

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

SANTRAL SERÖZ KORYORETİNOPATİ (SSR)' DE
KDR GEN POLİMORFİZMİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Gökçe ERDOĞAN

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2014

T.C
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

SANTRAL SERÖZ KORYORETİNOPATİ (SSR)' DE
KDR GEN POLİMORFİZMİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Gökçe ERDOĞAN

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Mahmut AKYOL

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Tarafından desteklenmiştir. (Proje No:2014.02.0122.008)

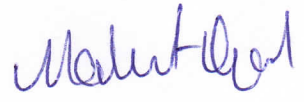
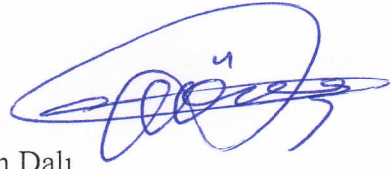
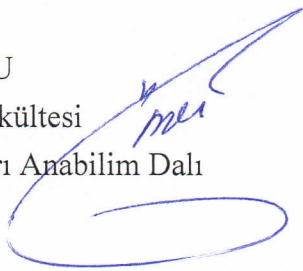
“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir”

Antalya, 2014

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans Programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

20/06/2014

- Tez Danışmanı** : Yrd. Doç. Dr. Mahmut AKYOL
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı 
- Üye** : Prof. Dr. Osman Nidai ÖZEŞ
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı 
- Üye** : Yrd. Doç. Dr. Ömer DOĞRU
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı 

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL
Enstitü Müdürü

ÖZET

Santral seröz koryoretinopati, gözün makula bölgesinde seröz dokuda meydana gelen idiyopatik oküler bir bozukluktur. Popülasyon insidansı erkeklerde kadınlara oranla 6 kat fazladır. Geçmişten günümüze yapılan çalışmalar yeni damar oluşumunun göz içi kanamalarına ve sıvı birikimlerine yol açarak görmeyi azalttığını göstermiştir. Vazküler endotelial büyüme faktörleri (VEGF' ler) anjiogenezi indükleyerek birçok retinal hastalığa sebep olur ve damar geçirgenliğini artırarak makulada ödem oluşumuna yol açar. *KDR* (NM_002253) geni 4q11-12' de lokalize olur, yapısı ve hücrel mekanizmaları göz önüne alındığında, *KDR* gen mutasyonları santral seröz koryoretinopati dekolmanı ile ilişkilendirilmiştir. Retinal hastalıklar içinde insidansı düşük olan SSR ile *KDR* geni ilişkilendirilerek genetik bir çalışma yapılmamıştır. Literatürde VEGF-A' nın SSR hastalığının patofizyolojisinde rol oynadığı daha önceki çalışmalarda belirtilmiştir. Bu sebeple *KDR* gen sekansını SSR üzerindeki olası genetik faktörlerin etkilerini açıklayabilecek aday gen ve bölge olarak belirledik.

Projemizin amacı, santral seröz koryoretinopati tanısı almış olgularda *KDR* genindeki mutasyonları saptayarak genotip ve fenotip ilişkisini belirlemektir. Çalışmamızda yer alan SSR tanılı 32 olgu ve 32 kontrol bireyinde *KDR* geninin ekzonik bölgelerine yönelik Sanger sekans yöntemi ile DNA dizi analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak bilinen rs140825421 ($p>0.05$) ve rs2305948 ($p>0.05$) yanlış anlamlı, rs35961234 ($p>0.05$) ve rs77722107 ($p>0.05$) sinonim, rs2219471 ($p=0.59$) ve rs2305949 ($p=0.3$) intronik, rs4421048 transle olmayan bölge mutasyonu ve daha önce tanımlanmamış del_TAA yeni delesyonu ($p>0,05$) belirlenmiştir.

Çalışmamız, SSR ilişkili *KDR* geni mutasyon profili ile ilgili yapılan ilk genetik çalışmadır. Bu bağlamda, VEGF-A ve *KDR* mRNA sekansı ile yapılacak genetik çalışmalar moleküler tanı açısından önem kazanmaktadır. Ayrıca, ilgili genlerde saptanacak olan mutasyonlar popülasyonumuza tanı ve genetik danışma açısından önemli katkı sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: Santral Seröz Koryoretinopati, *KDR* Geni, SNP, Göz, Sanger Sekans

ABSTRACT

Central serous chorioretinopathy is an idiopathic ocular defect occurs in serous tissue of the macular region. Population incidence in men is six times higher than women. Growing evidence the formation of new blood vessel studies, showed that intraocular hemorrhage and fluid accumulation lead to reduced vision. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) causes to many retinal diseases via inducing angiogenesis and leads to macular edema by increasing vascular permeabilities. The *KDR* (NM_002253) gene, is a VEGF receptor gene, localized at chromosome 4q11-12. Given that the VEGF gene family structure and cellular mechanisms, *KDR* gene mutations have been associated with central serous chorioretinopathy detachment. There has not been any genetic studies about *KDR* gene related with CSCR. Previous studies indicates that VEGF-A plays a crucial role in physiopathology of CSCR disease. Therefore we have identified *KDR* gene sequence as candidate gene and region to explain potential effects of genetic factors on CSCR.

The aim of our project is to investigate the mutation spectrum in the *KDR* gene in patients with central serous chorioretinopathy and to determine the genotype-phenotype relationship. Exonic regions of the *KDR* gene were sequenced with Sanger method to 32 cases with CSCR and 32 control groups. Consequently known rs140825421 ($p>0.05$) and rs2305948 ($p=0,3$) missense mutations, rs35961234 ($p>0.05$) and rs77722107 ($p>0.05$) synonymous, rs2219471 ($p=0,59$) and rs2305949 ($p=0,86$) intronic, rs4421048 UTR mutation and one novel hetdel_TAA deletion ($p>0,05$) were found.

Our results, were the first genetic study of *KDR* gene mutations causing CSCR. Emphasizes the requirement for complete screening of the mRNA sequence of *KDR* and VEGF-A genes for molecular diagnosis. The identification of mutations in genes of interest would also have importance in diagnosis and genetic counseling in our population.

Key Words: Central Serous Chorioretinopathy, *KDR* Gene, SNP, Eye, Sanger Sequencing

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalışmalarım sırasında her zaman gösterdiği ilgisi, desteği, yol göstericiliği ve bilimsel bakış açısı kazanabilmem için verdiği emek nedeniyle Sayın danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Mahmut AKYOL' a,

Yüksek lisans eğitimime başlamam için verdiği fırsat, teorik ve deneysel konularda engin bilgisi ve tecrübesiyle desteğini hiçbir zaman esirgemeyen ve her daim bana olan güveniyle onur duyduğum Sayın Prof. Dr. Osman Nidai ÖZEŞ' e,

Bu tezin gerçekleştirilmesinde ve çalışmalarımı tamamlayabilmem için gerekli olguları sağladığı için Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi' nden Sayın Uz. Dr. Muhammed Kazım EROL' a,

Yüksek lisans eğitimim ve öğretimim boyunca derslerinde bana öğrettikleri bilgiler ve üzerimde bulunan emekleri için Sayın Doç. Dr. Ahter Dilşad ŞANLIOĞLU' na ve Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı' ndaki değerli hocalarıma, yüksek lisans eğitimimin son dönemlerinde tanıştığım, tanımaktan mutluluk duyduğum, derslerinde farklı bakış açıları kazanmamı sağlayan Sayın Yrd. Doç. Dr. Gül ÖZBEY' e teşekkür ederim.

Çalışmalarımı yürüttüğüm bölümümüz teknik ekibine, sekreterlerimize ve Enstitü personelimize teşekkür ederim.

Bugüne gelebilmemde her zaman yanımda hissettiğim sevgi ve güvenleri, 2 yıl süresince yüksek lisans eğitimim için üzerimde harcadıkları maddi manevi çaba, gösterdikleri anlayış, benimle birlikte uykusuz kalan sevgili annem Nermin ERDOĞAN' a, her koşulda verdiği destek için kıymetli babam Bahattin ERDOĞAN' a ve tez yazımında dahi desteğini esirgemeyen biricik abim Alper ERDOĞAN' a tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
GİRİŞ ve AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
2.1. Göz ve Gözün Yapısı	2
2.2. Sık Görülen Retina Hastalıkları	3
2.2.1 Diyabetik Retinopati	3
2.2.2. Glokom	4
2.2.3. Katarakt	4
2.2.4. Yaşa Bağlı Makular Dejenerasyon (YBMD)	5
2.3. Santral Seröz Koryoretinopati (SSR)	5
2.3.1. Epidemiyoloji	6
2.3.2. Klinik Bulgular	7
2.3.3. SSR ve Sistemik Hastalıklar	7
2.3.4. Tanı Yöntemleri	7
2.3.5. Ayırıcı Tanı	8
2.4. Vazküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	9
2.4.1 VEGF Ligandları	9
2.4.2. Anti-VEGF İlaç Terapisi	11
2.5. Vazküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptör -2 (VEGFR-2 [<i>KDR</i>])	12

MATERYAL VE YÖNTEM	17
3.1. Periferal Kan Örneklerinin Alımı	17
3.2. Periferal Kandan DNA Eldesi	17
3.2.1. Kullanılan Solusyonlar	17
3.2.2. İşlemler	18
3.2.3. DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü	18
3.3. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi	19
3.3.1. Primer Dizaynı	19
3.3.2. PZR Programı	20
3.4. Agaroz Jel Elektroforezi ve Görüntüleme Sistemi	20
3.4.1. %1,8' lik Agaroz Jelin Hazırlanması	20
3.4.2. İşlemler	20
3.5. Amplikonların Temizlenmesi	21
3.5.1. İşlemler	21
3.5.2. Temizleme Programı	21
3.6. DNA Dizi Analizi	21
3.6.1. Dizileme Reaksiyonu	21
3.6.2. Dizileme PZR Programı	21
3.6.3. Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi	21
3.6.4. DNA Dizi Analizi Değerlendirilmesi	21
BULGULAR	22
4.1. Klinik İnceleme	22
4.2. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları	22
4.3. İstatistiksel Analiz ve Verilerin Hazırlanması	30
TARTIŞMA	31
SONUÇLAR	35
KAYNAKLAR	36
ÖZGEÇMİŞ	41

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

bç	:	Baz çifti
CLB	:	Hücre Liziz Tamponu (Cell Lysis Buffer)
DR	:	Diyabetik Retinopati
dH₂O	:	Distile su
EXO-SAP	:	Exonuclease I-Schrimpfalke Alkaline Phosphatase
FA	:	Florasın Anjioskopi
Ig	:	İmmünoglobulin
KDR	:	Kinase Inserted Domain Receptor (Kinaz Alanı Bölünmüş Reseptör)
ml	:	Mililitre
µl	:	Mikrolitre
ng	:	Nanogram
NaCl	:	Sodyum Klorür
OKT	:	Optik Kohorens Tomografi
PZR	:	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RPE	:	Retina Pigment Epiteli
rpm	:	Dakikada dönüş sayısı
SSR	:	Santral Seröz Koryoretinopati
SNP	:	Single Nucleotid Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
SDS	:	Sodyum Dodesil Sülfat
T_M	:	Primerin Erime/Ayrılma Derecesi (Melting Temperature)
TKM1	:	Düşük Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu
TKM2	:	Yüksek Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu
TBE	:	Tris Borat EDTA
VEGF	:	Vascular Endothelial Growth Factor (Vazküler Endotelyal Büyüme Faktörü)
VEGFR2	:	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (Vazküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptörü 2)
YBMD	:	Yaşın Bağlı Makular Dejenerasyon

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>		<u>Sayfa</u>
2.1.	Gözün Yapısı	3
2.2.	Normal ve Diyabetik Retinopatili Retina Görüntüsü	4
2.3.	Normal ve makular dekolmanlı göz	5
2.4.	SSR tanılı bir olguda meydana gelen subretinal sıvıda makular elevasyonunun optik kohorens tomografi (OKT) görüntüsü	9
2.5.	VEGF reseptörlerinin bağlanma ve sinyal yapıları	11
2.6.	KDR proteininin üç boyutlu yapısı	13
2.7.	<i>KDR</i> (VEGFR-2) geninin moleküler yapısı	15
2.8.	<i>KDR</i> geninde Ig Alan-1, intron 2' de yer alan AC çift nükleotid tekrarlayan polimorfizminin dizideki yeri gösterilmiştir.	16
4.1.	<i>KDR</i> geninin ekzon 11, ekzon 12 ve ekzon 13 amplikonlarının agaroz jel görüntüsü.	23
4.2.	<i>KDR</i> geninin ekzon 6, ekzon 7 ve ekzon 10 amplikonlarının agaroz jel görüntüsü.	23
4.3.	<i>KDR</i> geninin ekzon 15, ekzon 18 ve ekzon 30_2 amplikonlarının agaroz jel görüntüsü.	23
4.4.	<i>KDR</i> geninin ekzon 3, ekzon 8,9, ekzon 27, ekzon 28, ekzon 29 ve ekzon 30_1 amplikonlarının agaroz jel görüntüsü.	24
4.5.	<i>KDR</i> geninin referans cDNA ve mRNA dizisi ve ekzon bağlanma bölgeleri verilmiştir.	24
4.6.	c.659-24G>A intronik mutasyonu	26
4.7.	p.Val297Ile mutasyonu	27
4.8.	p.Pro590Ser mutasyonu	27
4.9.	p.Leu612 mutasyonu	28
4.10.	g.48495-48498 het_delTAA delesyonu	28
4.11.	c.*27T>C 3'UTR mutasyonu	29
4.12.	c.2818-37A>G intronik varyantı	29
4.13.	p.Thr1336 (c.4008C>T) mutasyonu	30

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. VEGF ligandlarının bağlandıkları reseptörler ve fonksiyonları	10
2. VEGF-A izoformları ve heparin afiniteleri	10
3. <i>KDR</i> geni kimlik bilgileri	12
4. <i>KDR</i> geni tirozin fosforilasyon alanları	16
5. Amplifiye edilen <i>KDR</i> geni ileri ve geri primer ekzon dizileri	19
6. PZR Kimyasal Protokolü	20
7. DNA dizileme cihaz protokolleri	21
8. SSR tanısı alan olgu ve kontrol gruplarının yaş/cinsiyet/BMI' ya göre dağılımı ve p değerleri	22
9. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)' ne göre olgu-kontrol gruplarının mutasyon oranlarının karşılaştırılması	30

GİRİŞ VE AMAÇ

Retina, göz küresi boşluğunda bulunan, iç kısımda nörosensoryel tabaka ve dış kısımda pigmentli tabakadan oluşan, göz küresinin iç yüzeyini kaplayan, ince, yarı saydam ve ışığa ve renge duyarlı iki katmanlı bir yapıdır. Retina, özellikle makulanın (sarı nokta, görme merkezi) kompleks yapı ve fonksiyonu nedeniyle çok sayıda gen tarafından kodlanmaktadır. Bu genlerdeki çeşitli mutasyonlara göre farklı genotipik ve fenotipik tablolar ortaya çıkmaktadır. Ülkemizde ve dünyada bu oftalmolojik olgulardan en sık görülenleri diyabetik retinopati (DR) başta olmak üzere glokom, katarakt, yaşa bağlı makular dejenerasyon (YBMD) gibi hastalıklardır. Santral seröz koryoretinopati (SSR) genellikle 30-50 yaş arasında görülen, erkeklerde kadınlara oranla daha sık rastlanan (%85) idiyopatik oküler bir bozukluktur. SSR tedavisinde amaç iyileşme sürecini hızlandırmak ve tekrarlamasını engellemek, böylece görme keskinliği ve vizyon kalitesini arttırmak, komplikasyonları önlemektir. Geçmişten günümüze yapılan tedavi yöntemlerinde amaçlanan sonuçlar tam anlamıyla karşılanamamıştır. Ancak yapılan çalışmalar yeni damar oluşumunun göz içi kanamalarına ve sıvı birikimlerine yol açarak görmeyi azalttığını göstermiştir. Vazküler endotelial büyüme faktörleri (VEGF' ler) körlüğe yol açan göz içi yeni kan damarı oluşumunu uyarır. Neovasküler hastalık tedavisi, mevcut görmeyi stabilize edip ileri kayıpları önleme amaçlı lazer fotokoagülasyon ile iskemik dokunun argon lazeri ile tahrip edilerek neovaskülerizasyonu indükleyen faktörlerin azaltılması prensibi ile uygulanır. Ancak bu tedavi sonucunda doku hasarı meydana gelir. Doku hasarını en aza indirgeyerek, patolojik anjiogenezi engellemeye yönelik vazküler endotel hücre üzerinde anjiogenik maddeler hedef alınmaktadır. Bunlardan en önemlileri VEGF blokajı yapan ilaçlardır. Anti-VEGF' ler büyüme faktörlerini baskılayarak yeni anormal damar gelişimini ve makular ödemini engeller.

VEGF' ler anjiogenezi indükleyerek birçok retinal hastalığa sebep olur ve damar permeabilitesini artırarak makulada ödem oluşumuna yol açar. Retinal hastalıklar içinde insidansı düşük olan SSR ile *KDR* geni ilişkilendirilerek moleküler genetik bir çalışma yapılmamıştır. Daha önceki çalışmalarda SSR hastalığında VEGF-A' nın patofizyolojide rol oynadığı görülmüştür. Bu rolün VEGF-A' nın intraselüler taşıma reseptörü olan *KDR* geni kaynaklı olabileceği literatür tarama sonucu elde ettiğimiz kanıtlara dayanarak söylenilebilir. Çalışmamızda *KDR* gen sekansını SSR' nin patofizyolojisini açıklamakta ve olası tedavilere ışık tutmakta yardımcı olabilecek aday gen ve bölge olarak belirleyerek, *KDR*-SSR ilişkisini tespit etmeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

2.1. Göz ve Gözün Yapısı

Göz, göz çukurunda (orbita) bulunan, iri bir bilye büyüklüğünde, görmeyi sağlayan küremsi organdır. Göz yuvarlağını, hareketi sağlayan kasları, damar ve sinirleri ve bunlar için koruyucu görevi gören yağ tabakasını içerir. İçerdiği vitröz jel, kollojen fibriller yardımıyla göz yuvarlağının stabilizasyonunu sağlar [1]. Işığı geçirmeye ve kırmaya elverişli üç tabakanın birleşmesinden oluşmuştur [2] (Şekil 2.1).

a. Sert Tabaka: Göz yuvarlağının en dış katmanıdır. Bağ dokusundan oluşur. Önde saydam yapıda kornea, arkada beyaz renkli skleradan oluşmuştur.

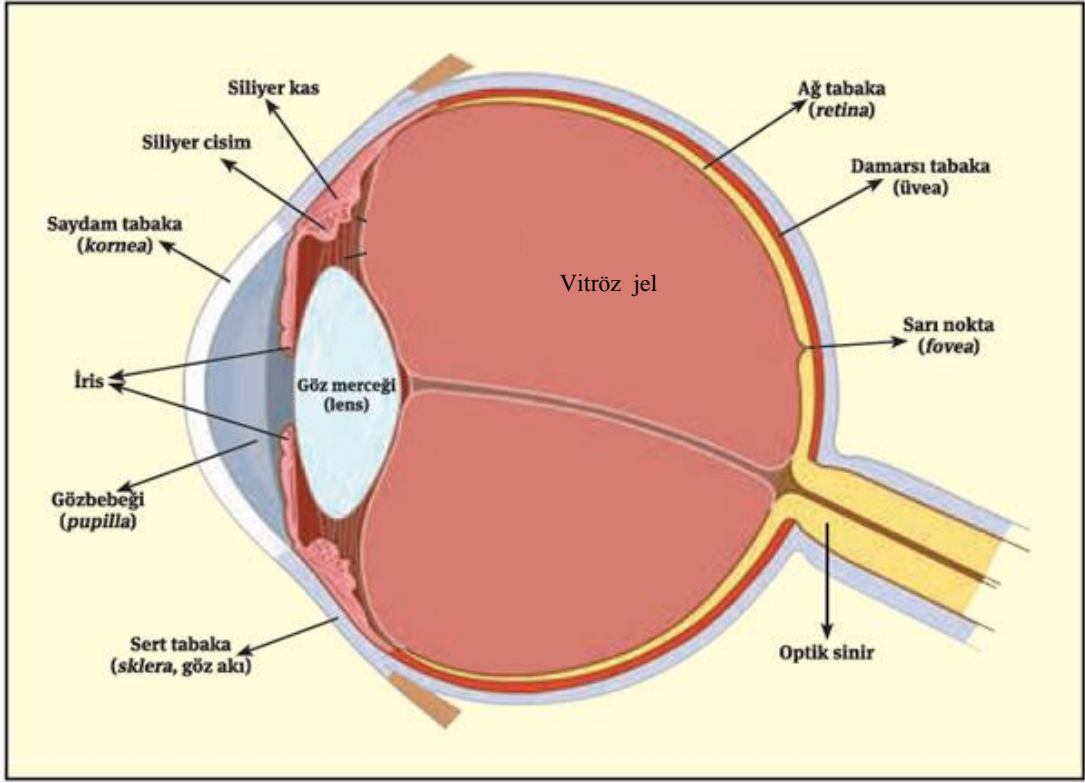
b. Damar Tabaka: Sert tabakanın içinde yer alır. Bol miktarda kan damarı içerir. Üç tabakadan oluşur: Koroid; Damar tabakanın arkasında büyük bir kısmını oluşturur. Siliar cisim; Koroid ile iris arasındadır ve uyum işini yapan siliar kas burada bulunur. İris; Kaslı bir yapıya sahiptir. Pigment hücreleri içerir ve gözün diyafram görevini yapar. İrisin ortasındaki boşluğa pupilla (göz bebeği) ismi verilir.

c. Retina (Tunica nervosa/Ağ Tabaka): Gözün en iç tabakası olup, görmeyi sağlayan kısımdır. İki tip hassas hücresi vardır: Koniler ve basiller. Koniler gündüz görmeyi, renk ve şekil görmeyi sağlarken, basiller karanlıkta görmeyi sağlar.

Gözün diğer yapıları;

Lens (Göz merceği): İris ve pupillanın gerisinde, saydam, ince kenarlı bir mercektir.

Fovea (Sarı Nokta): Retinada, pupillanın tam karşısında bulunur ve sadece koni hücrelerini içerir. Yüksek çözünürlükte görmeyi sağlar.

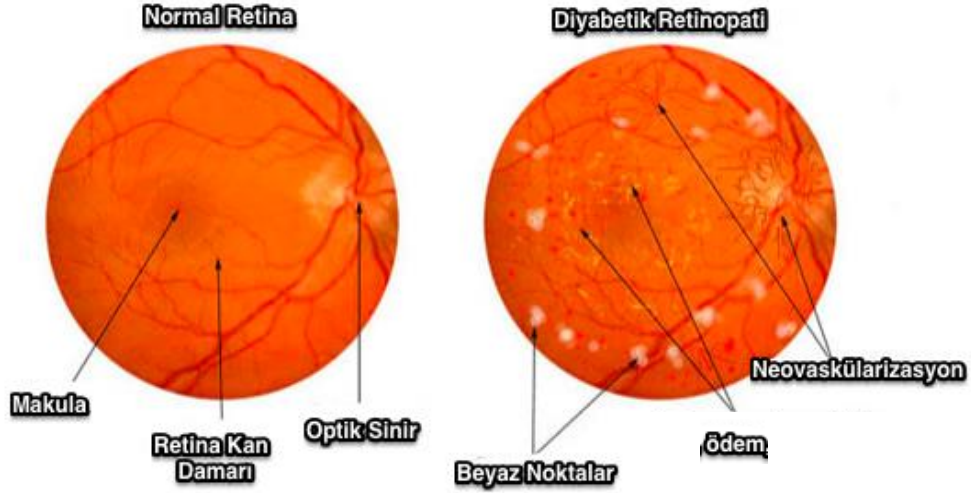


Şekil. 2.1. Gözün yapısı [3]

2.2. Sık Görülen Retina Hastalıkları

2.2.1. Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopati (DR), Diabetes mellitus' lu hastalarda görülür ve retinayı besleyen ince kan damarlarında oluşan hemoraji sonucu oluşur [4]. DR retina yüzeyinde neovaskülarizasyon oluşumuna neden olur (Şekil 2.2). Genellikle ani körlüğe neden olur. Vitroz jelde meydana gelen şiddetli kanama yeni kan damarlarının ve fibröz liflerinin oluşumuna sebep olur. Bu durumda fibröz lifler büzülerek retinayı yerinden ayırabilir. Bu da oldukça riskli bir retina dekolman türü olmakla birlikte vitrektomi prosedürü ile görüş bozukluğu tedavi edilebilir [5]. Diyabetik retinopati gibi retinanın iskemik hastalıklarında VEGF, damar permeabilitesinin ve anormal anjiogenezin mediyatörüdür. Anjiogenez DR gelişiminde görme kaybına yol açmada anahtar rol oynar. VEGF' in aşırı ekspresyonu anjiogenezin artışına bunun da retinal fonksiyon bozukluğuna yol açtığı rapor edilmiştir [6]. Bu sebeple VEGF/KDR (VEGFR) reseptör sinyalizasyon yolağı anjiogenezde, anti-VEGF terapisi de DR gibi anjiogenez ile ilişkili hastalıklarda kritik rol oynar [7].



Şekil 2.2. Normal ve diyabetik retinopati retina görüntüsü [8]

2.2.2. Glokom

Retinal gangliyon hücreleri (RGCs) ve aksonlarının kaybıyla oluşan ilerleyici optik nöropati olarak tanımlanan [9] halk arasında göz tansiyonu olarak bilinen glokom, vitröz jeli dışarı boşaltan kanallarda yapısal tıkanıklık oluşması nedeniyle artan göz içi basıncının, optik sinire zarar vermesiyle ortaya çıkar. Hastalığın başlangıç döneminde genelde hastanın şikâyeti olmaz, bu süre içinde görme siniri yıpranmaya devam eder. Glokom göz içi basıncının ve optik sinir başının fonksiyonlarını olumsuz etkileyecek kadar yüksek seyretmesi ile karakterize bir hastalık grubudur. Tüm dünyada kalıcı görme kaybına en fazla neden olan hastalıktır. Medikal tedavi, lazer ve ileri safhasında cerrahi operasyonlarla tedavi edilebilir.

2.2.3. Katarakt

Lensin saydamlığını kaybederek opak bir görünüm alması sonucu bulanıklaşmasıdır. Lensin saydamlığını kaybetmesi, görme işlevini sağlayan sinir tabakasına ışınların ulaşmasını engeller. Bu durumda görme yeteneği azalır hatta körlüğe sebep olur [10]. Katarakt her yaşta görülebilen bir hastalık olmasıyla birlikte sıklıkla ileri yaş hastalığıdır. Genel belirtileri; göz bebeğinde renk değişimi, sık sık gözlük numarası değiştirmek, gece görüşünde azalma, bulanık ve soluk görme, çift görme şeklinde sıralanabilir. Hastalığın tedavisi hastanın yaşı, organın durumu ve kullanılacak mercek türüne göre cerrahi operasyon ve FAKO (Fakoemülsifikasyon) yöntemiyle [11] mümkündür.

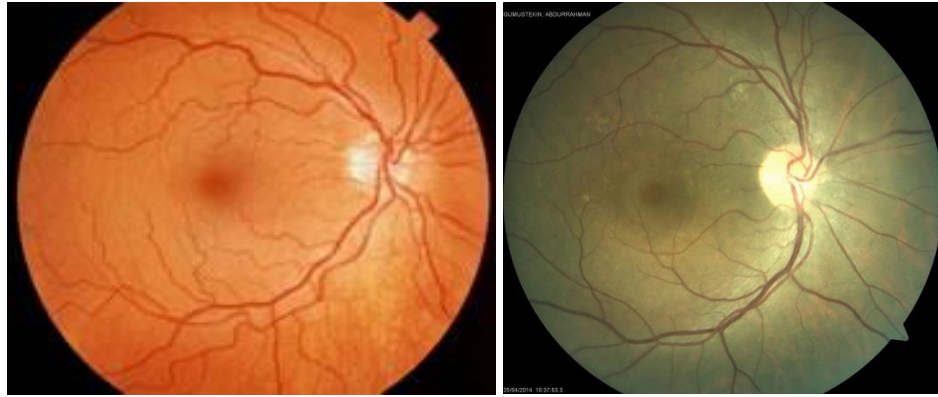
2.2.4. Yaşa Bağlı Makular Dejenerasyon (YBMD)

Yaşa bağlı makula dejenerasyonu (Age-related macular degeneration) 50 yaş üzerindeki olgularda makulada pigmentel ve atrofik değişikliklerle devam eden, santral görme keskinliğinde ilerleyici azalma ile karakterize bir klinik görünüm olarak

tanımlanır [12]. Makula, sarı nokta da denilen ve keskin görmeden sorumlu retina tabakasının ortasında küçük bir alanı kapsar. Sık görülen semptomlar arasında keskin görmede bozukluk, bulanık-puslu görme, görüntülerin ortası bulanık ancak kenarları normal görünmesi, düz çizgilerin dalgalı görünmesi, görme alanının ortasında karanlık ya da boş bir alanın belirmesi sayılabilir. Erken ve geç evre olarak iki aşamaya sahiptir. Bu iki tip tanı ve tedavi açısından farklılık gösterir. Erken evre YBMD' de görme keskinliği normalden geç evrede görme kaybı görülür.

2.3. Santral Seröz Koryoretinopati (SSR)

Santral seröz koryoretinopati gözün makula bölgesinde nöral (sinirsel) retinadaki seröz dokuda meydana gelen dekolman olarak tanımlanır (Şekil 2.3). Hastalık ilk olarak 1866 yılında Albrecht Von Graefe tarafından 'Ueber centrale recidivirente retinitis' yani makulanın tekrarlayan idiyopatik dekolmanı olarak tanımlanmıştır. Maumenee 1959 yılında, florosan anjiyoskopi (FA) tekniğini kullanarak hastalığın retina pigment epiteli (RPE) seviyesindeki dekolmandan kaynaklandığını belirlemiş ve hastalığa adını vermiştir [14-15]. Santral seröz koryoretinopati terimi ilk kez 1967' de Gass tarafından kullanılmıştır [16]. SSR etyolojisinde seyrek seyirli ve gittikçe şiddetlenen görmede bulanıklık, artan hipermetropi, kromatopsi, metamorfopsi ve mikropsi en yaygın şikâyetlerdir [17-19]. Hastalığın en yoğun görüldüğü popülasyon 30-50 yaş arası erkek bireylerdir. Genel olarak aceleci, yarışmacı, agresif ve stresli bir kişilik yapısına sahip A tipi kişiliklerde rastlanma sıklığı artar [20-21]. Norepinefrin, anjiyotensin II, vazopressin, dopamin gibi çeşitli vazokonstriktif ajanların ve sistemik kortikosteroidlerin kullanımı, hiperkortizolemi, aşırı sigara ve alkol kullanımı, antihistaminik ve antidepresan ilaçların sık kullanımında SSR' nin görüldüğü yayınlarda rapor edilmiştir [19].



Şekil 2.3. Normal ve makular dekolmanlı göz. Solda normal makular alan [24], sağda ise SSR tanısı almış hasta grubundan bir olgunun makular alanda oluşan seröz dekolmanı gösterilmektedir.

2.3.1. Epidemiyoloji

SSR epidemiyolojisi üzerine sistematik bir araştırma yapılmamıştır. Popülasyon insidansı üzerine yapılan bir çalışma sonucunda SSR, 22.000 kişide yılda 1 olgu olarak tespit edilmiştir [22]. Bu istatistikî değer kayıtlı retina hastalarının %5' ine karşılık gelmektedir [23-25].

SSR' yi oluşturan iki tip hasar bulunur;

1- En sık görülen tipi; SSR' nin genç hastalarında rastlanan akut lokalize retina dekolmanı ile karakterizasyonudur. Görüş netliğinde azalma ve FA' da bir veya birkaç fokal sızıntı görülür.

2- Dekompanse retino pigment epiteliyopati (RPE) veya kronik SSR RPE' nin pigment değişiklikleri ile sığ subretinal sıvının kronik varlığı ile karakterizedir. Bu tip kronik kortikosteroid kullanan SSR' li olgularda siktir.

Hastalığın patogeneğinde FA' da RPE ve/veya nörosensoryel retinanın dekolmanına yol açabilecek birkaç yırtık gösterilmektedir. RPE hücreleri arasındaki zonula occludens tabakasındaki bir hasarla birlikte koroid kökenli sıvının subretinal boşluğa geçişi patogeneğini oluşturur. Normal dokuda göz içi basınç retinadan koroide doğru dengelenmektedir. Defekt oluşan RPE hücreleri polaritelerini kaybeder ve koroidden retinaya sıvı geçişi nörosensoryel RP dekolmanına yol açar. RPE' de fiziksel ve hücre boyutta hasara yol açan ve subretinal sıvı geçişine yol açan defektlerden biri de vasküler hiperpermeabilitedir. Koroid sıvısı içinde doku hidrostatik basıncının artışı ile oluşur [31].

Koroid dolaşımının otoregülasyonu birçok sebeple gerçekleşir. Perfüzyon basıncı ile sabit kan akışı sağlanır. Bu kan akışının devamını sağlayan temel intrinsik faktör doku oksijen seviyesidir. Yüksek oksijen seviyesi vazokonstriksiyona (damar büzülmesi) sebep olur. Düşük oksijen seviyesi de hipoksi ile indüklenen VEGF' in ekspresyonuna sebep olur. Bu da mikrodamar yoğunluğunun ve hiperpermeabilitenin artmasına yol açar. Mikro damar yoğunluğunun artmasıyla koroidde taşınan protein miktarı artar bu da hiperpermeabilite ile retinaya protein geçişini artırır ve madde birikimiyle maküler ödem oluşumuna neden olur. Ayrıca yüksek kortizol hormon düzeyi de otoregülasyonun bozulmasına sebep olabilir. İrsal faktörler baz alındığında Afro-Amerikalılarda görülme sıklığı beyaz ırk, Latin Amerikalılar ve Asyalılara oranla yüksektir. Bu oranın yüksek olması hastalığın irsal ve genetik predispozisyonun varlığını öne sürmektedir [31-33]. 312 olgu üzerinde yapılan kontrollü bir çalışma sonucunda belirlenen risk faktörleri sıralanmıştır: Sistemik glukokortikoid kullanımı, gebelik, yüksek miktarda antibiyotik ve alkol kullanımı, tedavisiz hipertansiyon, alerjik solunum hastalıklarıdır. Sistemik glukokortikoid kullanımı ile ilişkili SSR' de retina altı fibrin birikimi daha yüksek olabilir. Hastalık genellikle 30-50 yaş arasında, A tipi kişilik özellikleri taşıyan sağlıklı erkeklerde görülmektedir. Hastalar görmeye hafif bulanıklaşma, metamorfopsi, mikropsi, diskromatopsi, santral skotom, kromatopsi ya da migren tipi baş ağrısı ile doktora başvururlar [26].

2.3.2. Klinik Bulgular

Klinik muayene esnasında genellikle arka kutupta şeffaf bül ve retinada kabarıklık gözlemlenir. Subretinal sıvı genellikle saydam olmakla birlikte bazen bulanıktır, içinde fibrin depozitleri de bulunabilir. Kronik SSR' li hastalarda subretinal lipid bulunur.

2.3.3. SSR ve Sistemik Hastalıklar

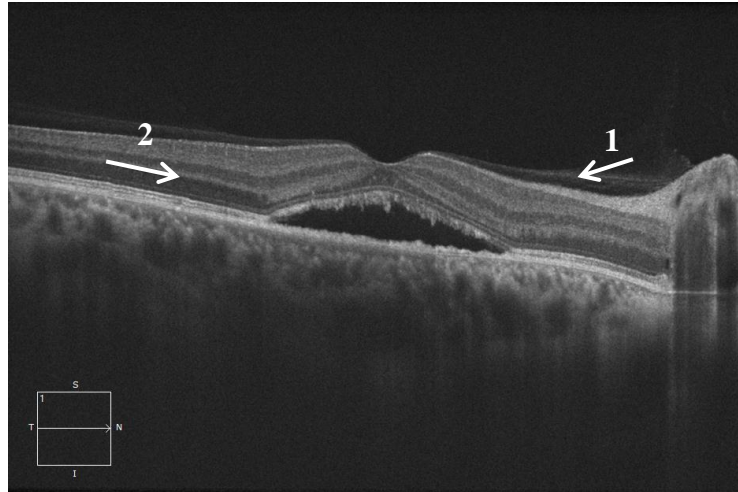
Gebelik, son evre renal yetmezlik, organ transplantasyonu, sistemik lupus eritematozus (SLE), yüksek serbest endojen kortizol üretimi, endojen minerelokortikoid disfonksiyonu, nasal kortikosteroid inhalasyonu, sistemik ve epidural kortikosteroid kullanımı sonucu SSR' nin ağır formu görülebilmektedir. SLE, poli arteritis nodosa (PAN), Goodpasture's sendromu, Wegener granülomatozusu, gebelik toksemisi gibi bazı sistemik hastalıklar koroid iskemisi sonucu pigment epitelyum dekolmanı (PED) ve büllöz nörosensoryel retina dekolmanına sebep olabilir.

2.3.4. Tanı Yöntemleri

FA' da RP epitel seviyesinde oluşan sızıntı bir veya birkaç hiper floresans merkez halinde görülür.

1. Tüten baca/Duman bacası paterni,
2. Mantar veya şemsiye,
3. Mürekkep lekesi paterni,
4. Minimal büyüyen nokta paterni şeklinde olabilir.

Optik koherens tomografi (OKT) tanıda sıkça kullanılan bir yöntemdir (Şekil 2.4). Akut dekolmanı ve retina altında sığ PED' leri gösterebilir. Kronik SSR' de dış retinanın altında nörosensoryel dekolman ile birlikte protein birikimi ve geçmişte SSR oluşmuş gözde meydana gelen RPE hakkında bilgi verir [26]. Böylece hastanın fiziksel prognozu tespit edilebilir. Multifokal ERG [27], mikroperimetri [28] (Retinal duyarlılık değişimlerini ölçer), fundus otofloresans [29] (sodyum floresein verilmeksizin retina pigment epitelindeki lipofusinden ışık yayılımı ile ölçüm yapar) diğer tanı yöntemleridir. SSR' de serbest endojen kortizol hormon seviyeleri yükselmiş olmasına rağmen kan tetkikleri genellikle tanıda yararlı görülmemektedir.



Şekil 2.4. SSR tanılı bir olguda meydana gelen subretinal sıvıda makular elevasyonunun optik kohorens tomografi (OKT) görüntüsü. 1 numaralı ok nörosensoryel tabakayı, 2 numaralı ok retina pigment epitelini göstermektedir.

2.3.5. Ayırıcı Tanı

SSR klinik tanısı genellikle FA ve OKT ile doğrulanır. Bazı olgularda ayırıcı tanı önem kazanır;

- 1- Enfeksiyon ve inflamatuvar hastalıklar.
- 2- Tümörler; Koroidal melanom, koroidal hemanjiom, koroidal metastaz, koroidal osteom.
- 3- Vazküler hastalıklar; Kollajen vazküler hastalıklar, hipertansiyon, gebelik zehirlenmesi.
- 4- Polipoidal koroidal vazkülopati.
- 5- Yaşa bağlı makula dejeneresansı.
- 6-Optik pit oluşumu.

Santral seröz koryoretinopati, klinik bulguları oftalmologlarca iyi bilinen, tanı ve teşhisi kolay konulan bir hastalıktır. Akut dönemde, birçok olguda kendiliğinden düzelme olasılığı yüksektir, bu nedenle tedavi gerekli görülmezken kronikleşen olgularda tedavi seçenekleri gözden geçirilmelidir. SSR' nin tedavisinde asetozolamid, beta-blokör ajanlar kullanılmış olup bu tedavilerin birbirlerine üstünlüğünü belirten bir çalışma bulunmamaktadır [26]. Termal ve fotodinamik lazer (PDT) ve anti-VEGF ilaç uygulamaları seçilmiş olgularda uygulanmaktadır. Tedavi seçeneklerinden biri olan intravitreal anti-VEGF ilaç enjeksiyonlarının kesin etkisi tam olarak bilinmemekte ve olgu seçimi, ilaç seçimi, dozu ve sıklığı halen tartışılmaktadır.

2.4. Vazküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)

Vazküler endotel büyüme faktörü (VEGF) 45kDa ağırlığında homodimerik glikoprotein ailesinden olup yeni kan damarlarının oluşumu (anjiogenez) gibi embriyogenez (vazkülogenez) esnasında [30] vazküler sistem ve lenfatik sistem gelişimi (lenfanjiogenez) için kritik rol oynayan bir proteindir. Endotel hücreleri için mitojeniyi ve migrasyonu sağlayan VEGF, ovulasyondan kısa süre önce ovaryum foliküllerinden salgılanır ve anjiogenezi hızlandırır. Ovulasyondan sonra VEGF protein sekresyonu korpus luteum tarafından gerçekleştirilir [35-36]. *VEGF* ve reseptörlerinin gen ekspresyonunu indükleyen ve bu yolla anjiogenezi başlatan faktörler hipoksi, inflamatuvar sitokinler ve onkogenlerdir [37]. Bunlardan en efektif olanının hipoksi olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki büyümekte olan tümörler hipoksik merkezler oluşturarak yeni damar oluşumuna ihtiyaç duymaktadır [34]. Hücre oksijensiz kaldığında, transkripsiyon faktörü olan hipoksi ile indüklenebilen faktör (HIF-1 α) yapımı artar. HIF-1 α VEGF protein sekresyonunu uyarır. Bu durum da VEGF ekspresyonunun artmasına sebep olur. Böylece VEGF reseptörlerine bağlanarak anjiyogeneze yol açan tirozin kinaz yolağını tetikler. VEGF protein sentezi hipoksi tarafından indüklenirken, CO tarafından inhibe edilmektedir. VEGF' in salgı aktivitesini regüle eden hidrofobik N-terminal dizilerinde cDNA sekansları şifrelenmiştir [32].

Son yıllarda VEGF proteini ile ilgili yapılan çalışmalarda, trombosit kaynaklı büyüme faktörü PDGF (Platelet-Derived Growth Factor) süper ailesinin önemli bir üyesi oldukları ortaya koyulmuştur. VEGF ailesi; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-

D, VEGF-E, VEGF-F ve Placenta büyüme faktörü (PLGF) adı verilen yedi üyeden meydana gelir. Memelilerdeki beş çeşit VEGF ligandı farklı fakat yapısal olarak benzer bağlantı bölgelerinde görülür. Bu ligandlar üç reseptör tirozin kinaza (RTK) birebir örtüşen şekilde bağlanır. Bu RTK' lar ko-reseptörler olan heparan sülfat proteoglikanlar (HSPG) ve nöropilinler (NRP) ve ana reseptörler olan VEGF reseptör-1 (hematopötik hücre gelişmesi), VEGFR-2 (vasküler endotelial hücre gelişmesi) ve VEGFR-3 (lenfatik endotelial hücre gelişmesi)' tür.

2.4.1. VEGF Ligandları

VEGF' ler iki sistein aminoasitinin (Cys/C) bağlanmasıyla oluşan disülfid bağı ile bağlı glikoproteinlerden salgılanır. Memelilerde VEGF ailesi beş üyeden oluşur; VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve placenta büyüme faktörü (PLGF/PIGF). Ayrıca yapısal olarak VEGF' e benzer protein içeren parapoxvirus' de VEGF-E ve yılan zehrinde de VEGF-F olarak bilinen protein grubu görülür [38]. Tablo 1' de VEGF ligandlarının bağlandıkları reseptörler ve fonksiyonları verilmiştir.

Tablo 1. VEGF ligandlarının bağlandıkları reseptörler ve fonksiyonları

LİGAND	RESEPTÖR	FONKSİYON
VEGF-A	VEGFR-1, KDR ve Nöropilin-1	Anjiogenez, vasküler permeabilite
VEGF-B	VEGFR-1	Monosit aktivasyonu ve farklılaşması, embriyonik anjiogenez
VEGF-C	KDR ve VEGFR-3	Lenfanjiogenez
VEGF-D	KDR ve VEGFR-3	Lenfanjiogenez
VEGF-E (viral faktör)	KDR	Anjiogenez, permeabilite artırıcı faktör
VEGF-F (yılan venom tipi)	KDR [39]	Anjiogenez, vasküler permeabilite [40]
PLGF	VEGFR-1, Nöropilin-1	Anjiogenez ve inflamasyon

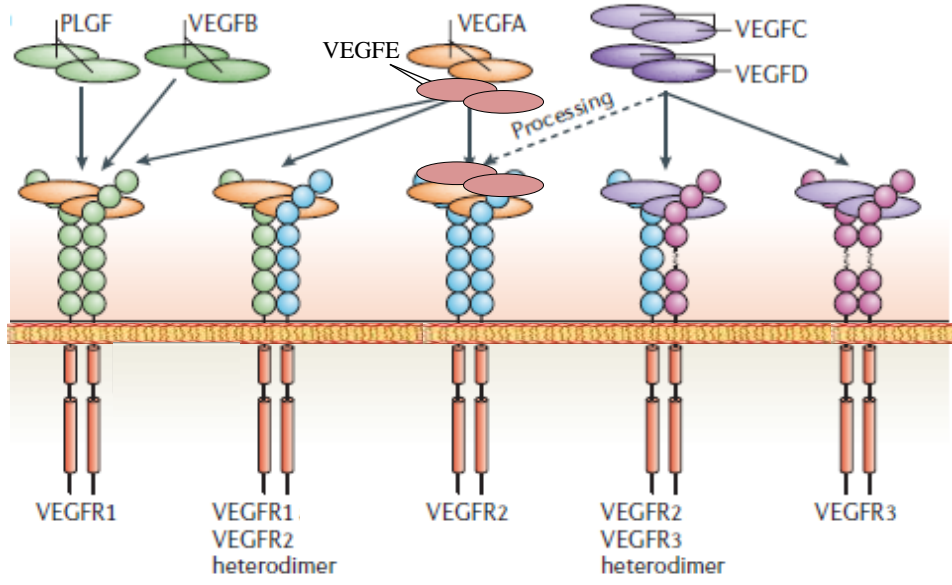
İlk keşfedilene ve üzerinde en çok çalışılmış olan prototipik formu VEGF-A' dır. İlk kez 1983 yılında Senger ve arkadaşları tarafından tümör salgılayıcı vasküler geçirgenlik faktörü (VPF) olarak tanımlanmıştır [41]. Nöron hücrelerinde önemli role sahip dimerik bir glikoproteindir. Kan damarlarının büyümesinde dominant indükleyici olduğu düşünülmektedir. Altı adet izoformu vardır. Bunlar; VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₃, VEGF₁₈₉ ve VEGF₂₀₆ (alt numaralar protein yapısındaki aminoasit sayısını göstermektedir) olarak bilinir. Heparine bağlanma afinitelerindeki farklılık [42], hücre yüzeyine ve ekstraselüler matrikse (EM) bağlanma düzeylerini etkilemektedir. Tablo 2' de VEGF-A izoformları ve heparin afiniteleri verilmiştir.

Tablo 2. VEGF-A izoformları ve heparin afiniteleri

İZOFORM	ÖZELLİK
VEGF ₁₂₁	Heparine bağlanmaz, kolay diffüze olur.
VEGF ₁₄₅	Heparin afinitesi düşüktür.
VEGF ₁₆₅	Heparin afinitesi düşük, VEGF-A' nın biyolojik olarak en aktif formudur.
VEGF ₁₈₃	Heparin için güçlü afiniteye sahiptir.
VEGF ₁₈₉	Heparin ve heparan sülfat proteoglikanına bağlanmayı tetikler ve stimule eder.
VEGF ₂₀₆	Heparin için güçlü afiniteye sahiptir.

VEGF₁₆₅ izoformunda proteinin büyük bir bölümü EM' ye bağlı kalırken bir bölümü çözünmektedir. VEGF₁₆₅, VEGFR-1 ve *KDR* (*VEGFR-2*) reseptör tirozin kinazlara bağlanır [33]. VEGF₁₆₅ *KDR* sinyal yollarını tetikleyen ve NRP-1 ve NRP-2 ko-reseptörlerine bağlanan tek varyantıdır [26, 33]. VEGF₁₆₅' in VEGFR-1 ve *KDR* (*VEGFR-2*)' ye bağlanması PI3K, PKC yollarını aktive eder [37].

VEGF-B, %23 homoloji gösterdiği VEGF-A' dan altıncı ekzonda oluşan alternatif splices ile farklılaşır. Etkisini VEGFR-1' e (Flk-1) bağlanarak gösterir (Şekil 2.5). Ekspresyonu düşük oksijen seviyesi ile indüklenmemektedir [43]. VEGF-C ve VEGF-D, 16% ve 31% oranında VEGF-A ile homoloji gösterirler [33]. Yapısal ve işlevsel olarak birbirlerine benzerler. VEGF-C' nin aşırı ekspresyonu lenfanjiyoma hatta metastaza yol açar. Dördüncü kromozom üzerinde bulunur. VEGF-D, C-terminal bölgesinde sistein alanlarından zengindir. X kromozomu üzerinde bulunur. Genellikle akciğer bronşlarının etrafını sarar. VEGF-E, etkisini *KDR*' ye bağlanarak gösterir. Kuvvetli mitojenik etkiye sahiptir. Endotel hücrelerin proliferasyonu ve kan damarlarının geçirgenliğini artırır. VEGF-F, heparin bağlanma alanına takılan C-terminal bölgesinde yer alır. PIGF, VEGF ailesinde tanımlanan ilk plasenta büyüme faktörüdür. Ondördüncü kromozom üzerinde yer alır. İskemi, inflamasyon, yaralanma ve kanser gibi durumlarda anjiogenez için önemlidir. İnsandaki proteolitik süreç VEGF-C ve VEGF-D' nin *KDR*' ye de bağlanmasına izin verir [44].



Şekil 2.5. VEGF reseptörlerinin bağlanma ve sinyal yapıları gösterilmektedir. Memelilerde VEGF, VEGF reseptörünün (VEGFR) homodimer ve heterodimer formasyonunu sağlayan 3 çeşit VEGF reseptör tirozin kinaza bağlanırlar. VEGF-C ve VEGF-D' nin proteolitik süreci *KDR* (VEGFR2)' ye bağlanmasını sağlar [45].

2.4.2. Anti-VEGF İlaç Terapisi

Günümüzde anjiogenez yolları açığa kavuştukça birçok yeni tedavi yolları da bulunmaya başlamıştır. Bunlardan en yaygın olanları Ranibizumab, Bevacizumab ve en yeni olanlarından Conbercept ve Ramicirumab antikorlarıdır. Ranibizumab 2006 yılında FDA onayı alan retinal damar tıkanıklığına bağlı maküler ödem hasarının tedavisinde kullanılan 48kDa ağırlığında rekombinant insan Ig-1 antikor fragmentidir. Tüm VEGF-A izoformlarına bağlanır. Bu sayede KDR protein sinyalizasyonunu bloke ederek PI3K, MAPK gibi endotel hücre proliferasyonu yollarının aktivasyonunu da engeller. Böylece neovaskülerizasyon ve hiperpermeabilite ile karakterize SSR' nin gelişimini de engellemiş olur. Ancak yapılan bir çalışmada SSR tanısı alan olgularda Ranibizumab muamelesiyle retinanın dış (OL) ve dış nükleer tabakasında (ONL) incelmeye görüldüğü rapor edilmiştir [46]. Aynı yayında ONL' de oluşacak olan incelmeye kötü görme prognozuyla sonuçlanacağı bildirilmiştir. Bevacizumab tüm VEGF-A izoformlarına bağlanarak inaktive eden 149kDa ağırlığında rekombinant monoklonal IgG antikorudur. 2004 yılında FDA tarafından onaylanan ilk anjiogenik ilaçtır [47]. Onaylanmış kullanım alanı olan kolorektal kanser, küçük hücreli dış akciğer kanseri dışında oküler hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır. Conbercept, VEGFR1' in II. Ig alanına ve KDR' nin III. ve IV. Ig-benzer alanına bağlanan rekombinant füzyon proteini [48]. Tüm VEGF izoformlarına yüksek afiniteyle bağlanması için yalancı reseptör olarak dizayn edilmiştir. Ramicirumab, VEGF-A' nin tüm izoformlarına reseptörü olan KDR' den daha yüksek afiniteyle (50pM) Ig. II-III' den bağlanıp, kor aktivasyonunu inhibe eder. Anti-VEGF tedavisinde kullanılan diğer ajanlar VEGF/KDR eksenini hedef olarak gösterirken Ramicirumab

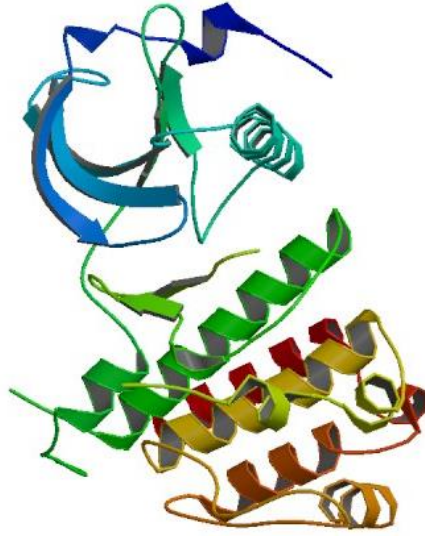
KDR proteininin ekstraselüler alanına spesifik olarak bağlanır. Böylece bu terapötik onaylı hedefe tüm VEGF ligandlarının bağlanması engellenir. Sadece VEGF-A' ya bağlanan Bevacizumab' in aksine Ramcicumab tüm bilinen VEGF' lerin KDR' ye bağlanmasını bloke eder [49]. Yüksek spesifikite ve daha iyi anlaşılmiş hedef inhibisyonunun kombinasyonu ile anjiogenezi kontrol etmek mümkün olabilir.

2.5. Vazküler Endotelial Büyüme Faktörü Reseptör -2 (VEGFR-2 [KDR])

VEGF-A altıncı kromozomun kısa kolunda onikinci bantın üçüncü alt bantında bulunur, iki farklı hücre yüzey reseptörüyle (VEGFR-1 ve KDR) bağlanır. KDR bir kinaz ekli alan reseptörüdür (KDR, tip III reseptör tirozin kinaz). Flk1 (Fetal Liver Kinase 1) olarakta murin homologu bulunur. İlk olarak 1991 yılında Terman ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. Tirozin kinazlar protein fosforilasyonunda rol oynayan enzimlerdir. Kinazlar yoluyla proteinlerin fosforilasyonu, sinyal iletim mekanizmasında önemli rol oynar. KDR, dördüncü kromozomun uzun kolu üzerinde onbirinci ve onikinci bantları arasında (4q11-12) yerleşmiştir [50]. Şekil 2.6' da KDR' nin üç boyutlu yapısı verilmiştir. Tablo 3' de KDR geni için NCBI veri tabanında yer alan kimlik bilgileri verilmiştir.

Tablo 3. KDR geni kimlik bilgileri

LOKUS	NG_012004, 54337 bç DNA çizgisel PRI
TANIM	Homo sapiens kinaz ekli alan reseptörü (tip III reseptör tirozin kinaz) (KDR), RefSeqGene kromozom 4 üzerinde; 4q11.12
ERİŞİM NO.	NG_012004, NM_002253
ORGANİZMA	<u>Homo sapiens</u> ; Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata;



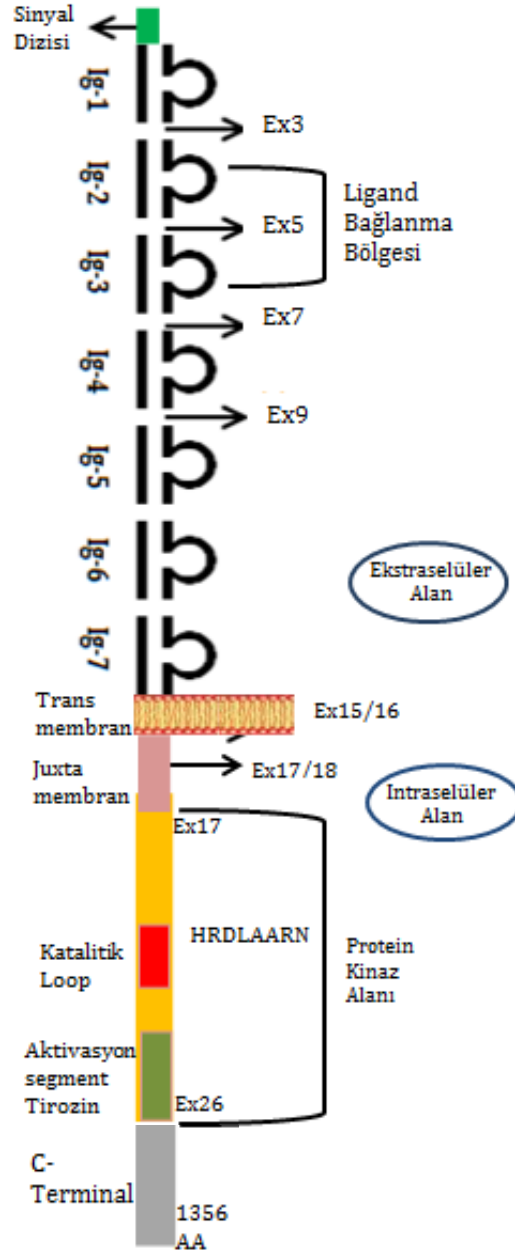
Şekil 2.6. KDR proteininin üç boyutlu yapısı.

KDR geni VEGF kaynaklı endotel hücre proliferasyonu, sağkalım, migrasyon ve tübüler morfolojileri gibi fonksiyonlarının ana aracıdır. Fosforilasyonu genellikle hedef proteinin enzim aktivitesini, hücresel lokalizasyonunu ve diğer proteinlerle etkileşimini değiştirerek fonksiyonel değişikliklere sebep olur. Sitoplazmik kinaz alanlarındaki tirozin rezidülerinin otofosforilasyonu ile endotel hücrelerindeki *KDR* aracılığıyla VEGF' in mitojenik ve kemotaksisitesini aktive ederken VEGF' in izoform-1 (VEGF₁₆₅)' e bağlanmasıyla da hem hücre membran geçirgenliğini artıran Src' nin fosforilasyonunu başlatır hem de mitojen aktivite protein kinaz (MAP kinaz), AKT, eNOS gibi sinyal yollarının aktivasyonu için ortam sağlar. Bu yollar endotel hücrelerinin proliferasyonu ve migrasyonu için önemlidir. *KDR* geni VEGF-A, VEGF-C ve VEGF-D için hücre yüzey reseptörüdür. Bir ligand bağlanmadığı sürece enzim inaktif yapıda bulunur. VEGF-A, VEGF-C ya da VEGF-D' ye bağlanması dimerizasyonuna ve tirozin rezidüleri üzerinden otofosforilasyonuna neden olup bu da *KDR* aktivitesi ile sonuçlanır. Bu aktivasyon protein tirozin kinaz (PTK) inhibitörü olan SU5614 (((3Z)-5-Chloro-3-[(3,5-dimethyl-1H-pyrrol-2-yl)methylene]-1,3-dihydro-2H-indol-2-one) ile inhibe edilir. Anjiogenez, vazküler gelişim ve geçirgenlik ve embriyonik hematopoezde önemli rol oynar. Aktin sitoskeletonunun yeniden şekillenmesini sağlar. Transmembran alana takılı izoform 2 ve izoform 3, VEGF-A, VEGF-C ve/veya VEGF-D' nin yalancı reseptörü olarak yer alır. İzoform 2, VEGF-A ve VEGF-C kaynaklı lenfanjiogenez, negatif düzenleyicileri rolünde serbest VEGF-A ve VEGF-C miktarlarını azaltmada görev alır. Ayrıca paralogu olan FLT4' e bağlanmalarını da engeller. *KDR*, VEGF-A ve VEGF-C' ye bağlanarak homodimer oluşturur ve heterodimer oluşturarak FLT1 ve FLT4 sinyalizasyonunu sağlar.

KDR proteini hücre membranı, sitoplazma, nükleus ve erken endozomlarda lokalize olmuştur. Sitoplazmik veziküllerde de görülür. VEGF-A' nın bağlanmasıyla tetiklenen fosforilasyonu, hücre içine molekül alınımını ve degradasyonunu hızlandırır. Aynı zamanda nükleusa translokasyonunu da sağlar. *KDR* proteini bir hücre yüzey

belirteçidir ve sinyalizasyonu endotel prekürsör hücrelerin farklılaşmasına sebep olur. Endotelial progenitör hücreleri (EPH), endotelial hücreler, ilkel ve daha olgun hematopötik hücreler gibi çok çeşitli bölgelerde ifade olur. *KDR* geni nakavt fareler ile yapılan çalışmalarda *KDR*' nin kan-damar ağının gelişmesinde ve angiogenezinde kritik rol oynadığı gösterilmiştir. VEGF, *KDR*' ye bağlandıktan sonra EPH' deki ve endotelial hücrelerdeki birçok erken sinyal yolağını aktive eder. Düzensiz damar büyümesi pek çok hastalığın patojenezinde gözlenmiştir. Proliferatif retinopati, tümör oluşumu ya da romatoid artrit, koroner kalp hastalığı gibi sistemik hastalıklar bu duruma örnek verilebilir. Bununla birlikte *KDR* geninde meydana gelen SNP' ler meme kolorektal kanser ve prematüre ovaryen yetmezliği (POF) gibi hastalıklarda da görülmüştür [51].

KDR geninin 30 adet ekzonu bulunmaktadır. 1356 aminoasitten oluşur ve 151.527 Dalton ağırlığındadır. Hücre dışı alan, ikinci ve üçüncü bölgesi VEGF-A' ya bağlanan 7 adet Ig-benzeri alanı kapsar (I–VII) ve sistein rezidüleri arasında disülfid bağlarıyla stabilize edilmiştir. Hücre içi bölge 70 aminoasit içeren iki adet kinaz-ekli alan ile hücre dışı bölgeden ayrılır. 20 aminoasitlik helikal transmembran alanı onaltıncı ekzonda yer alır (Şekil 2.7). 9 aminoasitlik nükleotid bağlanma bölgesi onsekizinci ekzonda bulunur. Yirmikinci ekzonunun aspartik asit (D) kodlayan (GAC) bölgesi aktif bölge olarak yer alırken *KDR* geninin ATP bağlanma bölgesi asparajin (K) kodlayan (AAA) bölgesidir. Protein kinaz alanı ise onyedinci ve yirmialtıncı ekzonları arasında yer alır. 43 aminoasitlik Juxtamembran alanında gerçekleşen bir mutasyon ligandan bağımsız reseptör aktivasyonuna sebep olur. Bu alan, reseptör aktivitesini düzenler ve tirozin kinaz alanlarının bağlanma bölgesidir.



Şekil 2.7. *KDR* (VEGFR-2)' nin moleküler yapısı

Intraselüler alandaki 5 tirozin rezidü ana fosforilasyon alanı olarak tanımlanmıştır (Y951, Y1054, Y1059, Y1175 ve Y1214). Bu alanlarda gerçekleşen fosforilasyon, bitişindeki aminoasit dizisi ile birlikte yapısında SH2 bölgesi bulunduran sinyal iletim molekülleri için bağlanma bölgesi oluşturur. *KDR* geninin fosforilasyon alanları Tablo 4' de verilmiştir.

Tablo 4. KDR protein tirozin fosforilasyon alanları

Tirozin Rezidü (Tyr)	Aminoasit Sekansı	Bağlanma Alanı
Y951	QGKDYGAI	Kinaz ekli alan
Y1054	ARDIYKDPD	Kinaz Alanı 2
Y1059	KDPDYVRKG	Kinaz Alanı 2
Y1175	DGKDYIVLP	C-terminal bölgesi
Y1214	PKFHYDNTA	C-terminal bölgesi

Biyoinformatik analizlere dayanılarak SNP-604T/C (rs2071559) transkripsiyon faktörü E2F (*KDR* geninin promotor bölgesinde bulunur, *KDR*' nin ekspresyonunda değişikliğe sebep olur.)' nin bağlanma noktasında yapısal değişikliğe yol açtığı tespit edilmiş. Ekzonik polimorfizmler olan SNP1192G/A [(rs2305948) ex.7] ve SNP1719A/T [(rs1870377), ex.11] ekstrasellüler bölgenin üçüncü ve beşinci NH₂- ucu Ig-benzer alanında bulunup ve ligand bağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Bu polimorfizmler 297 pozisyonundaki valin aminoasitinin izolösine (297V>I) ve 472 pozisyonundaki glutamin aminoasitinin histidine (472 Q>H) dönüşmesine neden olur [52]. Yapılan tek nükleotid polimorfizmi çalışmasında, kolorektal kanser (KRK) teşhisi koyulmuş hastaların genomik DNA' sından alınan verilerle *KDR* 1192 C/T ve -604 T/C tek nükleotid polimorfizmi saptanmış ve bu polimorfizm mikrodamar yoğunluğu ile ilişkilendirilmiştir [53]. Bu durum *KDR* geninde meydana gelen tek nükleotid polimorfizminin yeni damar oluşumu üzerinde etkisini göstermektedir. *KDR* (AC)₁₀₋₁₄ tekrarlayan polimorfizmi, skuamöz hücre karsinomasının klinikopatolojik karakteristiğiyle korelasyonu tespit edilen tek polimorfizm olduğu gösterilmiş (Şekil 2.8). *KDR* +4422 (AC)₁₀₋₁₄ çift nükleotid tekrarlayan polimorfizminin skuamöz hücre karsinomasının sağkalım ve metastaz süresi için bağımsız bir prognostik tanımlayıcısı olduğu tanımlanmış [54].

```
Ig Domain 1 9601 taattgttca taagtgggta ggtttctaa aactgatgta ataatggaaa atgagaagaa
9661 tttctctca aaaattctgt acaattttgc tgggttttt atactattct ctgccaacat -4397T>C rs2071559
9721 gcatacacac acacacacac acacgcacac aaatacacac ccacaccac attccaataa →+4422 (AC)10-14
9781 ccagtacagc cacctggcgt atagtagaca taogctcaat aaatatgaat gaataaatga
9841 agttgagggc atacatttaa ggaatagagt tgaaaaaatt tgggactata tttattatg
```

Şekil 2.8. *KDR* geninde Ig Alan-1, intron 2' de yer alan AC çift nükleotid tekrarlayan polimorfizminin dizideki yeri gösterilmiştir.

MATERYAL ve YÖNTEM

Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalına başvuran ve SSR tanısı almış 32 yetişkin olgudan ve 32 kontrol bireyinden kan örnekleri alınmıştır.

3.1. Periferik Kan Örneklerinin Alımı

SSR tanısı almış olgulardan 5cc olacak şekilde periferik kan örnekleri uzun süreli saklama amaçlı kanlar K₃EDTA'lı steril tüplere [Venoject®] alındı. DNA izolasyonu işlemine kadar +4°C' de saklandı.

3.2. Periferik Kandan DNA Eldesi

Olguların genomik DNA'ları, periferik kandan MagNA Pure LC DNA İzolasyon Kit I (Roche) [55] ve modifiye non-enzimatik metod ile izole edildi [56]. DNA izolasyonu için kullanılan çözeltiler ve işlem basamakları aşağıdaki gibi uygulandı.

3.2.1. Kullanılan Solusyonlar

CLB 1X (Hücre Liziz Tamponu)

0.32 M Sükröz (Merck)
10mM Tris HCl pH 7.6 (Sigma)
5mM MgCl₂ (Merck)
%1 Triton-X (Sigma)

Yukarıda verilen konsantrasyonları sağlayacak şekilde dH₂O ile hazırlanan 1X CLB tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra +4°C' de saklandı.

TKM1 (Düşük Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu)

10mM Tris HCl pH 7.6 (Sigma)
10mM KCl (Reidel-de Haen)
10mM MgCl₂ (Merck)
2 mM EDTA pH 8.0 (Sigma)

Yukarıda verilen konsantrasyonları sağlayacak şekilde dH₂O ile hazırlanan TKM1 tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

TKM2 (Yüksek Konsantrasyonlu Tuz Solüsyonu)

10mM Tris HCl pH 7.6 (Sigma)
10mM KCl (Reidel-de Haen)
10mM MgCl₂ (Merck)
0.4mM NaCl (Carlo Erba)
2 mM EDTA pH 8.0 (Sigma)

Yukarıda verilen konsantrasyonları sağlayacak şekilde dH₂O ile hazırlanan TKM2 tamponu otoklavda sterilize edildikten sonra oda sıcaklığında saklandı.

%10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) Çözeltisi

1 gram SDS (Q-Bio gene) 10 ml dH₂O' da çözüldükten sonra filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

6 M NaCl (Sodyum Klorür)

35.06 gram NaCl (Carlo Erba) 100 ml dH₂O' da çözümlenerek otoklavda sterilize edilerek oda sıcaklığında saklandı.

%70'lik Etanol (C₂H₅OH)

%96 lık 70 ml etanol, 30 ml dH₂O ile karıştırıldı ve +4°C'de saklandı.

3.2.2. İşlemler

50 ml' lik steril falkon tüplerine, üzerlerine hastaların isimleri yazıldıktan sonra 3 ml' şer kan homojenize şekilde aktarıldı. Eritrositleri parçalayarak uzaklaştırılmasını sağlayan 1X CLB, kan miktarının 3 katı hacim kadar (9ml) üzerinde eklendi. 5 sn. kadar vorteks ile karıştırıldı. Bu aşamada CLB' nin eritrositleri parçalaması amaçlandı. 3000 rpm' de 10°C' de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatant atıldı. Çökelti elle vurularak homojenize edildikten sonra üzerine 5 ml TKM1 solusyonundan eklendi. Vorteksle karıştırılarak homojenize edildikten sonra oda sıcaklığında 3000 rpm' de 10°C' de 10 dakika santrifüj edildi. Supernatant döküldü. Çökelti elle vurularak homojenize edildikten sonra üzerine 1.5 ml TKM2 ve 100µl %10 SDS solusyonlarından eklendi. TKM 2, ısı aracılığıyla lökositleri parçalar ve nükleustaki DNA' nın açığa çıkmasını sağlar. Tüp alt üst edilerek karışması sağlandı. Çökelti tamamen homojenize olana kadar 65°C'de 30-60 dakika süreyle benmaride inkübe edildi. İnkübasyondan sonra 570 µl 6M NaCl eklenip vortekslendi. Beyaz köpüklü bir görünüm elde edene kadar vorteksle karıştırıldı. 3000 rpm' de 10°C' de 10 dakika santrifüj edildi. Çökelti atıldı. Supernatant, içerisinde 1:2 oranında (4,5 ml) %96' lık soğuk EtOH bulunan 15 ml' lik falkon tüplere transfer edildi. Tüp alt üst edilerek DNA' nın kondanase olması sağlandı. DNA' lar içerisinde 500 µl %70' lik soğuk EtOH bulunan ependorf tüplere aktarılarak yıkanması sağlandı. Ependorflar 3000 rpm' de 13 dakika oda sıcaklığında santrifüj edildi. Dökelti atıldı. Tüp içerisinde çökelti halinde bulunan DNA 5-10 dakika etüvde kurutuldu. Üzerine DNA' nın çözünmesi ve uzun süre saklanabilmesi için 300µl 1X Tris EDTA eklendi. Elde edilen DNA örneklerinin optik dansite ölçümleri spektrofotometre ile yapıldı.

3.2.3. DNA Örneklerinin Spektrofotometrik Ölçümü

İzole edilen gDNA örneklerinin miktar ve saflık derecelerinin belirlemek için spektrofotometre ile ölçümler yapıldı. Optik dansitelerini belirlemek için spektrofotometrede 260 nm ve 280 nm dalga boylarında ölçümleri yapılarak DNA örnekleri çıkan değerlere göre 15ng/µl olacak şekilde sulandırıldı.

3.3. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) Yöntemi

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) analizleri için ABI 2720 Thermal Cycler ve AB Veriti 96 well Thermal Cycler marka cihazlar kullanıldı. Amplifikasyon ürünlerinin yaklaşık boyutları hazırlanan %1,8' lik agaroz jel ile agaroz jel elektroforezinde ölçüldü.

3.3.1. Primer Dizaynı

Primerler ortalama GC yüzdesi yaklaşık 45% olacak şekilde dizayn edildi. 17-27 bazlık ileri ve geri primerler liyofilize edilerek tuzla saflaştırılıp sentezlendi. Sentezlenen primerler T_M derecelerine göre PZR öncesi optimize edildi. Tablo 5' de amplifiye edilen *KDR* genine ait ekzon dizilerinin ileri ve geri primer dizileri verilmiştir.

Tablo 5. Amplifiye edilen *KDR* geni ileri ve geri primer ekzon dizileri

KDR EXON	İLERİ (Forward) 5'-----3'	GERİ (Reverse) 5'-----3'
Ekzon 1	TGGGAGCTGGAGATCG	CTGGCTTTCAGGTCCTCTCC
Ekzon 2	GCATTGTTTATGGAAGGTGTTTC	AACCTCACCACCTTATGAACAATTAC
Ekzon 3	AATAGCCTCACAGTCTGGCAC	CCTTTAGAGCAAGCCCTTTC
Ekzon 4	GTGAGGTGTCCCTTCCAGTC	TGCATTTGACCCTTCCCTAAAG
Ekzon 5	CTTCAGTGATCATTGTACATGGC	TGTTATCTCCAAGATCTTAATACAAGG
Ekzon 6	TGCAAAGTTATAGGCTTATTTGCTC	TCAAGCAAACCTTCACTGGGG
Ekzon 7	TGCATGAGGTTAAAAGTTCTGG	CTCTAGGTCATGTGGCCTCC
Ekzon 8_9	AAAACATAATCAAATGACCATTACAG	TGGTTTGGCTGATTTGGAAG
Ekzon 10	TCTATTTCCATTCTTCAAAGC	GGTTTAGGCTTCATTTAGG
Ekzon 11	CCAAAGTCTGAATCTTTTCCTTACTC	GCCTCACATATTATTGTACCATCC
Ekzon 12	GCTGGACTGAGTGCTTGTGC	CAGGGAATTACATAGCTTAGTACCC
Ekzon 13	GCAAGATGATAGTGAGCTGTACC	GCATAGCACCTGAATTGCAC
Ekzon 14	TTGCTGATACCAGAACCATTTC	TTTTAGATAACATCCCTGGGAAAG
Ekzon 15	AGAACAAGATGAAGGGCAGC	AGAATGTGTGGCGTTTGG
Ekzon 16	TGGTAAGCTTGGGATTTTGC	CATTGAGCCAATAACAATGGG
Ekzon 17	AGCAATAACAAGCACACAAAAC	GGAGGAAGAGATGGCCTGG
Ekzon 18	ATTGGGATGTATGGTCACCC	GCACAAAGCTACTGATACAAGCC
Ekzon 19	CCCCAATTATTGAAGGAAATG	TCCCTCAAACACTATCAGAGAGG
Ekzon 20	TTAAACGCTTAGTGAGGAATATGAG	TGTACCATTTTGAGTTTCCCTTC
Ekzon 21	TTTCAATTATCTCCATGGTTTACTAC	CCCTATCACCTGTCTGTCTC
Ekzon 22	CTCTAGCAAACCTTAGAAACATCACAC	TGGACATCTTATTCCAAACCTG
Ekzon 23_24	TTTGATGCATGAGGTCACAAC	GACAACCTTTGTCTTCTCTTTG
Ekzon 25	TGTGCAAGATTCAGGCTCAG	TTCCAGGCAAGGAGAATTTC
Ekzon 26	TGCTTATTTTCAGCATTTCAGG	CAGGCAGTAGGAAAGTCCCTTC
Ekzon 27	TGAAAAGGCACTTGAAGAAGTTC	CTCCCGAGATGGCCTTC
Ekzon 28	GAAAGATAATGAACTTAGGTAGCCG	TTATCTAGCTAGTGTTCATCCTTTC

Tablo 5. (Devamı)

Ekzon 29	GATAGATGGGTTGAGAAATCAGC	GACCCCATAGGGAAAATTCTG
Ekzon 30_1	AGTTGGGAATGGGGTGAGG	TTGAACGTCTTTGTTCTAAACCC
Ekzon 30_2	TCCCAGTGTGACCTGATCC	AAAGGATCAGCTGGGAGAC

Tablo 6' da *KDR* genine ait ekzon dizilerinin PZR amplifikasyonu için gerekli olan kimyasalları ve miktarları verilmiştir.

Tablo 6. PZR Kimyasal Protokolü

BİLEŞEN	1 KUYUCUK İÇİN MİKTAR
2X GML PZR Karışımı	5µl
G/C Enhancer Tamponu	1µl
İleri Primer	0.5µl
Geri Primer	0.5µl
GML Taq DNA Polimeraz	0.1µl
gDNA (15-20ng/µl)	1µl
ddH ₂ O	2µl
TOPLAM	10µl

3.3.2. PZR Programı

Başlangıç denatürasyonu, 95°C' de 10 dakika; denatürasyon 95°C' de 30 saniye, birleşme ekzon 3 ve ekzon 8_9 için 58°C' de, ekzon 15, ekzon 18 ve ekzon 30_2 için 61°C' de, ekzon 26 için 60°C' de diğer tüm ekzonlar için 57°C' de 1 dakika, uzama 72°C' de 50 saniye olacak şekilde 40 döngü; son uzama ise 72°C' de 7 dakika olarak ayarlandı.

3.4. Agaroz Jel Elektrofrez ve Görüntüleme Sistemi

3.4.1. % 1.8' lik Agaroz Jelin Hazırlanması

1.8 gram agaroz (Sigma) tartılarak 100 ml 1X TBE' de (Tris-Borat-EDTA) çözüldü. 50-55°C' ye gelene kadar soğutuldu. 5 µl etidyum bromür ilave edildi. Elektrofrez kuvetine taraklar yerleştirilerek çeker ocak içerisinde sıvı agaroz jel elektrofrez kuvetine döküldü. 25°C' de 15-20 dakika polimerize olması için beklendi. Jel polimerize olduktan sonra taraklar jelden alındı ve agaroz jel, içerisinde 1X TBE bulunan elektrofrez tankına yerleştirildi.

3.4.2. İşlemler

3 µl PZR ürünü ve 100 bç' lik markır yükleme tamponu kullanılarak kuyucuklara yüklendi. Elektrofrez tankına bağlı güç kaynağı ile 90 voltta 30 dakika yürütüldü. Süre sonunda örnekler UV ışık veren transilluminatör yardımıyla incelendi. Syngene (Ingenius) transilluminatör aletine bağlı olan monitörlü sistem kullanılarak fotoğraflar alındı.

3.5. Amplikonların Temizlenmesi

Amplifikasyon ürünlerini bağlanmayan primer ve dNTP artıklarından temizlemek için, Genomed marka Ekzonukleaz I ve Shrimp Alkalın Fosfataz (EXO-SAP-IT) enzim karışımı kullanılarak gerçekleştirildi.

3.5.1. İşlemler

Her bir PZR amplifikasyon ürününden 5 µl alınarak yeni 96-kuyucuklu plate formatına aktarıldı. Üzerlerine 2 µl EXO-SAP-IT enzim karışımı eklendi.

3.5.2. Temizleme Programı

PZR amplikon ürünleri temizlik aşaması için 37°C' de 30 dakika inkübe edildi, inaktivasyon için 80°C' de 15 dakika ve 1 döngüde ABI 2720 Thermal Cycler ve AB Veriti 96 well Thermal Cycler cihazlarında çalıştırıldı.

3.6. DNA Dizi Analizi

Dizi analizi için kalıp olarak temizlenen PZR ürünleri daha önce belirtilen cihazlar kullanılarak aşağıdaki programa göre yapıldı.

3.6.1. Dizileme Reaksiyonu

1 µl Big Dye Cycle Seq. v3.1 Kit (10µM), 2 µl 5X Dizileme Tamponu, 2 µl primer, 2 µl kalıp DNA ve 3 µl ddH₂O konularak toplam hacim 10µl olacak şekilde hazırlandı.

3.6.2. Dizileme PZR Programı

Dizileme için cihaz protokolleri Tablo 7' de verilmiştir.

Tablo 7. DNA dizileme cihaz protokolleri

ADIM	AŞAMA	ISI (°C)	SÜRE
1	Aktivasyon	96	1 Dakika
2	Amplifikasyon (25 Döngü)	96	10 Saniye
		50	5 Saniye
		60	3 Dakika
3	Bekleme	4	Sonsuz

3.6.3. Dizi Analizi Yapılacak Amplikonların Temizlenmesi

ABI 3130X dizileme cihazına yüklendi. Sekans cihazına hemen yüklenmeyen örnekler -20°C' de saklandı.

3.6.4. DNA Dizi Analizi Değerlendirilmesi

Denatüre edilen PZR ürünleri 5 dakika -20°C' de bekletilerek silika temelli Applied Biosystems Genetic Analyzer 3130x cihazına yüklendi. Alınan sonuçlarda sekans pikleri sekans yazılım programında değerlendirildi. Bu sonuçlarda Adenin yeşil, Guanin siyah, Sitozin mavi ve Timin kırmızı renkli pikler ile gösterilmektedir. Bu piklerin değerlendirilmesi ile DNA dizi analizi gerçekleştirildi.

BULGULAR

Araştırmaya gönüllü olarak katılan tüm katılımcılar, proje hakkında sözlü ve yazılı olarak bilgilendirilmiş ve araştırmamız Akdeniz Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Beyaz ırktan, SSR teşhisi koyulmuş 32 hasta ve 32 kontrol grubu olmak üzere toplam 64 gönüllü birey ile çalışıldı.

4.1. Klinik İnceleme

Klinik muayene sonucunda SSR tanısı almış olguların çalışmaya dâhil edilme kriterleri seröz retinal dekolman ve RPE dekolmanı varlığı, koroidal neovaskülarizasyon, inflamasyon, infiltrasyon veya polipoidal koroidal vazkülopati gibi sıvı birikimine sebep olan bozuklukların olmaması olarak belirlenmiştir. Hem olgu hem de kontrol gruplarında çalışmaya dâhil edilmeme kriterleri ise; eş zamanlı oküler ve retinal hastalıklar, koagülasyon bozukluklarına yol açan tromboembolizm, hamilelik, konjestif kalp yetersizliği, diabetes mellitus, koroner arter bozukluk, kontrol edilemeyen atardamar hipertansiyonu, sigara kullanımı, hiperlipidemi, kanser, otoimmün inflamatuvar hastalıklar, böbrek ve karaciğer anomalileri, endokrin patolojisi ve aynı zamanda fibrin parçalanmasını sağlayan glukokortikoid ve doğum kontrol hapı gibi ilaçların kullanılması, uyuşturucu ve/veya alkol alımı olarak belirlenmiştir. Olgu ve kontrol gruplarının 30 ile 50 yaş aralığında, 6/1 oranında erkek birey (her iki grup için de toplam 50/64) olmasına dikkat edilmiştir. SSR tanısı alan her iki grubun da demografik karakterleri Tablo 8’ de verilmiştir.

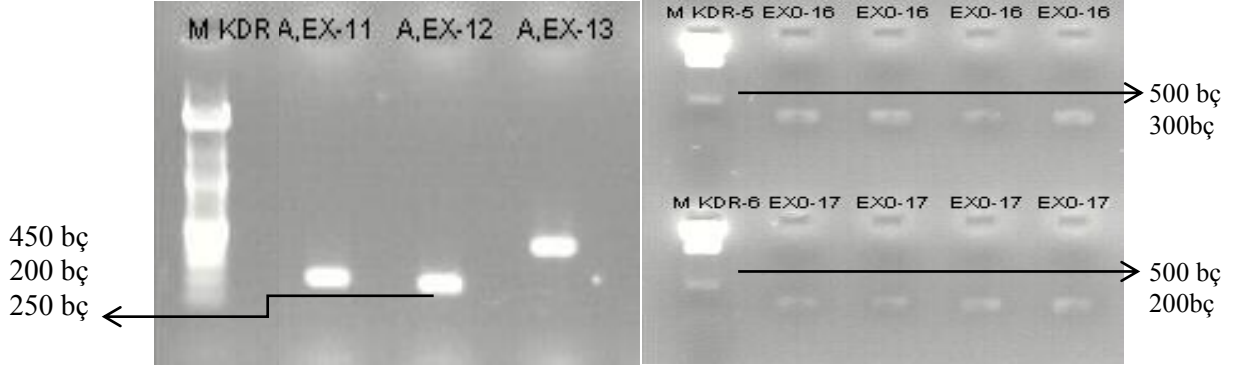
Tablo 8. SSR tanısı alan olgu ve kontrol gruplarının yaş/cinsiyet/BMI’ ya göre dağılımı ve p değerleri

	SSR’ li Olgu	Kontrol	p Değeri
Yaş	44.72±9.23	42.8±8.75	0.642
Cinsiyet (erkek/kadın)	26/6	24/8	0.576
BMI (kg/m²)	24.03±2.7	24.75±2.4	0.234

4.2. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları

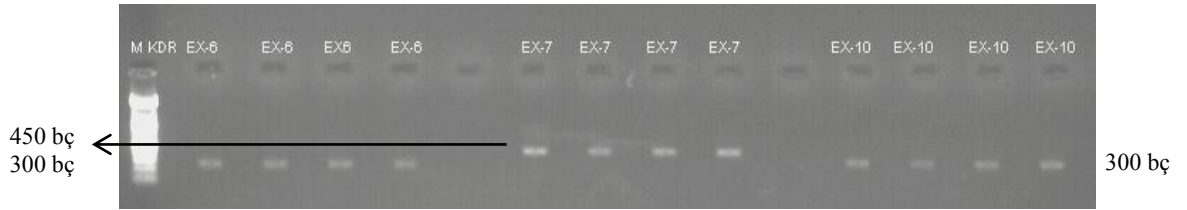
SSR tanısı almış olguların klinik bulguları değerlendirildikten sonra genotip ve fenotip ilişkisini belirlemek amacıyla *KDR* geninin ekzonik bölgelerine yönelik moleküler genetik çalışmalar yapılmıştır. Öncelikle SSR tanısına sahip olguların *KDR* geninin ekzonik bölgeleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) tekniği kullanılarak amplifiye edilmiştir. Ekzonik bölgelerin ampikonları %1.8’ lik agaroz jelde

yürütülmüştür. PZR ile amplifiye edilen ekzonik bölgelerin ampikon büyüklüğü 200 baz çifti (bç) ile 450 bç arasındadır (Şekil 4.1-4.4).



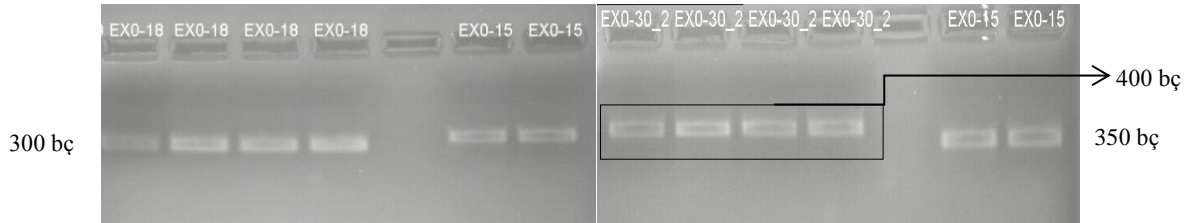
M. Markır, **KDR.** Kinaz ekli alan reseptörü, **KDR-5.** Kinaz ekli alan reseptörü 5. Plate, **KDR 6.** Kinaz ekli alan Reseptörü 6. Plate, **A.** AB Veriti Thermal Cycler, **EX.** Ekzon **bç.** Baz çifti

Şekil 4.1. *KDR* geninin ekzon 11, ekzon 12 ve ekzon 13 ampikonlarının agaroz jel görüntüsü.



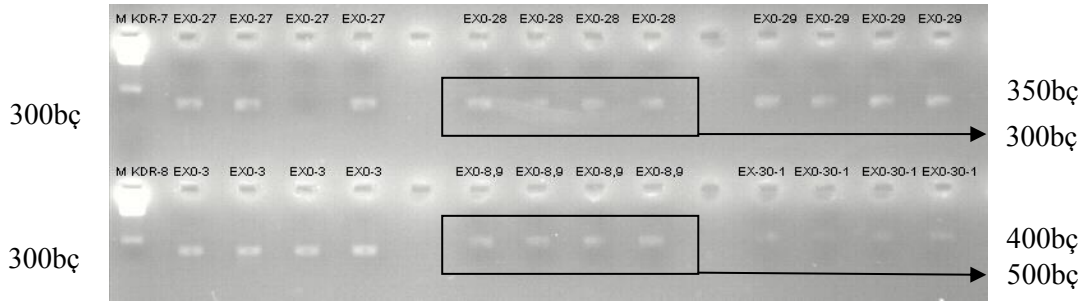
M. Markır **KDR.** Kinaz ekli alan Reseptörü **EX.** Ekzon **bç.** Baz çifti

Şekil 4.2. *KDR* geninin ekzon 6, ekzon 7 ve ekzon 10 ampikonlarının agaroz jel görüntüsü.



KDR. Kinaz ekli alan Reseptörü **EX0.** Ekzon **bç.** Baz çifti

Şekil 4.3. *KDR* geninin ekzon 15, ekzon 18 ve ekzon 30_2 ampikonlarının agaroz jel görüntüsü.



M. Markır, **KDR-7**. Kinaz ekli alan Reseptörü 7. Plate **KDR-8**. Kinaz ekli alan reseptörü 8. Plate, **KDR-9**. Kinaz ekli alan reseptörü 9. Plate **EX0**. Ekzon, **bç**. Baz çifti

Şekil 4.4. *KDR* geninin ekzon 3, ekzon 8,9, ekzon 27, ekzon 28, ekzon 29 ve ekzon 30_1 amplikonlarının agaroz jel görüntüsü.

32 oligunun *KDR* genine ait ekzonik bölgelerinin amplifikasyon sonrası amplikonları DNA dizi analizine alınmıştır. Bu ekzonik bölgelerin referans cDNA ve mRNA dizisi ve ekzon bağlanma bölgeleri 'Şekil 4.5.' de verilmiştir.

```

M Q S K V L L A V A L W L C V E T R A A S V G
ATGCAGAGCAAGGTGCTGCTGGCCGTCGCCCTGTGGCTCTGCGTGGAGACCCGGGCCGCCTCTGTGGT
L P S V S L D L P R L S I Q K D I L T I K A N
TTGCCTAGTGTCTTCTTGGATCTGCCAGGCTCAGCATACAAAAAGACATACTTACAATTAAGGCTAAT
T T L Q I T C R G Q R D L D W L W P N N Q S G
ACAACCTTCAAACTTACTTGCAGGGACAGAGGGACTTGGACTGGCTTTGGCCCAATAATCAGAGTGGC
S E Q R V E V T E C S D G L F C K T L T I P K
AGTGAGCAAAGGTGGAGGTGACTGAGTGCAGCGATGGCCTCTTCTGTAAGACACTCACAATTCAAAA
V I G N D T G A Y K C F Y R E T D L A S V I Y
GTGATCGGAAATGACACTGGAGCCTACAAGTCTTACCAGGAAACTGACTTGGCCTCGGTCATTTAT
V Y V Q D Y R S P F I A S V S D Q H G V V Y I
GTCTATGTTCAAGATTACAGATCTCCATTTATTGCTTCTGTTAGTGACCAACATGGAGTCGTGTACATT
T E N K N K T V V I P C L G S I S N L N V S L
ACTGAGAACAAAAACAAAACCTGTGGTGATTCCATGTCTCGGGTCCATTTCAAATCTCAACGTGTCACTT
C A R Y P E K R F V P D G N R I S W D S K K G
TGTGCAAGATACCCAGAAAAGAGATTTGTTTCTGATGGTAACAGAATTTCTGGGACAGCAAGAAGGGC
F T I P S Y M I S Y A G M V F C E A K I N D E
TTTACTATTCCCAGCTACATGATCAGCTATGCTGGCATGGTCTTCTGTGAAGCAAAAATTAATGATGAA
S Y Q S I M Y I V V V V G Y R I Y D V V L S P
AGTTACCAGTCTATTATGTACATAGTTGTCGTTGTAGGGTATAGGATTTATGATGTGGTTCTGAGTCCG
S H G I E L S V G E K L V L N C T A R T E L N
TCTCATGGAATTGAACTATCTGTTGGAGAAAAGCTTGTCTTAAATTGTACAGCAAGAAGTGAACATAAT
V G I D F N W E Y P S S K H Q H K K L V N R D
GTGGGGATTGACTTCAACTGGGAATACCCTTCTTTCGAAGCATCAGCATAAGAACTTGTAAACCGAGAC
L K T Q S G S E M K K F L S T L T I D G V T R
CTAAAAACCCAGTCTGGGAGTGAGATGAAGAAATTTTTGAGCACCTTAACTATAGATGGTGTAACCCGG
S D Q G L Y T C A A S S G L M T K K N S T F V
AGTGACCAAGGATTGTACACCTGTGCAGCATCCAGTGGGCTGATGACCAAGAAGAAGCAGCACATTTGTC
R V H E K P F V A F G S G M E S L V E A T V G
AGGGTCCATCAAAAACCTTTTGTGCTTTTGGAAAGTGGCATGGAATCTCTGGTGGAAAGCCACGGTGGGG

```

Şekil 4.5. *KDR* geninin referans cDNA ve mRNA dizisi ve ekzon bağlanma bölgeleri verilmiştir. Altı çizili yerler ekzon bağlanma bölgelerini göstermektedir.

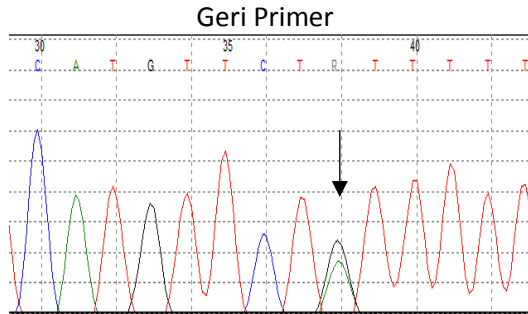
E R V R I P A K Y L G Y P P P E I K W Y K N G
 GAGCGTGT CAGAATCCCTGCGAAGTACCTTGGTTACCCACCCCGAAAATAAAATGGTATAAAAATGGA
 I P L E S N H T I K A G H V L T I M E V S E R
 ATACCCCTTGAGTCCAATCACACAATTAAGCGGGCATGTACTGACGATTATGGAAGTGAGTGAAAGA
 D T G N Y T V I L T N P I S K E K Q S H V V S
 GACACAGGAAATTACACTGT CATCCTTACCAATCCCATTTCAAAGGAGAAGCAGAGCCATGTGGTCTCT
 L V V Y V P P Q I G E K S L I S P V D S Y Q Y
 CTGGTTGTGTATGTCCCACCCAGATTGGTGAGAAATCTCTAATCTCTCCTGTGGATTCCCTACCAGTAC
 G T T Q T L T C T V Y A I P P P H H I H W Y W
 GGCACCACTCAAACGCTGACATGTACGGTCTATGCCATTCCCTCCCCGCATCACATCCACTGGTATTGG
 Q L E E E C A N E P S Q A V S V T N P Y P C E
 CAGTTGGAGGAAGAGTGCGCCAACGAGCCCAAGCTGTCTCAGTGACAAACCCATAACCTTGTGAA
 E W R S V E D F Q G G N K I E V N K N Q F A L
 GAATGGAGAAGTGTGGAGGACTTCCAGGGAGGAAATAAAATTGAAGTTAATAAAAATCAATTTGCTCTA
 I E G K N K T V S T L V I Q A A N V S A L Y K
 ATTGAAGGAAAAACAATAACTGTAAGTACCCTTGTATCCAAGCGGCAAATGTGTCTCAGCTTTGTACAAA
 C E A V N K V G R G E R V I S F H V T R G P E
 TGTGAAGCGGTCAACAAAGTCCGGAGAGGAGAGAGGGTGTATCTCCTTCCACGTGACCAGGGGTCTGAA
 I T L Q P D M Q P T E Q E S V S L W C T A D R
 ATTACTTTGCAACCTGACATGCAGCCCACTGAGCAGGAGAGCGTGTCTTTGTGGTGCAGTGCAGACAGA
 S T F E N L T W Y K L G P Q P L P I H V G G E L
 TCTACGTTTGAGAACCTCACATGGTACAAGCTTGGCCACAGCCTCTGCCAATCCATGTGGGAGATTG
 P T P V C K N L D T L W K L N A T M F S N S T
 CCCACACCTGTTTGAAGAAGTGGATACTCTTTGAAATTGAATGCCACCATGTTCTCTAATAGCACA
 N D I L I M E L K N A S L Q D Q G D Y V C L A
 AATGACATTTTGATCATGGAGCTTAAGAATGCATCCTTGCAGGACCAAGGAGACTATGTCTGCCTTGCT
 Q D R K T K K R H C V V R Q L T V L E R V A P
 CAAGACAGGAAGACCAAGAAAAGACATTGCGTGGTCAGGCAGCTCACAGTCTTAGAGCGTGTGGCACCC
 T I T G N L E N Q T T S I G E S I E V S C T A
 ACGATCACAGGAAACCTGGAGAATCAGACGACAAGTATTGGGGAAAGCATCGAAGTCTCATGCACGGCA
 S G N P P P Q I M W F K D N E T L V E D S G I
 TCTGGGAATCCCCCTCCACAGATCATGTGGTTTTAAAGATAATGAGACCCTTGTAGAAGACTCAGGCATT
 V L K D G N R N L T I R R V R K E D E G L Y T
 GTATTGAAGGATGGGAACCGGAACCTCACTATCCGCAGAGTGAGGAAGGAGGACGAAGGCCTCTACACC
 C Q A C S V L G C A K V E A F F I I E G A Q E
 TGCCAGGCATGCAGTGTCTTGGCTGTGCAAAAGTGGAGGCATTTTTCATAATAGAAAGGTGCCAGGAA
 K T C N L E I I I L V G T A V I A M F F W L L L
 AAGACNAACTTGGAAATCATTATTCTAGTAGGCAGGCGGTGATTGCCATGTTCTTCTGGCTACTTCTT
 V I I L R T V K R A N G G E L K T G Y L S I V
 GTCATCATCCTACGGACCGTTAAGCGGGCCAATGGAGGGGAAGTGAAGACAGGCTACTTGTCCATCGTC
 M D P D E L P L D E H C E R L P Y D A S K W E
 ATGGATCCAGATGAACTCCATTGGATGAACATTGTGAACGACTGCCTTATGATGCCAGCAAATGGGAA
 F P R D R L K L G K P L G R G A F G Q V I E A
 TTCCCCAGAGACCGGCTGAAGCTAGGTAAGCCTCTTGGCCGTGGTGCCTTTGGCCAAGTGATTGAAGCA
 D A F G I D K T A T C R T V A V K M L K E G A
 GATGCCTTTGGAATTGACAAGACAGCAACTTGCAGGACAGTAGCAGTCAAAATGTTGAAAAGAGGAGCA
 T H S E H R A L M S E L K I L I H I G H H L N
 ACACACAGTGAGCATCGAGCTCTCATGTCTGAACTCAAGATCCTCATTTCATATTGGTCCACCATCTCAAT
 V V N L L G A C T K P G G P L M V I V E F C K
 GTGGTCAACCTTCTAGGTGCCTGTACCAAGCCAGGAGGGCCACTCATGGTGATTGTGGAATTCTGCAAAA
 F G N L S T Y L R S K R N E F V P Y K T K G A
 TTTGGAACCTGTCCACTTACCTGAGGAGCAAGAGAAATGAATTTGTCCCCTACAAAGACCAAAGGGGCA
 R F R Q G K D Y V G A I P V D L K R R L D S I
 CGATCCCGTCAAGGAAAGACTACGTTGGAGCAATCCCTGTGGATCTGAAACGGCGCTTGGACAGCATC

Şekil 4.5. (Devamı)

T S S Q S S A S S G F V E E K S L S D V E E E
 ACCAGTAGCCAGAGCTCAGCCAGCTCTGGATTTGTGGAGGAGAAGTCCCTCAGTGATGTAGAAGAAGAG
 E A P E D L Y K D F L T L E A K G M E F L A S
 GAAGCCTCCTGAAGATCTGTATAAGGACTTCCTGACCTTGGAGCATCTCATCTGTTACAGCTTCCAAGTG
 H L I C Y S F Q V R K C I H R D L A A R N I L
 GCTAAGGGCATGGAGTTCTTGGCATCGCGAAAGTGTATCCACAGGGACCTGGCGGCACGAAATATCCTC
 L S E K N V V K I C D F G L A R D I Y K D P D
 TTATCGGAGAAGAACGTGGTTAAAATCTGTGACTTTGGCTTGGCCCGGGATATTTATAAAGATCCAGAT
 Y V R K G D A R L P L K W M A P E T I F D R V
 TATGTCAGAAAAGGAGATTGCTCGCTCCCTTTGAAATGGATGGCCCCAGAAACAATTTTTGACAGAGTG
 Y T I Q S D V W S F G V L L W E I F S L G A S
 TACACAATCCAGAGTGACGTCTGGTCTTTTGGTGTGGTGTGGGAAATATTTTCCCTTAGGCTGCTTCT
 P Y P G V K I D E E F C R R L K E G T R M R A
 CCATATCCTGGGGTAAAGATTGATGAAGAATTTTGTAGGCGATTGAAAGAAGGAACACTAGAATGAGGGCC
 P D Y T T P E M Y Q T M L D C W H G E P S Q R
 CCTGATTATACTACACCAGAAATGTACCAGACCATGCTGGACTGCTGGCACGGGGAGCCCAGTCAGAGA
 P T F S E L V E H L G N L L Q A N A Q Q D G K
 CCCACGTTTTTCCAGAGTTGGTGGAAACATTTGGGAAATCTCTTGAAGCTAATGCTCAGCAGGATGGCAAA
 D Y I V L P I S E T L S M E E D S G L S L P T
 GACTACATTGTTCTCCGATATCAGAGACTTTGAGCATGGAAGAGGATTCTGGACTCTCTTCTGCCTACC
 S P V S C M E E E V C D P K F H Y D N T A G
 TCACCTGTTTCCGTGTATGGAGGAGGAGGAAGTATGTACCCCAAATTCATTATGACAACACAGCAGGA
 I S Q Y L Q N S K R K S R P V S V K T F E D I
 ATCAGTCAGTATCTGCAGAACAGTAAGCGAAAGAGCCGGCCTGTGAGTGTA AAAACATTTGAAGATATC
 P L E E P E V K V I P D D N Q T D S G M V L A
 CCGTTAGAAGAACCAGAAGTAAAAGTAATCCCAGATTGAACAACCAGACGGACAGTGGTATGGTTCTTGCC
 S E E L K T L E D R T K L S P S F G G M V P S
 TCAGAAGAGCTGAAAACCTTTGGAAGACAGAACCAAATTATCTCCATCTTTTGGTGGAAATGGTGGCCAGC
 K S R E S V A S E G S N Q T S G Y Q S G Y H S
 AAAAGCAGGGAGTCTGTGGCATCTGAAGGCTCAAACCAGACAAGCGGCTACCAGTCCGGATATCACTCC
 D D T D T T V Y S S E E A E L L K L I E I G V
 GATGACACAGACACCACCGTGTACTCCAGTGAGGAAGCAGA ACTTTTTAAAGCTGATAGAGATTGGAGTG
 Q T G S T A Q I L Q P D S G T T L S S P P V *
 CAAACCGGTAGCACAGCCAGATTCTCCAGCCTGACTCGGGGACCACACTGAGCTCTCCTCCTGTTTAA

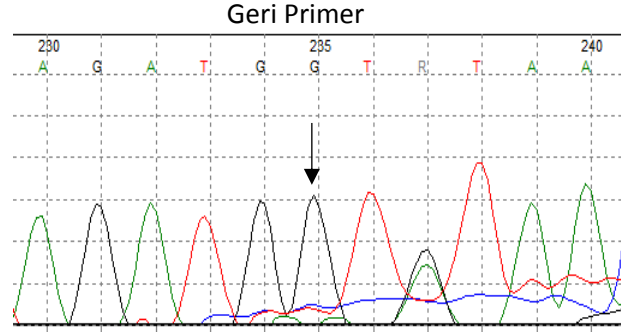
Şekil 4.5. (Devamı)

SSR tanısı almış 12 olguda belirlenen ($n=1$ AA; $n=11$ GA) intronik mutasyondur (rs2305949). Bu mutasyon *KDR* geninin beşinci intron bölgesinde guanin nükleotidinin adenin nükleotidine transisyonu sonucu oluşur (Şekil 4.6).



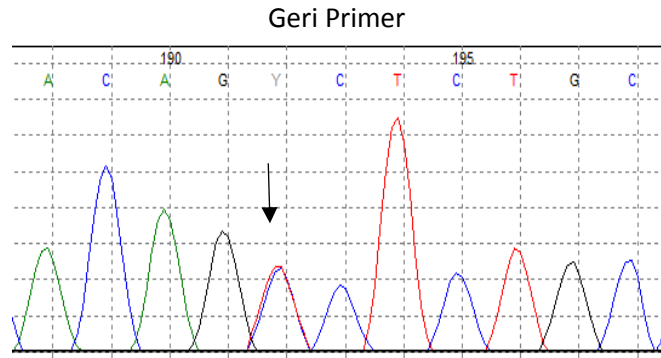
Şekil 4.6. c.659-24G>A intronik mutasyonu

SSR tanısı almış 3 olguda ($n=3$ GA) *KDR* geninin yedinci ekzon bölgesinde Val297I yanlış anlamlı mutasyonu saptanmıştır (rs2305948). Bu mutasyon 889 pozisyonundaki guanin nükleotidinin adenin nükleotidine transisyonu sonucunda meydana gelerek 297 pozisyonundaki valin aminoasidinin izolösin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.7).



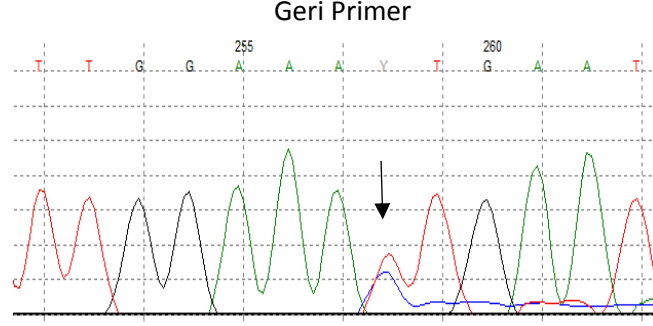
Şekil 4.7. p.Val297Ile mutasyonu

SSR tanısı almış 1 olguda ($n=1$; CT) *KDR* geninin onüçüncü ekzon bölgesinde P590S yanlış anlamlı mutasyonu saptanmıştır (rs140825421). Bu mutasyon 1768 pozisyonundaki sitozin nükleotidinin timin nükleotidine transisyonu sonucunda meydana gelerek 590 pozisyonundaki prolin aminoasidinin serin aminoasidine dönüşmesine neden olur (Şekil 4.8).



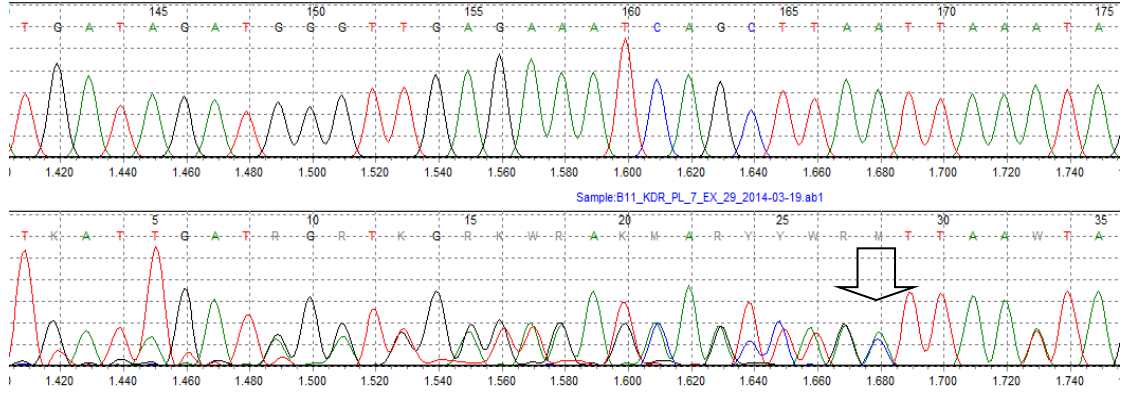
Şekil 4.8. p.Pro590Ser mutasyonu

SSR tanısı almış 1 olguda ($n=1$; TC) L612L sinonim mutasyonu belirlenmiştir (rs77722107). *KDR* geninin onüçüncü ekzon bölgesinde saptanan bu mutasyon 1834 pozisyonundaki timin nükleotidinin sitozin nükleotidine transisyonu sonucunda meydana gelerek 612 pozisyonundaki lözin (L) aminoasidinin kodon diziliminin değişmesine neden olur (Şekil 4.9).



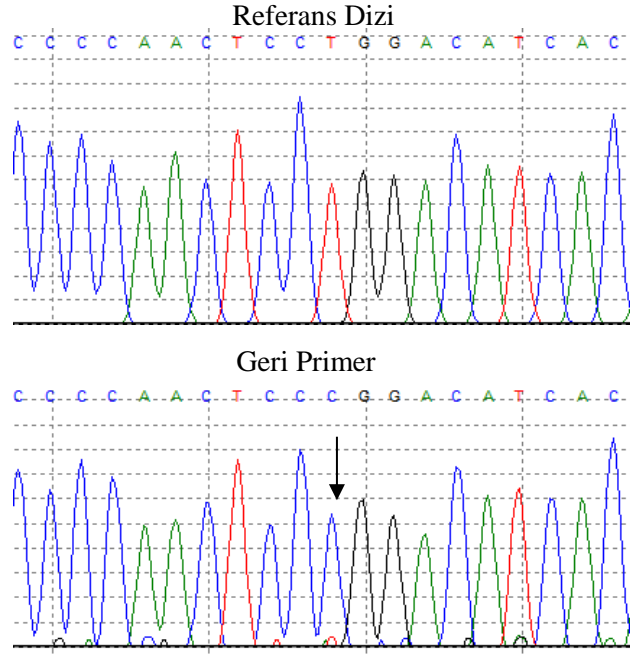
Şekil 4.9. p.Leu612 mutasyonu

SSR tanısı almış 1 olguda *KDR* geninin yirmisekizinci intronunda heterozigot TAA delesyonu belirlenmiştir (het_delTAA). Saptanan bu mutasyon 48495-48498 pozisyonları arasındaki TAA üçlü nükleotidinin delesyonu sonucunda meydana gelerek aminoasit diziliminin değişmesine neden olur (Şekil 4.10).



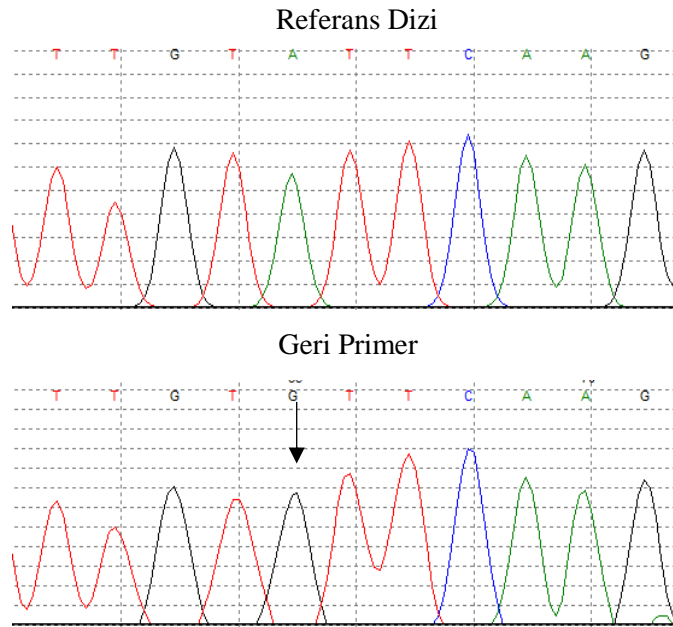
Şekil 4.10. g.48495-48498 het_delTAA delesyonu

KDR geninin otuzuncu ekzonu içinde 3' transle olmayan bölgede (3'UTR) bir T>C mutasyonu belirlenmiştir (rs4421048). Söz konusu değişim daha önce literatürde bildirilmiş ve c.*27T>C şeklinde isimlendirilmiştir. Çalışmamızda c.*27T>C değişimi taranan 32 olgunun tamamında homozigot durumda saptanmıştır (Şekil 4.11).



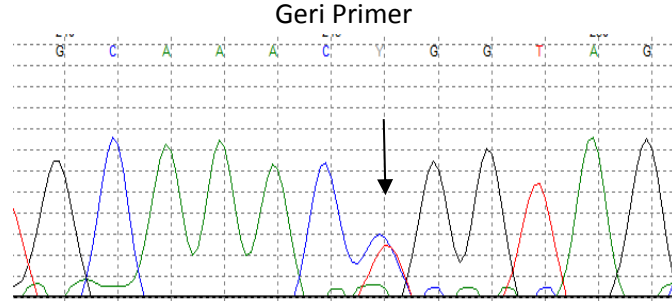
Şekil 4.11. c.*27T>C 3'UTR mutasyonu

KDR geninin yirminci intronunda, çalışılan olguların %3,1 (1/32)' i homozigot, %34,3 (11/32)' ü heterozigot olmak üzere %37,5' inde daha önce literatürde belirlenmiş c.2818-37A>G varyantı saptanmıştır (rs2219471). Saptanan bu değişim 2818-37 pozisyonundaki adenin nükleotidinin guanin nükleotidine transisyonu sonucunda meydana gelmiştir. (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. c.2818-37A>G intronik varyantı

KDR geninin otuzuncu ekzonunda 1 olguda (heterozigot CT) aminoasit değişimine neden olmayan sinonim C>T değişimi saptanmıştır (rs35961234). Değişim sonucu treonin' i kodlayan ACC kodonu ACT şekline dönüşmüştür. ACT kodonu da treonin aminoasitini kodlamaktadır. Söz konusu değişim 4008 pozisyonundaki sitozin nükleotidinin timin nükleotidine transisyonuyla 1336 pozisyonundaki treonin aminoasidinin kodon dizilimini değiştirmektedir (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. p.Thr1336 (c.4008C>T) mutasyonu

4.3. İstatistiksel Analiz ve Verilerin Hazırlanması

Olgu ve kontrol grubu bireylerin *KDR* gen popülasyonlarındaki mutasyon oranları, Hardy-Weinberg Dengesi kullanılarak karşılaştırıldı. İstatistiksel anlamlılık derecesi $p < 0,05$ olarak kabul edildi. 32 olgu ve 32 kontrol bireyinde tespit edilen mutasyonların anlamlılık dereceleri ve alel sayıları Tablo 9' da verilmiştir.

Tablo 9. Hardy-Weinberg Dengesi (HWE)' ne göre olgu-kontrol gruplarının mutasyon oranlarının karşılaştırılması

	Olgu						Kontrol						p değeri
	GG	GA	AA	G	A	HWE p	GG	GA	AA	G	A	HWE p	
rs2305949	20	11	1	0,78	0,22	0,62	22	9	1	0,83	0,17	0,94	0,86
	CC	CT	TT	C	T	HWE p	CC	CT	TT	C	T	HWE p	p değeri
rs2305948	29	3	0	0,95	0,05	0,78	31	1	0			0,92	0,3
rs35961234 (pThr1336)	31	1	0	0,98	0,02	0,92	31	0	0	1	0	NA	NA
rs140825421 (Pro590Ser)	31	1	0	0,98	0,02	0,92	31	0	0	1	0	NA	NA
rs77722107 (Leu612Leu)	31	1		0,98	0,02	0,92	31	0	0	1	0	NA	NA
	./+/	./+/-	./-/-	+	-	HWE p	./+/	./+/-	./-/-	+	-	HWE p	p değeri
Del_TAA	31	1		0,98	0,02	0,92	31	0	0	1	0	NA	NA
	AA	AG	GG	A	G	HWE p	AA	AG	GG	A	G	HWE p	p değeri
rs2219471	20	11	1	0,78	0,22	0,62	21	11	0			0,24	0,59

TARTIŞMA

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda, makular ödem ile ilişkili olarak *VEGF* genindeki mutasyonların ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ancak santral seröz koryoretinopati ile *KDR* (*VEGFR2*) gen polimorfizmleri ilişkisine dayalı moleküler genetik bir çalışma literatürde yayınlanmamıştır. Sunulan çalışma kapsamı bu eksikliği gidermeye yönelik olarak tasarlanmıştır. Genetik hastalıkların incelenmesi ve araştırılmasında öncelikli aşama hastalıkla ilişkili genin tanımlanmasıdır. Geni tanımlanmış olan hastalıkta takip eden ikinci aşama geniş hasta gruplarında ilgili gendeki mutasyonların saptanmasıdır. Bugün insan genetiği üzerine yapılan araştırmaların üzerinde en yoğun olarak çalışıldığı konuların başında bireyler arası farklılıklar ile gen mutasyonları ve bunların olası etkileşimleri yer almaktadır. Bu nedendir ki genetik hastalıklara neden olan genlerdeki mutasyonların tanımlanması önemlidir.

Santral seröz koryoretinopati (SSR) genellikle sağlıklı, genç ve orta yaşlı bireylerde, erkeklerde kadınlara oranla yaklaşık 6 kat daha sık görülen, idyopatik olarak ortaya çıkan, retina altı sıvı birikimi sonucu duysal retina dekolmanı ile karakterize bir makulopatidir. Biriken subretinal sıvının kendiliğinden emilimiyle gerileyen ve tekrarlayıcı bir hastalık olan SSR' nin patojenezi günümüzde halen açıklığa kavuşmuş değildir. Daha önceki olgu-kontrol çalışmalarında SSR' nin etyolojisinin, fizyolojik stres, A tipi kişilik, mikro damar yoğunluğu, neovaskülerizasyon ve kortikosteroid kullanımıyla ilişkili olduğu görülmüştür. Irksal prevalansında ise Beyaz ırk, Hispanik ve Asyalılar' da yüksek fakat Afro-Amerikanlar' da ise düşük oranda saptanmıştır. Popülasyon tabanlı çalışmalarda Beyaz ırk popülasyonunda 6/100.000 insidansına sahip olduğu görülmüştür.

SSR hastalığının süre ve seyrine göre 3 alt tipe ayrılır;

1. Akut SSR: Semptom ve bulgular altı aydan kısa sürer.
2. Tekrarlayıcı SSR: Birden fazla atak geçirilen durumlardır.
3. Kronik SSR: Semptom ve bulgular 6 aydan uzun sürer.

Verhoeff ve Grossman 1937' de maküler ödemin retinadan değil ancak koroidal damardan kaynaklanan seröz sızıntı ile oluştuğunu belirtmiştir. Guyer' in 1997' de SSR hastaları ile yaptığı geniş çaplı klinik incelemelerde koroidal hiperpermeabilitenin seröz retina pigment epitelyum (RPE) dekolmanına sebebiyet verdiği, bu durum sonucunda RPE' de meydana gelen basınç artışının RPE' de sızıntıya neden olduğu ve nörosensoryel dekolman ile sonuçlandığını tespit etmiştir.

SSR' nin tanısında sıklıkla başvurulmuş yöntemlerden biri de florasan anjiyoskopi (FA) ve optik kohorens tomografi (OKT)' dir. Bu yöntemler ile kronik SSR' de dış retinanın altında sinir dokudaki dekolman ile birlikte yeni damar oluşumları, protein birikimi ve geçmişte SSR oluşmuş gözde meydana gelen RPE' da meydana gelen hasarları gösterir.

Çalışmamızda mikrodamar hiperpermeabilitesi ve neovazkülerizasyon sonucu maküler ödem ile karakterize olan santral seröz koryoretinopati ile anjiogenez, endotel hücre proliferasyonu, mitojenik aktivite gibi birçok yolağı tetikleyen vazküler endotelial büyüme faktör (VEGF) reseptörü *KDR* (*VEGFR2*) gen polimorfizmlerini ve Türk popülasyonundaki olası genetik faktörlerini değerlendirdik. 4. kromozomun q kolunda 11. ve 12. bantları arasında yer alan (4q11.12) kinaz ekli alan reseptörü *KDR*' nin *VEGF*' in diğer reseptörlerinden ayrı olarak migrasyon, vazküler gelişim ve permeabilitede önemli rol oynar. 151 kDa büyüklüğünde ve 7 adet immunglobulin (Ig) benzer alan içerir. İkinci ve üçüncü Ig-benzer alanı ligand bağlanma bölgesi olarak öneme sahiptir. Bu bölgede oluşacak bir varyasyon özellikle ligandın bağlanma afinitesini değiştirebilir. Bu da *KDR* geninin fonksiyon kazanmasıyla ya da kaybetmesiyle sonuçlanır. *VEGF*' in *KDR*' ye ekstraselüler bölgede bağlanmasının engellenmesi mutant *KDR*' ye bu da *VEGF*' in antiapoptotik etkilerinin azalması, endotelial hücre hasarı, vazküler fonksiyon kaybı ile sonuçlanır. Bugüne kadar tespit edilen 7 çeşit *VEGF* ligandından VEGF-A/C/D ve parapox virus' da bulunan VEGF-E için hücre yüzey reseptörüdür. VEGF-A' nın anjiogenez aktivitesinden sorumlu tirozin kinaz reseptörüdür. Reseptörün tirozin kinaz aktivitesi ve fosforilasyonu *KDR* geninin iki molekülünün, VEGF-A' nın dimerize olmuş 110 aminoasitlik N-terminal bölgesindeki monomerlerine bağlanmasıyla başlar. VEGF-A₁₆₅ (izoform-1) ve *KDR* geni arasındaki interaksyonda PI3K, MAPK, AKT gibi sinyal yollarının aktivasyonu için ortam sağlar. Ayrıca hücre membran permeabilitesini artıran Src' nin fosforilasyonuna da aracılık eder. Intraselüler alanda 5 tirozin rezidü ana fosforilasyon bölgesi olarak belirlenmiştir. Bu tirozin rezidülerinde gerçekleşen fosforilasyon, bitişindeki aminoasit dizisi ile birlikte, SH2 (Src Homology 2) alanının çeşitli sinyal iletim molekülleri için bağlanma bölgesi oluşturur. Intraselüler bölgede 43 aminoasitlik Juxta membran alanı içerir. Bu bölge reseptör aktivitesini regüle eder ve tirozin kinaz alanlarının bağlanma bölgesidir. Bu alanda oluşacak bir mutasyon liganddan bağımsız reseptör aktivasyonuna sebep olur.

Son yıllarda anti-VEGF terapisi oldukça yaygın olmakla beraber ilaç geliştirme çalışmalarını halen devam ettirmektedir. Anti-VEGF ilaçlarından FDA tarafından ilk onaylanan ve en yaygın olanı 149kDa ağırlığında rekombinant monoklonal IgG antikoru olan Bevacizumab (Avastin) etkisini tüm VEGF-A izoformlarına bağlanarak vazküler hiperpermeabilite, endotel hücre proliferasyonu ve anjiogenez yollarını inhibe ederek gösterir. Bunun yanında son yıllarda keşfedilen bir diğer anti-VEGF ajanı Ramucirumab, VEGF-A' ya tüm izoformlarına doğal reseptörü olan *KDR*' den daha yüksek afiniteyle (50pM) bağlanıp, aktivasyonunu inhibe eder. Bağlanma alanları ekstraselüler alanda bulunan Ig-benzer alan II-III' tür. Anti-VEGF terapisinde kullanılan diğer ajanlar *VEGF/KDR* eksenini hedef olarak gösterirken Ramucirumab

KDR' nin ekstraselüler alanına spesifik olarak bağlanır. Böylece bu terapötik onaylı hedefe tüm VEGF ligandlarının bağlanması engellenir [49]. Anti-VEGF terapisi tight junction' lar ve vazküler dokuda oluşan hasar sebebiyle oluşan vazküler geçirgenliği engeller.

Tanımlanmış tüm tek nükleotid polimorfizmlerini (SNP) veritabanında barındıran NCBI PubMed verilerinin de analizlerimizde değerlendirmeye alınmasının ardından bu bilgiler ışığında yapılan çalışmamızda, tanımlanmış olguların % 34,3 (11/32)' ünde heterozigot, %3 (1/32)' ünde homozigot AA intronik mutasyonu (rs2305949) tespit edilmiştir (p=0,86). 5. intron bölgesinde ve ekzonik bölgeye çok yakın lokalize olan bu kriptik bölge mutasyonunun yine çalışmamızda tespit edilen yanlış anlamlı bir mutasyon ile (rs2305948) bağlantı dengesizliği (LD) bulunmaktadır [52]. Bu mutasyonda olguların %9 (3/32)' unda heterozigot GA değişimi gözlenmiştir (p=0,3). Bu yanlış anlamlı mutasyon *KDR* geninin 7. ekzonik bölgesinde bulunup 297. Valin (V) aminoasitinin izolösün (I) aminoasitine dönüşmesiyle oluşur. Literatür taramalarında koroner kalp hastalığıyla ilişkili bulunmuştur [52]. Üçüncü Ig-benzer alanında görülen bu mutasyon, dördüncü Ig-benzer alanına çok yakın lokalize olmuştur. Yanlış anlamlı bu mutasyon ligand bağlanması için önemli olan ve VEGF' in bağlanma alanı olarak *KDR*' nin ana bölgelerinden biri olan ekstraselüler bölgeye sahip NH₂-terminal Ig-benzer alanında yer alır. Buradaki bir mutasyon mutant *KDR*' nin oluşumuna sebep olarak VEGF' in *KDR*' ye bağlanma afinitesini değiştirebilir. Çalışmamızda ise olgu sayısı artırılarak bu iki bağlantı dengesizliği mutasyonlarının genetik tanı açısından yarar sağlayacağı görüşündeyiz.

Çalışmamızda 1 olguda (%3) tespit edilen rs140825421 yanlış anlamlı mutasyonu (p>0,05) *KDR* geninin 13. ekzonik bölgesinde bulunmaktadır ve 590 pozisyonundaki prolin (Pro) aminoasidinin serin (Ser) aminoasidine dönüşmesiyle sonuçlanır. Peptidleri bağlayarak proteinlerin ikincil yapılarını kazanmasını sağlayan Pro nötür aminoasiti, moleküler yapısı itibariyle azot ucu (N) bir aminoasit bağladığında başka bir aminoasitin hidrojen (H⁺) atomu bağlamasına izin vermez. Bu nedenle prolinin VI. Ig-benzer alanında, yer alan ilgili mutasyonda polar serin aminoasidine dönüşümü konformasyonel değişime bu da *KDR* geninin ligandan bağımsız fonksiyon kazanmasıyla sonuçlanabilir. Tespit edilen bu mutasyon ileriye yönelik çalışmalarda genetik tanı açısından önem arz edebilir.

Taramalarımız sonucunda 1 olgunun (%3) rs77722107 sinonim mutasyonu açısından heterozigot alel taşıdığını tespit ettik (p>0,05). *KDR* geninin altıncı Ig-benzer alanında 13. ekzonik bölgesinde yer alan bu ekzonik sinonim mutasyon 612 pozisyonundaki lösün (Leu) aminoasitinin kodon dizisinin değişmesiyle sonuçlanır. Meydana gelen bu değişim T>C transisyonu sonucu olur. Saptadığımız bir başka sinonim mutasyon ise 30. ekzonik bölgede meydana gelen C>T transisyonu sonucu oluşan pThr1336 mutasyonu rs35961234' dür. 1336 pozisyonundaki treonin aminoasitinin kodon diziliminin değişimi ile sonuçlanır. Olguların %3 (1/32)' ünde saptanmıştır (p>0,05). Ekzonik bölgede meydana gelen bu iki sinonim mutasyonun

fenotipik özellik ve hastalığa yatkınlık üzerine etkisi, translasyon verimliliği üzerine etkisi, RNA' nın sekonder yapısındaki alel-spesifik farklılıkların splice/translasyon süreci üzerinde etkisi olabileceğini düşünmekteyiz. Bu açıdan saptanan bu mutasyon *KDR* geni ile ilgili yapılacak geniş çaplı genetik çalışmalara yol gösterici olabilir.

Çalışmamız kapsamında olguların %34,7 (11/32)' sinde homozigot ve % 3 (1/32)' ünde heterozigot rs2219471 intronik varyantı görülmüştür (p=0,59). Bu varyant *KDR* geninin 20. intronik bölgesinde 2818-37 pozisyonunda A>G transisyonu ile meydana gelir. Bu gibi splay bölge mutasyonları ekzon atlama, kriptik splay bölge aktivasyonu, intronik bölge içinde psödo-ekzon oluşumu veya kodlama bölgesine intron eklenmesi (retensiyon) ile sonuçlanabilir. Olguların %3 (1/32)' ünde 28. intron bölgesinde 48495 ile 48498 pozisyonları arasında daha önce literatürde tanımlanmamış TAA delesyonu tespit edilmiştir (p>0,05). Oluşan bu delesyon kriptik splay bölge mutasyonlarının etkisini şiddetlendirebilir.

Çalışılan olguların tamamında (32/32) homozigot 3'UTR bölgesinde polimorfizm tespit edilmiştir. 30. ekzon içerisinde 27. pozisyonadaki T>C transisyonu sonucunda meydana gelir (rs4421048). Oluşan bu varyasyonun miRNA : mRNA interaksyonunu azaltarak mRNA stabilizasyonunu artırır. Bu artış *KDR*' nin translasyonel artışına neden olur. Bu da *KDR*' nin aşırı üretimine neden olur.

Sanger sekanslama metodu ile tespit ettiğimiz polimorfizmlerden daha önce literatürde tanımlanmamış bir intron delesyonu tespit ettik. Tespit edilen diğer polimorfizmlerden çoğunun hastalıkla ilişkisi istatistiksel olarak bağlantılı görülmemiştir. Tez çalışmamızın konusu olan santral seröz koryoretinopatiye neden olduğunu düşündüğümüz *KDR* gen mutasyonlarının Türk popülasyonundaki insidansı üzerine ve yalnızca Türk hastalarla yapılan geniş kapsamlı bir *KDR* gen analiz çalışması bulunmamaktadır. Ancak olgu/kontrol sayısı artırılarak yapılan çalışmanın yeniden dizayn edilmesi popülasyonumuz açısından prognostik faktör olarak klinik ve moleküler çalışmalara ışık tutabilir.

SONUÇLAR

1. Olguların % 34,7 (11/32)' sinde heterozigot, %3 (1/32)' ünde homozigot AA intronik bölge mutasyonu rs2305949 5. intron bölgesinde tespit edildi ($p=0,86$).
2. Olguların %9 (3/32)' unda heterozigot GA yanlış anlamlı rs2305948 mutasyonu tespit edildi ($p=0,3$). Bu yanlış anlamlı mutasyon *KDR* geninin 7. ekzonik bölgesinde bulunup 297. Valin (V) aminoasitinin izolösin (I) aminoasitine dönüşmesiyle oluşur.
3. 1 olguda (%3) rs140825421 yanlış anlamlı mutasyonu *KDR* geninin 13. ekzonik bölgesinde tespit edildi ($p>0,05$) ve 590 pozisyonundaki prolin (Pro) aminoasidinin serin (Ser) aminoasidine dönüşmesiyle sonuçlanır.
4. 1 olgunun (%3) rs77722107 sinonim mutasyonu açısından heterozigot alel taşıdığı tespit edildi ($p>0,05$). *KDR* geninin 6. Ig-benzer alanında 13. ekzonik bölgesinde yer alan bu ekzonik sinonim mutasyon T>C transisyonu sonucu 612 pozisyonundaki lösin (Leu) aminoasitinin kodon dizisinin değişmesiyle sonuçlanır.
5. Olguların %3 (1/32)' ünde 30. ekzonik bölgede C>T transisyonu sonucu rs35961234 sinonim pThr1336 mutasyonu tespit edildi ($p>0,05$). 1336 pozisyonundaki treonin aminoasitinin kodon diziliminin değişimi ile sonuçlanır.
6. Olguların %34,7 (11/32)' sinde homozigot ve % 3 (1/32)' ünde heterozigot rs2219471 intronik varyantı görüldü ($p=0,59$). Bu varyant *KDR* geninin 20. intronik bölgesinde 2818-37 pozisyonunda A>G transisyonu ile meydana gelir.
7. Olguların %3 (1/32)' ünde 28. intron bölgesinde 48495 ile 48498 pozisyonları arasında daha önce literatürde tanımlanmamış TAA delesyonu tespit edildi ($p>0,05$).
8. Çalışılan olguların tamamında (32/32) homozigot 3'UTR bölgesinde rs4421048 polimorfizmi tespit edildi. 30. ekzon içerisinde 27. pozisyonundaki T>C transisyonu sonucunda meydana gelir.

KAYNAKLAR

- 1- **Steel DHW., Lotery AJ.** Idiopathic vitreomacular traction and macular hole: a comprehensive review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eye*. **2013**; 27, S1–S21.
- 2- **Bailey AJ.** Structure, function and ageing of the collagens of the eye. *Eye* **1987**; 1, 175–183
- 3- <http://www.sizinti.com.tr/konular/ayrinti/farkina-gec-vardigimiz-nimet-yakini-gorme-agustos-2012.html>
- 4- **Niles PI., Greenfield DS., Sehi M., Bhardwaj N., Iverson SM. et al.** Detection of progressive macular thickness loss using optical coherence tomography in glaucoma suspect and glaucomatous eyes. *Eye* **2012**; 26, 983-991.
- 5- **Curtis TM., Gardiner TA., Stitt AW.** Microvascular lesions of diabetic retinopathy: clues towards understanding pathogenesis? *Eye*. **2009**; 23, 1496–1508.
- 6- **Yousef H Aldebasi, Arshad H Rahmani, Amjad A Khan, and Salah Mesalhy Aly.** The effect of vascular endothelial growth factor in the progression of bladder cancer and diabetic retinopathy. *Int J Clin Exp Med*. **2013**; 6(4): 239–251.
- 7- **Gong CY, Lu B, Hu QW, Ji LL.** Streptozotocin induced diabetic retinopathy in rat and the expression of vascular endothelial growth factor and its receptor. *Int J Ophthalmol*. **2013 Oct 18**;6(5):573-7.
- 8- **Archer DB.** Diabetic retinopathy: Some cellular, molecular and therapeutic considerations. *Eye*.**1999**; 13, 497-523.
- 9- <http://motivolog.com/disease/diyabetik-retinopati-154/1>
- 10- **Robman L., Taylor H.** External factors in the development of cataract. *Eye*. **2005**;19, 1074–1082.
- 11- **Tan J.H.Y., Newman D.K., Klunker C., Watts S.E., Burton R.L.** Phacoemulsification cataract surgery: is routine review necessary on the first post-operative day? *Eye*. **2000**; 14, 53-55.
- 12- **Raman R., Biswas S., Vaitheeswaran K., Sharma T.** Macular pigment optical density in wet age-related macular degeneration among Indians. *Eye*. **2012**; 26, 1052–1057.

- 13- <http://bauergen677s10.weebly.com/>
- 14- **Von Graefe A.** Kurzere abhandlungen notizen und casaistische mitheilugnen vermischten inhalts: VI. Ueber zentrale recidivirende retinitis. *Graefes Arch. Clin. Ophthalmol.* **1866**;12, 211-215.
- 15- **Maumenee AE.** Macular diseases; clinical manifestations. *Trans. Am. Acad. Ophthalmol.* **1965**; 69, 605-613.
- 16- **Gass JDM.** Photocoagulation treatment of idiopathic central serous chorioretinopathy. *Trans. Am. Acad. Ophthalmol.* **1977**; 83:456-467.
- 17- **Robertson DM., Ilstrup D.** Direct, indirect, and sham laser photocoagulation in the management of central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol.* **1983**; 95(4):457-66.
- 18- **Yanoff M., Duker JS.** *Ophthalmology*: 2nd edition, St. Louis: Mosby. **2004**; 938-941.
- 19- **Yıldırım Y., Akay F.** Santral seröz koryoretinopatide predispozan faktörler ve hastalığın doğal seyri. *Deneyisel ve Klinik Tıp Dergisi - J. Exp. Clin. Med.* **2012**; 29:272-275.
- 20- **Polak BC., Baarsma GS., Snyers B.** Diffuse retinal pigment epitheliopathy complicating systemic corticosteroid treatment. *Br J Ophthalmol.* **1995**; 79(10): 922–925.
- 21- **Prünke C., Flammer J.** Choroidal capillary and venous congestion in central serous chorioretinopathy. *Am J Ophthalmol.* **1996**; 121(1):26-34.
- 22- **Kolin J., Oosterhuis JA.** Retina pigment epithelial dystrophy in central serous detachment of sensory epithelium. *Doc Ophthalmol.* **1975**; 39:1-12.
- 23- **Gelber GS., Schatz H.** Loss of vision due to central serous chorioretinopathy following psychological stress. *Am J Pschiatry.* **1987**; 144:46-50.
- 24- <http://www.eyecenters.com/what-you-should-know-about-central-serous-chorioretinopathy.html>
- 25- **Tuncay Y.F., Gürelik G.** Santral seröz koryoretinopati. *Ret-Vit.* **2010**; 18:85-111.
- 26- **Arvas S.** Santral Seröz Koryoretinopati, *Journal of Retina-Vitreous.* **2011**;19(2): 75-78.

- 27- http://www.revophth.com/content/d/cover_focus/i/1323/c/25418/
Raj K. Maturi, MD, Lori Bleau. Multifocal ERG in Practice, *Review of Ophthalmology* **2004**.
- 28- **Dinç ve ark.** Santral Retina Arter Tıkanıklığında Mikroperimetri ile Retina Sensitivitesinin Değerlendirilmesi *Ret-Vit* **2009**;17:156-158.
- 29- **Schmitz-Valckenberg S., Holz FG., Bird AC., Spaide RF.** Fundus autofluorescence imaging: review and perspectives. *Retina*. **2008 Mar**; 28(3):385-409.
- 30- **Lee YM. et.al.** Determination of hypoxic region by hypoxia marker in developing mouse embryos in vivo: A possible signal for vessel development. *Dev. Dyn.* **2001**; 220: 2; p.175–186.
- 31- **Hirji N., Watt L., Richardson E.** Central serous chorioretinopathy secondary to childbirth. *BMJ Case Rep.* **2010**; 10.1136/bcr.10.2010.3387
- 32- **Spaide RF., Campeas L., Haas A.** Central serous retinopathy in younger and older adults. *Ophthalmology*. **1996**; 103:2070-2079.
- 33- **Desai UR., Alhalel AA.** Central serous chorioretinopathy in African Americans. *J Natl Med Assoc.* **2003**; 95:553-559.
- 34- **Lin C1, McGough R, Aswad B, Block JA, Terek R.** Hypoxia induces HIF-1alpha and VEGF expression in chondrosarcoma cells and chondrocytes. *J Orthop Res.* **2004 Nov**;22(6):1175-81.
- 35- **Tamanini C., De Ambrogi M.** Angiogenesis in developing follicle and corpus luteum. *Reprod Domest. Anim* **2004**; 39: 206-16.
- 36- **Yazır Y., Gonca S., Filiz S., Dalçık H.** Endotel Hücreleri İçin Önemli Bir Protein Ailesi; Vasküler Endotel Büyüme Faktörü (Vegf), Ailenin Üyeleri, Yapısı ve Sentezi. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi* **2004**;26(4):181 – 184.
- 37- [Takahashi H., Shibuya M. The vascular endothelial growth factor \(VEGF\)/VEGF receptor system and its role under physiological and pathological conditions.](#) *Clin Sci (Lond).* **2005**;109(3):227-41.
- 38- **Holmes K., Roberts O.LI, Thomas AM., Cross MJ.** Vascular endothelial growth factor receptor-2: Structure, function, intracellular signalling and therapeutic inhibition, *Cellular Signalling* 19 (**2007**); 2003–2012.
- 39- **Yamazaki, Y., Takani, K., Atoda, H., and Morita, T.** Snake Venom Vascular Endothelial Growth Factors (VEGFs) Exhibit Potent Activity through Their Specific Recognition of KDR (VEGF Receptor 2) *J. Biol. Chem.* **2003**, 278; 51985–51988.

- 40- Yasuo Yamazakia, Yuta Nakanoa, Takahisa Imamura, Takashi Morita. Augmentation of vascular permeability of VEGF is enhanced by KDR-binding proteins. **2007**; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 355, 693–699.
- 41- Senger DR., Galli SJ., Dvorak AM., Perruzzi CA., Harvey VS., Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid, *Science* **1983**;219(4587):983-5.
- 42- [Robinson CJ.](#), [Stringer SE.](#) The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci.* **2001**;114(5):853-65.
- 43- **Enholm et al.** Comparison of VEGF, VEGF-B, VEGF-C, and Ang-1 mRNA regulation by serum, growth factors, oncoproteins, and hypoxia. *Oncogene* **1997**;14:2475-83
- 44- **Olsson AK., Dimberg A., Kreuger J., Claesson-Welsh L.** VEGF receptor signalling- in control of vascular function, *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2006**; 7: 359-371.
- 45- **Olsson AK., Dimberg A., Kreuger J & Claesson-Welsh L.** VEGF receptor signalling ? in control of vascular function. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2006**; 7, 359-371.
- 46- **Ozdemir O, Erol MK.,** Morphologic changes and visual outcomes in resolved central serous chorioretinopathy treated with ranibizumab. *Cutan Ocul Toxicol.* **2014** Jun;33(2):122-6.
- 47- **Sandro De Falco,** Antiangiogenesis therapy: an update after the first decade. *Korean J Intern Med.* **2014**;29:1-11.
- 48- **Wang Q, Li T, Wu Z, Wu Q, Ke X, Luo D, Wang H,** Novel VEGF decoy receptor fusion protein conbercept targeting multiple VEGF isoforms provide remarkable anti-angiogenesis effect in vivo. *PLoS One.* **2013 Aug** 12;8(8):e70544.
- 49- **Spratlin JL, Cohen RB, Eadens M, Gore L, Camidge DR, Diab S, Leong S, O'Bryant C, Chow LQ, Serkova NJ, Meropol NJ, Lewis NL, Chiorean EG, Fox F, Youssoufian H, Rowinsky EK, Eckhardt SG.,** Phase I pharmacologic and biologic study of ramucirumab (IMC-1121B), a fully human immunoglobulin G1 monoclonal antibody targeting the vascular endothelial growth factor receptor-2. *J Clin Oncol.* **2010 Feb** 10;28(5):780-7.
- 50- **Park HW., Lee JE., Shin ES., Lee JY., Bahn JW., Oh HB., Oh SY., Cho SH., Moon HB., Min KU., Elias JA., Kim YY., Kim .K.** Association between genetic variations of vascular endothelial growth factor receptor 2 and atopy in the Korean population, *J Allergy Clin Immunol* **2006**; 117:774-9.

- 51- **Rah H., Jeon YJ., Lee BE., Choi DH., Yoon TK., Lee WS., Kim NK.** Association of kinase insert domain-containing receptor (KDR) gene polymorphisms with idiopathic recurrent spontaneous abortion in Korean women, *Fertil Steril* **2013**;99(3):753-760.
- 52- **Wang Y., Zheng Y., Zhang W., Yu H., Lou K., Zhang Y., Qin Q., Zhao B., Yang Y., Hui R.** Polymorphisms of KDR gene are associated with coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol.* **2007** Aug 21;50(8):760-7.
- 53- **Hansen TF., Sorensen FB., Spindler K-L. G., Olsen DA., Andersen R.F., Lindebjerg J., Brandslund., Jakobsen A.** Microvessel density and the association with single nucleotide polymorphisms of the vascular endothelial growth factor receptor 2 in patients with colorectal cancer, *Virchows Arch* **2010**; 456: 251-260.
- 54- **Longatto-Filho A., Pinheiro C, Martinho O, AR Moreira M, Ribeiro LFJ, Queiroz GS, Schmitt FC, Baltazar F, Reis RM.** Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenosquamous carcinoma. *BMC Cancer*, **2009**,9: 212.
- 55- [Yoshikawa H](#), [Dogruman-AI E](#), [Turk S](#), [Kustimur S](#), [Balaban N](#), [Sultan N](#). Evaluation of DNA extraction kits for molecular diagnosis of human Blastocystis subtypes from fecal samples. *Parasitol Res.* **2011 Oct**;109(4):1045-50.
- 56- **Lahiri DK, Nurnberger JI Jr.** Links A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.***1991 Oct**; 11.19(19):5444.

ÖZGEÇMİŞ

28 Haziran 1986 tarihinde Bolu' da doğan Gökçe ERDOĞAN, ilköğretimine 1992 yılında Ilgaz/Çankırı' da başlamış, 1997 yılında Sinop Anadolu Lisesi' ni kazanmış ve 2004 yılında Antalya Metin-Nuran Çakallıklı Anadolu Lisesi' nde lise eğitimini tamamlamıştır. 2011 yılında Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden mezun olmuştur. 2012 yılında özel bir biyokimya laboratuvarında biyolog olarak çalışmış aynı yıl Akdeniz Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Tıbbi Biyoloji Yüksek Lisans programına başlamıştır. Halen kayıtlı yüksek lisans öğrencisi olarak eğitimini sürdürmektedir.