



T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**YAŞ TIP YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONUNDA KAN
VE OKÜLER SIVILARDA APELİN DÜZEYLERİNİN TESPİTİ VE
ANTI-VEGF TEDAVİNİN ANJİYOGENEZ BELİRTEÇLERİ
ÜZERİNE ETKİSİ**

Dr. Duygu AKPINAR

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA/2023



T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
GÜLHANE TIP FAKÜLTESİ

GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YAŞ TIP YAŞA BAğLI MAKULA DEJENERASYONUNDA
KAN VE OKÜLER SIVILARDA APELİN DÜZEYLERİNİN
TESPİTİ VE ANTİ-VEGF TEDAVİNİN ANJİYOGENEZ
BELİRTEÇLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Duygu AKPINAR

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ali Hakan DURUKAN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Bu araştırma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
2020/037 proje numarası ile desteklenmiştir.

ANKARA/2023

TEŞEKKÜR

“Beni Türk hekimlerine emanet ediniz”, “Şuna inanmak lazımdır ki dünya yüzünde gördüğümüz her şey kadının eseridir” diyen ve bir kadın olarak göz hekimi olmamı sağlayan Başöğretmen Mustafa Kemal Atatürk’e sonsuz teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca desteğini her zaman hissettiğim, cerrahi ve mesleki bilgisini örnek aldığım aynı zamanda insani değerleri ile bize örnek olduğunu düşündüğüm tez danışmanım Prof. Dr. Ali Hakan Durukan’a teşekkür ederim.

Tezimi hazırlama aşamasında ve parametrelerin analizi için yol gösteren Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Taner Özgürtaş’a, Doç. Dr. Çiğdem Yücel’e, Dr. Erhan Küpçük’e, Dr. Umut Gökten Duman’a

Birbirinden değerli hocalarım Prof. Dr. Fatih Mehmet Mutlu’ya, Prof. Dr. Yusuf Uysal’a, Prof. Dr. Mehmet Erhan Yumuşak’a, Prof. Dr. Osman Melih Ceylan’a, Doç. Dr. Fahrettin Akay’a

Hocadan önce bana abi olan ve cerrahi anlamda yetişmemi sağlayan Prof. Dr. Gökhan Özge’ye, Doç. Dr. Murat Küçükevcilioğlu’na , Doç. Dr. Önder Ayyıldız’a, Doç. Dr. Mehmet Talay Köylü’ye ve birlikte çalıştığım uzman abi ve ablalarım Op. Dr. Serkan Köksal, Op. Dr. Betül Bulut, Op. Dr. Yağmur Seda Yeşiltaş, Op. Dr. Fatih Gürdal, Op. Dr. Ayşe Merve Keskin, Op. Dr. Yeşim Gedik Oğuz, Op. Dr. Evren Bacınoğlu’na

Tezim için güzel resimler çizen Dr. Eda ARIK’a

Ekip olarak çalışmayı çok sevdiğim ve aynı zamanda tez örnekleri toplamamda büyük emeği olan, Hemşire Döndü Yılmaz, Hemşire Emine Sadi, Hemşire Sebiha Cansu, Hemşire Gülhan Köksal, Başhemşire Nalan Tarı, Hemşire Sevinç Güneri, Hemşire Aycan Aslan, Hemşire Deniz Bozbıyık, Hemşire Hikmet Yapıcı, Hemşire Selma Gamsız’a

Asistanlığımın başından itibaren desteklerini her zaman hissettiren, bir abla ve abi olan Dr. Bağım Ayçin Çakır İnce, Dr. Tebriz Memmedov’a, biricik abim Dr. İsmail Cem Türkeş’e, benim için çömezden öte iyi ki asistanlığı birlikte yaptım dediğim kardeşim Dr. Aysun Sagdani’ye, bana çok şey öğreten ve çok şey öğrettiğimi düşündüğüm asistan arkadaşlarıma

Beni yetiştiren ve bugünlere getiren her zaman yanımda olan canım annem Nazife Akpınar ve canım babam Durmuş Akpınar’a, bir kardeşten çok bana ablalık yapan canım kardeşim Burcu Akpınar’a teşekkür ederim.

Dr. Duygu AKPINAR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
TABLO LİSTESİ.....	vii
GRAFİK LİSTESİ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU (YBMD).....	3
2.1.1. YBMD Epidemiyoloji.....	3
2.1.2. YBMD Risk Faktörleri.....	3
2.1.3. YBMD Sınıflandırması	4
2.1.4. YBMD Patogenezi	5
2.1.4.1. Submakuler hemoraji	10
2.1.5. YBMD Semptomlar	10
2.1.6. YBMD Klinik Bulgular ve Tanı	12
2.1.7. YBMD Tedavi.....	14
2.2. APELİN	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3.1. KLİNİK MUAYENE YÖNTEMİ	19
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI	19
3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	21
3.2.2. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri	21
3.3. ÖRNEKLERİN ELDE EDİLMESİ.....	22
3.3.1. Serum Örneğinin Elde Edilmesi.....	22
3.3.2. Vitreus Sıvısı Örneğinin Elde Edilmesi	22
3.4. ELISA YÖNTEMİYLE ÖRNEKLERİN ÇALIŞILMASI.....	23
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	27

4. BULGULAR.....	29
4.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ DEMOGRAFİK BULGULARI	29
4.2. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ SERUM VE VİTREUSTAKİ ANJİYOGENEZ BİYOBELİRTEÇLERİNİN BULGULARI.....	29
4.2.1. Apelin.....	29
4.2.2. Apelin Reseptörü.....	31
4.2.3. VEGF-A	31
4.2.4. VEGFR-2	33
4.3. İNTRAVİTREAL ANTİ-VEGF ÖNCESİ VE SONRASI PARAMETRELER	33
4.4. TÜM PARAMETRELERİN KORELASYONU	35
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇLAR	42
7. KAYNAKLAR	43
9. EKLER.....	50
EK 1. ETİK KURUL ONAYI	50

KISALTMALAR

Ang-Tie	: Anjiyopoetin-tirozin kinaz
APJ	: Apelin Reseptörü
AT-1	: Anjiyotensin 2 Tip 1 Reseptörü
BM	: Bruch Membranı
CA	: Coğrafik Atrofi
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EMA	: Avrupa İlaç Ajansı
ERM	: Epiretinal Membran
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FFA	: Fundus Floresein Anjiyografi
FGF	: Fibroblast Growth Factor (Fibroblast büyüme faktörü)
Flk-1	: Fetal karaciğer kinaz-1
HIF-1	: Hypoxia-inducible factor-1 (Hipoksi indüklenebilir faktör-1)
ICAM-1	: Intercellular adhesion molecule-1 (Hücreler arası adezyon molekülü-1)
ILM	: İç Limitan Membran
IQR	: İnterquartile Range
İSYA	: İndosiyanın Yeşili Anjiografi
İVH	: İntravitreal Hemoraji
KNV	: Koroidal Neovaskülarizasyon
MCP-1	: Monocyte Chemoattractant Protein-1 (Monosit kemotaktik protein- 1)
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MNV	: Maküler Neovaskülarizasyon
NPDR	: Nonproliferatif Diyabetik Retinopati
N-YBMD	: Neovasküler Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu
OKT	: Optik Koherens Tomografi
OKTA	: Optik Koherens Tomografi Anjiografi
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PDGF	: Platelet-Derived Growth Factor (Trombosit kaynaklı büyüme faktörü)
PDR	: Proliferatif Diyabetik Retinopati
PEDF	: Pigment Epithelium-Derived Factor (Pigment epitelyum kökenli faktör)
PI3K	: Fosfotidil inositol 3 kinaz
PIGF	: Plasental Growth Factor (Plasental büyüme faktörü)
PPV	: Pars Plana Vitrektomi
RAP	: Retinal Anjiyomatöz Proliferasyon
ROP	: Prematüre Retinopatisi
RPE	: Retina Pigment Epiteli
SMH	: Submakuler Hemoraji
TGF-β	: Transforming Growth Factor- β
TMB	: Tetra Metil Benzidin
tPA	: Doku plazminojen aktivatörü
VCAM-1	: Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (Vasküler hücre adezyon molekülü-1)
VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor (Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü)
VEGFR	: Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü)
YBMD	: Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	YBMD evrelerini gösteren şematik gösterim	4
Şekil 2.	Fundus ve makulanın anatomisi.....	5
Şekil 3.	Kuru tip YBMD ve yaş tip YBMD patogenezi gösteren şema.....	6
Şekil 4.	VEGF-A ve reseptörleri VEGFR-1 ve VEGFR-2	8
Şekil 5.	A. Normal görme. B. YBMD hastalarında metamorfopsi. C. YBMD hastalarında santral skotom tarifinin simülasyonu olan görsel	11
Şekil 6.	Amsler grid test kartı.....	11
Şekil 7.	YBMD hastasında Amsler grid testi sonucu.....	12
Şekil 8.	YBMD hastalarının fundus fotoğrafı görüntüleri	13
Şekil 9.	YBMD hastalarının OKT görüntüleri	13
Şekil 10.	Apelin aminoasit dizilimleri.....	15
Şekil 11.	Apelin-APJ sistemi	17
Şekil 12.	Pars plana vitrektomi sonrası 41 G ile subretinal tPA enjeksiyonu uygulaması	20
Şekil 13.	İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonu uygulaması	20
Şekil 14.	Pars plana vitrektomi öncesi steril okütom ile vitreus örneği alınması	23
Şekil 15.	Hasta grubu ve kontrol grubunun serum ve vitreus örneklerinin ependorf tüplerinde saklanması	24
Şekil 16.	Hasta ve kontrol grubu örneklerinin ELISA plaka görüntüleri.....	26
Şekil 17.	Hasta ve kontrol grubu örneklerinin stop solüsyonu eklendikten sonraki ELISA plaka görüntüleri	26
Şekil 18.	Biotek Epoch Microplate Spectrophotometer ELISA okuyucu cihazına plakanın yerleştirilmesi.....	27

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. YBMD sınıflandırması.....	4
Tablo 2. Temin edilen ELISA kitlerinin performans verileri.....	25
Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun demografik özelliklerinin karşılaştırılması.....	29
Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun apelin düzeylerinin karşılaştırılması.....	30
Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun apelin reseptör düzeylerinin karşılaştırılması	31
Tablo 6. Hasta ve kontrol grubunun VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılması.....	32
Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunun VEGFR-2 düzeylerinin karşılaştırılması.....	33
Tablo 8. Hasta grubunda serum anjiyogenez belirteçleri düzeyinin intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi ve sonrası karşılaştırılması.....	34
Tablo 9. Yaş tip YBMD hastalarında korelasyon analizi.....	35

GRAFİK LİSTESİ

Grafik 1. Grupların vitreus apelin düzeylerinin karşılaştırılması	30
Grafik 2. Grupların vitreus VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılması.....	32



ÖZET

Amaç: Amacımız, yaş tip yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) olan ve olmayan hastalarda serum ve vitreusta anjiyogenez biyobelirteçlerinin (apelin, apelin reseptörü, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF-A), vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptörü (VEGFR-2)/ Fetal karaciğer kinaz-1 (Flk-1) düzeylerini ve intravitreal anti-VEGF tedavisinin bu belirteçler üzerine olan etkisini incelemektir. Çalışmamızın YBMD tedavisinde kullanılabilecek yeni moleküllerin geliştirilmesi için öncü olacağını düşünmekteyiz.

Gereç ve Yöntem: Klinik araştırmamız prospektif ve girişimsel olarak tasarlandı. Yaş tip YBMD tanısı alan ve daha önce hiç intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu yapılmamış veya en son yapılan enjeksiyonun üzerinden 4 ay geçmiş olan (yıkama-wash out periyodu) submaküler hemoraji gelişmesi nedeniyle ameliyat endikasyonu koyduğumuz 19 hasta ile YBMD'si bulunmayan ancak retinal patoloji (maküler delik, epiretinal membran) ve/veya katarakt nedeniyle ameliyat endikasyonu koyduğumuz 17 kontrol hastası çalışmaya dahil edildi. Hastalardan tam kan, rutin biyokimya kanları ve ameliyathane ortamında vitreus sıvısı toplandı. Örnekler çalışma gününe kadar biyokimya laboratuvarında -80°C sıcaklıkta saklandı. Alınan kan ve vitreus örneklerinde anjiyogenez biyobelirteçleri (apelin, apelin reseptörü, VEGF-A, VEGFR-2/Flk1) ELISA yöntemi ile analiz edildi.

Bulgular: Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı farklılık görülmedi ($p=0.088$, $p=0.955$). Hasta grubu ile kontrol grubu arasında serum apelin düzeyi açısından anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0.531$), ancak hasta grubunun vitreus apelin düzeyi, kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti ($p=0.03$). Hasta grubu ile kontrol grubu arasında serum apelin reseptörü ve vitreus apelin reseptörü düzeyi açısından anlamlı fark görülmedi ($p=0.271$, $p=0.802$). Hasta grubundaki serum VEGF-A düzeyi, kontrol grubuna göre yüksek olarak bulundu, ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0.346$). Hasta grubunun vitreus VEGF-A düzeyi, kontrol grubundan anlamlı şekilde yüksek bulundu ($p=0.028$). Hasta grubu ile kontrol grubu arasında serum VEGFR-2 düzeyi ve vitreus VEGFR-2 düzeyi açısından anlamlı fark görülmedi ($p=0.639$, $p=0.452$). Serum ve vitreusta apelin ve VEGF-A düzeyleri

arasında korelasyon bulunamadı. Hasta grubunda intravitreal bevacizumab enjeksiyonu sonrası serum apelin ve VEGF-A düzeyi enjeksiyon öncesi düzeye göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0.041$, $p=0.017$). Enjeksiyon öncesi ve sonrası serum apelin reseptör düzeyi ve VEGFR-2 düzeyi açısından anlamlı fark görülmedi ($p=0.496$, $p=0.427$).

Sonuç: Yaş tip YBMD ve kontrol grubu arasında serum apelin ve VEGF-A düzeyleri açısından anlamlı farklılık olmayıp vitreus düzeyleri açısından anlamlı fark olması, sitokinlerin otokrin etkinliğini ve apelinin VEGF-A'nın yanı sıra anjiyogeneizde rol alabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda serum ve vitreusta apelin ve VEGF-A düzeyleri arasında korelasyon bulunmaması, apelinin VEGF'ten bağımsız hareket edebileceğini desteklemektedir. İntravitreal bevacizumab enjeksiyonu sonrası serum apelin ve VEGF-A'nın anlamlı derecede düşük bulunması intravitreal enjeksiyonun sistemik etkinliğini ve apelin ile VEGF-A'nın anti-VEGF tedaviden aynı şekilde etkilendiklerini göstermektedir. Çalışmamız yaş tip YBMD hastalarında vitreusta apelin düzeyine bakılan ilk çalışma olması nedeniyle ön plana çıkmaktadır. Daha geniş popülasyonla yapılacak çalışmalarla anjiyogeneiz biyobelirteçlerine bakılmasının YBMD tedavisinde yeni yaklaşımlara öncü olacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Vitreus, Anjiyogeneiz, Apelin, Apelin reseptör, VEGF, Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu

ABSTRACT

Purpose: To investigate the levels of angiogenesis biomarkers (apelin, apelin receptor, VEGF-A, VEGFR-2/Flk-1) in serum and vitreous of patients with and without age-related macular degeneration (AMD), and to assess the impact of intravitreal anti-VEGF treatment on these markers. We believe that our study will pave the way for novel molecules in the treatment of AMD.

Materials and Methods: Our study was prospective and interventional. Nineteen patients diagnosed with neovascular AMD, who had not previously received intravitreal anti-VEGF injections or had a wash-out period of at least 4 months since the last injection, and who had submacular hemorrhage requiring surgery were included. Additionally, 17 control patients without AMD but with other retinal pathologies (macular hole, epiretinal membrane) and/or cataract requiring surgery were enrolled in the study. Blood samples and vitreous fluid were collected from the patients. Samples were stored at -80°C in the biochemistry laboratory until the day of analysis. Angiogenesis biomarkers (Apelin, Apelin receptor, VEGF-A, VEGFR-2/Flk1) in blood and vitreous samples were analyzed using the ELISA method.

Results: There were no significant differences in age and gender between the groups ($p=0.088$, $p=0.955$). No significant difference was found in serum apelin levels between the patient and control groups ($p=0.531$). However, the vitreous apelin level in the patient group was significantly higher than that in the control group ($p=0.03$). There were no significant differences in serum apelin receptor level and vitreous apelin receptor level between the patient and control groups ($p=0.271$, $p=0.802$). While the serum VEGF-A level in the patient group was higher than that in the control group, the difference was not statistically different ($p=0.346$). The vitreous VEGF-A level in the patient group was significantly higher than that in the control group ($p=0.028$). There were no significant differences in serum VEGFR-2 level and vitreous VEGFR-2 level between the patient and control groups ($p=0.639$, $p=0.452$). No correlation was found between apelin and VEGF-A levels in both serum and vitreous. After intravitreal bevacizumab injection, serum apelin level and VEGF-A level were significantly lower compared to pre-injection levels in the patient group ($p=0.041$, $p=0.017$). There were

no significant differences in serum apelin receptor and VEGFR-2 levels between pre and post-injection ($p=0.496$, $p=0.427$).

Conclusion: There was no significant difference in serum apelin and VEGF-A levels between neovascular AMD and the control group; however, the significant difference in vitreous levels suggests the potential autocrine activity of cytokines and the role of apelin in angiogenesis, in addition to VEGF-A. The lack of correlation between serum and vitreous levels of apelin and VEGF-A in our study supports the idea that apelin may act independently of VEGF. The significant decrease in serum apelin and VEGF-A levels after intravitreal anti-VEGF injection indicates the systemic effectiveness of intravitreal injection and that both VEGF-A and apelin are similarly affected by anti-VEGF treatment. Our study stands out as the first investigate the vitreous apelin levels in patients with neovascular AMD. We believe that further studies on angiogenesis biomarkers in a larger cohort will contribute to the development of novel treatments in the management of AMD.

Keywords: Vitreous, Angiogenesis, Apelin, Apelin receptor, VEGF, Age-Related Macular Degeneration

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gelişmiş ülkelerde 65 yaş ve üzerinde görme kaybının önemli nedenlerinden biri yaşa bağlı makula dejenerasyonudur (1). Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) genetik, çevresel, dejeneratif, progresif ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Yaşla birlikte veya YBMD hastalarında retinada drusen adı verilen hücre dışı birikimler gözlenir (2). Retinada hücre dışı birimlerin artışı ile retina pigment epiteli (RPE), fotoreseptör tabakası, bruch membranı ve koryokapillarisde yapısal bozukluklar meydana gelir. Oluşan bu durum sitokin salınımına, kan retina bariyeri bozulmasına ve anjiyogeneze neden olarak YBMD gelişimine yol açmaktadır.

YBMD'nin şu an için kesin bir tedavisi yoktur. Günümüzde tedavi amacı esas olarak hastalığın progresyonunun yavaşlatılmasıdır. Kuru tip YBMD tedavisinde antioksidandan zengin beslenme ve mikronütrisyon denenmektedir. Yaş tip YBMD patogenezinde anjiyogeneze sorumlu vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) önemli bir yere sahiptir ve altın standart tedavi şu an için intravitreal anti-VEGF enjeksiyonudur. Tedavi yanıtı hastadan hastaya değişiklik gösterebilmektedir. Bazı hastalarda az sayıda anti-VEGF enjeksiyonları yeterli olabilirken, bazı hastalar ise intravitreal anti-VEGF tedavisine yanıtıdır. Bu durum bizi yeni tedavi yollarını araştırmaya yöneltmektedir.

Apelin peptit yapıda bir adipokin olup endojen ligand olarak G protein bağımlı bir reseptör olan apelin reseptörü (APJ)'ne bağlanarak etki göstermektedir. Apelin-APJ sistemi, insan vücudunun çeşitli doku ve hücrelerinde mevcut olup sıvı homeostazisi, kardiyovasküler fonksiyon regülasyonu, sirkadyen ritmin düzenlenmesi, hücre proliferasyonu, fizyolojik ve patolojik anjiyogeneze gibi çeşitli olaylarda rol almaktadır (3, 4). Yapılan çalışmalarda apelin-APJ sisteminin YBMD patogenezinde anjiyogeneze katkıda bulunabileceği ve bunun VEGF sisteminden bağımsız olarak gerçekleştiği gösterilmiştir (5). Bu sonuç YBMD'de yeni tedaviler için umut olmuştur. Ancak bu çalışmalar çok sınırlıdır. Bu konuda daha geniş popülasyonla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu çalışmadaki amacımız, yaş tip YBMD olan hastalarda hastalığın gelişimine neden olduğunu dışındığımız apelin, apelin reseptör, VEGF-A ve VEGFR-2/ Fetal karaciğer kinaz 1 (Flk-1) moleküllerinin serum ve vitreus sıvısında düzeylerini incelemek, bu moleküllerin hastalık gelişiminde rol oynayıp oynamadığı konusunda veriler saptamaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU (YBMD)

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD), retinanın makula bölgesini etkileyen santral görme kaybına yol açan ilerleyici, dejeneratif bir hastalıktır (6). YBMD kuru tip (non-neovasküler, non-eksudatif) ve yaş tip (neovasküler, eksudatif) olmak üzere 2 ana grupta sınıflandırılır. Yaş tip YBMD %10-20'lik bir oranda olmasına rağmen agresif bir yapıda olması ve daha hızlı ilerlemesi nedeni ile legal görme kaybının %90'ından sorumlu olan esas formdur (7).

2.1.1. YBMD Epidemiyoloji

2020'de 50 yaş ve üzerindeki kişilerde körlüğün önde gelen nedenleri arasında katarakt, glokom, düzeltilmemiş refraktif hata, YBMD ve diyabetik retinopati olduğu görülmüştür (8). 2020 yılında YBMD prevalansının 196 milyon olduğu ve 2040 yılında ise bu sayının 288 milyona yükseleceği ve en çok da 113 milyon ile Asya ırkında görüleceği tahmin edilmektedir (9).

2.1.2. YBMD Risk Faktörleri

Demografik risk faktörleri: İleri yaş, etnisite (beyaz ırk), kadın cinsiyet, aile öyküsü

Çevresel risk faktörleri: Sigara kullanımı, fiziksel aktivite azlığı, UV maruziyeti

Sistemik risk faktörleri: Vücut kitle indeksinin yüksek olması, hipertansiyon, diyabet, hipertiroidi, Alzheimer, Parkinson

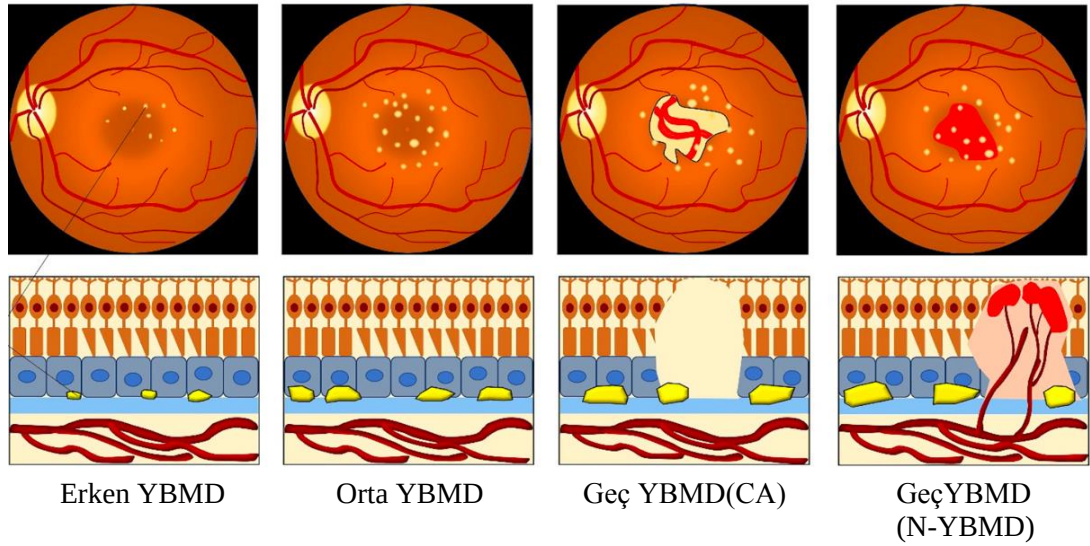
Genetik faktörler: CFH, ARMS2/HTRA1 geni (10)

2.1.3. YBMD Sınıflandırması

AREDS çalışmasındaki fundus görüntüsüne göre YBMD sınıflandırması **Tablo 1**'de verilmiştir.

Tablo 1. YBMD sınıflandırması (AREDS çalışması)

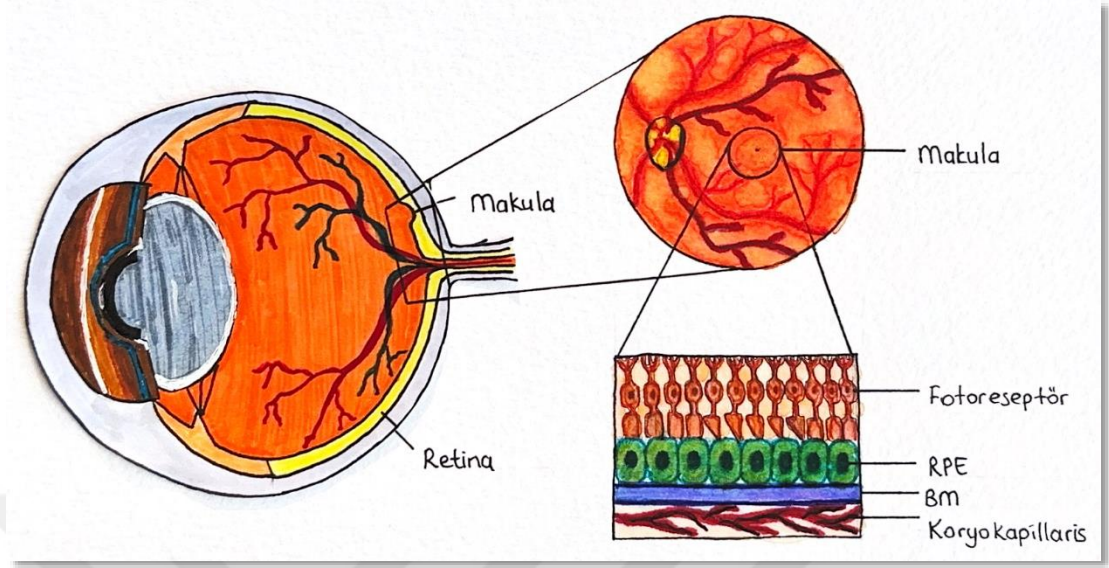
YBMD EVRESİ	BULGULAR
YBMD yok	Drusen yok
Yaşa bağlı olağan değişiklikler	Küçük boyutlarda drusen varlığı ($\leq 63\mu\text{m}$)
Erken evre YBMD	Orta boyutlarda drusen varlığı ($>63-\leq 125\mu\text{m}$)
Orta evre YBMD	Büyük boyutlarda drusen varlığı ($>125\mu\text{m}$)
İleri evre YBMD	Neovasküler YBMD veya Coğrafik atrofi



Şekil 1. YBMD evrelerini gösteren şematik gösterim (11)

İleri evre YBMD, neovasküler YBMD (N-YBMD) veya coğrafik atrofi (CA) olmak üzere iki farklı formdadır. CA, makuladaki RPE, fotoreseptör ve koryokapillaris kaybı ile tanımlanır. N-YBMD ise koroidal neovaskülarizasyon (KNV), sıvı ve hemoraji sızıntısı ile karakterizedir.

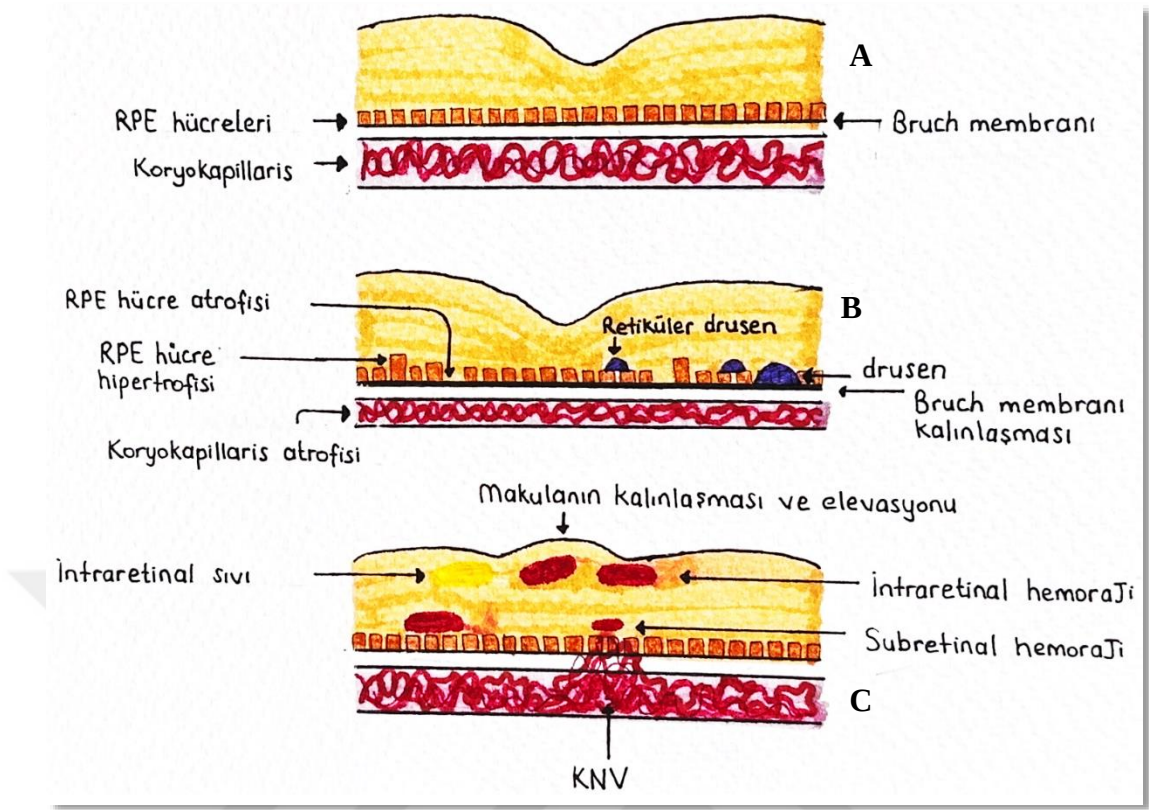
2.1.4. YBMD Patogenezi



Şekil 2. Fundus ve makulanın anatomisi.

Kısaltmalar: RPE: Retina Pigment Epiteli; BM: Bruch Membranı (Çizim: Dr. Eda ARIK)

Gözde fotoreseptör ve gliya hücrelerinin bulunduğu retina tabakası, gelen fotonları elektriksel ve kimyasal sinyallere çevirerek nöronal yolla beyne iletip görmemizi sağlamaktadır (12). Retinanın santralinde yer alan makula ise fotoreseptörlerin en yoğun olduğu bölge olup en yüksek görme keskinliğini sağlayan tabakadır.



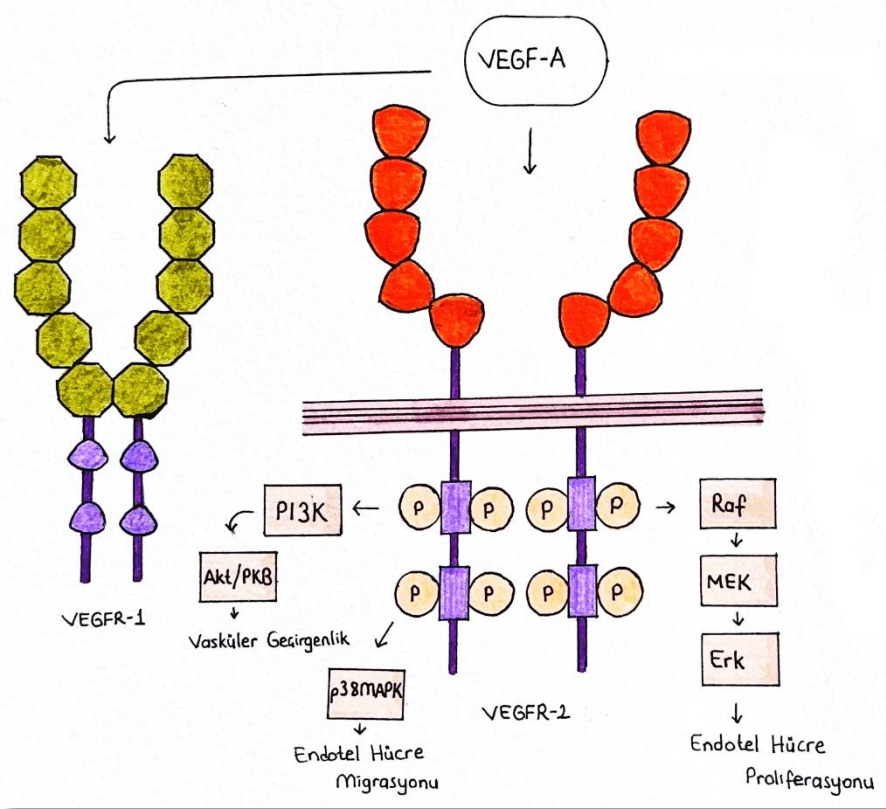
Şekil 3. Kuru tip YBMD ve yaş tip YBMD patogenezi gösteren şema (A) Normal makula (B) Kuru tip YBMD’de drusen, retiküler drusen, Bruch membran kalınlaşması, RPE hücre hipertrofisi ve atrofisi (C) Yaş tip YBMD’de intraretinal ve subretinal hemoraji, intraretinal sıvı, makulanın kalınlaşması ve elevasyonu, koroidal neovaskülarizasyon (KNV) (Çizim: Dr. Eda ARIK)

YBMD, retinanın makula bölgesini etkileyen RPE, fotoreseptör, bruch membranı ve koryokapillaris etkileyen bir hastalıktır (13). Fotoreseptörler, retinada bulunan nöron hücreleridir ve fototransdüksiyon ile dış ortamdan gelen fotonları nöronal uyarıya çevirirler (14). Rod (çubuk) ve konlar (basil) olmak üzere iki çeşit fotoreseptör mevcuttur. RPE, tek katlı hegzagonal hücrelerden oluşan bir epitelyal hücre tabakasıdır. Fotoreseptörler ile koroid arasında yer alır. Retinanın beslenmesinde, iyon, su ve metabolik ürünlerin taşınmasında, fotoreseptör dış segmentinin fagositozunda, VEGF, fibroblast büyüme faktörü (FGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), pigment epitelyum kökenli faktör (PEDF) gibi faktörlerin salgılanmasında rol oynar. Bruch membranı, RPE ile koroid arasında yerleşmiş 2-4 mikron kalınlığında ince bir bağ dokudur. Biyomoleküllerin, çeşitli minerallerin RPE ve koroid arasında taşınmasını düzenler. Normal fizyolojik süreç ve KNV gibi patolojik süreçler için bariyer görevi görmektedir. Koryokapillaris, koroidin

iç kısmında bulunan ve metabolik ihtiyaçları karşılayan damar yatağıdır. Kan retina bariyeri iç ve dış olmak üzere iki tanedir. İç kan retina bariyeri, retinal endotelial hücreler arasındaki bağlantılardan oluşurken, dış kan retina bariyeri RPE hücreleri arasındaki sıkı bağlantılardan oluşur (15).

Normal yaşlanmanın bir sonucu olarak reaktif oksijen radikallerinin birikimi, fotoreseptör, RPE, bruch membranı ve koryokapillaris düzeyinde değişiklikler meydana getirir (16). RPE hücrelerinde lipofuscin adı verilen lipoprotein yapıda atık materyal birikmeye başlar. Lipofuscinin esas kaynağı görsel siklusun parçalanmayan yan ürünleridir. Koryokapillaris ise biriken bu atık materyalin gözden uzaklaştırılmasını sağlar. Lipofuscin birikimi, hücre hasarına neden olarak RPE disfonksiyonuna neden olur. Bunun sonucunda RPE ile bruch membranının iç kollajen tabakası arasında drusen adı verilen hücre dışı, lipidden zengin birikimler birikir ve kuru tip YBMD gelişir. Drusen oluşumu kompleman kaskadını aktive eder. Bu durum koryokapillaris endotel hücre ölümüne ve koryokapillaris dejenerasyonuna neden olur. Koryokapillaris kaybı daha fazla oksidatif hasara yol açarak fotoreseptör ölümüne neden olur. RPE disfonksiyonu aynı zamanda bruch membranında da disfonksiyona yol açar. Bu da VEGF ve PDGF artışına neden olarak kan retina bariyerinin bozulmasına ve RPE altında önceden KNV adı verilen artık makuler neovaskülarizasyon (MNV) olarak adlandırılan yaş tip YBMD'ye neden olan anormal koroidal damarların büyümesine yol açar (17, 18). Oluşan bu yeni damarlar fragildir. Damar duvarından sızıntı sonucu ödeme ve submakuler hemorajiye sebep olabilir. Bu durum makulada diskiform skar bırakarak geri dönüşümsüz merkezi görme kaybına neden olabilir. N-YBMD terminolojisi çalışma grubu konsensüsü, 2019 yılında YBMD'de KNV terimini MNV olarak raporlamıştır (18). Bu rapora göre N-YBMD tip 1, 2, 3 MNV şeklinde sınıflandırılmıştır. Eskiden gizli (okült) KNV olarak bilinen tip 1 MNV'de, koryokapillaristen çıkan patolojik damarlar bruch membranından RPE altı boşluğa doğru büyümektedir. Eskiden klasik KNV olarak bilinen tip 2 MNV'de ise yeni damarlar RPE ile nörosensöriyel retina arasına uzanmaktadır. Eskiden retinal anjiyomatöz proliferasyon (RAP) olarak bilinen tip 3 MNV'de, patolojik damarlar intraretinal derin kapiller pleksustan gelişerek aşağıda RPE'ye doğru büyümektedir.

Yaş tip YBMD gelişiminde önemli bir rol oynayan anjiyogenez, VEGF ailesi ve reseptörleri, plasental büyüme faktörü (PIGF), anjiyopoetin-Tie reseptörleri, PDGF, PEDF, matris metalloproteinazlar (MMP), transforming büyüme faktörü- β (TGF- β) ve reseptörleri, hipoksi indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) gibi faktörlerle düzenlenmektedir. (19, 20, 21). VEGF, embriyonik dönemde öncü hücrelerden kan damarlarının oluşmasında (vaskülogenez), mevcut damarlardan yeni kan damarlarının oluşumunda (anjiyogenez) ve lenf damarlarının oluşmasında (lenfanjiyogenez) rol oynamaktadır (22). VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E (Orf-VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PIGF) VEGF ailesini oluşturmaktadır (23). VEGF-A, endotel hücre yüzeyinde reseptörü olan VEGFR-1 ve VEGFR-2'ye bağlanarak fizyolojik ve patolojik anjiyogenezde rol oynar. VEGFR-2, VEGF-A ile uyarılan vasküler geçirgenlik artışına neden olan esas anjiyojenik reseptördür (24). VEGFR-1 endojen VEGF-A'nın inhibisyonu ile ilişkilidir (25). VEGFR-3 ise VEGF-C ve VEGF-D tarafından uyarılır ve lenfatik endotelial hücre gelişiminde rol oynar (22).



Şekil 4. VEGF-A ve reseptörleri VEGFR-1 ve VEGFR-2 (Çizim: Dr. Eda ARIK)

PI3K: Fosfatidilinositol 3kinaz, Akt/PKB: AGC kinazlarının bir üyesi (protein kinaz B)

VEGF endotelial hücrelerin çoğalmasında, migrasyonunda, vasküler geçirgenlik artışında ve tüp formasyonu oluşturmada uyarıcı bir etkiye sahiptir (26). Fetal dönemde VEGF, RPE tarafından üretilerek koryokapillarisin oluşumunu sağlamaktadır (27). Endotel hücre proliferasyonu sağlıklı bir şekilde gelişimde gereklidir. Fakat VEGF, hücreler arası adezyon molekülü (ICAM-1), vasküler hücre adezyon molekülü 1 (VCAM-1) ifadesini artırarak lökosit çekimini, endotel hücre adezyonunu ve enflamasyonu artırır (28, 29). Enflamasyon artışı ve anormal proliferasyon patolojik anjiyogeneze ve neovaskülarizasyona neden olup yaş tip YBMD, prematüre retinopatisi (ROP), diyabetik retinopati ve santral retinal ven oklüzyonu gibi hastalıklara neden olmaktadır (30).

KNV gelişiminde rol oynayan VEGF, PDGF gibi faktörler, hayvan modelleri kullanılarak yapılan deneylerde araştırılmıştır. Aköz ve vitreustaki sitokin seviyeleri arasında korelasyon gösterilmiş olup, serum ile aközdeki sitokin düzeyleri arasında korelasyon gözlenmemiştir (31). KNV gelişiminde kompleman sistemi ve anjiyopoetin-tirozin kinaz (Ang-Tie) yolağının da etkili olduğu bulunmuştur. Kompleman sistemi doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olup aşırı veya düzensiz aktivasyon sonrası otoimmün reaksiyon ve enflamasyona neden olabilir (32). Yapılan bazı çalışmalarda kuru tip ve yaş tip YBMD patogenezinde kompleman sisteminin ve özellikle de alternatif yolağın aşırı aktivasyonunun etkili olabileceği gösterilmiştir (33). Kompleman sisteminin disregülasyonu ve membran atak kompleksi KNV gelişimine katkıda bulunur. Ang-Tie yolağı ise vasküler geçirgenlik, anjiyogeneze ve enflamasyondan sorumludur (34). Perisitlerde üretilen anjiyopoetin-1, endotel hücresinde bulunan Tie-2 reseptörüne bağlanarak vasküler sızıntı ve anormal vaskülarizasyonu önlerken, anjiyopoetin-2 Tie-2'ye bağlandığında vasküler stabilizasyon bozulur ve anormal damarlanma gelişir (35).

Retinadaki vaskülarizasyon aynı zamanda retinadaki oksijen seviyeleri tarafından da kontrol edilir (36). Astrositler oksijen seviyesini algılayıp hipoksi durumunda VEGF salgırlar. Azalmış oksijen düzeyi, hipoksi indüklenbilir faktör-1 α (HIF-1 α) seviyesinin artışına neden olmaktadır. HIF-1 α tarafından indüklenen VEGF retinal vasküler gelişimde gereklidir. İskemik retinopati olan hastaların vitreus sıvısında VEGF seviyeleri yüksek bulunmuştur. İskemik retinopati olan fare modelinde retinal fotoreseptörlerde VEGF düzeyi ve bunun sonucunda

neovaskularizasyon artmıştır. VEGF antagonistleri hayvan modellerinde iris ve retinadaki neovaskularizasyonu kısmen inhibe etmektedir. Hipoksi sonucu ile artan VEGF yolağının bulunması yeni tedaviler konusunda umut vermiştir.

2.1.4.1. Submakuler hemoraji

Submakuler hemoraji (SMH), yaş tip YBMD'nin komplikasyonlarından biri olup RPE ve nörosensöriyel retina arasındaki hemorajiyi ifade etmektedir (37). SMH, RPE altında da olabilmektedir. SMH ani ağrısız görme kaybı ve santral skotoma neden olmaktadır.

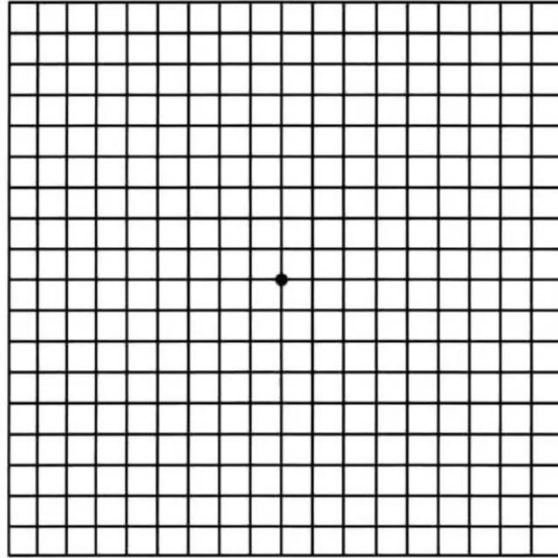
Subretinal hemoraji retina için toksiktir. SMH, 24 saat içinde geri dönüşsüz retina hasarına ve 7 gün sonunda fotoreseptörlerin tamamen ölümüne neden olmaktadır (38). SMH, retinanın beslenmesinin bozulması, atık ürünlerin temizlenmesinin engellenmesi, demirin fotoreseptörlere toksisitesi (fenton reaksiyonu), kontrakte fibrinin fotoreseptörlerde traksiyon oluşturmaya yoluyla göze hasar vermektedir. SMH tedavisinde şu an için standart bir tedavi yöntemi yoktur (18). Pars plana vitrektomi (PPV) ile subretinal koagüle hemorajinin çıkarılması, PPV ile subretinal doku plazminojen aktivatörü (tPA) enjeksiyonu ve intravitreal gaz enjeksiyonu, intravitreal tPA ile pnömatik yer değiştirme, verteporfin ile fotodinamik tedavi yapılması ve intravitreal anti VEGF enjeksiyonu tedavi seçenekleri arasındadır.

2.1.5. YBMD Semptomlar

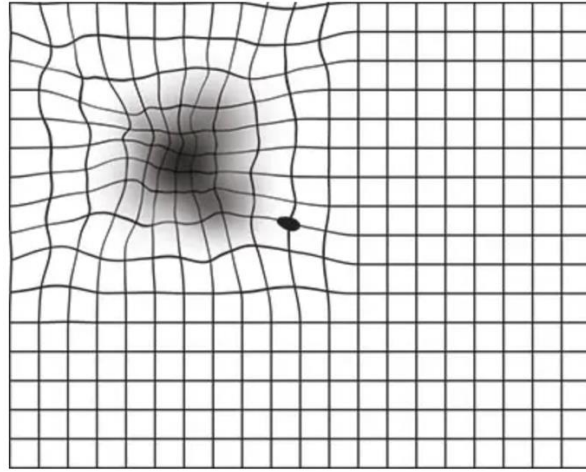
YBMD erken evrede asemptomatik olabilir. Hastalar ilerleyen dönemlerde bulanık görme, eğri görme (metamorfopsi) ve kontrast azalmasından şikayetçi olabilir. Yaş tip YBMD'ye sekonder SMH geliştiğinde hastalar ani, ağrısız santral görmede azalma ve skotom ile gelebilir. Hastalara amsler grid testi verilerek metamorfopsi ve skotom varlığının erken tespit edilmesi sağlanabilir (39).



Şekil 5. A. Normal görme. B. YBMD hastalarında metamorfopsi. C. YBMD hastalarında santral skotom tarifinin simülasyonu olan görsel



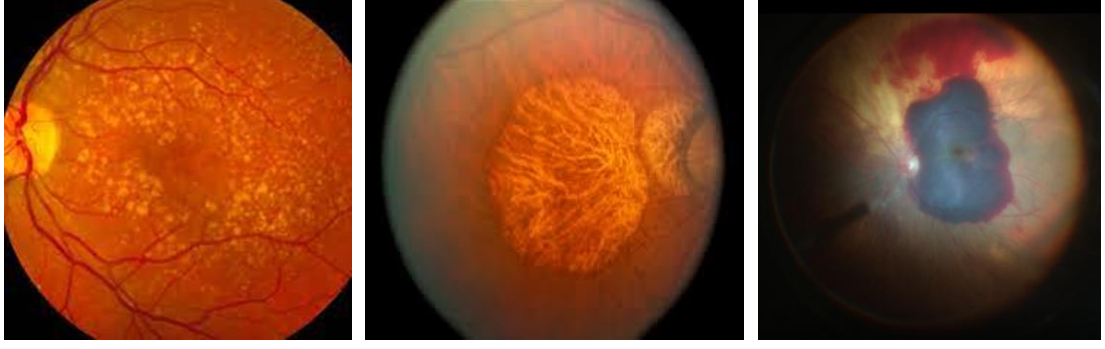
Şekil 6. Amsler grid test kartı (<https://www.aao.org/eye-health/diseases/amd-macular-degeneration#diagnosis>)



Şekil 7. YBMD hastasında Amsler grid testi sonucu (<https://www.aao.org/eye-health/diseases/amd-macular-degeneration#diagnosis>)

2.1.6. YBMD Klinik Bulgular ve Tanı

YBMD tanısında tam bir göz muayenesini takiben dilate fundus muayenesi yapılmalıdır. Muayenede drusen, RPE’de pigment değişikliği, coğrafik atrofi, submakuler hemoraji, sert eksuda, skar ve fibrozis gibi YBMD lezyonları tespit edilebilir. Bunun yanı sıra tanıda ve hastalığın yönetiminde multimodal görüntüleme önemli bir yer tutar (40). Fundus florosein anjiyografi (FFA), YBMD tanısında koroidal neovaskülarizasyonu göstermede altın standart bir tekniktir. İndosiyanin yeşili anjiyografi (İSYA) ise, FFA ile benzer teknikte bir yöntem olup koroidal dolaşımın gösterilmesinde ve okült KNV’nin tespitinde daha etkin bir görüntülemedir. Optik koherens tomografi (OKT), non-invazif bir yöntem olup retinanın tüm katmanlarını detaylı olarak gösteren bir görüntüleme yöntemidir. YBMD tiplerini ve evresini belirlemede, bu sayede hastaların takip ve tedavi yönetiminde önemli bir rol almaktadır. Optik koherens tomografi anjiyografi (OKTA) ise yeni bir görüntüleme sistemi olup non-invazif olarak retinal ve koroidal vasküler dolaşımın görüntülenmesini sağlar. Yaş tip YBMD’de KNV’de görülen mikrovasküler değişiklikleri gösterir ve KNV’nin daha erken tespit edilmesinde fayda sağlar.

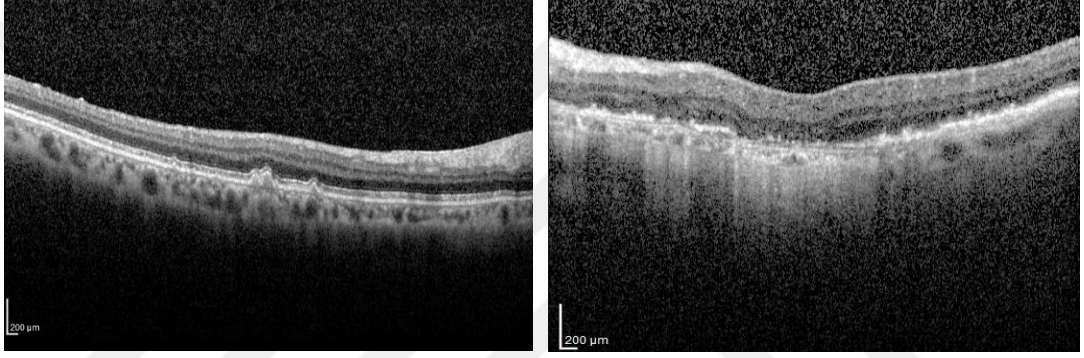


A

B

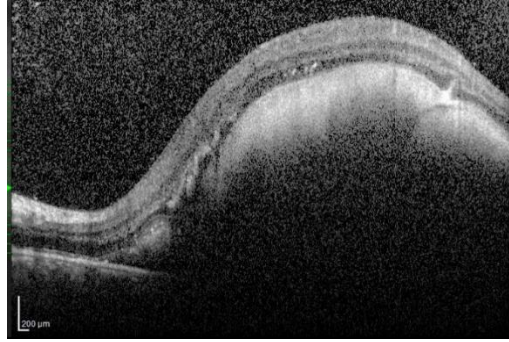
C

Şekil 8. YBMD hastalarının fundus fotoğrafı görüntüleri A. Kuru tip YBMD B. Coğrafik Atrofi C. Yaş tip YBMD (submaküler hemoraji)



A

B



C

Şekil 9. YBMD hastalarının OKT görüntüleri A. Kuru tip YBMD B. Coğrafik atrofi C. Yaş tip YBMD (submaküler hemoraji)

2.1.7. YBMD Tedavi

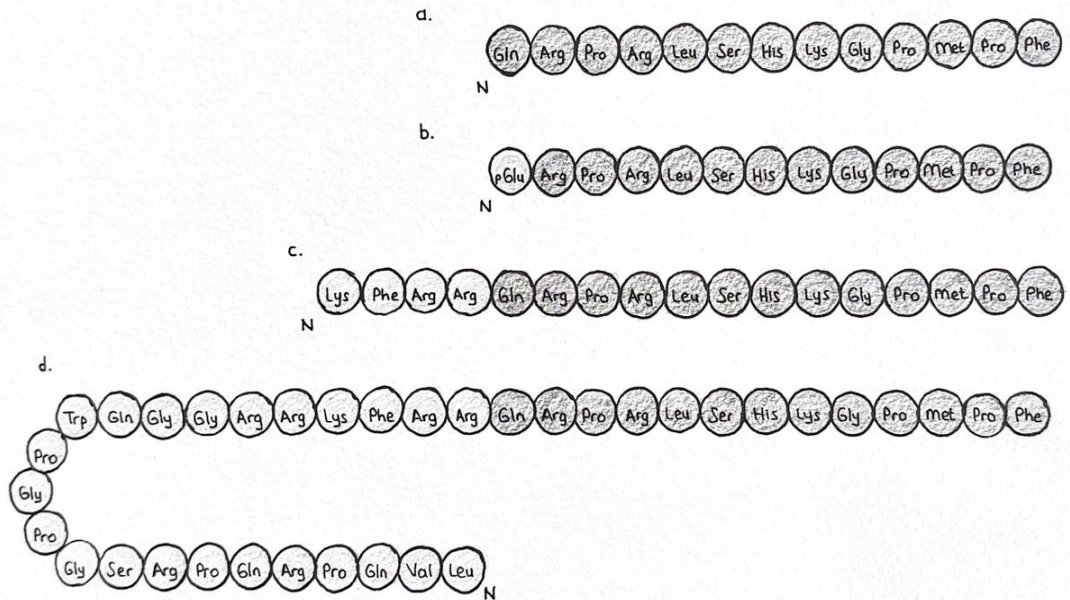
Günümüzde yaş tip YBMD tedavisinde intravitreal anti-VEGF ajanlar altın standart tedavidir. Ancak bu tedavide temel amaç lezyonları geriletmek, hastalığın progresyonunu yavaşlatmaktır ve tam bir iyileşme sağlanamaz. Bu sınıfta Türkiye’de onaylı olarak Ranibizumab (Lucentis, Genentech Inc.), Bevacizumab (Avastin, Genentech Inc., Altuzan, Roche Inc.) ve Aflibercept (Eylea, Regeneron Pharmaceuticals, Inc.) bulunmaktadır. Yaş tip YBMD tedavisinde Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından 2004 yılında onaylanan ilk anti-VEGF ilaç, VEGF165’e bağlanan **pegaptanib sodyumdur** (Bausch & Lomb) (41). Ancak şu anda mevcut diğer anti-VEGF’lere göre etkinliği daha düşük olduğu için artık yaş tip YBMD tedavisinde önerilmemektedir. **Ranibizumab** (Lucentis®, Novartis, Basel, İsviçre; Genentech, Güney San Francisco, CA, ABD) VEGF-A’nın çoklu izoformlarına bağlanan tamamen insanlaştırılmış bir monoklonal antikör fragmanıdır (42). **Bevacizumab** (Avastin, Genentech Inc.) insanlaştırılmış, rekombinant bir monoklonal antikör olup VEGF’in tüm izoformlarını bağlamaktadır (43). Metastatik kolon kanseri ve diğer kanser türlerinin tedavisi için geliştirmiş, FDA ve Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından onaylanmıştır (44). **Aflibercept** (Eylea, Regeneron Pharmaceuticals, Inc.) VEGF trap olarak da bilinen FDA tarafından 2011 yılında onaylanan VEGFR-1 ve VEGFR-2’nin fragmanlarını içeren bir füzyon proteindir. VEGF-A, VEGF-B ve PlGF’e bağlanır (45). Günümüzde ikinci nesil anti-VEGF’ler olarak adlandırılan faricimab, brolucizumab ve aflibercept 8 mg ABD’de onaylanmış, Avrupa ve ülkemizde onay beklemekte olan yeni ilaçlardır. **Faricimab** (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Switzerland) bispesifik immunoglobülin G monoklonal antikoru olup VEGF-A ve Anjiyopoetin-2’ye bağımsız olarak bağlanarak onları nötralize eder (46). **Brolucizumab** (Beovu, Novartis International AG) Basel, İsviçre VEGF-A’nın tüm izoformlarını bloke eden tek zincirli antikör fragmanı olarak 2019 yılında FDA tarafından onaylanmıştır (47). Ancak oklüzif vaskülit neden olabileceği görülmüştür (48).

Hastaların bazılarının intravitreal anti-VEGF ajanlara yanıtı zayıf veya hiç yoktur ya da bu yanıt zamanla azalmaktadır. Bu durum VEGF bağımsız proanjiyojenik mekanizmalar olduğunu düşündürmektedir. Bir anti-VEGF’e yanıtızsızlık durumunda başka bir anti-VEGF ajana geçilebilmektedir. Ayrıca intravitreal anti-VEGF

tedavisinin hipertansiyon ve tromboembolik olaylar (geçici iskemik atak, serebrovasküler olay, miyokard enfarktüsü) gibi sistemik yan etkileri olabilmektedir (49). Anti-VEGF tedavisine direnç mekanizmalarını anlamak ve alternatif tedavi araştırmak için geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır.

2.2. APELİN

İnsan geninde G protein bağımlı reseptör olan apelin reseptörü (APJ), O'Dowd ve arkadaşları tarafından 1993 yılında tanımlanmış ve bu reseptörün anjiyotensin 2 tip 1 reseptörü (AT-1) ile benzer olduğu görülmüştür (50). Ancak ligandı bulunamayan APJ, 1998 yılına kadar yetim bir reseptör olarak kalmıştır. Tatemoto ve arkadaşları sığır mide öz suyunda buldukları apelinin endojen ligand olarak G protein bağımlı reseptör olan APJ'ye bağlandığını göstermiştir (51). İnsanlarda APLN geni, X kromozomunun uzun kolunda (Xq25-q26.1) yer alır ve apelin proteinini kodlar (52). Apelin molekülü peptit yapıda bir adipokin olup, 77 aminoasit içeren preproprotein şeklinde sentezlenmektedir ve enzimatik reaksiyonla apelin 13, 17, 36 gibi biyolojik olarak daha aktif formlarına ayrılmaktadır (53).



Şekil 10. Apelin aminoasit dizilimleri. a. Apelin 13, b. p(Glu) apelin-13, c. Apelin-17, d. Apelin 36. Gri renkli olanlar tüm apelin formlarında aynı olan aminoasitleri, açık gri renkli olanlar prepropeptit dizisinden farklı olan amino asitleri göstermektedir. (Çizim: Dr. Eda ARIK)

Apelin-APJ sistemi vücutta kalp, böbrek, beyin, akciğer, mide, bağırsak, iskelet kası gibi çeşitli organlarda yer almaktadır (54, 55, 56). Bu sistem sıvı homeostazisi, kardiyovasküler fonksiyon regülasyonu, sirkadyen ritmin düzenlenmesi, hücre proliferasyonu ve anjiyogenez gibi olaylarda görev almaktadır (3, 4). Apelin-APJ sistemine patogenezinde retinal anjiyogenezin rol oynadığı diyabetik retinopati, santral retinal ven tıkanıklığı, prematüre retinopatisi (ROP) gibi retinal hastalıklarda bakılmış olup YBMD ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Apelin-APJ sisteminin retinal hücreler üzerindeki etkisi henüz netleşmemiştir ve bu konuda daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

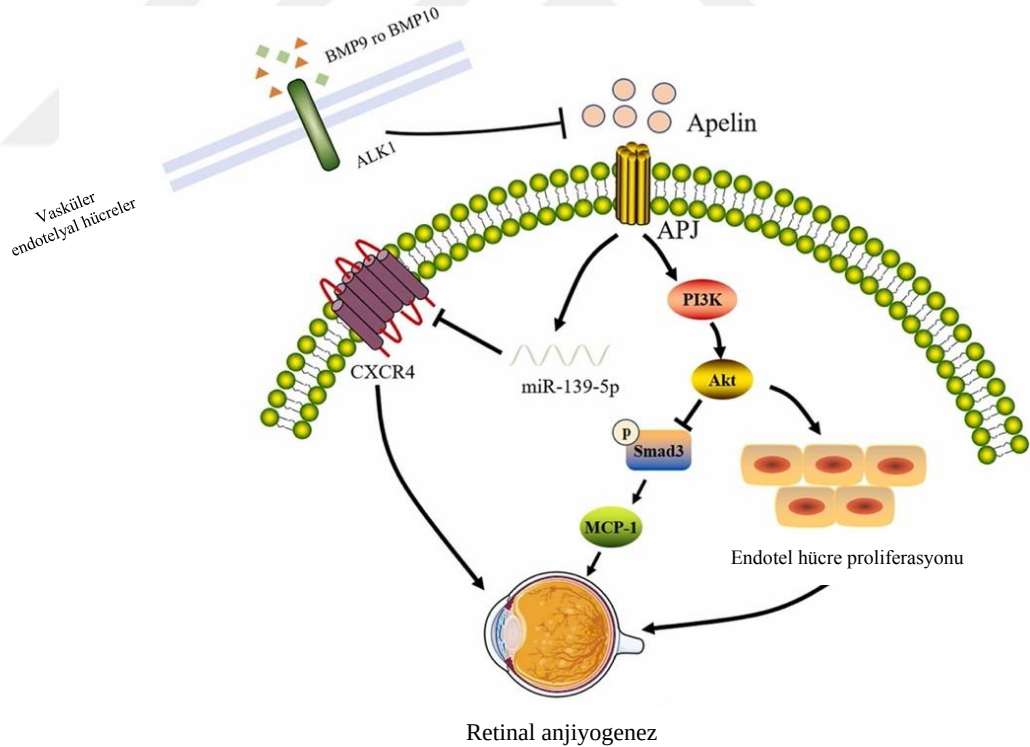
Apelin-APJ sistemi damar endotel hücrelerinde eksprese edilir. Apelin, APJ'ye bağlanarak endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonu ile vasküler tüp oluşumunu indükleyerek anjiyogenezi uyarır (57). Retinal endotelyal hücrelerin anormal proliferasyonu ise patolojik anjiyogeneze ve retinopatiye neden olur. Apelin ve APJ mRNA, koroid-retina endotel hücrelerinde (RF/6A) bulunur. İnsan umblikal ven endotel hücrelerinde (HUVEC) apelin mRNA bulunurken, APJ mRNA yok denecek kadar azdır. Apelinin, RF/6A hücrelerinde migrasyon, proliferasyon ve kapiller tüp formasyonu oluşumunu uyardığı, umblikal ven endotel hücrelerinde ise uyaramadığı görülmüştür. Bu durum apelinin in vitro anjiyogenezi APJ reseptörü aracılığıyla stimüle ettiğini göstermektedir. VEGF ise, migrasyon, proliferasyon ve kapiller tüp oluşumunu hem koroid-retina endotel hücreleri hem de umblikal ven endotel hücrelerinde uyarmaktadır. Apelin, umblikal ven endotel hücrelerinin proliferasyonunu sadece VEGF varlığında arttırabilmiştir.

Apelin, endotel hücrelerindeki Tie-2 tirozin kinaz reseptörü aktive olduğunda APJ reseptörüne bağlanarak vasküler damar çapının düzenlenmesinde rol oynayarak anjiyogenez sırasında oksijen ve besin talebine cevap verir (58). Aynı zamanda VEGF-VEGFR ve Ang1-Tie2 sistemi de kan damarı çapını düzenlemektedir.

Apelin-APJ sistemi, VEGF ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) ile birlikte retinal vaskülogenezde gereklidir (59). Vaskülogenezde fizyolojik hipoksi sonrası artan VEGF, apelin-APJ sistemini indüklemektedir. Apelin eksikliğinde, retinal vaskülarizasyonun erken postnatal dönemde geciktiği histolojik, immünohistokimyasal çalışmalar ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

(PCR) ile gösterilmiştir. Ancak postnatal 2. haftada bu gecikme eşitlenmiştir. Apelin eksikliğinde VEGF ve FGF-2'ye olan anjiyojenik yanıt azalmış olup apelin tedavisiyle kısmen geri gelmiştir. Ancak, apelinin anjiyogenezi tek başına indükleyemediği gösterilmiştir.

Apelin-APJ sistemi fosfotidilinositol 3 kinaz (PI3K)-Akt yoluyla endotel hücre proliferasyonunu uyararak retinal anjiyogenezi uyarır (30). BMP9/BMP10-Aktivin reseptörü benzeri kinaz 1(ALK1) sistemi apelin ekspresyonunu inhibe ederek retinal damar yoğunluğunu azaltır. Apelin-APJ sistemi miR-139-5p'yi uyararak endotelial CXCR4 ekspresyonunu düşürür bunun sonucunda retinal anjiyogenezi uyarılır. Apelinin azalması PI3K-Akt sinyalini inhibe ederek endotelial hücre proliferasyonunu azaltır. PI3K-Akt sinyalinin baskılanması Smad3 fosforilasyonuna neden olur ve bu da monosit kemotaktik protein 1(MCP-1)'i artırarak yeni oluşan damarların çevresinde perisit kümelenmesini artırır. Sonuçta patolojik retinal anjiyogenezi azaltır (Şekil 11).



Şekil 11. Apelin-APJ sistemi

PI3K: Fosfotidilinositol 3kinaz, Akt: AGC kinazlarının bir üyesi (protein kinaz B) MCP-1: Monosit kemoatraktan protein-1, BMP9/10: Kemik morfogenetik proteini 9/10, ALK1 Aktivin reseptörü benzeri kinaz 1, CXCR4: CXC kemokin reseptörü 4 (30)

YBMD patogenezinin sorumlu KNV tedavisinde apelin-APJ sisteminin rol oynayabileceği düşünölmektedir. Farelerde lazerle KNV oluşturularak yapılan bir çalışmada, APJ'nin seçici antagonisti olan bir antimalaryal ilaç olan amodiaquin denenmiş ve intravitreal amodiaquinin hem VEGF hem de apelin ile indüklenen KNV lezyon hacmini azaltarak güçlü anti-anjiyogenik özellik gösterdiği ve toksik olmadığı gösterilmiştir. Bu çalışma KNV tedavisinde apelin-APJ sisteminin inhibisyonunun tek başına veya anti-VEGF ile kombine kullanılabileceği ile ilgili çalışmalara öncü olmuştur (60).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi Etik Kurulunun 29.12.2020 tarih ve 2020-517 karar sayısı ile çalışma onayı alındıktan sonra fakültenin Göz Hastalıkları Kliniği'nde Şubat 2021 – Nisan 2023 yılları arasında yaş tip YBMD olup submakuler hemoraji gelişen hasta grubu ve YBMD'si bulunmayan kontrol grubu hastalar çalışmaya alındı.

3.1. KLİNİK MUAYENE YÖNTEMİ

Hastalara detaylı bir oftalmolojik muayene (Snellen ile en iyi düzeltilmiş görme keskinliği, biyomikroskopi, fundus muayenesi) ve multimodal görüntüleme (OKT, FFA, OKTA) yapıldı.

3.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Yeni tanı almış yaş tip YBMD hastalarında ya da yaş tip YBMD tanısı olup intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu ile tedavi gören ve son 4 aydır intravitreal enjeksiyon olmayan hastalarda gelişen SMH ± katarakt nedeniyle ameliyat ettiğimiz 19 olgu çalışmaya dahil edildi. YBMD'si olmayıp epiretinal membran (ERM) veya makuler delik ± katarakt tanısı alıp, opere edilen 17 olgu kontrol grubunu oluşturmak üzere çalışmaya alındı.

Çalışmaya alınan hastalar ile görüşülüp hastalık ve ameliyat hakkında ayrıntılı bilgi verildi ve onam belgesi alındı.

Submakuler hemorajisi olan 19 hastaya pars plana vitrektomi, subretinal tPA enjeksiyonu ve sıvı-hava değişimi, takiben hava-%14 C3F8 gaz değişimi yapıldı (**Şekil 12**). Peroperatif olarak 0,5 mg intravitreal bevacizumab (Altuzan) enjeksiyonu yapıldı (**Şekil 13**). Operasyon sonrası hastalara 5 gün yüzüstü pozisyon verildi.



Şekil 12. Pars plana vitrektomi sonrası 41 G ile subretinal tPA enjeksiyonu uygulaması



Şekil 13. İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonu uygulaması

Kontrol grubundaki 17 hastadan ERM tanısı olanlara pars plana vitrektomi sonrası ERM ve iç limitan membran (ILM) soyulması ameliyatı, maküler delik olan hastalara pars plana vitrektomi sonrası ILM soyulması ameliyatı yapıldı.

Çalışma ve kontrol grubunda preoperatif katarakt tanısı alanlara, kombine cerrahi (PPV+FAKO+GİL) uygulandı.

3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 50 yaş ve üzerinde olanlar
- Hasta grubunda, yaş tip YBMD olup submaküler hemoraji gelişenler
- En az 6 ay izlemi olan hastalar

3.2.2. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri

- 6 aydan kısa süreli izlenenler
- 4 ay öncesine kadar herhangi intravitreal anti-VEGF ajan ile tedavi uygulanmış olanlar
- Retinal vasküler hastalık (retinal arter tıkanıklığı, retinal ven tıkanıklığı, diyabetik retinopati) öyküsü olanlar
- Otoimmün hastalığı olanlar
- Glokomu olanlar
- Oküler travma hikayesi olanlar
- Üveit hikayesi olanlar
- Dejeneratif miyopisi olanlar
- Retina izlenmesini bozacak korneal opasitesi ya da matür kataraktı olanlar
- Vitre içi hemorajisi bulunanlar

3.3. ÖRNEKLERİN ELDE EDİLMESİ

3.3.1. Serum Örneğinin Elde Edilmesi

Ameliyat sabahı en az 8 saat açlığı takiben kan örnekleri antekübital venden kırmızı kapaklı tüpe alındı. Örnekler biyokimya ana bilim dalı laboratuvarında 4000 rpm (devirde) 10 dakika santrifüjlenerek serum kısımları ependorf tüplere aktarıldı. Barkodla etiketleme yapıldı. Örnekler çalışılacak tarihe kadar -80° C'lik dolapta muhafaza edildi.

Submakuler hemorajisi olan 19 hastaya pars plana vitrektomi sonrası 41 G ile subretinal tPA enjeksiyonu ve %14 C3F8 gaz enjeksiyonu yapıldı. Sonrasında 0,5 mg intravitreal bevacizumab enjeksiyonu yapıldı. 1 ay sonraki kontrol muayenesinde 19 hastanın 15'inden tekrar kan alınarak örnekler aynı şekilde çalışılacak tarihe kadar -80° C'lik dolapta muhafaza edildi. Kalan 4 kişiden ulaşım ve sağlık problemi nedeniyle kontrol numunesi alınamadı.

3.3.2. Vitreus Sıvısı Örneğinin Elde Edilmesi

Vitreus sıvısı örneği alma işlemi ameliyathanede gerçekleştirildi. Hastaların gözüne lokal anestezi damla olan proparakain HCl damlatıldı. %10'luk povidon iyot ile göz kapakları ve kirpikler temizlendikten sonra 22 G iğne ucu olan enjektör ile retrobulber anestezi yapıldı. Daha sonra tekrar %10'luk povidon iyot ile göz kapakları ve kirpikler temizlendi. Hastanın gözüne steril örtü yapıştırılarak steril spekulum takıldı. Göze topikal proparakain HCl damlatıldıktan sonra %5'lik povidon iyot damlatılıp 3 dakika beklendi ve daha sonra dengeli tuz solüsyonu (BSS) ile yıkandı. 3 adet 25 G trokar ile pars plana vitrektomi için göze girildi. İnfüzyon hattı, alt temporaldeki trokara göze sıvı gelmemesi için kapatılarak yerleştirildi. Steril okütomun aspirasyon ucuna 5 ml'lik enjektör takıldı ve okütom üst temporaldeki trokara yerleştirildi. Okütom çalıştırılarak yaklaşık 0,5 ml vitreus örneği enjektöre çekilerek alındı (**Şekil 14**). Örnek dışarıya alındıktan sonra infüzyon hattı açılarak göze sıvı girişi sağlandı ve okütom kendi aspirasyon hattına bağlanarak ameliyata devam edildi. Vitreus örneği dışarı alındıktan sonra steril ependorf tüpüne aktarılarak hastanın bilgilerini içeren barkod yapıştırıldı ve biyokimya bölümünde bulunan -80° C'deki derin dondurucuya muhafaza edilmek üzere götürüldü. Ameliyatların tamamında herhangi bir komplikasyon gözlenmedi.



Şekil 14. Pars plana vitrektomi öncesi steril okütom ile vitreus örneği alınması

3.4. ELISA YÖNTEMİYLE ÖRNEKLERİN ÇALIŞILMASI

Serum ve vitreus örneklerinin bulunduğu ependorf tüplerinin ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) testi yapılmaya başlamadan önce -80°C 'deki derin dondurucudan çıkarılıp oda sıcaklığına getirilerek çözünmesi sağlandı (**Şekil 15**). ELISA kiti de aynı şekilde oda sıcaklığına getirilerek bekletildi ve reaktiflerin kullanıma hazır olması sağlandı. ELISA kiti olarak ELK Biotechnology markasının ölçüm kiti (CA, ABD) kullanıldı. ELISA kitinin içinden çıkan protokole göre parametreler analiz edildi.



Şekil 15. Hasta grubu ve kontrol grubunun serum ve vitreus örneklerinin ependorf tüplerinde saklanması

ELISA kitinin içinden çıkan standart çözeltileri seyreltilerek plakalardaki kuyucuklara konularak hazırlandı. Devamında plakalardaki kuyucuklara serum ve vitreus örneklerinden Human APLN (Apelin) kiti için 50 µl, Human APLNR (Apelin reseptör), Human VEGF-A, Human VEGFR-2 kiti için 100 µl pipetaj yapılarak örnekler konuldu.

Human Apelin kiti için;

50 µl konjuge biyotin eklendi, 37°C’de 60 dakika inkübasyon, 3 kez yıkama, 100 µl streptavidin eklendi, 37°C’de 60 dakika inkübasyon, 5 kez yıkama, 90 µl Tetra metil benzidin (TMB) substrat solüsyonu eklendi, 37°C’de 20 dakika inkübasyon, 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 30 dk içinde uygun dalga boyunda (450 nm) okunmak üzere ELISA okuyucuya ulaştırıldı.

Apelin Reseptör, VEGF-A, VEGFR-2 /Flk-1 kiti için;

37°C’de 80 dakika inkübasyon, 3 kez yıkama, 100 µl biyotin antikoru eklendi, 37°C’de 50 dakika inkübasyon, 3 kez yıkama, 100 µl streptavidin eklendi, 37°C’de 50 dakika inkübasyon, 5 kez yıkama, 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi, 37°C’de 20 dakika inkübasyon, 50 µl stop solüsyonu eklendi ve 30 dk içerisinde uygun dalga boyunda (450 nm) okunmak üzere ELISA okuyucuya ulaştırıldı. Hasta ve kontrol grubunun serum ve vitreus sıvılarında Apelin, Apelin reseptör, VEGF-A, VEGFR-2/Flk-1 düzeyleri çalışılmıştır.

Performans verisi olarak analitik saptama alt sınırı (sensitivite), ölçüm aralığı ve standart sapma ifadesi olan varyasyon katsayısı değerlendirilmiştir. Kullanılan kitlerin performans kriterleri ölçülen parametreler için yeterli ve uygun bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Temin edilen ELISA kitlerinin performans verileri.

Analit	Ölçüm aralığı	Sensitivite	Intraassay varyasyon katsayısı	Interassay varyasyon katsayısı
Apelin	25-1600 pg/ml	8.25 pg/ml	< % 8	< % 10
Apelin Reseptör	15.63-1000 pg/ml	6.5 pg/ml	< % 8	< % 10
VEGF-A	15.63-1000 pg/ml	6.2 pg/ml	< % 8	< % 10
VEGFR-2	0.63-40 ng/ml	0.236 ng/ml	< % 8	< % 10

Kontrol ve hasta gruplarının serum ve vitreus örneklerinin ELISA plaka görünimleri **Şekil 16**’da ve spektrofotometrik ölçüm için stop solüsyonu eklendikten sonraki renklenmiş hali **Şekil 17**’de gösterilmiştir. Analizler **Şekil 18**’de gösterilen Biotek Epoch Microplate Spectrophotometer okuyucu cihazı kullanılarak 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm ile gerçekleştirilmiştir.



Şekil 16. Hasta ve kontrol grubu örneklerinin ELISA plaka görünüşleri



Şekil 17. Hasta ve kontrol grubu örneklerinin stop solüsyonu eklendikten sonraki ELISA plaka görünüşleri



Şekil 18. Biotek Epoch Microplate Spectrophotometer ELISA okuyucu cihazına plakanın yerleştirilmesi

Analizler gerçekleştirildikten sonra ELISA cihazına bağlı bilgisayar ekranındaki veriler kaydedildi. ELISA kitinde sunulan standartlardan elde edilen dalga boyları kullanılarak kalibrasyon grafiği çizildi ve kalibrasyon formülü hesaplandı. Bu formül kullanılarak absorbans cinsinden okunan hasta verilerinden konsantrasyon değerleri hesaplandı.

Human APLN, Human APLNR, Human VEGF-A değerleri pikogram/mililitre (pg/ml); Human VEGFR-2 değeri nanogram/mililitre (ng/ml) cinsinden ölçülmüştür.

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences; SPSS Inc., Chicago, IL) 22 paket programında değerlendirilmiştir. Çalışmada tanımlayıcı veriler kategorik verilerde n, % değerleri, sürekli verilerde ise ortalama±standart sapma (ort±SS) ve ortanca interquartile range (IQR) (25-75 persantil değerleri) değerleri ile gösterilmiştir. Gruplar arası kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında ki-kare analizi (Pearson ki-kare) uygulanmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile değerlendirilmiştir. İkili grupların karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren değişkenlerde student t testi, normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Mann Whitney U-testi kullanılmıştır. Tekrarlı

ölçümlerin karşılaştırılması için Wilcoxon analizi uygulanmıştır. Sürekli değişkenlerin birbiriyle ilişkisinin incelenmesinde Spearman korelasyon testinden yararlanılmıştır. Analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edilmiştir.

Bu araştırma Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün 2020/037 proje numarası ile desteklenmiştir.



4. BULGULAR

4.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ DEMOGRAFİK BULGULARI

Çalışmaya 19 hasta ve 17 kontrol olmak üzere toplam 36 kişi dahil edildi. Hasta grubunda bulunanların %57.9'u erkek ve %42.1'i kadın iken, kontrol grubunda bulunanların %58.8'i erkek ve %41.2'si ise kadındı. Gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı farklılık görülmedi ($p=0.955$). Hasta grubunda bulunanların yaş ortalaması 77.5 ± 8.5 yıl iken kontrol grubunda bulunanların yaş ortalaması 72.8 ± 7.4 yıldır ve gruplar arasında yaş açısından anlamlı fark görülmedi ($p=0.088$).

Tablo 3. Hasta ve kontrol grubunun demografik özelliklerinin karşılaştırılması

		Hasta (n=19)		Kontrol (n=17)		p değeri
		Sayı	%	Sayı	%	
Cinsiyet	Erkek	11	57.9	10	58.8	0.955*
	Kadın	8	42.1	7	41.2	
Yaş, ort $\pm$ SS		77.5 $\pm$ 8.5		72.8 $\pm$ 7.4		0.088**

*Ki-kare analizi, **Student t testi

4.2. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ SERUM VE VİTREUSTAKİ ANJİYOGENEZ BİYOBELİRTEÇLERİNİN BULGULARI

4.2.1. Apelin

Hasta grubunda bulunanların serum apelin düzeyi 1481.7 (1382.9-1537.4) pg/ml, kontrol grubunda bulunanların serum apelin düzeyi 1499.3 (1434.4-1555.3) pg/ml bulunmuş olup iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.531$).

Hasta grubunda bulunanların vitreus apelin düzeyi 555.1 (151.6-634.3) pg/ml, kontrol grubunda bulunanların vitreus apelin düzeyi 183.5 (100.0-253.4) pg/ml olup gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (**$p=0.03$**).

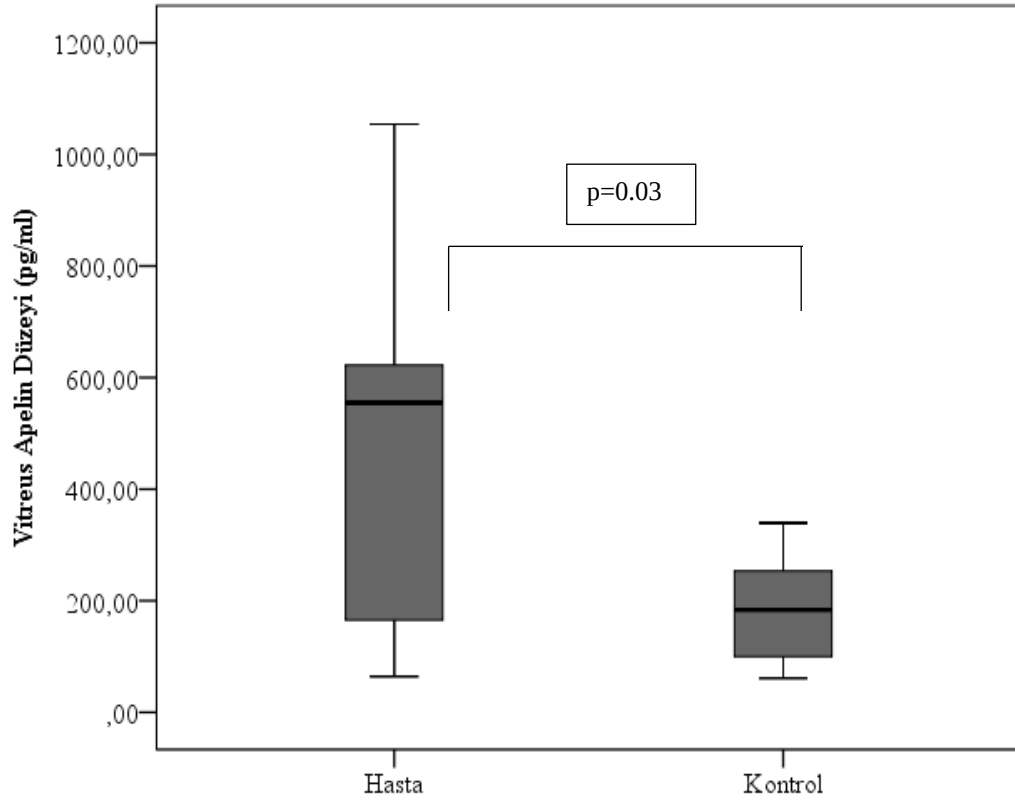
Vitreus apelin değeri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (**Tablo 4, Grafik 1**).

Tablo 4. Hasta ve kontrol grubunun apelin düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=19) ¹	Kontrol (n=17) ¹	p değeri*
Serum apelin düzeyi (pg/ml)	1481.7 (1382.9-1537.4)	1499.3 (1434.4-1555.3)	0.531
Vitreus apelin düzeyi (pg/ml)	555.1 (151.6-634.3)	183.5 (100.0-253.4)	0.03

¹Ortanca (IQR)

*Mann Whitney U testi



Grafik 1. Grupların vitreus apelin düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.2. Apelin Reseptörü

Hasta grubunda bulunanların serum apelin reseptör düzeyi 142.1 (109.9-179.0) pg/ml, kontrol grubunda bulunanların serum apelin reseptör düzeyi 111.8 (81.4-154.0) pg/ml bulunmuş olup iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.271$).

Hasta grubunda bulunanların vitreus apelin reseptör düzeyi 155.1 (134.4-248.4) pg/ml, kontrol grubunda bulunanların vitreus apelin reseptör düzeyi 148.7 (118.2-234.7) pg/ml olup iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.802$).

Serum ve vitreus apelin reseptör düzeyi açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (**Tablo 5**).

Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun apelin reseptör düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=19) ¹	Kontrol (n=17) ¹	p değeri*
Serum apelin reseptör düzeyi (pg/ml)	142.1 (109.9-179.0)	111.8 (81.4-154.0)	0.271
Vitreus apelin reseptör düzeyi (pg/ml)	155.1 (134.4-248.4)	148.7 (118.2-234.7)	0.802

¹Ortanca (IQR)

*Mann Whitney U testi

4.2.3. VEGF-A

Hasta grubu serum VEGF-A düzeyi 122.9 (88.4-149.9) pg/ml, kontrol grubu serum VEGF-A düzeyi 110.5 (47.7-157.1) pg/ml olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir ($p=0.346$).

Hasta grubu vitreus VEGF-A düzeyi 200.1 (74.8-251.5) pg/ml, kontrol grubu vitreus VEGF-A düzeyi 96.2 (40.0-166.1) pg/ml'ne göre yüksek olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcuttur (**$p=0,028$**).

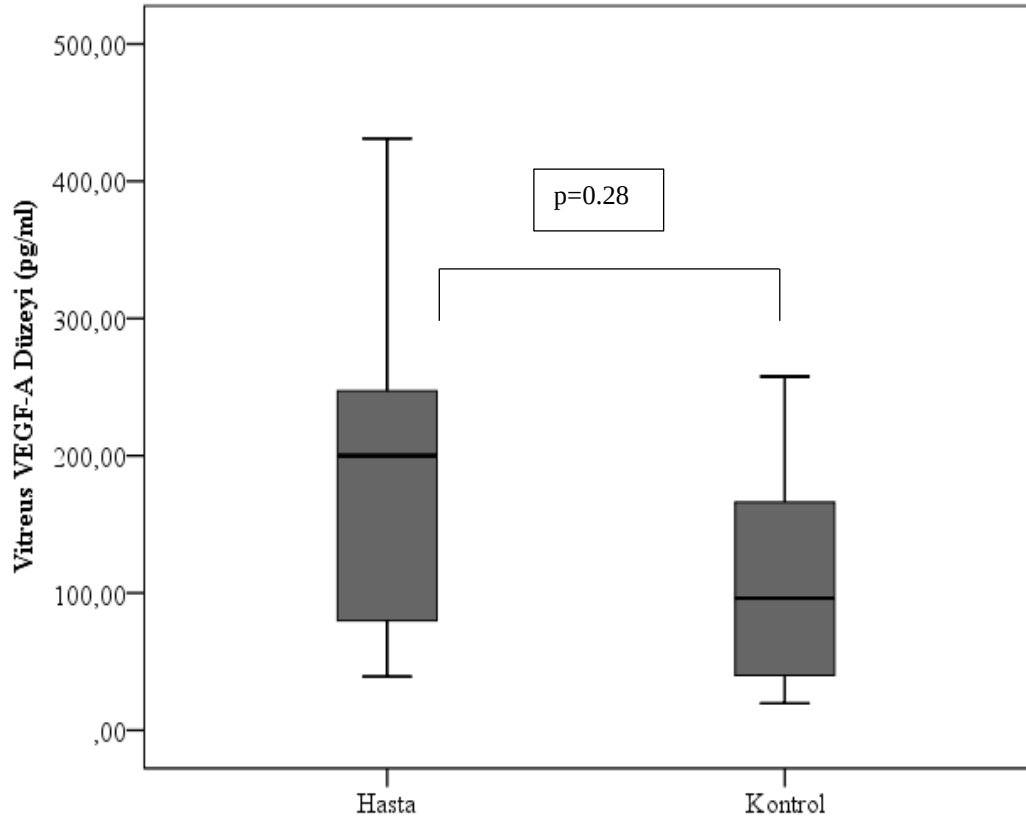
Vitreus VEGF-A değeri hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur (**Tablo 6, Grafik 2**).

Tablo 6. Hasta ve kontrol grubunun VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=19) ¹	Kontrol (n=17) ¹	p değeri*
Serum VEGF-A düzeyi (pg/ml)	122.9 (88.4-149.9)	110.5 (47.7-157.1)	0.346
Vitreus VEGF-A düzeyi (pg/ml)	200.1 (74.8-251.5)	96.2 (40.0-166.1)	0.028

¹Ortanca (IQR)

*Mann Whitney U testi



Grafik 2. Grupların vitreus VEGF-A düzeylerinin karşılaştırılması

4.2.4. VEGFR-2

Hasta grubunda bulunanların serum VEGFR-2 düzeyi 10.3 (2.7-14.2) ng/ml, kontrol grubunda bulunanların serum VEGFR-2 düzeyi 10.3 (3.2-12.0) ng/ml bulunmuş olup iki grup arasında anlamlı fark görülmemiştir (p=0.639).

Hasta grubunda bulunanların vitreus VEGFR-2 düzeyi 7.0 (2.6-12.3) ng/ml, kontrol grubunda bulunanların vitreus VEGFR-2 düzeyi 5.4 (3.3-7.4) ng/ml bulunmuş olup iki grup arasında anlamlı fark bulunamamıştır (p=0.452).

Serum ve vitreus VEGFR-2 değeri açısından hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (**Tablo 7**).

Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunun VEGFR-2 düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=19) ¹	Kontrol (n=17) ¹	p değeri*
Serum VEGFR-2 düzeyi (ng/ml)	10.3 (2.7-14.2)	10.3 (3.2-12.0)	0.639
Vitreus VEGFR-2 düzeyi (ng/ml)	7.0 (2.6-12.3)	5.4 (3.3-7.4)	0.452

¹Ortanca (IQR)

*Mann Whitney U testi

4.3. İNTRAVİTREAL ANTİ-VEGF ÖNCESİ VE SONRASI PARAMETRELER

Hasta grubundaki 15 kişinin intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi ve sonrası serum apelin, apelin reseptörü, VEGF-A, VEGFR-2 düzeyine bakılmıştır.

Serum apelin düzeyi, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi 1471.6 (1299.2-1537.4) pg/ml iken, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sonrası 1340.6 (1213.1-1474.1) pg/ml olup, serum apelin düzeyi tedavi öncesi düzeye göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (**p=0.041**) (**Tablo 8**).

Serum apelin reseptörü düzeyi, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi 142.1 (109.9-179.0) pg/ml iken, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sonrası 115.1 (89.0-195.7) pg/ml olup, serum apelin reseptörü düzeyi tedavi öncesi düzeye göre düşük bulunmuş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (p=0.496) (Tablo 8).

Serum VEGF-A düzeyi intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi 125.0 (106.2-163.1) pg/ml iken, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sonrası 75.3 (47.2-129.5) pg/ml olup, serum VEGF-A düzeyi tedavi öncesi düzeye göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur (**p=0.017**) (Tablo 8).

Serum VEGFR-2 düzeyi, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi 4.5 (2.5-14.1) ng/ml iken, intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu sonrası 12.5 (4.7-13.3) ng/ml olup, serum VEGFR-2 düzeyinde tedavi öncesi ve sonrası anlamlı fark bulunamamıştır (p=0.427) (Tablo 8).

Tablo 8. Hasta grubunda serum anjiyogenez belirteçleri düzeyinin intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu öncesi ve sonrası karşılaştırılması

	Öncesi(n=15) ¹	Sonrası(n=15) ¹	p değeri*
Apelin (pg/ml)	1471.6 (1299.2-1537.4)	1340.6 (1213.1-1474.1)	0.041
Apelin reseptörü (pg/ml)	142.1 (109.9-179.0)	115.1 (89.0-195.7)	0.496
VEGF-A (pg/mL)	125.0 (106.2-163.1)	75.3 (47.2-129.5)	0.017
VEGFR-2 (ng/mL)	4.5 (2.5-14.1)	12.5 (4.7-13.3)	0.427

¹Ortanca (IQR)

*Wilcoxon analizi

4.4. TÜM PARAMETRELERİN KORELASYONU

Yaş tip YBMD hastalarında yapılan korelasyon analizinde serum VEGF-A düzeyindeki artış ile serum VEGFR-2 düzeyindeki düşüş arasında anlamlı ilişki saptanmıştır (negatif korelasyon). Vitreus apelin düzeyi ile vitreus VEGFR-2 ve vitreus apelin reseptörü arasında negatif korelasyon görülmüştür.

Tablo 9. Yaş tip YBMD hastalarında korelasyon analizi

		Yaş	Serum VEGF-A	Vitreus VEGF-A	Serum Apelin	Vitreus Apelin	Serum VEGFR-2	Vitreus VEGFR-2	Serum Apelin reseptörü
Serum VEGF-A	r	-,072							
	p	,770							
Vitreus VEGF-A	r	-,072	,116						
	p	,770	,637						
Serum Apelin	r	-,129	-,427	,240					
	p	,598	,068	,323					
Vitreus Apelin	r	,169	-,414	-,037	,025				
	p	,490	,078	,881	,918				
Serum VEGFR-2	r	,056	-,557	-,108	,320	,176			
	p	,819	,013	,660	,181	,470			
Vitreus VEGFR-2	r	,048	,258	-,079	,242	-,526	,046		
	p	,844	,286	,748	,318	,021	,853		
Serum Apelin reseptörü	r	,009	-,307	,031	,232	-,114	,113	-,091	
	p	,970	,201	,901	,340	,642	,646	,710	
Vitreus Apelin reseptörü	r	,097	,263	,181	-,117	-,577	-,134	,207	,002
	p	,694	,276	,459	,634	,010	,584	,395	,994

5. TARTIŞMA

Çalışmamız, bildiğimiz kadarıyla YBMD hastalarında vitreusta apelin düzeyine bakılan ilk çalışmadır. Apelin ve YBMD ile ilgili yapılan çalışmalar çok sınırlıdır. Daha çok diyabetik retinopati, retinal ven tıkanıklığı ve prematüre retinopatisi hastalarında çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızda, patofizyolojisinde enflamatuvar süreçlerin rol oynadığı üveit, otoimmün hastalıklar, retinal vasküler hastalıklar, glom ve dejeneratif miyopisi olan hastalar, sitokin düzeylerini etkileyebilmeleri nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır. Çalışmamızın en önemli bulgusu, vitreus apelin düzeyinin yaş tip YBMD grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması ve serum apelin düzeyinin intravitreal bevacizumab enjeksiyonu sonrası anlamlı derecede azalmasıdır. Enjeksiyon sonrası vitreus değerlerine bakma olanağı olmadığından vitreustaki değişim hakkında bilgi edinilememiştir.

Hara ve arkadaşları apelin-APJ sisteminin KNV gelişiminde etkili olup olmadığını araştırmak için farelerde lazer fotokoagülasyonla KNV oluşturmuşlardır. KNV gelişen farelerde, RPE’de apelin ve APJ ekspresyonunun arttığını ve apelin ile APJ mRNA’nın artış derecesinin, VEGF ve VEGFR-2’ye göre daha fazla olduğunu göstermişlerdir (5). Aynı çalışmada, apelin eksik ve APJ eksik farelerde KNV lezyonlarının VEGF artışına rağmen azaldığı saptanmıştır. Bu iki durumu apelin-APJ sisteminin anjiyogenezde ve KNV gelişiminde rol alabileceği ve bunu VEGF sisteminden bağımsız gerçekleştirdiği şeklinde yorumlamışlardır. Benzer şekilde Kasai ve arkadaşları, apelin-APJ inhibisyonunun, anjiyogenezi inhibe ettiğini ve apelin eksikliği olan farelerde retinal hipoksi nedeniyle VEGF artışına rağmen anjiyogenezin inhibe olduğunu göstermişlerdir (61). Çalışmamızda vitreus apelin düzeyinin yaş tip YBMD hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması ve vitreus apelin reseptör düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubuna göre yüksek olması apelin-APJ sisteminin anjiyogenezde rol alabileceğini göstermektedir. Çalışmamızda, vitreus apelin ve VEGF-A düzeyleri arasında korelasyon olmaması bize apelin-APJ sisteminin VEGF sisteminden bağımsız olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda iki grup arasında serumda bakılan apelin düzeylerinde anlamlı fark bulunamamıştır. Serum apelin reseptörü hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı değildi. Apelinin hasta grubunda kontrol grubuna göre vitreusta anlamlı düzeyde yüksek olup serumda anlamlı bir fark tespit edilememesi ise, moleküllerin sistemik dolaşımdan ziyade lokal olarak vitreusta daha yüksek olduğunu göstermektedir. Serum apelin ve VEGF-A düzeyleri arasında korelasyon olmaması apelin-APJ sisteminin VEGF sisteminden bağımsız olabileceğini düşündürmektedir. Vural ve arkadaşları ise, YBMD hastalarında, apelinin biyolojik olarak aktif türevi olan apelin 13 molekülünün serumda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu ancak serum VEGF düzeyinin iki grup arasında farklı olmadığını bildirmişlerdir (62). Serum apelin 13 ve VEGF düzeyleri arasında korelasyon olmadığını göstererek apelin-APJ sisteminin VEGF sisteminden bağımsız olabileceği sonucuna ulaşmışlardır. Aynı çalışmada, hasta grubunda yaş tip ve kuru tip YBMD alt tipleri arasında serum apelin 13 düzeyleri arasında anlamlı fark bulamamışlardır ve bu durumu apelinin sadece KNV gelişiminde değil, YBMD patogenezinde yer alabileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Apelin-APJ sisteminin diyabetik retinopatide retinal anjiyogenezde rol oynadığı ve bunu VEGF bağımsız olarak gerçekleştirdiği sonucuna ulaşılan çalışmalardan Du ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, hastalar proliferatif diyabetik retinopati (PDR), non proliferatif diyabetik retinopati (NPDR) ve tip 2 diyabetes mellitusu olup diyabetik retinopatisi (T2DM) olmayan şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Bu çalışmada serum apelin 13 seviyesi, PDR grubunda T2DM'ye göre anlamlı derecede daha yüksek bulunmuş ancak NPDR ile T2DM arasında serum apelin 13 düzeyleri açısından anlamlı fark bulunmamıştır (63). Diğer çalışma ise, Tao ve arkadaşlarının PDR hastaları ve kontrol hastalarında plazma ve vitreusta apelin ve VEGF düzeylerine baktığı çalışmadır. Vitreus ve plazma VEGF düzeyi PDR grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (64). Aynı çalışmada vitreus apelin düzeyini PDR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulup plazma apelin düzeyinde ise iki grup arasında fark bulamamışlardır. Apelinin lokal olarak göz içi sıvıda artışının nedenini retinal vasküler endotelial hücrelerinin otokrin fonksiyon olarak lokal apelin üretmesiyle ilişkili olarak düşünmüşlerdir.

Serum ve vitreusta apelin ve VEGF arasında ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmada, intravitreal hemorajinin (İVH) apelin konsantrasyonunda etkili olup olmadığını anlamak için PDR olup İVH'si olan hastalar ile PDR olup İVH'si olmayan hastalara bakılmış, vitreus apelin konsantrasyonlarının iki grup arasında anlamlı fark göstermediğini bulmuşlardır.

Çalışmamızda bakılan diğer bir parametre ise VEGF-A düzeyidir. Vitreus VEGF-A düzeyi, hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Serum VEGF-A düzeyi ise, hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek olup istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. Çalışmamızda serum VEGF-A ve vitreus VEGF-A arasında korelasyon bulunamadı. Vural ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada çalışmamıza benzer şekilde serum VEGF düzeyinde YBMD ve kontrol grubu arasında anlamlı fark görülmemiştir (62). Sharma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, yaş tip YBMD hastalarında kontrol grubuna göre serum VEGF düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (20). Aynı çalışmada, yaş tip ve kuru tip YBMD hastalarında serum VEGF düzeylerinde anlamlı fark bulunamamışlar ve bu durumu VEGF'in sadece yaş tip YBMD değil kuru tip YBMD patogenezinde de etkili olduğu şeklinde yorumlamışlardır.

Çalışmamızda serum ve vitreusta VEGFR-2 düzeyi hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı değildi. Yaş tip YBMD hastalarında yapılan bir çalışmada, çalışmamızdakine benzer şekilde serum VEGF-A ve VEGFR-2 düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır (65). Ancak Sharma ve Liu'nun yaptığı çalışmalarda bu durumun aksine yaş tip YBMD hastalarında kontrol grubuna göre VEGFR-2 düzeyi yüksek bulunmuştur (66, 67). Sharma ve arkadaşları artan VEGFR-2 düzeyinin retinadaki hipoksi nedeni ile olduğunu düşünmüşlerdir. Liu ve arkadaşları ise anjiyogenezde rol oynadığını düşündüğü sCD146'nın VEGF ve VEGFR-2 ekspresyonunu artırdığını göstermiştir (67). Örnek ve arkadaşları yaş tip ve kuru tip YBMD hastalarında serum VEGFR-2 düzeyinin daha düşük olduğunu bildirmişler ve bu durumun VEGF'in VEGFR-2'ye bağlanarak VEGF reseptör kompleksleri oluşturmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlamışlardır (68).

Zhang ve arkadaşlarının prematüre retinopati (ROP) olan hastalarda yaptığı çalışmada, ROP membranlarında apelin mRNA, HIF-1 α mRNA ve VEGF mRNA düzeyleri idiyopatik gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Ancak, apelin mRNA ile VEGF mRNA arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (69). Bu çalışma apelinin retinal vaskülarizasyon gelişiminde HIF-1 α ile ilişkili fakat VEGF bağımsız olduğunu göstermiştir. Yapılan bir başka çalışmada ROP modeli oluşturulan bir çalışmada hipoksi koşullarında apelin ve APJ mRNA düzeylerinin arttığı ve patolojik anjiyogenez gelişiminde apelin-APJ sisteminin rol oynadığı gösterilmiştir (70).

Feng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ROP'lu bebeklerdeki plazma apelin düzeyi ROP olmayan bebeklere göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0.01$) (71). Plazma apelin düzeyinin fazlalığı daha ileri ROP evresiyle ilişkili bulunmuştur. Plazma VEGF düzeyi ise ROP'lu bebeklerde olmayanlara göre daha düşük bulunmuştur ($p=0.01$). Bu çalışmanın aksine Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, ROP grubunda apelin 13 seviyeleri kontrol grubuna göre düşük olup VEGF seviyeleri daha yüksek bulunmuştur (72).

Apelin ve VEGF arasında ilişki olduğuna dair çalışmalar da vardır. İn vitro yapılan bir çalışmada apelin 13'ün, VEGF seviyelerini artırıp neovaskülarizasyonu arttırabileceği ve ikisinin sinerjistik etki ile birbirini etkilediği ileri sürülmüştür (73). Hara ve arkadaşlarının umbilikal kord hücrelerinde in vitro olarak yaptığı çalışmada ise VEGF ekspresyonu apelin tarafından etkilenmemiştir (5). VEGF ise, umbilikal kord hücrelerindeki apelin ve APJ ekspresyonunu 24 saat içinde anlamlı olarak artırmıştır ($p=0.006$, $p=0.035$). Bu çalışmaların aksine farelerde yapılan hiperoksit retinopatisi modelinde, apelin reseptör antagonisti olan ML221'in VEGF ve VEGFR-2 seviyelerini etkilemeden anjiyogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir (74). Ayrıca, apelin reseptörlerinin anormal damarlarda normale göre daha yüksek oranda eksprese edildiği görülmüş, apelin reseptör antagonistlerinin seçici olarak patolojik retinal anjiyogenezi önlediği ve bunun ileride tedavi amacıyla kullanılabileceğini düşündürmüştür.

Çalışmamızda 15 hastada intravitreal bevacizumab enjeksiyonu öncesi ve sonrası serum parametreleri karşılaştırıldı. Serum apelin ve VEGF-A değerinin enjeksiyon öncesine göre anlamlı bir şekilde azalmış olduğu görüldü. Bu durum bize lokal tedavinin sistemik düzeyleri etkileyebileceğini ve intravitreal anti-VEGF enjeksiyonunun apelin düzeyine etki edebilmesinin, apelin ve VEGF arasında ilişki olabileceğini düşündürmektedir. Sharma ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, YBMD hastalarında intravitreal bevacizumab tedavisi sonrası serum VEGF düzeyi azalmış olup, bu fark anlamlı bulunamamıştır (20). Çalışmamızda serum apelin reseptörü ve VEGFR-2 düzeyleri enjeksiyon öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılıkta bulunmadı.

Avery ve arkadaşlarının PDR hastalarında intravitreal bevacizumab enjeksiyonu ile ilgili yaptıkları bir çalışmada bilateral PDR hastalarının bazılarında yalnızca bir göze intravitreal anti-VEGF enjeksiyonu yapıldığında, neovaskülarizasyonun her iki gözde de gerilediğini ve intravitreal bevacizumab enjeksiyonun plazma VEGF düzeyini ciddi olarak azalttığını göstermişlerdir (75). Bu durum, bevacizumabın sistemik etkinliğini göstermektedir. Zhao ve arkadaşlarının Rhesus maymunlarında lazer fotokoagülasyonla santral ven tıkanıklığı modeli oluşturduğu çalışmada ise, immunohistokimyasal olarak bakılan VEGF ve apelin düzeyi normal gözlerden daha yüksek bulunmuş olup, intravitreal bevacizumab enjeksiyonu sonrası VEGF düzeyinin düşüşü kadar olmasa da apelin düzeyinin de azaldığını göstermişlerdir (76). Çalışma apelin düzeyinin anti-VEGF ile azalabileceğini ancak bu azalmanın VEGF ile paralel olmadığını göstermektedir. Bunu apelinin VEGF dışında bağımsız bir yolla etki edebileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Qian ve arkadaşlarının PDR olan hastalarda yaptığı çalışmada, vitreus ve plazma VEGF düzeyi preoperatif intravitreal bevacizumab enjeksiyonu yapılan grupta enjeksiyon yapılmayan gruba göre anlamlı derecede düşük izlenmiştir (77). Aynı çalışmada vitreus ve plazma apelin düzeyi iki grup arasında anlamlı fark göstermemiştir. Bu durumu intravitreal bevacizumab enjeksiyonunun apelin düzeyine etkisi olmayabileceği ve apelinin PDR'de VEGF ile doğrudan bir ilişki içinde olmayabileceği şeklinde yorumlamışlardır. Aynı çalışmada iki grupta fibrovasküler membran örneklerinde immunohistokimyasal olarak apelin boyanmasına bakılmıştır.

İntravitreal bevacizumab enjeksiyonu olmayan grupta apelin yoğun bir şekilde boyanırken, enjeksiyon olan grupta daha az boyanmıştır. Bu durumu PDR’de fibrovasküler membran gelişiminde apelinin VEGF’ten bağımsız olarak etkili olabileceği şeklinde yorumlamışlardır.

Çalışmamızda örneklem sayısının azlığı çalışmanın kısıtlılıkları arasında yer almaktadır. Kliniğimizde yaş tip YBMD ile takipli hastalar düzenli olarak kontrollere ve tedavilerine gelmektedirler. Bu nedenle submaküler hemoraji gelişen hasta sayısı beklentimizin altında kalmış, çalışma grubu daha çok dış merkezlerden refere edilen hastalardan oluşmuştur. Hasta ve kontrol grubunda serum VEGF ve apelin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olabileceğini göstermek için daha geniş popülasyonla ve daha uzun süreli çalışmalara ihtiyaç olabilir. Bir başka kısıtlılık, yaş tip YBMD hastalarından tedavi sonrası vitreus örneğini etik nedenlerle alamamış olmamızdır. Submaküler hemoraji hastalarındaki sitokin düzeyi, yaş tip YBMD hastalarından farklı olabilir. Diğer bir kısıtlılık ise sitokin seviyelerinin birçok faktöre bağlı olarak değişebilmesidir. Çalışmamızda hastaların vücut kitle indeksi, insülin direnci, sigara ve alkol tüketimi değerlendirilmemiştir. Apelin serum düzeyinin obez ve insülin direnci yüksek olanlarda daha yüksek olduğu gösterilmiştir (78). Yine sitokin düzeylerini etkileyen astım, kalp yetmezliği, arteriyoskleroz, böbrek yetmezliği ve serebrovasküler olay öyküsü dışlama kriterlerimiz içinde değildi. Bir başka faktör ise, göz içi sitokinlerin saklanması ve ölçümü sırasındaki değişkenlerin sitokin düzeylerini etkileyebilmesidir. -80°C’de saklama süresi, analiz öncesi ideal saklama süresi ve göz içi sıvılar için ideal test yöntemi belirlenmeli ve standardize edilmelidir.

6. SONUÇLAR

Anjiyogenez, YBMD patofizyolojisinde önemli bir yere sahiptir. Yaş tip YBMD hastalarında vitreus apelin ve VEGF-A düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunması apelinin VEGF-A ile anjiyogenezde rol alabileceğini düşündürmektedir. Apelin ve VEGF-A'nın iki grup arasında vitreusta yüksek olup, serumda anlamlı farklı olmaması ise retinal vasküler endotelial hücrelerinin otokrin etkinliğini göstermektedir. Çalışmamızda serum ve vitreusta apelin ve VEGF-A düzeyleri arasında korelasyon bulunamaması, apelinin VEGF-A'dan bağımsız olarak etki edebileceğini desteklemektedir. İntravitreal bevacizumab enjeksiyonu sonrası serum VEGF-A ve apelinin anlamlı derecede düşük bulunması lokal tedavinin sistemik etkinliğini ve VEGF ile apelinin ilişki içinde olabileceğini düşündürmektedir. Apelin-APJ sistemi, YBMD tedavisinde intravitreal anti-VEGF tedavisine yetersiz yanıt veren KNV gelişimini inhibe etmek için potansiyel bir terapötik hedef olabilir. Bu konuyla ilgili daha geniş popülasyonla çalışmalar ve hayvan deneyleri gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Friedman DS, O'Colmain BJ, Muñoz B, Tomany SC, McCarty C, de Jong PT, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. *Arch Ophthalmol*. 2004;122(4):564-72.
2. Bird AC. Therapeutic targets in age-related macular disease. *J Clin Invest*. 2010;120(9):3033-41.
3. Galanth C, Hus-Citharel A, Li B, Llorens-Cortès C. Apelin in the control of body fluid homeostasis and cardiovascular functions. *Curr Pharm Des*. 2012;18(6):789-98.
4. Reaux A, Gallatz K, Palkovits M, Llorens-Cortes C. Distribution of apelin-synthesizing neurons in the adult rat brain. *Neuroscience*. 2002;113(3):653-62.
5. Hara C, Kasai A, Gomi F, Satooka T, Sakimoto S, Nakai K, et al. Laser-induced choroidal neovascularization in mice attenuated by deficiency in the apelin-APJ system. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(6):4321-9.
6. Deng Y, Qiao L, Du M, Qu C, Wan L, Li J, et al. Age-related macular degeneration: Epidemiology, genetics, pathophysiology, diagnosis, and targeted therapy. *Genes & diseases*. 2022;9(1):62-79.
7. Ferris FL, 3rd, Fine SL, Hyman L. Age-related macular degeneration and blindness due to neovascular maculopathy. *Arch Ophthalmol*. 1984;102(11):1640-2.
8. Causes of blindness and vision impairment in 2020 and trends over 30 years, and prevalence of avoidable blindness in relation to VISION 2020: the Right to Sight: an analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet Glob Health*. 2021;9(2):e144-e60.
9. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CMG, Klein R, Cheng C-Y, et al. Global prevalence of age-related macular degeneration and disease burden projection for 2020 and 2040: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Global Health*. 2014;2(2):e106-e16.
10. Heesterbeek TJ, Lorés-Motta L, Hoyng CB, Lechanteur YTE, den Hollander AI. Risk factors for progression of age-related macular degeneration. *Ophthalmic Physiol Opt*. 2020;40(2):140-70.
11. Ruan Y, Jiang S, Gericke A. Age-Related Macular Degeneration: Role of Oxidative Stress and Blood Vessels. *Int J Mol Sci*. 2021;22(3).

12. Nguyen KH, Patel BC, Tadi P. Anatomy, Head and Neck: Eye Retina. StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC.; 2023.
13. Coleman HR, Chan CC, Ferris FL, 3rd, Chew EY. Age-related macular degeneration. *Lancet*. 2008;372(9652):1835-45.
14. Bhutto I, Luttu G. Understanding age-related macular degeneration (AMD): relationships between the photoreceptor/retinal pigment epithelium/Bruch's membrane/choriocapillaris complex. *Mol Aspects Med*. 2012;33(4):295-317.
15. Rizzolo LJ. Barrier properties of cultured retinal pigment epithelium. *Exp Eye Res*. 2014;126:16-26.
16. Guymer RH, Campbell TG. Age-related macular degeneration. *Lancet*. 2023;401(10386):1459-72.
17. Fernandes AR, Zielińska A, Sanchez-Lopez E, Dos Santos T, Garcia ML, Silva AM, et al. Exudative versus Nonexudative Age-Related Macular Degeneration: Physiopathology and Treatment Options. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5).
18. Spaide RF, Jaffe GJ, Sarraf D, Freund KB, Sadda SR, Staurenghi G, et al. Consensus Nomenclature for Reporting Neovascular Age-Related Macular Degeneration Data: Consensus on Neovascular Age-Related Macular Degeneration Nomenclature Study Group. *Ophthalmology*. 2020;127(5):616-36.
19. Funk M, Karl D, Georgopoulos M, Benesch T, Sacu S, Polak K, et al. Neovascular age-related macular degeneration: intraocular cytokines and growth factors and the influence of therapy with ranibizumab. *Ophthalmology*. 2009;116(12):2393-9.
20. Sharma K, Sharma NK, Singh R, Anand A. Exploring the role of VEGF in Indian Age related macular degeneration. *Ann Neurosci*. 2015;22(4):232-7.
21. Mammadzada P, Corredoira PM, André H. The role of hypoxia-inducible factors in neovascular age-related macular degeneration: a gene therapy perspective. *Cell Mol Life Sci*. 2020;77(5):819-33.
22. Holmes K, Roberts OL, Thomas AM, Cross MJ. Vascular endothelial growth factor receptor-2: structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition. *Cell Signal*. 2007;19(10):2003-12.
23. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med*. 2003;9(6):669-76.

24. Grisanti S, Tatar O. The role of vascular endothelial growth factor and other endogenous interplayers in age-related macular degeneration. *Prog Retin Eye Res.* 2008;27(4):372-90.
25. Shibuya M. Vascular endothelial growth factor and its receptor system: physiological functions in angiogenesis and pathological roles in various diseases. *J Biochem.* 2013;153(1):13-9.
26. Papadopoulos N, Martin J, Ruan Q, Rafique A, Rosconi MP, Shi E, et al. Binding and neutralization of vascular endothelial growth factor (VEGF) and related ligands by VEGF Trap, ranibizumab and bevacizumab. *Angiogenesis.* 2012;15(2):171-85.
27. Anand-Apte B, Hollyfield JG, editors. *Developmental Anatomy of the Retinal and Choroidal Vasculature* 2010.
28. Hachana S, Fontaine O, Sapieha P, Lesk M, Couture R, Vaucher E. The effects of anti-VEGF and kinin B(1) receptor blockade on retinal inflammation in laser-induced choroidal neovascularization. *Br J Pharmacol.* 2020;177(9):1949-66.
29. Kim I, Moon SO, Kim SH, Kim HJ, Koh YS, Koh GY. Vascular endothelial growth factor expression of intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1), and E-selectin through nuclear factor-kappa B activation in endothelial cells. *J Biol Chem.* 2001;276(10):7614-20.
30. Luo J, Zhao Q, Li Z, Chen L. Multiple roles of apelin/APJ system in eye diseases. *Peptides.* 2022;152:170767.
31. Noma H, Funatsu H, Yamasaki M, Tsukamoto H, Mimura T, Sone T, et al. Aqueous humour levels of cytokines are correlated to vitreous levels and severity of macular oedema in branch retinal vein occlusion. *Eye (Lond).* 2008;22(1):42-8.
32. Zipfel PF. Complement and immune defense: from innate immunity to human diseases. *Immunol Lett.* 2009;126(1-2):1-7.
33. Maugeri A, Barchitta M, Mazzone MG, Giuliano F, Agodi A. Complement System and Age-Related Macular Degeneration: Implications of Gene-Environment Interaction for Preventive and Personalized Medicine. *Biomed Res Int.* 2018;2018:7532507.
34. Augustin HG, Koh GY, Thurston G, Alitalo K. Control of vascular morphogenesis and homeostasis through the angiopoietin-Tie system. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10(3):165-77.
35. Benest AV, Kruse K, Savant S, Thomas M, Laib AM, Loos EK, et al. Angiopoietin-2 is critical for cytokine-induced vascular leakage. *PLoS One.* 2013;8(8):e70459.

36. Ozaki H, Yu AY, Della N, Ozaki K, Luna JD, Yamada H, et al. Hypoxia inducible factor-1alpha is increased in ischemic retina: temporal and spatial correlation with VEGF expression. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40(1):182-9.
37. Stanescu-Segall D, Balta F, Jackson TL. Submacular hemorrhage in neovascular age-related macular degeneration: A synthesis of the literature. *Surv Ophthalmol.* 2016;61(1):18-32.
38. Glatt H, Machemer R. Experimental subretinal hemorrhage in rabbits. *Am J Ophthalmol.* 1982;94(6):762-73.
39. Thomas CJ, Mirza RG, Gill MK. Age-Related Macular Degeneration. *Med Clin North Am.* 2021;105(3):473-91.
40. Gess AJ, Fung AE, Rodriguez JG. Imaging in neovascular age-related macular degeneration. *Semin Ophthalmol.* 2011;26(3):225-33.
41. Gragoudas ES, Adamis AP, Cunningham Jr ET, Feinsod M, Guyer DR. Pegaptanib for neovascular age-related macular degeneration. *New england journal of medicine.* 2004;351(27):2805-16.
42. Ferrara N, Damico L, Shams N, Lowman H, Kim R. Development of ranibizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antigen binding fragment, as therapy for neovascular age-related macular degeneration. *Retina.* 2006;26(8):859-70.
43. Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov.* 2004;3(5):391-400.
44. Avery RL, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Ma'an AN, Giust MJ. Intravitreal bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 2006;113(3):363-72. e5.
45. Sarwar S, Clearfield E, Soliman MK, Sadiq MA, Baldwin AJ, Hanout M, et al. Aflibercept for neovascular age-related macular degeneration. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* 2016(2).
46. Tan CS, Ngo WK, Chay IW, Ting DS, Sadda SR. Neovascular Age-Related Macular Degeneration (nAMD): A Review of Emerging Treatment Options. *Clin Ophthalmol.* 2022;16:917-33.
47. Dugel PU, Koh A, Ogura Y, Jaffe GJ, Schmidt-Erfurth U, Brown DM, et al. HAWK and HARRIER: Phase 3, Multicenter, Randomized, Double-Masked Trials of Brolucizumab for Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology.* 2020;127(1):72-84.

48. Witkin AJ, Hahn P, Murray TG, Arevalo JF, Blinder KJ, Choudhry N, et al. Occlusive Retinal Vasculitis Following Intravitreal Brolucizumab. *J Vitreoretin Dis.* 2020;4(4):269-79.
49. Zarbin MA. Anti-VEGF Agents and the Risk of Arteriothrombotic Events. *Asia Pac J Ophthalmol (Phila).* 2018;7(1):63-7.
50. O'Dowd BF, Heiber M, Chan A, Heng HH, Tsui LC, Kennedy JL, et al. A human gene that shows identity with the gene encoding the angiotensin receptor is located on chromosome 11. *Gene.* 1993;136(1-2):355-60.
51. Tatemoto K, Hosoya M, Habata Y, Fujii R, Kakegawa T, Zou M-X, et al. Isolation and characterization of a novel endogenous peptide ligand for the human APJ receptor. *Biochemical and biophysical research communications.* 1998;251(2):471-6.
52. Lee DK, Cheng R, Nguyen T, Fan T, Kariyawasam AP, Liu Y, et al. Characterization of apelin, the ligand for the APJ receptor. *J Neurochem.* 2000;74(1):34-41.
53. Klein MJ, Davenport AP. Emerging roles of apelin in biology and medicine. *Pharmacol Ther.* 2005;107(2):198-211.
54. de Oliveira AA, Vergara A, Wang X, Vederas JC, Oudit GY. Apelin pathway in cardiovascular, kidney, and metabolic diseases: Therapeutic role of apelin analogs and apelin receptor agonists. *Peptides.* 2022;147:170697.
55. Ivanov MN, Stoyanov DS, Pavlov SP, Tonchev AB. Distribution, Function, and Expression of the Apelinergic System in the Healthy and Diseased Mammalian Brain. *Genes (Basel).* 2022;13(11).
56. Hosoya M, Kawamata Y, Fukusumi S, Fujii R, Habata Y, Hinuma S, et al. Molecular and functional characteristics of APJ. Tissue distribution of mRNA and interaction with the endogenous ligand apelin. *J Biol Chem.* 2000;275(28):21061-7.
57. Kasai A, Shintani N, Oda M, Kakuda M, Hashimoto H, Matsuda T, et al. Apelin is a novel angiogenic factor in retinal endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;325(2):395-400.
58. Kidoya H, Ueno M, Yamada Y, Mochizuki N, Nakata M, Yano T, et al. Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. *Embo j.* 2008;27(3):522-34.
59. Kasai A, Shintani N, Kato H, Matsuda S, Gomi F, Haba R, et al. Retardation of retinal vascular development in apelin-deficient mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008;28(10):1717-22.

60. McAnally D, Siddiquee K, Gomaa A, Szabo A, Vasile S, Maloney PR, et al. Repurposing antimalarial aminoquinolines and related compounds for treatment of retinal neovascularization. *PLoS One*. 2018;13(9):e0202436.
61. Kasai A, Ishimaru Y, Kinjo T, Satooka T, Matsumoto N, Yoshioka Y, et al. Apelin is a crucial factor for hypoxia-induced retinal angiogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(11):2182-7.
62. Vural E, Hazar L, Karakukçu C, Arslan ME, Sirem MR, Sirakaya E, et al. Apelin-13: A Promising Biomarker for Age-Related Macular Degeneration? *Ophthalmologica*. 2021;244(2):102-9.
63. Du JH, Li X, Li R, Xu L, Ma RR, Liu SF, et al. Elevation of serum apelin-13 associated with proliferative diabetic retinopathy in type 2 diabetic patients. *Int J Ophthalmol*. 2014;7(6):968-73.
64. Tao Y, Lu Q, Jiang YR, Qian J, Wang JY, Gao L, et al. Apelin in plasma and vitreous and in fibrovascular retinal membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(8):4237-42.
65. Vilkeviciute A, Cebatoriene D, Kriauciuniene L, Liutkeviciene R. VEGFA Haplotype and VEGF-A and VEGF-R2 Protein Associations with Exudative Age-Related Macular Degeneration. *Cells*. 2022;11(6).
66. Sharma NK, Gupta A, Prabhakar S, Singh R, Sharma S, Anand A. Single nucleotide polymorphism and serum levels of VEGFR2 are associated with age related macular degeneration. *Curr Neurovasc Res*. 2012;9(4):256-65.
67. Liu YY, Bin Y, Wang X, Peng H. Increased serum levels of soluble CD146 and vascular endothelial growth factor receptor 2 in patients with exudative age-related macular degeneration. *Int J Ophthalmol*. 2019;12(3):457-63.
68. Örnek N, Örnek K, Aydin S, Yilmaz M, Ölmez Y. Serum vascular endothelial growth factor receptor-2 and adropin levels in age-related macular degeneration. *Int J Ophthalmol*. 2016;9(4):556-60.
69. Zhang Y, Jiang YR, Lu Q, Yin H, Tao Y. Apelin in epiretinal fibrovascular membranes of patients with retinopathy of prematurity and the changes after intravitreal bevacizumab. *Retina*. 2013;33(3):613-20.
70. Feng J, Chen L, Jiang Y, Tao Y. The Role of Apelin/APJ in a Mouse Model of Oxygen-induced Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2020;61(8):47.

71. Feng J, Zhou Y, Zhang X, Jiang Y. Vascular endothelial growth factor and apelin in plasma of patients with retinopathy of prematurity. *Acta Ophthalmol.* 2017;95(6):e514-e5.
72. Zhang Y, Feng J, Shao S, Mu Q, Liu J, Zeng C, et al. Correlation between apelin and VEGF levels in retinopathy of prematurity: a matched case-control study. *BMC Ophthalmol.* 2022;22(1):342.
73. Hou J, Zhong T, Guo T, Miao C, Zhou C, Long H, et al. Apelin promotes mesenchymal stem cells survival and vascularization under hypoxic-ischemic condition in vitro involving the upregulation of vascular endothelial growth factor. *Exp Mol Pathol.* 2017;102(2):203-9.
74. Ishimaru Y, Shibagaki F, Yamamuro A, Yoshioka Y, Maeda S. An apelin receptor antagonist prevents pathological retinal angiogenesis with ischemic retinopathy in mice. *Sci Rep.* 2017;7(1):15062.
75. Avery RL, Pearlman J, Pieramici DJ, Rabena MD, Castellarin AA, Nasir MA, et al. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of proliferative diabetic retinopathy. *Ophthalmology.* 2006;113(10):1695.e1-15.
76. Zhao T, Lu Q, Tao Y, Liang XY, Wang K, Jiang YR. Effects of apelin and vascular endothelial growth factor on central retinal vein occlusion in monkey eyes intravitreally injected with bevacizumab: a preliminary study. *Mol Vis.* 2011;17:1044-55.
77. Qian J, Lu Q, Tao Y, Jiang YR. Vitreous and plasma concentrations of apelin and vascular endothelial growth factor after intravitreal bevacizumab in eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Retina.* 2011;31(1):161-8.
78. Boucher J, Masri B, Daviaud D, Gesta S, Guigné C, Mazzucotelli A, et al. Apelin, a newly identified adipokine up-regulated by insulin and obesity. *Endocrinology.* 2005;146(4):1764-71.

9. EKLER

EK 1. ETİK KURUL ONAYI



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 46418926

29.11.2020

Konu : Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Kararları

ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

TOPLANTI TARİHİ : 29 ARALIK 2020 SALI
TOPLANTI SAATİ : 11:00 (Covid-19 tedbirleri kapsamında toplantı online yapılmıştır.)
TOPLANTI NO : 2020/21
PROJE/ KARAR NO : 2020-517 (Değerlendirilme Tarihi: 29.12.2020)

Üniversitemiz Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalında görevli Prof.Dr. Ali Hakan DURUKAN'ın sorumlu araştırmacı olduğu, Dr. Duygu AKPINAR, Prof. Dr. Taner ÖZGÜRTAŞ, Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem YÜCEL'in yardımcı araştırmacı oldukları, 2020/517 kayıt numaralı, "Yaşa Bağlı Yaş Tıp Maküla Dejenerasyonunda Kan ve Oküler Sıvılarda Apelin Düzeylerinin Tespiti ve Anti-VEGF Tedavinin Anjiyogenez Belirteçleri Üzerine Etkisi" başlıklı uzmanlık tezi proje önerisi, araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, etik açıdan uygun bulunmuştur. Rica ederim.

S.NO	AD SOYAD VE UZMANLIK ALANI	İMZA
1	Prof. Dr. Ahmet COŞAR (Anestezi AD Bşk.lığı) Etik Kurul Başkanı	
2	Prof. Dr. Alper GÖZÜBÜYÜK (Göğüs Cerr. AD Bşk.lığı) Etik Kurul Başkanı Yardımcısı	
3	Prof. Dr. Selahattin BEDİR(Üroloji AD Bşk.lığı)	
4	Prof. Dr. Levent KENAR(KBRN, Enstitü)	
5	Prof. Dr. Yusuf İZCİ (Beyin ve Sinir Cerr. AD.Bşk.lığı)	
6	Prof. Dr. Ali Kağan COŞKUN(Genel Cerr. AD Bşk.lığı)	
7	Prof. Dr. Suat DOĞANCI(Kalp Damar Cerr. AD Bşk.lığı)	
8	Prof. Dr. Fulya TOKSOY TOPÇU (Diş Hekimliği Fakültesi Restoratif Diş Tedavisi AD.Bşk.lığı)	
9	Prof. Dr. Ayten TÜRKKANI(Histoloji AD.Bşk.lığı)	
10	Prof. Dr. Gülten GÜVENÇ(Hemşirelik Fakültesi)	
11	Prof. Dr. Dilek YILDIZ (Hemşirelik Fakültesi) Sekreter	
12	Doç. Dr. Cantürk TAŞÇI(Göğüs Hast. AD Bşk.lığı)	
13	Dr.Öğr.Üyesi Mustafa GÜNEY(Mikrobiyoloji AD Bşk.lığı)	

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu
Etik-Ankara Telefon: 0 (312) 304 6135