

***RORA, ROBO1, CFH VE HTRA1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN  
YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU  
ile İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI***

**Evrin Suna ARIKAN TERZİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ  
DANIŞMAN: Prof.Dr. Mustafa SOLAK  
Tez No: 2014-010**

**2014-Afyonkarahisar**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

*RORA, ROBO1, CFHveHTRA1* GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN YAŞA BAĞLI MAKULA  
DEJENERASYONU İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Evrım Suna ARIKAN TERZİ  
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI  
DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Mustafa SOLAK

Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından  
13.SAĞ.BİL.02 proje numarası ile desteklenmiştir.

Tez No: 2014-010  
2014-Afyonkarahisar

**KABUL ve ONAY**

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Tıbbi Genetik Programı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22/07/2014



Prof. Dr. Mustafa SOLAK

Afyon Kocatepe Üniversitesi

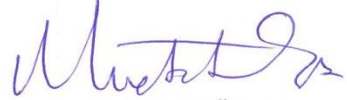
Jüri Başkanı



Prof. Dr. Davut GÜL

Gülhane Askeri Tıp Akademisi

Üye



Prof. Dr. Mustafa ÖZEN

İstanbul Üniversitesi

Üye



Prof. Dr. Ümit Ubeyt İNAN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Üye

Doç. Dr. Mehmet Ali SÖZEN

Afyon Kocatepe Üniversitesi



Raportör

Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Evrim Suna ARIKAN TERZİ'nin "RORA, ROBO1, CFH ve HTRA1 Gen Polimorfizmlerinin Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu ile İlişkisinin Araştırılması" başlıklı tezi 07.08.2014 günü saat 16:00'da. Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Kağan ÜÇÖK

Enstitü Müdürü

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR .....	v
ŞEKİLLER .....	vi
TABLolar .....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Retina anatomisi .....	4
2.2. Fotoreseptörler, retina pigment epiteli, Brunch membran ve koryokapilaris ...	6
2.3. Makulanın anatomisi .....	7
2.4. Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) .....	8
2.4.1. Kuru tip YBMD .....	10
2.4.2. Yaş tip YBMD .....	11
2.4.3. YBMD'nin epidemiyolojisi .....	13
2.4.4. YBMD etiyolojisi .....	14
2.4.4.1. Oksidatif stres .....	14
2.4.4.2. Genetik faktörler .....	15
2.4.4.3. Ruysch kompleksinin bozulması .....	16
2.4.4.4. Mitokondriyal disfonksiyon .....	18
2.4.5. YBMD risk faktörleri .....	18
2.4.5.1. Yaş .....	19
2.4.5.2. Etnik köken .....	19
2.4.5.3. Sigara .....	20
2.4.5.4. Işık Maruziyeti .....	20
2.4.5.5. Hipertansiyon .....	20
2.4.5.6. Beden kitle indeksi (BKİ) .....	21

2.4.5.7. Katarakt ameliyatı .....	21
2.4.5.8. Genetik Yatkınlık .....	22
2.4.6. YBMD genetiği .....	22
2.4.6.1. <i>RORA</i> (RAR-related orphan receptor A) geni .....	24
2.4.6.2. <i>ROBO1</i> (Roundabout, Axon Guidance Receptor, Homolog 1) geni .....	25
2.4.6.3. <i>CFH</i> (Complement Factor H) geni .....	26
2.4.6.4. <i>ARMS2</i> (Age-Related Maculopathy susceptibility Protein 2) geni ...	28
2.4.6.5. <i>HTRA1</i> (HtrA serine peptidase 1) geni .....	30
2.5. Polimorfizm .....	31
2.6. Eş-zamalı PCR Yöntemi (Real-time Polymerase Chain Reaction) .....	32
3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER .....	37
3.1. Örnek Toplanması .....	37
3.2. Kullanılan Kimyasallar .....	37
3.3. Genotipleme .....	38
3.3.1. Test Prensipleri .....	38
3.3.2. PrimerDesign Kit içeriği .....	39
3.3.3. PrimerDesign Kit Protokolü .....	39
3.3.4. Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit içeriği .....	42
3.3.5. Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit protokolü .....	42
3.3.6. İstatistiksel Analizler .....	45
4. BULGULAR .....	46
4.1. Genotip verileri .....	46
4.1.1. <i>RORA</i> geni rs8034864 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları ...	46
4.1.2. <i>ROBO1</i> geni rs1387665 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları ...	47
4.1.3. <i>CFH</i> geni rs1329424 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları .....	48
4.1.4. <i>HTRA1</i> geni rs3793917 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları ..	49

5.TARTIŞMA .....	51
5.1. YBMD ile <i>RORA</i> rs8034864 ve <i>ROBO1</i> rs1387665 polimorfizmlerinin ilişkisi .....	51
5.2.YBMD ile <i>CFH</i> geni rs3793917 polimorfizminin ilişkisi .....	53
5.3.YBMD ile <i>HTRA1</i> geni rs3793917 polimorfizminin ilişkisi .....	55
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	59
ÖZET.....	60
ABSTRACT.....	61
KAYNAKLAR .....	62
ÖZGEÇMİŞ .....	80

## ÖNSÖZ

Doktora tez danışmanım, Sayın rektörümüz Prof. Dr. Mustafa SOLAK'a, eğitimime sağladığı katkılardan ve desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Doktora eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, emeklerini hiçbir zaman esirgemeyen, tezimin hazırlanmasında her zaman yanımda olan çok değerli hocalarım Doç.Dr. Müjgan ÖZDEMİR ERDOĞAN, Yrd.Doç.Dr. S.Handan YILDIZ ve Doç.Dr. Mustafa YILDIZ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu doktora tez çalışmasında, 112S269 numaralı "Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu ile İlişkili Başlıca Gen Polimorfizmlerinin Toplumumuzda İncelenmesi" başlıklı bilimsel TUBİTAK projesi'den yararlanılmıştır. Desteklerinden dolayı proje yürütücüsü sayın Prof.Dr. Ümit Übeyt İNAN'a teşekkür ederim.

Sevgi ve desteğini daima hissettiğim sevgili annem Hülya HORASAN'a ve hayat arkadaşım sevgili eşim Hakan TERZİ'ye çok teşekkür ederim. Tez çalışmasındaki yardımlarından dolayı Yüksek Lisans öğrencisi Ayşen YILDIRIM'a teşekkür ederim.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<i>ARMS2</i>	Age-Related Maculopathy Susceptibility 2
BKİ	Beden kitle indeksi
BlamD	Bazal Laminar Lepozitler
BlinD	Bazal Linear Depozitler
<i>CFH</i>	Complement Factor H
CI	Confidence Interval
CNVM	Koroidal neovasküler membranlar
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer
GWAS	Genome Wide Association Study
<i>HTRA1</i>	HtrA serine peptidase 1
kb	Kilobaz
MAC	Membrane Attack Complex
µl	Mikrolitre
ng	Nanogram
nm	nanometre
OR	Odds Ratio
PCR	Polimeraz Chain Reaction
PEDF	Pigment Epitelyum Derived Faktör
<i>PLEKHA1</i>	Pleckstrin Homology Domain Containing, Family A
qRT-PCR	Real-time reverse-transcription PCR
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
<i>ROBO1</i>	Roundabout, Axon Guidance Receptor, Homolog 1
<i>RORA</i>	RAR-related orphan receptor A
<i>RORβ</i>	RAR-related orphan receptor β
<i>RORγ</i>	RAR-related orphan receptor γ
rs	Reference SNP
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
TGF	Tissue Growth Factor
TNP	Tek Nükleotid Polimorfizmi
UNG	Urasil-N-Glikozilaz
<i>VEGF-A</i>	Vascular Endothelial Growth Factor-A
YBMD	Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu
YBMH	Yaşa Bağlı Makular Hastalık
YBM	Yaşa Bağlı Makulopati



## ŞEKİLLER

Şekil 2.1: Gözün anatomik yapısı .....	4
Şekil 2.2: Retina’da hücrelerin yerleşimi .....	5
Şekil 2.3: Retina katmanları .....	7
Şekil 2.4: Makulanın yerleşimi.....	8
Şekil 2.5: Fovea ve makula merkezli normal bir retina kesiti .....	8
Şekil 2.6:Kuru tip YBMD hastasına ait bir OCT (Optic Coherence Tomography) görüntüsü.....	11
Şekil 2.7: Bruch membran ve fotoreseptörler arasında sıvı birikimi.....	12
Şekil 2.8:Yaş tip YBMD hastasına ait bir OCT (Optic Coherence Tomography) görüntüsü.....	13
Şekil 2.9: <i>RORA</i> geninin kromozomal lokasyonu .....	25
Şekil 2.10: <i>ROBO1</i> geninin kromozomal lokasyonu.....	26
Şekil 2.11: <i>CFH</i> geninin kromozomal lokasyonu .....	28
Şekil 2.12: <i>ARMS2</i> geninin kromozomal lokasyonu .....	30
Şekil 2.13: <i>HTRA1</i> geninin kromozomal lokasyonu .....	31
Şekil 2.14: SYBR Green PCR prensibi .....	33
Şekil 2.15: TaqMan problemlerinin çalışma prensibi .....	34
Şekil 2.16: FRET problemlerinin çalışma prensibi. ....	35
Şekil 3.1: İlgili polimorfizmlere ilişkin genotiplerin allelik discrimination (alelik ayrılma) prensibine göre belirlenmesi.....	44

## TABLULAR

<b>Tablo 2.1:</b> Klasik YBMD'nin farklı formlarının fenotipik özellikleri.....	10
<b>Tablo2.2:</b> YBMD ile ilişkili bazı genler .....	23
<b>Tablo2.3:</b> Kantitatif, eş-zamanlı PCR'de sıklıkla kullanılan boyalar. ....	36
<b>Tablo 3.1:</b> Kullanılan cihazlar .....	37
<b>Tablo 3.2:</b> PrimerDesign kit içeriklerinin sulandırılması.....	40
<b>Tablo 3.3:</b> PrimerDesign reaksiyon karışımı .....	40
<b>Tablo 3.4:</b> PrimerDesign pozitif kontrollerin sulandırılması .....	40
<b>Tablo 3.5:</b> <i>RORA</i> rs8034864 ve <i>HTRA1</i> rs3793917amplifikasyon protokolü .....	41
<b>Tablo 3.6:</b> <i>CFH</i> rs1329424 amplifikasyon protokolü .....	42
<b>Tablo 3.7:</b> Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit içeriklerinin sulandırılması.....	42
<b>Tablo 3.8:</b> 20x primer-prob mix hazırlanması .....	43
<b>Tablo 3.9:</b> Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit reaksiyon karışımı .....	43
<b>Tablo 3.10:</b> <i>ROBO1</i> rs1387665amplifikasyon protokolü .....	44
<b>Tablo4.1:</b> rs8034864, rs1387665, rs1329424 ve rs3793917 polimorfizmlerinin YBMD ile genotipik ilişkisi .....	46
<b>Tablo4.2:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>RORA</i> geni rs8034864 polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı .....	47
<b>Tablo4.3:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>RORA</i> geni rs8034864 polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı.....	47
<b>Tablo4.4:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>ROBO1</i> geni rs1387665polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı .....	48
<b>Tablo4.5:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>ROBO1</i> geni rs1387665polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı.....	48
<b>Tablo4.6:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>CFH</i> geni rs1329424 polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı .....	49
<b>Tablo4.7:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>CFH</i> geni rs1329424polimorfizmine ait alelfrekanslarının dağılımı.....	49
<b>Tablo4.8:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>HTRA1</i> geni rs3793917 polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı .....	50
<b>Tablo4.9:</b> Kontrol ve YBMD grubunda <i>HTRA1</i> geni rs3793917 polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı.....	50

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD) elli yaş ve üzeri kişilerde retinanın merkezi olan makula luteayı etkileyen ilerleyici ve dejeneratif bir hastalık olup 2020 yılında dünya üzerinde 80 milyon insanın YBMD'den etkilenmiş olacağı tahmin edilmektedir (Bird, 2003). Sadece Amerika Birleşik Devletlerinde 1,7 milyon insanın YBMD'den etkilendiği ve bu sayının 2020'ye kadar 3 milyona ulaşacağı beklenmektedir (Friedman ve ark., 2004).

Geri dönüşümsüz görme kaybının birincil sebebi olan YBMD multifaktöriyel etiyolojiye sahip kompleks bir hastalık olup genetik predispozisyonu hastalığın patogeneğinde majör bir risk faktörüdür. Genetik ve çevresel faktörlerin yanı sıra, ilerlemiş yaş, retina pigment epitel (RPE) hücrelerinin boyut ve şekillerindeki değişiklikleri de içeren retinada meydana gelen bazı değişiklikler, Bruch membranının kalınlaşması, iç sınır membranının kalınlaşması ve retinal nöronal elemanların azalması gibi faktörler de YBMD gelişimine neden olmaktadır (Liu ve Xie, 2012). RPE hasarı, oksidatif hasar, mitokondriyal hasar, kompleman aktivasyonu ve enflamasyonun hastalığın gelişiminde etkili olabilecek mekanizmalar olduğu düşünülmektedir (Ambati ve ark., 2003).

Bugüne kadar birçok gen YBMD'nin gelişme riskindeki artışla ilişkilendirilmiştir. YBMD'ye olan genetik yatkınlık ilk olarak vaka-konrol çalışmalarıyla gündeme gelmiştir (Hyman ve ark., 1983). Bu yatkınlık daha sonra hastalığın ailesel dağılım çalışmaları (Klein ve ark.,1994; Silvestri ve ark., 1994; Seddon ve ark., 1997; Klaver ve ark., 1998a), segregasyon analizleri (Heiba ve ark., 1994; Yates ve Moore 2000), ikiz çalışmaları (Meyers ve ark., 1995; Hammond ve ark., 2002) ve klasik linkaj analizi çalışmalarıyla (Klein ve ark., 1998a; Weeks ve ark., 2000; Majewski ve ark., 2003; Schick ve ark., 2003; Seddon ve ark., 2003) desteklenmiştir.

İlerlemiş YBMD yeni kan damarlarının oluşması veya oluşmamasına göre yaş ve kuru tip olmak üzere ikiye ayrılır (Caswell ve ark.,1985, Hageman ve ark., 2001). Eğer damarlanma oluşmamışsa hastalık non-eksudatif veya kuru tip YBMD olarak

isimlendirilir. Aynı zamanda Geografik Afrofi olarak da adlandırılan kuru tip tüm YBMD hastalarının %80-%90'nını oluşturmaktadır (Bressler 2002). Bu patolojiye sahip hastalar tam bir görme kaybı olmadan görme problemleri yaşarlar.

YBMD'de en önemli patolojik değişiklik koroidal neovaskülarizasyondur(Liu ve Xie, 2012). Eğer yeni kan damarlarının oluşması söz konusuysa, yaş tip YBMD, neovasküler YBMD, eksudatif YBMD veya diskiform YBMD olarak isimlendirilir ve tüm YBMD hastalarının %10-%20'sini oluşturur. Görme kaybının büyük bir çoğunluğu (%90) hastalığın en ağır formu olan yaş tipten kaynaklanırken (Bressler 2002) kuru tipte görme kaybı yıllar almaktadır.

Son on yılda genetikçiler, göz doktorları ve optometrisler arasındaki ortak görüş YBMD'ye dahil olan genetik faktörlerin hastalığın gelişiminde düşünülen daha fazla rolü olduğu yönündedir. YBMD patogenezinde rol alabilecek genomik bölgeleri saptayabilmek için farklı stratejiler denenmiş ve ilişkili olabileceği varsayılan pek çok gen bölgesi taranmıştır.

*RORA*(RAR-Related Orphan Receptor Alpha)geni YBMD için bir aday gen olarak gösterilmektedir. *ROR*alfa retinoid ilişkili bir reseptör olup nüklear reseptörlerin ayrı bir alt ailesinin üyesidir. *ROR*alfa'nın bağışıklık/inflamasyon, anjiyogenez, lipid ve kolesterol metabolizması gibi YBMD ile potansiyel ilişkili olduğu düşünülen birçok sürece dahil olduğu bilinmektedir(Besnard ve ark., 2001; Anderson ve ark., 2002; Besnard ve ark., 2002; Klein ve ark., 2003; Boukhtouche ve ark., 2004; Conley ve ark., 2005; Hageman ve ark., 2005;Boukhtouche ve ark., 2006; Zhu ve ark., 2006; Lau ve ark., 2008). *ROBO1* 'in (Roundabout, Axon Guidance Receptor, Homolog 1) YBMD için güçlü bir aday gen olduğu ve ekspresyon paterninin ve öne sürülen fonksiyonunun yaş tip YBMD için aday gösterilmiş olan *RORA* geni ile bağlantılı olduğu öne sürülmüştür (Jun ve ark. 2011).

Kompleman faktör H (CFH), kompleman aktivasyonunu düzenlemede ve aktive yüzeylerde kompleman faaliyetini sınırlamada gereklidir. Bu yüzden *CFH*'nin kompleman inhibisyonu etkisindeki aksamının YBMD patogenezinde rol

oynayabileceği varsayılmaktadır (Gotoh ve ark., 2006; Donoso ve ark., 2006). *CFH* genindeki polimorfizmlerin yaş tip YBMD için yüksek risk oluşturduğu (Nischler ve ark., 2011) ve bunun yanı sıra kuru tip YBMD ile güçlü bir ilişki gösterdiği de rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2011).

*ARMS2*(Age-Related Maculopathy Susceptibility Protein 2)genindeki polimorfizmler özellikle yaş tip YBMD ve kuru tipten yaş tip YBMD gelişmesiyle ilişkilendirilmektedir (Dietzel ve ark., 2011). İspanya popülasyonu ile yapılan bir çalışmada *ARMS2* genindeki polimorfizmlerin YBMD için temel risk faktörlerinden biri olduğu rapor edilmiştir (Brion ve ark., 2011).

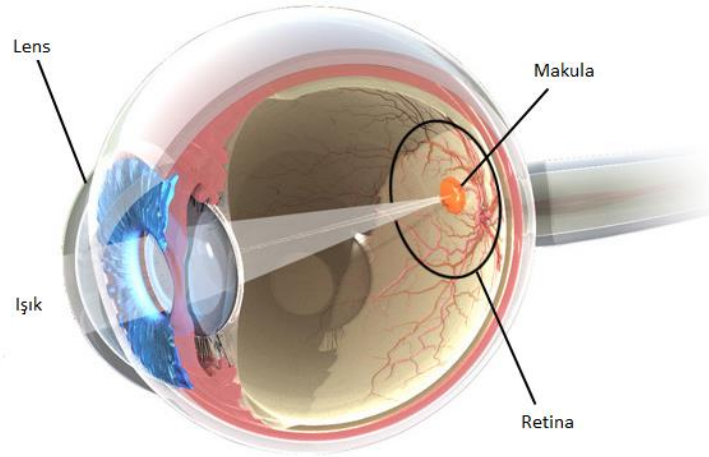
*HTRA1*(HtrA serine peptidase 1) YBMD ile ilişkilendirilen önemli aday genlerden birisidir (Dewan et al. 2006, Yang et al. 2006). *HTRA1* geni retina ve RPE'de büyük ölçüde eksprese olan serin protezların ailesinin bir üyesini kodlamaktadır. YBMD hastalarında, retinanın Bruch membran katmanında *HTRA1*'in ekspresyonu up-regüle edilmiştir (Cameron et al., 2007). *HTRA1*'in bu fazla ekspresyonunun Bruch membranının yeniden modellenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir(Conley ve ark., 2006; Leveziel ve ark., 2007; Sobrin ve ark., 2011).

Bu tez çalışması kapsamında, YBMD ile ilişkili olduğu düşünülen *RORA* rs8034864, *ROBO1* rs1387665, *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmleri yaş tip YBMD hastalarında ve kontrol grubunda genotiplendirilmiştir. Yapılan literatür taramasında ilgili polimorfizmlerin ülkemizde ilk defa bizim çalışmamızda değerlendirildiği görülmüştür. Çalışma sonuçlarımız söz konusu polimorfizmlerin Türkiye'de yaş tip YBMD hastalarındaki dağılımı ve hastalıkla ilişkisi üzerine elde edilen ilk veriler olma özelliğini taşımaktadır. YBMD multifaktöriyel etiyojolojiye sahip kompleks bir hastalık olmasına rağmen herediter özelliği patogenezinde majör bir risk faktörüdür. Bu nedenle, çalışma verilerinin yaş tip YBMD tanısı alan hastaların ailelerine hastalığa yatkınlık açısından bilgilendirici olacağı düşünülmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Retina anatomisi

Retina (tunica intima veya internal tunic) göz küresinin en iç tabakasıdır. Detaylı görmeye özelleşmiş merkezi retina (makula) ve periferal retina olmak üzere iki ayrı bölgeden oluşan oldukça farklılaşmış nöroektodermal bir dokudur (Dowling, 1987) (Şekil 2.1).



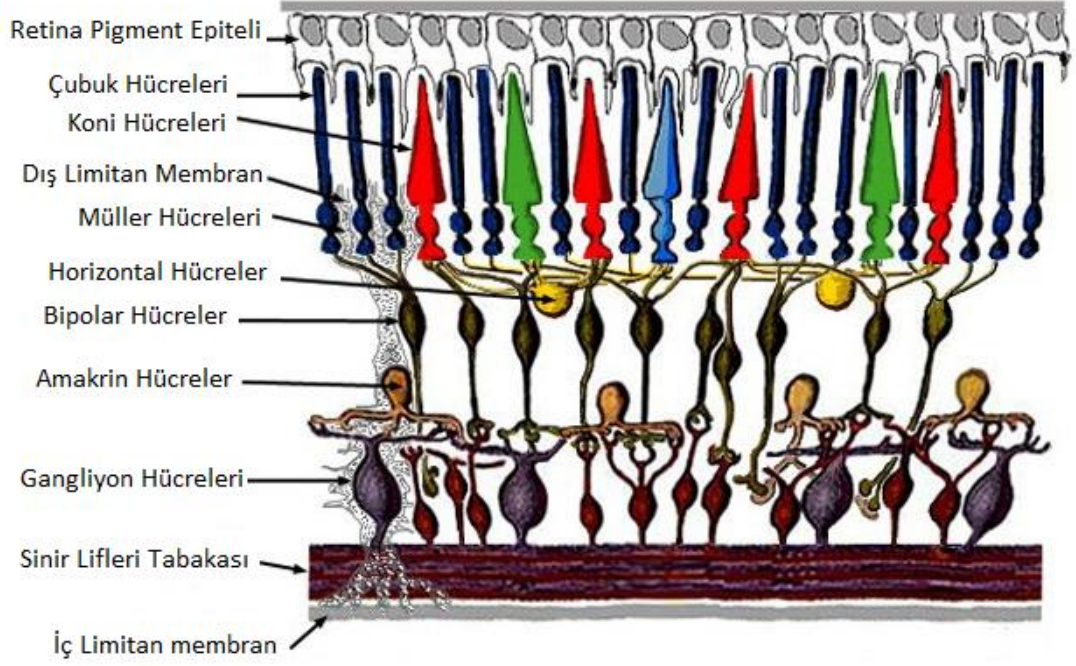
**Şekil 2.1:** Gözün anatomik yapısı (Angiogenesis Foundation 2014'den değiştirilerek).

Üzerinde oluşan görüntüyü optik sinir aracılığıyla beyne ileten retina, çok katlı bir tabaka halindedir. Optik bölümü (pars optica retina) en içte RPE ve onun üzerinde dokuz tabaka olmak üzere on kattan oluşmaktadır (Şekil 2.2).

Bunlar dıştan (koroidden) içe (vitreous humor'a) doğru sırası ile:

1. Pigment epiteli,
2. Fotoreseptörler (Çubuk ve koni fotoreseptörlerinin dış ve iç segmentleri),
3. Dış limitan membran,
4. Dış nükleer tabaka (Çubuk ve koni hücreleri),
5. Dış pleksiform tabaka (koni ve çubuk hücrelerinin aksonları, horizontal ve bipolar hücrelerin dendridleri),
6. İç nükleer tabaka (horizontal, bipolar, amakrin ve Müller hücrelerinin çekirdekleri),

7. İç pleksiform tabakası (bipolar ve amakrin hücrelerinin aksonları ve gangliyon hücrelerinin dendridleri),
8. Gangliyon hücreleri,
9. Sinir lifleri tabakası,
10. İç limitan membrandır(retinayı vitreustan ayırır)(Montgomery, 2014).



**Şekil 2.2:** Retina'da hücrelerin yerleşimi (The Organization of the Retina and Visual System, 2014'den değiştirilerek).

Pigment epitelinden sonra sırasıyla:

1. Bruch membranı,
2. Koryokapilaris (Koroid),
3. Büyük koroidal kan damarları,
4. Sklera (gözün beyaz kısmı) gelmektedir (Şekil 2.3) (Montgomery, 2014).

Yaşa bağlı makula dejenerasyonufotoreseptörleri, RPE'yi,Bruch membranive koryokapilarisi (koroid)etkilemektedir (Berrow, 2011).

## **2.2. Fotoreseptörler, retina pigment epiteli, Bruch membran ve koryokapilaris**

Retinanın ana fonksiyonel komponentleri fotoreseptörlerdir. Fotoreseptörler görme pigmenti rodopsini içeren, yoğunlukla retina periferinde bulunan ve karanlıkta görmeden sorumlu yaklaşık 92 milyon çubuk hücrelerine ilaveten, renkli ve net görme için gerekli olan kırmızı, yeşil veya mavi opsin pigmentlerini içeren ve yoğunlukla makulada bulunan yaklaşık 4.2 milyon koni hücrelerinden oluşmuştur (McCarty ve ark., 2001) (Şekil 2.2). Işık, fotoreseptörlerin dış segment diskleri içinde bulunan rodopsin ve opsin fotopigmentlerinde kimyasal reaksiyona neden olarak görme sürecini başlatır (Montgomery, 2014). Fotoreseptörler sürekli oksijene maruz kalmakta, ışığa maruz kaldıklarında ise serbest radikaller oluşmaktadır. Bu durum zamanla fotoreseptörlerin zarara uğramasına neden olur. Fotoreseptör dış segment diskleri yaklaşık olarak %50 çoklu doymamış yağ asidi (dokosaheksanik asid veya DHA) ve %50 proteinlerden oluşur (Wilson ve ark., 2001). Fotoreseptörler yeni disk membranları oluşturmak üzere seçici olarak DHA alırlar (Evans ve ark., 2005). Fotoreseptör iç segmentlerimitokondrileri içerir ve dış segment ve hücrenin aksonal kısımlarına moleküllerin transportu için gerekli işlemlerde rol oynar. İç segmentler Müller hücreleriyle bağlantılar oluşturur ve birlikte dış sınır membranını meydana getirir. Fotoreseptörler bazal aksonal süreçlerdebipolar ve horizontal hücrelerle sinaps halindedir (Berrow, 2011) (Şekil 2.2).

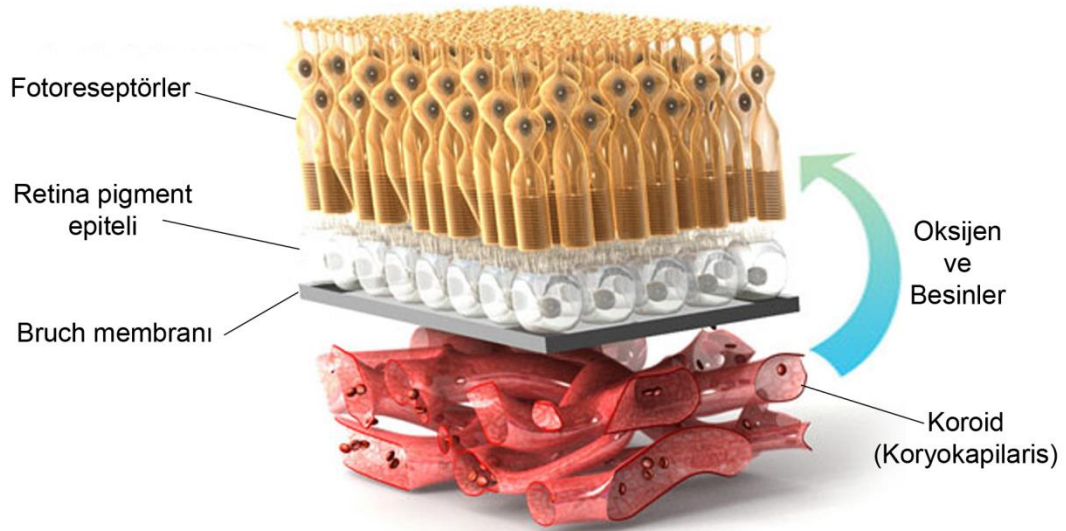
RPE transdüksiyonun meydana geldiği fotoreseptörleri kuşatan çevrenin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynamaktadır (Gallemore ve ark., 1997). Her bir RPE hücresi altında yaklaşık olarak 30 fotoreseptör hücresi uzanmaktadır (Şekil 2.3). Tek katmanlı pigmentli epitel hücrelerinden oluşan RPE, fotoreseptörlere besin sağlanması ve atık maddelerin uzaklaştırılmasından sorumludur. Koroid dokusundaki kanın sızmasını engelleyecek şekilde sıkı paketlenen bu hücreler, askorbik asid ve glukoz gibi küçük moleküllerin retinaya ulaşmasına izin vermektedir (Skeie, 2010).

Bruch membranı, RPE ve koryokapilaris arasında uzanan (Berrow, 2011)ve retinaya oksijen ve besin sağlayan ince bir dokudur (Angiogenesis Foundation, 2014).Majör metabolik transferin meydana geldiği bariyer boyunca yarı geçirgen bir filtrasyon sağlamaktadır (Guymer ve ark., 1999).Yaşa bağlı makula dejenerasyonuna sahip



hastalarda Bruch membran kalınlaşma ve parçalanmaya ilaveten depozitlerin birikmesinden dolayı hasara uğrar (Pauleikhoff ve ark., 1990; Chong ve ark., 2005). Bruch membranının kalınlaşması YBMD derecesiyle doğru orantılıdır ve hem yaş hem de kuru tip YBMD hastalarında gözlenir (Sivaprasad ve ark., 2005). Eğer Bruch membranının bariyer özelliği bozulursa koroid içindeki kan damarları retina içine doğru büyümeye başlar ve yaygın olarak yaş tip YBMD hastalarında gözlenen fotoreseptörlerin zarar görmesine neden olur (Skeie, 2010).

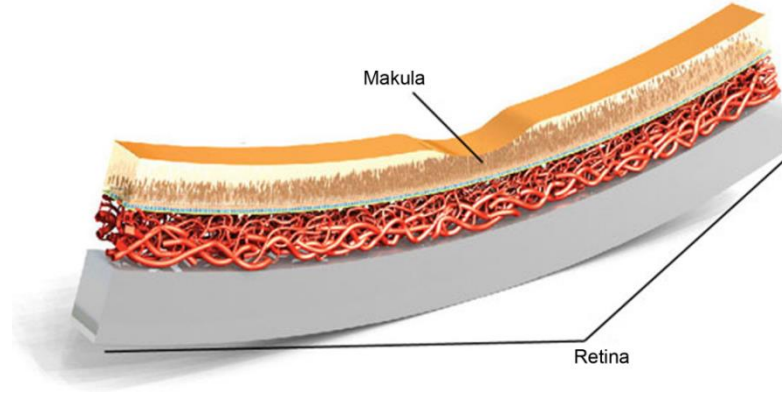
Bruch membranına doğrudan bitişik olan koryokapillaris (koroid) RPE'ye oksijen ve besin sağlayan zengin bir kan damarı ağı içerir ve vücuttaki en perfüze dokular arasındadır (Roh ve Weiter, 2004). Koryokapillaris yoğunluğu yaşın artmasıyla birlikte azalır ve Bruch membran kalınlaşır (Ramrattan ve ark., 1994).



Şekil2.3: Retina katmanları (Angiogenesis Foundation 2014’den değiştirilerek).

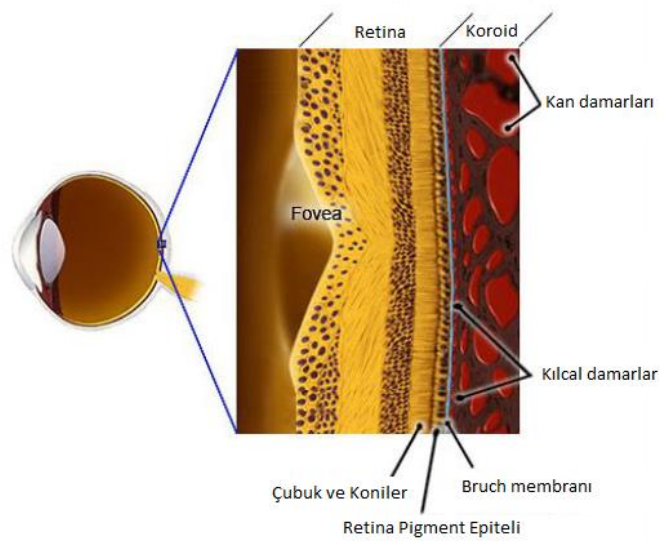
### 2.3. Makulanın anatomisi

Makula, retina tabakasının ortasında sarı nokta (macula lutea) da denilen keskin görmeden sorumlu 5-6 mm çapında çok küçük bir alanı kapsamaktadır (Şevik ve ark., 2009) (Şekil 2.4).



**Şekil 2.4:** Makulanın yerleşimi (Angiogenesis Foundation 2014'den değiştirilerek)

Makular pigmentler olarak tanımlanan ksantofil karotenoidleri lutein, zaksantin ve mezozeaksantin içermesinden dolayı funduskopide gözlenen karakteristik sarı renge sahiptir (Bone ve ark., 1988). Makulanın merkezi fovea olarak isimlendirilir ve renkli ve keskin görmeyi sağlayan çok fazla sayıda koni fotoreseptör hücrelerini içerir (Şekil 2.5).



**Şekil 2.5:** Fovea ve makula merkezli normal bir retina kesiti (Longwille, 2009'dan değiştirilerek).

#### 2.4. Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD)

Yaşa Bağlı Makular Hastalık (YBMH) yaşlı kişilerde makula luteayı etkileyen ilerleyici ve dejeneratif bir hastalıktır (Bird, 2003). Makulanın, özellikle de merkezinde bulunan foveanın fonksiyon dışı kalması, okuma, yüzleri tanıma, araç sürme ve özgürce hareket etme gibi faaliyetleri engellemektedir. Bird'ün (2003),

dejenerasyon kelimesi yerine hastalık kelimesini önermesinin sebebi dejenerasyon kelimesinin YBMH'da rol oynayan tüm patolojik süreçleri kapsamadığını düşünmesidir. Uluslar arası YBMH Epidemiyolojik Çalışma Grubu'nun mevcut nomenklaturüne göre YBMH'nin tüm erken ve geç belirtileri Yaşa Bağlı Makulopati (YBM) olarak isimlendirilirken, YBMD, YBM'nin iki geç basamağına işaret etmektedir (Bird, 1995).

Druzenler, RPE'nin bazal laminası ve Bruch membranının iç kolajen katmanı arasında oluşan glikolipidler, proteinler ve hücresel debristen oluşan patolojik hücre dışı depozitlerdir (Hageman ve ark., 2001; Ambati ve ark., 2003; Theodore ve Ahmad 2007). İlerlemiş yaş ve diğer kororetinal patolojilerle ilişkilidirler (Hageman and Mullins 1999a, Hageman et al. 1999b). Morfolojik olarak sert (<63µm çapında) ve yumuşak (>63µm çapında) druzenler olarak sınıflandırılır.

YBM'nin erken basamağında nöroretina ve RPE dışında bulunan çok sayıda ( $\leq 10$ ) yumuşak druzenler mevcuttur (Katta ve ark., 2009). Dış retinada hiperpigmentasyon veya druzenli koroid, RPE'nin druzenle hipopigmentasyonu gözlenir. Bu erken basamaklar görmeyi etkilemez ancak görme kaybı için kişilerde yatkınlık oluşturur. Sert druzenler YBM'nin karakteristiği değildir. Ancak, birkaç sert druzenin varlığı risk faktörü oluşturmasa da çok sayıda sert druzenler bağımsız olarak YBM'de görme kaybına neden olabilir (Pauleikhoff et al. 1990, Ambati et al. 2003).

YBMD yeni kan damarlarının oluşması veya oluşmamasına göre yaş ve kuru tip olmak üzere ikiye ayrılır (Caswell et al. 1985, Hageman et al. 2001). Eğer damarlanma oluşmamışsa non-eksudatif veya kuru tip YBMD olarak isimlendirilir. Aynı zamanda Geografik Afrofi olarak da bilinen kuru tip tüm YBMD hastalarının %80-%90'nını oluşturmaktadır (Bressler 2002). Eğer yeni kan damarlarının oluşması söz konusuysa, Yaş tip YBMD, neovasküler YBMD, eksudatif YBMD veya diskiform YBMD olarak isimlendirilir ve bu form tüm YBMD hastalarının %10-%20'sini oluşturur. Görme kaybının büyük bir çoğunluğu (%90) hastalığın en ağır formu olan yaş tipten kaynaklanırken (Bressler 2002) kuru tipte görme kaybı oluşumu yıllar almaktadır. Kuru ve Yaş tip YBMD sınıflandırmasında temel

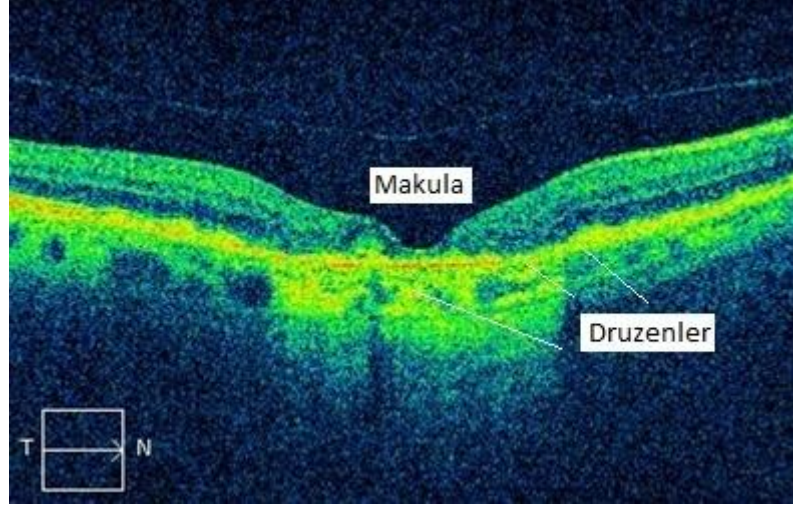
alınan özellikler Tablo 2.1’de verilmiştir. Ancak her ne kadar kuru ve yaş tipin klinik özellikleri birbirinden farklı olsa da RPE’nin hipopigmentasyonu ve/veya hiperpigmentasyonu ile birlikte druzenlerin varlığı hem kuru tip hem de yaş tip ile ilişkili ortak özelliklerdir (Nowak, 2006). İsminden de anlaşılacağı üzere YBMH yaşla ilişkilidir. YBMH 50 yaştan önce çok nadirken prevalansı 70 yaşından sonra hızlı şekilde artış gösterir (van Leeuwen, 2003).

**Tablo 2.1:** Klasik YBMD’nin farklı formlarının fenotipik özellikleri

YBMD tipleri	YBMD alt tipleri	Klinik özellikler
<b>Kuru Tip</b>	Druzen	Çok sayıda pigment değişikliği olan druzenler, yayılmış, düzensiz, hiperotofloresans yamaları
	Geografik atrofi	Net bir şekilde gözlenen koroidal damarlı yuvarlak veya oval RPE atrofik alanlar (175 µm çapında), fotoreseptör hücre ölümü
<b>Yaş tip</b>	Koroidal Neovaskülarizasyon (CNV)	RPE’nin deformasyonuna neden olan ve sub-retinal boşluğa giren koroidde oluşan yeni kan damarları
	Diskiform skar	CNV en son skarlaşmaya neden olmaktadır

#### 2.4.1. Kuru tip YBMD

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu hastalarının büyük çoğunluğu kuru tipe sahiptir. Bu patolojiye sahip hastalar tam bir görme kaybı olmadan görme problemleri yaşarlar. Bulanık görme, merkezi skotomlar ve Amsler Grid testinde çizgilerin gözlenmesindeki zorluklar görme kaybının erken işaretlerini oluşturmaktadır. YBMD’nin bu tipi klinik olarak fundus fotografisinde gözlenen RPE’de dağılmış kahverengi pigmentler ve/veya makula etrafında beyaz veya sarı beneklerle teşhis edilir. Histolojik olarak atrofik YBMD’nin en göze çarpan karakteristiği druzenler, bazal laminar depozitler ve Geografik Atrofi ile sonuçlanan RPE’deki değişikliklerdir (Lutty ve ark., 1999; Grunwald ve ark., 2005) (Şekil 2.6).

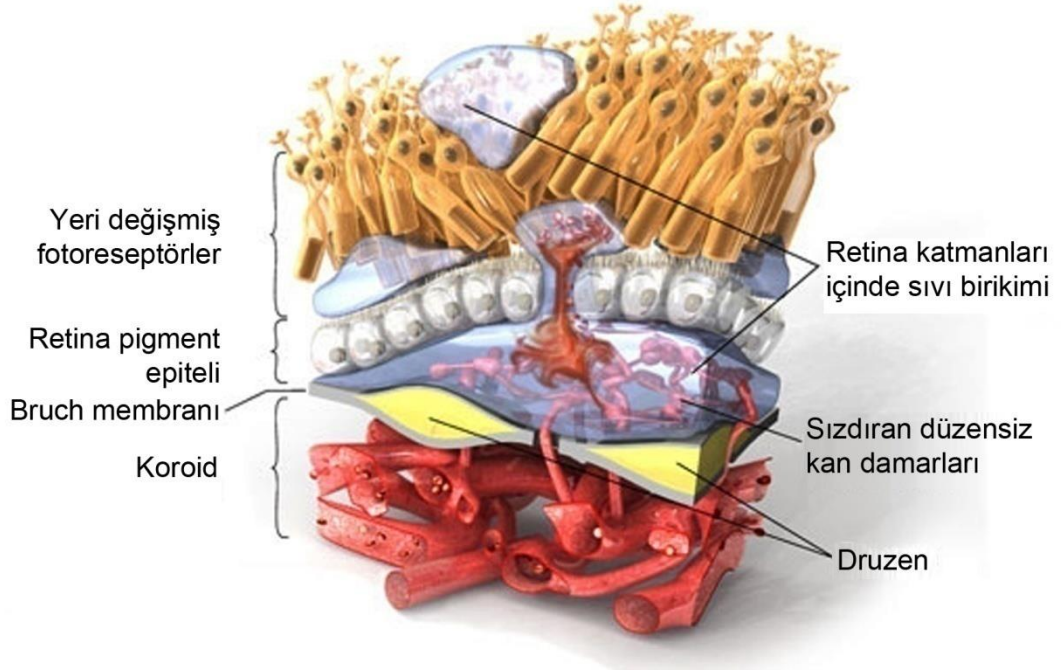


**Şekil 2.6:** Kuru tip YBMD hastasına ait bir OCT (Optic Coherence Tomography) görüntüsü (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Göz Polikliniği'nin izniyle)

#### 2.4.2. Yaş tip YBMD

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu'na sahip hastaların yaklaşık %10-20'si yaş tip geliştirebilmektedir. Bu pataolojinin başlaması dramatik, hızlı ve çoğu zaman da geridönüşümsüz görme kaybına neden olur. YBMD'nin bu tipi klinik olarak makular bölgede fundus fotografisinde gözlenen büyük kırmızımsı kahverengi hemoraj benekleriyle teşhis edilir. Histolojik olarak neovasküler YBMD sub-RPE/retinal bölgede koroidal kan damarlarının (Koroidal neovasküler membranlar: CNVM'ler) anormal şekilde büyümesiyle, hemorajıyla, RPE'nin seröz dekolmanı veya RPE dekolmanı ve fibröz diskiform skarlaşmayla karakterize edilir (Bird, 1995; Spraul ve ark., 1999; Grossniklaus ve Green, 1999) (Şekil 2.7, 2.8). Bu çok basamaklı ilerleyişin muhtemelen koroidden endotel hücrelerinin sub-retinal boşluğa girmesini engelleyen Bruch membranının parçalanmasıyla başladığı bildirilmiştir (Green ve ark., 1985; Bressler ve ark., 1992; Lopez ve ark., 1993). Bruch membranının bütünlüğü birkez bozulduğunda koroidal endotel hücreleri koroidden sub-RPE ve/veya sub-retinal boşluğa göç eder (Lafaut ve ark., 2000; Oshima ve ark., 2005). Bu endotel hücreleri proliferer olurlar, tübülogenez meydana gelir ve sonuçta yeni oluşmuş

damar duvarı boyunca geçirgenliği arttırmak için bağlantı yerlerini yeniden düzenlerler. Bu yeni damarlar kılcallar olarak oluşur ve daha sonra ven ve arterlere dönüşürler (Green, 1999).

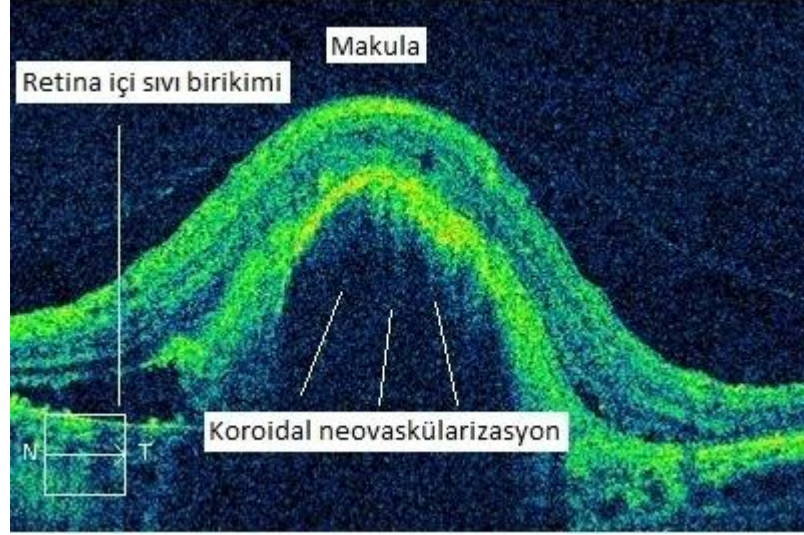


**Şekil2.7:** Bruch membran ve fotoreseptörler arasında sıvı birikimi (Angiogenesis Foundation 2014'den değiştirilerek).

YBMD'deki neovasküler süreçler görme keskinliğinde bir azalmaya neden olmaktadır. Anjiyogenez, sık körlük yapan diyabetik retinopati, prematüre retinopatisi ve YBMD gibi hastalıklarda kritik rol oynamaktadır (Jampol ve ark.,1994). Endotel hücreler üzerinde güçlü mitojenik etkisi olan ve vasküler geçirgenliği arttıran Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü-A (VEGF-A: Vascular Endothelial Growth Factor-A) hipoksik veya iskemik koşullardaki hücrelerden salınarak anjiyogenezi uyarmaktadır (Distler ve ark., 2010). VEGF YBMD'de neovaskülarizasyondan sorumlu esas anjiyogenez uyarıcı maddedir. YBMD'nin patogenezinde önemli bir rol oynayan VEGF'in baskılanması neovasküler YBMD'nin tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu uygulamalar neovasküler membran oluşumunu en aza indirmek için uygulanan en etkili araçlardır. Bununla birlikte, diğer anjiyogenik uyarıların rolünü anlamak ileri tedavilerin geliştirilmesi için çok önemlidir (Van ve ark., 2005). Eğer alternatif uygulamalar geliştirilebilirse



vasküler inflamasyonun ve anjiyogenezin ilk basamaklarının daha iyi anlaşılması çok daha önemli hale gelecektir (Mullins ve ark., 2005).



**Şekil 2.8:** Yaş tip YBMD hastasına ait bir OCT (Optic Coherence Tomography) görüntüsü (Afyon Kocatepe Üniversitesi, Göz Polikliniği'nin izniyle)

### 2.4.3. YBMD'nin epidemiyolojisi

YBMD için önemli epidemiyolojik çalışmalar yapılmıştır. Bunların en kapsamlılarından 1990-1993 arasında Hollanda'da yapılan Rotterdam (Vingerling ve ark., 1996), 1988-1990 arasında ABD'de yapılan Beaver Dam (Klein ve ark., 1997) ve 1992-1993 arasında Avustralya'da yapılan Blue Mountain (Smith ve ark., 1997) çalışmalarında erken ve geç YBMD'nin, özellikle neovasküler YBMD sıklığının yaşla birlikte arttığı tespit edilmiştir. Büyük popülasyonlarla yapılan epidemiyolojik çalışmalar dünya genelinde farklı popülasyonlara ait prevalans verileri sağlamaktadır. Gelişmiş veya gelişmekte olan ülkelerde popülasyondaki yaş ortalamasının artmasıyla YBMD'nin prevalansının hızlı bir şekilde artması beklenmektedir (van Leeuwen, 2003). YBMD prevalansı farklı etnik gruplar arasında değişkenlik gösterir. YBMD beyaz ırkta beyaz olmayanlara nispeten daha yaygındır (Ambati ve ark., 2003). YBMD'nin prevalansı için dünyanın farklı bölgelerinde popülasyon temelli çalışmalar yapılmıştır ancak, çalışmalarda kullanılan teşhis prosedürleri ve tanımlamalar çok çeşitlilik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda

ortak olarak hastalık prevalansının 70 yaşından sonra hızlı bir artış gösterdiği bildirilmiştir. Genel olarak, YBMD'nin prevalansı 65-74 yaşları arasında %1, 75-84 yaşları arasında %5 ve 85 yaş ve üzerindeki yaşlılarda %13'tür. Erken yaşa bağlı makular hastalığın prevalansı ise 64-74 yaşları arasında %15, 75-84 yaşları arasında %25 ve 85 yaş ve üzeri yaşlılarda %30 olarak bildirilmiştir (Bressler ve ark., 1989; Klein ve ark., 1992; Mitchell ve ark., 1995; Vingerling ve ark., 1995; Jonasson ve ark., 2003). Bununla birlikte, fundus fotografisini temel alan standardize sınıflandırma protokollerini kullanan populasyon temelli çalışmalarda farklı prevalans sonuçları rapor edilmiştir (Klein ve ark., 1997; Bressler ve ark., 2001; Klaver ve ark., 2001; Mitchell ve ark., 2002).

Geç yaşa bağlı makular hastalığın 5 yıllık kümülatif insidansı ABD Beaver Dam Eye Study grubunda 65-75 yaşları arası bireylerde %1.3, 75 yaş ve üzeri olanlarda %5.4 iken, sıklıklar erken yaşa bağlı makula hastalığı için sırasıyla %16 ve %23 olarak bildirilmiştir (Klein ve ark., 1997). Avustralya Blue Mountains Eye Study grubunda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (Mitchell ve ark., 2002). European Rotterdam Study grubunda daha düşük sonuçlar elde edilmiş, geç yaşa bağlı makular hastalık için 5 yıllık insidans 65-74 yaşları arasında %0.6, 75 yaş ve üzerinde %2.8 olarak, erken yaşa bağlı makular hastalık için sırasıyla %7 ve %18 olarak rapor edilmiştir (van Leeuwen ve ark., 2003). Her ne kadar insidans hesaplamalarındaki farklılıklardan dolayı karşılaştırmalar zor olsa da, düşük insidans sonuçları, rapor edilmiş olan yüksek prevalans sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir.

#### **2.4.4. YBMD etiyojisi**

YBMD'nin kesin etiyojisi bilinmemesine rağmen birçok hipotez öne sürülmüştür:

##### **2.4.4.1. Oksidatif stres**

Yaşlanma oksijen hasarıyla ilişkilidir (Wallace ve ark., 1998). Retina sürekli yüksek oksijene maruz kaldığı için oksijen hasarına çok duyarlıdır. Reaktif oksijen türleri (ROT'lar) olarak bilinen hidrojen peroksit, tekli oksijen türleri ve serbest radikaller fototransdüksiyon ve hücre metabolizmasının yan ürünleri olarak sentezlenirler



(Dargel, 1992). RPE tarafından fotoreseptörlerin dış segmentlerinin fagosite edilmesi oksidatif stresi arttıracak ROT'ları üretir. Fotoreseptörlerin dış segmentleri çoklu doymamış yağ asitleri ve vitamin A içermektedir. Özellikle makula bölgesindeki fotoreseptörlerin dış segmentleri yüksek oksijen maruziyeti ve ışık iridasyonunda lipid peroksidasyonuna giderler (Delapaz ve Anderson, 1992). Işık iridasyonu fotoreseptör hasarını arttırmaktadır (Organisciak ve Vaughan, 2009). Bu nedenle lipid peroksidasyonunun ışığın neden olduğu retinal dejenerasyona dahil olduğu öne sürülmüştür (Wiegand ve ark., 1983). Sağlıklı bir RPE, retinanın doğru bir şekilde fonksiyon göstermesi için gereklidir fakat RPE hücrelerinin içinde yaşlanmayla beraber biriken lipofuksin granülleri nedeniyle yaşın artmasıyla birlikte değişikliğe uğrar (Kasahara ve ark., 2005). Lipofuksin vitamin A ve lipid peroksidazlardan oluşur. Lipofuksinin sürekli görünür ışığa (400-700nm) ve yüksek oksijene (~70mmHg) maruz kalması ROT'ların sentezlenmesine ve muhtemel RPE hasarına neden olmaktadır (Wassel ve ark., 1999). Lipofuksin insan RPE'sinde 20 yaşından itibaren birikmeye başlar ve yaşam boyu bu birikim devam eder (Delori ve ark., 2001). Lipofuksin retinal ışık hasarı riskini arttırarak YBMD'nin gelişmesine katkıda bulunur (Rosanowska ve ark., 1998).

RPE melanozomlarının ROT'ları tutarak koruyucu etki sağladığıyla ilgili farklı düşünceler mevcuttur (Rosanowski ve ark., 2008). Bu nedenle RPE içindeki melanozomların artan yaşla düşüş göstermesi (Guymer ve ark., 1999) RPE hücreleri tarafından bu ROT'ların tutulmasını azaltmaktadır. Bununla birlikte fototoksik melanin-lipofuksin kompleksleri (melanolipofuksinler) ayrıca yaşın artmasıyla da oluşur ve belki de tek başına lipofuksin birikiminden daha çok RPE'ye zarar vererek YBMD'nin başlamasına neden olabilir (Warburton ve ark., 2007).

#### **2.4.4.2. Genetik faktörler**

Birçok gen YBMD'nin gelişme riskindeki artışla ilişkilendirilmiş ve daha sonra yapılmış çalışmalarla da doğrulanmıştır (Baird ve ark., 2009). Örneğin *ARMS2* (Shuler ve ark., 2008) ve *CFH* gen polimorfizmlerinin YBMD gelişimi için bireylerde yatkınlık oluşturduğu bildirilmiştir (Seddon ve ark., 2007). Kompleman faktör B ve kompleman 2 geni gibi koruyucu genler de tanımlanmış olmasına rağmen mevcut

bilgiler kesin değildir ve yapılacak çalışmalarla doğrulanmaya ihtiyaç vardır (Patel ve ark., 2008). Kalıtımın derecesi ve YBMD'ye katılan genlerin sayısı kesin olarak bilinmese de (Gorin ve ark., 1999) pozitif aile hikâyesi hastalığın gelişmesinde bir risk artışı teşkil etmektedir (Klein ve ark., 1994; Silvestri, 1997; Smith ve Mitchel, 1998; Ting ve ark., 2009). Muhtemelen çevresel uyaranlara maruziyet ve YBMD'ye genetik yatkınlık hastalığın patogenezinde birlikte katkı sağlamaktadır (Evans ve Wormald, 1996; Silvestri, 1997).

#### **2.4.4.3. Ruysch kompleksinin bozulması**

Ruysch Kompleksi RPE, Bruch membran ve koryokapilaristen (koroid) meydana gelir. Bruch membranın geçirgenliği yaşın artmasıyla azalmaktadır (Moore, 1995; Starita ve ark., 1996). Bruch membran içinde çapraz bağlanan kollajen bağlar yaşla artar ve ayrıca UV absorbanı ve floresansında bir yükselme meydana gelir. YBMD'de RPE plazma membranı ve RPE bazal membranı arasında uzun boşluklu kollajenler ve bazal membran proteinlerinin birikimi gözlenir (Sarks ve ark., 2007). Bu depozitler bazal laminalar depozitler olarak isimlendirilir (BlamD). Bazal laminalar depozitleri ise (BlinD) RPE hücrelerinin membranı ile Bruch membran arasında bulunur ve çoğunlukla membran debrisi içerirler (Curcio ve Millican, 1999). Histopatolojik olarak YBMD bu her iki depozitin de varlığıyla karakterize edilir (Green, 1992; Curcio ve Millican, 1999). BlamD'nin varlığının fotoreseptör hücrelerin fonksiyonunu riske girdiği yaşa bağlı makular hastalıkla güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Spraul ve ark., 1998; Johnson ve ark., 2003). BlinD de ayrıca YBMD için spesifiktir (Curcio ve Millican, 1999). Histopatolojik çalışmalar BlamD'nin koroidal neovaskülarizasyon ile doğrudan korelasyon içinde olduğunu göstermiştir (Reale ve ark., 2009; Lommatzsch ve ark., 2007).

Yaşın ilerlemesiyle Bruch membranda lipid içeriği birikir (Pauleikhoff ve ark., 1990; Guymer ve ark., 1999) ve sıvı difüzyonu azalır (Starita ve ark., 1996). Bruch membranın içindeki debrisin RPE'nin metabolik aktivitesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir (Guymer ve ark., 1999). Bu lipid ve protein miktarındaki artış geçirgenliği azaltır ve böylece RPE ve koroid arasında makromolekül akışı engellenmiş olur (Moore ve ark., 2001). Bu durum retinoid eksikliğinden dolayı

fotopigment yenilenmesinde bir yavaşlamaya ve sonunda fotoreseptör kaybına neden olabilir (Curcio ve ark., 2000). Bruch membran RPE hücrelerinin fotoreseptör dış segmentlerini fagosite etmesindeki gerilemeyle ilişkili olarak yaşın ilerlemesiyle kalınlaşır (Sarks,1976; Sun ve ark., 2007), dış retina ve koryokapilaris arasındaki oksijen transport mesafesi artar ve bu durum da dış retinanın oksijensiz kalmasına neden olur (Linsenmeier ve Padnick-Silver, 2000).

RPE'nin normal fonksiyonunda VEGF ve VEGF'nin antagonisti olan PEDF (pigment epitelyum derived faktör) proteinleri RPE içinde dengelenmiştir. Oksidatif stres ile RPE ve Bruch membran içinde depozitlerin birikimi bu dengeyi bozarak(Onno-Matsui ve ark., 2001; Schlingemann, 2004)koroidal neovaskülarizasyonun gelişmesine katkı sağlar (Bhutto ve ark., 2006; Tong ve ark., 2006). RPE ve Bruch membran içinde debrisin birikmesininin bölgede kronik inflamator cevabın tetiklenmesine ve kronik hücresel hasarla sonuçlanabilecek kompleman sistem aktivasyonuna neden olduğu düşünülmektedir (Zarbin, 2004).

Koroidal dolaşımdaki zayıflamanın YBMD'nin gelişiminde rol oynadığına ilişkin kanıtlar mevcuttur. Fotoreseptörlerin oksijen ihtiyacının %90'nı koroidal dolaşım tarafından sağlanmaktadır (Ahmed ve ark., 1993). Bu nedenle zayıflamış koroidal kan akışı YBMD ile ilişkilendirilmiştir (Friedman ve ark., 1995; Ciulla ve ark., 1999). Koryokapilaris yoğunluğu ve lümen çapı yaşın ilerlemesiyle azalmaktadır (Ramrattan ve ark., 1994). Bu durum RPE ve Bruch membrana geçen oksijenin azalmasına ve Bruch membranın kalınlaşmasıyla sonuçlanan atık ürünlerin temizlenmesindeki gerilemeye neden olmaktadır (Zarbin, 2004). Retinal hipoksi Ruysc kompleksinde VEGF salınımını arttırarak ve koroidal neovaskülarizasyona neden olmaktadır (D'amore, 1994, Ambati ve ark.; 2003). Vasküler açıklıklar ilerlemiş YBMD'de daha fazladır (Grunwald ve ark.; 1998). Bu durum koroidal kan akışının azalmasıyla doğru orantılıdır ve koroidal neovaskülarizasyon gelişimi için artmış bir risk teşkil eder (Grunwald ve ark.; 2005).

#### **2.4.4.4. Mitokondriyal disfonksiyon**

Yaşlanma veya oksidatif stres sonucu mitokondrideki hasar, enerji metabolizması ve homeostazında bozukluğa neden olur ve bu durum da apoptotik yolları aktive eder (Liang and Godley 2003). RPE'nin metabolizmanın en aktif bölgesi olmasından dolayı bozulmuş mitokondriyal fonksiyon RPE'nin dejenerasyonuyla sonuçlanabilir ve fotoreseptör hücreleri besin alınımında yetersiz kalır (Wallace, 2005). Mitokondrideki yapısal değişiklikler normal bireylere kıyasla YBMD hastalarının retinasında daha yüksek oranda gözlenmektedir (Feher ve ark., 2006).

#### **2.4.5. YBMD risk faktörleri**

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu multifaktöriyel bir hastalıktır ancak etiopatogenezi net değildir. Hastalığın gelişiminde yaş, sigara içiciliğinin yanı sıra genetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı, YBMD'ye genetik yatkınlık vaka-kontrol asosiyasyon çalışmaları ile gösterilmiş ve daha sonraları ailesel aggregasyon, segregasyon analizi, ikiz çalışmaları ve klasik linkage analizi ile desteklenmiştir (Haddad ve ark., 2006; Scholl ve ark., 2007; Ryu ve ark., 2010). İlerlemiş yaş ve sigara içiciliğinin geç YBMD için büyük risk oluşturduğu bildirilmiştir (Clemons ve ark., 2005; Evans ve ark., 2005; Thornton ve ark., 2005; Connel ve ark., 2009; Chakravarthy ve ark., 2010; Rudnicka ve ark., 2012). İlâveten, aile hikayesi, genetik altyapı, erken YBMD ve geç YBMD başlangıcı için risk faktörleridir (Klaver ve ark., 2001; Ferris ve ark., 2005; Klein ve ark., 2007). Druzen depolanması ile ateroskleroz gelişimi (Friedman, 2000; Curcico ve ark., 2011) arasındaki benzerliklerden dolayı, geleneksel kardiyovasküler risk faktörleri aynı zamanda YBMD için de risk faktörlerini oluşturmaktadır. Bazı çalışmalarda, YBMD hastalarının felç ve koroner kalp hastalığı için artmış risk taşıdıkları rapor edilmiştir (Tan ve ark., 2008; Wieberdink ve ark., 2011), fakat kardiyovasküler hastalıklar ve YBMD arasındaki risk faktörlerinin değerlendirildiği önceki bazı çalışmalarda tutarlı ilişkiler veya güçlü asosiyasyonların olmadığı bildirilmiştir (Connell ve ark., 2009). Her iki hastalık için ortak olan ileri yaş ve sigara içiciliği risk faktörleri haricinde yüksek kan basıncı (van Leeuwen ve ark., 2003; Klein ve ark., 2003) ve obezitenin (Delcourt ve ark., 2001; Seddon ve ark., 2003) de YBMD için risk teşkil ettiği rapor

edilmiştir. Fiziksel aktivitenin ise koruyucu bir rolü olduğu bildirilmiştir (Mares ve ark., 2011).

Bazı çalışmalarda cinsiyet farklılıklarının YBMD epidemiyolojisini etkilediği öne sürülmüştür. Yapılan bir meta analiz çalışmasında kadınların neovasküler YBMD için erkeklere göre biraz daha fazla risk taşıdığı rapor edilmiştir (OR: 1,2; 95% CI, 1.0-1.5) (Rudnicka ve ark., 2012). İlaveten hormonların da YBMD epidemiyolojisinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Feskanich ve ark., 2008; Connell ve ark., 2009). Genetik yatkınlığın YBMD gelişimi üzerinde önemli bir rolü olduğu ile ilgili kanıtlar giderek artmaktadır (Connell ve ark., 2009; Francis ve Klein, 2011). İkiz çalışmalarında YBMD gelişimi üzerine genetik katkının %46-71 arasında değiştiği rapor edilmiştir (Seddon ve ark., 2005).

#### **2.4.5.1. Yaş**

Yaşın YBMD için bir risk faktörü olduğu çeşitli epidemiyolojik çalışmalarda gösterilmiştir. 60-80 yaşları arasındaki bireylerin 60 yaşından küçük bireylere göre YBMD geliştirme riski üç kat daha fazladır (Friedman ve ark., 1999; van Newkirk ve ark., 2000; Muñoz ve ark., 2005). Yapılan çalışmalarda YBMD geliştirme riski açısından 60 yaşından büyük bireylerde OR=3.55, 95%CI, 1.61–7.82 (Nirmalan ve ark., 2004;) ve OR=2.80, 95%CI, 1.69–4.66 (Krishnaiah ve ark., 2005) gibi yüksek değerler rapor edilmiştir.

#### **2.4.5.2. Etnik köken**

Yaşabağlı makula dejenerasyonu prevalansı farklı etnik gruplarda değişmektedir. YMBD'nin tüm tiplerinin beyaz ırkta, beyaz ırka dahil olmayanlara kıyasla daha yaygın olduğu rapor edilmiştir (Friedman ve ark., 1999; Bressler ve ark., 2008). Hastalığın altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak bilinmese de hücrel yaşlanma için bir markör olan ve oksidatif stresi teşvik eden lipofuksinin oluşumuna karşın melaninin koruyucu bir etkisi olabileceği öne sürülmüştür (Kawasaki ve ark., 2008). Bununla birlikte, erken YMBD gözlenen göz ile normal göz arasında

makulada veya pigment yoğunluğunda bir farklılık gözlenmediği de rapor edilmiştir (Kayatz ve ark., 2001).

### **2.4.5.3. Sigara**

Yapılan popülasyon temelli çalışmalarda, sigaranın YBMD için riski arttırdığı ve sigara içmeyenlere göre içenlerde YBMD geliştirme riskinin en az 5 veya 10 yıl öne çekildiğibildirilmiştir (Delcourt ve ark.,1998; Age-Related Eye Disease Study Research Group, 2000; Berendschot ve ark., 2002). Bu risk neovasküler YBMD’de iki veya daha fazla kat atmaktadır (Klein ve ark.,1998a).Sigara içmenin retinayı, RPE’ni veya koroidi nasıl etkilediğine dair gerçek mekanizma bilinmese de YBMD’nin dış retinanın anti oksidan mekanizmasını etkileyen tekrarlanan oksidatif hasardan gelişebileceği hipotezi öne sürülmüştür. Sigara içmenin ayrıca antioksidan dolaşım seviyesini de düşürdüğü bilinmektedir (Berendschot ve ark., 2002).

### **2.4.5.4. Işık Maruziyeti**

Ultraviyole veya görünür ışık ile YBMD arasındaki ilişki üzerine farklı sonuçlar mevcuttur. Yazın dışarıda çok vakit geçirmenin yaş tip YBMD ile (OR = 2.26, 95%CI, 1.06–4.81) önemli derecede ilişkili olduğu rapor edilmiştir(Stryker ve ark.,1988). Darzins ve ark. (1997) ışığa maruziyet ve YBMD arasında bir ilişki gözlememiş, benzer şekilde İngiltere’de yapılan popülasyon temelli çalışmalarda bu sonuç tekrarlanmıştır (Khan ve ark.,2006).

### **2.4.5.5. Hipertansiyon**

Bazı çalışmalarda neovasküler YBMD ve sistemik hipertansiyon arasında bir ilişki rapor edilmiştir. Neovasküler YBMD ve >95 mm Hg olan diastolik kan basıncı arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (OR = 4.4, 95%CI, 1.4–14.2) (Hyman ve ark., 2000). İlaveten AREDS çalışmasında tedavi edilmemiş hipertansiyon ve YBMD arasında bir ilişki rapor edilmiştir (GA için OR=1.34 ve neovasküler YBMD için OR=1.27) (Clemons ve ark.,2005).

#### **2.4.5.6. Beden kitle indeksi (BKİ)**

Bazı çalışmalarda yüksek BKİ ile YBMD arasında bir ilişki rapor edilmiştir (Klein ve ark.,2003; van Leeuwen ve ark., 2003; Johnson, 2005). Johnson (2005) YBMD'de obezite riskinin artmış oksidatif stres, lipoprotein profilindeki değişimler, hücre sel yıkımla sonuçlanan artmış inflamasyon ve makulaya lutein ve zeaksantin ulaşımının azalması gibi fizyolojik değişikliklerle ilişkili olabileceğini bildirmiştir.

#### **2.4.5.7. Katarakt ameliyatı**

Katarakt ve YBMD görme kaybına neden olan ortak sebeplerdir ve 50 yaş üzerindeki bireylerde sıklıkla bir arada meydana gelebilir. Katarakt ameliyatı, katarakt ile tetiklenen görme kaybı için etkili bir tedavi yöntemiye de, bazı klinisyenler böyle bir uygulamanın YBMD'nin ilerleme riskini arttırabileceğini, çünkü katarakt ameliyatı geçirilen gözde daha sonra neovasküler YBMD gözlendiğini öne sürmüşlerdir. Katarakt ameliyatının YBMD ilerlemesini daha da kötüleştirilmesiyle ilgili bazı senaryolar mevcuttur. Katarakt ve YBMD aynı anda ilerlemelerine neden olabilecek sigara ve beslenme gibi ortak risk faktörlerini paylaşmaktadır (Hiller, 1997; Jacques, 2005; Seddon, 2006). İlaveten, inflamator faktörler YBMD oluşumuna katılır ve katarakt ameliyatından sonra meydana gelen inflamasyonun da makular dejenerasyonu kötüleştirilmesi mümkündür. Dahası, doğal lensin kaldırılarak yapay lensin yerleştirilmesi makulanın ışığa daha fazla maruz kalmasıyla ve dolayısıyla UV ışınlarının hasar vermesiyle ilişkilendirilebilir. Wang ve ark. (2003), katarakt ameliyatı ve 5 yıllık YBMD insidansı arasındaki ilişkiyi araştırmış, katarakt ameliyatı geçirilmiş gözlerde neovasküler YBMD ve geografik atrofi geliştirme oranı sırasıyla %6 ve %7.7 olarak tespit edilmişken, katarakt ameliyatı geçirmemiş gözlerde bu oran %0.7 olarak rapor edilmiştir. İlaveten, Nirmalan ve ark. (2004), daha önceden katarakt ameliyatı geçirilmesiyle artmış YBMD prevalansı arasında (OR=3.79, 95%CI, 2.1–6.78) güçlü bir ilişki olduğunu bildirmiştir.

Beaver Dam çalışmasında (Klein ve ark., 1997), katarakt cerrahisi sonrasında hastalığın hızlı ilerleme gösterdiği bulunmuş olsa da, Age-Related Eye Diseases Study Research (AREDS) çalışma grubunun 2003 Amerikan Oftalmoloji Akademisi

kongresinde sunduğu verilere göre, katarakt operasyonunun var olan lezyonun ağır neovasküler YBMD'ye ilerlemesinde etkisinin olmadığı, bunun yanında geografik atrofide ilerlemeye neden olduğu belirtilmiştir (Martin ve AREDS Research Group, 2003).

#### **2.4.5.8.Genetik Yatkınlık**

YBMD'ye olan genetik yatkınlık ilk olarak vaka-kontrol çalışmalarıyla gündeme gelmiştir (Hyman et al. 1983). Bu yatkınlık daha sonradan hastalığın ailesel dağılım çalışmaları (Klein ve ark.,1994; Silvestri ve ark., 1994; Seddon ve ark., 1997), segregasyon analizleri (Heiba ve ark., 1994; Yates ve Moore, 2000), ikiz çalışmaları (Meyers ve ark., 1995; Hammond ve ark., 2002) ve klasik linkaj analizi çalışmalarıyla (Klein ve ark., 1998a; Weeks ve ark., 2000; Majewski ve ark., 2003; Schick ve ark., 2003; Seddon ve ark., 2003) desteklenmiştir. Monozigotik ikizler, dizigotik ikizlere göre YBMD'ye yakalanma riski açısından yüksek bir konkordansa sahiptir (Meyers et al. 1995, Hammond et al. 2002). İlâveten, birinci dereceden akraba olan YBMD probandları genetik faktörlerin YBMD patogeneğinde anahtar bir rol oynadığına ilişkin bilgiler sağlamaktadır(Klein *et al.* 1994; Silvestri *et al.* 1994; Seddon *et al.* 1997; Klaver *et al.* 1998a).

#### **2.4.6. YBMD genetiği**

Son on yılda genetikçiler, göz doktorları ve optometrisler arasındaki ortak görüş YBMD'ye dahil olan genetik faktörlerin hastalığın gelişiminde düşünülenden daha fazla rolü olduğu yönündedir. YBMD patogeneğinde rol alabilecek genomik bölgeleri saptayabilmek için farklı stratejiler denenmiş ve ilişkili olabileceği varsayılan pek çok gen bölgesi taranmıştır. Bu genler farklı kategorilerde sınıflandırılmaktadır:

- İmmün modülasyon ve kompleman sistem genleri
- Membran transport genleri
- Damar gelişimi ve vasküler modülasyon genleri
- Lipid metabolizması genleri
- Diğer genler



YBMD ile ilişkili bazı majör genlerin genomdaki lokalizasyonları ve fonksiyonları Tablo 2.2’de verilmiştir.

**Tablo2.2:** YBMD ile ilişkili bazı genler (Mousavi ve Armstrong, 2013’den değiştirilerek)

Gen	Fonksiyon	Lokasyon	YBMD ile ilişkisi
Apolipoprotein E (APOE)	Lipid transportu	19q13.2	Erken başlangıçlı YBMD
ABCR (ATP-binding cassette rim protein)	Membran transportu	1p22-p22.1	Yaş tip YBMD
ARMS2 (Age-related maculopathy susceptibility protein 2)	Kesinleşmemiş	10q26.13	Yaş tip YBMD
MT-ATP6 (ATP synthase)	ATP’den ADP üretimi	MtDNA	YBMD’ye karışmakta
CFH (Complement factor H)	İnflamator cevabın inhibisyonu	1q32	Bilateral kuru ve yaş tip YBMD
CFB (Complement Factor B)	Alternatif yolağın bileşeni	6p21.3	YBMD
C3 (Complement factor 3)	İnflamator cevaba aracılık etme	19p13.3	Yaş tip YBMD
ERCC6 (DNA excision repair protein)	Tamir bölgelerinde kompleks formasyonu destekleme	10q11.23	YBMD ile muhtemel ilişki
FGF2 (Fibroblast growth factor 2)	Çeşitli biyolojik fonksiyonlar	4q26	Kuru tip YBMD
FBLN5 (Fibulin 5)	Elastin polimerizasyonu	14q32.1	YBMD
LIPC (Hepatic lipase)	IDL’nin LD’ye çevrilmesi	15q21	Yaş ve kuru tip YBMD riskinde azalma
LOXL1 (Lysyl oxidase-like 1)	Bağ dokusu gelişimi	15q24.1	Yaş tip YBMD
ROBO1	Akson iletimi ve nöronal öncü hücre göçü	3p.12.2	YBMD
RORA	Çeşitli biyolojik fonksiyonlar	15q.22.2	YBMD
SELP (Selectin P)	Trombosit-lökosit etkileşimi	1q22-q25	Kuru tip YBMD
SERPING1 (Serpine peptidase inhibitor)	Kompleman sisteminin düzenlenmesi	11q12-q13.1	YBMD
HTRA1 (Serum peptidase 1)	Hücre büyümesinin düzenlenmesi	10q25.2-q26.2	Bilateral yaş tip YBMD
Tf (Transferrin)	Demir bağlama proteini	3q29	Sigara içicilerinde YBMD
CACNG3 (Voltage-dependent calcium channel 3)	L-tip kalsiyum kanal proteini	16p12	YBMD

#### 2.4.6.1. *RORA* (RAR-related orphan receptor A) geni

*RORA* geni YBMD için bir aday gen olarak gösterilmektedir. Retinoik asit reseptörüyle ilişkili orfan reseptör alfa (*RORA*) nüklear reseptörlerin ayrı bir alt ailesinin üyesidir (Hubbard ve ark., 2009). *RORA* 15. Kromozomun uzun kolunda lokalize olup yaklaşık 730 kb'lik bir alanda uzanmaktadır (Şekil2.9). *RORA* geninin sirkadyan ritimlerin patolojisine, kemik gelişimine, koni hücrelerinin gelişimine, hücrel metabolizmaya katıldığı bildirilmiştir (Jetten, 2009). İlâveten, linkaj analizleri, ilişkilendirme çalışmaları ve ekspresyon analizleri *RORA* geninin YBMD patogenezinin dahil olduğunu göstermiştir (Silveria ve ark., 2010). Bağışıklık/inflamasyon, anjiyogenez, lipid ve kolesterol metabolizması gibi YBMD ile potansiyel ilişkili olduğu düşünülen birçok sürece de dahil olduğu bildirilmiştir (Besnard ve ark., 2001; Anderson ve ark., 2002; Besnard ve ark., 2002; Klein ve ark., 2003; Conley ve ark., 2005; Hageman ve ark., 2005; Boukhtouche ve ark., 2004; Boukhtouche ve ark., 2006; Zhu ve ark., 2006; Lau ve ark., 2008).

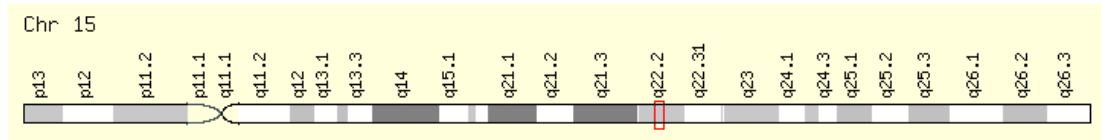
Tipik bir nüklear reseptör olarak ROR, bir amino-terminal domaini, bir DNA bağlanma domaini, bir menteşe (hinge) bölgesi ve bir adet ligand bağlanma domaininden oluşmaktadır. Alternatif kesim ve promotör kullanımı yoluyla her bir ROR geni sadece amino uçlarından farklılaşan iki veya daha fazla izoforma ayrılmaktadır. Farklı promotörlerin kullanımı belirli ROR izoformlarının hücre tipine spesifik ekspresyonu ile sonuçlanmaktadır. Sonuç olarak bu izoformlar farklı fizyolojik süreçleri ve hedef genleri düzenlerler (Gold ve ark., 2003; Eberl ve ark., 2004; Jetten, 2009). Örneğin kolesterol ve kolesterol sülfatın ROR $\alpha$ 'nın bir ligandı olduğu tanımlanmışken, bazı retinoidlerin ROR $\beta$  ve ROR $\gamma$ 'ya bağlandığı rapor edilmiştir (Kallen ve ark., 2002; Stehlin ve ark., 2003; Jetten ve ark., 2004).

*In vitro* çalışmalar kolesterolün ROR $\alpha$ 'nın doğal bir ligandı olduğunu göstermiştir (Kallen ve ark., 2002). Kolesterolle bağlanmasının yanı sıra ROR $\alpha$ 'nın yüksek yoğunluklu lipoproteinler, serum amiloid A ve apolipoprotein A1 gibi lipoproteinleri de düzenlediği gösterilmiştir (Voyiaziakis ve ark., 1998; Migita ve ark., 2004; Lau ve ark., 2008). *RORA*'nın kolesterol metabolizmasındaki rolü ateroskleroz ve dislipidemiye olan yatkınlıkta artış gösteren ROR $\alpha$  yoksunu stajerer

faresinin fenotipik incelenmesiyle netleşmiştir (Kopmels ve ark.,1991; Mamontova ve ark., 1998; Jetten ve Ueda, 2002; Boukhtouche ve ark., 2004; Lau ve ark., 2008).

Normal fare retinasının immünokimyasal analizleri gangliyon hücre katmanı ve iç hücre katmanında *RORA* ekspresyonu olduğunu göstermiştir (Steinmayr ve ark.,1998; Ino, 2004; Fujieda ve ark., 2009). İlâveten Medeiros ve Curcio (2001), gangliyon hücre katmanı nöronlarının sağlıklı bireylerin gözlerine kıyasla neovasküler YBMD hastalarının gözlerinde yaklaşık %50 azaldığını rapor etmişlerdir.

*RORA* geninin oksidatif stres (Boukhtouche ve ark., 2006) ve inflamasyon (Delerive ve ark., 2001) karşısında nöronları korumada rol oynadığı öne sürülmüştür.



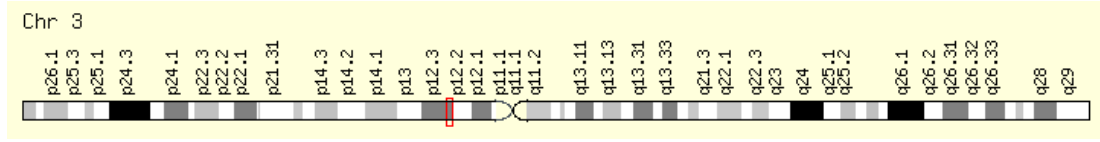
Şekil2.9:*RORA* geninin kromozomal lokasyonu (Weizmann Institute of Science, 2014).

#### 2.4.6.2. *ROBO1* (Roundabout, Axon Guidance Receptor, Homolog 1) geni

*ROBO1* immüoglobulin süperailisine mensup bir transmembran reseptörü olup akson iletimi ve nöronal öncü hücre göçünde rol oynamaktadır (Jun ve ark. 2011). *ROBO1* geni 3p.12.2'de lokalizedir (Şekil 2.10). *ROBO1* alternatif kesim işlemiyle üretilen üç izoforma sahiptir. Fare retinal gangliyon hücre katmanı dahil olmak üzere farklı birçok doku ve organda eksprese olduğu ve görme işlevi boyunca gangliyon hücre aksonlarının doğru iletimini düzenlediği rapor edilmiştir (Erskine ve ark., 2000; Plachez ve ark., 2008).

*ROBO1* proteinleri hücrel membran üzerinde lokalize olmuştur ve hücre adezyonunda rol oynamaktadır (Ip ve ark., 2010). Ayrıca *ROBO1*'in SLIT-*ROBO1* sinyal yolu aracılığıyla oküler neovaskülarizasyona karıştığı (Chen ve ark., 2010) ve RPE hücrelerindeki ekspresyonunun inhibe edilmesinin proliferatif vitreoretinopatinin baskılanmasıyla sonuçlandığı bildirilmiştir (Huang ve ark. 2010).

*ROBO1* varyantlarının kuru ve yaş tip YBMD riskini etkileyebileceği ve *ROBO1*'in YBMD riski üzerine olan etkisinin belki de *RORA* varyantlarıyla düzenlendiği öne sürülmüştür (Jun ve ark. 2011).



Şekil2.10: *ROBO1* geninin kromozomal lokasyonu (Weizmann Institute of Science, 2014).

### 2.4.6.3. *CFH* (Complement Factor H) geni

Kompleman sistemi mikrobiyal enfeksiyonlara karşı doğuştan var olan immün sistemin önemli bir parçasıdır. Kompleman sistemi, klasik, lektin ve alternatif yollar olarak isimlendirilen üç yoldan oluşmuştur ve çok sayıda plazma ve membran proteini içerir. C3 her üç kompleman sisteminin temel bileşenidir. Kompleman Faktör H (*CFH*) alternatif yolağın düzenleyicisidir. Bu alternatif yolak yabancı hücreler, virüsler ve diğer patojenler gibi antijenlerle aktive olmakta ve patojenlere karşı ilk savunma hattı olarak düşünülmektedir. Bu yolağın aktivasyonu istila edilen hücrelerde yıkıma neden olacak transmembran porları oluşturan kompleman proteinlerinin üretimine neden olur. Por oluşumu ilgili dönüştürücülerle kompleman bileşenleri olan C3 ve C5'in aktivasyonu yoluyla başarılmaktadır (DeWan ve ark., 2007). *CFH*, kompleman aktivasyonunu düzenlemede ve aktive yüzeylerde kompleman faaliyetini sınırlamada gereklidir. Bu yüzden *CFH*'nin kompleman inhibisyonu etkisindeki aksamanın YBMD patogenezinde rol oynayabileceği varsayılmaktadır (Gotoh ve ark., 2006; Donoso ve ark., 2006). *CFH* genindeki polimorfizmlerin yaş tip YBMD için yüksek risk oluşturduğu (Nischler ve ark., 2011) ve bunun yanı sıra kuru tip YBMD ile de güçlü bir ilişki gösterdiği de rapor edilmiştir (Chen ve ark., 2011).

*CFH*, YBMD ile ilişkisi saptanan ilk gen olma özelliğine sahiptir ve 2005 yılında birbirinden bağımsız üç grup tarafından eş zamanlı olarak tariflenmiştir (Klein ve ark. 2005; Edwards ve ark., 2005; Haines ve ark., 2005). Faktör H, birinci kromozomun q32 (1q32) bölgesinde RCA (regulators of complement activation) gen kümesi içinde

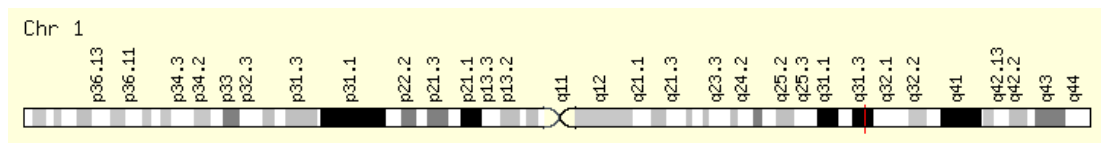
bulunan tek bir genden kodlanır (Şekil 2.11).*CFH* geninin 9. ekzonundaki Y402H polimorfizminin (rs1061170, T>C) YBMD ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir. Özellikle C risk alelini taşıyan bireylerde YBMD riski, tek kopya taşıyıcılarında 2.4 – 4.6, iki kopya taşıyıcılarında (homozigot) 3.3 – 7.4 arasında değişmektedir. Sonraları *CFH* geninde YBMD ile ilişkili olduğu düşünülen farklı polimorfizmlerde gösterilmiştir. *CFH* disfonksiyonunun artmış enflamatuvar yanıt ve doku hasarı ile ilişkili olabileceği ön görülmektedir. Özellikle neovasküler hastalık için enflamasyonun YBMD patogenezinde anahtar rol oynayabileceğini söyleyen yayınlar mevcuttur (Gotoh ve ark., 2006; Donoso ve ark., 2006; Moshfeghi ve Blumenkranz, 2007).

Kafkas populasyonunda YBMD için artmış bir riskle ilişkilendirilen *CFH* genindeki varyantlara işaret eden çalışmalar kompleman sisteminin hastalığındaki önemine kanıt oluşturmuştur (Klein ve ark. 2005, Hagemann ve ark. 2005). Genetik çalışmalara diğer kompleman genlerindeki polimorfizmler de dahil edilmiş, özellikle faktör B kompleman bileşeni C2 ve C3'ün de YBMD ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Gold ve ark. 2006, Maller ve ark. 2007).

YBMD'yi de içeren nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisini anlamadaki temel soru sistemik kan faktörlerine karşı lokal dokulardaki (örneğin retinanın görme döngüsündeki oksidasyon ve toksik ürünler) hangi anormalliklerin hastalığa neden olduğudur (Sivaprasad ve ark. 2007; Scholl ve ark. 2008). YBMD, Alzheimer (Akiyama ve ark., 2000), ateroskleroz (Torzewski ve ark., 1997), glomerulonefrit (Schwartz ve ark., 2001) gibi hastalıklarda karakteristik lezyonlar ve depozitler hastalığın patogenezi ve ilerlemesine katkıda bulunmaktadır. Bu hastalıkların moleküler temellerinin farklı olmasına rağmen bu depozitler özellikle birincil immün savunmanın anahtar elemanı olan kompleman kaskadının lokal inflamasyonu ve aktivasyonuna dahil olan bazı ortak moleküler bileşenler içerirler. YBMD'nin etiolojisi üzerine *CFH*'in etkisi kesin değildir ancak druzen oluşumu için ortaya atılan hipotezde anahtar bir bağışıklık bileşeni olduğu öne sürülmüştür (Hageman 2001).

Druzenler erken YBMD ile ilişkilendirilen ayırıcı özellikteki depozitlerdir ve yapılan çalışmalar kompleman kaskatının lokal inflamasyon ve aktivasyonuna işaret etmektedir (Hageman ve ark., 2001; Mullins ve ark., 2001; Crabb ve ark., 2002; Anderson ve ark., 2004). Druzenler membran atak kompleksine (MAC: Membrane Attack Complex) dahil olan kompleman aktivatörlerini, inhibitörlerini, aktivasyona spesifik kompleman fragmentlerini ve son yolak bileşenlerini içerir. MAC yabancı patojenler için, aynı zamanda çeşitli hastalık süreçlerinde evsahibi hücreler ve dokular için, ölümcül olan litik bir komplekstir (Hageman, 2005).

Sonuç olarak kompleman sisteminin kontrol dışı çalışması ev sahibi hücreler ve dokular için ölümcül olmaktadır. CFH proteini ve diğer dolaşan ve zara bağlı proteinler bu sistemi modüle etmek üzere gelişmişlerdir (Morgan, 1999). Hageman ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada, CFH proteini ve MAC'in RPE-koroid arayüzünde birlikte dağıldığını ve YBMD hikayesi olan donörlerin makular bölgelerinde bunların çok yoğun gözlendiğini bildirmiştir. Bu bulgular, risk haplotipleri tarafından kodlanan CFH proteininin zayıflamış bir kompleman inhibitör fonksiyonu olduğunu göstermektedir. CFH tarafından zayıflatılmış kompleman inhibitör aktivitesi YBMD patogeneze katkıda bulunan aşırı inflamasyon ve doku hasarına yol açabilmektedir (Johnson ve ark.,2006).İlaveten inflamasyonun YBMD patogeneze dahil olduğu da bildirilmiştir (Donoso ve ark. 2006).



**Şekil2.11:**CFH geninin kromozomal lokasyonu (Weizmann Institute of Science, 2014).

#### **2.4.6.4. ARMS2 (Age-Related Maculopathy susceptibility Protein 2) geni**

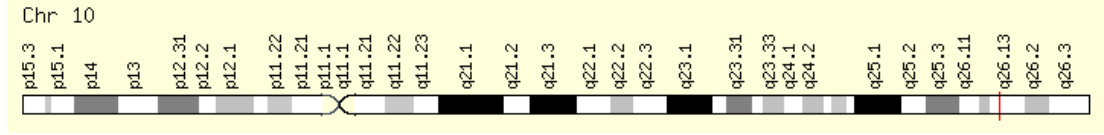
ARMS2, GWAS (Genome Wide Association Study) temelli çalışmalarla YBMD'ye yatkınlık kazandırdığı gösterilmiş olangenomdaki birçok bölgeden birisidir. 10q.26.13'delokalizedir (Şekil 2.12). ARMS2 proteini ile ilgili yapılan immünohistokimyasal çalışmalarda, proteinin transfenekte memeli hücrelerinin mitokondri dış zarlarında varlığının gösterilmesi, bu genin YBMD'deki muhtemel

fonksiyonunun oksidatif hasar mekanizması yoluyla olduğunu göstermektedir (Kanda ve ark., 2007; Fritsche ve ark., 2008). Bununla birlikte yapılan immüno lokalizasyon çalışmalarıyla varlığı hücresel sitoplazmada da gözlenmiş (Wang ve ark., 2009), ilaveten fibulin 3 ve 5, TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinaz), MMP (matrix metalloproteinaz) ve elastin gibi diğer hücre dışı matrix proteinlerine bağlanan hücre dışı bir matrix proteini olduğu da rapor edilmiştir (Kortvely ve ark., 2010). Bu durum bu proteini matriks fonksiyonunun çok önemli bir parçası haline getirmektedir.

*ARMS2* geni yaşlılıkta gözlenen YBMD gibi çeşitli hastalıklarda önemli rolü olabilen mitokondriyal bir proteini kodlar (Kanda ve ark., 2007; Seddon ve ark., 2007). Mitokondri, Alzheimer, Parkinson ve Amyotrofik laterak skleroz gibi yaşa bağlı nörodejeneratif hastalıkların patogeneze katılır (Lin ve Beal, 2006). Yaşla ilişkili mitokondriyal disfonksiyon enerji metabolizması ve homeostazında bir bozukluğa, reaktif oksijen türlerinin oluşmasına, mitokondriyal DNA'da somatik mutasyon birikimine ve apoptotik yolağın aktivasyonuna neden olmaktadır (Lin ve Beal, 2006; Kroemer ve Reed, 2000; Barron ve ark., 2001; Wright ve ark., 2004; Wallace, 2005). Kontrole kıyasla YBMD retinasında mitokondrilerin hem sayısında hem de boyutunda azalma, kristanın kaybı veya azalmış matriks yoğunluğu gözlenir. Mitokondriyal DNA delesyonu olan ve sitokrom c oksidaz yoksunu koni hücreleri yaşlanan retinada özellikle makular alanda birikir (Barron ve ark., 2001; Feher ve ark., 2006). Dahası, mitokondriyal proteinlerdeki mutasyonlar optik nörodejeneratif hastalıklarla da ilişkilendirilmiştir (Carelli ve ark., 2004). Fotoreseptörler ve RPE yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asiti içermelerinden dolayı yüksek ışığa ve oksijene maruz kaldıklarında oksidatif hasar için risk oluşmaktadır (Beatty ve ark., 2000; Carelli ve ark., 2004; Wallace, 2005). Bununla birlikte, *ARMS2*'nin sadece primat retinasında ekprese olduğu, bu durumunda YBMD'nin doğal olarak sadece primatlarda meydana gelmesiyle uyumlu olduğu bildirilmiştir (Francis ve ark., 2008).

*ARMS2* genindeki polimorfizmler özellikle yaş tip YBMD ve kuru tipten yaş tip YBMD gelişmesiyle ilişkilendirilmektedir (Dietzel ve ark., 2011). İspanya

populasyonu ile yapılan bir çalışmada *ARMS2* genindeki polimorfizmlerin YBMD için temel risk faktörlerinden biri olduğu rapor edilmiştir (Brion ve ark., 2011).



**Şekil2.12:** *ARMS2* geninin kromozomal lokasyonu (Weizmann Institute of Science, 2014).

#### 2.4.6.5. *HTRA1* (HtrA serine peptidase 1) geni

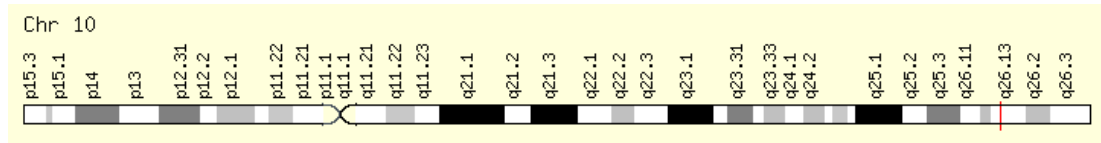
*HTRA1* YBMD ile ilişkilendirilen önemli bir aday genidir (Dewan et al. 2006; Yang ve ark., 2006) ve 10q.26.3'de lokalizedir (Şekil 2.13). *HTRA1* geni retina ve RPE'de büyük ölçüde eksprese olan serin protezların tripsin ailesinin bir üyesini kodlamaktadır (Oka ve ark., 2004; Chen ve ark., 2010) ve hücre dışı matriks homeostazında rol oynadığı düşünülmektedir (Grau ve ark., 2006). Bu protein insülin benzeri büyüme faktörlerini düzenlediği öne sürülen bir enzimdir. Ayrıca hücre büyümesinin de bir düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir. Bu genin promotör bölgesinde bulunan polimorfizmlerin YBMD'ye yatkınlığın sebebi olduğu bildirilmiştir. Serin proteaz TGF-beta ailesi üyelerinin aracılık ettiği sinyalleri inhibe etmektedir. TGF-beta sinyalinin etkilenmesiyle retinal anjiyogenez ve gelişim esnasında olgunlaşma gibi bazı fizyolojik süreçler düzenlenmektedir (Weizmann Institute of Science, 2014).

*HTRA1*'nin YBMD'ye neden olmasına ilişkin patolojik mekanizmayla ilgili bazı hipotezler mevcuttur. *HTRA1*'in ekspresyonu YBMD hastalarında up-regüle edilmiştir ve göze çarpar şekilde Bruch membranda gözlenmektedir (Cameron ve ark., 2007). *HTRA1*'in bu fazla ekspresyonunun Bruch membranının yeniden modellenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (Conley ve ark., 2006; Leveziel ve ark., 2007; Sobrin ve ark., 2011)

*HTRA1* geni 10q.26 lokusu ve YBMD arasındaki ilişki, aile bağlantı analizleri ve haritalama (Jakobsdottir ve ark., 2005; Rivera ve ark., 2005) ile tanımlanmasının yanı sıra, GWAS temelli çalışmaları da içeren birçok çalışmada rapor edilmiştir



(Dewan ve ark., 2006; Yang ve ark., 2006). Bu bölgeyle ilişkili genetik analiz çalışmalarında yaklaşık 140 kb'lık bir bölgede uzanan ve *PLEKHA1*, *ARMS2* ve *HTRA1* genlerini içeren üç gen kümesi tanımlanmıştır (Rivera ve ark., 2005). Bu genlerden her birinin makula dejenerasyonu ile olası biyolojik ilişkisinin olduğu (Fisher ve ark., 2005) ve bu bölgede meydana gelen polimorfizmlerin bu genlerden birinin fonksiyonunu değiştirerek YMBD riskini arttırdığı öne sürülmüştür (Jakobsdottir ve ark., 2005; Rivera ve ark., 2005; Schmidt ve ark., 2006).



**Şekil 2.13:** *HTRA1* geninin kromozomal lokasyonu (Weizmann Institute of Science, 2014).

## 2.5. Polimorfizm

2003 yılında insan genom dizisinin tamamlanmasıyla biyomedikal araştırmalar için yeni dönem başlamıştır. Bu durum, genetik varyasyonların ve gen ekspresyonunun tespit edilmesi için yüksek verimli teknolojilerin geliştirilmesi de dahil olmak üzere yaşam bilimlerinde eşi görülmemiş bir ilerlemeyi teşvik etmiştir. Genetiğin çalışılması “büyük veri bilimi” haline gelmiştir. Genetik araştırmalardaki en büyük hedeflerden birisi yaygın kompleks hastalıkların anlaşılması için genetik bilginin kullanılmasıdır. Bu hedefe yönelik ilk önemli adım yüzlerce özellik ve hastalıkla ilişki gösteren binlerce tek nükleotid polimorfizminin (TNP) tanımlanması olmuştur (Hofker 2014).

Bir hastalığa ya da hastalığa yatkınlığa neden olan DNA dizisindeki varyasyonlar popülasyonda görülme sıklığına göre mutasyon ya da polimorfizm olarak adlandırılır. Dünyadaki birçok bireyin kromozomlarında aynı yerde bulunan DNA dizileri birbirine benzerlik gösterir. Popülasyonda iki birey arasında DNA'nın yaklaşık 1000 bç uzunluğundaki herhangi bir kısmı ortalama olarak sadece bir baz değişimi içerir. DNA dizisindeki varyasyonlar popülasyonun %1'inden fazlasında meydana geliyorsa polimorfizm, %1'inden daha azında görülüyorsa mutasyon olarak adlandırılır. Mutasyonlar Mendelyen kalıtıma uyan nadir tek gen hastalıklarından

sorumluyken polimorfizmler daha çok yaygın kompleks genetik bozukluklarla ilişkilidir. DNA dizi varyantlarının en yaygın tipi TNP'lerdir (Tebbut ve ark., 2007). TNP'ler insanlarda genetik polimorfizm çalışmaları, insan biyolojisi ve hastalıkların mekanizmalarını anlamak için eşsiz fırsatlar sunmaktadır (Angata 2014).

YBMD için muhtemel risk faktörü olan bazı genler, protein içinde bir amino asidin diğeriyle yer değiştirmesine (substitüsyon) neden olan TNP'leri içermektedir. Bazı değişimler kodon içinde bir bazın değişmesinden dolayı yaygın olarak "missense" mutasyondan kaynaklanmaktadır. TNP'lerin çok farklı sonuçları vardır. Bu değişimler valin yerine alanin geçmesi gibi protein içinde benzer amino asit değişimlerine neden oluyorsa, bu durum küçük bir protein modifikasyonu ile sonuçlanır. Zıt olarak, diğer substitüsyonlar protein yapısında modifikasyonla sonuçlanan disülfid bağlarında artış, hidrofobide ve yük kapasitesindeki değişimlere neden olur, sonuçta proteinin fonksiyonu ve diğer moleküllerle olan etkileşimi değişir. Bunlardan başka diğer iki substitüsyon tipi yaygın değildir fakat potansiyel olarak missense mutasyonlardan daha yıkıcıdır. Birincisi, glutamat gibi bir aminoasiti kodlayan bir kodonda meydana gelen bir substitüsyon, kodonun stop kodonu haline gelmesine neden olabilir (null mutasyon veya nonsense mutasyon). Bu durum da sıklıkla çok az bir fonksiyona sahip turuncu proteinlerin oluşmasıyla sonuçlanmaktadır. İkincisi, "splice-site" yani kesim bölgesi mutasyonlarıdır. Bu durumda intronu ekson bölgesinden ayıran bir bölgede substitüsyon meydana gelebilir ve bu durum intronik DNA'nın protein sentezine katılmasına ve proteinin doğal yapısından çok farklı oluşmasına neden olabilir.

Bu tür genetik değişiklikler populasyon içinde sıklıkla doğal alelik varyasyonlar olarak meydana gelir. Genomdaki bu tür varyasyonların pek çok multifaktöriyel hastalık gibi YBMD için de risk artışına neden olabileceği veya YBMD'den korunma sağlayabileceği öngörülmektedir (Mousavi ve Armstrong, 2013).

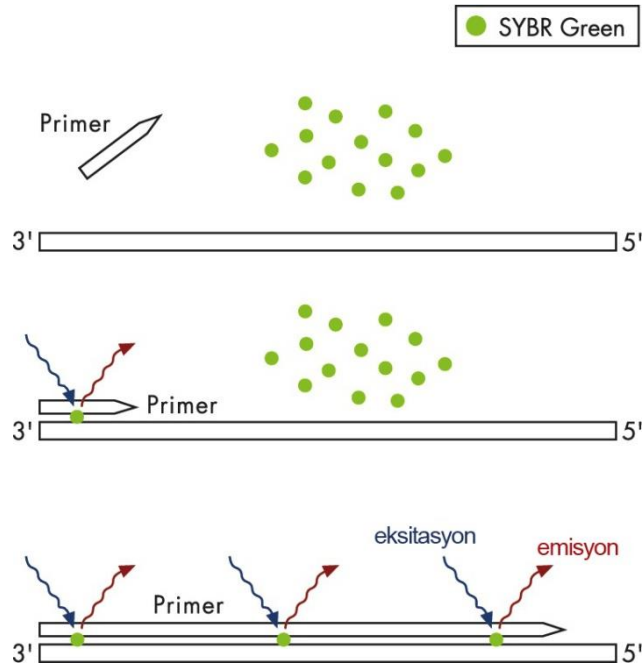
## **2.6. Eş-zamalı PCR Yöntemi (Real-time Polymerase Chain Reaction)**

Eş-zamalı PCR yöntemi araştırmalarda ve rutin uygulamalarda nükleik asitlerin miktar ve karakterizasyonunu belirlemek için altın-standart metod haline gelmiştir.

Eş-zamalı PCR'nin tipik kullanımı patojen belirlenmesi, gen ekspresyon analizleri, TNP analizleri, kromozom aberasyon analizleri ve son zamanlarda eş-zamalı immüno PCR ile protein belirlenmesi gibi analizleri içermektedir (Kubista ve ark.,2006).

### **SYBR Green PCR Nedir?**

Floresan bir boya olan SYBR Green I tüm çift dallı DNA molekülüne bağlanır, bağlandığı noktada belirli bir dalga boyunda floresan bir sinyal yayar (Şekil 2.14). SYBR Green I'in emilimi ve yayılması sırasıyla 494 nm ve 521 nm'de olur ve tüm eş-zamalı PCR teknolojilerinde kullanılabilir. SYBR Green I kullanıldığında belirleme eş-zamalı PCR'nin ekstensiyon basamağında olmaktadır. Sinyal yoğunluğu PCR ürününün artmasıyla her siklusta artmaktadır. SYBR Green boyasının kullanılması hedefe spesifik etiketli prob sentezlenmesine gerek kalmadan çok farklı sayıda hedefin analiz edilmesini sağlamaktadır. Bununla birlikte, spesifik olmayan PCR ürünleri ve primer dimerleri floresan sinyali etkilemektedir. Bu nedenle, SYBR Green boyaları kullanılırken yüksek PCR özgüllüğü gereklidir (Qiagen, 2014).

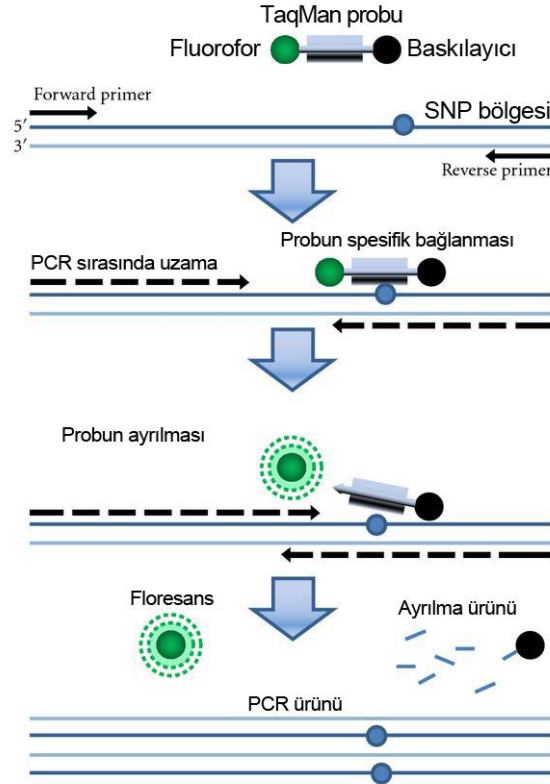


**Şekil2.14:**SYBR Green PCR prensibi(Qiagen, 2014)

### Prob Temelli PCR Nedir?

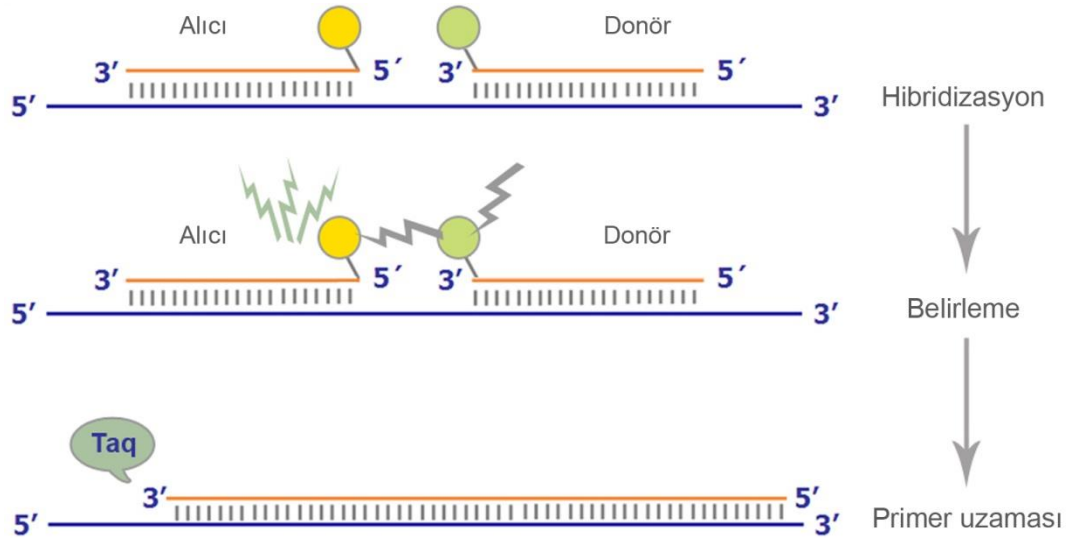
Floresan işareti problar sadece istenilen PCR ürününü belirlediği için yüksek hassasiyete sahip bir belirleme yöntemi sağlamaktadır. Bununla birlikte, sekansa spesifik problar kullanılırken PCR özgüllüğü de ayrıca önemlidir. İstenilen PCR ürününün miktarında bir azalmaya neden olabilecek spesifik olmayan PCR ürünleri ve primer dimerleri gibi amplifikasyon artefaktları oluşabilir. Reaksiyon bileşenleri için spesifik ürün ve reaksiyon artefaktları arasındaki rekabet analizin hassasiyet ve verimliliğiyle ayarlanabilir. Aşağıdaki problar prob temelli PCR yönteminde sıklıkla kullanılmaktadır:

**TaqMan problemleri:** Sekansa spesifik oligonükleotid problemleri floresan ve quencher (baskılayıcı) bir parça içermektedir. Floresan probun 5' ucuna ve quencher parça 3' ucuna bağlanır. PCR'nin birleştirilmiş annealing/ekstansiyon fazında Taq DNA polimerazın 5'-3' ekzonükleaz aktivitesi sayesinde floresan ve quencher parçalar birbirinden ayrılır ve prob parçalanır. Bu biriken PCR ürününün miktarıyla orantılı olan ve belirlenebilen bir floresan ışımaya sonuçlanır (Şekil 2.15) (Qiagen, 2014).



Şekil 2.15: TaqMan problemlerinin çalışma prensibi (Bass ve ark., 2010)

**FRET problemleri:**FRET problemlerinin temeli enerjinin bir floresan boyadan diğer floresan boyaya transfer edilmesine dayanmaktadır. Sekansa spesifik olan iki ayrı oligonükleotid floresan olarak işaretlenmiştir. Upstream probu 3' ucunda donör moleküle sahipken, downstream probu 5' ucunda akseptör (alıcı) moleküle sahiptir. Problemler donör (verici) ve akseptör floroforları birbirine yakınlaştıracak şekilde hedef sekans üzerinde birbirine bitişik şekilde dizayn edilirler (Şekil2.16). Prob bir kez bağlandığında floroforlar birbirine yaklaşır ve bu durum donör florofordan akseptör florofora farklı bir dalga boyunda sinyal yayan enerji transferini mümkün kılar. Bu nedenle sadece her iki prob bağlandığında floresans belirlenebilir. FRET problemleri melting curve (erime eğrisi) analizlerine izin vermektedir. Genotipleme, TNP belirlenmesi ve diğer mutasyon belirlenmelerinde son derece kullanışlıdır (Indiamart, 2014).



**Şekil2.16:**FRET problemlerinin çalışma prensibi (Eurofins, 2014).

**Eş-zamanlı PCR'de florogenik problemler için kullanılan boyalar:** Sekansa spesifik problemlerle eş-zamanlı PCR için her birinin kendine has emilim ve yayılım aralığı olan çeşitli floresan boyalar mevcuttur (Tablo2.3). Multipleks ve eş-zamanlı PCR yapmak için seçilen boyaların yayılım spektrumları birbirinden yeteri kadar uzakta olup, kullanılan eş-zamanlı PCR'nin eksitasyon ve belirleme özellikleriyle uyumludur. Bu nedenle, multipleks PCR kurarken herhangi bir sinyal karışımını önlemek için mümkün olan en geniş kanal ayırımına sahip boyaları kullanmak en iyi uygulamadır (Qiagen, 2014).

**Tablo2.3:**Kantitatif, eş-zamanlı PCR’de sıklıkla kullanılan boyalar (Qiagen, 2014).

Boya	Maksimum eksitasyon (nm)	Maksimum emisyon (nm)
Fluorescein	490	513
Oregon Green	492	517
FAM	494	518
SYBR Green I	494	521
TET	521	538
JOE	520	548
VIC	538	552
Yakima Yellow	526	552
HEX	535	553
Cy3	552	570
Bodipy TMR	544	574
NED	546	575
TAMRA	560	582
Cy3.5	588	604
ROX	587	607
Texas Red	596	615
LightCycler Red 640 (LC640)	625	640
Bodipy 630/650	625	640
Alexa Fluor 647	650	666
Cy5	643	667
Alexa Fluor 660	663	690
Cy 5.5	683	707

### 3. GEREÇLER VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Örnek Toplanması

Çalışmada, 112S269 numaralı “Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu İle İlişkili Başlıca Gen Polimorfizmlerinin Toplumumuzda İncelenmesi” başlıklı bilimsel TUBİTAK projesi kapsamında Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Polikliniğine başvuran yaş tip yaşa bağlı makula dejenerasyonu tanısı almış 50 yaş ve üzerinde olan 125 hasta ve 108sağlıklı bireye ait DNA örnekleri kullanılmıştır. Her iki olgu grubuna da tez projesine ilişkin bilgi verildikten sonra Afyon Kocatepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanan gönüllü olur formu imzalatılmıştır. DNA örnekleri genotipleme çalışması için kullanılıncaya kadar -20°C’de saklanmıştır.

#### 3.2. Kullanılan Kimyasallar

*ROR*rs8034864, *CFH*rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmlerinin analizleri için PrimerDesign snpsig (Qiagen, California)Real-Time PCR genotyping kitleri, *ROBO1* rs1387665polimorfizminin analizi için Type-it®-Fast SNP Probe PCR (Qiagen, Germany) kiti kullanılmıştır. Analizler için kullanılan cihazlar Tablo 3.1’de verilmiştir.

**Tablo 3.1:**Kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Marka-Model
Rotor Gene Q	QIAGEN, Hilden, Germany
Spektrofotometre	Nanodrop ND-1000 V.3.7
Santrifüj	Combi-spin FVL-2400N biosan
Mikropipetler	Thermo
Vorteks	Stuart
Buzdolabı	Arçelik
Derin dondurucu	Arçelik

### 3.3. Genotiplleme

*RORA* rs8034864, *ROBO1* rs1387665, *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmlerinin genotiplleme alışması Real-Time PCR yöntemi kullanılarak yapılmıştır.

#### 3.3.1. Test Prensipleri

**Real-Time PCR kullanarak double-dye hidroliz problemleriyle genotiplleme:** Her bir genotiplleme için, mevcut primer/prob karışımı incelenecek olan her iki genotipe homolog olan iki işaretli prob içermektedir. Hedef DNA'nın real-time PCR amplifikasyonu sırasında problemler varyant bölgeye bağlanmak için yarışırlar. DNA bağlanma bölgesine 100% homolog olan prob öncelikli olarak bağlanır ve PCR işlemi sırasında floresans bir sinyal verir. Bunu, yabancı tip sekansın bir kanaldan güçlü bir amplifikasyon sinyali verirken alternatif kanaldan çok zayıf bir sinyal vermesi takip eder. Homozigot varyant örnekleri tam olarak zıt bir sonuç verirler. Heterozigot rnekler her iki alel üzerinde her iki probun da bağlanacağı bölgeleri içerdiklerinden her iki kanal boyunca ortada bir sinyal verirler. Bu üç muhtemel genotip son nokta floresanı (end point florescence)'nın karşılaştırılmasıyla çözülür. Birçok donanımda bu analiz otomatik olarak yapılmaktadır.

**Pozitif Kontroller:** Kitler her iki genotip için pozitif kontrol kalıbı içermektedir. Bunlar her iki genotip için kontrol sinyalleri ve paralel örnekler olarak çalışırlar. Test sırasında örneklere doğrudan uygun olan iyi bir pozitif kontrol sağlamak için, kontrol DNA'sı rnek DNA'sına benzer kopyada kullanılmalıdır.

**Negatif Kontroller:** Kontaminasyonun olmadığını konfirme etmek için, kitler her kullanıldığında negatif kontrol reaksiyonu kurulmalıdır. Bu sebeple, RNAaz/DNAaz içermeyen steril bir su kalıp yerine kullanılmalıdır. ıkan negatif sonuç, işlem kurulurken reaktiflerin kontamine olmadığını göstermektedir. Eğer pozitif bir sonuç gözlenirse işlem tekrar edilmelidir. Kontaminasyonun olası sebepleri araştırılmalı ve uzaklaştırılmalıdır.



**Sıcaklık Döngüsü Parametreleri (Thermocycling Parameters):**PrimerDesign genotipleme kiti için optimum döngü parametreleri iki basamaklı döngü prosedürüne sahiptir. Döngünün ilk basamağı optimal PCR amplifikasyonu için dizayn edilmiştir. Test örneklerinin çok düşük seviyelerde genomik DNA içerdiği durumlarda (örn. <1 ng) bu ilk basamağa ilave döngüler eklenebilir. Döngünün ikinci basamağı prob ayrımı için optimaldir ve bu nedenle yüksek bir sıcaklıktadır. Floresans veri sadece amplifikasyon döngülerinin bu ikinci basamağında toplanabilir.

**MasterMix Uygunluğu:** Uygulama için Precision MasterMix doğru konsantrasyonlarda enzimler, nükleotidler, tamponlar ve tuzları içermektedir. Primer ve probun bağlanma (annealing) sıcaklıkları dikkatlice kalibre edilmiştir. Reaksiyon tamponundaki herhangi bir değişiklik testin performansını etkilemektedir.

### **3.3.2. PrimerDesign Kit içeriği**

- Genotip Belirleme Karışımı (Genotyping primer/probe mix) (Kahverengi Kapak)
- Yabancıl Tip Pozitif Kontrol kalıbı (Wild-type positive control template) (Kırmızı kapak)
- Mutant Tip Pozitif Kontrol Kalıbı (Mutant positive control template for each mutation) (Kırmızı kapak)
- RNase/DNase free water (RNAaz/DNAaz içermeyen steril su) (Beyaz Kapak)

### **3.3.3. PrimerDesign Kit Protokolü**

1. Kit içeriğinde bulunan her bir tüp açılmadan önce santrifüj edildi.
2. Tablo3.2'ye göre PrimerDesign kit içerikleri sulandırıldı.

**Tablo3.2:** PrimerDesign kit içeriklerinin sulandırılması

<b>Solüsyon</b>	<b>İçerik</b>	<b>Miktar</b>
Genotip Belirleme Karışımı	Her iki genotipe ait işaretli proplar	55 µl
Yabani Tip Pozitif Kontrol Kalıbı	Yabani Tip Kalıp	550 µl
Mutant Tip Pozitif Kontrol Kalıbı	Mutant Tip Kalıp	550 µl

3. +4°C’de bekletilen soğuk blok üzerine 1,5 ml’lik RNAaz/DNAaz içermeyen tüp ve çalışılacak örnek kadar 0,1 ml’lik reaksiyon tüpleri yerleştirildi.
4. Yabani ve mutant tip pozitif kontrol kalıpları için 2 adet fazladan 0,1 ml’lik tüp ile kalıp içermeyen negatif kontrol için 1 adet fazladan 0,1 ml’lik tüp hazırlandı.
5. 1,5 ml’lik RNAaz/DNAaz içermeyen tüpte reaksiyon sayısına göre Tablo3.3’de verildiği şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı.

**Tablo 3.3:**PrimerDesign reaksiyon karışımı

<b>Solüsyon</b>	<b>Reaksiyon başına miktar</b>
2X Precision MasterMix (Enzim, nükleotidler, tuzlar, tampon çözelti içerir)	10 µl
Genotip Belirleme Karışımı	1 µl
DNAaz/RNAaz İçermeyen Steril Su	4 µl
<b>Son hacim</b>	<b>15 µl</b>

6. Her bir 0,1 ml’lik reaksiyon tüpüne 15 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı.
7. Analiz edilecek örneklerdeki DNA miktarı (ng) ile kullanılacak pozitif kontrollerin miktarlarının benzer oranlarda olması için Tablo 3.4’e göre pozitif kontroller sulandırıldı.

**Tablo 3.4:** PrimerDesign pozitif kontrollerin sulandırılması

<b>Örneklerdeki DNA miktarı</b>	<b>Pozitif Kontrol Sulandırma Oranı</b>
10 ng	1:25
5 ng	1:50
1 ng	1:250

8. 0,1 ml'lik tüplere dağıtılmış her bir reaksiyon karışımı üzerine analiz edilecek DNA örnekleri sırasıyla 5'er µl dağıtıldı.
9. Her çalışmada yabancı ve mutant tip pozitif kontroller ve negatif kontrol kullanıldı. Pozitif kontroller yüksek kontaminasyon riski içermesinden dolayı analiz edilecek örneklerden ve negatif kontrolden sonra 5'er µl pipetlendi. Negatif kontrol için reaksiyon tüpünde son miktar 20 µl olacak şekilde 5 µl DNAaz RNAaz içermeyen steril su eklendi.
10. 0,1'lik tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra 72'lik rotor sepetine yerleştirildi, sepet Rotor Gene Q cihazına takıldı ve ilgili amplifikasyon protokolü seçilerek program başlatıldı.
11. *RORA* rs8034864, *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmlerine ait amplifikasyon protokolleri Tablo 3.5 ve 3.6'da verilmiştir.
12. Polimorfizmlere ilişkin genotip sonuçları allelik discrimination (alelik ayrılma) prensibine göre belirlenmiştir (Şekil 3.1).

**Tablo 3.5:** *RORA* rs8034864 ve *HTRA1* rs3793917 amplifikasyon protokolü

	<b>Basamak</b>	<b>Süre</b>	<b>Sıcaklık</b>
	Enzim Aktivasyonu	8 dak	95°C
<b>10 döngü</b>	Denatürasyon	10 san	95°C
	Ekstensiyon	60sn	60°C
<b>35 döngü</b>	Denatürasyon	10sn	95°C
	Ekstensiyon		
	(Veri Toplanması)	60sn	68°C

**Tablo 3.6:**CFH rs1329424 amplifikasyon protokolü

	<b>Basamak</b>	<b>Süre</b>	<b>Sıcaklık</b>
	Enzim Aktivasyonu	8 dak	95°C
<b>10 döngü</b>	Denatürasyon	10 san	95°C
	Ekstensiyon	60sn	60°C
<b>35 döngü</b>	Denatürasyon	10sn	95°C
	Ekstensiyon	60sn	66°C
	(Veri Toplanması)		

### 3.3.4. Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit içeriği

- Forward primer
  - Reverse primer
  - Yabanıl tip prob
  - Mutant tip prob
  - PCR Master Mix, 2x
  - RNAaz/DNAaz içermeyen steril su
- 20x primer-prob mix hazırlanıyor

### 3.3.5. Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit protokolü

1. Kit içeriğinde bulunan her bir tüp açılmadan önce santrifüj edildi.
2. Tablo 3.7'ye göre kit içerikleri sulandırıldı.

**Tablo 3.7:**Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit içeriklerinin sulandırılması

<b>Solüsyon</b>	<b>Miktar</b>
Forward primer	405 µl
Reverse primer	558 µl
Yabanıl tip prob	480 µl
Mutant tip prob	206 µl

3. Tablo 3.8'e göre 20x primer-prob mix hazırlandı

**Tablo 3.8:**20x primer-prob mix hazırlanması

<b>Solüsyon</b>	<b>Miktar</b>
Forward primer	18 µl
Reverse primer	18 µl
Yabani tip prob	4 µl
Mutant tip prob	4 µl
<b>Son hacim</b>	<b>44 µl</b>

4. +4°C’de bekletilen soğuk blok üzerine 1,5 ml’lik RNAaz/DNAaz içermeyen tüp ve çalışılacak örnek kadar 0,1 ml’lik reaksiyon tüpleri yerleştirildi.
5. Negatif kontrol için 1 adet fazladan 0,1 ml’lik tüp hazırlandı.
6. 1,5 ml’lik RNAaz/DNAaz içermeyen tüpte reaksiyon sayısına göre Tablo3.9’de verildiği şekilde reaksiyon karışımı hazırlandı.

**Tablo 3.9:**Type-it®-Fast SNP Probe PCR kit reaksiyon karışımı

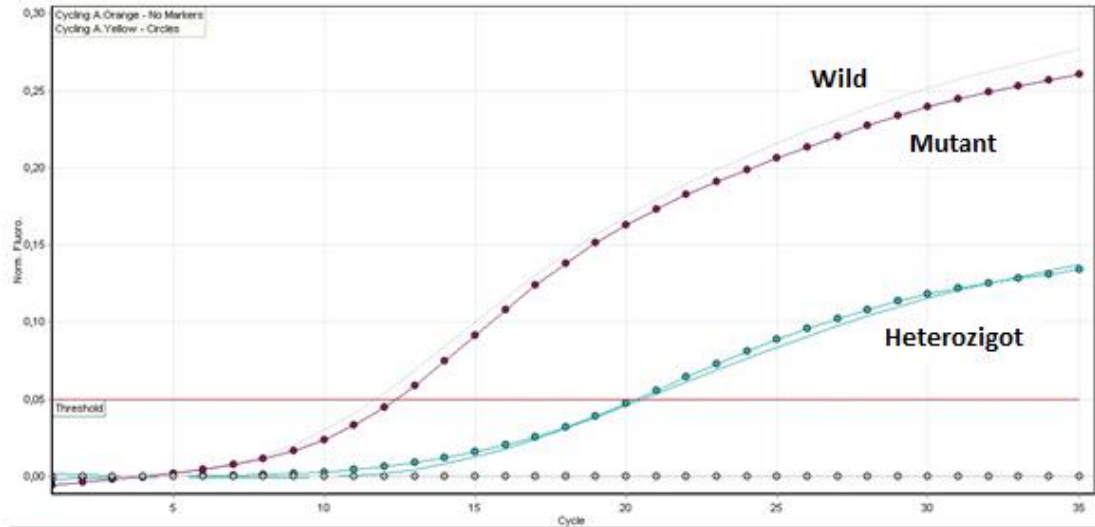
<b>Solüsyon</b>	<b>Reaksiyon başına miktar</b>
Type-it®-Fast SNP Probe PCR Master Mix, 2x	12,5 µl
20xprimer-prob mix	1,25 µl
DNAaz/RNAaz İçermeyen Steril Su	4,25
<b>Son hacim</b>	<b>18 µl</b>

7. Her bir 0,1 ml’lik reaksiyon tüpüne 18 µl reaksiyon karışımı dağıtıldı.
8. 0,1 ml’lik tüplere dağıtılmış her bir reaksiyon karışımı üzerine analiz edilecek DNA örnekleri sırasıyla 2’şer µl dağıtıldı.
9. Her çalışmada negatif kontrol kullanıldı. Negatif kontrol için reaksiyon tüpünde son miktar 20 µl olacak şekilde 2 µl DNAaz RNAaz içermeyen steril su eklendi.
10. 0,1’lik tüplerin kapakları kapatıldıktan sonra 72’lik rotor sepetine yerleştirildi, sepet Rotor Gene Q cihazına takıldı ve ilgili amplifikasyon protokolü seçilerek program başlatıldı.

11. *ROBO1* rs1387665 polimorfizmine ait amplifikasyon protokolleri Tablo 3.10'da verilmiştir.
12. Polimorfizmlere ilişkin genotip sonuçları allelik discrimination (alelik ayrılma) prensibine göre belirlenmiştir (Şekil 3.1).

**Tablo 3.10:** *ROBO1* rs1387665 amplifikasyon protokolü

	Basamak	Süre	Sıcaklık
<b>10 döngü</b>	Enzim Aktivasyonu	10 dak	95°C
	Denatürasyon	20 sn	95°C
	Ekstensiyon	30 sn	55°C
		20 sn	72°C
<b>40 döngü</b>	Denatürasyon	20 sn	95°C
	Ekstensiyon	60 sn	55°C
	(Veri Toplanması)	20 sn	72°C



**Şekil 3.1:** İlgili polimorfizmlere ilişkin genotiplerin allelik discrimination (alelik ayrılma) prensibine göre belirlenmesi

### 3.3.6. İstatistiksel Analizler

İstatistik analizleri SPSS 18.0 programı kullanılarak yapılmıştır. *RORA* rs8034864, *ROBO1* rs1387665, *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmlerine ait allel ve genotip sıklıkları YBMD hastaları ve sağlıklı kontrollerde  $\chi^2$  testi ile karşılaştırılarak analiz edilmiştir.

## 4.BULGULAR

### 4.1. Genotip verileri

Çalışmamızda, klinik olarak yaş tip yaşa bağlı makula dejenerasyonu tanısı almış olan hastalarda (125, ort. yaş=74,34±6,75) ve sağlıklı kontrollerde (108, ort.yaş=74,46±8,57)*RORA* geni rs8034864, *ROBO1* geni rs1387665, *CFH* geni rs1329424 ve *HTRA1/ARMS2* geni rs3793917 polimorfizmlerine ilişkin genotipleme yapılmıştır. Polimorfizmlere ilişkin bazı veriler Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo4.1:**rs8034864, rs1387665, rs1329424 ve rs3793917 polimorfizmlerinin YBMD ile genotipik ilişkisi

TNP	Gen	Kromozom	Pozisyon	Risk aleli	Yabancıl alel	Risk alel frekansı	
						YBMD hasta	Kontrol
rs8034864	<i>RORA</i>	15	İntron	T	G	%26,8	%33,65
rs1387665	<i>ROBO1</i>	3	Intron	A	G	%47,6	%42,11
rs1329424	<i>CFH</i>	1	Intron	T	G	%54	%39,2
rs3793917	<i>HTRA1/ARMS2</i>	10	İntergenik	G	C	%53,6	%26,17

#### 4.1.1. *RORA* geni rs8034864 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları

*RORA* geni rs8034864 polimorfizminin genotip ve alel frekansları 125 yaş tip YBMD hastası ve 104sağlıklı kontrolde incelenmiştir. *RORA* geni rs8034864 polimorfizmi insanda GG, GT ve TT olmak üzere üç farklı genotip şeklinde bulunmaktadır. Kontrol grubunda GG genotipine sahip birey sayısı 48 (%46,2), GT genotipine sahip birey sayısı 42 (%40,4) ve TT genotipine sahip birey sayısı 14 (%13,5) olarak, YBMD hasta grubunda, GG genotipine sahip birey sayısı 68 (%54,4), GT genotipine sahip birey sayısı 47 (%37,6) ve TT genotipine sahip birey sayısı 10 (%8) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları  $\chi^2$  testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında genotip frekansları açısından fark gözlenmedi ( $P>0.05$ ) (Tablo 4.2).



**Tablo4.2:**Kontrol ve YBMD grubunda *RORA* geni rs8034864 polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı

Genotip	Kontrol Grubu <i>n</i> =104	YBMD Hasta Grubu <i>n</i> =125	P
GG	48 (%46,2)	68 (%54,4)	
GT	42 (%40,4)	47 (%37,6)	0,288
TT	14 (%13,5)	10 (%8)	

Kontrol grubunda G alelinin frekansı 138 (%66,35) ve T alelinin frekansı 70 (%33,65) olarak, YBMD hasta grubunda G alelinin frekansı 183 (%73,2) ve T alelinin frekansı 67 (%26,8) olarak bulundu. *RORA* geni rs8034864 polimorfizmine ait G ve T alel frekansları  $\chi^2$  testi kullanılarak analiz edildi. İki grubun alel frekansları arasında fark yoktu ( $P>0.05$ )(Tablo 4.3).

**Tablo4.3:**Kontrol ve YBMD grubunda *RORA* geni rs8034864 polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı

Alel	Kontrol Grubu <i>n</i> =208	YBMD Grubu <i>n</i> =250	P	OR (95% CI)
G	138 (%66,35)	183 (%73,2)	0.113	0.7218
T	68 (%33,65)	67 (%26,8)		(0.4832-1.782)

#### 4.1.2. *ROBO1* geni rs1387665 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları

*ROBO1* geni rs1387665 polimorfizminin genotip ve alel frekansları 125 yaş tip YBMD hastası ve 108 sağlıklı kontrolde incelenmiştir. *ROBO1* geni rs1387665 polimorfizmi insanda GG, GA ve AA olmak üzere üç farklı genotip şeklinde bulunmaktadır. Kontrol grubunda GG genotipine sahip birey sayısı 37 (%34,3), GA genotipine sahip birey sayısı 51 (%47,2) ve AA genotipine sahip birey sayısı 20 (%18,5) olarak, YBMD hasta grubunda, GG genotipine sahip birey sayısı 32 (%25,6), GA genotipine sahip birey sayısı 67 (%53,6) ve AA genotipine sahip birey sayısı 26 (%20,8) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları  $\chi^2$  testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldığında genotip frekansları açısından fark gözlenmedi ( $P>0.05$ ) (Tablo 4.4).

**Tablo4.4:**Kontrol ve YBMD grubunda *ROBO1* geni rs1387665polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı

Genotip	Kontrol Grubu <i>n</i> =108	YBMD Hasta Grubu <i>n</i> =125	P
GG	37 (%34,3)	32 (%25,6)	
GA	51 (%47,2)	67 (%53,6)	0,353
AA	20 (%18,5)	26 (%20,8)	

Kontrol grubunda G alelinin frekansı 125 (%57,87) ve A alelinin frekansı 91 (%42,13) olarak, YBMD hasta grubunda G alelinin frekansı 131 (%52,4) ve A alelinin frekansı 119 (%47,6) olarak bulundu. *RORA* geni rs8034864 polimorfizmine ait G ve A alel frekansları  $\chi^2$  testi kullanılarak kontrol ve hasta grubu arasında karşılaştırıldığında fark yoktu ( $P>0.05$ ) (Tablo 4.5).

**Tablo4.5:**Kontrol ve YBMD grubunda *ROBO1* geni rs1387665polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı

Allel	Kontrol Grubu <i>n</i> =216	YBMD Grubu <i>n</i> =250	P	OR (95% CI)
G	125 (%57,87)	131 (%52,4)	0.237	1,2478 (0.8646-1.8007)
A	91 (%42,13)	119 (%47,6)		

#### 4.1.3. *CFH* geni rs1329424 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları

*CFH* geni rs1329424 polimorfizminin genotip ve alel frekansları 125 yaş tip YBMD hastası ve 102 sağlıklı kontrolde incelenmiştir. *CFH* geni rs1329424 polimorfizmi insanda GG, GT ve TT olmak üzere üç farklı genotip şeklinde bulunmaktadır. Kontrol grubunda GG genotipine sahip birey sayısı 35 (%34,3), GT genotipine sahip birey sayısı 54 (%52,9) ve TT genotipine sahip birey sayısı 13 (%12,7) olarak, YBMD hasta grubunda, GG genotipine sahip birey sayısı 27 (%21,6), GT genotipine sahip birey sayısı 61 (%48,8) ve TT genotipine sahip birey sayısı 37 (%29,6) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları genotip frekansları açısından  $\chi^2$  testi kullanılarak karşılaştırıldığında aralarında fark gözlemlendi ( $P<0,05$ ) (Tablo 4.6).

**Tablo4.6:** Kontrol ve YBMD grubunda *CFH* geni rs1329424 polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı

Genotip	Kontrol Grubu <i>n</i> =102	YBMD Hasta Grubu <i>n</i> =125	P
GG	35 (%34,3)	27 (%21,6)	
GT	54 (%52,9)	61 (%48,8)	0,005
TT	13 (%12,7)	37 (%29,6)	

Kontrol grubunda G alelinin frekansı 124 (%60,78) ve T alelinin frekansı 80 (%39,22) olarak, YBMD hasta grubunda G alelinin frekansı 115 (%46) ve T alelinin frekansı 135 (%54) olarak bulundu. *CFH* geni rs1329424 polimorfizmine ait G ve T alel frekansları  $\chi^2$  testi kullanılarak kontrol ve hasta grubu arasında karşılaştırıldığında aradaki fark önemli bulunmuştur ( $P<0.001698$ , OR= 1.8196, % 95 CI= 1.2502-2.6483) (Tablo 4.7).

**Tablo4.7:**Kontrol ve YBMD grubunda *CFH* geni rs1329424polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı

Allel	Kontrol Grubu <i>n</i> =204	YBMD Grubu <i>n</i> =250	P	OR (95% CI)
G	124 (%60,78)	115 (%46)	0.001274	1.8196
T	80 (%39.22)	135 (%54)		(1.2502-2.6483)

#### 4.1.4.*HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları

*HTRA1* geni rs3793917 geni polimorfizminin genotip ve alel frekansları 125 yaş tip YBMD hastası ve 107 sağlıklı kontrolde incelenmiştir. *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmi insanda CC, CG ve GG olmak üzere üç farklı genotip şeklinde bulunmaktadır. Kontrol grubunda CC genotipine sahip birey sayısı 62 (%57,9), CG genotipine sahip birey sayısı 34 (%31,8) ve GG genotipine sahip birey sayısı 11 (%10,3) olarak, YBMD hasta grubunda, CC genotipine sahip birey sayısı 33 (%26,4), CG genotipine sahip birey sayısı 50 (%40) ve GG genotipine sahip birey sayısı 42 (%33,6) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grupları genotip frekansları açısından  $\chi^2$  testi kullanılarak karşılaştırıldığında aralarında fark gözlemlendi ( $P<0,05$ ) (Tablo 4.8).

**Tablo4.8:**Kontrol ve YBMD grubunda *HTRA1*geni rs3793917 polimorfizmine ait genotip frekanslarının dağılımı

<b>Genotip</b>	<b>Kontrol Grubu n=107</b>	<b>YBMD Hasta Grubu n=125</b>	<b>P</b>
CC	62 (%57,9)	33 (%26,4)	0,005
CG	34 (%31,8)	50 (%40,0)	
GG	11 (%10,3)	42 (%33,6)	

Kontrol grubunda C alelinin frekansı 158 (%73,83) ve G alelinin frekansı 56 (%26,17) olarak, YBMD hasta grubunda C alelinin frekansı 116 (%46,4) ve G alelinin frekansı 135 (%53,6) olarak bulundu. *HTRA1*geni rs3793917polimorfizmine ait C ve G alel frekansları  $\chi^2$ testi kullanılarak kontrol ve hasta grubu arasında karşılaştırıldığında fark gözlenmiştir ( $P<0.0001$ ) (Tablo4.9).

**Tablo4.9:** Kontrol ve YBMD grubunda *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmine ait alel frekanslarının dağılımı

<b>Allele</b>	<b>Kontrol Grubu n=214</b>	<b>YBMD Grubu n=250</b>	<b>P</b>	<b>OR (95% CI)</b>
C	158 (%73.83)	116 (%46.4)	<0.0001	3.2592 (2.1994-4.8298)
G	56 (%26.17)	134 (%53.6)		

## 5.TARTIŞMA

### 5.1. YBMD ile *ROR*Ars8034864 ve *ROBO1* rs1387665 polimorfizmlerinin ilişkisi

*RORA* ve *ROBO1* genleri YBMD için aday genler olarak gösterilmektedir (Silveria ve ark., 2010; Schaumberg ve ark. 2010; Jun ve ark., 2011). *RORA* geninin sirkadyan ritimlerin patolojisine, kemik gelişimine, koni hücrelerinin gelişimine, hücrel metabolizmaya katıldığı rapor edilmiştir (Jetten, 2009). İlâveten, bağışıklık/inflamasyon, anjiyogenez, lipid ve kolesterol metabolizması gibi YBMD ile potansiyel ilişkili olduğu düşünülen birçok sürece dahil olduğu bildirilmiştir (Besnard ve ark., 2001; Anderson ve ark., 2002; Besnard ve ark., 2002; Klein ve ark., 2003; Conley ve ark., 2005; Hageman ve ark., 2005; Boukhtouche ve ark., 2004; Boukhtouche ve ark., 2006; Zhu ve ark., 2006; Lau ve ark., 2008). Linkaj analizleri, ilişkilendirme çalışmaları ve ekspresyon analizleri *RORA* geninin YBMD patogenezinin dahil olduğunu göstermiştir (Silveria ve ark., 2010).

Schaumberg ve ark. (2010) *RORA* geninin 1. İntronunda bulunan ve bizim de çalıştığımız rs8034864 polimorfizmini içeren 18 polimorfizmi incelemişler ve rs8034864 polimorfizminin neovasküler YBMD riski ile önemli bir ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir (OR= 1,07; 95% CI = 0,78-1,45). Benzer olarak bizim çalışmamızda da, *RORA* geni rs8034864 polimorfizmine ait G ve risk T aleli frekansları kontrol ve hasta grubu arasında karşılaştırıldığında fark bulunmamıştır (OR= 0.72; 95% CI = 0.48-1.78). İlâveten, hasta ve kontrol grupları genotip frekansları açısından değerlendirildiğinde fark gözlenmemiştir.

Silveria ve ark. (2010) *RORA* geninin 1. İntronunda bulunan ve rs8034864'ü de içeren bazı varyantları değerlendirmişler ve bu varyantların ne tek başına ne de haplotipin bir parçası olarak neovasküler YBMD ile önemli bir ilişkisinin olmadığını bildirmişlerdir. *RORA* geninin 1. İntronunda bulunan varyantların görünen fonksiyonel bir değişikliğe neden olmasalar bile, fonksiyonel bir etkiye katkıda bulunabilecek sekans değişikliğine, susturucu veya çoğaltıcılar (silencer ve enhancers) gibi modifiye elemanlarda insersiyon ve/veya delesyonuna veya

transkriptin kesiminde bir değişikliğe neden olabileceği öne sürülmüştür (Gabriel ve ark., 2002; Margulies ve Birney, 2008; Armengol ve ark., 2008).

Schaumberg ve ark (2010) *RORA*'nın düzenlediği genler aracılığıyla veya indirekt olarak *RORA*'yı düzenleyen genler aracılığıyla neovasküler YBMD gelişiminin etkilendiğini öne sürmüştür.

Jun ve ark. (2011) *RORA* ve *ROBO1* gen ekspresyonlarının yaş tip YBMD hastalarında down-regüle olduğunu bildirmişler ve bu iki gen arasındaki etkileşimin hem yaş tip hem de kuru tip YBMD'de önemli olabileceğini öne sürmüşlerdir. *RORA* geninin DNA yanıt elemanları 5' yönünde AT'ce zengin bir bölge içerir ve koaktivatörlerle birlikte hedef genin transkripsiyonunu değiştirir (Wang ve ark., 2010). *RORA* ve *ROBO1* genleri arasındaki istatistiki ilişkilendirme ve etkileşim biyoinformatik taramalarla konfirme edilmiş ve normal fare makulasında kromatin immünopresipitasyon analizleri ve qRT-PCR ile yapılan deneysel çalışmalarla kesinlik kazanmıştır (Jun ve ark., 2011). Aynı çalışmada araştırmacılar *ROBO1* geninde bulunan 19 polimorfizmi hem yaş tip hem de kuru tip YBMD hastalarında incelemiş ve en önemli *ROBO1* polimorfizminin yaş tip için rs1387665 olduğunu rapor etmişlerdir ( $P=0,0028$ ; OR:1,18; 95% CI: 1,02-1,37). Ancak bu sonuçlara zıt olarak bizim çalışmamızda yaş tip YBMD hastaları ve sağlıklı kontrollerin alel ve genotip frekansları karşılaştırıldığında herhangi bir fark gözlenmemiştir.

YBMD ile ilişkilendirilen *CFH*, *HTRA1* ve *ARMS2* genlerinden farklı olarak güncel literatür incelendiğinde *RORA* ve *ROBO1* genleri ve YBMD arasındaki ilişkiye dair çok az çalışmanın olduğu gözlenmektedir. *RORA* ekspresyonunun neovasküler AMD ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi için daha sonraki çalışmalarda sadece *RORA* seviyelerinin değil neovaskülarizasyon sürecine dahil olan retinanın çeşitli hücre tipleri ve hücrelerde eksprese olan spesifik *RORA* transkriptlerinin de büyük hasta gruplarında incelenmesi gerektiği öne sürülmüştür. İlaveten fare gibi bir model sistemde *RORA* geninin ekspresyonundaki eksikliğin fonksiyonel sonucunun değerlendirilmesinin YBMD gibi bir retinal hastalıktaki rolü için bilgilendirici olabileceği kanısına varılmıştır (Silveria ve ark. 2010).

Sonuç olarak *RORA* ilişkili yolların ve gen networklerinin incelenmesinin YBMD'nin patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabileceği öne sürülmüştür (Silveria ve ark. 2010). YBMD'ye dahil olan genlerdeki varyantların belirli alellerini taşıyan bireylerin klinik seyrini değiştirebileceği bildirilmiştir. *ROBO1* varyantlarının kuru ve yaş tip YBMD riskini etkileyebileceği ve *ROBO1*'in YBMD riski üzerine olan etkisinin belki de *RORA* varyantlarıyla düzenlendiği öne sürülmüştür (Jun ve ark. 2011).

## **5.2.YBMD ile *CFH* geni rs3793917 polimorfizminin ilişkisi**

*CFH*(kompleman faktör H), vücudun bakteriler ve diğer mikroorganizmalar karşısında ilk immün savunmasına dahil olan bir proteini kodlamaktadır (Bok, 2005). Alternatif kompleman yolağının majör inhibitörünü kodlayan *CFH* genindeki varyantlar YBMD gelişimindeki bir riskle ilişkilendirilmektedir. YBMD genetiği ile ilgili önemli bir gelişme, 2005 yılında *CFH* gen polimorfizmleri ve hastalık arasında güçlü bir ilişkinin tanımlanmasıdır (Edwards ve ark., 2005, Hageman et al., 2005, Haines ve ark., 2005, Klein ve ark. 2005). YBMD için ilk yatkınlık geni olarak tanımlanan *CFH*'in birçok çalışmada geografik atrofi ve koroidal neovaskülarizasyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (Edwards ve ark., 2005, Hageman et al., 2005, Haines ve ark., 2005, Klein ve ark. 2005, Li ve ark., 2006, Magnusson ve ark., 2006, Maller ve ark., 2006). Kafkas populasyonunda YBMD için artmış riskle ilişkilendirilen *CFH* genindeki varyantlara işaret eden çalışmalar kompleman sisteminin hastalığıdaki önemine kanıt oluşturmuştur (Klein ve ark. 2005, Hagemann ve ark. 2005).

Holliday ve ark. (2013) yaptıkları meta-analiz çalışmasında *CFH* rs1329424 (OR[T] = 1,41, 95% CI: 1.33–1.50, P= 1,5x10<sup>-31</sup>) polimorfizminin de dahil olduğu birçok polimorfizmin erken YBMD için önemli bir risk oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda kontrol grubunda *CFH* rs1329424 polimorfizmi G alelinin frekansı %60,78 ve T alelinin frekansı %39,22 olarak, YBMD hasta grubunda G alelinin frekansı %46 ve T alelinin frekansı %54 olarak bulundu. T risk aleli hasta grubunda önemli derecede yüksekti (P<0.0015, OR= 1.82, % 95 CI= 1.25-2.65). İlâveten, kontrol ve hasta gruplarında rs1329424 polimorfizmine ait genotip dağılımları

açısından önemli fark gözlenmiştir ( $P=0,005$ ). Bu sonuçlar çalışma grubumuzdaki yaş tip YBMD hastalarının risk aleli T'yi kontrollere göre önemli derecede daha fazla taşıdığını göstermektedir. Holliday ve ark (2013) çalışmalarında rs1329424 polimorfizminin erken YBMD için risk oluşturduğunu bildirmiş olmalarına rağmen bizim çalışmamızda kullandığımız ileri tip YBMD'ye dahil olan yaş tip YBMD hastalarında da risk alelinin yüksek çıkması bu polimorfizmin hem erken hem de ileri tip YBMD için büyük risk teşkil ettiğini göstermektedir. Chen ve ark. (2010), 2157 YBMD hastası ve 1150 sağlıklı kontrolle yaptıkları çalışmada, *CFH* geni rs1329424 polimorfizmi ile YBMD arasında güçlü bir ilişki rapor etmişlerdir ( $P=2.3 \times 10^{-8}$ ). Tian ve ark. (2012), *CFH* geni rs1329424 polimorfizminin Çin popülasyonunda YBMD'ye yatkınlık açısından risk oluşturduğunu bildirmişlerdir.

YBMD ile ilişkili *CFH* varyantları, RPE ve koroidal hücreleri alternatif yolağın düzenlediği kompleman savunma için sürekli bir risk altında tutmaktadır. Bu bulgular YBMD patolojisinin birincil olarak makulada ortaya çıkmasıyla uyumludur ve kompleman aktivasyonu Bruch membrandaki druzen oluşumu için anahtar bir olay olup Bruch membran bütünlüğünün bozulması neovasküler YBMD ile ilişkilidir (Chong ve ark., 2005).

*CFH*'in önemli fonksiyonel sitelerinde bulunan tanımlanmış varyasyonların YBMD ile ilişkili risk haplotipleri oldukları ve *CFH* proteininin davranışını değiştirerek immün sistemin kompleman yolağındaki rolünü engellediği düşünülmektedir. TNP değişimlerinin *CFH* proteininin kompleman fragmenti C3b veya C reaktif proteinine, sialik aside veya heparine bağlanmasını değiştirmiş olabileceği, benzer olarak bu varyasyonların *CHF* proteini ile antijenler arasındaki etkileşimi değiştirdiği, belki de RPE gibi lokal dokuları enfeksiyona yatkın hale getirdiği öne sürülmektedir (Bok, 2005).

Kompleman sistemin fonksiyon dışı kalması lokal doku hasarıyla sonuçlanmakta özellikle bu durum çok değerli olan böbrek glomerullerinde ve retinal makulada meydana gelmektedir (Bok, 2005). Chong ve ark. (2005) elastik olan Bruch membranının tercihen makular bölgede incelendiğini göstermişlerdir. Bu ince tabakanın



devam eden inflamasyonla bozulması neovasküler membranların oluşumunu da içeren lezyon oluşumu karşısında neden makulanın tercih edildiğini açıklamaktadır. CFH riskli haplotiplerinin enfeksiyöz ajanlar veya immün kompleksler, nefritik faktörler, amiloid-B peptid veya kolesterol gibi alternatif yolağın diğer atipik aktivatörlerinin bir kombinasyonu ile birlikte kalıtılması bir kişinin YBMD'ye olan yatkınlığını arttırmaktadır. Kompleman sisteme dahil olan moleküllerin ve onların düzenlenmelerinin belirlenmesi, YBMD veya diğer inflamasyon temelli hastalıklar için erken tanı testlerinin ve terapötik uygulamaların geliştirilmesi için önemli bir hedef olarak görülmektedir (Bok, 2005).

### **5.3.YBMD ile *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizminin ilişkisi**

Bağlantı analiz çalışmaları 10q.26'da bulunan ve YBMD'ye yatkınlıkta temel olan locilerden birine işaret etmektedir (Majewski ve ark., 2003; Seddon ve ark., 2003; Iyengar ve ark., 2004; Kenealy ve ark., 2004; Weeks ve ark., 2004). 10q.26 lokusu ve YBMD arasındaki ilişki, aile bağlantı analizleri ve haritalama (Jakobsdottir ve ark., 2005; Rivera ve ark., 2005) ile tanımlanmasının yanı sıra, GWAS temelli çalışmaları da içeren birçok çalışmada rapor edilmiştir (Dewan et al. 2006, Yang et al. 2006). Benzer olarak, 10q.26 bölgesinin YBMD'ye yatkınlıkta ikinci temel genetik belirleyici olduğu belirtilmiştir (Jakobsdottir ve ark., 2005; Rivera ve ark., 2005; Schmidt ve ark., 2006; Maller ve ark., 2006). Bu bölgeyle ilişkili genetik analiz çalışmalarında yaklaşık 140 kb'lık bir bölgede uzanan ve *PLEKHA1*, *ARMS2* ve *HTRA1* genlerini içeren üç gen kümesi tanımlanmıştır (Rivera ve ark., 2005). Bu genlerden her birinin makula dejenerasyonu ile olası biyolojik ilişkisinin olduğu (Fisher ve ark., 2005) ve bu bölgede meydana gelen polimorfizmlerin bu genlerden birinin fonksiyonunu değiştirerek YBMD riskini arttırdığı öne sürülmüştür (Jakobsdottir ve ark., 2005; Rivera ve ark., 2005; Schmidt ve ark., 2006).

10q.26 bölgesindeki genlerden hastalığa yatkınlığı tetikleyen genin hangisi olduğu tartışmalıdır (Fritsche ve ark., 2008). Özellikle bu tartışma, *ARMS2* (Jakobsdottir ve ark., 2005; Rivera ve ark., 2005) ve *HTRA1* genleri hakkındadır (Dewan et al. 2006, Yang et al. 2006). Çünkü hem *HTRA1* hem de *ARMS2* genlerindeki polimorfizmlerin sıkı bir bağlantı dengesizliğinde (Linkage disequilibrium) olduğu birçok çalışmada

bildirilmiştir (Fritsche ve ark., 2008; DeWan ve ark., 2006; Kaur ve ark., 2008; DeAngelis ve ark.; 2007; Hughes ve ark., 2007; Lu ve ark., 2007; Yoshida ve ark., 2007). Bu nedenle istatistiksel olarak bu iki genin ayırmak ve her bir genin YBMD etiolojisine olan etkisini anlamak zor olmaktadır (Richardson ve ark. 2010). *HTRAI* ve *ARMS2* genleri arasında bulunan rs3793917 polimorfizmi *HTRAI* geninin yaklaşık 1300 bç upstream bölgesindedir. Bizim çalışmamızda, yaş tip YBMD hastaları ve kontroller *HTRAI* rs3793917 polimorfizmi genotip frekansları açısından karşılaştırıldığında aralarında önemli fark gözlenmiştir ( $P<0,05$ ). İlaveten rs3793917 polimorfizmine ait C ve G alel frekansları  $\chi^2$  testi kullanılarak hasta ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında aradaki fark önemli bulunmuştur ( $P<0.0001$ ; OR= 3,26; %95 CI= 2,1994-4,8298). Sonuçlarımız daha önce yapılmış çalışmalarla uyumludur.

Richardson ve ark. (2010) 10q.26 boyunca bulunan polimorfizmlerin YBMD ile ilişkili olduğunu ve YBMD ile en yüksek ilişki gösteren polimorfizmin rs3793917 olduğunu bildirmiştir (OR= 3,45; %95 CI= 2.36-5,05).

*ARMS2* ve *HTRAI* genleri arasındaki bölgede bulunan rs10490924, rs3750848, del443ins54, rs3793917, rs11200638 ve rs932275 polimorfizmlerinin YBMD ile yüksek derecede ilişkisi olduğu gösterilmiş ve tek bir risk haplotipini oluşturduğu öne sürülmüştür (Fritsche ve ark., 2008). Aynı çalışmada rs3793917 polimorfizminin YBMD ile yüksek ilişkisi olduğu (OR= 1.80;  $P<7.82 \times 10^{-5}$ ) bildirilmiştir.

Holliday ve ark. (2013) yaptıkları meta-analiz çalışmasında *HTRAI/ARMS2* lokusundaki rs3793917 (OR[G] = 1.43, 95% CI: 1.34–1.54,  $P= 4.3 \times 10^{-24}$ ) polimorfizminin de dahil olduğu birçok polimorfizmin erken YBMD için önemli bir risk oluşturduğunu bildirmiştir. Chen ve ark. (2010) rs3793917 polimorfizminin risk alel sıklığını hastalarda %37,1 ve kontrollerde %16,4 olarak bulmuşlardır (OR=3.40; 95% CI: 2.94, 3.94,  $P = 4.1 \times 10^{-60}$ ). Bizim çalışmamızda hastalarda G risk alel sıklığı %53,6 ve kontrollerde %26,17 olarak tespit edilmiştir (OR=3.26; 95% CI: 2.20-4.83;  $P<0,0001$ ). Tian ve ark. (2012), *HTRAI* geni rs3793917 polimorfizminin YBMD için yatkınlık oluşturduğunu rapor etmiştir. Kopplin ve ark. (2010), *ARMS2* ve *HTRAI*'nin ilk intronunu içeren 14 kb'lık bir

bölgeyi taramış ve YBMD ile ilişkili olabilecek haplotipleri test etmişlerdir. Sıklığı %1'den fazla olan altı haplotip arasından rs10490924, rs3750848 ve rs3793917'yi içeren bir risk haplotipi tanımlamışlardır (OR= 2,6; P=1,91x10<sup>-48</sup>). Bu risk haplotipinde bulunan bu üç polimorfizmin *ARMS2*'nin RNA ve protein ekspresyonunu etkileyen insersiyon/delesyon polimorfizmleri olduğu ve doğrudan YBMD ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.

Fritsche ve ark. (2008), bu insersiyon/delesyon polimorfizmlerinin poliadenilasyon sinyalini kaldırarak ve mRNA turnoverını yönettiği bilinen 54 bç'lik bir elementi ekleyerek doğrudan transkripti etkilediğini ve *ARMS2*'nin mitokondri ilişkili yollar aracılığıyla YBMD'de anahtar bir rolü olduğunu öne sürmüşlerdir.

Gelecekte yapılacak olan polimorfizm çalışmalarıyla hastalığa yatkınlığa en fazla etkisi olan risk aleli ve gen (*ARMS2* veya *HTRA1*) kesinleşebilecektir. *ARMS2* proteininin fonksiyonel analizlerinin yanı sıra, 10q.26'da bulunan çeşitli haplotiplerin YBMD üzerine fenotipik etkisine odaklanarak bu bölgenin bağlantı yapısının belirlenmesi için daha büyük ve birbirinden ayrı populasyonlar çalışılması gerektiği öne sürülmüştür (Hadley ve ark., 2010). Bununla birlikte, bu bölgenin *HTRA1* geninin veya komşu genlerin promotörleri üzerinde etkisi olan ve YBMD'ye yatkınlığı etkileyen elementler içerip içermediğinin belirlenmesi gerektiği bildirilmiştir (Richardson, 2010).

YBMD ile ilişkilendirilen *CFH*, *HTRA1* ve *ARMS2* genlerinden farklı olarak güncel literatür incelendiğinde *RORA* ve *ROBO1* genleri ve YBMD arasındaki ilişkiye dair çok az çalışmanın olduğu gözlenmektedir. Son dört yılda yapılmış olan bu çalışmalar, bu genler ile YBMD arasındaki olası ilişki üzerine ilk verileri barındırmaktadır. Yeni başlayan bu çalışmalar içinde *RORA* ve *ROBO1* genlerine ait incelenmiş onlarca polimorfizm bulunmakta olup, bizim çalıştıklarımız sadece bu genlere ait birer polimorfizmi teşkil etmektedir. Diğer genlerle yaptığımız çalışma sonuçlarına göre YBMD hasta ve kontrol gruplarımızın son derece selektif olduğu, literatürle uyumlu sonuçlar almamızla konfirme edilmiştir. Ancak çalıştığımız *RORA* ve *ROBO1* polimorfizmlerine ait alel ve genotip sonuçları bakımından hasta ve

kontrol arasında fark çıkmaması, bu genlerin hastalık üzerinde etkisinin olmadığını göstermez. Belirttiğimiz üzere yapılan tarama çalışmalarıyla *RORA* ve *ROBO1* genlerinde YBMD riski ile ilişkili olabileceği öngörülen onlarca polimorfizm tespit edilmiştir. Belki de çalıştığımız YBMD hastaları bizim değerlendirmedığımız *RORA* ve *ROBO1* polimorfizmlerinin bazılarının risk alellerini bulundurmaktadır. Sonuç olarak bu genler ve ilişkili polimorfizmlerin hangisinin YBMD riskini arttırdığını tespit etmek için çok geniş hasta gruplarında bu genlere ait birçok polimorfizmin değerlendirilmesi gerekmektedir.

Güncel literatür değerlendirildiğinde *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* rs3793917 polimorfizmleri ile YBMD arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Rapor edilmiş tüm çalışmalar bu yöndedir. Bizim çalışma bulgularımız da bu ilişkiyi desteklemektedir. Göreceli olarak küçük bir çalışma grubu ile elde ettiğimiz bu bulgular *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* rs3793917 polimorfizmlerinin YBMD patogeneğinde çok önemli bir rol oynadığını göstermektedir. İlaveten, özellikle bu genlere ait bu polimorfizmlerin ülkemizde ilk defa değerlendirilmiş olması da literatüre katkı bakımından ayrıca önem teşkil etmektedir.

## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada *RORA* rs8034864, *ROBO1* rs1387665, *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmleri ile yaş tip YBMD hastalığı arasındaki ilişki hasta ve kontrol grubundaki genotip ve alel frekanslarının dağılımına bakılarak değerlendirilmiştir. Çalışma bulgularımıza göre:

- *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* rs3793917 polimorfizmlerinde hasta ve kontrol grupları arasında alel frekansları açısından fark belirlenmiş, zıt olarak *RORA* rs8034864 ve *ROBO1* rs1387665 polimorfizmlerinde hasta ve kontrol arasında alel frekansları açısından fark belirlenmemiştir.
- Çalışma sonuçlarımıza göre hastalığa en fazla yatkınlık oluşturan risk alelinin *HTRA1* rs3793917 G aleli olduğu belirlenmiştir. Bu aleli *CFH* rs1329424 G aleli takip etmektedir.

Çalışma sonuçlarının, yaş tip YBMD tanısı alan hastaların ailelerine hastalığa yatkınlık açısından bilgilendirici olacağı düşünülmektedir. Çünkü YBMD multifaktöriyel etiyojjiye sahip kompleks bir hastalık olmasına rağmen herediter özelliği patogenezinde majör bir risk faktörüdür. YBMD ilerledikçe fizyolojik etkisi artmakta, bunu takiben hayat kalitesi düşmektedir. Bu durum hastaların hem kendileri ve hem de yakınları için yıkıcı etkiler yaratmaktadır. Bundan dolayı hastalığın erken teşhisi ve teşhisi takiben izlenmesi için potansiyel koruyucu tedbirlerin araştırılması önemlidir.

Genetik yatkınlık alelleri bir bireyin YBMD'ye olan yatkınlığını tahmin etmede kullanılabilir. Ancak YBMD'ye yatkınlık alellerinin rutin tanıda kullanılmasından önce mutlaka populasyon temelli geniş kapsamlı çalışmalarla değerlendirilerek konfirme edilmesi önerilir.

## ÖZET

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD) elli yaş ve üzeri kişilerde retinanın merkezi olan makula luteayı etkileyen ilerleyici ve dejeneratif bir hastalıktır.2020 yılında dünya üzerinde 80 milyon insanın YBMD'den etkilenmiş olacağı tahmin edilmektedir.Geri dönüşümsüz görme kaybının birincil sebebi olan YBMD multifaktöriyel etiolojiye sahip kompleks bir hastalık olup genetik predispozisyonu patogenezinde majör bir risk faktörüdür. Bugüne kadar birçok gen YBMD'nin gelişme riskindeki bir artışla ilişkilendirilmiştir. İlerlemiş YBMD yaş tip (veya neovasküler)YBMD ve kuru tip (veya Geografik Afrofi) YBMD olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.Çalışmamızda *RORA* geni rs8034864, *ROBO1* geni rs1387665, *CFH* geni rs1329424 ve *HTRA1* geni rs3793917 polimorfizmleriyaş tip YBMD tanısı almış 125 hasta ve 108 kontrolde değerlendirilmiştir. YBMD'ye yatkınlık oluşturduğu düşünülen çalıştığımız gen polimorfizmlerine ait risk alel frekansları hastalarda %26,8 ile %54 arasında, kontrollerde ise %33,65 ile %42,11 arasında değişmektedir. *CFH*rs1329424 ve *HTRA1*rs3793917 polimorfizmlerinde hasta ve kontrol arasında alel frekansları açısından istatistiksel fark bulunmakta (sırasıyla, $P=0,001698$ ,  $OR= 1,82$ ;  $P<0,0001$ ,  $OR=3,26$ ), zıt olarak *RORA* rs8034864 ve *ROBO1*rs1387665 polimorfizmlerinde hasta ve kontrol arasında alel frekansları açısından istatistiksel fark bulunmamaktadır (sırasıyla; $P=0,110995$ ,  $OR= 0,72$ ; $P=0,236724$ ,  $OR= 1,25$ ). Hasta ve kontrol grupları genotip frekansları açısından değerlendirildiğinde de *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* rs3793917 polimorfizmlerinde hasta ve kontrol arasında genotip frekansları açısından istatistiksel fark bulunmakta ( $P<0,05$ ), zıt olarak *RORA* rs8034864 ve *ROBO1* rs1387665 polimorfizmlerinde hasta ve kontrol arasında genotip frekansları açısından istatistiksel fark bulunmamaktadır ( $P>0,05$ ).

Çalışma sonuçlarımız değerlendirildiğinde *CFH* rs1329424 ve *HTRA1* rs3793917 polimorfizmlerinin literatür verileriyle uyumlu olarak yaş tip YBMD ile önemli derecede ilişkili olduğu gözlenmiştir. *RORA* rs8034864 ve *ROBO1* rs1387665 polimorfizmleri ile yaş tip YBMD arasında önemli ilişki gözlenmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** YBMD, *RORA* rs8034864, *ROBO1*rs1387665, *CFH*rs1329424,*HTRA1*rs3793917, polimorfizm, makula

## ABSTRACT

Age Related Macular Degeneration (AMD) is a progressive and degenerative disease that effect central retina, macula lutea, in individuals older than fifty years. It is expected that 80 million people will be effected from AMD by the year of 2020. AMD is the leading cause of irreversible blindness and it is a complex disorder with a multifactorial etiology, and genetic predisposition is a major risk factor in its pathogenesis. To date, several genes have been associated with an increased risk of developing AMD. Advanced AMD is divided into two late stages, exudative (or neovascular) AMD and dry (or geographic atrophy) AMD. In our study, *RORA* rs8034864, *ROBO1* rs1387665, *CFH* rs1329424 and *HTRA1* gene rs3793917 polymorphisms were evaluated in 125 patients diagnosed with neovascular AMD and 108 controls. The risk allele frequencies of studied gene polymorphisms vary between 26,8% and 54% in patients and vary between 33,65 % and 42,11 % in controls. There is statistically significant differences between patients and controls in terms of allele frequencies of *CFH* rs1329424 and *HTRA1* rs3793917 polymorphisms (respectively,  $P=0,001698$ ,  $OR= 1,82$ ;  $P<0,0001$ ,  $OR=3,26$ ). On contrary to this, there is no statistically significant differences between patients and controls in terms of allele frequencies of *RORA* rs8034864 and *ROBO1* rs1387665 polymorphisms. Beside, there is statistically significant differences between patients and controls in terms of genotype frequencies of *CFH* rs1329424 and *HTRA1* rs3793917 polymorphisms ( $P<0,05$ ), on contrary to this there is no statistically significant differences between patients and controls in terms of genotype frequencies of *RORA* rs8034864 and *ROBO1* rs1387665 polymorphisms ( $P>0,05$ ).

As a result, consistent with the literature data, there is significant association between neovascular AMD and *CFH* rs1329424 and *HTRA1* rs3793917 polymorphisms. But there is no association between neovascular AMD and *RORA* rs8034864 and *ROBO1* rs1387665 polymorphisms.

**Keywords:** AMD, *RORA* rs8034864, *ROBO1* rs1387665, *CFH* rs1329424, *HTRA1* rs3793917, polymorphism, macula.

## KAYNAKLAR

- AGE-RELATED EYE DISEASE STUDY RESEARCH GROUP. (2000). 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*, **107**: 2224–2232.
- AHMED, J., BRAUN, R.D., DUNN, R. JR, LINSENMEIER, R.A. (1993). Oxygen distribution in the macaque retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **34**(3): 516-521.
- AKIYAMA, H., BARGER, S., BARNUM, S., BRADT, B., BAUER, J., COLE, G.M., COOPER, N.R., EIKELEBOOM, P., EMMERLING, M., FIEBICH, B.L. (2000). Inflammation and Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging*, **21**: 383–421.
- AMBATI, J., AMBATI, B.K., YOO, S.H., IANCHULEV, S., ADAMIS, A.P. (2003). Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv. Ophthalmol.* **48**(3):257-293.
- ANDERSON, D.H., MULLINS, R.F., HAGEMAN, G.S., JOHNSON, L.V. (2002). A role for local inflammation in the formation of drusen in the aging eye. *Am. J. Ophthalmol.* **134**(3):411–431.
- ANDERSON, D.H., TALAGA, K.C., RIVEST, A.J., BARRON, E., HAGEMAN, G.S., JOHNSON, L.V. (2004). Characterization of  $\beta$  amyloid assemblies in drusen: the deposits associated with aging and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **78**:243–256.
- ANGATA, T. (2014). Associations of genetic polymorphisms of Siglecs with human diseases. *Glycobiology*, doi: 10.1093/glycob/cwu043
- ANGIOGENESIS FOUNDATION (2014). The science of AMD. Erişim: [[www.scienceofamd.org/learn/](http://www.scienceofamd.org/learn/)]. Erişim tarihi: 15.04.2014.
- ARMENGOL, L., RABIONET, R., ESTIVILL, X. (2008). The emerging role of structural variations in common disorders: initial findings and discovery challenges. *Cytogenet. Genome Res.* **123**(1-4):108-117.
- BAIRD, P.N., HAGEMAN, G.S., GUYMER, R.H. (2009). New era for personalized medicine: the diagnosis and management of age-related macular degeneration. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, **37**(8): 814-821.
- BARRON, M.J., JOHNSON, M.A., ANDREWS, R.M., CLARKE, M.P., GRIFFITHS, P.G., BRISTOW, E., HE, L.P., DURHAM, S., TURNBULL, D.M. (2001). Mitochondrial abnormalities in ageing macular photoreceptors. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **42**:3016–3022.
- BASS, C., NIKOU, D., VONTAS, J., DONNELLY, M.J., WILLIAMSON, M.S., FIELD, L.M. (2010). The vector population monitoring tool (VPMT): high-throughput dna-based diagnostics for the monitoring of mosquito vector populations. *Malaria Research and Treatment*, **2010**: 190434
- BEATTY, S., KOH, H., PHIL, M., HENSON, D., BOULTON, M. (2000). The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv. Ophthalmol.* **45**:115–134.
- BERENDSCHOT, T.T., WILLEMSE-ASSINK, J.J., BASTIAANSE, M., DE JONG, P.T., VAN NORREN, D. (2002). Macular pigment and melanin in age-related maculopathy in a general population. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **43**: 1928–1932.
- BERROW, E. (2011). The Effect of nutritional supplementation on subjective and objective measures of visual and retinal function. Doctoral Thesis, Aston University.
- BESNARD, S., SILVESTRE, J.S., DURIEZ, M., BAKOUCHE, J., LEMAIGRE-DUBREUIL, Y., MARIANI, J., LEVY, B.I., TEDGUI, A. (2001). Increased ischemia-induced angiogenesis in the staggerer mouse, a mutant of the nuclear receptor Roralpha. *Circ Res.* **7**; **89**(12):1209–1215.



- BESNARD, S., BAKOUCHE, J., LEMAIGRE-DUBREUIL, Y., MARIANI, J., TEDGUI, A., HENRION, D. (2002). Smooth muscle dysfunction in resistance arteries of the staggerer mouse, a mutant of the nuclear receptor RORalpha. *Circ Res.* **19;90(7)**:820-825.
- BHUTTO, I.A., MCLEOD, D.S., HASEGAWA, T., KIM, S.Y., MERGES, C., TONG, P., LUTTY, G.A. (2006). Pigment epithelium-derived factor (PEDF) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in aged human choroid and eyes with age-related macular degeneration. *Experimental Eye Research*, **82(1)**: 99-110.
- BIRD, A.C., BRESSLER, N.M., BRESSLER, S.B., CHISHOLM, I.H., COSCAS, G., DAVIS, M.D., DE JONG, P.T.V.M., KLAVER, C.C.W., KLEIN, B.E.K., KLEIN, R., MITCHELL, P., SARKS, J.P., SARKS, S.H., SOUBRANE, G., TAYLOR, H.R., VINGERLING, J.R. (1995). An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol.* **39**:367-374
- BIRD, A.C. (2003). Towards an understanding of age-related macular disease. *Eye*, **17**:457-466.
- BONE, R., LANDRUM, J.T., FERNANDEZ, L. (1988). Analysis of the macular pigment by HPLC: retinal distribution and age study. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **29**: 843-849.
- BOK, D. (2005). Evidence for an inflammatory process in age-related macular degeneration gains new support. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102(20)**:7053-7054.
- BOUKHTOUCHE, F., VODJDANI, G., JARVIS, C.I., BAKOUCHE, J., STAELS, B., MALLET, J., MARIANI, J., LEMAIGRE-DUBREUIL, Y., BRUGG, B. (2006). Human retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha1 overexpression protects neurones against oxidative stress-induced apoptosis. *J. Neurochem.* **96**:1778-1789.
- BOUKHTOUCHE, F., MARIANI, J., TEDGUI, A. (2004). The "CholesteROR" protective pathway in the vascular system. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.* **24(4)**:637-643.
- BRESSLER, N.M., BRESSLER, S.B., WEST, S.K., FINE, S.L., TAYLOR, H.R. (1989). The grading and prevalence of macular degeneration in Chesapeake Bay watermen. *Arch. Ophthalmol.* **107**:847-852.
- BRESSLER, S.B., MUNOZ, B., SOLOMON, S.D., WEST, S.K., SALISBURY EYE EVALUATION (SEE) STUDY TEAM. (2008). Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration. The Salisbury eye evaluation (SEE) project. *Arch. Ophthalmol.* **126**: 241-245.
- BRESSLER, S.B., SILVA, J.C., BRESSLER, N.M., ALEXANDER, J., GREEN, W.R. (1992). Clinicopathologic correlation of occult choroidal neovascularization in age-related macular degeneration. *Arch. Ophthalmol.* **110(6)**:827-832.
- BRESSLER, N.M. (2002). Early detection and treatment of neovascular age related macular degeneration. *J. Am. Board. Fam. Pract.* **15**: 142-152.
- BRESSLER, N.M. (2001). Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: two-year results of 2 randomized clinical trials-tap report 2. *Arch. Ophthalmol.* **119**:198-207.
- BRION, M., SANCHEZ-SALORIO, M., CORTON, M., DE LA FUENTE, M., PAZOS, B., OTHMAN, M., SWAROOP, A., ABECASIS, G., SOBRINO, B., CARRACEDO, A. (2011). Genetic association study of age-related macular degeneration in the Spanish population. *Acta Ophthalmol.* **89**:12-22.
- CAMERON, D.J., YANG, Z., GIBBS, D., CHEN, H., KAMINOH, Y., JORGENSEN, A., ZENG, J., LUO, L., BRINTON, E., BRINTON, G., BRAND, J.M., BERNSTEIN, P.S., ZABRISKIE, N.A., TANG, S., CONSTANTINE, R., TONG, Z., ZHANG, K. (2007). HTRA1 variant confers similar risks to geographic atrophy and neovascular age-related macular degeneration. *Cell Cycle*, **6(9)**: 1122-1125.
- CARELLI, V., ROSS-CISNEROS, F.N., SADUN, A.A. (2004). Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog. Retin. Eye Res.* **23**:53-89.

- CASWELL, A.G., KOHEN, D., BIRD, A.C. (1985) Retinal pigment epithelial detachments in the elderly: classification and outcome. *Br. J. Ophthalmol.* **69**: 397-403.
- CHAKRAVARTHY, U., WONG, T.Y., FLETCHER, A., PIAULT, E., EVANS, C., ZLATEVA, G., BUGGAGE, R., PLEIL, A., MITCHELL, P. (2010). Clinical risk factors for age-related macular degeneration: a systematic review and meta-analysis. *BMC Ophthalmology*, **10**:31.
- CHEN, H., ZHANG, M., TANG, S., LONDON, N.R., LI, D.Y. (2010). Slit-robo signaling in ocular angiogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* **664**: 457-463.
- CHEN, Y.H., ZENG, J.X., ZHAO, C., WANG, K., TROOD, E., BUEHLER, J., WEED, M., KASUGA, D., BERNSTEIN, P.S., HUGHES, G., FU, V., CHIN, J., LEE, C., CROCKER, M., BEDELL, M., SALASAR, F., YANG, Z., GOLDBAUM, M., FERREYRA, H., FREEMAN, W.R., KOZAK, I., ZHANG, K. (2011). Assessing susceptibility to age-related macular degeneration with genetic markers and environmental factors. *Arch. Ophthalmol.* **129**:344-351.
- CHEN, W., STAMBOLIAN, D., EDWARDS, A.O., BRANHAM, K.E., OTHMAN, M., JAKOBSDOTTIR, J., TOSAKULWONG, N., PERICAK-VANCE, M.A., CAMPOCHIARO, P.A., KLEIN, M.L., TAN, P.L., CONLEY, Y.P., KANDA, A., KOPPLIN, L., LI, Y., AUGUSTAITIS, K.J., KAROUKIS, A.J., SCOTT, W.K., AGARWAL, A., KOVACH, J.L., SCHWARTZ, S.G., POSTEL, E.A., BROOKS, M., BARATZ, K.H., BROWN, W.L., BRUCKER, A.J., ORLIN, A., BROWN, G., HO, A., REGILLO, C. (2010). Genetic variants near TIMP3 and high-density lipoprotein-associated loci influence susceptibility to age-related macular degeneration. *Proc Natl Acad Sci USA*, **107**:7401-7406.
- CHONG, N.H., KEONIN, J., LUTHERT, P.J., FRENNESSON, C.I., WEINGEIST, D.M., WOLF, R.L., MULLINS, R.F., HAGEMAN, G.S. (2005). Decreased thickness and integrity of the macular elastic layer of Bruch's membrane correspond to the distribution of lesions associated with age-related macular degeneration. *Am. J. Pathol.* **166**(1):241-251.
- CIULLA, T.A., HARRIS, A., CHUNG, H.S., DANIS, R.P., KAGEMANN, L., MCNULTY, L., PRATT, L.M., MARTIN, B.J. (1999). Color Doppler imaging discloses reduced ocular blood flow velocities in nonexudative age-related macular degeneration. *American Journal of Ophthalmology*, **128**(1): 75-80.
- CLEMONS, T.E., MILTON, R.C., KLEIN, R., SEDDON, J.M., FERRIS, F.L. (2005). 3rd: Risk factors for the incidence of Advanced Age-Related Macular Degeneration in the Age-Related Eye Disease Study (AREDS) AREDS report no. 19. *Ophthalmology*, **112**(4):533-539.
- CONLEY, Y.P., THALAMUTHU, A., JAKOBSDOTTIR, J., WEEKS, D.E., MAH, T., FERRELL, R.E., GORIN, M.B. (2005). Candidate gene analysis suggests a role for fatty acid biosynthesis and regulation of the complement system in the etiology of age-related maculopathy. *Hum. Mol. Genet.* **15**; **14**(14):1991-2002.
- CONLEY, Y.P., JAKOBSDOTTIR, J., MAH, T., WEEKS, D.E., KLEIN, R., KULLER, L., FERRELL, R.E., GORIN, M.B. (2006). CFH, ELOVL4, PLEKHA1 and LOC387715 genes and susceptibility to age-related maculopathy: AREDS and CHS cohorts and meta-analyses. *Hum. Mol. Genet.* **1**; **15**(21):3206-3218.
- CONNELL, P.P., KEANE, P.A., O'NEILL, E.C., ALTAIE, R.W., LOANE, E., NEELAM, K., NOLAN, J.M., BEATTY, S. (2009). Risk factors for age-related maculopathy. *Journal of Ophthalmology*, **2009**:360764.
- CRABB, J.W., MIYAGI, M., GU, X., SHADRACH, K., WEST, K.A., SAKAGUCHI, H., KAMEI, M., HASAN, A., YAN, L., RAYBORN, M.E. (2002). Drusen proteome analysis: An approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**: 14682-14687.

- CURCIO, C.A., OWSLEY, C., JACKSON, G.R. (2000). Spare the rods, save the cones in aging and age-related maculopathy. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **41(8)**: 2015-2018.
- CURCIO, C., MILLICAN, C. (1999). Basal linear deposit and large drusen are specific for early age-related maculopathy. *Archives of Ophthalmology*, **117**: 329-339.
- CURCIO, C.A., JOHNSON, M., RUDOLF, M., HUANG, J.D. (2011). The oil spill in ageing Bruch membrane. *The British Journal of Ophthalmology*, **95(12)**: 1638-1645.
- D'AMORE, P.A. (1994). Mechanisms of retinal and choroidal neovascularization. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **35(12)**: 3974-3979.
- DARGEL, R. (1992). Lipid peroxidation--a common pathogenetic mechanism? *Experimental and Toxicologic Pathology*, **44(4)**: 169-181.
- DARZINS, P., MITCHELL, P., HELLER, R.F. (1997). Sun exposure and age-related macular degeneration. An Australian case-control study. *Ophthalmology*, **104**: 770-776.
- DEANGELIS, M.M., JI, F., ADAMS, S., MORRISON, M.A., HARRING, A.J., SWEENEY, M.O., CAPONE, A. JR, MILLER, J.W., DRYJA, T.P., OTT, J., KIM, I.K. (2007). Alleles in the HtrA serine peptidase 1 gene alter the risk of neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, **115(7)**: 1209-1215.
- DELAPAZ, M., ANDERSON, R.E. (1992). Region and age-dependent variation in susceptibility of the human retina to lipid peroxidation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **33(13)**: 3497-3499.
- DELCOURT, C., DIAZ, J.L., PONTON-SANCHEZ, A., PAPOZ, L. (1998). Smoking and age-related macular degeneration. The POLA Study. Pathologies oculaires liées à l'âge. *Arch. Ophthalmol.* **116**: 1031-1035.
- DELCOURT, C., MICHEL, F., COLVEZ, A., LACROUX, A., DELAGE, M., VERNET, M.H. (2001). Associations of cardiovascular disease and its risk factors with age-related macular degeneration: the POLA study. *Ophthalmic Epidemiology*, **8(4)**: 237-249.
- DELERIVE, P., MONTE, D., DUBOIS, G., TROTTEIN, F., FRUCHART-NAJIB, J., MARIANI, J., FRUCHART, J.C., STAELS, B. (2001). The orphan nuclear receptor ROR $\alpha$  is a negative regulator of the inflammatory response. *EMBO Rep.* **2**: 42-48.
- DELORI, F.C., GOGER, D.G., DOREY, C.K. (2001). Age-related accumulation and spatial distribution of lipofuscin in RPE of normal subjects. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **42(8)**: 1855-1866.
- DEWAN, A., BRACKEN, M.B., HOH, J. (2007). Two genetic pathways for age-related macular degeneration. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **17(3)**: 228-233.
- DEWAN, A., LIU, M., HARTMAN, S., ZHANG, S.S., LIU, D.T., ZHAO, C., TAM, P.O., CHAN, W.M., LAM, D.S., SNYDER, M., BARNSTABLE, C., PANG, C.P., HOH, J. (2006). HTRA1 promoter polymorphism in wet age-related macular degeneration. *Science*, **314**: 989-992.
- DIETZEL, M., FARWICK, A., HENSE, H.W. (2010). Genetic and risk factors for exudative AMD. *Ophthalmology*, **107**: 1103-1108.
- DISTLER, O., NEIDHART, M., GAY, R.E. (2002). The molecular of angiogenesis. *Intern. Rev. Immunol.* **21**: 33-49.
- DONOSO, L.A., KIM, D., FROST, A., CALLAHAN, A., HAGEMAN, G. (2006). The role of inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Surv. Ophthalmol.* **51**: 137-152.
- DOWLING, J.E. (1987). The retina an approachable part of the brain. Harvard University Press.
- EBERL, G., MARMON, S., SUNSHINE, M.J., RENNERT, P.D., CHOI, Y., LITTMAN, D.R. (2004). An essential function for the nuclear receptor ROR $\gamma$ (t) in the generation of fetal lymphoid tissue inducer cells. *Nat. Immunol.* **5**: 64-73.
- EDWARDS, A.O., RITTER, R. 3RD, ABEL, K.J., MANNING, A., PANHUYSSEN, C., FARRER, L.A. (2005). Complement factor H polymorphism and age-related macular degeneration. *Science*, **308**: 421-424.

- ERSKINE, L., WILLIAMS, S.E., BROSE, K., KIDD, T., RACHEL, R.A. (2000). Retinalganglion cell axon guidance in the mouse optic chiasm: expression and function of robo and slits. *J. Neurosci.* **20**: 4975–4982.
- EUROFINS (2014). LightCycler Probes For FRET Assays. Erişim: [http://www.eurofinsgenomics.eu/en/dna-rna-oligonucleotides/optimised-application-oligos/qpcr-probes/lightcycler-probes.aspx]. Erişim tarihi: 11.04.2014
- EVANS, J., WORMALD, R. (1996). Is the incidence of registrable age-related macular degeneration increasing? *British Journal of Ophthalmology*, **80(1)**: 9-14.
- EVANS, J.R., FLETCHER, A.E., WORMALD, R.P.L. (2005). 28,000 Cases of age related macular degeneration causing visual loss in people aged 75 years and above in the United Kingdom may be attributable to smoking. *British Journal of Ophthalmology*, **89(5)**: 550-553.
- FEHER, J., KOVACS, I., ARTICO, M., CAVALLOTTI, C., PAPALE, A., BALACCO GABRIELI, C. (2006). Mitochondrial alterations of retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Neurobiol. Aging*, **27**:983–993.
- FERRARA, N., GERBER, H.P. (2001). The role of vascular endothelial growth factor in angiogenesis. *Acta Haematol.* **106(4)**:148-156.
- FERRIS, F.L., DAVIS, M.D., CLEMONS, T.E., LEE, L.Y., CHEW, E.Y., LINDBLAD, A.S., MILTON, R.C., BRESSLER, S.B., KLEIN, R. (2005). A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 18. *Archives of Ophthalmology*, **123(11)**:1570-1574.
- FESKANICH, D., CHO, E., SCHAUMBERG, D.A., COLDITZ, G.A., HANKINSON, S.E. Menopausal and reproductive factors and risk of age-related macular degeneration. *Archives of Ophthalmology*, **126(4)**:519-524.
- FISHER, S.A., ABECASIS, G.R., YASHAR, B.M., ZAREPARSI, S., SWAROOP, A., IYENGAR, S.K., KLEIN, B.E., KLEIN, R., LEE, K.E., MAJEWSKI, J. (2005). Meta-analysis of genome scans of age-related macular degeneration. *Hum. Mol. Genet.* **14**:2257–2264.
- FRANCIS, P.J., KLEIN, M.L. (2011). Update on the role of genetics in the onset of age-related macular degeneration. *Clin. Ophthalmol.* **5**:1127-1133.
- FRANCIS, P.J., APPUKUTTAN, B., SIMMONS, E., LANDAUER, N., STODDARD, J., HAMON, S., OTT, J., FERGUSON, B., KLEIN, M., STOUT, J.T., NEURINGER, M. (2008). Rhesus monkeys and humans share common susceptibility genes for age-related macular disease. *Hum. Mol. Genet.* **17**:2673–2680.
- FRIEDMAN, E., KRUPSKY, S., LANE, A.M., OAK, S.S., FRIEDMAN, E.S., EGAN, K., GRAGODAS, E.S. (1995). Ocular blood flow velocity in age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, **102(4)**: 640-646.
- FRIEDMAN, D.S., KATZ, J., BRESSLER, N.M., RAHMANI, B., TIELSCH, J.M. (1999). Racial differences in the prevalence of age-related macular degeneration: the Baltimore Eye Survey. *Ophthalmology*, **106**: 1049-1055.
- FRIEDMAN, E. (2000). The role of the atherosclerotic process in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *American Journal of Ophthalmology*, **130(5)**:658-663.
- FRIEDMAN, D.S., O'COLMAIN, B.J., MUNOZ, B., TOMANY, S.C., MCCARTY, C., DE JONG, P.T., NEMESURE, B., MITCHELL, P., KEMPEN, J. (2004) Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch. Ophthalmol.* **122**: 564-572.
- FRITSCHKE, L.G., LOENHARDT, T., JANSSEN, A., FISHER, S.A., RIVERA, A., KEILHAUER, C.N., WEBER, B.H. (2008). Age-related macular degeneration is associated with an unstable ARMS2 (LOC387715) mRNA. *Nat. Genet.* **40(7)**:892–896.
- FUJIEDA, H., BREMNER, R., MEARS, A.J., SASAKI, H. (2009). Retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha regulates a subset of cone genes during mouse retinal development. *J. Neurochem.* **108**:91–101.

- GABRIEL, S.B., SCHAFFNER, S.F., NGUYEN, H., MOORE, J.M., ROY, J., BLUMENSTIEL, B., HIGGINS, J., DEFELICE, M., LOCHNER, A., FAGGART, M., LIU-CORDERO, S.N., ROTIMI, C., ADEYEMO, A., COOPER, R., WARD, R., LANDER, E.S., DALY, M.J., ALTSHULER, D. (2002). The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science*, **296(5576)**:2225-2229.
- GALLEMORE, R.P., HUGHES, B.A., MILLER, S.S. (1997). Retinal pigment epithelial transport mechanisms and their contributions to the electroretinogram. *Progress in Retinal and Eye Research*, **16(4)**: 509-566.
- GOLD, D.A., BAEK, S.H., SCHORK, N.J., ROSE, D.W., LARSEN, D.D., SACHS, B.D., ROSENFELD, M.G., HAMILTON, B.A. (2003). ROR $\alpha$  coordinates reciprocal signaling in cerebellar development through sonic hedgehog and calcium-dependent pathways. *Neuron*, **40**: 1119-1131.
- GOLD, B., MERRIAM, J.E., ZERNANT, J., HANCOX, L.S., TAIBER, A.J. (2006). Variation in factor B (BF) and complement component 2 (C2) genes is associated with age-related macular degeneration. *Nat. Genet.* **38**: 458-462.
- GORIN, M.B., BREITNER, J.C.S., DE JONG, P.T.V.M., HAGEMAN, G.S., KLAVER, C.C.W., KUEHN, M.H., SEDDON, J.M. (1999). The genetics of age-related macular degeneration. *Molecular Vision*, **5**: 29.
- GOTOH, N., YAMADA, R., HIRATANI, H., RENAULT, V., KUROIWA, S., MONET, M., TOYODA, S., CHIDA, S., MANDAI, M., OTANI, A., YOSHIMURA, N., MATSUDA, F. (2006). No association between complement factor H gene polymorphism and exudative age related macular degeneration in Japanese. *Hum. Genet.* **120**: 139-143.
- GRAU, S., RICHARDS, P.J., KERR, B., HUGHES, C., CATERSON, B., WILLIAMS, A.S., JUNKER, U., JONES, S.A., CLAUSEN, T., EHRMANN, M. (2006). The role of human HtrA1 in arthritic disease. *J. Biol. Chem.* **281**:6124-6129.
- GREEN, W.R., ENGER, C. (1993). Age-related macular degeneration histopathologic studies-the 1992 Lorenz E. Zimmerman lecture. *Ophthalmology*, **100(10)**: 1519-1535.
- GREEN, W.R., MCDONNELL, P.J., YEO, J.H. (1985). Pathologic features of senile macular degeneration. *Ophthalmology*, **92(5)**:615-627.
- GREEN, W.R. (1999). Histopathology of age-related macular degeneration. *Mol. Vis.* **5**:27.
- GROSSNIKLAUS, H.E., GREEN, W.R. (1998). Histopathologic and ultrastructural findings of surgically excised choroidal neovascularization. *Arch. Ophthalmol.* **116(6)**:745-749.
- GRUNWALD, J.E., HARIPRASAD, S.M., DUPONT, J., MAGUIRE, M.G., FINE, S.L., BRUCKER, A.J., MAGUIRE, A.M., HO, A.C. (1998). Foveolar choroidal blood flow in age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **39(2)**: 385-390.
- GRUNWALD, J.E., METELITSINA, T.I., DUPONT, J.C., YING, G.S., MAGUIRE, M.G. (2005). Reduced foveolar choroidal blood flow in eyes with increasing AMD severity. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **46(3)**:1033-1038.
- GUYMER, R., LUTHERT, P., BIRD, A. (1999). Changes in Bruch's membrane and related structures with age. *Progress in Retinal and Eye Research*, **18(1)**: 59-90.
- HADDAD, S., CHEN, C.A., SANTANGELO, S.L., SEDDON, J.M. (2006). The genetics of age-related macular degeneration: a review of progress to date. *Surv. Ophthalmol.* **51(4)**:316-363.
- HADLEY, D., ORLIN, A., BROWN, G., BRUCKER, A.J., HO, A.C., REGILLO, C.D., DONOSO, L.A., TIAN, L., KADERLI, B., STAMBOLIAN, D. (2010). Analysis of six genetic risk factors highly associated with AMD in the region surrounding ARMS2 and HTRA1 on chromosome 10, region q26. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51**:2191-2196.
- HAGEMAN, G.S., LUTHERT, P.J., VICTOR CHONG, N.H., JOHNSON, L.V., ANDERSON, D.H., MULLINS, R.F. (2001). An integrated hypothesis that considers

- drusen as biomarkers of immune-mediated processes at the RPE-Bruch's membrane interface in aging and age-related macular degeneration. *Prog. Retin. Eye Res.* **20**, 705–732.
- HAGEMAN, G.S., MULLINS, R.F. (1999a). Molecular composition of drusen as related to substructural phenotype. *Mol. Vis.* **5**: 28. Bunlar a ve b olmaz.
- HAGEMAN, G.S., MULLINS, R.F., RUSSELL, S.R., JOHNSON, L.V., ANDERSON, D.H. (1999b). Vitronectin is a constituent of ocular drusen and the vitronectin gene is expressed in human retinal pigment epithelial cells. *FASEB J.* **13**: 477-484.
- HAGEMAN, G.S., ANDERSON, D.H., JOHNSON, L.V., HANCOX, L.S., TAIBER, A.J., HARDISTY, L.I., HAGEMAN, J.L., STOCKMAN, H.A., BORCHARDT, J.D., GEHRS, K.M., SMITH, R.J., SILVESTRI, G., RUSSELL, S.R., KLAVER, C.C., BARBAZETTO, I., CHANG, S., YANNUZZI, L.A., BARILE, G.R., MERRIAM, J.C., SMITH, R.T., OLSH, A.K., BERGERON, J., ZERNANT, J., MERRIAM, J.E., GOLD, B., DEAN, M., ALLIKMETS, R. (2005). A common haplotype in the complement regulatory gene factor H (HF1/CFH) predisposes individuals to age-related macular degeneration *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**: 7227-7232.
- HAINES, J.L., HAUSER, M.A., SCHMIDT, S., SCOTT, W.K., OLSON, L.M., GALLINS, P., SPENCER, K.L., KWAN, S.Y., NOUREDDINE, M., GILBERT, J.R., SCHNETZBOUTAUD, N., AGARWAL, A., POSTEL, E.A., PERICAK-VANCE, M.A. Complement factor H variant increases the risk of age-related macular degeneration. *Science*, **308**: 419-421.
- HAMMOND, C.J., WEBSTER, A.R., SNIEDER, H., BIRD, A.C., GILBERT, C.E., SPECTOR, T.D. (2002). Genetic influence on early age-related maculopathy: A twin study. *Ophthalmology*, **109**: 730-736.
- HEIBA, I.M., ELSTON, R.C., KLEIN, B.E., KLEIN, R. (1994). Sibbling correlations and segregation analysis of age-related maculopathy: The Beaver Dam Eye Study. *Genet. Epidemiol.* **11**: 51-67.
- HEWITT, A.T., NAKAZAWA, K., NEWSOME, D.A. (1989). Analysis of newly synthesized Bruch's membrane proteoglycans. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **30**(3):478-486.
- HILLER, R., SPERDUTO, R.D., PODGOR, M.J., WILSON, P.W., FERRIS, F.L. 3RD, COLTON, T. (1997). Cigarette smoking and the risk of development of lens opacities. The Framingham studies. *Archives of Ophthalmology*, **115**(9):1113–1118.
- HOFKER, M.H., FU, J., WIJENGA, C. (2014). The genome revolution and its role in understanding complex diseases. *Biochim. Biophys. Acta*, doi: 10.1016/j.bbadis.2014.05.002.
- HOLLIDAY, E.G., SMITH, A.V., CORNES, B.K. (2013). Insights into the genetic architecture of early stage age-related macular degeneration: a genome-wide association study meta-analysis. *PLoS One*, **8**(1):e53830
- HUANG, L., XU, Y., YU, W., LI, Y., CHU, L. (2010). Effect of Robo1 on retinal pigment epithelial cells and experimental proliferative vitreoretinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51**: 3193–3204.
- HUBBARD, T.J., AKEN, B.L., AYLING, S., BALLESTER, B., BEAL, K., BRAGIN, E., BRENT, S., CHEN, Y., CLAPHAM, P., CLARKE, L., COATES, G., FAIRLEY, S., FITZGERALD, S., FERNANDEZ-BANET, J., GORDON, L., GRAF, S., HAIDER, S., HAMMOND, M., HOLLAND, R., HOWE, K., JENKINSON, A., JOHNSON, N., KAHARI, A., KEEFE, D., KEENAN, S., KINSELLA, R., KOKOCINSKI, F., KULESHA, E., LAWSON, D., LONGDEN, I., MEGY, K., MEIDL, P., OVERDUIN, B., PARKER, A., PRITCHARD, B., RIOS, D., SCHUSTER, M., SLATER, G., SMEDLEY, D., SPOONER, W., SPUDICH, G., TREVANION, S., VILELLA, A., VOGEL, J., WHITE, S., WILDER, S., ZADISSA, A., BIRNEY, E., CUNNINGHAM, F., CURWEN, V., DURBIN, R., FERNANDEZ-SUAREZ, X.M., HERRERO, J.,

- KASPRZYK, A., PROCTOR, G., SMITH, J., SEARLE, S., FLICEK, P. (2009).Ensembl 2009. *Nucleic Acids Res.***37**:D690–D697.
- HUGHES, A.E., ORR, N., PATTERSON, C., ESFANDIARY, H., HOGG, R., MCCONNELL, V., SILVESTRI, G., CHAKRAVARTHY, U. (2007).Neovascular age-relatedmacular degeneration risk based on CFH, LOC387715, and smoking.*PLOS Med.* **4**(12): 1993–2000.
- HYMAN, L.G., LILIENFELD, A.M., FERRIS, F.L.III., FINE, S.L.(1983). Senile macular degeneration: a case–control study. *Am. J. Epidemiol.* **118**: 213-227.
- HYMAN, L., SCAHCHAT, A.P., HE, Q., LESKE, M.C. (2000).Hypertension,cardiovascular disease, and age-related macular degeneration.Age-Related Macular Degeneration Risk Factors StudyGroup.*Arch. Ophthalmol.* **118**: 351–358.
- INDIAMART, (2014). Erişim [<http://trade.indiamart.com/details.mp?offer=2719511948>], Erişim tarihi: 20.04.2014.
- INO, H. (2004).Immunohistochemical characterization of the orphan nuclear receptor ROR alpha in the mouse nervous system. *J. Histochem. Cytochem.***52**:311–323.
- IP, B.K., WAPPLER, I., PETERS, H., LINDSAY, S., CLOWRY, G.J. (2010). Investigatinggradients of gene expression involved in early human cortical development. *J.Anat.* **217**: 300–311.
- IYENGAR, S.K., SONG, D., KLEIN, B.E., KLEIN, R., SCHICK, J.H., HUMPHREY, J., MILLARD, C., LIPTAK, R., RUSSO, K., JUN, G., LEE, K.E., FIJAL, B., ELSTON, R.C. (2004).Dissection of genomewide-scandata in extended families reveals a major locus and oligogenicsusceptibility for age-related macular degeneration. *Am. J. Hum. Genet.***74**:20-39.
- JACQUES, P.F., TAYLOR, A., MOELLER, S., HANKINSON, S.E., ROGERS, G., TUNG, W. (2005).Long-termnutrient intake and 5-year change in nuclear lens opacities.*Archives of Ophthalmology*,**123**(4):517–526.
- JAKOBSDOTTIR, J., CONLEY, Y.P., WEEKS, D.E., MAH, T.S., FERRELL, R.E., GORIN, M.B. (2005).Susceptibility genes for age-related maculopathy on chromosome10q26.*Am. J. Hum.Genet.***77**:389–407.
- JETTEN, A.M., UEDA, E. (2002). Retinoid-related orphan receptors (RORs): roles in cell survival, differentiation and disease. *Cell Death. Differ.* **9**:1167–1171.
- JETTEN, A.M. (2009). Retinoid-related orphan receptors (RORs): critical roles indevelopment, immunity, circadian rhythm, and cellular metabolism. *Nucl.Recept.Signal*,**7**: e003.
- JOHNSON, L.V., LEITNER, W.P., STAPLES, M.K., ANDERSON, D.H. (2001).omplement activation and inflammatory processes in drusen formation and age related macular degeneration. *Exp. Eye Res.***73**, 887–896.
- JOHNSON, P.T., LEWIS, G.P., TALAGA, K.C., BROWN, M.N., KAPPEL, P.J., FISHER, S.K., ANDERSON, D.H., JOHNSON, L.V. (2003).Drusen-associated degeneration in the retina. *InvestigativeOphthalmology and Visual Science*, **44**(10): 4481-4488.
- JOHNSON, P.T., BETTS, K.E., RADEKE, M.J., HAGEMAN, G.S., ANDERSON, D.H., JOHNSON, L.V. (2006). Individuals homozygous for the age-relatedmacular degeneration risk-conferring variant of complementfactor H have elevated levels of CRP in the choroids. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA*,**103**:17456-17461.
- JAMPOL, L.M., DANIEL A.E., MICHAEL H.G. (1994). Peripheral proliferative retinopathies: An update on angiogenesis, etiologies and management. Survey of Ophthalmology, **38**(6):519-540.
- JONASSON, F., ARNARSSON, A., SASAKI, H., PETO, T., SASAKI, K., BIRD, A.C. (2003). The prevalence ofage-related maculopathy in iceland: Reykjavik eye study. *Arch.Ophthalmol.***121**:379-385.

- JUN, G., NICOLAOU, M., MORRISON, M.A., BUROS, J., MORGAN, D.J., RADEKE, M.J., YONEKAWA, Y., TSIRONI, E.E., KOTOULA, M.G., ZACHARAKI, F., MOLLEMA, N., YUAN, Y., MILLER, J.W., HAIDER, N.B., HAGEMAN, G.S., KIM, I.K., SCHAUMBERG, D.A., FARRER, L.A., DEANGELIS, M.M.(2011). Influence of ROBO1 and RORA on risk of age-related macular degeneration reveals genetically distinct phenotypes in disease pathophysiology. *PLoS ONE*, **6(10)**:e25775.
- KALLEN, J.A., SCHLAEPPI, J.M., BITSCH, F., GEISSE, S., GEISER, M., DELHON, I., FOURNIER, B. (2002). X-ray structure of the hROR $\alpha$  LBD at 1.63Å: structural and functional data that cholesterol or a cholesterol derivative is the natural ligand of ROR $\alpha$ . *Structure*, **10**: 1697–1707.
- KANDA, A., CHEN, W., OTHMAN, M., BRANHAM, K.E., BROOKS, M., KHANNA, R., HE, S., LYONS, R., ABECASIS, G.R., SWAROOP, A. (2007). A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104(41)**:16227–16232.
- KASAHARA, E., LIN, L.R., HO, Y.S., REDDY, V.N. (2005). SOD2 protects against oxidation-induced apoptosis in mouse retinal pigment epithelium: Implications for age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **46(9)**: 3426-3434.
- KATTA, S., KAUR, I., CHAKRABARTI, S. (2009). The molecular genetic basis of age-related macular degeneration: an overview. *J. Genet.* **88**: 425-449.
- KAUR, I., KATTA, S., HUSSAIN, A., MATHAI, A., NARAYANAN, R., HUSSAIN, A., REDDY, R.K., MAJJI, A.B., DAS, T., CHAKRABARTI, S. (2008). Variants in the 10q26 gene cluster (LOC387715 and HTRA1) exhibit enhanced risk of age-related macular degeneration along with CFH in Indian patients. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **49(5)**: 1771–1776.
- KAYATZ, P., THUMANN, G., LUTHER, T.T., JORDAN, J.F., BARTZ-SCHMIDT, K. U., ESSER, P.J. (2001). Oxidation causes melanin fluorescence. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **42**: 241–246.
- KAWASAKI, R., WANG, J.J., JI, G.J., TAYLOR, B., OIZUMI, T., DAIMON, M. (2008). Prevalence and risk factors for age-related macular degeneration in an adult Japanese population. The Funagata Study. *Ophthalmology*, **115**: 1376-1381.
- KENEALY, S.J., SCHMIDT, S., AGARWAL, A., POSTEL, E.A., DE LA PAZ, M.A., PERICAK-VANCE, M.A., HAINES, J.L. (2004). Linkage analysis for age-related macular degeneration supports a gene on chromosome 10q26. *Mol. Vis.* **10**:57-61.
- KHAN, J.C., SHAHID, H., THURLBY, D.A., BRADLEY, M., CLAYTON, D.G., MOORE, A.T.(2006). Age related macular degeneration and sun exposure, iris color, and skin sensitivity to sunlight. *Br. J. Ophthalmol.* **90**: 29–32.
- KLAVER, C.C.W., WOLF, R.C.W., ASSINK, J.J.M., VAN DUJIN, C.M., HOFMAN, A., DE JONG, P.T.V.M. (1998a). Genetic risk of age-related maculopathy: Population-based familial aggregation study. *Arch. Ophthalmol.* **116**: 1646-1651.
- KLAVER, C.C., ASSINK, J.J., VAN LEEUWEN, R. (2001). Incidence and progression rates of age-related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **42**:2237-2241.
- KLEIN, R., KLEIN, B.E., JENSEN, S.C., MEUER, S.M. (1997). The five-year incidence and progression of age-related maculopathy: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, **104**:7-21.
- KLEIN, R., KLEIN, B.E., LINTON, K.L. Prevalence of age-related maculopathy. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, **99**:933-943.
- KLEIN, M.L., MAULDIN, W.M., STOUMBOS, V.D. (1994). Heredity and age-related macular degeneration. Observations in monozygotic twins. *Arch. Ophthalmol.* **112**: 932-937.



- KLEIN, M.L., SCHULTZ, D.W., EDWARDS, A., MATISE, T.C., RUST, K., BERSELLI, C.B. (1998a). Age-related macular degeneration: clinical features in a large family and linkage to chromosome 1q. *Arch. Ophthalmol.* **116**: 1082-1088.
- KLEIN, R., KLEIN, B.E., TOMANY, S.C., CRUICKSHANKS, K.J. (2003). The association of cardiovascular disease with the long-term incidence of age-related maculopathy: the Beaver Dam eye study. *Ophthalmology*, **110**(4): 636-643.
- KLEIN, R.J., ZEISS, C., CHEW, E.Y., TSAI, J.Y., SACKLER, R.S., HAYNES, C., HENNING, A.K., SANGIOVANNI, J.P., MANE, S.M., MAYNE, S.T., BRACKEN, M.B., FERRIS, F.L., OTT, J., BARNSTABLE, C., HOH, J.. (2005). Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science*, **308**: 385-389.
- KLEIN, R., KLEIN, B.E., KNUDTSON, M.D., MEUER, S.M., SWIFT, M., GANGNON, R.E. (2007). Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*, **114**(2):253-262.
- KOPMELS, B., MARIANI, J., TAUPIN, V., DELHAYE-BOUCHAUD, N., WOLLMAN, E.E. (1991). Differential IL-6 mRNA expression by stimulated peripheral macrophages of Staggerer and Lurcher cerebellar mutant mice. *Eur. Cytokine Netw.* **2**:345-353.
- KOPPLIN, L.J., IGO, R.P. JR, WANG, Y., SIVAKUMARAN, T.A., HAGSTROM, S.A., PEACHEY, N.S., FRANCIS, P.J., KLEIN, M.L., SANGIOVANNI, J.P., CHEW, E.Y., PAUER, G.J., STURGILL, G.M., JOSHI, T., TIAN, L., XI, Q., HENNING, A.K., LEE, K.E., KLEIN, R., KLEIN, B.E., IYENGAR, S.K. (2010). Genome-wide association identifies SKIV2L and MYRIP as protective factors for age-related macular degeneration. *Genes Immun.* **11**: 609-621.
- KORTVELY, E., HAUCK, S.M., DUETSH, G., GLOECKNER, C.J., KREMMER, E., ALGE-PRIGLINGER, C.S., DEEG, C.A., UEFFING, M. (2010). ARMS2 is a constituent of the extracellular matrix providing a link between familial and sporadic age-related macular degenerations. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **51**:79-88.
- KRISHNAIAH, S., DAS, T., NIRMALAN, P.K., NUTHETI, R., SHAMANNA, B.R., RAO, G.N. (2005). Risk factors for age-related macular degeneration: findings from the Andhra Pradesh eye disease study in south India. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **46**: 4442-4429.
- KROEMER, G., REED, J.C. (2000). Mitochondrial control of cell death. *Nat. Med.* **6**:513-519.
- KUBISTA, M., ANDRADE, J.M., BENGTSSON, M., FOROOTAN, A., JONÁK, J., LIND, K., SINDELKA, R., SJÖBACK, R., SJÖGREEN, B., STRÖMBOM, L., STÅHLBERG, A., ZORIC, N. (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Mol. Aspects Med.* **27**(2-3):95-125.
- LAFAUT, B.A., BARTZ-SCHMIDT, K.U., VANDEN BROECKE, C., AISENBREY, S., DE LAEY, J.J., HEIMANN, K. (2000). Clinicopathological correlation in exudative age related macular degeneration: histological differentiation between classic and occult choroidal neovascularisation. *Br. J. Ophthalmol.* **84**(3):239-243.
- LAU, P., FITZSIMMONS, R.L., RAICHUR, S., WANG, S.C., LECHTKEN, A., MUSCAT, G.E. (2008). The orphan nuclear receptor, RORalpha, regulates gene expression that controls lipid metabolism: staggerer (SG/SG) mice are resistant to diet-induced obesity. *J Biol. Chem.* **283**:18411-18421.
- LEVEZIEL, N., SOUIED, E.H., RICHARD, F., BARBU, V., ZOURDANI, A., MORINEAU, G., ZERBIB, J., COSCAS, G., SOUBRANE, G., BENLIAN, P. (2007). PLEKHA1-LOC387715-HTRA1 polymorphisms and exudative age-related macular degeneration in the French population. *Mol. Vis.* **26**;13:2153-2159.
- LI, M., ATMACA-SONMEZ, P., OTHMAN, M., BRANHAM, K.E., KHANNA, R., WADE, M.S., LI, Y., LIANG, L., ZAREPARSI, S., SWAROOP, A., ABECASIS, G.R. (2006). CFH haplotypes without the Y402H coding variant show strong association with susceptibility to age-related macular degeneration. *Nature Genetics*, **38**(9): 1049-1054.

- LIANG, F.Q., GODLEY, B.F. (2003). Oxidative stress-induced mitochondrial DNA damage in human retinal pigment epithelial cells: a possible mechanism for RPE aging and age-related macular degeneration. *Exp. Eye Res.* **76**: 397-403.
- LIN, M.T., BEAL, M.F. (2006). Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in neurodegenerative diseases. *Nature*, **443**: 787–795.
- LINSENMEIER, R.A., PADNICK-SILVER, L. (2000). Metabolic dependence of photoreceptors on the choroid in the normal and detached retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **41**(10): 3117-3123.
- LIU, K., XIE, B. (2012). Today and future of age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, doi:10.5402/2012/480212.
- LONGWILLE, B.A.C. (2009). Genetic epidemiology of Age Related Macular Degeneration (AMD): The role of the Complement Component 2 (C2) and Complement Factor B (CFB) Genes in Determining AMD Subphenotypes. PhD Thesis. Murdoch University.
- LOPEZ, P.F., LAMBERT, H.M., GROSSNIKLAUS, H.E., STERNBERG, P.Jr. (1993). Well-defined subfoveal choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Ophthalmology*, **100**(3): 415-422.
- LU, F., HU, J., ZHAO, P., LIN, Y., YANG, Y., LIU, X., FAN, Y., CHEN, B., LIAO, S., DU, Q., LEI, C., CAMERON, D.J., ZHANG, K., YANG, Z. (2007). HTRA1 variant increases risk to neovascular age-related macular degeneration in Chinese population. *Vis. Res.* **47**: 3120–3123.
- LUTTY, G., GRUNWALD, J., MAJJI, A.B., UYAMA, M., YONEYA, S. (1999). Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Mol. Vis.* **5**: 35.
- MAGNUSSON, K.P., DUAN, S., SIGURDSSON, H., PETURSSON, H., YANG, Z., ZHAO, Y., BERNSTEIN, P.S., GE, J., JONASSON, F., STEFANSSON, E., HELGADOTTIR, G., ZABRISKIE, N.A., JONSSON, T., BJÖRNSSON, A., THORLACIUS, T., JONSSON, P.V., THORLEIFSSON, G., KONG, A., STEFANSSON, H., ZHANG, K., STEFANSSON, K., GULCHER, J.R. (2006). CFH Y402H confers similar risk of soft drusen and both forms of advanced AMD. *PLoS Medicine*, **3**(1): e5.
- MAJEWSKI, J., SCHULTZ, D.W., WELEBER, R.G., SCHAIN, M.B., EDWARDS, A.O., MATISE, T.C. (2003). Age-related macular degeneration A genome scan in extended families. *Am. J. Hum. Genet.* **73**: 540-550.
- MALLER, J., GEORGE, S., PURCELL, S., FAGERNESS, J., ALTSHULER, D., DALY, M.J., SEDDON, J.M. (2006). Common variation in three genes, including a noncoding variant in CFH, strongly influences risk of age-related macular degeneration. *Nature Genetics*, **38**(9): 1055–1059.
- MALLER, J.B., FAGERNESS, J.A., REYNOLDS, R.C., NEALE, B.M., DALY, M.J. (2007). Variation in complement factor 3 is associated with risk of age-related macular degeneration. *Nat. Genet.* **39**: 1200–1201.
- MAMONTOVA, A., SEGURET-MACE, S., ESPOSITO, B., CHANIALE, C., BOULY, M., DELHAYE-BOUCHAUD, N., LUC, G., STAELS, B., DUVERGER, N., MARIANI, J., TEDGUI, A. (1998). Severe atherosclerosis and hypoalphalipoproteinemia in the staggerer mouse, a mutant of the nuclear receptor RORalpha. *Circulation*, **98**: 2738–2743.
- MARES, J.A., VOLAND, R.P., SONDEL, S.A., MILLEN, A.E., LAROWE, T., MOELLER, S.M., KLEIN, M.L., BLODI, B.A., CHAPPELL, R.J., TINKER, L. (2011). Healthy lifestyles related to subsequent prevalence of age-related macular degeneration. *Archives of Ophthalmology*, **129**(4): 470-480.
- MARGULIES, E.H., BIRNEY, E. (2008). Approaches to comparative sequence analysis: towards a functional view of vertebrate genomes. *Nat. Rev. Genet.* **9**(4): 303-313.

- MARTIN, D.F. and AREDS Research Group. (2003). The Age – Related Eye Disease Study: Update 1. The Effect of Cataract Surgery on the Development of Advanced age-related macular degeneration. AAO November 2003, Retina Subspecialty Day Book, p. 206
- MCCARTY, C.A., MUKESH, B.N., FU, C.L., MITCHELL, P., WANG, J.J., TAYLOR, H.R. (2001). Risk factors for age-related maculopathy: the visual impairment project. *Arch. Ophthalmol.* **119(10)**:1455-1462.
- MEDEIROS, N.E., CURCIO, C.A. (2001). Preservation of ganglion cell layer neurons in age-related macular degeneration. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **42**:795–803.
- MEYERS, S.M., GREENE, T., GUTMAN, F.A. (1995). A twin study of age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* **120**: 757-766.
- MIGITA, H., SATOZAWA, N., LIN, J.H., MORSER, J., KAWAI, K. (2004). ROR $\alpha$ 1 and ROR $\alpha$ 4 suppress TNF- $\alpha$ -induced VCAM-1 and ICAM-1 expression in human endothelial cells. *FEBS Lett.* **557**:269–274.
- MITCHELL, P., WANG, J.J., FORAN, S., SMITH, W. (2002). Five-year incidence of age-related maculopathy lesions: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*, **109**:1092-1097.
- MITCHELL, P., SMITH, W., ATTEBO, K., WANG, J.J. (1995). Prevalence of age-related maculopathy in Australia. The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*, **102**:1450-1460.
- MONTGOMERY, 2014. The retina. Erişim: [\[www.tedmontgomery.com/the\\_eye/retina.html\]](http://www.tedmontgomery.com/the_eye/retina.html). Erişim tarihi: 11.04.2014.
- MOORE, D.J., CLOVER, G.M. (2001). The effect of age on the macromolecular permeability of human Bruch's membrane. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **42(12)**: 2970-2975.
- MOORE, D.J. (1995). Age-related variation in the hydraulic conductivity of Bruch's membrane. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **36(7)**: 1290-1297.
- MORGAN, B. P. (1999). Regulation of the complement membrane attack pathway. *Crit. Rev. Immunol.* **19**: 173–198.
- MOUSAVI, M., ARMSTRONG, R.A. (2013). Genetic risk factors and age-related macular degeneration (AMD). *Journal of Optometry*, **6**:176-184.
- MULLINS, R.F., APTSIAURI, N., HAGEMAN, G.S. (2001). Structure and composition of drusen associated with glomerulonephritis: Implications for the role of complement activation in drusen biogenesis. *Eye*, **15**:390–395.
- MULLINS, R.F., GRASSI, M.A., SKEIE, J.M. (2005). Glycoconjugates of choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *Mol. Vis.* **11**:509-517.
- MUNOZ, B., KLEIN, R., RODRIGUEZ, J., SNYDER, R., WEST, S.K. (2005). Prevalence of age-related macular degeneration in a population based sample of Hispanic people in Arizona: Proyecto VER. *Arch. Ophthalmol.* **123**: 1575-1580.
- NEWSOME, D.A., HUH, W., GREEN, W.R. (1987). Bruch's membrane age-related changes vary by region. *Curr. Eye Res.* **6(10)**:1211-1221.
- NIRMALAN, P.K., KATZ, J., ROBIN, A.L., TIELSCH, J.M., NAMPERUMALSAMY, P., KIM, R. (2004). Prevalence of vitreoretinal disorders in a rural population of southern India: the Aravind Comprehensive Eye Study. *Arch. Ophthalmol.* **122**: 581-586.
- NISCHLER, C., OBERKOFER, H., ORTNEV, C., PAIKL, D., RIHA, W., LANG, N., PATSCH, W., EGGER, S.F. (2011). Complement factor H Y402H gene polymorphism and response to intravitreal bevacizumab in exudative age related macular degeneration. *Acta Ophthalmol.* **89**:344-349.
- NOWAK, J.Z. (2006). Age-related macular degeneration (AMD): pathogenesis and therapy. *Pharmacol. Rep.* **58**: 353-363.
- OKA, C., TSUJIMOTO, R., KAJIKAWA, M., KOSHIBA-TAKEUCHI, K., INA, J., YANO, M., TSUCHIYA, A., UETA, Y., SOMA, A., KANDA, H., MATSUMOTO,

- M., KAWAICHI, M. (2004). HtrA1 serine protease inhibits signaling mediated by Tgfbeta family proteins. *Development*, **131**:1041-1053.
- OHNO-MATSUI, K., MORITA, I., TOMBRAN-TINK, J., MRAZEK, D., ONODERA, M., UETAMA, T., HAYANO, M., MUROTA, S.I., MOCHIZUKI, M. (2001). Novel mechanism for age-related macular degeneration: an equilibrium shift between the angiogenesis factors VEGF and PEDF. *Journal of Cellular Physiology*, **189**(3): 323-333.
- ORGANISCIAK, D.T., VAUGHAN, D.K. (2009). Retinal light damage: mechanisms and protection. *Progress in Retinal and Eye Research*, **29**(2): 113-134.
- OSHIMA, Y., OSHIMA, S., NAMBU, H., KACHI, S., TAKAHASHI, K., UMEDA, N. (2005). Different effects of angiopoietin-2 in different vascular beds: new vessels are most sensitive. *FASEB J.* **19**(8):963-965.
- PATEL, N., ADEWOYIN, T., CHONG, N.V. (2008). Age-related macular degeneration: a perspective on genetic studies. *Eye*, **22**(6): 768-776.
- PAULEIKHOFF, D., HARPER, C.A., MARSHALL, J., BIRD, A.C. (1990). Aging changes in Bruch's membrane. A histochemical and morphologic study. *Ophthalmology*, **97**(2):171-178.
- PLACHEZ, C., ANDREWS, W., LIAPI, A., KNOELL, B., DRESCHER, U. (2008). Robos are required for the correct targeting of retinal ganglion cell axons in the visual pathway of the brain. *Mol. Cell. Neurosci.* **37**: 719-730.
- RAMRATTAN, R.S., VAN DER SCHAFT, T.L., MOOY, C.M., DE BRUIJN, W.C., MULDER, P.G., DE JONG, P.T. (1994). Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Investigative ophthalmology and visual. Science*, **35**(6): 2857-2864.
- QIAGEN (2014). Erişim: [[http://www.qiagen.com/resources/molecular-biology-methods/pcr/#What is probe-based PCR?](http://www.qiagen.com/resources/molecular-biology-methods/pcr/#What%20is%20probe-based%20PCR?)]. Erişimtarihi: 11.04.2014.
- REALE, E., GROOS, S., ECKARDT, U., ECKARDT, C., LUCIANO, L. (2009). New components of 'basal laminar deposits' in age-related macular degeneration. *Cells Tissues Organs*, **190**(3): 170-181.
- REDMER, L. (2003). Age-related macular disease. Studies on incidence, risk factors, and prognosis. PhD thesis, Erasmus University Rotterdam, The Netherlands.
- RICHARDSON, A.J., ISLAM, F.M., AUNG, K.Z., GUYMER, R.H., BAIRD, P.N. (2010). An intergenic region between the tagSNP rs3793917 and rs11200638 in the HTRA1 gene indicates association with age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **51**(10):4932-4936
- RIVERA, A., FISHER, S.A., FRITSCH, L.G., KEILHAUER, C.N., LICHTNER, P., MEITINGER, T., WEBER, B.H. (2005). Hypothetical LOC387715 is a second major susceptibility gene for age-related macular degeneration, contributing independently of complement factor H to disease risk. *Hum. Mol. Genet.* **14**:3227-3236.
- ROH, S., WEITER, J.J. (2004). Retinal and Choroidal Circulation. In: *Ophthalmology*. Ed.: Yanoff, M., Duker, J.S., Mosby. MO, USA: sy. 779-782.
- ROZANOWSKA, M., WESSELS, J., BOULTON, M., BURKE, J.M., RODGERS, M.A., TRUSCOTT, T.G., SARNA, T. (1998). Blue light-induced singlet oxygen generation by retinal lipofuscin in non-polar media. *Free Radical Biology and Medicine*, **24**(7-8): 1107-1112.
- ROZANOWSKI, B., BURKE, J.M., BOULTON, M.E., SARNA, T., RÓZANOWSKA, M. (2008). Human RPE melanosomes protect from photosensitized and iron-mediated oxidation but become pro-oxidant in the presence of iron upon photodegradation. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **49**(7): 2838-2847.
- RUDNICKA, A.R., JARRAR, Z., WORMALD, R., COOK, D.G., FLETCHER, A., OWEN, C.G. (2012). Age and gender variations in age-related macular degeneration prevalence in populations of European ancestry: a meta-analysis. *Ophthalmology*, **119**(3): 571-580.

- RYU, E., FRIDLEY, B.L., TOSAKULWONG, N., BAILEY, K.R., EDWARDS, A.O. (2010). Genome-wide association analyses of genetic, phenotypic, and environmental risks in the age-related eye disease study. *Mol. Vis.* **17**: 2811-2821.
- SARNA, T., BURKE, J.M., KORYTOWSKI, W., RÓZANOWSKA, M., SKUMATZ, C.M., ZAREBA, A., ZAREBA, M. (2003). Loss of melanin from human RPE with aging: possible role of melanin photooxidation. *Experimental Eye Research*, **76**(1): 89-98.
- SARKS, S. (1976). Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *British Journal of Ophthalmology*, **60**: 324-341.
- SARKS, S., CHEREPANOFF, S., KILLINGSWORTH, M., SARKS, J. (2007). Relationship of basal laminar deposit and membranous debris to the clinical presentation of early age-related macular degeneration. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **48**(3): 968-977.
- SCHAUMBERG, D.A., CHRISTEN, W.G., BURING, J.E., GLYNN, R.J., RIFAI, N., RIDKER, P.M. (2007). High-sensitivity C-reactive protein, other markers of inflammation, and the incidence of macular degeneration in women. *Arch. Ophthalmol.* **125**(3): 300-305.
- SCHICK, J.H., IYENGAR, S.K., KLEIN, B.E., KLEIN, R., READING, K., LIPTAK, R. (2003). A whole-genome screen of a quantitative trait of age-related maculopathy in sibships from the beaver dam study. *Am. J. Hum. Genet.* **72**: 1412-1424. *Molecular Vision*, **13**(261-65): 2310-2319.
- SCHOLL, H.P., CHARBEL ISSA, P., WALIER, M., JANZER, S., POLLOK-KOPP, B., BORNCKE, F., FRITSCHKE, L.G., CHONG, N.V., FIMMERS, R., WIENKER, T. (2008). Systemic complement activation in age-related macular degeneration. *PLoS ONE*, **3**: e2593.
- SCHOLL, H.P., FLECKENSTEIN, M., CHARBEL ISSA, P., KEILHAUER, C., HOLZ, F.G., WEBER, B.H. (2007). An update on the genetics of age related macular degeneration. *Mol. Vis.* **13**: 196-205.
- SCHMIDT, S., HAUSERM, A., SCOTT, W.K., POSTEL, E.A., AGARWAL, A., GALLINS, P., WONG, F., CHEN, Y.S., SPENCER, K., SCHNETZ-BOUDAUD, N. (2006). Cigarette smoking strongly modifies the association of LOC387715 and age-related macular degeneration. *Am. J. Hum. Genet.* **78**: 852-864.
- SCHLINGEMANN, R.O. (2004). Role of growth factors and the wound healing response in age-related macular degeneration. *Graefes Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology*, **42**(1): 91-101.
- SCHMIDT, S., HAUSERM, A., SCOTT, W.K., POSTEL, E.A., AGARWAL, A., GALLINS, P., WONG, F., CHEN, Y.S., SPENCER, K., SCHNETZ-BOUDAUD, N., HAINES, J.L., PERICAK-VANCE, M.A. (2006). Cigarette smoking strongly modifies the association of LOC387715 and age-related macular degeneration. *Am. J. Hum. Genet.* **78**: 852-864.
- SCHWERTZ, R., ROTHER, U., ANDERS, D., GRETZ, N., SCHARER, K., KIRSCHFINK, M. (2001). Complement analysis in children with idiopathic membranoproliferative glomerulonephritis: a long-term follow-up. *Pediatr. Allergy Immunol.* **12**: 166-172.
- SEDDON, J.M., GEORGE, S., ROSNER, B. (2006). Cigarette smoking, fish consumption, omega-3 fatty acid intake, and associations with age-related macular degeneration: the US Twin Study of Age-Related Macular Degeneration. *Archives of Ophthalmology*, **124**(7): 995-1001.
- SEDDON, J.M., FRANCIS, P.J., GEORGE, S., SCHULTZ, D.W., ROSNER, B., KLEIN, M.L. (2007). Association of CFH Y402H and LOC387715 A69S with progression of age-related macular degeneration. *Journal of the American Medical Association*, **297**(16): 1793-1800.
- SEDDON, J.M., AJANI, U., MITCHELL, B. (1997). Familial aggregation of age-related maculopathy. *Am. J. Ophthalmol.* **123**: 199-206.

- SEDDON, J.M., COTE, J., DAVIS, N., ROSNER, B. (2003). Progression of age-related macular degeneration: association with body mass index, waist circumference, and waist-hip ratio. *Archives of Ophthalmology*, **121(6)**:785-792.
- SEDDON, J.M., COTE, J., PAGE, W.F., AGGEN, S.H., NEALE, M.C. (2005). The US twin study of age-related macular degeneration: relative roles of genetic and environmental influences. *Archives of Ophthalmology*, **123(3)**:321-327.
- SCHAUMBERG, D.A., CHASMAN, D., MORRISON, M.A., ADAMS, S.M., GUO, Q., HUNTER, D.J., HANKINSON, S.E., DEANGELIS, M.M. (2010). Prospective study of common variants in the retinoic acid receptor-related orphan receptor  $\alpha$  gene and risk of neovascular age-related macular degeneration. *Arch. Ophthalmol.* **128(11)**:1462-1471.
- SHULER, R.K., SCHMIDT, S., GALLINS, P., HAUSER, M.A., SCOTT, W.K., CALDWELL, J., AGARWAL, A., HAINES, J.L., PERICAK-VANCE, M.A., POSTEL, E.A. (2008). Phenotype analysis of patients with the risk variant LOC387715(A69S) in age-related macular degeneration. *American Journal of Ophthalmology*, **145(2)**: 303-307.
- SILVEIRA, A.C., MORRISON, M.A., JI, F., XU, H., REINECKE, J.B., ADAMS, S.M., ARNEBERG, T.M., JANSSIAN, M., LEE, J.E., YUAN, Y., SCHAUMBERG, D.A., KOTOULA, M.G., TSIRONI, E.E., TSILOULIS, A.N., CHATZOULIS, D.Z., MILLER, J.W., KIM, I.K., HAGEMAN, G.S., FARRER, L.A., HAIDER, N.B., DEANGELIS, M.M. (2010). Convergence of linkage, gene expression and association data demonstrates the influence of the RAR-related orphan receptor alpha (RORA) gene on neovascular AMD: a systems biology based approach. *Vision Res.* **50(7)**:698-715.
- SILVESTRI, G. (1997). Age-related macular degeneration: Genetics and implications for detection and treatment. *Molecular Medicine Today*, **3(2)**: 84-91.
- SILVESTRI, G., JOHNSTON, P.B., HUGHES, A.E. (1994). Is genetic predisposition an important risk factor in age-related macular degeneration? *Eye*, **8**: 564-568.
- SIVAPRASAD, S., ADEWOYIN, T., BAILEY, T.A., DANDEKAR, S.S., JENKINS, S., WEBSTER, A.R., CHONG, N.V. (2007). Estimation of systemic complement C3 activity in age-related macular degeneration. *Arch. Ophthalmol.* **125**: 515-519.
- SIVAPRASAD, S., BAILEY, T.A., CHONG, V.N. (2005). Bruch's membrane and the vascular intima: is there a common basis for age-related changes and disease? *Clin. Experiment Ophthalmol.* **33(5)**:518-523.
- SKEIE, J.M. (2010). Choroidal endothelial cell activation in age-related macular degeneration. PhD Thesis, University of Iowa.
- SMITH, W., MITCHELL, P., WANG, J.J. (1997). Gender, oestrogen, hormone replacement and age-related macular degeneration: results from the Blue Mountains Eye Study. *Aust. N. Z. J. Ophthalmol.* **1**: S13-S5.
- SMITH, W., MITCHELL, P. (1998). Family history and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Archives of Ophthalmology*, **26** 203-206.
- SOBRIN, L., REYNOLDS, R., YU, Y., FAGERNESS, J., LEVEZIEL, N., BERNSTEIN, P.S., SOUIED, E.H., DALY, M.J., SEDDON, J.M. (2011). ARMS2/HTRA1 locus can confer SUN, K., CAI, H., TEZEL, T.H., PAIK, D., GAILLARD, E.R., DEL PRIORE, L.V. (2007). Bruch's membrane aging decreases phagocytosis of outer segments by retinal pigment epithelium. differential susceptibility to the advanced subtypes of age-related macular degeneration. *Am. J. Ophthalmol.* **151(2)**:345-352.
- SPRAUL, C.W., LANG, G.E., GROSSNIKLAUS, H.E., LANG, G.K. (1998). Characteristics of drusen and Bruch's membrane in post-mortem eye with age-related macular degeneration. *Ophthalmologie*, **95(2)**: 73-79.
- SPRAUL, C.W., LANG, G.E., GROSSNIKLAUS, H.E., LANG, G.K. (1999). Histologic and morphometric analysis of the choroid, Bruch's membrane, and retinal pigment

- epithelium in postmortem eyes with age-related macular degeneration and histologic examination of surgically excised choroidal neovascular membranes. *Surv. Ophthalmol.* **44**: 10-32.
- STARITA, C., HUSSAIN, A.A., PAGLIARINI, S., MARSHALL, J. (1996). Hydrodynamics of ageing Bruch's membrane: Implications for macular disease. *Experimental Eye Research*, **62**(5): 565-571.
- STEHLIN-GAON, C., WILLMANN, D., ZEYER, D., SANGLIER, S., VAN DORSSELAER, A., RENAUD, J.P., MORAS, D., SCHULE, R. (2003). All-trans retinoic acid is a ligand for the orphan nuclear receptor ROR $\beta$ . *Nat. Struct. Biol.* **10**: 820-825.
- STEINMAYER, M., ANDRE, E., CONQUET, F., RONDI-REIG, L., DELHAYE-BOUCHAUD, N., AUCLAIR, N., DANIEL, H., CREPEL, F., MARIANI, J., SOTELO, C., BECKER-ANDRE, M. (1998). Staggerer phenotype in retinoid-related orphan receptor alpha-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**:3960-3965.
- STONE, E.M. (2006). A very effective treatment for neovascular macular degeneration. *N. Engl. J. Med.* **355**(14):1493-1495.
- STRYKER, W.S., KAPLAN, L.A., STEIN, E.A., STAMPFER, M.J., SOBER, A., WILLETT, W.C. (1988). The relation of diet, cigarette smoking, and alcohol consumption to plasma beta-carotene and alphan-tocopherol levels. *Am. J. Epidemiol.* **127**: 283-296.
- TAN, J.S., WANG, J.J., LIEW, G., ROCHTCHINA, E., MITCHELL, P. (2008). Age-related macular degeneration and mortality from cardiovascular disease or stroke. *The British Journal of Ophthalmology*, **92**(4):509-512.
- TEBBUTT, S.J., JAMES, A., PARE, P.D. (2007). Single-nucleotide polymorphisms and lung disease. *CHEST*, **131**: 1216-1223.
- THE EYE DISEASE CASE CONTROL STUDY GROUP (1992). Risk factors for neovascular age-related macular degeneration. *Arch. Ophthalmol.* **110**: 1701-1708.
- THE ORGANIZATION OF THE RETINA AND VISUAL SYSTEM (2014). Erişim: [<http://webvision.med.utah.edu/imageswv/schem.jpeg>]. Erişim tarihi: 20.04.2014.
- THEODORE, S.R., AHMAD, U.F. (2007). Retinal degenerations: the role of drusen in macular degeneration and new methods of quantification. 197-211 Humana press.
- THORNTON, J., EDWARDS, R., MITCHELL, P., HARRISON, R.A., BUCHAN, I., KELLY, S.P. (2005). Smoking and age-related macular degeneration: a review of association. *Eye*, **19**(9):935-944.
- TIAN, J., YU, W., QIN, X., FANG, K., CHEN, Q., HOU, J., LI, J., CHEN, D., HU, Y., LI, X. (2012). Association of genetic polymorphisms and age-related macular degeneration in Chinese population. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, **53**(7):4262-4269.
- TING, A.Y.C., LEE, T.K.M., MACDONALD, I.M. (2009). Genetics of age-related macular degeneration. *Current Opinion in Ophthalmology*, **20**(5): 369-376.
- TONG, J.P., YAO, Y.F. (2004). Contribution of VEGF and PEDF to choroidal angiogenesis: a need for balanced expressions. *Clinical Biochemistry*, **39**(3): 267-276.
- TORZEWSKI, J., BOWYER, D.E., WALTENBERGER, J., FITZSIMMONS, C. (1997). Processes in atherogenesis: complement activation. *Atherosclerosis*, **132**:131-138.
- UGUR, ř., KÖSE, C., ERDÖL, H., YAVUZ, Z., IKIBAş, C. (2009). Retinadaki yaşa bağlı makula dejenerasyonunun (ybmd), istatistiksel ve bölge büyütme yöntemleri ile bölütleme sonuçlarının karşılaştırılması. 5. Uluslararası İleri Teknolojiler Sempozyumu (IATS'09), 13-15 Mayıs 2009, Karabük, Türkiye
- VAN LEEUWEN, R., KLAVER, C.C., VINGERLING, J.R., HOFMAN, A., DE JONG, P.T. (2003). The risk and natural course of age-related maculopathy: follow-up at 6 1/2 years in the Rotterdam study. *Arch. Ophthalmol.* **121**:519-526.
- VAN LEEUWEN, R., IKRAM, M.K., VINGERLING, J.R., WITTEMAN, J.C., HOFMAN, A., DE JONG, P.T. (2003). Blood pressure, atherosclerosis, and the incidence of age-

- related maculopathy: the Rotterdam Study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **44(9)**:3771-3777.
- VAN WIJNGAARDEN, P., COSTER, D.J., WILLIAMS, K.A. (2005). Inhibitors of ocular neovascularization: promises and potential problems. *JAMA*, **293(12)**:1509-1513.
- VAN NEWKIRK, R., NANJANM, B., WANG, J.J., MITCHELL, P., TAYLOR, H.R., MCCARTHY, C.A. (2000). The prevalence of age-related maculopathy: the visual impairment project. *Ophthalmology*, **107**: 1593-1600.
- VINGERLING, J.R., DIELEMANS, I., HOFMAN, A. (1995). The prevalence of age-related maculopathy in the Rotterdam Study. *Ophthalmology*, **102**:205-210.
- VINGERLING, J.R., HOFMAN, A., GROBBEE, D.E., DE JONG, P.T. (1996). The Rotterdam Study. Age-related macular degeneration and smoking. *Arch. Ophthalmol.* **114(10)**:1193-1196.
- VOYIAZIAKIS, E., GOLDBERG, I.J., PLUMP, A.S., RUBIN, E.M., BRESLOW, J.L., HUANG, L.S. (1998). ApoA-I deficiency causes both hypertriglyceridemia and increased atherosclerosis in human apoB transgenic mice. *J. Lipid Res.* **39**:313-321.
- WALLACE, D.C. (2005). A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.* **39**: 359-407.
- WALLACE, D.C., BROWN, M.D., MELOV, S., GRAHAM, B., LOTT, M. (1998). Mitochondrial biology, degenerative diseases and aging. *Biofactors*, **7(3)**: 187-190.
- WANG, J.J., KLEIN, R., SMITH, W., KLEIN, B.E.K., TOMANY, S., MITCHELL, P. (2003). Cataract surgery and the 5-year incidence of late-stage age-related maculopathy. Pooled findings from the Beaver Dam and Blue Mountains eye studies. *Ophthalmology*, **110(10)**:1960-1967.
- WANG, G., SPENCER, K.L., COURT, B.L., OLSON, L.M., SCOTT, W.K., HAINES, J.L., PERICAK-VANCE, M.A. (2009). Localization of age-related macular degeneration-associated ARMS2 in cytosol, not mitochondria. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* **50(7)**:3084-3090.
- WANG, Y., SOLT, L.A., BURRIS, T.P. (2010). Regulation of FGF21 expression and secretion by retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha. *J. Biol. Chem.* **285**: 15668-15673.
- WARBURTON, S., DAVIS, W.E., SOUTHWICK, K., XIN, H., WOOLLEY, A.T., BURTON, G.F., THULIN, C.D. (2007). Proteomic and phototoxic characterization of melanolipofuscin: Correlation to disease and model for its origin. *Molecular Vision*, **13(35-37)**: 318-329.
- WASSELL, J., DAVIES, S., BARDSLEY, W., BOULTON, M. (1999). The photoreactivity of the retinal age pigment lipofuscin. *Journal of Biological Chemistry*, **274(34)**: 23828-23832.
- WEEKS, D.E., CONLEY, Y.P., TSAI, H., MAH T.S., SCHMIDT, S., POSTEL, E.A., AGARWAL, A., HAINES, J.L., PERICAK-VANCE, M.A., ROSENFELD, P.J., PAUL, T.O., ELLER, A.W., MORSE, L.S., DAILEY, J.P., FERRELL, R.E., GORIN, M.B. (2004). Age-related maculopathy: a genome-wide scan with continued evidence of susceptibility loci within the 1q31, 10q26, and 17q25 regions. *Am. J. Hum. Genet.* **75**:174-189.
- WEEKS, D.E., CONLEY, Y.P., MAH, T.S., PAUL, T.O., MORSE, L., NGO-CHANG, J. (2000). A full genome scan for age-related maculopathy. *Hum. Mol. Genet.* **9**: 1329-1349.
- WEIZMANN INSTITUTE OF SCIENCE (2014). Erişim: [[www.genecards.org](http://www.genecards.org)] Erişim Tarihi: 28.05.2014.
- WIEBERDINK, R.G., HO, L., IKRAM, M.K., KOUDESTAAL, P.J., HOFMAN, A., DE JONG, P.T., VINGERLING, J.R., BRETELER, M.M. (2011). Age-related macular degeneration and the risk of stroke: the Rotterdam study. *Stroke; A Journal of Cerebral Circulation*, **42(8)**:2138-2142.



- WIEGAND, R.D., GIUSTO, N.M., RAPP, L.M., ANDERSON, R.E. (1983). Evidence for rod outer segment lipid-peroxidation following constant illumination of the rat retina. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, **24**(10): 1433-1435.
- WILSON, G.A., FIELD, A.P., WILSON, N. (2001). Smoke gets in your eyes: smoking and visual impairment in New Zealand. *New Zealand Medical Journal*, **114**(1142): 471-474.
- WRIGHT, A.F., JACOBSON, S.G., CIDECIYAN, A.V., ROMAN, A.J., SHU, X., VLACHANTONI, D., MCINNES, R.R., RIEMERSMA, R.A. (2004). Lifespan and mitochondrial control of neurodegeneration. *Nat. Genet.* **36**:1153–1158.
- YANG, Z., CAMP, N.J., SUN, H., TONG, Z., GIBBS, D., CAMERON, D.J., CHEN, H., ZHAO, Y., PEARSON, E., LI, X., CHIEN, J., DEWAN, A., HARMON, J., BERNSTEIN, P.S., SHRIDHAR, V., ZABRISKIE, N.A., HOH, J., HOWES, K., ZHANG, K. (2006). A variant of the HTRA1 gene increases susceptibility to age-related macular degeneration. *Science*, **314**:992-993.
- YATES, J.R., MOORE, A.T. (2000). Genetic Susceptibility to age-related macular degeneration. *J. Med. Genet.* **37**:83-87.
- YOSHIDA, T., DEWAN, A., ZHANG, H., SAKAMOTO, R., OKAMOTO, H., MINAMI, M., OBAZAWA, M., MIZOTA, A., TANAKA, M., SAITO, Y., TAKAGI, I., HOH, J., IWATA, T. (2007). HTRA1 promoter polymorphism predisposes Japanese to age-related macular degeneration. *Mol. Vis.* **13**:545–548.
- ZARBIN, M. (2004). Current concepts in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Archives of Ophthalmology*, **122**: 598-614.
- ZHU, Y., MCAVOY, S., KUHN, R., SMITH, D.I. (2006). RORA, a large common fragile site gene, is involved in cellular stress response. *Oncogene*, **25**(20):2901-2908.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Evrim Suna ARIKAN TERZİ

**Doğum Yeri ve Tarihi:** 12.11.1980

**Yabancı Dili:** İngilizce, ÜDS, 2011 (Güz), Puan: 82.5

**İletişim (Telefon/e-posta):**05055443236/arikanmt@gmail.com

**Görev yeri:** Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD

### Öğrenim Bilgisi

Derece	Birim	Yıl
Yüksek Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı	2003-2006
Lisans	Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi/Biyoloji Bölümü	1999-2003

### Akademik Unvanlar

Derece	Birim	Yıl
Araştırma Görevlisi	Aksaray Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü/Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı	2009-2013
Araştırma Görevlisi	Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	2013-2013
Öğretim Görevlisi	Afyon Kocatepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı	2013-

### Eserler:

#### SCI, SCI-expanded, SSCI ve AHCI Kapsamındaki Dergilerdeki Yayınlar

1. Solak, Ö., Özdemir Erdoğan, M., Yıldız, H., Ulaşlı, A.M., Yaman, F., Arıkan Terzi, E.S., Ulu, S., Dündar, Ü., Solak, M. (2014). Assessment of opioid receptor  $\mu$ 1 gene A118G polymorphism and its association with pain intensity in patients with fibromyalgia. Rheumatol Int 2014 Mar 27. Epub 2014 Mar 27.
2. Yıldız SH, Akıllı A, Bağcıoğlu E, Özdemir Erdoğan M, Coşkun KS, Alpaslan AH, Subaşı B, Arıkan ES (2013). Association of schizophrenia with T102C (rs6313) and 1438 A/G (rs6311) polymorphisms of HTR2A gene. Acta Neuropsychiatrica. 25(6):342-348.

3. Yıldız SH, Özdemir Erdoğan M, Artan S, Solak M, Yaman M, Özbabalık BD, Arıkan Terzi ES (2012). Association of Alzheimer's Disease With APOE and IL-1 $\alpha$  Gene Polymorphisms. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*, DOI: 10.1177/1533317512461557.
4. Solak M, Yıldız H, Köken R, Erdogan MÖ, Eser B, Şen T, Evirgen N, Erdem E, Arıkan ES (2008). Analysis of Familial Mediterranean Fever Gene Mutations in 202 Patients with Familial Mediterranean Fever. *Genetic Testing*, 12(3), 341-344.
5. Yıldız M, Arıkan ES (2008). Genotoxicity testing of quizalofop-P-ethyl herbicide using the *Allium cepa* anaphase-telophase chromosome aberration assay. *Caryologia*, 61(1), 45-52.
6. Evirgen N, Solak M, Dereköy S, Erdoğan MÖ, Yıldız H, Eser B, Arıkan ES, Erkoç A, (2007). Genotyping for Cx26 And Cx30 Mutations in Cases with Congenital Hearing Loss. *Genetic testing*, 12(2), 253-256.
7. Yıldız M, Arıkan ES, Terzi H (2006). Seed germination of populations of wild wheat species, *Aegilops biuncialis* and *Aegilops triuncialis*:. *Pakistan Journal of Biological Sciences* , 9: (7);1299-1305.
8. Cenkci S, Yıldız M, Ciğerci İH, Bozdağ A, Terzi H, Arıkan Terzi ES (2010). Evaluation of 2,4-D and dicamba genotoxicity in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings using Comet and RAPD assays. *Ecotoxicology and Environmental Safety* (73), 1558-1564.

**SCI, SCI-expanded, SSCI ve AHCI Kapsamı Dışındaki Dergilerdeki Yayınlar:**

1. Yıldız, M., Terzi, H. and Arıkan, E.S., 2006. Seed germination of populations of wild wheat species, *Aegilops biuncialis* and *Aegilops triuncialis*: Effects of salinity, temperature and photoperiod. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 9(7): 1299-1305.
2. Yıldız, M., Terzi, H., Cenkci, S., Arıkan, E.S. ve Uruşak, B., 2010. Bitkilerde tuzluluğa toleransın fizyolojik ve biyokimyasal markörleri. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 1(1): 1-33.
3. Yıldız, M.ve Arıkan,E.S., 2007.Pestisitlerin sitotoksik etkileri ve bitki biyotestleri, *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 8(2): 299-311.

### Projelerde Yaptığı Görevler :

1. “Quizalofop-P-Etil herbisitinin *Allium cepa* L. kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik etkileri”, Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, Yardımcı Araştırmacı, 06.FENED.18, 2006-2007.
2. “Şizofreni tanılı olgularda *5HT-2A* geni polimorfizmlerinin araştırılması”, Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 11.SAĞ.BİL.12, Yardımcı Araştırmacı, 2011-2012.
3. “Depresyonlu olgularda antidepresan tedavisine yanıt üzerine *HTR1A* ve *HTR2A* gen polimorfizmlerinin etkisinin araştırılması” Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 11.TIP.03, Yardımcı Araştırmacı, 2011-2014.
4. “Depresyon tanısı almış olgularda *CYP2D6*, *CYP2C19* ve *CYP3A4* gen polimorfizmlerinin antidepresan tedavisine yanıt ve yan etki gelişimi ile ilişkisinin araştırılması” Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 11.TIP.04, Yardımcı Araştırmacı, 2011-2014.
5. “Obez Olgularda *MC4R* (Melanocortin-4 receptor) ve *FTO* (Fat Mass and obesity) Gen Polimorfizmlerinin Vücut Kitle Endeksi Üzerine Etkilerinin Araştırılması” Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 11.TIP.05, Yardımcı Araştırmacı, 2011-2014.
6. “Fibromyalji sendromlu hastalarda prepro-orexin gen polimorfizminin değerlendirilmesi” Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 12.TIP.23, Yardımcı Araştırmacı, 2012-
7. “Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu İle İlişkili Başlıca Gen Polimorfizmlerinin Toplumumuzda İncelenmesi” TÜBİTAK Projesi, SBAG 112S269, Bursiyer, 2012-.
8. “*RORA*, *ROBO1*, *CFH* ve *HTRA1* Gen Polimorfizmlerinin Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu ile İlişkisinin Araştırılması” Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 13.SAĞ.BİL.02, Yardımcı Araştırmacı, 2013-2014
9. “Androgenetik Alopesili Hastalarda Hastalık ile İlişkilendirilmiş Polimorfizmlerin Araştırılması” Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, 13.TUS.09, Yardımcı Araştırmacı, 2013-

10. "Viteligo Tanılı Olgularda *CTLA4* ve *MYG1* Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi" Afyon Kocatepe Üniversitesi BAPK Projesi, Yardımcı Araştırmacı, 13.SAĞ.BİL.17, 2014-.

**Diğer etkinlikler:**

1. "SABioscience Real-Time PCR Tabanlı Gen Ekspresyonu, Mutasyon ve Metiasyon Profilleme Semineri" 30.03.2012, Marriott JW Hotel, Ankara.
2. 2nd Course in Integration of Cytogenetics, Microarrays and Massive Sequencing in Biomedical and Clinical Research, 18-22 Ekim 2009, İstanbul.
3. "Teorik ve Uygulamalı FISH Çalıştayı" Eskişehir Osmangazi Üniv. Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, 3-7 Kasım 2008 Eskişehir.
4. Elektroforez Teknikleri ve Uygulamaları Çalıştayı. 9-13 Şubat 2009, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Afyonkarahisar.
5. VII. Ulusal Ekoloji ve Çevre Kongresi. 10-13 Eylül 2007, Malatya.
6. II. Moleküler Tıp Kongresi, 24-26 Mart 2007, İstanbul.
7. II. Ege Tıbbi Genetik Sempozyumu, 24 Kasım 2006, Afyonkarahisar.
8. 18. Ulusal Biyoloji Kongresi, Uluslararası katılımlı, 26-30 Haziran 2006, Kuşadası/Aydın.
9. DNA Markörleri ve Bitki Islahında Kullanımı Kursu, 19-20 Ocak 2006, Adana.
10. Türkiye II. Tohumculuk Kongresi, 9-11 Kasım, 2005, Adana.
11. II. International Symposium on Protection of National Environment, 8-10 Eylül 2005, Kütahya.
12. 14. Biyoteknoloji Kongresi, 31 Ağustos-1 Eylül 2005, Eskişehir.
13. II. Ulusal Bor Çalıştayı, 6 Mayıs 2004, Zonguldak.
14. VI. Ulusal Prenatal Tanı ve Genetik Kongresi, 21-24 Nisan 2004, Antalya.