

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ



GÖZ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



RETİKÜLER PSÖDODRUSENİN EŞLİK ETTİĞİ KURU TIP YBMD
OLGULARINDA RETİNAL VE KOROİDAL DEĞİŞİKLİKLERİN, OKT VE
OKTA İLE DEĞERLENDİRİLMESİ VE ARMS2 POLİMORFİZMİ İLE
İLİŞKİSİNİN BELİRLENMESİ

Dr. Onur FURUNDAOTURAN

Tez Danışmanı:
Prof. Dr. Filiz AFRASHİ

İzmir

2022

Önsöz

Oftalmoloji alanında gerek cerrahi açıdan gerekse deneyimi ve bilgisiyle kattıkları yanında; hasta yaklaşımı ve insani yönüyle her daim yanımda olan saygıdeğer öğretim üyem, sayın bölüm başkanımız ve tez danışmanım olduğu için kendimi şanslı hissettiğim *Prof.Dr. Filiz Afrashi*'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tüm tez ve asistanlık sürecim boyunca desteğini eksik etmeyen öğretim üyelerim *Prof. Dr. Cezmi Akkın, Prof. Dr. Jale Menteş, Prof. Dr. Halil Ateş, Prof. Dr. Önder Üretmen, Doç. Dr. Melis Palamar, Doç. Dr. Suzan Güven Yılmaz, Doç. Dr. Elif Demirkılınc Biler, Doç. Dr. Özlem Barut Selver, Doç. Dr. Serhad Nalçacı*; uzmanlarım *Uzm.Dr. Cumali Değirmenci* ve *Uzm.Dr. Mine Esen Barış* ve asistan arkadaşlarıma ayrıca teşekkür etmek isterim. Bu zorlu süreçte hep yanımda olup hem en değerli iş arkadaşım hem de sevgili eşim olan *Dr. İlayda Korkmaz*'a ve değerli aileme;

Çalışmanın genetik bölümünün planlamasında ve yürütülmesinde yardımlarından ötürü sayın *Prof. Dr. Hüseyin Onay*'a ve EÜTF Tıbbi Genetik ABD'na,

Çalışmaktan ve bir üyesi olmaktan gurur duyduğum Ege Üniversitesi ailesine ve cerrahi branşların bir ekip işi olduğunu bana öğreten ve desteklerini esirgemeyen tüm sağlık personelimize teşekkür ederim.

Onur Furundaoturan

2022, İZMİR

Kısaltmalar

YBMD: Yaşa bağlı makula dejenerasyonu

RPE: Retina pigment epiteli

KNV: Koroid neovaskularizasyonu

AREDS: Yaşa bağlı Makulopati Çalışma Grubu (Age Related Eye Disease Study)

µm: Mikrometre

nm: Nanometre

OKT: Optik koherens tomografi

OKTA: Optik koherens tomografi anjiografi

PED: Pigment epitel dekolmanı

FFA: Fundus floresein anjiografi

RPD: Retiküler psödodrusen

FOF: Fundus otofloresans

IR: İnfrared

IS/OS: İç segment/dış segment

EZ: Elipsoid zon

NIR: Near-infrared

GA: Geografik atrofi

RAP: Retinal anjiomatöz proliferasyon

PCV: Polipoidal koroidal vaskülopati

CFH: Kompleman faktör H

ARMS2: Age-related maculopathy susceptibility 2

EİDGK: En iyi düzeltilmiş görme keskinliği

GİB: Göz içi basıncı

ETDRS: Early Treatment Diabetic Retinopathy Study

Tablo Listesi

Tablo 1: Çeşitli görüntüleme metotlarında RPD saptanabilme sensitivite ve spesifiteleri karşılaştırması.

Tablo 2: Literatürde yaşa bağlı makula dejenerasyonunda çalışılmış çeşitli riskli genetik varyasyonlar

Tablo 3: PCR reaksiyonu bileşen oranları

Tablo 4: Ampifikasyon İçin PCR Koşulları

Tablo 5: MiniSeq kütüphane hazırlığı PCR protokolü

Tablo 6: Grupların yaş ortalamaları ve kadın erkek oranları

Tablo 7: Tüm gruplardaki OKTA verileri; ortalama, standart sapma ve minimum-maksimum değerleri

Tablo 8: Gruplardaki Image j programı ile hesaplanan luminal alan, koroidal vasküler indeks ve subfoveal koroidal kalınlık

Tablo 9: Gruplardaki varyant dağılımı, sayı ve yüzde olarak

Tablo 10: Gruplardaki varyant dağılımı, kadın-erkek. (GG: Risk alleli bulunmayan hastaların oranı, GT: T risk allelini heterozigot olarak içeren hastaların oranı, TT: T risk allelini homozigot olarak içeren hasta grubu)

Tablo 11: Gruplardaki T risk allel sıklıkları

Tablo 12: Literatürdeki çeşitli çalışmalarda ve mevcut 2 Türk popülasyonu çalışmasında ARMS2 rs10490924 risk varyasyonlarının dağılımı

Özet

Giriş ve Amaç

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) poligenik ve multifaktöriyel bir hastalıktır. Hastalığın ortaya çıkmasında ve prognozunun tayin edilmesinde birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bu risk faktörlerinden biri retiküler psödodrusen (RPD)'dir. YBMD patofizyolojisinde genetiğin rolü güncel bir araştırma konusu olup, tek nükleotid varyasyonları hastalık tutulumuyla ilişkili bulunmuştur. Bu çalışmada RPD saptanan ve RPD'nin eşlik etmediği kuru tip YBMD hastalarında ARMS2 rs10490924 varyasyonu sıklığının belirlenmesi ve sonuçların sağlıklı bireylerle karşılaştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca multimodal görüntüleme bulgularının değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Yöntem

Bu çalışma Ocak 2020- Ocak 2022 tarihleri arasında, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları AD Retina biriminde yürütüldü. Polikliniğe başvuran, RPD'nin eşlik ettiği 50 kuru tip YBMD hastası (Grup 1), RPD saptanmayan 50 kuru tip YBMD hastası ve yaş-cinsiyet uyumlu 50 sağlıklı gönüllü (Grup 3) çalışmaya dahil edildi. Tüm katılımcıların detaylı oftalmolojik muayeneleri yanında fundus otoflöresans (FOF), OKT, OKTA ve EDI mod OKT görüntülemeleri yapıldı. RPD varlığı FOF, OKT ve infrared görüntüler kullanılarak değerlendirildi, 5 ve üzeri lezyon varlığı RPD açısından pozitif kabul edildi. Varyasyon sıklığının araştırılması için periferik kan örneklemeden elde edilen genomik DNA izole edildi. Yeni jenerasyon sekanslama kullanılarak rs10490924 varyantı değerlendirildi ve riskli T allel sıklıkları hesaplandı. OKTA ile vasküler dansite, flow alanı, foveal avasküler zon (FAZ); EDI mod OKT görüntülerinden, subfoveal koroidal kalınlık ölçümleri ve Image J (National Institutes of Health, Bethesda) programı kullanılarak koroidal vasküler indeks (KVİ) hesaplaması gerçekleştirildi. Elde edilen veriler SPSS paket programı kullanılarak gruplar arasında karşılaştırıldı.

Bulgular

Ortalama yaş Grup 1, 2 ve 3 için sırasıyla $73,6 \pm 7,4$ (53, 90), $70,7 \pm 5,7$ (59, 85), $66,6 \pm 12$ (53, 80) idi. Koroid kalınlığı ve retinal kalınlık Grup 1'de Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0,0001$, $p < 0,045$). FAZ değerlerinin gruplar arasında anlamlı farklılık oluşturmadığı saptandı ($p > 0,05$). Yüzeysel ve derin vasküler dansite, foveal kalınlık, flow alanı ve koroidal kalınlık açısından Grup 1 ve 2 arasında anlamlı farklılık saptanmazken ($p > 0,05$); Grup 1 ve 3 hastalar karşılaştırıldığında Grup 1 hastalarda

tüm parametreler daha düşük; Grup 2 ve Grup 3 karşılaştırıldığında Grup 2 hastalarda tüm parametreler daha düşük saptandı (tüm parametrelerde p değeri 0,001 idi). EDI mod OKT görüntülerinden hesaplanan KVI, Grup 1 hastalarda Grup 2 ve 3'e göre anlamlı daha düşük hesaplandı (p 0,012, 0,023) ARMS2 rs10490924 polimorfizmi açısından T risk alleline göre gruplara bakıldığında Grup 1'de %42 (21) hasta heterozigot, %30 (15) hasta homozigot saptandı ve %28 (14) hastada ise risk alleli görülmedi. Grup 2'de %44 (22) hasta heterozigot, %17 (8) hasta homozigot saptandı ve %39(20) hastada risk alleli görülmedi. Sağlıklı kontrol grubu olan Grup 3'te ise %33 (16) katılımcı heterozigot, %2(1) katılımcı homozigot olarak saptandı ve %65 (33) katılımcıda risk alleli görülmedi. Grup 1'de polimorfizm saptanan katılımcı sayısının, diğer iki gruptan anlamlı daha fazla olduğu; Grup 2'de polimorfizm saptanan katılımcıların Grup 3'ten anlamlı daha fazla olduğu görüldü (Sırasıyla p değerleri; 0,02, 0,04; 0,01). Tüm gruplardaki riskli allel sıklığı/frekansı hesaplandı. Sırasıyla T risk allel sıklıkları Grup 1, 2 ve 3'te %51, %38, %18 idi. RPD bulunan kuru tip YBMD hastalarından oluşan Grup 1'de T risk alleli sıklığı anlamlı daha yüksek saptandı. (p 0,02)

Sonuç

Bu çalışma ile ARMS2 rs10490924 varyasyonun kuru tip YBMD hastalarında RPD olan ve olmayan hasta gruplarında anlamlı olarak daha yüksek frekansta olduğu görüldü. Ayrıca RPD bulunan YBMD hastalarında bulunmayan YBMD hastalarına göre yine daha sık bulunduğu gösterildi. OKTA verilerinden elde edilen vasküler dansite ve flow ölçümlerinin RPD bulunan YBMD hastalarında, sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük olduğu görüldü. Koroidal vasküler komponentin ise RPD hastalarında daha düşük olduğu saptandı.

Abstract

Introduction and Aim

Age-related macular degeneration (AMD) is a polygenic and multifactorial disease. Many risk factors have been defined in the pathophysiology of the disease and to determine the prognosis. One of these risk factors is reticular pseudodrusen (RPD). The role of genetics in the pathophysiology of AMD is a current research topic, and single nucleotide variations are seemed to be associated with disease presence. In this study, it was aimed to determine the frequency of ARMS2 rs10490924 variation in patients with dry type AMD with and without RPD and to compare the results with healthy individuals. In addition, it was aimed to evaluate the multimodal imaging findings.

Method

This study was carried out between January 2020 and January 2022, at Ege University Faculty of Medicine, Department of Ophthalmology, Retina unit. Fifty dry-type AMD patients with RPD (Group 1), 50 dry-type AMD patients without RPD, and 50 age-sex-matched healthy volunteers (Group 3) who applied to the outpatient clinic were included in the study. In addition to detailed ophthalmological examinations of all participants, fundus autofluorescence (FOF), OCT, OCTA and EDI mode OCT imaging were performed. The presence of RPD was evaluated using FAF, OCT and infrared images, and the presence of 5 or more lesions was considered positive for RPD. To investigate the frequency of variation, genomic DNA was isolated from peripheral blood sample. The rs10490924 variant was evaluated using next-generation sequencing, and the risky T allele frequencies were calculated. From OCTA images vascular density, flow area, foveal avascular zone (FAZ) were evaluated. From EDI mode OCT images subfoveal choroidal thickness measurements and choroidal vascular index (CVI) calculation were performed using Image J (National Institutes of Health, Bethesda) program. The obtained data were compared between the groups using the SPSS package program.

Results

The mean age was 73.6 ± 7.4 (53.90), 70.7 ± 5.7 (59.85), 66.6 ± 12 (53.80) years for Groups 1, 2 and 3, respectively. Choroidal thickness and retinal thickness were found to be statistically significantly lower in Group 1 compared to Group 2 (p 0.0001, p 0.045). No significant difference was found between the groups related to FAZ (p >0.05). While there was no

significant difference between Groups 1 and 2 in terms of superficial and deep vascular density, foveal thickness, flow area and choroidal thickness ($p > 0.05$); when Group 1 and 3 patients were compared, all parameters were lower in Group 1 patients; when Group 2 and Group 3 were compared, all parameters were found to be lower in Group 2 patients (p value was 0.001 for all parameters). CVI calculated from EDI mode OCT images was significantly lower in Group 1 patients compared to Groups 2 and 3 (p 0.012, 0.023). Considering the groups according to the ARMS2 rs10490924 polymorphism T risk allele, 42% (21) patients were heterozygous, 30% (15) patients were homozygous in Group 1, and no risk allele was observed in 28% (14) patients. In Group 2, 44% (22) patients were heterozygous, 17% (8) patients were homozygous, and no risk allele was observed in 39% (20) patients. In Group 3, 33% (16) participants were heterozygous, 2% (1) participants were homozygous, and no risk allele was observed in 65% (33) participants. The number of participants with polymorphism in Group 1 was significantly higher than the other two groups; also participants with polymorphism in Group 2 were significantly higher than those in Group 3 (P values; 0.02, 0.04; 0.01, respectively). The risky allele frequency in all groups was calculated. T risk allele frequencies were 51%, 38%, and 18% in Groups 1, 2, and 3, respectively. The frequency of T risk allele was found to be significantly higher in Group 1 (p 0.02).

Conclusion

In this study, ARMS2 rs10490924 variation was found to be at a significantly higher frequency in dry AMD patients with and without RPD. In addition, it has been shown that it is more common in AMD patients with RPD than in AMD patients without RPD. Vascular density and flow measurements obtained from OCTA data were found to be lower in AMD patients with RPD than in the healthy control group. The choroidal vascular component was found to be lower in RPD patients.

İçindekiler

Giriş	9
Genel Bilgiler ve Makula Organizasyonu	10
Normal Retinal Anatomi	10
Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD)	14
Retinal Yaşlanma	14
YBMD Patofizyoloji	17
Tanı, Sınıflama ve Semptomlar	22
Prevalans ve Risk Faktörleri	23
Retiküler Psödodrusen	24
Görüntüleme Özellikleri	25
Epidemiyoloji ve Klinik İlişki	33
Erken YBMD’de RPD Prevalansı	34
Neovasküler YBMD’de RPD Prevalansı	34
Sınıflandırma	35
RPD’nin Diğer Birliktelikleri	36
Çevresel ve Sistemik Faktörlerle RPD İlişkisi	38
Tedavi ve Hastalık Progresyonunda RPD’nin Etkisi	39
Genetik YBMD ve Retiküler Psödodrusen İlişkisi	40
Gereç ve Yöntem	44
Dahil edilme kriterleri	44
Dışlanma kriterleri	45
Görüntüleme	45
Genetik çalışma	47
Amplifiye Edilen DNA Bölgenin Değerlendirilmesi	49
PCR Ürünlerinin Pürifikasyon İşlemi	49
İstatistik	53
Bulgular	54
Tartışma	59
Kaynaklar	67

Giriş

Retina özel anatomik yapısıyla görme duyusunun sağlanmasında en önemli dokudur. Normal retinal anatominin bozulması ve fizyolojik yaşlanma süreçlerinin abartılı bir hali olan yaşa bağlı makula dejenerasyonu hastalığı, özellikle yaşlanan nüfusta önemli bir körlük sebebidir. Bu hastalığın tanısında ve takibinde optik koherens tomografi görüntülemesi kullanılmaktadır ve boyasız bir anjiografi metodu olan OKTA cihazı da klinik pratikte yeni yeni yerini almaktadır. YBMD kuru ve yaş tip olarak karşımıza çıkmaktadır ve yaş tip özellikleri olan anormal vasküler yapı oluşumu ve eksüdasyon görülmesi dahi; kuru tip hastalıkta da düşük görme seviyelerine erişilebilmektedir. Bu durum çevresel ve muayenede saptanabilen çeşitli risk faktörlerini gündeme getirmiştir. Bu hastalıkta önemli bir muayene ve görüntüleme bulgusu olan retiküler psödodrusen ise ileri evre hastalıkla ve patolojik çeşitli tutulumlarla ilişkilendirilmiş, önemli bir risk faktörüdür. Tanısı ve tanı konabilmesi amacıyla gerekli minimum lezyon sayısı halen kesin olmasa da retiküler psödodrusen, varlığıyla hastalık ciddiyeti ilişkilendirilebilmiştir.

Genom bazlı çalışmaların da yakın zamanda ortaya koyduğu şekilde, çeşitli koromozomal bölgelerdeki tek nükleotid polimorfizmleri ileri YBMD ile ilişkilendirilmiştir. Hatta bu ilişki diğer risk faktörleriyle de değerlendirilmiştir. Birçok çalışmada hastalık ciddiyeti ile ilişkisi kanıtlanmış öne çıkan tek nükleotid polimorfizmi ARMS geni rs10490924 varyasyonudur. YBMD hastalarında bu polimorfizm ileri tip hastalık ile ilişkilendirilmiştir.

Mevut çalışmada bu iki risk faktörünün beraber değerlendirilmesi ve ülkemiz verisinin eldesi hedeflenmiştir. Çalışma ile ayrıca aynı hasta grubunun OKTA verileri de kıyaslanabilmiştir. Kuru tip YBMD hastalarında RPD bulunan ve bulunmayan katılımcıların retinal ve koroidal özelliklerinin multimodal görüntüleme ile değerlendirilmesi; ayrıca bu alt gruptaki ARMS geni rs10490924 polimorfizmi sıklığının saptanması amaçlanmıştır.

Genel Bilgiler ve Makula Organizasyonu

Görme ileri fizyolojik, biyokimyasal ve anatomik organizasyon gerektiren, mükemmel bir duyunun sonucudur. Cisimlerin algılanması yanında renk, kontrast ve derinlik gibi ileri fonksiyonların yerine getirilebilmesi için, özelleşmiş ve gelişmiş bir hücre organizasyonu gerekir. Göz bir bütün olarak düşünüldüğünde refraktif yapısı yanında, retina tabakası ile ışık enerjisinin fotokimyasal olarak sinirsel iletilebilir bir yanıtı dönüşmesini sağlar. Retinanın merkezinde yer alan bölgeye makula adı verilir ve bu alan 200 milyondan fazla sinir hücresinin organizasyonu ile oluşmuştur. Yaklaşık 5mm çapında, santral retinal arterin dalları olan temporal arkadlarla sınırlanmış bir bölgedir. Makulanın merkezinde ise tam ortası foveola olacak şekilde fovea yer alır.

Embriyolojik olarak retina ve altında uzanan epitelyal tabaka optik vezikül kökenlidir ve nörosensöriyel retina ve Retina Pigment Epiteli (RPE) olarak iki bölümde incelenebilir. Nörosensöriyel retina iç limitan tabaka, sinir lifi tabakası, gangliyon hücre tabakası, iç pleksiform tabaka, iç nükleer tabaka, orta limitan membran, dış pleksiform tabaka, dış nükleer tabaka, dış limitan membran ve fotoreseptör tabakasından oluşur. Fotoreseptörlerin dağılımı da çeşitli özellikler gösterir. Foveolada rod bulunmazken fovea da ise yalnızca rodlar, konlar ve Müller hücre uzantıları bulunur. Merkezden uzaklaştıkça kon sayısı da giderek azalır. RPE siliyer cisim ve iris pigment epiteli ile devamlılık gösteren retinal fonksiyonların düzenlenmesinde birçok kilit özelliğe sahip tek sıra hücrelerden oluşan bir katmandır.

Normal Retinal Anatomi

Fundus muayenesinde değerlendirilen ana anatomik yapılar iki temporal ark arasında yer alan makula ve yaklaşık $2 \times 1,5$ mm boyutlarında oval sirküler optik disk (OD). Makulanın merkezinde ise özel organizasyona sahip noktasal fovea bulunur (1).



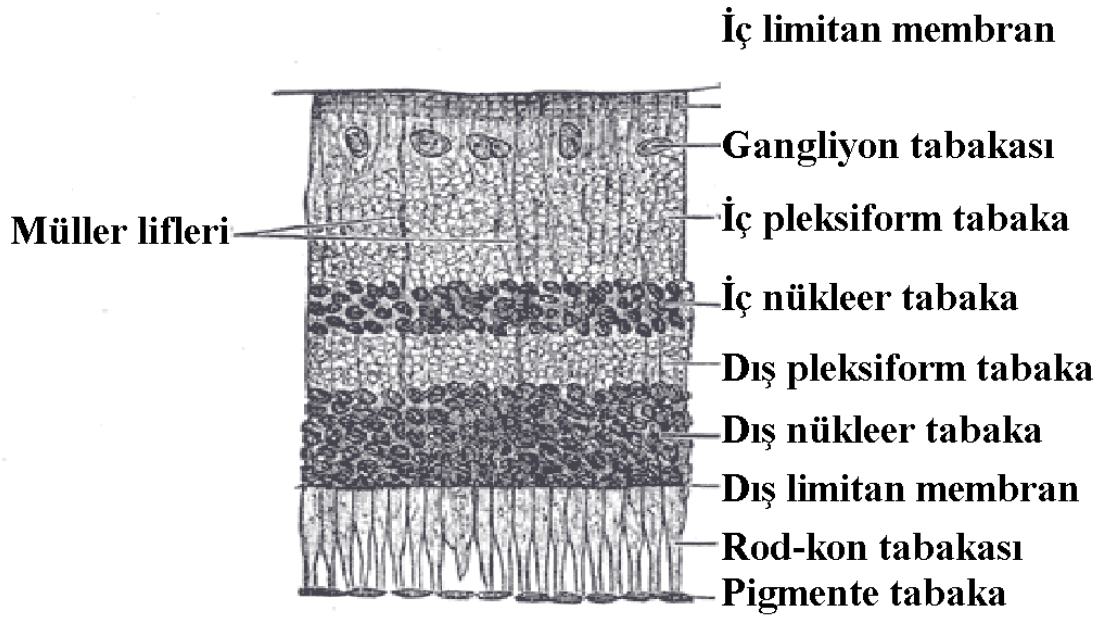
Resim 1: Normal sağ fundus görüntüsü, optik disk ve makula

Sirküler olarak fovea etrafındaki 6 mm'lik alan santral retina olarak bilinir ve bunun dışında kalan retinal alana periferel retina adı verilir. Tüm retina 30-40 mm arasında değişmektedir (2).

Retina yaklaşık 0,5 mm kalınlığındadır. Optik sinir ise beyne ulaşan gangliyon hücre aksonlarını içerir ve retinal vaskülarizasyonu oluşturan ana damarlarla beraber seyir gösterir. Radyal bir kesit alındığında gangliyon hücreleri en içte lense ve gözün ön bölümüne en yakınken; fotoreseptörler RPE ve koroide yakın en dışta yer alırlar. Bu sebeple ışık rodları ve konları aktive etmeden önce tüm retinayı geçebilmelidir. Pigmentler tarafından ışığın absorbe edilmesiyle fotoreseptörler önce biyokimyasal bir yanıt oluştururlar ve ardından bu ileti elektriksel bir yanıtı retina, tarafından dönüştürülür (3).

Anatomik olarak retinanın vertikal kesiti alındığında birçok tabak ve internöron gibi yardımcı hücre katmanlarından oluştuğu görülür. Tüm vertebralı retinaları 3 tabaka sinir

hücre gövdesi ve 2 sinaps tabakasından oluşur. Dış nükleer tabaka rod ve kon hücre gövdelerini barındırırken; iç nükleer tabaka bipolar, amakrin ve horizontal hücre gövdelerini içerir. Gangliyon hücre tabakasında ise gangliyon hücre gövdeleri yer almaktadır. Bu sinir katmalarını; iki nörofil, sinapsların gerçekleştiği tabaka ayırır. İlk nörofil tabaka dış pleksiform tabakadır ve rod-kod hücreleri ile bipolar-horizontal hücreler arası temas burada sağlanır. İkinci tabaka ise iç pleksiform tabakadır ve bipolar hücreleri gangliyon hücrelerine bağlar (4).



Resim 2: Retinal histoloji ve hücre tabakaları

(<https://en.wikipedia.org/wiki/Retina#/media/File:Gray881.png>)

Santral retina, özellikle fovea çevresindeki alan periferik retina ile kıyaslandığında daha kalındır. Bu durum özellikle kon fotoreseptörlerin daha yoğun paketlenmesiyle ilişkilidir. Santral retina kon, periferik retina ise rod dominant bir bölgedir. Santral retinada konlar birbirlerine daha yakındır ve rodların sayıları daha azdır (5).

Dış nükleer tabaka rod ve konların hücre gövdelerinden oluşur ve santralde ve periferalde yaklaşık aynı kalınlıktadır. Santral retinada konlar oblik aksonlara sahiptir ve hücre gövdeleri dış pleksiform tabakaya uzanır. Bu oblik aksonlar eşlik eden müller hücre prosesleriyle, henle tabakası olarak bilinen soluk fibröz görünümlü tabakayı oluştururlar. Bu tabaka periferik retinada noksanlıdır.

İç nükleer tabaka santral alanda daha kalındır. Bu durum konların ikinci sıra nöronlarla olan sık bağlantısına, dar aralıklı horizontal hücre yoğunluğuna ve tüm yolaktaki amakrin hücre birlikteliğine bağlıdır. Ayrıca kon ilişkili yolaklar daha az konverjans gösterirler.

Bir başka periferik ve santral kalınlık farkı da iç pleksiform, gangliyon hücre ve retina sinir lifi tabakalarında görülür. Bu yine rod yolaklarıyla karşılaştırıldığında kon hücrelerinin daha yoğun paketlenmiş yolaklarla ilişkili olmasından ileri gelmektedir. Gangliyon hücrelerinin fazla olması, iç pleksiform tabakada daha fazla sinaps oluşması ve daha fazla gangliyon hücre aksonunun mevcut olması anlamına gelmektedir.

Müller hücreleri retinadaki radyal glial hücrelerdir. Dış limitan tabaka, müller ve fotoreseptör hücreler arasındaki bileşkeyi oluşturur. Subretinal boşlukta bir bariyer oluşturur ve sensörinöral retina ve RPE bağlantısını kuvvetlendirir. İç limitan membran ise vitreus ile retinayı sınırlar ve bir difüzyon bariyeri oluşturur.

Retinal vasküler destek büyük damarların kapiller ağları aracılığıyla sağlanır. Tüm retina katmanlarına nüfuz eden kapillerler sinir lifi tabakasından, dış pleksiform tabakaya kadar uzanır. RPE arkasındaki koryokapillaristen de gerekli metabolik materyal retinaya ulaşır.

Foveanın merkezi foveal pit-çukur olarak bilinir ve periferik retinadan çok farklıdır. 200 mikronun altında bir genişliğe sahiptir. Bu bölgede rod yer almazken konlar maksimum yoğunluktadır ve hegzagonal bir mozaik oluştururlar. Bu 200 mikronluk alanın altında neredeyse sadece kon hücreleri kalacak şekilde, diğer retinal tabakalar yer değiştirmiştir (6).

Fovea, perifovea ve parafoveanın hepsine birden, sarı, özel pigmentasyonu ile beraber makula lutae adı verilir. Bu renk zeaksantin ve lutein kaynaklıdır ve kısa dalga boyu ışık filtrasyonu yaptığı düşünülür.

Retinal vasküler beslenme iki kaynaktan oluşur; biri santral retinal arter, diğeri ise koroidal dolaşım. Santral retinal arterin 4 ana dalı vardır. Arteriyal intraretinal dallar 3 katman radyal peripapiller kapillerleri, iç ve dış tabaka kapillerleri sular. Prekapiller venüller, venüllere oradan da santral retinal vene ulaşır (7).

Radyal peripapiller kapillerler en yüzeysel olanlardır ve retina sinir lifi içerisinde yer alırlar. Hem kendi aralarında hem de derin kapiller ağ ile anastomoz yaparlar. İç kapiller pleksus,

gangliyon hücre tabasında yer alır; dış kapiller pleksus ise iç pleksifor tabakadan dış pleksiform tabakaya doğru uzanır. Flöresein anjiografide de görülebilen fovea etrafında avasküler bir alan vardır. Bu alanın sınırında kapiller damarlar, iki tabakalı hale gelirler.

Koroidal aterler ise uzun ve kısa siliyer arterlerden köken alırlar. Her bir posterior siliyer arter fan şekilli, koroidal lokalize alanı besleyen lobüller bir organizasyona erişir. Koroidal vasküler yapılar, retinal kaynakta olduğu gibi foveada özel bir organizasyon oluşturmazlar (8).

Bu karmaşık organizasyonun korunması görme duyusu için oldukça önemlidir. Yaşa bağlı makula dejenerasyonu gibi santral görmeyi tehdit eden hastalıklar, bu yapının hasarlanması ve çeşitli düzeylerde görme bozukluklarıyla sonuçlanmaktadır.

Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonu (YBMD)

Retinal Yaşlanma

YBMD retinanın makula bölgesini etkileyen, progresif görme kaybına sebep olan bir hastalıktır. Erken dönem YBMD’de drusen ve RPE değişiklikleri görülürken, geç dönem YBMD’de neovaskülarizasyon (NV) görülebilir ya da atrofik bir seyir izlenebilir. İleri dönem YBMD özellikle yarattığı merkezi görme kaybıyla, bağımsız yaşamı engelleyicidir ve ciddi fonksiyonel kayıp ortaya çıkarabilmektedir. 2020 yılında halihazırda dünyada 200 milyon YBMD hastası olduğu düşünülmektedir ve bu sayının 2040 yılında 300 milyona erişmesi beklenmektedir. YBMD geri dönüşsüz görme azlığında 3. sırada yer almaktadır ve yeni tedavi ajanlarıyla bu durumun bertaraf edilmesi amaçlanmaktadır (9,10).

Yaşlanma gözde çeşitli biyolojik süreçler ile ilişkilidir. Yaşlanmanın özellikleri YBMD patofiyolojinde de yer almaktadır; ancak her göz hastalığıyla karşılaşmamaktadır. Bu sebeple YBMD gelişmemiş gözlerdeki RPE-Bruch-koryokapillaris değişikliklerinin değerlendirilmesi faydalı olacaktır (11). Yaşlanma genel olarak kümülatif oksidatif stres ile ilişkili bir hasarlanmadır. Örneğin yaşlanma ile beraber RPE hücre mitokondri DNA’larında delesyonlar ortaya çıkmaktadır. Verzar ve arkadaşları, yaşlanmayla beraber ekstraselüler matriks bozukluklarının geliştiğini göstermiştir. Bu bozukluklar sentezde, sentez sonrası modifikasyonlarda dejeneratif sonuçlar doğurabilmekte ve hücre adezyon sorunları

oluşturabilmektedir. Ekstraselüler matriks bozuklukları hücre fenotipinde bozukluklara neden olmaktadır. Bu çeşitli değişikliklerin birçoğu genetik kontrol altındadır. Tüm bunlara ek olarak Maillard reaksiyonu, proteolitik degradasyon ve serbest radikal salınması gibi epigenetik değişiklikler de tüm bu sürece katkı sağlamaktadır (12).

Lipofuksin nöronal ve nöronal olmayan dokularda görülebilen, otoflöresans veren lipid ve protein agregatlarıdır. Birçok post-mitotik hücrede olduğu gibi RPE hücrelerinde de yaşam boyu birikim gösterir. 1 yaşında RPE hücre volümünün % 1'ini oluştururken, 80 yaşında % 19'una kadar erişmektedir. Hücre volümündeki azalma RPE hücre fonksiyonunu etkilemektedir. RPE hücrelerindeki birikimin esas kaynağı fotoreseptör dış segment kaynaklı metabolize olamayan ürünlerdir. Lizozomal demir katalizörlü reaksiyonlardan da lipofuksin oluşmaktadır. Bu yolak ile lipofuksin oksidatif hasar oluşturabilir (13).

Bruch membran kalınlığının yaşla beraber artış gösterdiği görülmüştür. Bu durum artan üretim; ancak azalan dışa atım ile açıklanabilir. Kalınlıktaki bu değişim protein yapılanması ve çapraz bağlanması, GAG boyutu ve artan lipid birikimi ile ilişkilidir. Ekstraselüler matriksin yetersiz katabolize edilebilmesi de membran kalınlaşmasına katkı sağlayabilmektedir (14, 15).

Yaşlanma ile Bruch membran içeriği de değişiklik göstermektedir. PAS boyanma özelliği artış göstermekte, Tip 1 kollajen miktarı fazlalaşmaktadır. Membranöz debri, filamentöz materyal ve kaplı veziküller, erken erişkinlikten itibaren iç kollajen tabakada birikim gösterir. Yaşlanma ile kollajen çağraz bağlanma artar ve kollajen olmayan proteinlerin, özellikle makular alanda artış gösterdiği görülür. Geç orta yaşta lipid birikimi de görünür hale gelir. 70'li yaşlarda laminin, membran ilişkili veziküller ve fibronektin gibi içerikli bazal laminaler depozitler ortaya çıkar. Yaşlanmayla beraber bu sayılan moleküllerin RPE bazal membranında azaldığı özellikle drusen ile ilişkili bölgelerde bulunduğu gösterilmiştir (16).

Bruch membrandaki depozitler yaşla beraber artar ve heparan sülfat içeriği yükselir. İleri glikasyon son ürünleri birikir. Moleküllerin tuzaklanmasına sebep olan bu ürünler, Bruch membranında pH değişiklikleri ve yapı-geçirgenlik değişikliklerine sebep olur. Moleküler dizilim ve RPE hücrelerarası sıkı bağlantıları materyal taşınmasında ve homeostaziste oldukça önemlidir. Bu değişikliklerde Bruch membran özellikle santral alanda perifere göre daha fazla etkilenmektedir. Yaşlanma ile tüm bu değişikliklerle Bruch membranı molekül geçişine daha dirençli bir hal almaktadır (17).

Membranın katmanlarından olan elastin tabakasında, yaşla beraber por yapıları artış göstermektedir. Bu katmanın koroid ve subRPE boşluk arasında damar gelişmesi için bir sınır oluşturduğu düşünülmektedir ve KNV patogenezinde suçlanan bir durumdur (18).

Yaşlanan gözde koroidal kan akımı değişiklikleri de değerlendirilen parametrelerden olmuştur. Doğumdan sonra koroid kalınlığının progresif azaldığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Koryokapillaris yoğunluğu, lümen çapı azalmakta; kapillerlerin arasındaki alan ise genişleme göstermektedir. Tüm bu değişikliklerle subfoveal koroidal kan akımının azalması bir sürpriz değildir. Bu azalış hem anjiyografik yöntemlerle hem de Doppler ultrasonografik yöntemlerle gösterilmiştir, aynı zamanda YBMD ile ortak bir bulgudur (19, 20).

Yaşlanma konsept olarak oksidatif hasar ile yakından ilişkilidir. Plazma glutatyon seviyeleri azalır, okside glutatyon seviyeleri ise yaşla artar. Plazma C vitamini ve E vitamini seviyeleri de azalış gösterir. Lipid peroksidasyonu artar ve RPE hücre hasarı artar. Oksidatif hasarın birikiminin göstergelerinden lipofuksin miktarı artış gösterir. Hem yaşlanmada hem de YBMD'de karşımıza çıkan bleb oluşumu RPE hücrelerinde görülür hale gelir (21).

RPE hücrelerine oksidatif hasar bir sonuç hasara işaret etmektedir. Bu hasar serbest oksijen radikalleri, kümülatif ışık hasarı ve hemodinamik değişikliklerin, çeşitli düzeylerde genetik etkisi ile ortaya çıkar. Yaşlanma, inflamasyon, irradyasyon, sigara, reperfüzyon hasarı gibi etkenler bu hasarın sebepleridir (22).

RPE hücrelerinde reaktif oksijen molekülleri oluşmasına etkili faktörler (23),

- Dış segment poliansatüre yağ asitleri bakımından zengindir
- Fotoreseptör-RPE alanı arteriyal akıma yakındır ve oksijen yoğunluğu yüksektir
- Retina yüksek oranda kümülatif irradyasyona maruz kalmaktadır
- Retinada ve RPE hücrelerinde fotoaktif moleküller bulunmaktadır
- RPE fagositoz süreci oksidatif stres kaynağıdır.

Fotoreseptör dış segmentlerinde bulunan poliansatüre yağ asitleri, lipid peroksidasyonuna maruz kalır. Bruch membranının yapısal bozuklukları, genel olarak 40'lı yaşlarda ortaya çıkmaktadır. Retinada normal yaşlanma sürecinde RPE'de, nörosensöriyel retinada ve hemen altında yer alan koroid ve Bruch membranında değişiklikler meydana gelir. Bu durum en metabolik aktif alan olan makulada daha fazladır ve yaşla beraber bu durum

artar. In-vitro koşullarda RPE'deki lipofuksin, fotoaktif bir moleküldür ve serbest oksijen radikalleri oluşturabilir. Bu durum lizozom bütünlüğünün bozulmasına, fagositoz kapasitesinin azalmasına ve hatta RPE hücre ölümüne neden olabilir. RPE hücrelerinde lipofuksinin oluşmasına, fotoreseptörlerin ana bileşenlerinden olan A vitamininin etkisi büyüktür (24-26).

Bir biyokimyasal çalışmada YBMD hastalarındaki drusen içeriği ile YBMD bulunmayan sağlıklılarıdaki drusen içeriğinin % 65 oranında aynı moleküllerden oluştuğu gösterilmiştir. Bu durum aslında normal retinal yaşlanmadan farklı olarak YBMD patofizyolojinde çeşitli farklılıklar olduğunu bize göstermektedir (27).

Özetle normal yaşlanma sürecinde;

- Fotoreseptör sayı ve yoğunluğu azalır.
- RPE'de yapısal değişiklikler meydana gelir; lipofuksin birikimi artar ve melanin kaybı yaşanır.
- Bazal laminada birikimler görülür, granüler yapıda olabilir ve genellikle lipid zengin yapıdadırlar.
- Koryokapillarisde involüsyonel değişiklikler meydana gelir

YBMD Patofizyoloji

YBMD patofizyolojinde yaşla beraber olan değişikliklerin yanında çeşitli patolojik değişiklikler de gerçekleşmektedir. YBMD ve yaşlanma ile oksidatif stres sonucunda RPE ve yüksek ihtimalle koryokapillaris hasarı ortaya çıkar. Bruch membranı ve koroidde hücre hasarı ve inflamasyon ile anormal ekstraselüler matriks oluşumu gerçekleşir. Bu da RPE fonksiyonunun bozulmasına ve homeostazisin bozulmasına yol açar. Koryokapillaris karşı oksidatif hasar da YBMD patofizyolojisinde suçlanmaktadır. Tüm bu yapının bozulması ile KNV ve CA oluştuğu düşünülmektedir. CA'da RPE hücre ölümü koryokapillaris kaybının sebebi gibi gözükmektedir (28).

Çok merkezli, randomize, 3600 katılımcılı bir klinik çalışmada belirli bir kombinasyondaki antioksidan molekül besin takviyesinin; yoğun orta boy drusen içeren, en az 1 gözde CA bulunan, 1 gözde ileri YBMD bulunan ya da 1 gözde YBMD'ye bağlı görme azlığı bulunan hastalarda ileri YBMD riskini % 28'den % 20'ye; orta düzey görme kaybını %

29'dan % 23'e düşürdüğünü göstermiştir. Ardından gelen çalışmalarda oksidatif stres ilişkisi ve antioksidan desteğinin etkisi optimize edilmeye çalışılmıştır (29, 30).

Oksidatif RPE hasarına karşı koruyucu mekanizmalar yaşla beraber azalma göstermektedir. Yaş eşleşmeli çalışmalarda bu değişikliklerin YBMD hastalarında daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. YBMD ve yaşlanma ile RPE hücrelerinde katalaz seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir. Yine YBMD hastalarında plazma glutatyon redüktaz seviyelerinin sağlıklı katılımcılara göre daha az olduğu raporlanmıştır. Frank ve arkadaşları, artan yaşla beraber RPE lizozomlarında hem oksijenaz 1 ve 2'nin azaldığını, özellikle YBMD hastalarında bu durumun daha ciddi olduğunu bildirmişlerdir. KNV gelişmiş YBMD olgularında, submakular RPE hücrelerinde oksidatif hasar engelleme enzimlerinden biri olan süperoksid dismutaz aktivitesi yüksektir. Erken YBMD ile olmasa da ileri evre YBMD ile yüksek plazma glutatyon peroksidazı ilişkilendirilmiştir. Glutatyon peroksidazın hücre dışı bir antioksidan olduğu bilinmektedir ve bu durum Bruch membranı ve koryokapillaristeki oksidatif reaksiyonlarla ilişkili olabilir (31, 32).

Lutein ve zeaksantin karotenoidlerdendir ve makular pigmentlerini oluştururlar. Bu pigmentlerin esas antioksidan özellikleri, tekli oksijen moleküllerini yakalamaktır; ayrıca membran lipidlerinin peroksidasyonunu da geciktirirler. YBMD için tüm çalışmalarda aynı sonuç bildirilmese de hipopigmente makula da artmış risk faktörlerinden biridir. İki yakın zamanlı çalışmada azalmış retinal zeakstantin ve lutein seviyeleri, YBMD'li gözlerde ve hastaların diğer gözlerinde değerlendirilmiştir. Artmış yaş ve hastanın bir gözünde ileri YBMD olması, rölatif olarak makula pigment eksikliği ile ilişkilendirilmiştir (33).

In-vitro ve in-vivo çeşitli hayvan çalışmaları bazal laminaler depozitlerin, RPE hücre membranlarındaki lipid peroksidasyonunun ve oksidatif hasarının bir sonucu olabileceğini göstermektedir. Hidroksil radikal formasyonu ile oksidatif stres alanlarında ileri glikasyon son ürünleri birikir. İleri glikasyon son ürünlerine drusen yapısında, bazal laminada, bazal laminar depozitlerde ve KNV ile ilişkili RPE hücrelerinde rastlanmıştır. RPE hücre serileri, ileri glikasyon son ürünlerinden zengin bir matrikste yetiştirildiğinde, Bruch membran kalınlaşmasına katkıda bulunan gen ekspresyonu artmaktadır. KNV patogenezinde etkisi olduğu bilinen sitokinlerin seviyesi, ileri glikasyon son ürünleri tarafından artırılmaktadır. Lipoprotein peroksidasyonu sonrası oluşan bir ürün olan karboksimetil lizine, drusen ve KNV ilişkili bölgelerde rastlanmıştır. Drusen kompozisyonunun değerlendirildiği bir çalışmada, TIMP-3 ve vitronektin'de oksidatif protein modifikasyonları görülmüştür. Karboksietil pirol protein bileşikleri, lipid oksidasyonunun ürünleridir ve yaş eşleşmeli gruplara göre YBMD ve

drusen bulunan hastalarda daha fazladır. Antioksidan enzim sistemlerindeki genetik defektler, diyet alım bozuklukları, sigara gibi ajanlar RPE hasarını oluşturan oksidatif hasarı artırabilir (34-36).

Anatomik çalışmalar patogeneizde ve KNV oluşumunda enflamasyonun da etkili bir faktör olabileceğini göstermiştir. İnflamasyonun ve inflamasyon yollarının YBMD sürecine katkısını ortaya koyan, moleküler kanıtlar da mevcuttur. Bu çalışmalar drusen yapısında bulunan immün kompleks ilişkili kompleman yolağı; akut faz yanıtı proteinleri, immün cevabı düzenleyen proteinler, MHC ve HLA molekülleri üzerine yoğunlaşmıştır. Hageman ve arkadaşları hasarlı RPE hücreleri ve Bruch membrandaki okside protein-lipidlerle koroidal dendritik hücrelerin aktive olduğunu speküle etmişlerdir. Yakın bir mekanizmanın görüldüğü aterosklerozda da olduğu gibi; RPE hücreleri dendritik hücre aktivasyonunu kontrol etmek için vitronektin, apolipoprotein E ve membran kofaktör protein gibi moleküller salgılar. Drusen yapısında da bulunan proteinler ile bu sekresyon ürünleri, hücreleri ölümcül olabilecek kompleman atağına açık hale getirir. Penfold ve arkadaşları, YBMD'li gözlerdeki mikrogliyalarda MHC 2 immün reaktivitesinin arttığını ve buna bağlı morfolojik değişikliklerin ortaya çıktığını önermişlerdir. Bu immünolojik değişiklikler RPE pigmentasyon değişikliği ve drusen formasyonu ile ilişkili gözükmektedir. İleri evde YBMD'de de inflamasyon patofizyolojide yer almaktadır. YBMD'ye bağlı KNV ile ilişkili gözlerin koroidlerinde, multinükleer dev hücreli lökositler görülmüştür. Bazal lineer depositler görünür hale geldiğinde Bruch membran yakınında makrofajlar ve yabancı cisim dev hücreler daha belirgin hale gelirler. Aktive makrofajların ve diğer inflamatuvar hücrelerin sekresyonları ile Bruch membran hasarı ve hücre hasarı geliştiği; ayrıca bu durumun KNV oluşumuna katkı sağlayabileceği düşünülmektedir (37-41).

Çözünemeyen ve uzaklaştırılmayan RPE hücre artıkları kronik inflamasyonu tetikleyebilir. Hageman ve arkadaşları koroidal dendritik hücre aktivasyonunun retinal ve RPE hücrelerine karşı otoimmün bir cevabı tetikleyebileceğini bildirmiştir. Retina immün seçilime ve otoimmün yanıtı karşı korunaklı olsa da YBMD hasta serumlarında karşı antikorlar saptanmıştır. Alzheimer ve ateroskleroz gibi hastalıklarda immün yanıt ile kompleman aktivasyonu ve anormal depozit birikimi görülmüştür. Bu hastalıklarda hasarlı hücreler ve uzaklaştırılmayan birikimlerin klasik ve alternatif kompleman yolağını aktive ettiği; böylece hücre yüzeyinde, endositozda ve diğer hücre aktivitelerinde bozulma görüldüğü bildirilmiştir. Günümüzde önemli tedavi modalitelerinden olan intravitreal steroid

enjeksiyonları ile VEGF baskısı da düşünülduğünde inflamasyonun retinal hastalıklardaki yerini kanıtlar niteliktedir (42, 43).

YBMD'li gözlerde histolojik olarak anormal birikim iki bölgede görülür:

- RPE hücre zarı ve RPE bazal membran arasında
- Bruch membranının kollajenöz tabakasına doğru, RPE dışında (44)

İlk birikim yeri bazal laminar depozit olarak adlandırılır, ikinci birikim yeri ise bazal linear depozit olarak adlandırılır. Bazal laminar depozit, geografik atrofi (GA) alanlarında ileri durumlarda da sebat ederken; bazal linear depozitler kaybolmaya meyillidir. Bazal linear depozitler, RPE fotoreseptör kompleksinden oluşmaktadır ve YBMD'ye laminar depozitlerden daha spesifik olabilir. Drusen bilindiği gibi YBMD'nin klasik lezyonudur ve boyutlarına göre sınıflandırılmaktadır. Küçük drusenin (< 63 µm) YBMD varlığıyla ilişkisi zayıftır; ancak fazla sayıdaki küçük sert drusen, RPE atrofisini genç yaşta oluşturabilir. Orta boyuttaki drusen zor ayırt edilen demerkasyon ile çevreli, sarı görünümlü lezyonlardır. Drusen yapısında; glikokonjugatlar, mannoz, sialik asit, N-asetilglukozamin, B-galaktoz bulunmaktadır. YBMD'li gözlerdeki mavi-yeşil anormal otoflöresansın, anormal ekstraselüler matriks değişiklikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (45).

Drusen yapısını oluşturan moleküller RPE, nöral retina ve koroid hücreleri tarafından sentezlenirler; ancak bazıları ekstraoküler kaynaklıdır. Birçok yazar drusenin, koryokapillar lobüllerin kollektör venülleri yakınında kümelenildiğini bildirmiştir. Bu durum drusenin koryokapillaris kaynaklı olduğu teorisini destekler niteliktedir. Diğer bir teori de RPE hücresinin dayanıklılığının altta yatan koryokapillaris vasküler yapısına bağlı olabileceğidir (46, 47).

Drusende bulunan çeşitli bileşenler önceki bölümlerde de bahsedildiği gibi ateroskleroz plaklarında da bulunmaktadır ve bu durum aterosklerotik bazı risk faktörlerinin YBMD gelişiminde de etkili olabileceğini göstermektedir. Amiloid komponent, C5, alfa 1 antitripsin gibi akut faz reaktanları, immün yanıtta rol oynamaktadır. Bu bulgular, RPE hücrelerine immün kompleks aracılı hasarın da drusen formasyonunda etkili olabileceğini göstermektedir (48).

MMP ve TIMP plazmada da bulunan ve bazı çeşitleri RPE ile ilişkili olan enzimlerdir. Anormal ya da bozulmuş MMP enzim aktivasyonu YBMD'li gözlerde drusen ve Bruch membran yapısında saptanmıştır. TIMP-3'ün ileri glikasyon son ürünleriyle bağlanması yine

Bruch membran ve drusen yapısında görülür ve YBMD'li gözlerde birikime bu durumun katkısı olabilir (49, 50).

Bruch membranda biriken ekstraselüler debri membranın yapısını ve geçirgenliğini bozmaktadır. Bu değişiklikler atık ürünlerin uzaklaştırılmasını zorlaştırır, RPE hücrelerine oksijen, A vitamini ve hormonların geçişini engeller. Bu metabolik stres sonucunda oluşan ek ürünler KNV oluşumunu stimüle eder. Birçok araştırmacı KNV'nin gelişiminde RPE tarafından sentezlenen VEGF ve fibroblast büyüme faktörlerinin etkisi olduğunu kanıtlamıştır. Makrofajlar ve dev hücreler aracılığıyla, dendritik hücre aktivasyonu sonrası Bruch membranın yer yer hasarlandırıldığı ve yine çeşitli sitokinlerle KNV'nin stimüle edildiği görülmüştür. RPE hücreleri fizyolojik koşullarda da VEGF salgılamaktadır. Özellikle yukarıda açıklanan iskemik durumlarda, patolojik olarak VEGF salınımı gerçekleşmektedir. Kadavra YBMD'li gözlerde VEGF seviyeleri yüksek saptanmıştır. Schwesinger ve arkadaşları transgenik farelerdeki yalnızca aşırı VEGF salgısıyla, KNV'nin oluşsa da Bruch membranı intakt olduğunda burayı geçemediğini göstermiştir. RPE aynı zamanda pigment epithelial-derived factor (PEDF) adında bir molekül sentezler ve bu molekülün anjiogenezi engellediği düşünülmektedir. Oksidatif stres VEGF ve PEDF üretimindeki dengeyi bozabilir. Laser ile indüklenen KNV gelişiminde RPE kaynaklı PEDF üretimi KNV'yi geriletmektedir (46, 51, 52).

Ekstraselüler matriks anormallikleri KNV gelişiminde anjiogenik bir etki gösterebilir ve gelişimin miktarı RPE altındaki ekstraselüler debri miktarı ile ilişki göstermektedir. YBMD'deki KNV'ler, çevresindeki drusenin boyut, sayı ve yayılımı ile ilişkilidir. Model sistemlerde drusen yapısında bulunan vitronektin, fibronektin ve ileri glikasyon son ürünleri anjiogenik faktörleri artırmaktadır. Bruch membrandaki perokside lipidler de membran yapısını bozmakta hem de NV oluşumuna katkı sağlamaktadır. MMP ve urokinaz aktivitesi anjiogenez sırasında ekstraselüler matriksi yıkar. Bu yıkım KNV ilişkili anjiogenik faktörlerin salınmasına neden olur (53).

Yaşla beraber ve YBMD'de koryokapillaris yoğunluğu azalır ve ortalama koroidal kan akımı, YBMD'li gözlerde daha azdır. YBMD'de normal dolum paterni olan sinüzoidal akım yerine, tubuler kapillar ağ geçer ve daha düşük yüzey alanı- volüm oranı oluşur. Bu durum koryokapillaris endoteline direkt hasardan, RPE hücre kaybından oluşabilir. RPE hasarını da fotoreseptör kaybı takip eder (54).

YBMD'nin bir diğer ileri bulgusu GA'dır. 250 µm ve üzeri drusen varlığı ve pigment anormallikleri GA gelişimi için değerli risk faktörleridir. Artmış otoflöresans YBMD'de GA gelişimini ve büyümesini gösterebilmektedir. YBMD ile birikimi görülen lipofuksin aynı zamanda flöresans kaynağı bir moleküldür. YBMD patofizyolojisinde RPE'deki yoğun lipofuksin birikimi önemli bir yer almaktadır. Histolojik olarak bu birikim YBMD'li gözlerde atrofik ve normal retina arasında görülmektedir. RPE'deki bozukluk atrofiye yakın alanlarda daha fazladır. Direkt bir klinik korelasyon izlenememiş olsa da histolojik çalışmalara göre artmış otoflöresans alanları daha geniştir (55).

Gegrafik atrofide genellikle geç safhalara kadar fovea korunmaktadır; ancak GA alanları, foveaya yakın yerleşim göstermektedir. Bu durum foveanın hemen çevresinde rod hücre turnover'ının en fazla olmasıyla açıklanabilir. Lipofuksin birikimi de bu durumla paralellik göstermektedir. Her bir RPE hücresi 45 fotoreseptör hücre ile temastadır ve her 10 günde 1 her bir rod hücresinin dış segmenti tamamen fagosite edilip yenilenir. RPE hücrelerinde devamlı olarak ilerleyen bu biyolojik süreç ile yukarıda açıklanan değişiklikleri oluşur. Subfoveal RPE kon daha yoğun olması sebebiyle korunuyor olabilir. (56, 57)

Normal retinal yaşlanma ve YBMD patofizyolojisinde benzer özellikler gözlense de benzer yaş gruplarındaki hastalarda, benzer tutulumlara rastlanmayabilmektedir. Bu durum çevresel faktörlerin ve genetik etkinin, hastalığın seyrindeki etkisini gündeme getirmektedir.

Tanı, Sınıflama ve Semptomlar

YBMD klasik olarak fundus muayenesiyle ya da renkli fundus fotoğrafları yardımıyla tanınır. Son 20 yılda SD-OKT'nin gelişmesiyle ve FAF görüntülemelerle lezyonların saptanması daha kolay bir hal almıştır. KNV değerlendirmesinde, lokalizasyonun saptanmasında, aktivasyonunun belirlenmesinde FA de yararlı bir görüntüleme metodudur. OKTA ise görece yeni ortaya çıkan ve boyar madde kullanımı gerektirmeyen, non invaziv bir yardımcıdır. Sızıntı ya da aktivite hakkında net bir bilgi vermese de atipik KNV yapılarını görüntülemeye izin vermektedir. Bahsedilen tüm bu görüntüleme metodlarının birlikte kullanılması ile daha detaylı bir değerlendirme sağlanabilmektedir (58, 59).

YBMD'nin birçok sınıflaması bulunmaktadır. Genellikle erken ve geç evre olarak popülasyon çalışmalarında sınıflansa da klinik yaklaşımda Age-Related Eye Disease Study (AREDS) skalası kullanılmaktadır. Daha pratik bir yaklaşım için AREDS sınıflamasının basit bir versiyonu da geliştirilmiştir. Buna göre bir gözde büyük drusen, bir gözde pigment düzensizlikleri ya da iki gözde birden orta boyutta drusen varlığı risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Klasik sınıflamadaki ileri YBMD ise NV ya da atrofi gelişmiş gözleri kapsamaktadır (60-62).

Erken YBMD genellikle asemptomatiktir. Hastalar zaman zaman olan özellikle okuma sırasında fark edilen ve düşük aydınlatmada belirginleşen metamorfopsi yakınmalarıyla başvurabilirler. İleri YBMD ise merkezi görmeyi ciddi etkiler ve progresif bir görme kaybı başvuru sebebini oluşturur (63).

İleri YBMD'deki NV; koroidal kaynaklı NV ile oluşur ve subretinal sıvı (SRS), hemoraji, retina pigment epitel dekolmanı (PED), eksüda, skar oluşumu tipik muayene bulgularını oluştururlar. Multimodal görüntüleme ile tüm lezyonlar aydınlatılabilir.

Atrofik ileri YBMD'de ise retina dokusunda özellikle dış retinada belirgin olacak şekilde incelme mevcuttur. YBMD'de gelişen ileri atrofiye GA denir ve yılda 2 mm² genişlemesi beklenir. Fundus otoflöresans (FOF) ve OKT ile GA atrofi sınırları net olarak görülebilir (64).

Prevalans ve Risk Faktörleri

YBMD popülasyon çalışmalarında birçok risk faktörü tanımlanmıştır. Bu risk faktörlerinden literatürde en fazla karşımıza çıkan ileri yaştır. YBMD genellikle 60 yaş üzeri bireylerde ortaya çıkmaktadır. İleri YBMD üç geniş popülasyon çalışmasında 55 - 64 yaş aralığında % 0,2 olarak saptanmıştır. Yaş ile sıklığı artarken 85 yaş üzeri katılımcılarda % 13,1 olarak bildirilmiştir. BMES çalışması 15 yıllık erken YBMD insidansını % 22,7, geç YBMD insidansını ise % 6,8 olarak bildirmiştir(65). Birçok popülasyon bazlı kohort çalışmasının derlendiği bir metaanalizde, 70 yaş üstü bireylerde erken YBMD % 13,2; geç YBMD % 3 sıklıkta saptanmıştır (66, 67).

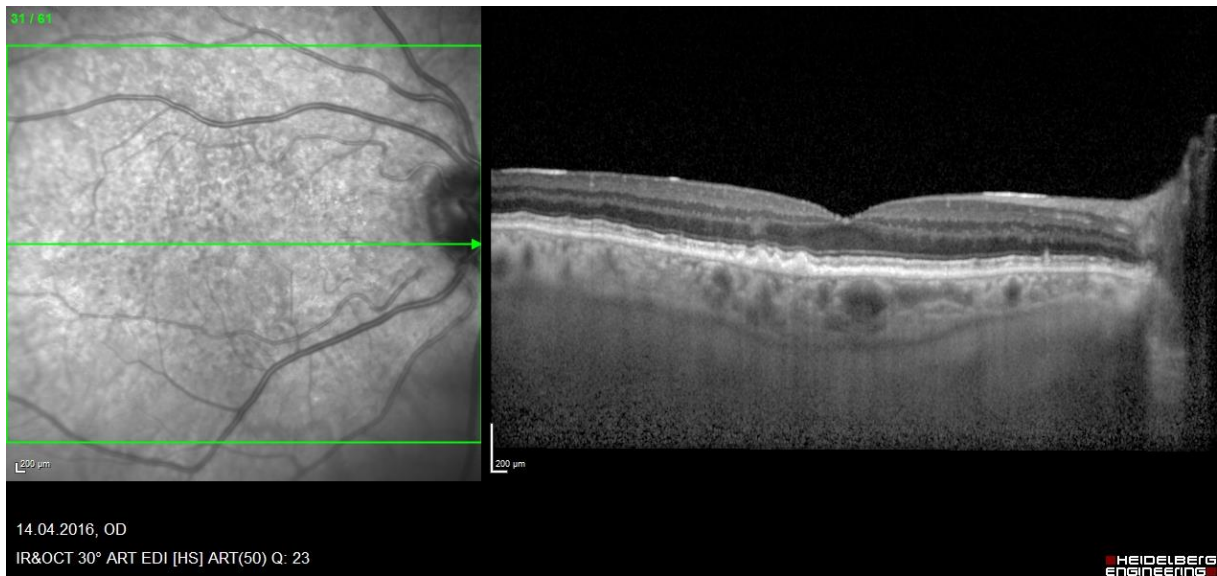
YBMD'nin Asya toplumuna göre, beyaz ırkta 2 kat daha fazla görüldüğü ve tüm alt tiplerinde bu oranın korunduğu görülmüştür (erken YBMD'de % 11,2'ye % 6,8; geç

YBMD'de % 12,3'e % 7,4). Avrupa kökenli beyaz ırkta GA sıklığı da yine yüksek saptanmıştır (68).

Sigara ve diyet gibi bazı genetik olmayan ve çevresel faktörler de YBMD riskini artırabilmektedir. Değiştirilebilir en önemli risk faktörü olarak sigara kullanımı benimsenmiştir. Hem hastalık başlangıç yaşını erkene çekmektedir hem de geç YBMD gelişim riskini iki kat artırmaktadır. Güneş ışığı maruziyeti, alkol kullanımı, iris rengi ya da katarakt cerrahisi de üzerinde durulan etkenler olsa da net bir fikir birliği mevcut değildir. Yine hipertansiyon ve hiperlipideminin YBMD gelişim riskini artırdığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (69-71).

Retiküler Psödodrusen

Retiküler Psödodrusen (RPD) ilk olarak 1990 yılında tanımlanmış bir fundus bulgusudur. Mavi ışıkta daha belirgin seçilebilen drusen benzeri lezyonlar olarak tanımlanmışlardır ve 1995 yılında bu lezyonlar RPD olarak anılmaya başlanmıştır. Curcio ve arkadaşları, YBMD hastalarında yaptıkları histopatolojik araştırmada sub-retinal drusenoid depositleri bildirmişlerdir. Öncelikle yumuşak drusenin uzantısı olarak değerlendirilen ve histolojik olarak RPE üzerinde yer alan bu lezyonların RPD ile uyumlu olduğu görülmüştür. Günlük pratikte RPD terimi halen kullanımını korumaktadır (72).



Resim 3: Drusen ve psödodrusen OKT görüntüsü

2010 yılında Zweifel ve arkadaşları OKT görüntülerinde, RPE üzerinde bulunan birikimlerin RPD olabileceğine dair yorumda bulunmuşlardır. Retina kontürünü bozabilen bu yapının, EZ'ye kadar ilerleyebildiğini göstermişlerdir. Görüntülenen bu yapının subretinal drusenoid depositlerle aynı histolojik özellikte olduğu belirtilmiştir. Bu iki görüntüleme özelliğinin histolojik olarak birbirinin yansıması olduğu; ancak 2016 yılında ortaya konmuştur (73, 74).

Görüntüleme Özellikleri

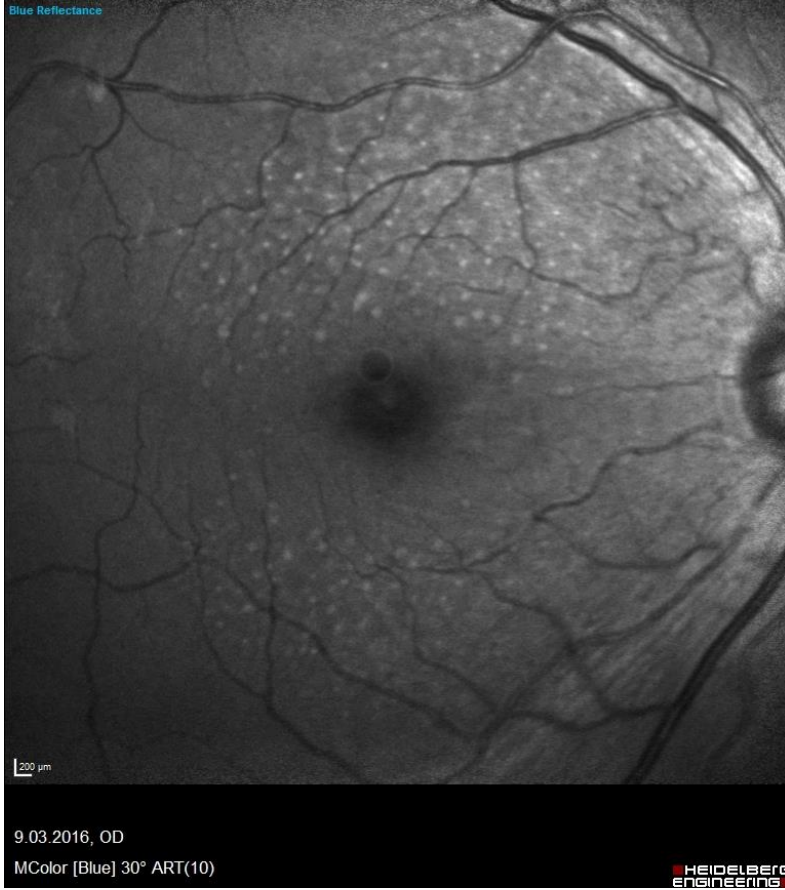
OKT

İlk tanımlandığından bu yana RPD üzerine birçok multimodal görüntüleme özelliği tanımlanmıştır. OKT bu görüntülemelerin başında yer almaktadır. OKT ile lezyonun tanımlanmasına izin veren lokalizasyonu histopatoloji hassasiyetinde saptanabilmektedir (75).



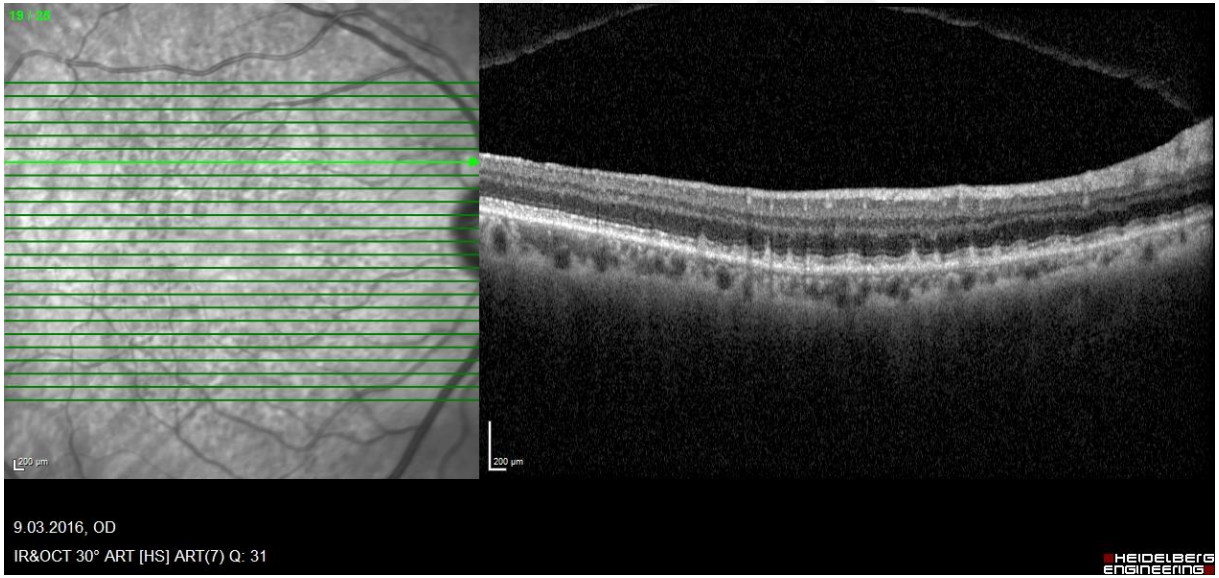
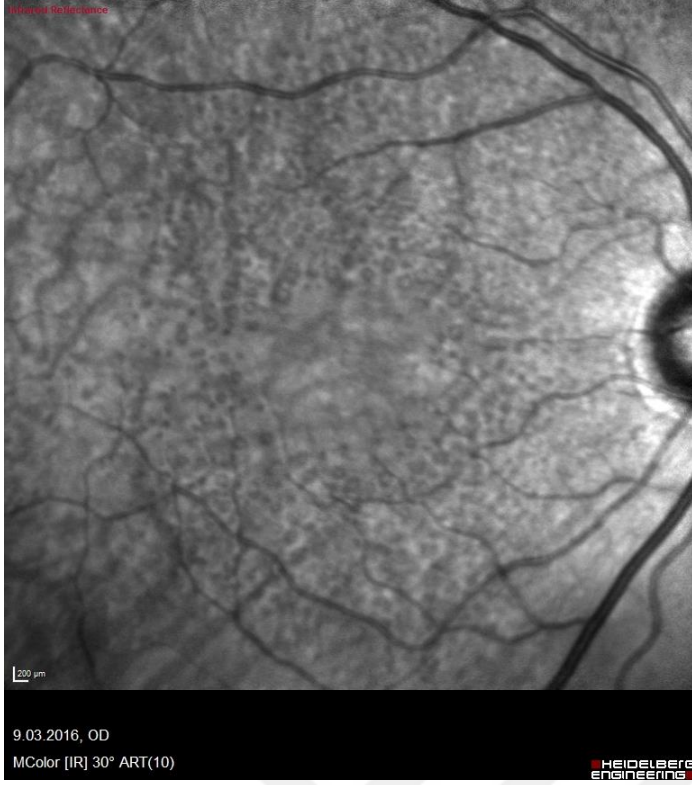
Resim 4: Renkli en-face OKT

RPD, OKT görüntülerinde RPE'nin hemen üzerinde hiperreflektif, drusen benzeri bir birikim olarak görülür. OKT görüntüleme özellikleri üzerinden çeşitli evreleme sistemleri geliştirilmiştir. OKT yalnızca varlığını göstermede değil RPD'nin izlem sırasındaki değişiklikleri ve yayılımı-gerilemesi hakkında da bize fikir vermektedir (76).

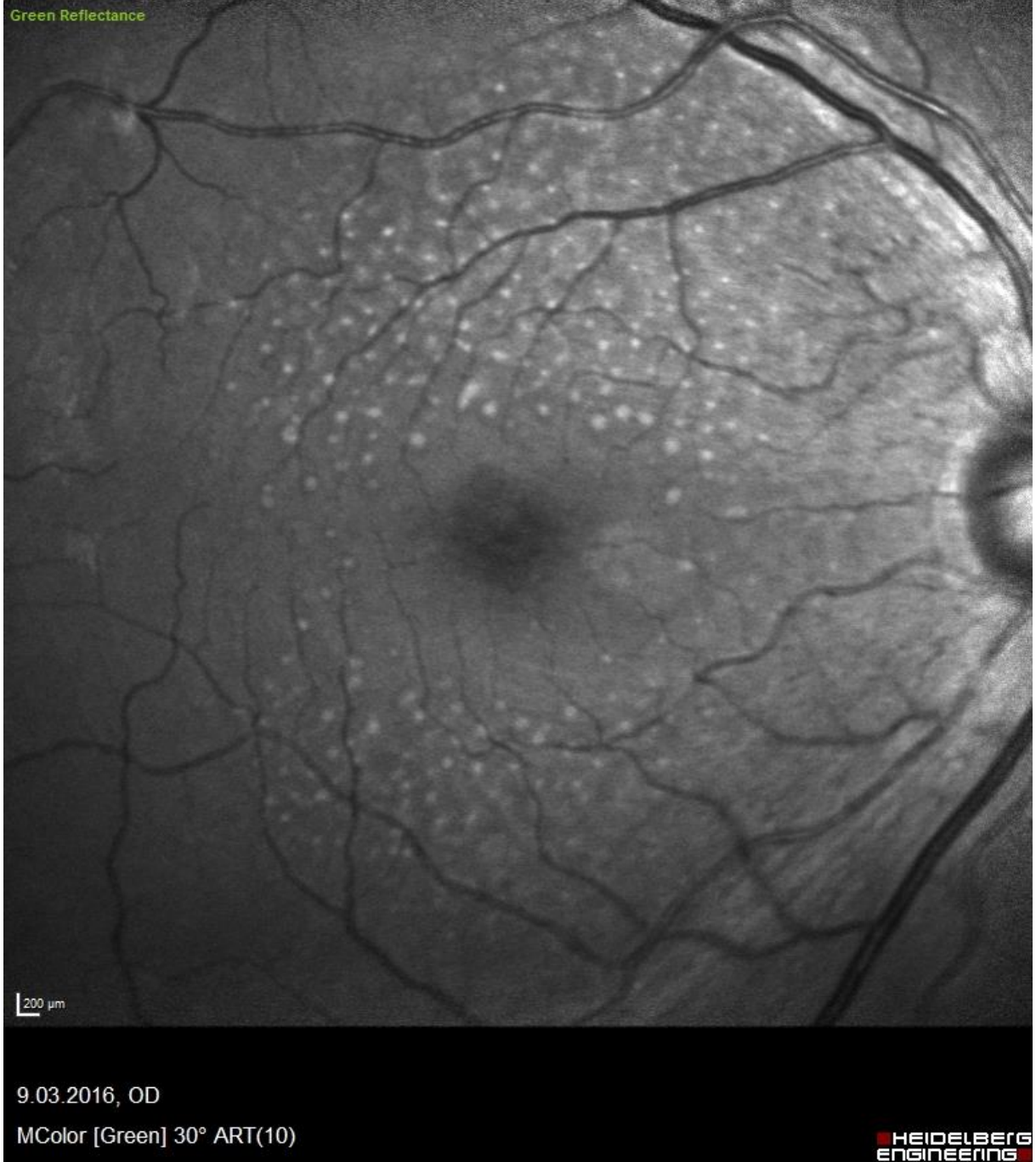


Resim 5: OKT RPD görüntüsü

Günümüzde halen bir gözde RPD mevcudiyetini belirtmek için en az kaç lezyon alınması gerektiğine dair bir fikir birliğine ulaşılamamıştır. Prevalans çalışmalarında bu sebeple farklı sonuçlar izlenebilmektedir (77).



Resim 6-7: RPD OKT kesit görüntüsü



Resim 8

Fundus Oto Flöresans(FOF)

FOF ışık yanıtıyla eksite edilen retinanın kendi flöresansını değerlendiren ve görüntü elde eden bir metottur. Flöresansın ana kaynağı RPE'de yer alan lipofuksin pigmentidir. İlk olarak retikuler paternde azalmış otoflöresansta, etrafı hiperflöresan halo ile çevrili lezyonlar

erken evre YBMD hastalarından başlayarak fark edilmiştir. İlerleyen çalışmalarda yüksek sensitivitede RPD saptayabilmesiyle FOF öne çıkan bir görüntüleme olmuştur (78).

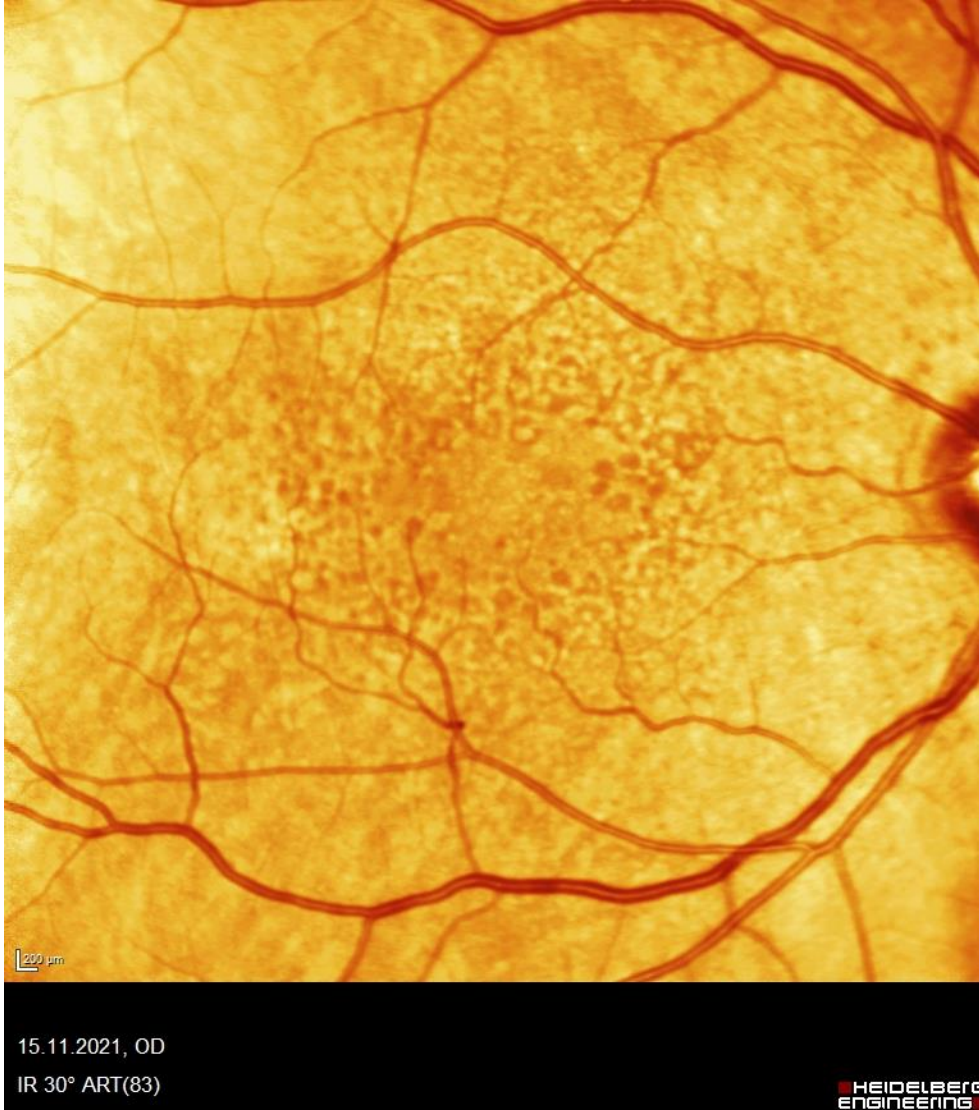


Resim 9: FOF RPD görüntüsü

Renkli Fundus Fotoğrafı (FF)

RPD ilk kez renkli fundus fotoğraflarında beyaz-sarı 125-250 mikrometre boyutlarında lezyonlar olarak görülmüştür. Mavi ışıkta daha belirgin görünürler ve daha az

çıkıntılı olmalarıyla, daha beyaz görüntüleriyle klasik yumuşak drusenden ayrılabilirler. Genellikle superior perifoveal yerleşirler (79).



Resim 10: Renkli fundus görüntüsü, RPD'li hasta

Konfokal Tarayıcı Laser Oftalmoskopideki Yakın Kızılötesi Yansıtıcılık

Bu görüntüleme daha derin ışık geçişi ile daha derin dokuların görüntülenmesine izin veren bir görüntülemedir. Kamera bazlı sistemlere göre daha detaylı ve yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilebilmektedir. Genellikle hiporeflektif lezyonlar olarak tanımlanan RPD'nin bu görüntüleme metoduyla izo ya da hiperreflektif bir çekirdeğinin olabileceği gösterilmiştir. Laser görüntüleme sistemlerinin gelişmesiyle literatürde artan sensitivitede RPD saptanabilirliği gösterilmiştir (80, 81).

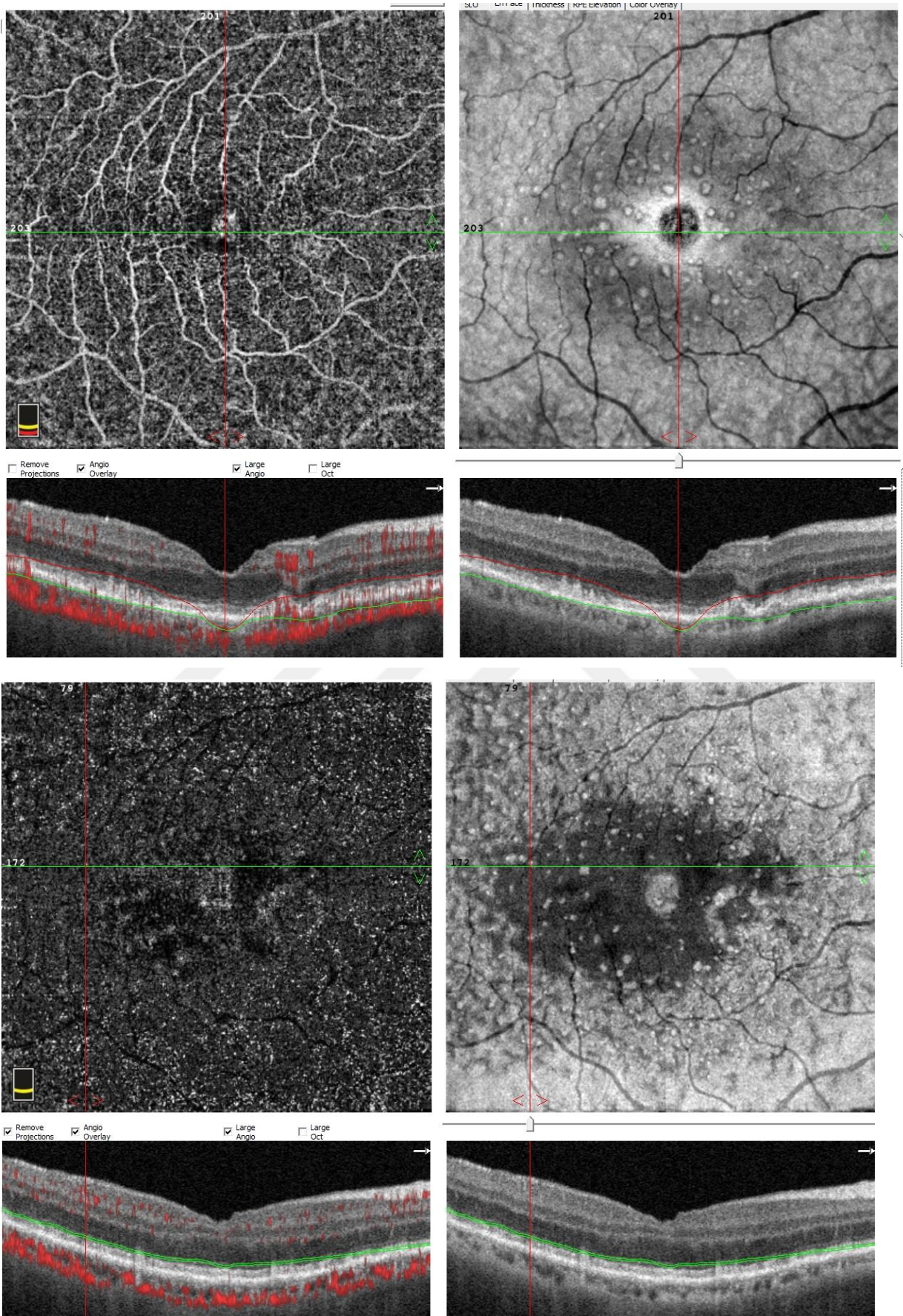
RPD FF'da zayıf iç içe geçmiş şeritler şeklinde, nokta benzeri birikimler şeklinde veya mid-periferel globüller şeklinde görülebilmektedir. Bu özelliklerine göre de dallanan, ayrık ya da birleşik olarak çevrilebilecek şekilde gruplara ayrılmışlardır. Yine FF'nun RPD varlığını saptamadaki başarısı çeşitli çalışmalarda farklılık göstermektedir (82).

Anjiyografik Teknikler ve OKTA

Girişimsel anjiyografik yöntemlerde ne flöresein ile ne de indosiyenin ile hiperflöresans vermezler. Klasik drusen ise erken dönemde parlak görüntü vermesiyle ayrılabilir. İndosiyenin anjiyografide retiküler paternde hipoflöresans izlenebilir.

Girişim gerektirmeden anjiyografik görüntüleme sağlayan optik Koherens tomografi anjiyografi (OKTA)'da ise süperfisyel ve derin koroidal pleksusun azaldığı, koryokapillaris yoğunluğunun azaldığı ve daha düşük akım olduğu önerilmiştir; ancak halen daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

OKTA güncel literatürde en çok çalışılan görüntüleme metotlarından birisidir. Multipl A ve B tarama OKT görüntülerinden yararlanır ve diğer anjiyografik cihazlar gibi boyar maddeye ihtiyaç duymaz. OKTS hareket algılamasına dayanır, iki OKT çekimi arasındaki korleasyon yoğunluğu farkına göre görüntüleme sağlar. Hem retinal vasküler yapıların görüntülenmesine izin verir, hem de koroidal vasküler yapının ve özellikle koryokapillarisin de görüntülenmesine izin verir (83).



Resim 11: OKTA kesitlerinde ve en-face RPD görüntüsü

	Smith ve ark.(84)	Ueda-Arakawa ve ark.(85)		De Bats ve ark.(86)		Chan ve ark.(87)	
	Sensitivite, %	Sensitivite, %	Spesifite, %	Sensitivite, %	Spesifite, %	Sensitivite, %	Spesifite, %
FF	88	75,7	100	33,1	91,9	34,5	99,7
OKT	-	94,6	98,4	99,3	100	89,7	97,6
IR	95	94,6	91,8	84,6	100	100	97,6
FOF	86	86,5	95	73,2	96,7	74	100

Tablo 1: Çeşitli görüntüleme metotlarında RPD saptanabilme sensitivite ve spesifiteleri karşılaştırması. (FF: Fundus Foto, OKT: Optik koherens tomografi, IR: Infrared Görüntüleme, FOF: Fundus otoflöresans)

Tüm görüntüleme metotları değerlendirildiğinde RPD saptamada sensitivitesi ve spesivitesi en yüksek olan OKT olarak karşımıza çıkmaktadır (94,6; 98,4).

Epidemiyoloji ve Klinik İlişki

RPD oldukça sık karşımıza çıkan bir bulgu olabilse de prevalansı net olarak bilinmemektedir. Blue Mountain çalışmasında 49 - 97 yaş gönüllüler değerlendirilmiştir ve insidental RPD sıklığı % 1,95 olarak saptanmıştır. Benzer şekilde Beaver Dam çalışmasında 15 yıllık kümülatif insidans % 3 olarak saptanmıştır. Bu çalışmalarda değerlendirme metodu olarak FOF kullanılmıştır ve sadece santral alan değerlendirilmiştir, bu sebeple gerçek RPD sıklığı bu oranlardan daha yüksek olabilir (65, 88).

Multimodal görüntüleme kullanan 60 yaş ve üzeri katılımcıların değerlendirildiği bir araştırmada RPD sıklığı % 23 sağlıklı gönüllülerde, % 32 tüm katılımcılarda saptanmıştır. Fransa'dan bir araştırmada öncekini doğrular nitelikte veriler elde edilmiştir ve yaşlanan nüfusla RPD sıklığı artış göstermiştir.

RPD ve klinik ilişki daha çok ileri evre YBMD'de karşımıza çıkmaktadır. Özellikle CA ve KNV bulunan ileri evre YBMD olgularında RPD'nin bulunma sıklığının arttığı bildirilmiştir. Bazı yazarlar ise RPD varlığının YBMD progresyonuyla korele olduğunu önermektedir. RPD YBMD'nin tüm evrelerinde bir fundus bulgusu olabilir. ALABAMA çalışmasında erken evre YBMD'de sıklık % 49 saptanmışken bu oran ileri evre YBMD'de % 79'a varmaktadır; ancak bu çalışmada 1 RPD varlığı bile pozitif kabul edilmiştir. En az 5

anlamli lezyon calisma grubunu olusturduǧunda tüm olguların ancak % 49'u RPD pozitif gruba girmiştir. Yeni tanı alan KNV olgularında RPD sıklığı % 17 ile 58 arasında bildirilmiştir. Tüm KNV tipleri ile RPD arasında ilişki bildirilmekle beraber; özellikle retinal anjiomatoz proliferasyon olarak bilinen Tip 3 KNV ile daha fazla RPD birlikteliği saptanmıştır. İleri evre YBMD hastalarının CA ve KNV olarak iki grupta incelendiği başka bir ilaç çalışmasında ise KNV gelişme oranının RPD olan grupta CA gelişme oranına göre yüksek olduğu bulunmuştur (89).

Anti-VEGF ile tedavi gören hastalarda RPD varlığı ile tedavi yanıtı arasında net bir ilişki saptanmasa da daha fazla KNV gelişimiyle açıklanabilecek maküler atrofi sıklığı yüksek görülmektedir. Geniş lekli bir çalışmada CA gelişimi RPD olan grupta anlamlı fazla bulunmuştur (90).

Erken YBMD'de RPD Prevalansı

Erken YBMD'de 4 adet popülasyon çalışmasında 4297 katılımcıda % 0,4, orta düzey YBMD'de ise 2694 katılımcıda % 1,8 saptanmış. Bu ilk çalışmalarda yalnızca FF kullanılmış ve FF'nun saptamadaki eksik kalan yönleri çalışma sınırlılığı olarak belirtilmiş. OKT'nin de yer aldığı popülasyon bazlı çalışmalarda Japonya'da erken-orta YBMD hastalarında % 15, Fransa'da %30 olarak bildirilmiş (91).

RPD sıklığını belirleyen çalışmalarda ortaya çıkan sapmaların en büyük sebebi temel alınan lezyon sayısının ve büyüklüğünün çalışmalar arası farklılığıdır. Yüksek sayı bildiren çalışmaların yanında genel olarak 5 ve üzeri lezyon RPD açısından pozitif kabul edilmektedir ancak bir fikir birliği bulunmamaktadır.

Neovasküler YBMD'de RPD Prevalansı

Erken çalışmalarda yeni tanı alan nYBMD hastalarında RPD sıklığı % 24 olarak bildirilmiştir. RAP barındıran alt gruplar değerlendirildiğinde RPD sıklığı % 54 gibi daha yüksek bir oranda saptanmıştır. Literatürdeki devam çalışmaları nYBMD'de değişken oranlarda RPD sıklığı bildirmektedir (% 7 - % 17). Yine bu çalışmalarda da RAP grubu ayrıca değerlendirildiğinde RPD'nin daha yüksek oranda karşımıza çıktığı görülmektedir. Subgrupları değerlendiren bazı çalışmalarda polipoidal koroidal vaskülopati saptanan

gözlerde RPD'nin anlamlı daha düşük saptandığını önermektedir. FOF bazlı bir çalışma olan AREDS 2'de 1246 gözde RPD sıklığı % 19 olarak literatürde yer almaktadır (92, 93).

Erken YBMD'de daha az bildirilen RPD sıklığı, eksüdasyon materyaline bağlı görüntüleme sorunlarına bağlanabilir. Bir başka teori de neovaskülarizasyonun geliştiği bölgedeki RPD sayısının azalması ve solması şeklindedir. Bu durumun aydınlatılabilmesinde ileri YBMD gelişen hastalarda, hastalığın erken evresinde olabilecek diğer gözlerinin görüntülenmesi ve değerlendirilmesi faydalı olabilmektedir. 2103 hastanın toplandığı bir derlemede tek gözlerinde ileri YBMD bulunan hastaların diğer gözlerinde RPD sıklığı % 38 olarak değerlendirilmiştir. Değerlendirmenin OKT bazlı yapıldığı aynı tanımda hasta grubunun yer aldığı bir diğer derlemede RPD oranı % 44 olarak saptanmıştır (54, 94).

Atrofik YBMD'de RPD Prevalansı

GAP (The Geographic Atrophy Progression) çalışması, Almanya'da GA ile takip edilen YBMD hastasında en-face bazlı görüntülemelerle RPD araştırması yapmıştır ve sıklığı % 62 olarak saptamıştır. Çeşitli daha düşük katılımcılı çalışmalarda RPD bulunma oranı % 94 kadar yüksek sayılarda da bildirilmiştir (78).

Yakın zamanlı klinik araştırmalarda çift taraflı CA'ye sahip 295 katılımcının % 45'inde RPD saptanmıştır. Tek taraflı CA'ye sahip 201 gözün ise % 86'sında RPD görülmüştür. Ancak bu çalışmalarda en az yarım disk çapında CA içeren gözler dahil edilmiş ve daha küçük CA bulunan gözlerdeki sıklığı dolayısıyla çalışmada yer almamıştır. (95)

CA'nin yerleşmesiyle RPD'nin regrese olabileceği de düşünüldüğünde net oranın saptanması her zaman mümkün olmayabilir (95).

Sınıflandırma

İlk sınıflandırmada renkli fundus fotoğrafları kullanılmıştır. Ne kadar RPD varlığının pozitif olarak kabul edileceği konusunda bir fikir birliği olmasa da 5 ve üzeri lezyon genellikle anlamlı kabul edilmektedir. Zweifel ve arkadaşları 3 evreli bir sınıflama önermişlerdir. Bu evrelemede OKT görüntülerinde hiperreflektif materyal yoğunluğu ve EZ distorsiyonu miktarına göre RPD progresyonu takip edilmektedir. Evre 1'de RPE ile EZ

arasında diffüz granüler tarzda hiperreflektif materyal birikimi mevcuttur. Evre 2’de ise EZ’nin kontürünü bozacak şekilde RPE-EZ arası daha yoğun birikim mevcuttur. Evre 3’te RPD konik lezyonlar halini alır. Bazı yazarlar bu sisteme RPD’nin gerilemesiyle kalan gölge lezyonları yeni bir evre Evre 4 olarak eklemektedirler (96).

Fundus görüntüsüne göre genellikle perifoveal yerleşen kıvılcık laser oftalmoskop ile hiporeflektif görüntü veren lezyonlar dot-nokta PD olarak tanımlanmıştır. Yine perifoveal yerleşen sarı renkli birleşme meyilli görüntü verenler ise ribbom-kurdele PD olarak tanımlanmıştır. Daha nadir olarak ekstrafoveal olarak karşımıza çıkanlara ise periferik PD denmiştir.

RPD’nin Diğer Birliktelikleri

YBMD Özellikleri ile RPD İlişkisi

Erken evre YBMD’de drusen ve pigment değişiklikleri beklenmektedir. Bunlar hem hastalık ciddiyeti ile ilişkili parametrelerdir hem de komplikasyonları öngörmede takipleri önemli bulgulardır. RPD olan hastalar bu erken değişiklikleri daha fazla göstermektedirler (97).

FOF ile RPD varlığını değerlendiren AREDS 2 çalışmasında drusen büyüklüğü, drusen alanı ve pigment düzensizliği RPD içeren grupta daha fazla bulunmuştur. Karetenoidlerin araştırıldığı post-menopozal hasta grubundan oluşan YBMD hastalarında, RPD bulunan gözlerde hiperreflektif odak fazlalığı dikkat çekmiştir. Yine diğer gözlerinde nYBMD ve KNV gelişimi bulunan hastalarda pigment bozukluklarının RPD olan grupta daha fazla olduğu görülmüştür. Ancak bu çalışmalarda gözlenen en büyük eksik, drusen boyutunun değerlendirilmemiş olmasıdır. Gürültülü bulguların sebebinin diğer bulgularla mı RPD ile mi olduğu net ayırt edilememektedir (29, 98).

Koroidal Kalınlık-RPD İlişkisi

İlk histolojik çalışmalardan itibaren RPD ile koroid ilişkisi gündeme gelmiştir. Koroidal vasküler yapıların kaybı ve stromal fibrozisin RPD’li hastalarda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Daha derin OKT görüntülemesi sağlayan EDI modu kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalarda koroid ile ilişki saptanmıştır. RPD bulunan gözlerde gecikmiş yama dolun defektleri görülmüştür ve RPD’ler daha çok koroidal watershed alanlarda ortaya çıkmaktadır (99, 100).

RPD bulunan gözlerde diğer gözlerin durumu da önemlidir. Diğer gözleri nYBMD olan RPD'li hastaların olmayanlara göre koroidleri daha ince saptanmıştır. Koroid kalınlığı hakkında RPD'li gözlerde incelendiğini ya da değişmediğini belirten birçok çalışma bulunmasına rağmen, net bir fikir birliği bulunmamaktadır ve daha çok çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır (101).

Koryokapillaris Akım Bozukluğu ve RPD ilişkisi

Yukarıda da bahsedilen koryokapillaris yama dolun defektlerinin RPD ile ilişkili olabileceğini bildiren çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Bu defektler hakkında birçok spekülasyon da bulunmaktadır. RPD ile ilişkili olabileceği gibi maske ya da blokaj etkisiyle bu defektlerin oluşabileceği de akılda tutulmalıdır. Koroid akımını da gösteren OKTA görüntülemeleri ile drusen ilişkili ve RPD ilişkili bir gölge etkisinin olabileceği önerilmektedir (102, 103).

OKTA görüntülemenin kullanıldığı yakın zamanlı çalışmalarda RPD bulunan ancak herhangi bir YBMD bulgusu olmayan gözlerde kan akımının bir göstergesi olan vasküler dansitenin koryokapillaris azaldığı gösterilmiştir. Pigment düzensizliği bulunmayan yalnızca orta boy drusen içeren erken YBMD hastalarında da RPD olan gözlerde vasküler dansitenin azaldığı saptanmıştır (83, 104).

Fotoreseptör Yapısal Değişiklikleri ile RPD İlişkisi

RPD'nin bulunduğu bölgede dış retina tabakalarında bozulma olabildiği gösterilmiştir, bu durum fotoreseptör sağlığının da etkilenebileceğini düşündürmektedir. Güncel adaptif laser görüntüleme kullanan çalışmalarda özellikle kon reseptör yoğunluğunun RPD ile ilişkili ve EZ hasarlarının görüldüğü bölgelerde azaldığı gösterilmiştir. Aynı teknolojiyi kullanan bir çalışmanın detaylı incelemesinde dış segment defekti olmasa dahi, fotoreseptör yanıtının RPD ile ilişkili bölgelerde kesintiye uğradığını göstermektedir (105).

Fotoreseptör sağlığı multifokal ERG kullanan çeşitli çalışma grupları tarafından da incelenmiştir. EZ yansıtıcılığıyla kon fotoreseptör fonksiyonu arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır; ancak RPD ile bu durum arasında yakın bir ilişki görülemediği. Konu hakkındaki birçok başka çalışmada da RPD ile ilişkili alanların fotoreseptör tabaka kalınlıklarının değişiklik gösterdiği görülmüştür (106, 107).

Görme ve Retinal Fonksiyonlar ile RPD İlişkisi

Literatürde birçok çalışma RPD bulunan ileri olmayan YBMD'li gözlerde görme keskinliğinde, kontrast duyarlılığında, renkli görmede, RPD bulunmayan gözlere göre daha fazla azalma tarif etmişlerdir. Bunun aksini iddia eden ve anlamlı fark bulunmadığını belirten çalışmalar da mevcut olmakla beraber, bahsedilen parametrelerin değerlendirilmesinde yaş, cinsiyet gibi birçok karıştırıcı faktörün de yer aldığı unutulmamalıdır (82, 108).

Genellikle mezopik ya da fotopik koşullarda gerçekleştirilen mikroperimetri de makular sağlığı değerlendirmede kullanılan testlerden biridir. Yalnızca RPD bulunan gözlerde bile daha çok kon sensitivitesini gösteren bu testin, sağlıklı gözlere göre etkilenmiş olduğu bildirilmiştir. Testteki bozukluğun RPD lezyon sayısı ile ilişkili olduğu ayrıca not edilmiştir. Daha çok rod yanıtını değerlendiren skotopik yanıt ve karanlık adaptasyonda RPD'li hastalarda bozulma ve normal retina fonksiyonunun yavaşlamasının olduğu görülmüştür (109, 110).

Çevresel ve Sistemik Faktörlerle RPD İlişkisi

Genetik RPD ilişkisi en güçlü olan parametrelerden biri gibi görünse de sigara, vücut kitle indeksi, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların da YBMD patofizyolojisinde yer aldığı düşünülmektedir. Bu faktörlerin hepsi RPD ile birlikteliği değerlendirilen ve sorgulanan parametrelerden olmuştur. Çevresel ve sistemik hastalıkların etkisinin ortaya konmasının RPD oluşumundaki mekanizmaların aydınlatılmasında etkisi olacaktır (111).

Birçok toplum bazlı kohort RPD ilişkisi hakkında en kıymetli verileri sağlasa da YBMD ciddiyeti ile ilişkili bir alt değerlendirme yapmamışlardır. AREDS 2 çalışmasında FOF dayılı tanıyla RPD saptanan katılımcıların, anlamlı yüksek çoğunluğunun önceden ya da çalışma zamanında sigara kullanıcısı olduğunu belirtilmiştir. Ardından gelen birçok çalışmada bu bağlantının mevcudiyeti net olarak kanıtlanamamıştır (112).

Literatürdeki birçok çalışma; vücut kitle indeksi, hipertansiyon, diyabet, kolesterol yüksekliği, kardiyovasküler hastalıklar çeşitli sistemik ilişkisi de olan tablolarla beraber RPD birlikteliğini ilişkilendirmeye çalışmıştır. Bu parametreler arasından yalnızca diyabet varlığının RPD olan grupta daha düşük, hipertansiyon varlığının ise daha yüksek olduğunu söyleyen CATT dışında anlamlı bir rapor bulunmamaktadır (79, 82).

Bir diğerk yakın zamanlı çalışma ise böbrek fonksiyonları ile RPD mevcudiyetinin anlamlı birlikteliğe sahip olduğunu belirtmektedir. Ancak bu çalışmada da diğerk sistemik ilişkileri raporlayanlarda olduğu gibi sınırlı bir istatistiksel anlamlılık bildirilmiştir (113).

Tedavi ve Hastalık Progresyonunda RPD'nin Etkisi

RPD'nin ileri evre YBMD hastalarında daha fazla saptanmasıyla geç YBMD için önemli bir risk faktörü olduğu dşnlmştir. Karıştırıcı faktörlerin oldukça fazla olduğu YBMD ve RPD birlikteliğinin prognoza etkisinde uzun süreli takip çalışmalarına gerek doğmuştur.

RPD'nin hastalık prognozuna ve geç YBMD'ye dönüşmesini değerlendiren birçok çalışmada genellikle daha erken bulgular gösteren diğerk gözler de araştırmaya konu olmuştur. Pumariega ve arkadaşları 271 gözü değerlendirdiklerinde RPD bulunan diğerk gözlerdeki geç YBMD gelişme ihtimalinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır. İki yıllık 670 gözün incelendiği CATT çalışmasında, RPD bulunan diğerk gözlerde geniş drusen ya da pigment anomalileri bulunması halinde, geç YBMD riskinin daha da arttığını göstermişlerdir. Tedavi yanıtı değerlendiren ve gereğinde Ranibizumab uygulamasını içeren HARBOR'da, RPD bulunan diğerk gözlerde, bulunmayanlara göre 2 kat fazla geç YBMD gelişebileceği analiz edilmiştir (114, 115).

Renkli FF ile RPD'nin saptandığı geniş katılımcılı bir çalışmada RPD bulunan 33 gözde, yumuşak drusen bulunan 1174 göze göre, 15 yıl içinde geç YBMD gelişme olasılığı anlamlı yüksek saptanmıştır. Blue Mountains Eye Study de benzer şekilde diğerk erken evre YBMD lezyonları bulunan hastalarda, RPD bulunanların 5 yıl sonunda daha fazla oranda geç YBMD geliştirdiği bildirilmiştir. Ancak bu çalışmalarda diğerk lezyonların varlığına göre bir sınıflandırma yapılmamıştır (116).

AREDS 2 de bilateral drusene sahip hastalarda beraberinde RPD de bulunanlarda, 1 yıllık kısa periyotta bile 2,6 kat daha fazla ileri evre YBMD gelişme ihtimali olduğunu önermektedir. Aynı çalışmada geniş drusen ile RPD birlikteliğinin CA için 4 yıllık takipte bir risk faktörü olmadığı da eklenmiştir (61).

İleri YBMD gelişmesiyle RPD varlığı arasında çeşitli çalışmalarda bir ilişki gösterilmiş olsa da kanıt düzeyini artırabilmek için halen geniş ölçekli ve diğer karıştırıcı faktörlerin de değerlendirildiği araştırmalara ihtiyaç vardır.

Birçok çalışma RPD ve YBMD birlikteliğinde CA gelişme miktarı ve hızını değerlendirmiştir. Marsiglia ve arkadaşları RPD bulunan bölgelerde CA'nin daha sık geliştiğini bildirmişlerdir. Daha fazla katılımlı iki ayrı çalışmada da yine başlangıçta RPD bulunan gözlerde daha hızlı CA ortaya çıktığı ve lezyon boyutunun hızlı artış gösterdiği saptanmıştır (117).

RPD de YBMD'nin temel bulgularından olan drusen gibi zaman içinde değişiklik gösterebilmektedir. Takiplerde RPD lezyonlarının kalınlaşma eğiliminde olduğu ve solabildiği rapor edilmiştir. RPD'nin gerilediği bölgede, sınırlı sayıda çalışma daha fazla EZ ve dış retinal atrofi görülebildiğini, fotoreseptör incelmesinin ise RPD'nin olduğu bölgelerde daha fazla görülebildiğini bildirmiştir (73, 96).

Genetik YBMD ve Retiküler Psödodrusen İlişkisi

Genetik ve epidemiyolojik araştırmalar YBMD'deki genetik aktarımın rolünü ortaya koymaktadır. Otuz dört lokustaki 52 genetik varyasyon YBMD'de etkili olduğu saptanan kalıtım olarak karşımıza çıkmaktadır. İlk araştırılan lokus 1 numaralı kromozomda yer alan complement factor H (CFH) geni, rs80029 ve rs106117 tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olmuştur. İkinci araştırılan age-related maculopathy susceptibility 2 (ARMS2) geni ve rs1049092 SNP'si olmuştur. RPD ile genetik ilişki ise halen net aydınlatılamamıştır (118-121).

Bahsedildiği gibi ailede YBMD öyküsü hastalık gelişme riskini artırmaktadır, etkilenen bireylerin 1/5'inde aile öyküsü saptanmıştır. Beaver Dam çalışmasında tek bir genin YBMD vakalarında görülen değişkenliğin % 55-57'sinden sorumlu olabileceğini bildirmiştir. Yine aynı çalışmada ileri yaşlı bir aile bireyinde YBMD olduğunda genç kardeşin 10 kat daha riskle YBMD geliştirebileceği raporlanmıştır. Rotterdam çalışması da birinci derece aile bireylerinde atrofik ya da ileri YBMD bulunan hastalarda 4 kat daha fazla YBMD gelişme riski olduğunu göstermiştir. Popülasyona atfedilebilir genetik risk yaklaşık % 23 olarak saptanmaktadır ve bu dört YBMD hastasından en az birinin genetik temelli olduğunu bize göstermektedir.

Yakın gen	Varyasyon	Fonksiyon
ARMS2/HTRA1	<i>rs10490924-T</i>	Kesin değil, mitokondriyal yolaklar
CFH	<i>rs10737680-A</i>	Kompleman
C2-CFB	<i>rs429608-G</i>	Kompleman
C3	<i>rs2230199-C</i>	Kompleman
TNFRSF10A	<i>Rs13278062-T</i>	Hücre ölümü
CETP	<i>rs1864163-G</i>	Lipoprotein metabolizması
RAD51B	<i>rs8017304-A</i>	Homolog rekombinasyon
VEGFA	<i>rs943080-T</i>	Anjiogenez
TGFBR1	<i>rs334353-T</i>	Çeşitli
APOE	<i>rs4420638-A</i>	Lipoprotein metabolizması
SLC16A8	<i>rs8135665-T</i>	Laktat taşıma
COL8A1/FILIP1L	<i>rs13081855-T</i>	Ekstraselüler matriks
CFI	<i>rs4698775-G</i>	Kompleman
LIPC	<i>rs920915-C</i>	Lipoprotein metabolizması
TIMP3	<i>rs5749482-G</i>	Ekstraselüler matriks

Tablo 2: Literatürde yaşa bağlı makula dejenerasyonunda çalışılmış çeşitli riskli genetik varyasyonlar

İkiz çalışmaları YBMD gibi kompleks hastalıklarda tek gen etkisini kanıtlamaya yardımcı niteliktedir. Dizigotik ikizlere göre monozigotik ikizlerde daha yüksek konkordans saptanmıştır. Linkaj çalışmaları insan genomunda ilişkili multiple lokusu aydınlatmıştır. İki öne çıkan lokus 1q25–31'deki ARMD1 ve 10q26'daki age-related maculopathy susceptibility 2 (ARMS2) olmuştur. Belirli bölgelerdeki aday genlerin mutasyonları YBMD'de de olduğu gibi başlangıç noktaları olmaktadır. ARMD1'deki CFH de bu şekilde yakalanmıştır.

Kalıtsal makular distrofiler ile YBMD arasında çeşitli benzerlikler bulunmaktadır. Bu tablolardan sorumlu durumlar YBMD için aday genler olmuşlardır. TIMP3 mutasyonu OD Sorsby fundus distrofinine sebep olmaktadır ancak YBMD ile bir ilişki bu gende saptanmamıştır. EFEMP1 ilişkili mutasyonda Doyme retinal distrofininin kaynağıdır; ancak yine YBMD ile bir ilişki görülememiştir. Yine ABCA4 geninde mutasyon Stargardt hastalığının etiolojisinde yer almaktadır ve genç aile bireylerinde hastalık görülürken, yaşlı

üyelerde YBMD görülmektedir. Yine Stargardt benzeri hastalıklardan birinin sebebi olan ELOVL4 mutasyonu da YBMD hastaları için bir risk faktörü olarak sınıflanmıştır.

Bruch membranı beş katmanlı kollajen yoğun bir tabakadır ve bilindiği gibi damar ilerlemesi için bir bariyer vazifesi taşımaktadır. Ekstraselüler materyal birikmesiyle Bruch membran kalınlığı giderek artmaktadır. Elastin kodlayan genlerdeki SNP'ler polipoidal koroidal vaskülopati ile ilişkilendirilmiştir. Fibulin-5 bir hücre dışı materyaldir ve azalmış üretiminin Bruch membran bozukluğu ile YBMD'de etkili olabileceği düşünülmüştür. Hücre dışı matriksin yıkımı genellikle MMP enzimleri aracılığıyla olmaktadır. YBMD'de ise MMP9'un yaşla artış gösterdiği saptanmıştır.

Ekstraselüler matriks yıkımını artıran bir ısı şok proteini olan HTRA1 seviyesi, drusen etrafında yüksek saptanmıştır ve eksüdatif YBMD'de yüksektir. HTRA1 ilişkili bir mutasyonda homozigot bireylerde 9 kat yüksek eksüdatif YBMD riski saptanmıştır. Bu mutasyon Amerikalı, Avusturyalı ve Asyalı popülasyonlarda yaklaşık 10 kat YBMD gelişim riskiyle çeşitli çalışmalarda ilişkilendirilmiştir. Daha önce saptanan ve ilk mutasyonlardan olan CFH ve önemli bir çevresel risk faktörü olan sigara üzerine aditif etkili olduğu görülmüştür. LOC387715 ARMS2 lokusunda yer alan, fonksiyonu bilinmeyen ve HTRA1 ile bitişik bir lokustur. LOC387715(A69S) polimorfizmi ile YBMD arasında güçlü bir ilişki mevcuttur. Tek serin bulunması ile 3 kat, iki serin bulunması ile 6 ile 12 kat yüksek YBMD gelişim riski bildirilmiştir. Alman popülasyonunda değerlendiren bir çalışmada homozigot olarak bahsedilen mutasyon saptandığında, eğer CFH de homozigot mutasyona uğramışsa 58 kat YBMD gelişim riski gösterilmiştir. Hiç sigara içmeyenlerle sigara içenler kıyaslandığında; eğer A69S heterozigotsa risk 3 kattan 6 kata; homozigotsa 10 kattan 27 kata çıkmaktadır. Bu güçlü ilişkiye rağmen geniş serili popülasyon çalışmalarına ve diğer etnisitelerde değerlendirmeye ihtiyaç vardır.

ApoE lipofilik bir glikoproteindir ve kolesterol transportunda görev alır. Çok düşük dansiteli yağ asitlerinin taşınmasında rol almaktadır. Ateroskleroz ile benzer patofizyolojinin YBMD'de görülmesi üzerine bu yağ metabolizması da değerlendirilen parametrelerden olmuştur. YBMD'den etkilenen bireyler E4 izoformun daha düşük seviyelerde olduğu görülmüştür.

Oksidatif stres ve YBMD ilişkisi bilinen bir antitedir. Önemli bir oksijen radikal zararsızlaşma basamağında yer alan SOD enzimi ilişkili SOD 2 geni polimorfizmi çeşitli çalışmalarda ilişkili saptanmıştır.

YBMD’de genetik etki yadsınamaz bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. RPD de hastalık progresyonunda etkili olan ve birçok başka faktörle ilişkisi kanıtlanmış bir görüntüleme özelliği olarak; genetik birlikteliği ile de araştırma konusu olmuştur. Geniş popülasyon bazlı çalışmalarda RPD bulunan ve bulunmayan YBMD hastaları incelenmiştir. Çalışmaların çoğunda RPD tanısında yalnızca FF kullanılmış olsa da ilk bakılan anlamlı parametre CFH rs1061170 SNP’si olmuştur (116). Melbourne Collaborative Cohort Study (MCCS) adlı çalışmada 5,208 hasta değerlendirilmiştir ve ARMS2 rs10490924; CFH rs1061170; HTRA1 rs11200638-rs3793917; CFH rs393955-rs2274700 SNP’lerinde RPD olan ve olmayan grup arasında anlamlı fark bulunmuştur (91). Yalnızca ARMS2 rs10490924 ve CFH rs1061170 değerlendiren Blue Mountains Eye Study (BMES)’de yine anlamlı fark saptanabilmiştir (122). ALIENOR çalışması ARMS2 rs10490924 ve CFH rs1061170’nin yanında lipase C (LIPC) rs10468017 SNP’ni de anlamlı farklı saptamıştır. Bu çalışmalarda RPD bulunan hasta sayıları genellikle düşüktür ve beraberindeki YBMD varlığı değerlendirilmemiştir (112).

Rotterdam çalışması bir popülasyon bazlı kohort çalışmasıdır ve yalnızca YBMD hastaları üzerinedir. Yalnızca ARMS2 rs10490924 SNP ile ilişki saptanmıştır; ancak aynı ilişki CFH ile gösterilememiştir; literatüre ek olarak VEGFA rs943080 SNP ile de anlamlı farklılık saptanmıştır (123).

Bir diğer geniş katılımcılı YBMD çalışması Comparison of AMD Treatment Trials (CATT) ‘da yalnızca ARMS2 rs10490924 polimorfizmi ile ilişki saptanmıştır (124). Ardından literatürde bu durumu destekleyen çalışmalar yerini almıştır (125). Bunların hepsiyle çelişecek şekilde geç YBMD değerlendiren 519 katılımcılı bir çalışmada herhangi bir genle ilişkili bir birliktelik saptanamamıştır. Ancak bu durum ileri YBMD’de RPD’nin gerilemiş ya da gizlenmiş olabileceği düşünülerek değerlendirilmelidir. Orta düzey YBMD değerlendiren katılımcılarla ilişkili bir çalışmada CFH ile yetersiz birliktelik görülürken ARMS2 yine öne çıkmaktadır. AREDS 2 geniş katılımcılı değerli çalışma da ARMS2 ve RPD ilişkisini desteklemiştir. Genom düzeyi çalışmalar daha ilişkili birçok varyasyonun varlığını ileride gösterecektir (61, 126, 127).

YBMD ile 10q26 lokusu arasındaki ilişki ilk linkaj çalışmalarından bu yana gösterilmiştir ve ardından gelen birçok çalışma ile de doğrulanmıştır. Literatür incelendiğinde bu bölgedeki ARMS2 alanı ve mevcut tez çalışmasının konusunu oluşturan rs10490924 varyasyonu da ortak saptanan risk faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır.

Retiküler psödodrusen yaşa bağlı makula dejenerasyonunda önemli bir risk faktörüdür. Multimodal görüntüleme sistemlerinin gelişmesiyle bu ilişki daha net ortaya konabilmiştir. Güncel literatür değerlendirildiğinde ilişkisi saptanan bir diğer risk faktörü olarak tek nükleotid varyasyonları karşımıza çıkmaktadır.

Bu çalışma ile kuru tip YBMD hastalarında OKT, OKTA ile retinal ve koroidal vasküler değişikliklerin saptanması ve RPD olan hastalar ile RPD olmayan hastalar arasındaki farkın değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ayrıca RPD varlığı ile ARMS2 rs10490924 varyasyonu arasındaki ilişkinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmaya Ocak 2020 - Ocak 2022 arasında, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları retina birimine başvuran, kuru tip YBMD hastaları ile ve kliniğimize rutin göz muayenesi için başvuran yaşı ve cinsiyeti uyumlu sağlıklı ve gönüllü bireylerden oluşan kontrol grubu dahil edildi. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu (20-6.1T/21 karar nolu) izni sonrası başlanan çalışma, Helsinki Bildirisi ilkeleri ışığında gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen katılımcılardan yazılı olarak bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı. Prospektif ve kesitsel gerçekleştirilen bu çalışmada, Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tez desteğinden yararlandı.

Dahil edilme kriterleri

50 yaş ve üzeri, GA gelişmemiş yeni tanılı kuru tip 165 YBMD hastası çalışmaya dahil edildi. OKT, Infrared görüntüleme ve FOF ile yapılan değerlendirmede en az iki görüntüleme, RPD ile uyumlu en az 5 lezyonu bulunan hastalarda RPD varlığı pozitif olarak kabul edildi. Çalışma grupları şu şekilde belirlendi:

Grup 1 (50 hasta, 50 göz): RPD'nin eşlik ettiği kuru tip YBMD hasta grubu

Grup 2 (50 hasta, 50 göz): RPD'nin eşlik etmediği kuru tip YBMD olguları

Herhangi bir oküler patolojisi olmayan, oküler cerrahi geçirmemiş ve diyabet, hipertansiyon gibi retinal sağlığı etkileyebilecek yandaş hastalığı olmayan, yaş ve cinsiyet uyumlu, sağlıklı bireylerden oluşan 50 hastanın 50 gözü de kontrol grubu olarak belirlendi (Grup 3).

Çalışmaya katılan bireylere, en iyi düzeltilmiş görme keskinliği ölçümü (EİDGK), ön segment muayenesi, göz içi basıncı ölçümünü içeren detaylı oftalmik muayene yapıldı. % 1 Tropikamid (Tropamid, Bilim İlaç, Türkiye) ile pupil dilatasyonunu takiben arka segment muayenesi ve OKT, FOF; EDI mod OKT (Spectralis, Heidelberg Engineering, Heidelberg, Almanya) ve OKTA (AngioVue, RTVue XR Avanti SDOCT, Optovue, Fremont, CA, ABD) görüntülemeleri yapılarak, elde edilen veriler kaydedildi.

Dahil edilen hastalar Rotterdam çalışmasında belirtildiği şekilde evre 1 ve 4 hastalar dışlanarak evre 2-3 YBMD hastaları arasından seçildi. Hastalık evrelemede hastanın en ileri evredeki gözü değerlendirildi.

Dışlanma kriterleri

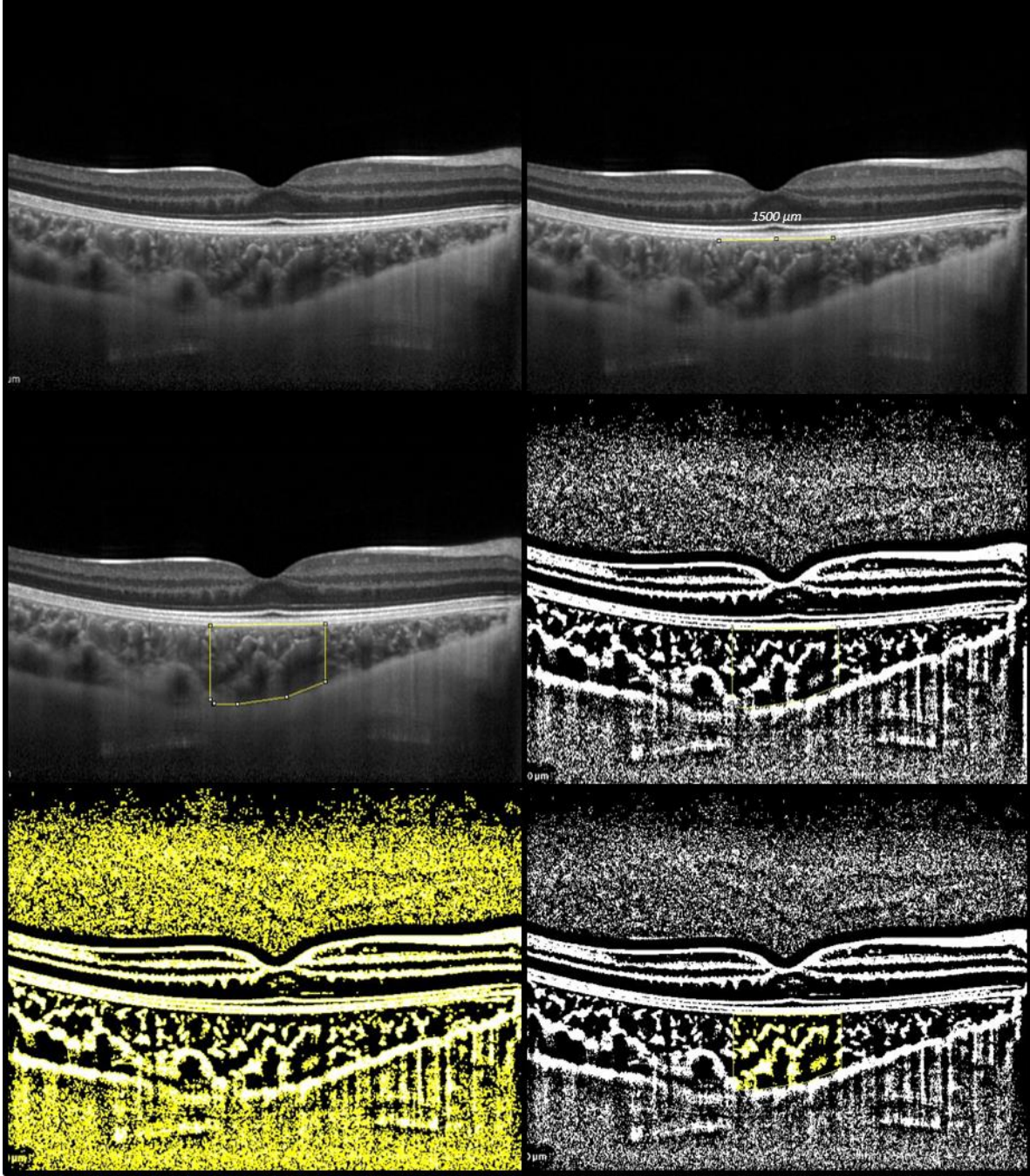
Oküler cerrahi ya da travma öyküsü olan, YBMD dışında herhangi bir retinal hastalık (diyabetik retinopati, retinal ven/arter tıkanıklığı, anjioid streaks vb.) tanılı, ileri derecede atrofik YBMD'ye sahip, 6 diyoptri ve üzerinde miyopiye sahip hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca, OKT ve OKTA görüntülemesinin optimal koşullarda yapılamadığı, ortam opasitesi nedeniyle iyi bir görüntünün elde edilemediği hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Görüntüleme

FOF OKT ve EDI mod OKT Görüntüleme

OKT görüntüleri için cihazın otomatik makula modunda B-scan kesit segmentasyonu 50 adet kesit görüntü üzerinden sağlandı. Koroid kalınlığı ölçümü için aynı cihazın EDI modu kullanılarak RPE dış kenarı ile sklerokoroidal sınır arasındaki mesafe manuel olarak ölçüldü. FOF ise 488 nm eksitasyonda gerçekleştirildi.

EDI mod OKT görüntülerinden 'Image J' programı (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) ile binarizasyon yöntemi kullanılarak KVI ölçümü yapıldı. Ölçüm için daha önceden tanımlanan yöntemle (128) fovea santral alınarak RPE ile koroid bileşkesinde 750 mikron temporal ve 750 mikron nazale çizgi çizilmesi sonrası, poligon yöntemi ile çizim yapılarak koroid - sklera bileşkesine kadar olan alan belirlendi. Tanımlandığı şekilde indeks; luminal alanın, total koroidal alana bölünmesiyle hesaplandı. Ölçümler iki kez gerçekleştirildi ve iki ölçümün ortalaması değerlendirilmeye alındı.



Resim 12: Koroidal vasküler indeksin Image j programı kullanılarak binarizasyon yardımıyla hesaplanması

OKTA Görüntüleme

Mezopik koşullarda 300×300 volümetrik, saniyede 70.000 A-scan modu ile 6×6 mm'lik alanda iki ayrı B-scan modu kullanıldı. Üreticinin yazılımı ile otomatik segmentasyon, hesaplama ve artefakt uzaklaştırma yapıldı. Tüm bireylerin görüntüleme öncesi eğer mevcutsa, kafein veya nikotin tüketimlerinin en az 2 saat öncesinde olduğundan emin olunduktan sonra; aynı deneyimli araştırmacı tarafından görüntüleme gerçekleştirildi.

Genetik çalışma

Çalışmaya dahil edilen olgularda ARMS geni rs10490924 polimorfizmi yeni nesil dizi analizi ile incelendi. Öncelikle olguların DNA'larında kendi tasarladığımız primerler ile ARMS 2 geni rs10490924 polimorfizmi bölgesi PCR temelli hedef zenginleştirme ile çoğaltıldı. Kütüphane hazırlama işlemleri için Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina, San Diego, CA) kullanıldı. Son ürünler yeni nesil dizileme cihazına (MiniSeq, Illumina) yüklenerek analiz edildi.

Örneklerin Toplanması ve DNA İzolasyonu

Olguların EDTA'lı tüpe alınan 2 ml kan örneklerindeki periferik kan lenfosit hücrelerine uygun DNA izolasyonu protokolü uygulandı. DNA izolasyonu için EZ1 DNA Blood kiti (Katalog No: 951034 QIAGEN, Germany) kullanılarak EZ1 Advanced XL Robotik DNA izolasyon cihazı ile aşağıda belirtilen adımlar sırasıyla gerçekleştirildi.

1. 200 µl kan kartuşa aktarıldı.
2. Kartuş EZ1 Advanced XL Robotik İzolasyon Cihazının kartuş bölümüne yerleştirildi.

3. İzolasyonu yapılacak örnek miktarına uygun süspansiyon oranları, sistem tarafından belirlendi. (Önerilen miktarda Magnetic Glass Particles (MGPs) Süspansiyonu, Proteinaz K, Elution Buffer, Wash Buffer 1 ve Wash Buffer 2 solüsyonları programda gösterildiği gibi cihaz otomatik olarak alır)
4. Kan örnekleri ve diğer kimyasal bileşenler yerleştirildi.
5. Daha sonra sistemin kullanacağı steril pipet uçları yerlerine yerleştirildi,
6. Bütün işlemler cihazın otomatik gerçekleştirileceği şekilde program çalıştırıldı.
7. Elde edilen DNA'ların spektrofotometre ile konsantrasyonu ölçüldü.
8. Daha sonra DNA saklama kutularına konularak - 20 °C 'de saklandı.

Araştırılan DNA Bölgelerinin Amlifikasyonu

Elde edilen DNA'lardan ARMS geni rs10490924 polimorfizmi bölgesi, kendi dizayn ettiğimiz primerlerle polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) temelli hedef zenginleştirme yöntemi kullanılarak çoğaltıldı.

Her bir örnek için PCR karışımı hazırlandı. PCR reaksiyonu için kullanılan malzemeler; ddH₂O ,10X buffer, dNTP, taq polimeraz, MgCl₂, örnek DNA'sı ve primerlerdir. Örnek başına kullanılan PCR karışımı bileşenlerinin oranları Tablo 2'de verilmiştir. Hazırlanan PCR karışımı ile ABI 2720 termal cycler kullanılarak uygun programlarda (Tablo 3) genlere ait tüm ekzonların amplifikasyonu gerçekleştirildi.

ddH₂O	10 µl
10x buffer	2,5 µl
MgCl₂	2,5 µl
dNTP mix	1 µl
Forward Primer	1,25 µl
Revers Primer	1,25 µl
Taq polimeraz	0,5 µl
DNA	5 µl
Toplam	25 µl

Tablo 3: PCR reaksiyonu bileşen oranları

İşlem Basamakları	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Denatürasyon	94 °C	5'	1
Denatürasyon	94 °C	30"	35
Bağlanma	57 °C	30"	
Uzama	72 °C	45"	
Son Uzama	72 °C	7'	1
Bekleme	4 °C	∞	

Tablo 4: Ampifikasyon İçin PCR Koşulları

Amplifiye Edilen DNA Bölgenin Değerlendirilmesi

PCR ürünlerinin amplifiye olup olmadığını değerlendirmek için % 2'lik agaroz jelde örnekler yürütüldü. Agaroz jel hazırlanırken 100 ml'lik erlen içine, 2 gr agaroz ve 100 ml 0.5X TBE eklenip mikrodalga fırında ısıtılarak agarozun çözülmesi sağlandı. Çözelti berrak bir görünüm alıncaya kadar karıştırıldı. Daha sonra üzerine 15 µl etidyum bromür eklendi. Ürünlerin yükleneceği kuyucukları oluşturuldu. Bunun için; içine taraklar yerleştirilen tabağa döküldü ve jel donmaya bırakıldı. Parafilm üzerinde 4 µl Orange G ve 4 µl PCR ürünü karıştırılarak kuyucuklara yüklendi. Amplifiye olan ürünlerin uzunluklarını değerlendirmek için örneklerin başı ve sonundaki kuyucuklara DNA ladder yüklendi. Örnekler 140 Volt akımda yürütüldükten sonra jel görüntüleme sistemi ile görüntüleri alındı.

PCR Ürünlerinin Pürifikasyon İşlemi

Jel görüntülemesinden sonra PCR ürünlerinin pürifikasyon işlemi için GeneDireX PCR Clean-Up & Gel Extraction Kit (Product No: NA006-0300, GeneDireX) aşağıdaki basamaklara uygun olacak şekilde kullanıldı.

1. 1,5 ml'lik eppendorf ve beyaz renkli filtreli tüpler numaralandırıldı.

2. PCR tüplerine 500 µl Buffer B eklendi ve pipetaj yapıldı.
3. Örnekler, önceden hazırlanmış filtreleri içerisine yerleştirilmiş alıcı tüplere aktarıldı.
4. 14.000 g'de 30 sn santrifüj yapıldı.
5. Örneğin üstüne 400 µl Buffer W1 eklendi.
6. 14.000 g'de 40 sn santrifüj yapıldı.
7. Receiver tüplerinin altı boşaltıldı.
8. Örneğin üstüne 600 µl Buffer W2 eklendi.
9. 14.000 g'de 40 sn santrifüj yapıldı.
10. Receiver tüplerinin altı boşaltıldı.
11. Filtreler tüplere tekrar konuldu ve 14.000 g'de 1 dakika kuru santrifüj yapıldı.
12. Beyaz filtreler 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine alındı.
13. 50 µl Buffer E eklendi. İki dakika beklenildi.
14. 14.000 rpm'de 2 dakika santrifüj yapıldı ve filtreler atıldı.
15. Eppendorf tüplerde kalan örneklerin konsantrasyon ölçümü Qubit DNA konsantrasyon ölçme cihazı ile yapıldı.

Yeni Nesil Dizi Analizi için Kütüphane Hazırlanması

Kütüphane hazırlama işlemleri için Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina, San Diego, CA) kullanıldı. Protokole uygun olarak, aşağıda yazılı adımlar izlendi.

❖ DNA Tegmentasyonu

1. Her örnek için 1 ng birleştirilmiş pürifiye PCR ürünü 0.2 ml'lik PCR tüpüne alındı.
2. Üzerine ve 5 µl Amplicon Tagment Mix (ATM) eklendi.
3. Üzerine 5 µl Tagment DNA (TD) Buffer eklenip 5 kez pipetaj yapıldı.
4. 280 xg hızda 20 °C'de 1 dakika santrifüj edildi.
5. Daha sonra PCR tüpleri PCR cihazına yerleştirilerek aşağıda yazılan koşullarda inkübasyon işlemi yapıldı.
55 °C'de 5 dakika
10 °C'de ∞
6. İnkübasyon işleminden sonra örneklere 5 µl Neutraline Tagment Buffer (NT) eklenip 10 kez pipetaj yapıldı.
7. Oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.

❖ Kütüphane Amplifikasyonu

8. Önceki basamakta elde edilen 25 µl ürüne aşağıda yazılı ürüne aşağıda belirtilen oranlarda hazırlanan karışım eklendi.

15 µl Nextera PCR Master Mix (NPM)

5 µl Index1

5 µl Index2

9. 280 xg hızda 20 °C'de 1 dakika santrifüj edildi.

10. Daha sonra PCR tüpleri PCR cihazına yerleştirilerek aşağıda belirtilen koşullarda inkübe edildi (Tablo 3).

Sıcaklık	Zaman	Döngü
72 °C	3 dk	1
95 °C	30 sn	
95 °C	10 sn	12
55 °C	30 sn	
72 °C	30 sn	
72 °C	5	1
10 °C	∞	

Tablo 5. MiniSeq kütüphane hazırlığı PCR protokolü

❖ PCR Ürünlerinin Temizlenmesi

11. Ürün PCR cihazından çıkarılarak 280 xg hızda 20 °C'de 1 dakika santrifüj edildi.

12. Üzerine 90 µl AMPure XP Bead eklenip ve 10 kez pipetaj yapıldı.

13. Oda ısısında 5 dakika inkübe edildi.

14. Manyetik standda 2 dakika bekletildi.

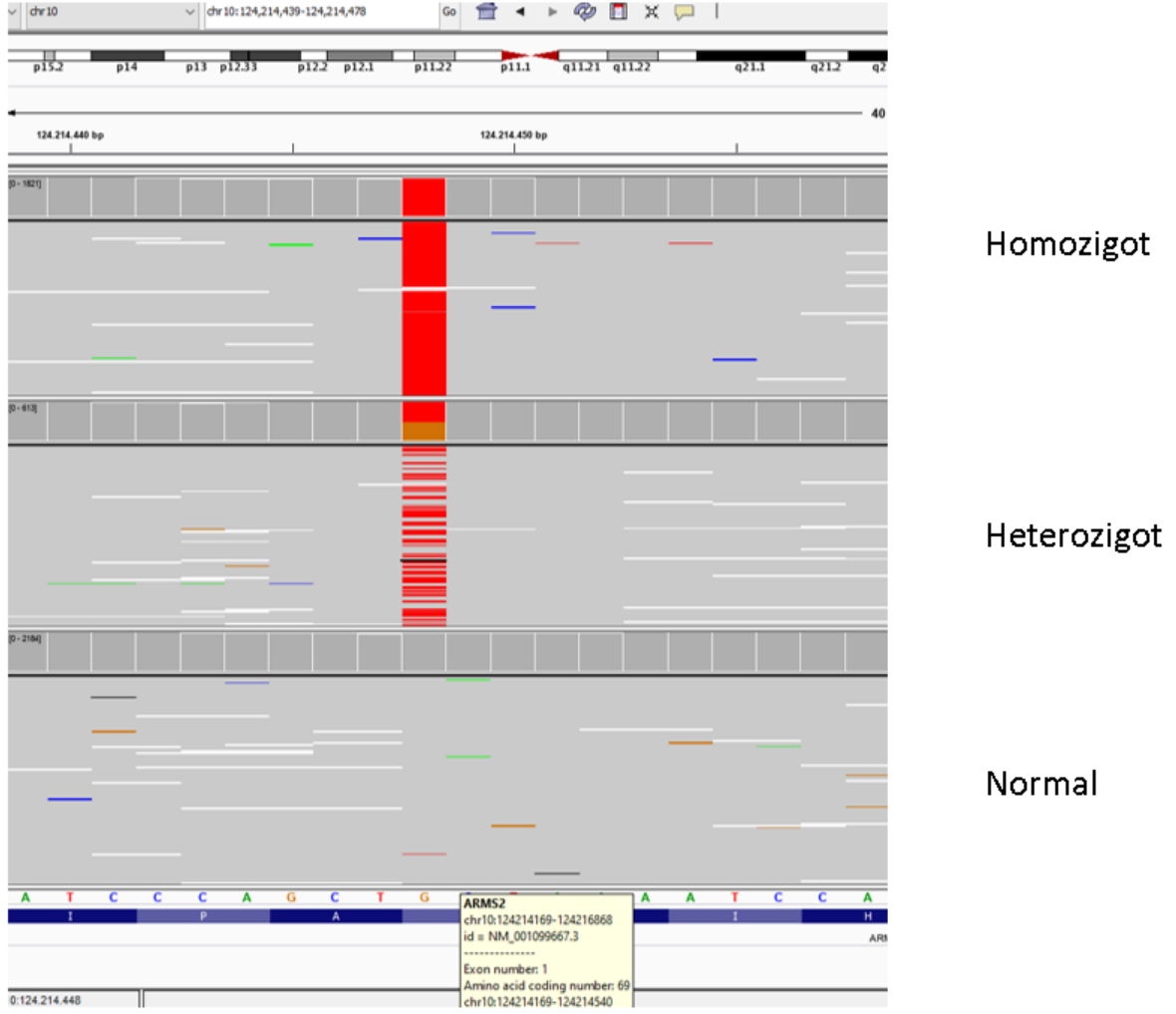
15. Supernatant kısmı atıldı.

16. Manyetik standdan kaldırmadan 190 µl taze hazırlanmış %80'lik etanol eklenip 30 saniye beklenildi.
17. Supernatant kısmı atıldı.
18. 16 ve 17. basamaklar tekrar edildi.
19. Manyetik stand üzerinde 15 dakika kurumaya bırakıldı.
20. Manyetik standdan kaldırılıp 52.5 µl Resuspension Buffer (RSB) eklendi
21. 10 kez pipetaj yapıldı.
22. İki dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
23. Tekrar manyetik standda alındı ve 2 dakika inkübe edildi.
24. 40 µl supernatant 0.2 ml'lik yeni bir PCR tüpüne alındı.
25. Bütün ürünlerin DNA konsantrasyonu Qubit DNA konsantrasyon ölçme cihazı ile ölçüldü.
26. Her örnekten 100 ng olacak şekilde birleştirildi.
27. Birleştirilen örneklerin DNA konsantrasyonu tekrar Qubit DNA konsantrasyon ölçme cihazı ile ölçüldü
28. Son üründen 15 ng olacak şekilde kite yüklendi.
29. Kartuş Illumina Miseq cihazına yerleştirilip uygun program seçilerek çalıştırıldı.

Saptanan Varyantın Değerlendirilmesi

Örneklerin değerlendirilmesinde IGV programı kullanıldı. İnsan genom "hg 38" referans alındı.

Gruplardan elde edilen verilere göre risk allellerinin dağılımı ve homozigot, heterozigot oranları hesaplandı.



Resim 13: Homozigot, heterozigot ve normal olgulara ait NGS okumalarının IGV programıyla ARMS2 rs10490924 varyant bölgesi

İstatistik

Çalışma verileri SPSS paket programı ile değerlendirildi. Shapiro wilk testi ile normal dağılım paterni belirlendikten sonra veriler normal dağılım gösteren parametrik veriler için ANOVA testi kullanıldı, ikili grup karşılaştırmalarında ise Bonferroni testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen veriler için p korreksiyonu yapılarak Mann Whitney testi ile değerlendirildi. Demografik veriler ise Ki Kare testi ile değerlendirildi. $P < 0.05$ anlamlı olarak değerlendirildi.

Bulgular

Grupların demografik özellikleri, retinal kalınlıkları, koroidal kalınlıkları, KVI değerleri ve FAZ, flow, yüzeysel ve derin vasküler dansitelerini içeren OKTA bulguları tablo 4 ve tablo 5’te görülmektedir. Gruplar arası yaş dağılımı açısından anlamlı bir fark yoktu; ancak Grup 1 hastaların yaş ortalamasının daha yüksek olduğu görüldü ($p>0,05$).

	Grup 1	Grup 2	Grup 3
Yaş	73,6±7,4 (53, 90)	70,7±5,7 (59, 85)	66,6±12 (53, 80)
Kadın/erkek oranı	1,5	0,67	0,78
EİDGK	0,55±0,29 (1,00, 0,20)	0,49±0,25 (0,90, 0,16)	1,0

Tablo 6: Grupların yaş ortalamaları, kadın erkek oranları ve en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri (EİDGK)

Gruplar arası cinsiyet dağılımı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, Grup 1’deki kadın hasta sayısının Grup 2 ve Grup3’ e göre daha yüksek olduğu görüldü (p değerleri sırasıyla 0,03; 0,025). Diğer gruplar karşılaştırıldığında Grup 2 ve 3 arasında anlamlı bir farklılık görülmedi ($p >0,05$). Grupların en iyi düzeltilmiş görme keskinlikleri değerlendirildiğinde; Grup 1 ve 2 arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p >0,05$). Grup 1 ve 2 hastalarda en iyi düzeltilmiş görme keskinliğinin Grup 3’e göre düşük olduğu saptandı (p 0,001, 0,002). (Tablo 6)

Sırasıyla Grup 1, 2 ve 3’te retinal kalınlıklar 235±44,1(123, 335); 249,8±55,3(75, 400); 247,1±16,1(218, 288) idi. İstatistiksel olarak değerlendirildiğinde Grup 1 hastalarda retinal kalınlığın diğer 2 gruba göre daha düşük olduğu görüldü (p 0,0001, 0,001).

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	p değerleri Grup (1-2) Grup (1-3)
Yüzeyel total dansite	44,7±4,9 (28, 53)	45,5±5 (35,8, 55)	51,8±3,3 (38,9 57,1)	>0,05 0,001
Yüzeyel foveal dansite	18,2±10,2 (2, 56)	20,8±11 (0,3, 53,1)	21,4±7,2 (5,5 37,5)	>0,05 0,001
Yüzeyel parafoveal dansite	45,2±5,7 (30, 59)	46,5±9,8 (0,8, 57)	54,2±3,7 (36,5, 60,3)	>0,05 0,001
Yüzeyel perifoveal dansite	45,1±5,1 (33, 55)	46,4±5,1 (36,1, 57,4)	52,6±3,3 (40,5, 58,2)	>0,05 0,001
Derin total dansite	45,6±5,6 (30,9, 57,8)	46,7±6,2 (34,1, 61,2)	55,4±6,2 (39,9, 54,8)	>0,05 0,001
Derin foveal dansite	31,4±8,7 (5,4 58,5)	35,6±11,3 (5,2, 50,6)	39,3±7,1 (22,8, 54,8)	>0,05 0,001
Derin parafoveal dansite	49,8±6,4 (31,7, 62,7)	50,9±5,8 (36, 61,2)	58,2±4,3 (47, 66,2)	>0,05 0,001
Derin perifoveal dansite	47,4±6,3 (31,1, 58,4)	49,8±6,7 (34,8, 63)	57,1±6,4 (41,4, 66,4)	>0,05 0,001
Flow dış retina	10,7±3,9 (4,3, 28,1)	10,8±4,6 (3,7, 28,6)	11,6±2 (4,4, 15,3)	>0,05 0,001
Flow koryokapillaris	17,2±2,4 (5,9, 28,3)	17,6±1,5 (14,3, 19,8)	19,8±0,6 (18,1, 20,9)	>0,05 0,001
Foveal kalınlık	235±44,1 (123, 335)	249,8±55,3 (75, 400)	250,1±16,1 (218, 288)	0,045 0,001
Parafoveal kalınlık	297,1±31,6 (199, 400)	301,7±25,6 (249, 351)	327,8±14 (297, 358)	>0,05 0,001

Perifoveal kalınlık	267,1±25,8 (214, 400)	276,8±22,5 (227, 351)	291,9±14,2 (262, 330)	>0,05 0,001
Foveal Avasküler Zone	0,253±0,109 (0,029, 0,545)	0,331±0,235 (0,036, 1,000)	0,273±0,099 (0,088, 0,409)	>0,05 >0,05

Tablo 7: Tüm gruplardaki OKTA verileri; ortalama, standart sapma ve minimum-maksimum değerleri

OKTA ile değerlendirilen parametrelerden olan FAZ açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanamadı ($p>0,05$). Değerlendirilen diğer parametrelerden olan yüzeyel ve derin vasküler dansite Grup 1 ile Grup 3 hastalar karşılaştırıldığında Grup 1’de; Grup 2 ile Grup 3 hastalar karşılaştırıldığında ise Grup 2’de anlamlı daha düşük olduğu görüldü ($p 0,034, 0,025$). Grup 1 ile Grup 2 arasında ise yüzeyel ve derin vasküler dansite ve flow alanı açısından anlamlı bir farklılık saptanamadı ($p>0,05$). Flow alanı açısından gruplar değerlendirildiğinde, vasküler dansite ile benzer özellikler saptandı. Grup 1 ve 2 hastalarda Grup 3’e göre flow alanının daha düşük olduğu görüldü ($p 0,001$). (Tablo 5)

	Grup 1 Ort.±SS (Min.-Maks.)	Grup 2 Ort.±SS (Min.-Maks.)	Grup 3 Ort.±SS (Min.-Maks.)	p değerleri Grup (1-2) Grup (1-3)
Luminal Alan	1,092±0,331 (0,557-1,634)	0,933±0,268 (0,728-1,386)	1,105±0,135 (0,830-1,310)	>0,05
Koroidal Vasküler İndeks	0,637±0,026 (0,596, 0,668)	0,654±0,033 (0,593, 0,695)	0,688±0,031 (0,612, 0,748)	0,034 0,025
Koroidal kalınlık (SFKK)	178,6±67,9 (83, 362)	229,6±60,3 (160, 386)	358,6±59,3 (198, 495)	0,0001 0,001

Tablo 8: Gruplardaki Image j programı ile hesaplanan luminal alan, koroidal vasküler indeks ve subfoveal koroidal kalınlık ortalamaları (Ort.: Ortalama, SS: Standart sapma, Min.: Minimum, Maks.: Maksimum)

Koroidal ölçümler değerlendirildiğinde Grup 1 hastalardaki SFKK'nın hem Grup 2 hem de Grup 3 hastalardan anlamlı daha düşük olduğu görüldü (p 0,0001, p 0,045). Hasta ve kontrol gruplarında KVI'nin sırasıyla Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'te ortalama, $0,637 \pm 0,026$, $0,654 \pm 0,033$, $0,688 \pm 0,031$ olduğu saptandı. (Tablo 6) KVI açısından Grup 1 ve Grup 2'nin; Grup 1 en düşük olacak şekilde; Grup 3'e göre istatistiksel anlamlı daha düşük olduğu izlendi.

	GG %, n	GT(HETEROZİGOT) %, n	TT(HOMOZİGOT) %, n
Grup 1	%28, 14	%42, 21	%30, 15
Grup 2	%39, 20	%44, 22	%17, 8
Grup 3	%65, 33	%33, 16	%2, 1

Tablo 9: Gruplardaki varyant dağılımı, sayı ve yüzde olarak

(GG: Risk alleli bulunmayan hastaların oranı, GT: T risk allelini heterozigot olarak içeren hastaların oranı, TT: T risk allelini homozigot olarak içeren hasta grubu)

ARMS2 geni rs10490924 polimorfizmi dağılımını değerlendirmek için gruplara bakıldığında Grup 1'de, T risk alleli açısından %42 (21) hasta heterozigot, %30 (15) hasta homozigot saptanırken, %28 (14) hastada risk alleli görülmedi. Grup 2'de %44 (22) hasta heterozigot, %17 (8) hasta homozigot olarak saptandı ve %39(20) hastada risk alleli saptanmadı. Sağlıklı kontrol grubu olan Grup 3'te ise %33 (16) katılımcı heterozigot, %2(1) katılımcı homozigot olarak saptandı ve %65 (33) katılımcıda varyasyon görülmedi. (Tablo 7, Tablo 8). Grup 1'de polimorfizm bulunan katılımcıların diğer iki gruptan anlamlı daha fazla

olduğu, Grup 2’de polimorfizm bulunduran katılımcıların Grup 3’ten daha fazla olduğu görüldü. (Sırasıyla p değeri; 0,02, 0,04; 0,01)

Tüm gruplardaki riskli allel sıklığı/frekansı hesaplandı. (Tablo 9) Sırasıyla T risk allel sıklıkları Grup 1, 2 ve 3’te %51, %38, %18 idi. RPD bulunan kuru tip YBMD hastalarından oluşan Grup 1’de T risk alleli sıklığı anlamlı daha yüksek saptandı. (p 0,02)

	Grup 1, n		Grup 2, n		Grup 3, n	
	<i>Erkek</i>	<i>Kadın</i>	<i>Erkek</i>	<i>Kadın</i>	<i>Erkek</i>	<i>Kadın</i>
GG	5	9	14	6	18	15
GT	9	12	11	11	9	7
TT	6	9	5	3	1	0

Tablo 10: Gruplardaki varyant dağılımı, kadın-erkek. (GG: Risk alleli bulunmayan hastaların oranı, GT: T risk allelini heterozigot olarak içeren hastaların oranı, TT: T risk allelini homozigot olarak içeren hasta grubu)

	G(%)	T(%)
Grup 1	49	51
Grup 2	62	38
Grup 3	82	18

Tablo 11: Gruplardaki T risk allel sıklıkları (Homozigot hasta sayısının iki ile heterozigot hasta sayısının 1 ile çarpımı sonucu elde edilmiştir. T risk alleli sıklığını göstermektedir.)

Tartışma

Yaşa bağı makula dejenerasyonu gelişmiş ülkelerdeki en önemli körlük nedenlerinden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Yaşlanan popülasyon ile beraber sıklığının giderek artacağı düşünülmektedir. Hastalığın patofizyolojisinde ve tedavisinde her geçen gün yeni gelişmeler olsa da yeterli bilgi birikimine henüz erişilememiştir. Genetik faktörlerin etkisi yıllar öncesine dayanan ikiz çalışmalarından beri önemini korumaktadır. Kuru tip YBMD hastalarının temel lezyonu olan drusenin bir varyantı olan retiküler psödodrusen sebebi tam olarak aydınlatılmamış retinal birikimler olup, YBMD’de özellikle coğrafik atrofi ve çeşitli KNV tipleriyle ilişkilendirilmiştir.(129) . Bu çalışma ile RPD bulunan kuru tip YBMD hastalarında, en çok çalışılan genetik risk faktörlerinden biri olan ARMS 2 polimorfizminin, Türk popülasyonunda daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ayrıca çalışmada multimodal görüntüleme ile retinal ve koroidal vasküler parametrelerin RPD olan kuru tip YBMD hastalarında daha düşük olduğu gösterilmiştir.

YBMD ileri yaş hastalarda daha sık görülen anormal retinal birikim, atipik vaskülarizasyon ya da atrofik değişiklikler ile karakterize bir hastalıktır. Sıklığı 55-59 yaşlarında %3,5 iken 85 yaş ve üzerinde %17,6’ya kadar ulaşmaktadır. Bu hastaların bir kısmı eksüdatif materyal birikimi, atipik vaskülarizasyon ya da ileri atrofi gösterirken; bir kısmında ise yalnızca drusen gibi erken evre değişiklikler görülmektedir. Klasik olarak bu bulgulara göre YBMD ikiye ayrılmaktadır; daha sık görülen kuru tip ve daha nadir olan ve çeşitli komplikasyonlarla ilişkili olan yaş tip. Güncel klinik sınıflamada ise kuru tip YBMD erken, orta ve ileri evre olarak değerlendirilmiştir. Bu sınıflandırma drusen boyutu ve pigment değişiklikleri dikkate alınarak yapılmaktadır. Bu durum drusen özelliklerinin YBMD prognozu ile ilişkisini ortaya koymaktadır. (130)

YBMD’nin progresyonu ya da gelişimi için birçok farklı risk faktörü tanımlanmıştır. Bilinen en önemli risk faktörü yaştır. Hastalık ileri yaş hastalarda daha sık görülmektedir. Ayrıca beyaz ırkta YBMD sıklığı daha yüksektir. Diğer değerlendirilen risk faktörleri arasında sigara kullanımı, hipertansiyon, diyabet gibi etkisi sınırlı ortaya konabilmiş faktörler; ayrıca kadın cinsiyet, UV ışık maruziyeti, açık göz rengi gibi kanıt düzeyi düşük faktörler yer almaktadır.(131)

İlk olarak Mimoun ve arkadaşları(132) tarafından mavi ışıkta daha belirgin görülebilen 125 µm’den daha büyük, yeni bir antite olarak tanımlanan birikimler, sonraları

RPD-SDD adını almıştır. Beaver Dam Study, Blue Mountains Eye Study, Melbourne Collaborative Cohort Study, The Wisconsin Age-Related Maculopathy Grading System grupları da bu özel bulguyu bir risk faktörü olarak değerlendirmiştir.(133, 134) Klasik drusen RPE altında yer alırken SDD ya da RPD, RPE üzerinde yer alan bir birikimdir. RPD ileri YBMD ile ilişkilendirilen ve sıklığı değişken oranlarda bildirilen bir muayene ve görüntüleme bulgusudur. OKT kullanımının yaygın olmadığı dönemlerde sıklığı daha düşük görülmekle beraber, literatürdeki yakın zamanlı çalışmalarda multimodal görüntüleme ile sıklığı orta evre YBMD'de %25, eksüdatif YBMD'de %36-54, atrofik YBMD'de ise %29-92 gibi yüksek oranlarda bildirilmektedir.(91)

RPD varlığının değerlendirilebilmesi için en az kaç depozit olması gerektiği konusunda bir konsensüs sağlanamamıştır; ancak en az 5 lezyon varlığı birçok çalışmada pozitif olarak kabul edilmektedir. RPD varlığını saptamada erken çalışmalarda FOF kullanılmış; ancak ilerleyen dönemlerde yetersiz tespite izin verdiği görülünce diğer metotlar öne çıkmıştır. IR görüntüleme ve sonrasında OKT görüntüleme en hassas lezyon tespitine izin veren görüntüleme modaliteleridir. Her ne kadar OKT en duyarlı yöntem olarak gözükse de FOF görüntüleme de oldukça yüksek tanı kabiliyetine sahiptir. Literatürde çeşitli görüntüleme cihazlarını RPD saptamadaki sensitivite ve spesifiteleri bakımından kıyaslayan birçok çalışma bulunmaktadır. Hogg ve arkadaşları(82) tarafından yapılan değerlendirmede FOF en duyarlı metot olarak karşımıza çıkmaktadır ve OKT dahil tüm görüntüleme cihazlarının önünde görünmektedir. Smith ve arkadaşları FOF metodunu en yüksek duyarlılıkta saptamışlardır. Ueda-Arakawa ve ekibi(85) ise en yüksek duyarlılığı IR yöntemle bildirmiştir. Birçok çalışmada en duyarlı olarak öne çıkan yöntem değişse de OKT'nin değerlendirildiği çalışmalarda hem spesifitenin hem de sensitivitenin beraber yüksek saptandığı ve yayınlar arası en az farklılık gösteren cihaz olarak OKT karşımıza çıkmaktadır. Literatürde OKT'nin RPD tanısında yer aldığı neredeyse tüm çalışmalarda hem sensitivite hem de spesifite değerleri %90 ve üzerinde saptanmıştır. (86) Birçok güncel çalışmada olduğu gibi mevcut çalışmada da RPD varlığını ortaya koymak için multimodal görüntülemeden yararlanılmıştır. Multimodal görüntüleme cihaz bazlı biası ortadan kaldırmaktadır. IR, OKT ve FOF görüntülerinde en az 5 RPD lezyonu olan hastalar çalışma için dahil edilmiştir. Birçok çalışmada sensitivitesi ve spesifitesi en yüksek olan FOF, IR ve OKT metotlarının beraber kullanılması ile RPD saptama kabiliyeti artırılmıştır.

Literatüre bakıldığında RPD saptanan YBMD hastalarının genellikle daha yüksek yaş ortalamasına sahip olduğu görülmektedir. Mevcut çalışmada da kuru tip, ardışık RPD hastaları ve YBMD hastaları değerlendirildiğinde; yaş ortalaması olarak RPD bulunan grubun daha ileri yaşta olduğu görülmekle beraber anlamlı bir istatistiksel farklılık saptanmamıştır. Bu farklılık, çalışmada sensitiviteyi artıracak şekilde, daha doğru tanıya izin veren multimodal görüntülemenin kullanılmasına ve lezyon hakkında tecrübeli araştırmacılar tarafından değerlendirilip, grupların oluşturulmasına bağlı olabilir. Literatürde bu durumu açıklayacak şekilde multimodal görüntülemelerin RPD tanısında karşılaştırıldığı çalışmalarda, tanı FF ya da FOF kullanılarak yapılmışsa aynı hasta grubunda daha az oranda RPD saptandığı görülmüştür. Ayrıca FF ve FOF ile RPD saptanmayan; ancak diğer görüntüleme metotlarıyla RPD saptanan hastaların daha ileri yaşta olduğu görülmüştür.(87)

İleri yaş dışında hem RPD'nin hem de yumuşak drusenin özellikle kadın hastalarda daha fazla görüldüğü bildirilmiştir. Boddu ve arkadaşlarının(135) çalışmasında hem büyük yumuşak drusen bulunan hasta grubunda hem de RPD bulunan hasta grubunda kadın cinsiyet daha yüksek saptanmıştır. Mevcut çalışmada da literatür verisi ile uyumlu olarak, RPD grubunda kadın cinsiyet daha fazla olarak karşımıza çıkmaktadır.

OKT'nin keşfi YBMD'nin tanı, takip ve tedavi algoritmalarının belirlenmesinde ve literatürün ilerlemesinde oldukça önemli bir dönüm noktası olmuştur. OKT teknolojisi de ilerlemeye ve daha yüksek çözünürlüklü görüntü sağlanmasına devam etmiştir. OKTA ise benzer altyapı üzerine kurulu ve görece yeni bir teknolojidir; ancak giderek daha çok kullanılan bir cihaz haline almıştır. Koryokapiller akım ve koroidal dolaşım kuru tip YBMD'de değerlendirilen parametrelerden olmuştur. Spaide ve arkadaşları(136) kuru tip YBMD hastalarında, KK akım bozukluklarını OKTA görüntü analizleri sonrası bildirmiştir. Birçok çalışmada KK'deki bu değişikliklerin oldukça erken evrelerde başladığı ve hastaların etkilenim olmayan diğer gözlerinde de bu değişikliklerin izlendiği görülmüştür. RPD ve SDD de YBMD'de rastlanan önemli muayene bulgularıdır ve KK flow ve vasküler dansite düşüklüğü ile ilişkilendirilmiştir. Hastaların bir bölümünde azalmış KK flow ve KK vasküler dansitesinin RPD'nin bulunduğu alan dışına da ilerlediği saptanmıştır. Tüm bu bulgular RPD'nin dış retinal hipoksi için bir belirteç olabileceğini destekler niteliktedir. Mevcut çalışmada da FAZ dışındaki tüm parametrelerde OKTA verileri anlamlı düşük saptanmıştır. Hem yüzeysel hem de derin vasküler dansitenin düşük olduğu; ayrıca flow alanının da yine RPD grubunda düşük olduğu görülmüştür.(137, 138)

OKTA verileri yanında koroidal yapıyı değerlendirmede uzun yıllardır kullanılan bir diğer görüntüleme de EDI mod OKT ile elde edilen koroidal kalınlıktır. EDI mod OKT derin odağı ile koroidal yapıların görüntülenmesine izin veren bir metottur. Koroidal kalınlık çeşitli patolojilerde ve fizyolojik koşullarda değişim göstermektedir. Hatta gün içindeki değişimlerinin normal retinal fonksiyonların sürdürülmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. YBMD gibi atrofi oluşturabilecek hastalıklarda OKTA verilerindeki gibi koroidal kalınlığın da azaldığı birçok yayında bildirilmiştir. Atrofik bir hal olan ve normal retinal yaşlanmanın abartılı ve ileri bir seviyesi olarak kendini gösteren YBMD'de koroid de etkilenen dokular arasındadır. (108) Lee ve arkadaşları(139) kuru tip YBMD'de hastalık ciddiyeti ile koroidal kalınlık arasında anlamlı bir negatif ilişki saptamışlardır. Ancak, Jonas ve arkadaşları(140) yaş ve refraktif hataya göre düzeltme sağlandıktan sonra eksüdatif ve eksüdatif olmayan YBMD hastalarında bu ilişkiyi gösterememişlerdir. Çalışmamızda da genel literatürle uyumlu olacak şekilde EDI mod OKT görüntülerinden ölçülen subfoveal koroidal kalınlık, RPD bulunan kuru tip YBMD hastalarında RPD bulunmayanlara ve sağlıklı kontrollere göre daha düşük saptanmıştır.

Koroidal kalınlığın yanında KVİ de çeşitli hastalıklardaki değişimleri bakımından literatürde incelenen bir parametre olmuştur. Hesaplanmasında EDI mod OKT görüntülerinin Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA) programı ile binarizasyon metodu yardımıyla işlenmesi kullanılmaktadır. Çeşitli hastalıklardaki koroidal kalınlık değişimlerinin alt komponentlerinin değerlendirilmesine izin veren bu parametre ile hesaplanan bölgedeki vasküler alanın toplam koroid alanına oranı belirlenmektedir.(141) Li Koh ve arkadaşları(142) YBMD hastalarında KVİ'nin, tutulum olan gözlerinde diğer gözlerine göre ve kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu saptamışlardır. Özçalışkan ve arkadaşlarının 57 YBMD hastasını değerlendiren bir çalışması da literatürle uyumlu şekilde, YBMD hastalarında KVİ'yi anlamlı düşük saptamışlardır. Mevcut çalışmada da uyumlu sonuçlarla hem RPD bulunan hem de bulunmayan kuru tip YBMD hastalarında, KVİ sağlıklı katılımcılara göre düşük saptanmıştır. Bu durum aslında YBMD patofizyolojisinde koroidal yapıların etkisinin olabileceğini, vasküler ve iskemik temelli değişikliklerin de akla gelmesi gerektiğini düşündürmektedir.

YBMD önemli genetik komponenti olan multifaktöriyel bir hastalıktır. Genom ve linkaj çalışmalarının en önemli oftalmolojik başarılarından biri YBMD ile ilişkili genetik lokusların tanımlanması olmuştur. Kanda ve arkadaşları(143) LOC387715/ARMS2, HTRA1 ve PLEKHA1 genlerindeki 45 farklı polimorfizm ile YBMD ilişkisini araştırmışlardır. Sadece

A69S (rs10490924) polimorfizmi ile anlamlı ilişki saptanabilmiştir. Ayrıca bu çalışmada yazarlar LOC387715/ARMS2 polimorfizminin mitokondri yapılanması ile ilişkili olduğunu ve bu bulguyla yaşlanma ve oksidatif stresin de patofizyolojide etkisinin olabileceğini belirtmişlerdir. ARMS 2 10q26.16 bölgesinde yer almaktadır ve aynı isimli küçük (11-kDa) bir proteini kodlamaktadır. Bu bölgedeki varyantlar artmış YBMD riskiyle ilişkilendirilmiştir. Hemen çok yakın bölgede serine protease HtrA serine peptidase 1 (HTRA1) yer almaktadır. Literatürde ARMS2 ve HTRA1'in YBMD'de risk artışına sebep olduğunu belirten birçok yazı bulunmaktadır. Ross ve arkadaşları 2007'de rs10490924 risk allelini hem homozigot hem de heterozigot taşıyanların YBMD riskini yüksek saptamışlardır. Bu varyant A69S adı verilen protein değişikliğinden sorumludur. Bu varyasyon ile riskli T alleli aktarılmaktadır. Homozigot T allel taşıyıcılarının heterozigotlara göre 7,6 kat fazla YBMD gelişim riskine sahip olduğu bildirilmiştir. Bu bölgedeki risk allelleri ayrıca YBMD bulunmayan gözlerde artmış C reaktif protein seviyeleriyle ilişkilendirilmiştir. Bu artış bu polimorfizmin inflamatuvar süreçlerde rol oynuyor olabileceğini düşündürmektedir ve bu şekilde YBMD progresyonuna da katkısı olabileceği önerilmiştir. Bu hipotez üzerinden sınırlı çalışmalarda IL-6, IL-8, TNF- α , C3 ve C5 gibi inflamatuvar çeşitli belirteçlerle de bu bölgenin ilişkisi çalışılan konulardan olmuştur.(144)

Toplumsal prevalans farklılıkları gösterdiği bilinen YBMD gibi hastalıklarda ülke özelindeki veriler önemli olmaktadır. İspanyol popülasyonunun değerlendirildiği bir çalışmada ARMS2 polimorfizmi YBMD için önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Sakurada ve arkadaşları Japonya bazlı bir çalışmada heterozigot ARMS2 varyasyonu gösteren hastaların 3 kat fazla YBMD gelişim riskine sahip olduğunu göstermişlerdir. Ülkemiz verileri değerlendirildiğinde HTRA1 rs11200638 ve ARMS2 rs10490924 varyasyonlarının eksüdatif YBMD tipiyle ilişkili olduğu Hazan ve arkadaşları(145) tarafından bildirilmiştir. Bardak ve arkadaşları(146) rs10490924 polimorfizmi ile yine eksüdatif YBMD arasındaki ilişkiyi gösteren bir diğer Türk popülasyon çalışmasını yayınlamışlardır. ARMS2 bölgesinde 3 farklı varyantı değerlendirilen bu çalışmada rs10490924 varyasyonu ile eksüdatif YBMD arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Üç farklı varyasyonun değerlendirilmesi alt gruplardaki hasta sayısının düşmesine ve istatistiksel anlamlılığın sınırlı kalmasına sebep olmaktadır; ancak buna rağmen ARMS2 varyasyonu çalışmada tek anlamlı çıkan parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Yine aynı raporda 205G>T allel frekansının kontrollere göre eksüdatif YBMD grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür (0,564-0,10). Mevcut çalışmada da T risk alleli kuru tip YBMD bulunan gruplarda sağlıklı katılımcılara göre yüksek saptandı.

ARMS2'deki T risk alleli ile RPD birlikteliği çeşitli çalışmalarda değerlendirilmiştir. CATT çalışmasında FOF ve FF kullanılarak RPD varlığı gösterilen hastalar değerlendirilmiştir. TT risk allellerine sahip hastalarda GG tipine göre RPD varlığı arasında anlamlı ilişkili saptanmıştır. Aynı çalışmada s rs1061170 (Y402H varyantı, CFH), rs800292 (I62V varyantı, CFH), rs11200638 (HTRA1), rs547154 (C2), rs2230199 (R102G varyantı, C3), rs10468017 (LIPC) ve rs4151667 (L9H varyantı, CFB) de değerlendirilmiştir. Değerlendirilen varyantlar ile pozitif anlamlı bir ilişki saptanmazken; CFH Y402H varyasyonunun düşük RPD riskiyle ilişkili olduğu görülmüştür. Benzer bir pozitif ilişki ARMS2 ile yakın bir bölge olan HTRA1 ile de bildirilmiştir.(124) Mevcut çalışmada da Türk popülasyonunda ilk kez ARMS 2 T risk alleli ile RPD bulunan hasta grubu arasındaki ilişki kuru tip YBMD hastalarında gösterilmiştir. Çalışmanın ülkemizde ilk olması yanında en önemli yönlerinden biri RPD tanısının FOF bazlı değil OKT, IR ve FOF bazlı konmasıdır. Yine ülkemizde ARMS2 rs10490924 varyasyonu sıklığını kuru tip YBMD hastalarında değerlendiren bir çalışma bulunmamaktadır.

AREDS2 verileri burada ayrı bir öneme sahiptir. Literatürdeki diğer çalışmalara göre daha sınırlı bir hasta grubu olmasına rağmen RPD ile YBMD progresyonu arasındaki ilişkiyi değerlendiren çok merkezli yapısı ile öne çıkmaktadır. AREDS2'de en az %10 ve üzeri risk barındıran varyantlar üzerinde durulmuştur: rs10490924 (ARMS2), rs1061170 (CFH), rs2230199 (C3), rs116503776, 177 rs114254831 (C2/CFB) ve rs943080 (VEGF-A). Mevcut çalışmadaki ARMS2 rs10490924 varyasyonu ilişkisi burada da saptanmıştır. AREDS 2 çalışmasının en önemli özelliği uzun takip süresi ile riski daha yüksek kanıt düzeyi ile ortaya koyabilmesi olmuştur. (127)

Genetik varyasyonların tanımlanmasının ardından, bu varyasyonların klinik ile ilişkisinin değerlendirilmesi güncel literatüre konu olmaktadır. Hu ve arkadaşlarının(147) bir yayınında rs10490924 varyasyonuna sahip hastaların anti-VEGF tedaviye yanıtı değerlendirilmeye çalışılmıştır. Risk alleleline sahip hastalardaki tedavi yanıtının daha düşük olduğu görülmüştür. Bu durum da ARMS2 ve olası diğer genetik değişikliklerin YBMD prognozunu belirlemede ve tedavi cevabını öngörmede kullanılabilecek bir parametre olduğunu düşündürmektedir.

	Sakurada, 2016(125)				Hazan, 2021(145)		CATT(124)	Bardak, 2016(146)		Soysal, 2012(148)		Mevcut çalışma		
ARMS2 rs10490924	<i>NV- YBMD</i>	<i>PCV</i>	<i>RAP</i>	<i>GA</i>	<i>NV- YBMD</i>	<i>Kontrol</i>	<i>RPD, tüm YBMD</i>	<i>NV- YBMD</i>	<i>Kontrol</i>	<i>Tüm YBMD</i>	<i>Kontrol</i>	<i>RPD (+), Kuru YBMD</i>	<i>RPD (-), Kuru YBMD</i>	<i>Kontrol</i>
TT	%41,9	%31,1	%77,3	%78,9	%34,7	%18,7	%31,4	15/39	8/250	%31,3	%6,7	%30	%17	%2
TG	%45,9	%48,4	%18,2	%15,8	%41,3	%48	%30,3	14/39	34/250	%38,1	%37,1	%42	%44	%33
GG	%12,2	%20,5	%4,5	%5,3	%24	%33,3	%23,2	19/39	208/250	%30,6	%56,2	%28	%39	%65

Tablo 12: Literatürdeki çeşitli çalışmalarda ve mevcut 2 Türk popülasyonu çalışmasında ARMS2 rs10490924 risk varyasyonlarının dağılım ve mevcut çalışma verileri

Gelecek çalışmalar ve tedavi modaliteleri düşünülürken, hastalıklara yatkınlığın genetik olarak belirlenmesi ve risk skorları hesaplanması güncel literatürün temel bir uğraşısı haline gelmiştir. Diğer birçok hastalıkta olduğu gibi YBMD’de de araştırmacılar genetik yatkınlık oluşturan varyantların tanımlanmasına çalışmaktadır. Bu risk bölgelerinin belirlenmesi kişinin hastalığa yakalanma ihtimalinin belirlenmesi yanında, geliştirilebilecek hedefe yönelik tedavi ajanlarının kullanılmasına ya da mevcut tedavilere olan yanıtın daha iyi değerlendirilip, prognoz tahmin edilebilmesine izin verecektir.

Bu çalışmanın en önemli kısıtlılığı hasta sayısının düşük olmasıdır. Özellikle OKTA verilerinin alt gruplarda değerlendirilmesinde yetersiz sonuca ulaşılması bundan ileri gelmektedir. İkinci en önemli kısıtlılık ise çalışmanın dizaynının kesitsel olması, takip verisi içermemesi ve yalnızca tek gen polimorfizminin değerlendirilmesidir. Daha geniş ölçekli çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak bu çalışma ile ARMS2 rs10490924 varyasyonunun kuru tip YBMD hastalarında RPD olan ve olmayan hasta gruplarında anlamlı daha yüksek frekansta olduğu saptanmıştır. Ayrıca RPD bulunan hastalarda bulunmayan kuru tip YBMD hastalarına göre yine ARMS2 rs10490924 varyasyonunun daha sık bulunduğu görülmüştür. Kuru tip YBMD hastalarının değerlendirilmesi ve RPD alt grup içermesi yönleriyle çalışma ülkemizde ilk araştırma olma özelliği taşımaktadır. Ayrıca multimodal görüntüleme kullanılan EDI mod OKT ve OKTA ile de RPD bulunan YBMD hastalarında; KVI, flow ve vasküler dansite gibi koroidal ve retinal vasküler parametrelerin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Kaynaklar

1. Bone RA, Landrum JT, Tarsis SL. Preliminary identification of the human macular pigment. *Vision research*. 1985;25(11):1531-5.
 2. Snodderly DM, Auran JD, Delori FC. The macular pigment. II. Spatial distribution in primate retinas. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1984;25(6):674-85.
 3. Kiel JW. *Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease*. The Ocular Circulation. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences
- Copyright © 2010 by Morgan & Claypool Life Sciences.; 2010.
4. Hayreh SS. Segmental nature of the choroidal vasculature. *The British journal of ophthalmology*. 1975;59(11):631-48.
 5. Yamada E. Some structural features of the fovea centralis in the human retina. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*. 1969;82(2):151-9.
 6. Boll F. On the anatomy and physiology of the retina. *Vision research*. 1977;17(11-12):1249-65.
 7. Selvam S, Kumar T, Fruttiger M. Retinal vasculature development in health and disease. *Progress in retinal and eye research*. 2018;63:1-19.
 8. Sun Y, Smith LEH. Retinal Vasculature in Development and Diseases. *Annual review of vision science*. 2018;4:101-22.
 9. Coleman HR, Chan CC, Ferris FL, 3rd, Chew EY. Age-related macular degeneration. *Lancet (London, England)*. 2008;372(9652):1835-45.
 10. Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, Holz FG, Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet (London, England)*. 2012;379(9827):1728-38.
 11. Tarin JJHR. Cell cycle: Aetiology of age-associated aneuploidy: a mechanism based on the 'free radical theory of ageing'. 1995;10(6):1563-5.
 12. Feeney-Burns L, Hilderbrand ES, Eldridge S. Aging human RPE: morphometric analysis of macular, equatorial, and peripheral cells. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1984;25(2):195-200.
 13. Sundelin S, Wihlmark U, Nilsson SE, Brunk UT. Lipofuscin accumulation in cultured retinal pigment epithelial cells reduces their phagocytic capacity. *Current eye research*. 1998;17(8):851-7.
 14. Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Mulder PG, de Jong PT. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris, and the choroid in aging. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1994;35(6):2857-64.
 15. Sarks SH. Ageing and degeneration in the macular region: a clinico-pathological study. *The British journal of ophthalmology*. 1976;60(5):324-41.
 16. Burns RP, Feeney-Burns L. Clinico-morphologic correlations of drusen of Bruch's membrane. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 1980;78:206-25.
 17. Starita C, Hussain AA, Pagliarini S, Marshall J. Hydrodynamics of ageing Bruch's membrane: implications for macular disease. *Experimental eye research*. 1996;62(5):565-72.
 18. Starita C, Hussain AA, Patmore A, Marshall J. Localization of the site of major resistance to fluid transport in Bruch's membrane. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1997;38(3):762-7.
 19. Luttj G, Grunwald J, Majji AB, Uyama M, Yoneya S. Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Molecular vision*. 1999;5:35.
 20. Pauleikhoff D, Harper CA, Marshall J, Bird AC. Aging changes in Bruch's membrane. A histochemical and morphologic study. *Ophthalmology*. 1990;97(2):171-8.
 21. Wallace DC, Brown MD, Melov S, Graham B, Lott M. Mitochondrial biology, degenerative diseases and aging. *BioFactors (Oxford, England)*. 1998;7(3):187-90.
 22. Samiec PS, Drews-Botsch C, Flagg EW, Kurtz JC, Sternberg P, Jr., Reed RL, et al. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. *Free radical biology & medicine*. 1998;24(5):699-704.
 23. Beatty S, Koh H, Phil M, Henson D, Boulton M. The role of oxidative stress in the pathogenesis of age-related macular degeneration. *Survey of ophthalmology*. 2000;45(2):115-34.

24. De La Paz M, Anderson RE. Region and age-dependent variation in susceptibility of the human retina to lipid peroxidation. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1992;33(13):3497-9.
25. Boulton M, Rózanowska M, Rózanowski B, Wess T. The photoreactivity of ocular lipofuscin. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2004;3(8):759-64.
26. Katz ML, Christianson JS, Gao CL, Handelman GJ. Iron-induced fluorescence in the retina: dependence on vitamin A. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1994;35(10):3613-24.
27. Crabb JW, Miyagi M, Gu X, Shadrach K, West KA, Sakaguchi H, et al. Drusen proteome analysis: an approach to the etiology of age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2002;99(23):14682-7.
28. Rikans LE, Moore DR. Effect of aging on aqueous-phase antioxidants in tissues of male Fischer rats. *Biochimica et biophysica acta*. 1988;966(3):269-75.
29. A randomized, placebo-controlled, clinical trial of high-dose supplementation with vitamins C and E, beta carotene, and zinc for age-related macular degeneration and vision loss: AREDS report no. 8. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*. 2001;119(10):1417-36.
30. Antioxidant status and neovascular age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*. 1993;111(1):104-9.
31. Smith W, Mitchell P, Webb K, Leeder SR. Dietary antioxidants and age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 1999;106(4):761-7.
32. VandenLangenberg GM, Mares-Perlman JA, Klein R, Klein BE, Brady WE, Palta M. Associations between antioxidant and zinc intake and the 5-year incidence of early age-related maculopathy in the Beaver Dam Eye Study. *American journal of epidemiology*. 1998;148(2):204-14.
33. Beatty S, Murray IJ, Henson DB, Carden D, Koh H, Boulton ME. Macular pigment and risk for age-related macular degeneration in subjects from a Northern European population. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2001;42(2):439-46.
34. Nowak JZ. Oxidative stress, polyunsaturated fatty acids-derived oxidation products and bisretinoids as potential inducers of CNS diseases: focus on age-related macular degeneration. *Pharmacological reports : PR*. 2013;65(2):288-304.
35. Ishibashi T, Murata T, Hangai M, Nagai R, Horiuchi S, Lopez PF, et al. Advanced glycation end products in age-related macular degeneration. *Archives of ophthalmology (Chicago, Ill : 1960)*. 1998;116(12):1629-32.
36. Honda S, Farboud B, Hjelmeland LM, Handa JT. Induction of an aging mRNA retinal pigment epithelial cell phenotype by matrix-containing advanced glycation end products in vitro. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2001;42(10):2419-25.
37. Green WR, Key SN, 3rd. Senile macular degeneration: a histopathologic study. *Transactions of the American Ophthalmological Society*. 1977;75:180-254.
38. Johnson LV, Leitner WP, Staples MK, Anderson DH. Complement activation and inflammatory processes in Drusen formation and age related macular degeneration. *Experimental eye research*. 2001;73(6):887-96.
39. Otani A, Takagi H, Oh H, Koyama S, Matsumura M, Honda Y. Expressions of angiopoietins and Tie2 in human choroidal neovascular membranes. *Investigative ophthalmology & visual science*. 1999;40(9):1912-20.
40. Heriot WJ, Henkind P, Bellhorn RW, Burns MS. Choroidal neovascularization can digest Bruch's membrane. A prior break is not essential. *Ophthalmology*. 1984;91(12):1603-8.
41. Fülöp T, Jr., Jacob MP, Varga Z, Foris G, Leövey A, Robert L. Effect of elastin peptides on human monocytes: Ca²⁺ mobilization, stimulation of respiratory burst and enzyme secretion. *Biochemical and biophysical research communications*. 1986;141(1):92-8.
42. van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, de Jong PT. Early stages of age-related macular degeneration: an immunofluorescence and electron microscopy study. *The British journal of ophthalmology*. 1993;77(10):657-61.

43. Penfold PL, Provis JM, Furby JH, Gatenby PA, Billson FA. Autoantibodies to retinal astrocytes associated with age-related macular degeneration. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1990;228(3):270-4.
44. Green WR, Enger C. Age-related macular degeneration histopathologic studies. The 1992 Lorenz E. Zimmerman Lecture. *Ophthalmology.* 1993;100(10):1519-35.
45. Bressler NM, Silva JC, Bressler SB, Fine SL, Green WR. Clinicopathologic correlation of drusen and retinal pigment epithelial abnormalities in age-related macular degeneration. *Retina (Philadelphia, Pa).* 1994;14(2):130-42.
46. Sarks SH, Arnold JJ, Killingsworth MC, Sarks JP. Early drusen formation in the normal and aging eye and their relation to age related maculopathy: a clinicopathological study. *The British journal of ophthalmology.* 1999;83(3):358-68.
47. Mullins RF, Johnson LV, Anderson DH, Hageman GS. Characterization of drusen-associated glycoconjugates. *Ophthalmology.* 1997;104(2):288-94.
48. Johnson LV, Ozaki S, Staples MK, Erickson PA, Anderson DH. A potential role for immune complex pathogenesis in drusen formation. *Experimental eye research.* 2000;70(4):441-9.
49. Noji Y, Kajinami K, Kawashiri MA, Todo Y, Horita T, Nohara A, et al. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in premature coronary atherosclerosis. *Clinical chemistry and laboratory medicine.* 2001;39(5):380-4.
50. Leu ST, Batni S, Radeke MJ, Johnson LV, Anderson DH, Clegg DO. Drusen are Cold Spots for Proteolysis: Expression of Matrix Metalloproteinases and Their Tissue Inhibitor Proteins in Age-related Macular Degeneration. *Experimental eye research.* 2002;74(1):141-54.
51. Lopez PF, Sippy BD, Lambert HM, Thach AB, Hinton DR. Transdifferentiated retinal pigment epithelial cells are immunoreactive for vascular endothelial growth factor in surgically excised age-related macular degeneration-related choroidal neovascular membranes. *Investigative ophthalmology & visual science.* 1996;37(5):855-68.
52. Kvanta A, Algvere PV, Berglin L, Seregard S. Subfoveal fibrovascular membranes in age-related macular degeneration express vascular endothelial growth factor. *Investigative ophthalmology & visual science.* 1996;37(9):1929-34.
53. Nasir MA, Sugino I, Zarbin MA. Decreased choriocapillaris perfusion following surgical excision of choroidal neovascular membranes in age-related macular degeneration. *The British journal of ophthalmology.* 1997;81(6):481-9.
54. Sarks JP, Sarks SH, Killingsworth MC. Evolution of geographic atrophy of the retinal pigment epithelium. *Eye (Lond).* 1988;2 (Pt 5):552-77.
55. Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J, Maguire MG, Fine SL, Brucker AJ, et al. Foveolar choroidal blood flow in age-related macular degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science.* 1998;39(2):385-90.
56. Weiter JJ, Delori F, Dorey CK. Central sparing in annular macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 1988;106(3):286-92.
57. Sunness JS, Gonzalez-Baron J, Bressler NM, Hawkins B, Applegate CA. The development of choroidal neovascularization in eyes with the geographic atrophy form of age-related macular degeneration. *Ophthalmology.* 1999;106(5):910-9.
58. Cicinelli MV, Rabiolo A, Sacconi R, Carnevali A, Querques L, Bandello F, et al. Optical coherence tomography angiography in dry age-related macular degeneration. *Survey of ophthalmology.* 2018;63(2):236-44.
59. Schmidt-Erfurth U, Klmscha S, Waldstein SM, Bogunović H. A view of the current and future role of optical coherence tomography in the management of age-related macular degeneration. *Eye (London, England).* 2017;31(1):26-44.
60. Bird AC, Bressler NM, Bressler SB, Chisholm IH, Coscas G, Davis MD, et al. An international classification and grading system for age-related maculopathy and age-related macular degeneration. The International ARM Epidemiological Study Group. *Survey of ophthalmology.* 1995;39(5):367-74.

61. Davis MD, Gangnon RE, Lee LY, Hubbard LD, Klein BE, Klein R, et al. The Age-Related Eye Disease Study severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 17. *Archives of ophthalmology* (Chicago, Ill : 1960). 2005;123(11):1484-98.
62. Ferris FL, Davis MD, Clemons TE, Lee LY, Chew EY, Lindblad AS, et al. A simplified severity scale for age-related macular degeneration: AREDS Report No. 18. *Archives of ophthalmology* (Chicago, Ill : 1960). 2005;123(11):1570-4.
63. Joachim N, Mitchell P, Kifley A, Rochtchina E, Hong T, Wang JJ. Incidence and progression of geographic atrophy: observations from a population-based cohort. *Ophthalmology*. 2013;120(10):2042-50.
64. Liew G, Joachim N, Mitchell P, Burlutsky G, Wang JJ. Validating the AREDS Simplified Severity Scale of Age-Related Macular Degeneration with 5- and 10-Year Incident Data in a Population-Based Sample. *Ophthalmology*. 2016;123(9):1874-8.
65. Joachim N, Mitchell P, Burlutsky G, Kifley A, Wang JJ. The Incidence and Progression of Age-Related Macular Degeneration over 15 Years: The Blue Mountains Eye Study. *Ophthalmology*. 2015;122(12):2482-9.
66. Klein R, Meuer SM, Myers CE, Buitendijk GH, Rochtchina E, Choudhury F, et al. Harmonizing the classification of age-related macular degeneration in the three-continent AMD consortium. *Ophthalmic epidemiology*. 2014;21(1):14-23.
67. Wong TY, Klein BE, Klein R. The prevalence and 5-year incidence of ocular trauma. The Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 2000;107(12):2196-202.
68. Wong WL, Su X, Li X, Cheung CM, Klein R, Cheng CY, 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):e106-16.
69. Lambert NG, ElShelmani H, Singh MK, Mansergh FC, Wride MA, Padilla M, et al. Risk factors and biomarkers of age-related macular degeneration. *Progress in retinal and eye research*. 2016;54:64-102.
70. Mitchell P, Wang JJ, Smith W, Leeder SR. Smoking and the 5-year incidence of age-related maculopathy: the Blue Mountains Eye Study. *Archives of ophthalmology* (Chicago, Ill : 1960). 2002;120(10):1357-63.
71. Shankar A, Mitchell P, Rochtchina E, Tan J, Wang JJ. Association between circulating white blood cell count and long-term incidence of age-related macular degeneration: the Blue Mountains Eye Study. *American journal of epidemiology*. 2007;165(4):375-82.
72. Arnold JJ, Sarks SH, Killingsworth MC, Sarks JP. Reticular pseudodrusen. A risk factor in age-related maculopathy. *Retina* (Philadelphia, Pa). 1995;15(3):183-91.
73. Zweifel SA, Imamura Y, Spaide TC, Fujiwara T, Spaide RF. Prevalence and Significance of Subretinal Drusenoid Deposits (Reticular Pseudodrusen) in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*. 2010;117(9):1775-81.
74. Greferath U, Guymer RH, Vessey KA, Brassington K, Fletcher EL. Correlation of Histologic Features with In Vivo Imaging of Reticular Pseudodrusen. *Ophthalmology*. 2016;123(6):1320-31.
75. Sadda SR, Guymer R, Holz FG, Schmitz-Valckenberg S, Curcio CA, Bird AC, et al. Consensus Definition for Atrophy Associated with Age-Related Macular Degeneration on OCT: Classification of Atrophy Report 3. *Ophthalmology*. 2018;125(4):537-48.
76. Zhou Q, Daniel E, Grunwald JE, Maguire MG, Gwailly DY, Martin DF, et al. Association between pseudodrusen and delayed patchy choroidal filling in the comparison of age-related macular degeneration treatments trials. *Acta ophthalmologica*. 2017;95(6):e518-e20.
77. Zarubina AV, Gal-Or O, Huisingh CE, Owsley C, Freund KB. Macular Atrophy Development and Subretinal Drusenoid Deposits in Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Treated Age-Related Macular Degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2017;58(14):6038-45.
78. Schmitz-Valckenberg S, Alten F, Steinberg JS, Jaffe GJ, Fleckenstein M, Mukesh BN, et al. Reticular Drusen Associated with Geographic Atrophy in Age-Related Macular Degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011;52(9):5009-15.

79. Zhou Q, Daniel E, Maguire MG, Grunwald JE, Martin ER, Martin DF, et al. Pseudodrusen and Incidence of Late Age-Related Macular Degeneration in Fellow Eyes in the Comparison of Age-Related Macular Degeneration Treatments Trials. *Ophthalmology*. 2016;123(7):1530-40.
80. Elsner AE, Burns SA, Weiter JJ, Delori FC. Infrared imaging of sub-retinal structures in the human ocular fundus. *Vision research*. 1996;36(1):191-205.
81. Sohrab MA, Smith RT, Salehi-Had H, Sadda SR, Fawzi AA. Image Registration and Multimodal Imaging of Reticular Pseudodrusen. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2011;52(8):5743-8.
82. Hogg RE, Silva R, Staurenghi G, Murphy G, Santos AR, Rosina C, et al. Clinical Characteristics of Reticular Pseudodrusen in the Fellow Eye of Patients with Unilateral Neovascular Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology*. 2014;121(9):1748-55.
83. Nesper PL, Soetikno BT, Fawzi AA. Choriocapillaris Nonperfusion is Associated With Poor Visual Acuity in Eyes With Reticular Pseudodrusen. *American Journal of Ophthalmology*. 2017;174:42-55.
84. Smith RT, Sohrab MA, Busuioc M, Barile G. Reticular macular disease. *American journal of ophthalmology*. 2009;148(5):733-43.e2.
85. Ueda-Arakawa N, Ooto S, Tsujikawa A, Yamashiro K, Oishi A, Yoshimura N. Sensitivity and specificity of detecting reticular pseudodrusen in multimodal imaging in Japanese patients. *Retina (Philadelphia, Pa)*. 2013;33(3):490-7.
86. De Bats F, Mathis T, Mauget-Faÿsse M, Joubert F, Denis P, Kodjikian L. PREVALENCE OF RETICULAR PSEUDODRUSEN IN AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION USING MULTIMODAL IMAGING. *Retina (Philadelphia, Pa)*. 2016;36(1):46-52.
87. Chan H, Cougnard-Grégoire A, Delyfer MN, Combillet F, Rougier MB, Schweitzer C, et al. Multimodal Imaging of Reticular Pseudodrusen in a Population-Based Setting: The Alienor Study. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2016;57(7):3058-65.
88. Finger RP, Wu Z, Luu CD, Kearney F, Ayton LN, Lucci LM, et al. Reticular Pseudodrusen: A Risk Factor for Geographic Atrophy in Fellow Eyes of Individuals with Unilateral Choroidal Neovascularization. *Ophthalmology*. 2014;121(6):1252-6.
89. Wu Z, Ayton LN, Luu CD, Baird PN, Guymer RH. Reticular Pseudodrusen in Intermediate Age-Related Macular Degeneration: Prevalence, Detection, Clinical, Environmental, and Genetic Associations. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2016;57(3):1310-6.
90. Gabrielle P-H, Seydou A, Arnould L, Acar N, Devilliers H, Baudin F, et al. Subretinal Drusenoid Deposits in the Elderly in a Population-Based Study (the Montrachet Study). *Investigative ophthalmology & visual science*. 2019;60(14):4838-48.
91. Finger RP, Chong E, McGuinness MB, Robman LD, Aung KZ, Giles G, et al. Reticular Pseudodrusen and Their Association with Age-Related Macular Degeneration: The Melbourne Collaborative Cohort Study. *Ophthalmology*. 2016;123(3):599-608.
92. Cohen SY, Dubois L, Tadayoni R, Delahaye-Mazza C, Debibie C, Quentel G. Prevalence of reticular pseudodrusen in age-related macular degeneration with newly diagnosed choroidal neovascularisation. *The British journal of ophthalmology*. 2007;91(3):354-9.
93. Kim J-Y, Zhao H, Martinez J, Doggett Teresa A, Kolesnikov Alexander V, Tang Peter H, et al. Noncanonical Autophagy Promotes the Visual Cycle. *Cell*. 2013;154(2):365-76.
94. Kaszubski PA, Ben Ami T, Saade C, Nabati C, Kumar V, Santos AR, et al. Changes in reticular pseudodrusen area in eyes that progressed from early to late age-related macular degeneration. *International ophthalmology*. 2018;38(2):503-11.
95. Holekamp N, Wykoff CC, Schmitz-Valckenberg S, Monés J, Souied EH, Lin H, et al. Natural History of Geographic Atrophy Secondary to Age-Related Macular Degeneration: Results from the Prospective Proxima A and B Clinical Trials. *Ophthalmology*. 2020;127(6):769-83.
96. Querques G, Canoui-Poitrine F, Coscas F, Massamba N, Querques L, Mimoun G, et al. Analysis of Progression of Reticular Pseudodrusen by Spectral Domain–Optical Coherence Tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2012;53(3):1264-70.

97. Chan H, Cougnard-Grégoire A, Delyfer M-N, Combillet F, Rougier M-B, Schweitzer C, et al. Multimodal Imaging of Reticular Pseudodrusen in a Population-Based Setting: The Alienor Study. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2016;57(7):3058-65.
98. Guymer RH, Wu Z, Hodgson LAB, Caruso E, Brassington KH, Tindill N, et al. Subthreshold Nanosecond Laser Intervention in Age-Related Macular Degeneration: The LEAD Randomized Controlled Clinical Trial. *Ophthalmology*. 2019;126(6):829-38.
99. ARNOLD JJ, SARCS SH, KILLINGSWORTH MC, SARCS JP. RETICULAR PSEUDODRUSEN: A Risk Factor in Age-Related Maculopathy. 1995;15(3):183-91.
100. Sarks J, Arnold J, Ho I-V, Sarks S, Killingsworth M. Evolution of reticular pseudodrusen. 2011;95(7):979-85.
101. Cheung CMG, Gan A, Yanagi Y, Wong TY, Spaide R. Association between Choroidal Thickness and Drusen Subtypes in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology Retina*. 2018;2(12):1196-205.
102. Spaide RF, Fujimoto JG, Waheed NK, Sadda SR, Staurengi G. Optical coherence tomography angiography. *Progress in retinal and eye research*. 2018;64:1-55.
103. Zhang Q, Zhang L, Wang H, Jiang Q, Zhu X. Simultaneous efficient removal of oxyfluorfen with electricity generation in a microbial fuel cell and its microbial community analysis. *Bioresource Technology*. 2018;250:658-65.
104. Alten F, Heiduschka P, Clemens CR, Eter N. Exploring choriocapillaris under reticular pseudodrusen using OCT-Angiography. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2016;254(11):2165-73.
105. Zhang Y, Wang X, Rivero EB, Clark ME, Witherspoon CD, Spaide RF, et al. Photoreceptor perturbation around subretinal drusenoid deposits as revealed by adaptive optics scanning laser ophthalmoscopy. *Am J Ophthalmol*. 2014;158(3):584-96.e1.
106. Querques G, Kamami-Levy C, Blanco-Garavito R, Georges A, Pedinielli A, Capuano V, et al. Appearance of medium-large drusen and reticular pseudodrusen on adaptive optics in age-related macular degeneration. 2014;98(11):1522-7.
107. Chiang TT-K, Keenan TD, Agrón E, Liao J, Klein B, Chew EY, et al. Macular thickness in intermediate age-related macular degeneration is influenced by disease severity and subretinal drusenoid deposit presence. 2020;61(6):59-.
108. Ho CY, Lek JJ, Aung KZ, McGuinness MB, Luu CD, Guymer RH. Relationship between reticular pseudodrusen and choroidal thickness in intermediate age-related macular degeneration. 2018;46(5):485-94.
109. Pfau M, Jolly JK, Wu Z, Denniss J, Lad EM, Guymer RH, et al. Fundus-controlled perimetry (microperimetry): Application as outcome measure in clinical trials. *Progress in retinal and eye research*. 2021;82:100907.
110. Corvi F, Souied EH, Falfoul Y, Georges A, Jung C, Querques L, et al. Pilot evaluation of short-term changes in macular pigment and retinal sensitivity in different phenotypes of early age-related macular degeneration after carotenoid supplementation. 2017;101(6):770-3.
111. Cheung N, Rogers S, Couper DJ, Klein R, Sharrett AR, Wong TY. Is diabetic retinopathy an independent risk factor for ischemic stroke? *Stroke*. 2007;38(2):398-401.
112. Dutheil C, Le Goff M, Cougnard-Grégoire A, Gattoussi S, Korobelnik J-F, Rougier M-B, et al. Incidence and Risk Factors of Reticular Pseudodrusen Using Multimodal Imaging. *JAMA ophthalmology*. 2020;138(5):467-77.
113. Leisy HB, Ahmad M, Marmor M, Smith RT. Association between Decreased Renal Function and Reticular Macular Disease in Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology Retina*. 2017;1(1):42-8.
114. Nassisi M, Lei J, Abdelfattah NS, Karamat A, Balasubramanian S, Fan W, et al. OCT Risk Factors for Development of Late Age-Related Macular Degeneration in the Fellow Eyes of Patients Enrolled in the HARBOR Study. *Ophthalmology*. 2019;126(12):1667-74.
115. Pumariega NM, Smith RT, Sohrab MA, LeTien V, Souied EH. A Prospective Study of Reticular Macular Disease. *Ophthalmology*. 2011;118(8):1619-25.

116. Klein R, Meuer SM, Knudtson MD, Iyengar SK, Klein BE. The epidemiology of retinal reticular drusen. *Am J Ophthalmol*. 2008;145(2):317-26.
117. Marsiglia M, Boddu S, Bearely S, Xu L, Breaux BE, Jr, Freund KB, et al. Association Between Geographic Atrophy Progression and Reticular Pseudodrusen in Eyes With Dry Age-Related Macular Degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2013;54(12):7362-9.
118. Sobrin L, Seddon JM. Nature and nurture- genes and environment- predict onset and progression of macular degeneration. *Progress in retinal and eye research*. 2014;40:1-15.
119. Fritsche LG, Igl W, Bailey JNC, Grassmann F, Sengupta S, Bragg-Gresham JL, et al. A large genome-wide association study of age-related macular degeneration highlights contributions of rare and common variants. *Nature Genetics*. 2016;48(2):134-43.
120. Jakobsdottir J, Conley YP, Weeks DE, Mah TS, Ferrell RE, Gorin MB. Susceptibility Genes for Age-Related Maculopathy on Chromosome 10q26. *The American Journal of Human Genetics*. 2005;77(3):389-407.
121. DeWan A, Liu M, Hartman S, Zhang SS-M, Liu DTL, Zhao C, et al. *HTRA1* Promoter Polymorphism in Wet Age-Related Macular Degeneration. 2006;314(5801):989-92.
122. Joachim N, Mitchell P, Rochtchina E, Tan AG, Wang JJ. Incidence and Progression of Reticular Drusen in Age-related Macular Degeneration: Findings from an Older Australian Cohort. *Ophthalmology*. 2014;121(4):917-25.
123. Buitendijk GHS, Hooghart AJ, Brussee C, de Jong PTVM, Hofman A, Vingerling JR, et al. Epidemiology of Reticular Pseudodrusen in Age-Related Macular Degeneration: The Rotterdam Study. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2016;57(13):5593-601.
124. Lin LY, Zhou Q, Hagstrom S, Maguire MG, Daniel E, Grunwald JE, et al. Association of Single-Nucleotide Polymorphisms in Age-Related Macular Degeneration With Pseudodrusen: Secondary Analysis of Data From the Comparison of AMD Treatments Trials. *JAMA ophthalmology*. 2018;136(6):682-8.
125. Yoneyama S, Sakurada Y, Mabuchi F, Imasawa M, Sugiyama A, Kubota T, et al. Genetic and clinical factors associated with reticular pseudodrusen in exudative age-related macular degeneration. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*. 2014;252(9):1435-41.
126. Smith RT, Merriam JE, Sohrab MA, Pumariega NM, Barile G, Blonska AM, et al. Complement Factor H 402H Variant and Reticular Macular Disease. *Archives of Ophthalmology*. 2011;129(8):1061-6.
127. Domalpally A, Agrón E, Pak JW, Keenan TD, Ferris FL, Clemons TE, et al. Prevalence, Risk, and Genetic Association of Reticular Pseudodrusen in Age-related Macular Degeneration: Age-Related Eye Disease Study 2 Report 21. *Ophthalmology*. 2019;126(12):1659-66.
128. Sonoda S, Sakamoto T, Yamashita T, Shirasawa M, Uchino E, Terasaki H, et al. Choroidal structure in normal eyes and after photodynamic therapy determined by binarization of optical coherence tomographic images. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2014;55(6):3893-9.
129. Mitchell P, Liew G, Gopinath B, Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet (London, England)*. 2018;392(10153):1147-59.
130. Al-Zamil WM, Yassin SA. Recent developments in age-related macular degeneration: a review. *Clinical interventions in aging*. 2017;12:1313-30.
131. Armstrong RA, Mousavi M. Overview of Risk Factors for Age-Related Macular Degeneration (AMD). *Journal of stem cells*. 2015;10(3):171-91.
132. Mimoun G, Soubrane G, Coscas GJJfdo. Macular drusen. 1990;13(10):511-30.
133. Klein R, Klein BE, Knudtson MD, Meuer SM, Swift M, Gangnon RE. Fifteen-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *Ophthalmology*. 2007;114(2):253-62.
134. Knudtson MD, Klein R, Klein BE. Physical activity and the 15-year cumulative incidence of age-related macular degeneration: the Beaver Dam Eye Study. *The British journal of ophthalmology*. 2006;90(12):1461-3.
135. Boddu S, Lee MD, Marsiglia M, Marmor M, Freund KB, Smith RT. Risk factors associated with reticular pseudodrusen versus large soft drusen. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(5):985-93.e2.

136. Spaide RF. Choriocapillaris Flow Features Follow a Power Law Distribution: Implications for Characterization and Mechanisms of Disease Progression. *Am J Ophthalmol.* 2016;170:58-67.
137. Borrelli E, Uji A, Sarraf D, Sadda SR. Alterations in the Choriocapillaris in Intermediate Age-Related Macular Degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2017;58(11):4792-8.
138. Clemens CR, Lauermaun JL, Schmitz B, Eter N, Alten F. Longitudinal choriocapillaris changes in the presence of reticular pseudodrusen. *Scientific reports.* 2021;11(1):18227.
139. Lee JY, Lee DH, Lee JY, Yoon YH. Correlation Between Subfoveal Choroidal Thickness and the Severity or Progression of Nonexudative Age-Related Macular Degeneration. *Investigative ophthalmology & visual science.* 2013;54(12):7812-8.
140. Jonas JB, Forster TM, Steinmetz P, Schlichtenbrede FC, Harder BC. Choroidal thickness in age-related macular degeneration. *Retina (Philadelphia, Pa).* 2014;34(6):1149-55.
141. Sonoda S, Sakamoto T, Yamashita T, Uchino E, Kawano H, Yoshihara N, et al. Luminal and stromal areas of choroid determined by binarization method of optical coherence tomographic images. *Am J Ophthalmol.* 2015;159(6):1123-31.e1.
142. Koh LHL, Agrawal R, Khandelwal N, Sai Charan L, Chhablani J. Choroidal vascular changes in age-related macular degeneration. *Acta ophthalmologica.* 2017;95(7):e597-e601.
143. Kanda A, Chen W, Othman M, Branham KE, Brooks M, Khanna R, et al. A variant of mitochondrial protein LOC387715/ARMS2, not HTRA1, is strongly associated with age-related macular degeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2007;104(41):16227-32.
144. Shijo T, Sakurada Y, Fukuda Y, Yoneyama S, Sugiyama A, Matsubara M, et al. Association of CRP levels with ARMS2 and CFH variants in age-related macular degeneration. *International ophthalmology.* 2020;40(10):2735-42.
145. Filiz Hazan SN, Haluk Akın, Jale Menteş, Filiz Afrashi, Tansu Erakgün, Gülçin İtirli, Cihangir Özkinay. Association of ARMS2 gene rs10490924 and HTRA1 gene rs11200638 Polymorphisms with Exudative Age-Related Macular Degeneration in Western Aegean Population of Turkey. *Journal of retina vitreous.* 2021;2021 , Vol 30 , Num 2. DOI : 10.37845/ret.vit.2021.30.31
146. Bardak H, Gunay M, Ercalik Y, Bardak Y, Ozbas H, Bagci O. Next-generation sequencing analysis of the ARMS2 gene in Turkish exudative age-related macular degeneration patients. *Genetics and molecular research : GMR.* 2017;16(1).
147. Hu Z, Xie P, Ding Y, Yuan D, Liu Q. Association between variants A69S in ARMS2 gene and response to treatment of exudative AMD: a meta-analysis. *The British journal of ophthalmology.* 2015;99(5):593-8.
148. Soysal Y, Inan U, Küsbeci T, Imirzalioglu N. Age-related macular degeneration and association of CFH Y402H and LOC387715 A69S polymorphisms in a Turkish population. *DNA and cell biology.* 2012;31(3):323-30.