemeyen faktörlerin en önemlisi olan genetik değişikliklerin YBMD ile ilişkilerinin aydınlatılması ve bu genetik değişikliğe sahip bireylerin belirlenmesi; henüz kesin bir tedavi yöntemi geliştirilememiş olan YBMD'nin, belirtilerin başladığı yaştan önce öngörülmesi ve koruyucu yöntemlerin buna yönelik olarak uygulanması açısından büyük öneme sahiptir. Bununla birlikte, genetik değişikliklerin de epigenetik modifikasyonlarla etkilerinin düzenlenebildiğini bilmekteyiz. Gen tedavisi yönteminin yanı sıra farmakogenetik değişikliklere göre geliştirilecek bireysel tedavi yöntemlerinin gelecekte, hastalıkları tedavi etmedeki birinci seçenek olma yolunda hızla ilerlediği düşünülürse, bu hastalıkların patofizyolojilerinde rol alan genleri aydınlatmak üzerine yapılacak çalışmalar bireylere sadece tanısal anlamda hizmet vermekle kalmayıp gelecekteki tedavi planlamalarında da yardımcı olacaktır.

SONUÇLAR

1. Hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı yaş farkı bulunuyordu.
2. Hasta ve kontrol grupları arasında cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuyordu.
3. Hasta grubu cinsiyete göre değerlendirildiğinde erkeklerde yaş tip, kadınlarda kuru tip YBMD daha fazla gözlenmiştir.
4. *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi için, hem genotip dağılımı hem de allel dağılımı açısından hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır.
5. *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi açısından; C allelinin YBMD için riskli allel, T allelinin de koruyucu allel olduğu saptanmıştır.
6. *CFH* geni rs1061170 polimorfizmi dağılımı açısından, kuru ve yaş tip YBMD'li olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.
7. *HIF1A* geni rs11549465 polimorfizmi dağılımı açısından, hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.
8. *HIF1A* geni rs11549465 polimorfizmi dağılımı açısından, yaş tip YBMD'ye sahip olgularda kuru tip YBMD'li olgulara göre daha fazla minör allel gözlenmesine rağmen bu farklılık istatistiksel bir anlam taşımamaktadır.
9. Çalışmaya dahil edilen hiçbir bireyde *HIF1A* geni rs11549467 polimorfizmine rastlanmamıştır.

10. *SKIV2L* genindeki rs429608 ve *MYRIP* genindeki rs2679798 polimorfizmleri açısından da hem hasta ve kontrol grupları arasında hem de kuru ve yaş tip olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.

Sonuç olarak; *CFH* genindeki rs1061170 polimorfizminin Türk toplumunda da YBMD'ye yatkınlık yarattığı tespit edilmiştir. YBMD'nin patofizyolojisinde rol oynayabilecek yeni genler açısından incelediğimiz *HIF1A*, *SKIV2L*, *MYRIP* genlerindeki polimorfizmler ile YBMD arasında ilişki kurulamamıştır.

KAYNAKLAR

- 1- Sheila West and Alfred Sommer. Prevention of blindness and priorities for the future. Special Theme-Blindness. Bulletin of the World Health Organization, 2001; 79:244-248.
- 2- World Health Organization (WHO). World Health Statistics 2012. http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2012/en/ Erişim Tarihi: 15 Kasım 2012
- 3- World Health Organization and IAPB. VISION 2020: THE RIGHT TO SIGHT. Global Initiative for the elimination of avoidable blindness. Action plan 2006-2011
- 4- Mitchell P, Foran S. Age-Related Eye Disease Study Severity Scale and Simplified Severity Scale for Age-Related Macular Degeneration. [Editorial]. Arch Ophthalmol 2005;123:1598-99
- 5- Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, Hofman A, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. Ophthalmology. 2001;108:697-704.
- 6- Deangelis MM, Silveira AC, Carr EA, Kim IK. Genetics of age-related macular degeneration: Current concepts, future directions. Semin Ophthalmol. 2011; 26:77-93.
- 7- Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, Holz FG, Wong TY. Age-related macular degeneration. Lancet 2012; 379:1728-38.
- 8- Parmeggiani F, Romano MR, Costagliola C, Semeraro F, Incorvaia C, D'Angelo S, Perri P, et al. Mechanism of Inflammation in Age-Related Macular Degeneration. Mediators Inflamm. 2012;2012:546786.

- 9- Grunin M, Burstyn-Cohen T, Hagbi-Levi S, Peled A, Chowers I. Chemokine receptor expression in peripheral blood monocytes from patients with neovascular age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012; 53:5292-300.
- 10- Luhmann UF, Lange CA, Robbie S, Munro PM, Cowing JA, Armer HE, Luong V, et al. Differential modulation of retinal degeneration by Ccl2 and Cx3cr1 chemokine signalling. *PLoS One.* 2012;7:e35551.
- 11- Liu B, Wei L, Meyerle C, Tuo J, Sen HN, Li Z, et al. Complement component C5a promotes expression of IL-22 and IL-17 from human T cells and its implication in age-related macular degeneration. *J Transl Med.* 2011;9:1-12.
- 12- Augood CA, Vingerling JR, de Jong PT, Chakravarthy U, Seland J, Soubrane G, Tomazzoli L, et al. Prevalence of age-related maculopathy in older Europeans: the European Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 2006;124:529-35.
- 13- Jonasson F, Arnarsson A, Eiriksdottir G, Harris TB, Launer LJ, Meuer SM, Klein BE, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in old persons: Age, Gene/Environment Susceptibility Reykjavik Study. *Ophthalmology.* 2011; 118:825-30.
- 14- Mitchell P, Smith W, Attebo K, Wong JJ. Prevalence of age-related maculopathy in Australia: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology* 1995; 102:1450-60.
- 15- Klein R, Klein BE, Jensen SC, Meur SM. The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology* 1997; 104:7-21.
- 16- Owen CG, Jarrar Z, Wormald R, Cook DG, Fletcher AE, Rudnicka AR. The estimated prevalence and incidence of late stage age related macular degeneration in the UK. *Br J Ophthalmol.* 2012;96:752-6.

- 17- Snow KK, Cote J, Yang W, Davis NJ, Seddon JM. Association between reproductive and hormonal factors and age-related maculopathy in postmenopausal women. *Am J Ophthalmol* 2002;134:842-8.
- 18- Klein R. Race/Ethnicity and Age-Related Macular Degeneration [Editorial]. *Am J Ophthalmol*. 2011;152:153-4.
- 19- Cong R, Zhou B, Sun Q, Gu H, Tang N, Wang B. Smoking and the risk of age-related macular degeneration: a meta-analysis. *Ann Epidemiol*. 2008;18:647-56.
- 20- DeAngelis MM, Ji F, Kim IK, Adams S, Capone A Jr, Ott J, Miller JW. Cigarette smoking, CFH, APOE, ELOVL4, and risk of neovascular age-related macular degeneration. *Arch Ophthalmol*. 2007;125:49-54.
- 21- Hageman GS, Gehrs K, Lejnine S, Bansal AT, DeAngelis MM, Guymer RH, et al. Clinical validation of a genetic model to estimate the risk of developing choroidal neovascular age-related macular degeneration. *Hum Genomics*. 2011;5:420-40.
- 22- Jakobsdottir J, Gorin MB, Conley YP, Ferrell RE, Weeks DE. Interpretation of genetic association studies: markers with replicated highly significant odds ratios may be poor classifiers. *PLoS Genet*. 2009;5:e1000337
- 23- McKay GJ, Dasari S, Patterson CC, Chakravarthy U, Silvestri G. Complement component 3: an assessment of association with AMD and analysis of gene-gene and gene-environment interactions in a Northern Irish cohort. *Mol Vis*. 2010;16:194-9.
- 24- Seddon JM, Reynolds R, Maller J, Fagerness JA, Daly MJ, Rosner B. Prediction model for prevalence and incidence of advanced age-related macular degeneration based on genetic, demographic, and environmental variables. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50:2044-53.

- 25- Age-Related Eye Disease Study Research Group. 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; 107:2224-32.
- 26- Age-Related Eye Disease Study Research Group. Risk factors for the incidence of advanced age-related macular degeneration in the age-related eye disease study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology* 2005;112:533-9.
- 27- Seddon JM, Cote J, Davis N, Rosner B. Progression of age-related macular degeneration: association with body mass index, waist circumference, and waist-hip ratio. *Arch Ophthalmol* 2003; 21: 785-792
- 28- Tomany SC, Cruickshanks KJ, Klein R, Klein B, Knudston MD. Sunlight and 10-year incidence of early age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Arch Ophthalmol* 2004;122:750-7
- 29- Hyman L, Schachat AP, He Q, Leske MC. Hypertension, cardiovascular disease, and age-related macular degeneration. Age-related Macular Degeneration Risk Factors Study Group. *Arch Ophthalmol* 2000;118:351-8
- 30- Frank RN, Puklin JE, Stock C, Canter LA. Race, iris color, and age-related macular degeneration. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2000;98:109-17.
- 31- Bloch SB, la Cour M, Sander B, Hansen LK, Fuchs J, Lund-Andersen H, Larsen M. Predictors of 1-year visual outcome in neovascular age-related macular degeneration following intravitreal ranibizumab treatment. *Acta Ophthalmol*. 2013;91:42-7.
- 32- Matsumiya W, Honda S, Bessho H, Kusuhara S, Tsukahara Y, Negi A. Early responses to intravitreal ranibizumab in typical neovascular age-related macular degeneration and polypoidal choroidal vasculopathy. *J Ophthalmol*. 2011; 2011:742020.

- 33- Shienbaum G, Gupta OP, Fecarotta C, Patel AH, Kaiser RS, Regillo CD. Bevacizumab for neovascular age-related macular degeneration using a treat-and-extend regimen: clinical and economic impact. *Am J Ophthalmol.* 2012; 153:468-73.
- 34- Age Related Eye Disease Study Research Group. A Randomized, Placebo Controlled Clinical Trial of High- Dose Supplementation with Vitamins C and E and Beta Carotene and Zinc for Age Related Macular Degeneration and Vision Loss. AREDS Report No 8. *Arch Ophthalmol.* 2001;119:1417-36.
- 35- SanGiovanni JP, Chew EY, Agrón E, Clemons TE, Ferris FL 3rd, Gensler G, et al. The relationship of dietary omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acid intake with incident age-related macular degeneration: AREDS report no. 23. *Arch Ophthalmol.* 2008;126:1274-9.
- 36- Sangiovanni JP, Agrón E, Meleth AD, Reed GF, Sperduto RD, Clemons TE, et al. {omega}-3 Long-chain polyunsaturated fatty acid intake and 12-y incidence of neovascular age-related macular degeneration and central geographic atrophy: AREDS report 30, a prospective cohort study from the Age-Related Eye Disease Study *Am J Clin Nutr.* 2009;90:1601-7.
- 37- Kenney MC, Hertzog D, Chak G, Atilano SR, Khatibi N, Soe K, et al. Mitochondrial DNA haplogroups confer differences in risk for age-related macular degeneration: a case control study. *BMC Med Genet.* 2013 Jan 9;14:4
- 38- Canter JA, Olson LM, Spencer K, Schnetz-Boutaud N, Anderson B, Hauser MA, et al. Mitochondrial DNA polymorphism A4917G is independently associated with age-related macular degeneration. *PLoS One.* 2008 May 7;3(5):e2091.
- 39- SanGiovanni JP, Arking DE, Iyengar SK, Elashoff M, Clemons TE, Reed GF, et al. Mitochondrial DNA variants of respiratory complex I that uniquely characterize haplogroup T2 are associated with increased risk of age-related macular degeneration. *PLoS One* 2009;4(5):e5508.

- 40- Mueller EE, Schaier E, Brunner SM, Eder W, Mayr JA, Egger SF, et al. Mitochondrial haplogroups and control region polymorphisms in age-related macular degeneration: a case-control study. *PLoS One* 2012;7(2):e30874.
- 41- Wells JA, Murthy R, Chibber R, Nunn A, Molinatti PA, Kohner EM, et al. Levels of vascular endothelial growth factor are elevated in the vitreous of patients with subretinal neovascularisation. *Br J Ophthalmol* 1996;80: 363-366.
- 42- Fang AM, Lee AY, Kulkarni M, Osborn MP, Brantley MA Jr. Polymorphisms in the VEGFA and VEGFR-2 genes and neovascular age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 2009 Dec 10;15:2710-9
- 43- Gold B, Merriam JE, Zernant J, Hancox LS, Taiber AJ, Gehrs K, et al. Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat Genet.* 2006 Apr; 38 (4): 458-62.
- 44- McKay GJ, Silvestri G, Patterson CC, Hogg RE, Chakravarthy U, Hughes AE. Further assessment of the complement component 2 and factor B region associated with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009 Feb;50(2):533-9.
- 45- Kopplin LJ, Igo RP Jr, Wang Y, Sivakumaran TA, Hagstrom SA, Peachey NS, et al. Genome-wide association identifies SKIV2L and MYRIP as protective factors for age-related macular degeneration. *Genes Immun.* 2010 Dec;11(8): 609-21.
- 46- Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, Tsai JY, Sackler RS, Haynes C, et al. Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005 Apr 15;308(5720):385-9.
- 47- Hecker LA, Edwards AO, Ryu E, Tosakulwong N, Baratz KH, Brown WL, et al. Genetic control of the alternative pathway of complement in humans and age-related macular degeneration. *Hum Mol Genet.* 2010;19:209-15.

- 48- Jha P, Bora PS, Bora NS. The role of complement system in ocular diseases including uveitis and macular degeneration. *Mol Immunol.* 2007 Sep;44(16):3901-8.
- 49- Hageman GS, Anderson DH, Johnson LV, Hancox LS, Taiber AJ, Hardisty LI, et al. A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:7227-32.
- 50- Edwards AO, Ritter R 3rd, Abel KJ, Manning A, Panhuysen C, Farrer LA. Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science* 2005 Apr 15;308(5720):421-4.
- 51- Haines JL, Hauser MA, Schmidt S, Scott WK, Olson LM, Gallins P, et al. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science* 2005 Apr 15;308(5720):419-21.
- 52- Lau LI, Chen SJ, Cheng CY, Yen MY, Lee FL, Lin MW, et al. Association of the Y402H polymorphism in complement factor H gene and neovascular age-related macular degeneration in Chinese patients." *Invest Ophthalmol.Vis.Sci* 2006 Aug;47(8):3242-6.
- 53- Ormsby RJ, Ranganathan S, Tong JC, Griggs KM, Dimasi DP, Hewitt AW, et al. Functional and structural implications of the complement factor H Y402H polymorphism associated with age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008 May;49(5):1763-70.
- 54- Chen H, Yu KD, Xu GZ. Association between variant Y402H in age-related macular degeneration (AMD) susceptibility gene CFH and treatment response of AMD: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(8):e42464.
- 55- Seddon JM, Gensler G, Milton RC, Klein ML, Rifai N. Association between C-reactive protein and age-related macular degeneration. *JAMA.* 2004 Feb 11;291(8):704-10.

- 56- Bora PS, Sohn JH, Cruz JM, Jha P, Nishihori H, Wang Y, et al. Role of complement and complement membrane attack complex in laser-induced choroidal neovascularization. *J Immunol.* 2005 Jan 1;174(1):491-7.
- 57- Bora NS, Kaliappan S, Jha P, Xu Q, Sohn JH, Dhaulakhandi DB, et al. Complement activation via alternative pathway is critical in the development of laser-induced choroidal neovascularization: role of factor B and factor H." *J.Immunol.* 2006 Aug 1;177(3):1872-8.
- 58- Soysal Y, Inan UÜ, Küsbeci T, Imirzalioglu N. Age-related macular degeneration and association of CFH Y402H and LOC387715 A69S polymorphisms in a Turkish population. *DNA Cell Biol.* 2012 Mar;31(3):323-30
- 59- Kloeckener-Gruissem B, Barthelmes D, Labs S, Schindler C, Kurz-Levin M, Michels S, et al. Genetic association with response to intravitreal ranibizumab in patients with neovascular AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011 Jul 1;52(7):4694-702.
- 60- Nischler C, Oberkofler H, Ortner C, Paikl D, Riha W, Lang N, et al. Complement factor H Y402H gene polymorphism and response to intravitreal bevacizumab in exudative age-related macular degeneration." *Acta Ophthalmol.* 2011 Jun;89(4):e344-9.
- 61- Yamashiro K, Tomita K, Tsujikawa A, Nakata I, Akagi-Kurashige Y, Miyake M, et al. Factors associated with the response of age-related macular degeneration to intravitreal ranibizumab treatment. *Am J Ophthalmol.* 2012 Jul;154(1):125-36.
- 62- Arjamaa O, Nikinmaa M, Salminen A, Kaarniranta K, et al. Regulatory role of HIF-1alpha in the pathogenesis of age-related macular degeneration (AMD). *Ageing Res Rev.* 2009 Oct;8(4):349-58.

- 63- Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995 Jun 6;92(12):5510-14.
- 64- George DJ, Kaelin WG Jr. The von Hippel-Lindau protein, vascular endothelial growth factor, and kidney cancer. *N Engl J Med*. 2003 Jul 31;349(5):419-21.
- 65- Huang LE, Gu J, Schau M, Bunn HF. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha is mediated by an O₂-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998 Jul 7;95(14):7987-92.
- 66- Lange CA, Luhmann UF, Mowat FM, Georgiadis A, West EL, Abrahams S, et al. Von Hippel-Lindau protein in the RPE is essential for normal ocular growth and vascular development. *Development*. 2012 Jul;139(13):2340-50.
- 67- Iyer NV, Leung SW, Semenza GL. The human hypoxia-inducible factor 1alpha gene: HIF1A structure and evolutionary conservation." *Genomics* 1998 Sep 1;52(2):159-65.
- 68- Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia." *J.Appl.Physiol* 2000 Apr;88(4):1474-80.
- 69- Ikeda Y, Yonemitsu Y, Onimaru M, Nakano T, Miyazaki M, Kohno R, et al. The regulation of vascular endothelial growth factors (VEGF-A, -C, and -D) expression in the retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res*. 2006 Nov;83(5):1031-40.
- 70- Ozaki H, Yu AY, Della N, Ozaki K, Luna JD, Yamada H, et al. Hypoxia Inducible Factor-1a Is Increased in Ischemic Retina: Temporal and Spatial Correlation with VEGF Expression. *Invest Ophthalmol.Vis Sci*. 1999;40:182-9.
- 71- Shimada H, Kawamura A, Mori R, Yuzawa M. Clinicopathological findings of retinal angiomatous proliferation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2007 Feb; 245(2):295-300.

- 72- Sheridan CM, Pate S, Hiscott P, Wong D, Pattwell DM, Kent D. Expression of hypoxia-inducible factor-1alpha and -2alpha in human choroidal neovascular membranes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009 Oct; 247(10): 1361-7.
- 73- Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, Agani F, Leung SW, Koos RD, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol*. 1996 Sep;16(9):4604-13.
- 74- Tanimoto K, Yoshiga K, Eguchi H, Kaneyasu M, Ukon K, Kumazaki T, et al. Hypoxia-inducible factor-1alpha polymorphisms associated with enhanced transactivation capacity, implying clinical significance. *Carcinogenesis* 2003; Nov;24(11):1779-83.
- 75- Apaydin I, Konac E, Onen HI, Akbaba M, Tekin E, Ekmekci A. Single nucleotide polymorphisms in the hypoxia-inducible factor-1alpha (HIF-1alpha) gene in human sporadic breast cancer. *Arch Med Res*. 2008 Apr;39(3):338-45.
- 76- Fransén K, Fenech M, Fredrikson M, Dabrosin C, Söderkvist P. Association between ulcerative growth and hypoxia inducible factor-1alpha polymorphisms in colorectal cancer patients. *Mol Carcinog*. 2006;45:833-40.
- 77- Resar JR, Roguin A, Voner J, Nasir K, Hennebry TA, Miller JM, et al. Hypoxia-inducible factor 1alpha polymorphism and coronary collaterals in patients with ischemic heart disease. *Chest*. 2005;128:787-91.
- 78- Rajagopalan S, Olin J, Deitcher S, Pieczek A, Laird J, Grossman PM, et al. Use of a constitutively active hypoxia-inducible factor-1alpha transgene as a therapeutic strategy in no-option critical limb ischemia patients: phase I dose-escalation experience. *Circulation* 2007;115:1234-43.
- 79- Forooghian F, Razavi R, Timms L. Hypoxia-inducible factor expression in human RPE cells. *Br J Ophthalmol*. 2007;91:1406-10.
- 80- Dangel AW, Shen L, Mendoza AR, Wu LC, Yu CY. Human helicase gene SKI2W in the HLA class III region exhibits striking structural similarities to the

yeast antiviral gene SKI2 and to the human gene KIAA0052: emergence of a new gene family. *Nucleic Acids Res.* 1995;23:2120-6.

- 81- Yang Z, Shen L, Dangel AW, Wu LC, Yu CY. Four ubiquitously expressed genes, RD (D6S45)-SKI2W (SKIV2L)-DOM3Z-RP1 (D6S60E), are present between complement component genes factor B and C4 in the class III region of the HLA. *Genomics* 1998;53:338-47.
- 82- Qu X, Yang Z, Zhang S, Shen L, Dangel AW, Hughes JH, et al. The human DEVH-box protein Ski2w from the HLA is localized in nucleoli and ribosomes. *Nucleic Acids Res.* 1998;26:4068-77.
- 83- Thakkinstian A, McEvoy M, Chakravarthy U, Chakrabarti S, McKay GJ, Ryu E, et al. The association between complement component 2/complement factor B polymorphisms and age-related macular degeneration: a HuGE review and meta-analysis. *Am J Epidemiol.* 2012;176:361-72.
- 84- Kondo N, Honda S, Kuno S, Negi A. Role of RDBP and SKIV2L variants in the major histocompatibility complex class III region in polypoidal choroidal vasculopathy etiology. *Ophthalmology* 2009;116:1502-09.
- 85- Lopes VS, Ramalho JS, Owen DM, Karl MO, Strauss O, Futter CE, et al. The ternary Rab27a-Myrip-Myosin VIIa complex regulates melanosome motility in the retinal pigment epithelium. *Traffic.* 2007;8:486-99.
- 86- Liu XZ, Hope C, Walsh J, Newton V, Ke XM, Liang CY, et al. Mutations in the myosin VIIA gene cause a wide phenotypic spectrum, including atypical Usher syndrome. *Am J Hum Genet.* 1998;63:909-12.
- 87- Fukuda M, Kuroda TS. Slac2-c (synaptotagmin-like protein homologue lacking C2 domains-c), a novel linker protein that interacts with Rab27, myosin Va/VIIa, and actin. *J Biol Chem.* 2002;277:43096-103.
- 88- Seabra MC, Coudrier E. Rab GTPases and myosin motors in organelle motility. *Traffic.* 2004;5:393-9.

- 89- El-Amraoui A, Schonh JS, Küssel-Andermann P, Blanchard S, Desnos C, Henry JP, et al. MyRIP, a novel Rab effector, enables myosin VIIa recruitment to retinal melanosomes. *EMBO Rep.* 2002;3:463-70.
- 90- Kuroda TS, Ariga H, Fukuda M. The actin-binding domain of Slac2-a/melanophilin is required for melanosome distribution in melanocytes. *Mol Cell Biol.* 2003;23:5245-55.
- 91- Vingerling JR, Dielemans I, Bots ML, Hofman A. The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam study. *Ophthalmology* 1995;102:205-10.
- 92- Hughes AE, Orr N, Patterson C, Esfandiary H, Hogg R, McConnell V, et al. Neovascular age-related macular degeneration risk based on CFH, LOC387715/HTRA1, and smoking. *PLoS Med.* 2007;4:e355.
- 93- Raychaudhuri S, Iartchouk O, Chin K, Tan PL, Tai AK, Ripke S, et al. A rare penetrant mutation in CFH confers high risk of age-related macular degeneration. *Nat Genet.* 2011;43:1232-6.
- 94- Magnusson KP, Duan S, Sigurdsson H, Petursson H, Yang Z, Zhao Y, et al. CFH Y402H confers similar risk of soft drusen and both forms of advanced AMD. *PLoS Med.* 2006;3:e5.
- 95- Gotoh N, Yamada R, Hiratani H, Renault V, Kuroiwa S, Monet M, et al. No association between complement factor H gene polymorphism and exudative age-related macular degeneration in Japanese. *Hum Genet.* 2006;120:139-43.
- 96- Xu Y, Guan N, Xu J, Yang X, Ma K, Zhou H, et al. Association of CFH, LOC387715, and HTRA1 polymorphisms with exudative age-related macular degeneration in a northern Chinese population. *MolVis.* 2008;14:1373-81.
- 97- Chen H, Yu KD, Xu GZ. Association between variant Y402H in age-related macular degeneration (AMD) susceptibility gene CFH and treatment response of AMD: a meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7:e42464.

- 98- Wang VM, Rosen RB, Meyerle CB, Kurup SK, Ardeljan D, Agron E, et al. Suggestive association between PLA2G12A single nucleotide polymorphism rs2285714 and response to anti-vascular endothelial growth factor therapy in patients with exudative age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 2012;18:2578-85.
- 99- Wickremasinghe SS, Xie J, Lim J, Chauhan DS, Robman L, Richardson AJ, et al. Variants in the APOE gene are associated with improved outcome after anti-VEGF treatment for neovascular AMD. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:4072-9
- 100-Fransén K, Fenech M, Fredrikson M, Dabrosin C, Söderkvist P. Association between ulcerative growth and hypoxia inducible factor-1alpha polymorphisms in colorectal cancer patients. *Mol Caarcinog.* 2006;45:833-40.
- 101- Konac E, Onen HI, Metindir J, Alp E, Biri AA, Ekmekci A. An investigation of relationships between hypoxia-inducible factor-1 alpha gene polymorphisms and ovarian, cervical and endometrial cancers. *Cancer Detect Prev.* 2007;31:102-09.
- 102- HapMap Public Release #27 on Genome Browser, <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>. Erişim tarihi: 17 Nisan 2013.
- 103-Iyer NV, Kotch LE, Agani F, Leung SW, Laughner E, Wenger RH, et al. Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 alpha. *Genes Dev.* 1998;12:149-62.
- 104-Wang AL, Lukas TJ, Yuan M, Du N, Tso MO, Neufeld AH. Autophagy and exosomes in the aged retinal pigment epithelium: possible relevance to drusen formation and age-related macular degeneration. *PLoS One.* 2009;4:e4160.
- 105-Lu F, Shi Y, Qu C, Zhao P, Liu X, Gong B, et al. A genetic variant in the SKIV2L gene is significantly associated with age-related macular degeneration in a Han Chinese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2013 Apr 4. pii:iovs.12-11381v1

EKLER

EK-1

Hastalara ait DNA örneklerinin konsantrasyon ve A260/280 değerleri

Hasta No (H1-H26)	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280
H1	16.5	1.92
H2	11.6	2.22
H3	47.3	1.93
H4	25.8	1.99
H5	28.4	1.87
H6	21.7	1.99
H7	14.2	1.81
H8	21.6	2.13
H9	13.0	2.20
H10	22.5	1.94
H11	29.4	1.85
H12	28.5	1.94
H13	21.7	1.89
H14	20.0	2.01
H15	18.1	1.82
H16	22.8	1.89
H17	26.1	1.75
H18	14.9	1.80
H19	22.3	1.72
H20	22.2	1.79
H21	19.5	1.71
H22	29.0	2.10
H23	15.2	1.91
H24	22.8	1.70
H25	14.6	1.72
H26	15.8	2.13

Hasta No (H27-H57)	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280
H27	18.8	1.74
H28	23.5	1.86
H29	13.4	2.07
H30	25.6	1.82
H31	25.0	8.74
H32	21.8	1.67
H33	14.3	1.82
H34	25.0	2.01
H35	24.9	1.87
H36	12.8	1.76
H37	24.8	1.69
H38	42.6	1.71
H39	25.9	1.80
H40	26.2	1.68
H41	27.4	1.85
H42	14.0	1.75
H43	27.1	1.81
H44	13.8	1.91
H45	18.4	1.92
H46	14.2	1.90
H47	16.0	2.05
H48	23.1	1.85
H49	13.7	2.10
H50	19.4	1.91
H51	22.5	1.89
H52	19.3	1.84
H53	21.2	1.96
H54	28.8	1.85
H55	12.5	1.95
H56	23.8	1.80
H57	16.2	1.93

Hasta No (H58-H87)	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280
H58	45.9	1.73
H59	32.5	1.81
H60	31.9	1.74
H61	35.2	1.75
H62	39.5	1.85
H63	33.5	1.78
H64	26.2	1.69
H65	30.6	1.74
H66	38.1	1.78
H67	44.6	1.68
H68	13.6	1.61
H69	14.6	1.75
H70	19.0	1.90
H71	12.7	1.94
H72	21.8	1.87
H73	15.9	1.84
H74	25.4	1.62
H75	14.2	1.76
H76	12.7	1.77
H77	15.0	2.04
H78	20.6	1.80
H79	24.2	1.82
H80	26.8	1.78
H81	35.3	1.81
H82	22.7	1.79
H83	32.3	1.92
H84	28.1	1.96
H85	18.4	1.74
H86	13.9	1.84
H87	36.5	1.66

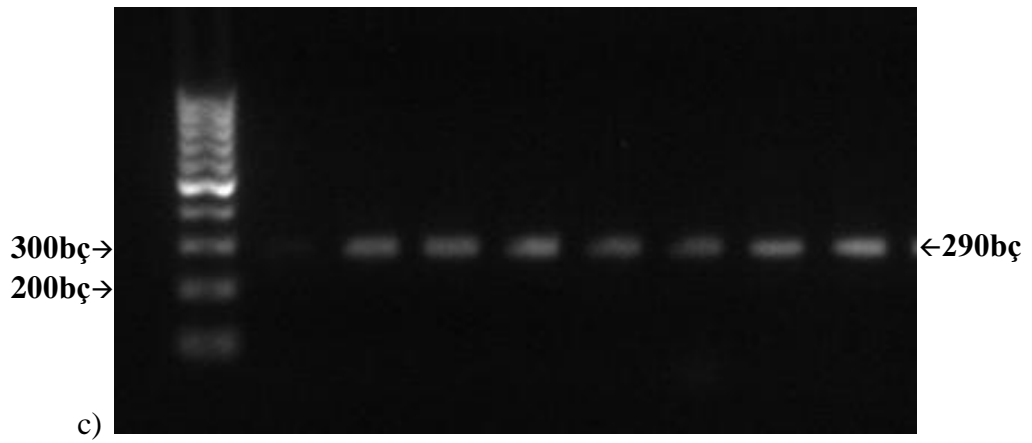
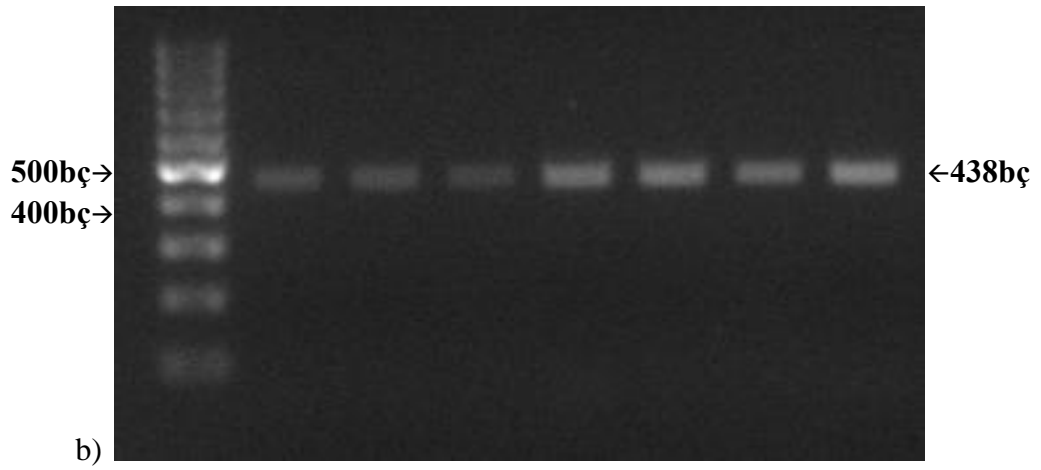
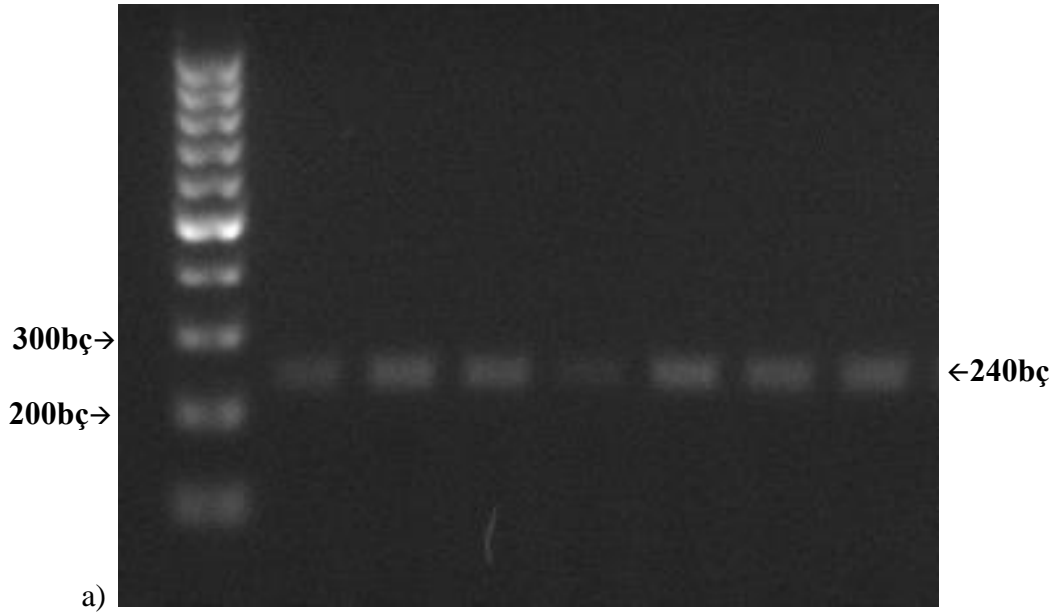
Kontrol grubuna ait DNA örneklerinin konsantrasyon ve A260/280 değerleri

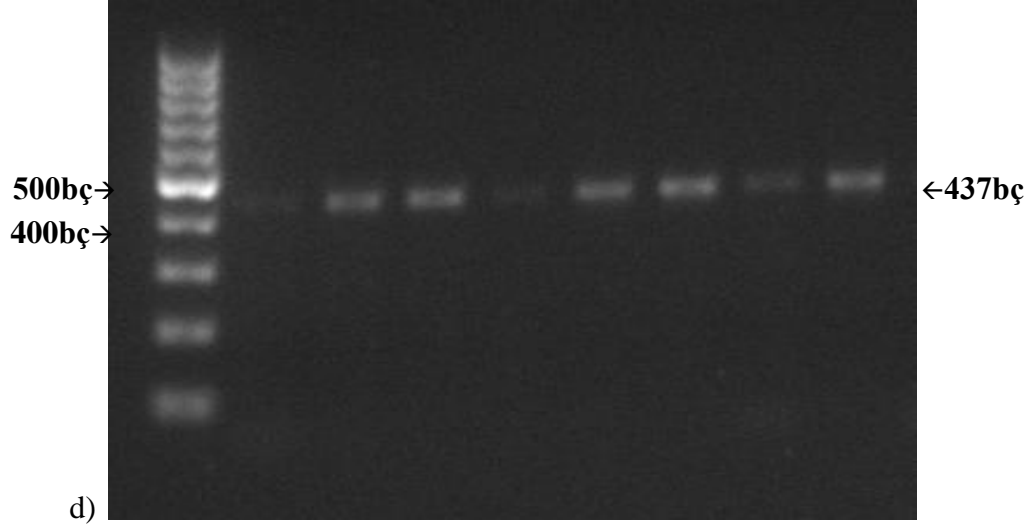
Kontrol No (K1-K29)	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280
K1	19.3	1.92
K2	38.0	1.84
K3	26.3	1.96
K4	22.4	1.79
K5	41.5	1.87
K6	20.7	1.89
K7	20.1	1.88
K8	19.7	1.82
K9	10.5	1.77
K10	18.3	1.75
K11	43.7	1.76
K12	9.10	1.82
K13	18.9	1.87
K14	16.1	2.05
K15	11.7	2.15
K16	31.7	1.95
K17	20.9	1.75
K18	18.4	1.82
K19	33.9	1.67
K20	25.5	1.80
K21	26.5	1.67
K22	8.10	1.83
K23	25.3	1.80
K24	16.0	1.93
K25	40.3	1.76
K26	24.0	1.87
K27	31.5	1.74
K28	37.1	1.80
K29	25.8	1.84

Kontrol No (K30-K60)	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280
K30	25.7	1.85
K31	22.1	1.61
K32	36.1	1.98
K33	8.20	1.99
K34	16.9	2.02
K35	25.4	1.68
K36	15.2	1.76
K37	18.3	1.71
K38	54.5	1.77
K39	17.8	1.78
K40	43.5	1.75
K41	36.0	1.87
K42	19.9	1.70
K43	18.1	1.78
K44	32.4	1.75
K45	14.3	1.84
K46	18.6	2.1
K47	34.3	1.87
K48	34.8	1.88
K49	28.1	1.64
K50	16.4	1.81
K51	16.9	1.91
K52	10.3	1.77
K53	16.7	1.95
K54	37.2	1.83
K55	26.7	1.88
K56	17.6	1.81
K57	30.8	1.68
K58	13.6	1.63
K59	19.6	1.79
K60	24.9	1.64

Kontrol No (K61-K80)	Konsantrasyon (ng/μl)	A260/280
K61	14.4	1.74
K62	21.8	1.84
K63	34.0	1.82
K64	21.7	1.69
K65	29.9	1.79
K66	15.1	1.73
K67	58.2	1.66
K68	21.7	1.76
K69	19.1	1.88
K70	29.0	1.67
K71	22.3	1.85
K72	49.2	1.68
K73	19.6	1.78
K74	23.4	1.79
K75	28.6	1.79
K76	32.6	1.80
K77	22.8	1.61
K78	19.6	1.64
K79	14.1	1.72
K80	11.2	1.88

EK-2





Saflaştırma protokolü uygulanan spesifik PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde yürütülerek elde edilen görüntüleri a) CFH, b) HIF1A, c) SKIV2L, d) MYRIP. Markır 100 bç büyüklüğündedir.