

# Neovasküler Yaşa Bağlı Makula Dejenerasyonlu Olgularda Serum Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Netrin-1 Düzeyinin Değerlendirilmesi: Olgu Kontrol Çalışması

## Evaluation of Serum Vascular Endothelial Growth Factor and Netrin-1 Levels in Patients with Neovascular Age-Related Macular Degeneration: Case-Control Study

<sup>id</sup> Murat OKUTUCU<sup>a</sup>, <sup>id</sup> Hüseyin FINDIK<sup>a</sup>, <sup>id</sup> Feyzahan UZUN<sup>a</sup>, <sup>id</sup> Mehmet Gökhan ASLAN<sup>a</sup>,  
<sup>id</sup> Medeni ARPA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları ABD, Rize, Türkiye

**ÖZET Amaç:** Bu çalışmanın amacı, neovasküler yaşa bağlı makula dejenerasyonu (n-YBMD) hastalarında serum vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)] ve netrin-1 düzeyini sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırarak, bu vasküler belirteçlerin düzeyindeki değişikliğin sistemik problemlerin belirtisi olup olmadığını araştırmaktır. **Gereç ve Yöntemler:** Kliniğimizde n-YBMD teşhisi almış ve intravitreal enjeksiyon planlanan 37 hasta ve kontrol grubu olarak katarakt cerrahisi planlanan 34 hasta dâhil edildi. Çalışma ve kontrol grubu hastalarında serum VEGF ve netrin-1 düzeyi enzime bağlı immünosorbent deney yöntemi kullanılarak ölçüldü. **Bulgular:** Çalışma grubunun medyan yaş değeri 77 (61-84) kontrol grubunun ise 75 (50-87) idi. N-YBMD grubunda serum netrin-1 ve netrin-1/VEGF oranı kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük ve serum VEGF oranı anlamlı olarak yüksek bulundu (tümü  $p<0,001$ ). Alıcı işletim karakteristiği [receiver operating characteristic (ROC)] analizine göre netrin-1 seviyesi n-YBMD'yi tahmin etmek için orta düzeyde bir kesinliğe sahipti. ROC eğrisi altında kalan alan %83,78 [%95 GA (güven aralığı), 68-93,8] duyarlılık ve %85,29 (%95 GA, 68,9-95) özgüllük ile 0,883 (%95 GA, 0,797-0,970) olarak bulundu. Netrin-1 seviyeleri için en iyi kesim değeri  $\leq 485,1$  mg/mL idi ve bu istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi ( $p<0,001$ ). **Sonuç:** N-YBMD hastalarında bulunan yüksek VEGF ve düşük netrin-1 serum düzeyi bu hastalığın sistemik ve inflamatuvar bir hastalık olduğunu göstermektedir. Düşük serum netrin-1/VEGF oranı ise bu hastalıkta birbiri ile ilişkili anjiyogenik mediyatörlerin sistemik dengesinin bozulduğunun göstergesidir.

**ABSTRACT Objective:** To compare serum vascular endothelial growth factor (VEGF) and netrin-1 levels in patients with neovascular age-related macular degeneration (n-AMD) with a healthy control group, to investigate whether changes in the level of these vascular markers are a sign of systemic problems. **Material and Methods:** In our clinic, 37 patients who were diagnosed with n-AMD and were scheduled for intravitreal injection, and 34 patients who were scheduled for cataract surgery as the control group were included in the study. Serum VEGF and netrin-1 levels were measured using the enzyme-linked immunosorbent assay method in the study and control group. **Results:** The median age of the study group was 77 (61-84) and the control group was 75 (50-87). Serum netrin-1/VEGF ratio and netrin-1 levels were significantly lower and VEGF levels were significantly higher in n-AMD patients compared to the control group ( $p<0.001$  for all). According to the receiver operating characteristic (ROC) analysis, the netrin-1 level had a moderate precision to predict n-AMD. The area under the ROC curve was 0.883 [95% confidence index (CI), 0.797-0.970] with a sensitivity of 83.78% (95% CI, 68-93.8) and a specificity of 85.29% (95% CI, 68.9-95). For netrin-1 levels, the best cut-off value was  $\leq 485.1$  mg/mL, with a statistically significant difference ( $p<0.001$ ). **Conclusion:** Low serum netrin-1 and high VEGF levels detected in patients with neovascular AMD indicate a manifestation of systemic inflammatory disease. The low serum netrin-1/VEGF ratio indicates that the systemic balance of these biomarkers is impaired in this disease.

**Anahtar Kelimeler:** Makula dejenerasyonu; netrin-1; vasküler endotelial büyüme faktörü A; inflamasyon

**Keywords:** Macular degeneration; netrin 1; vascular endothelial growth factor A; inflammation

**Correspondence:** Murat OKUTUCU  
Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları ABD, Rize, Türkiye  
**E-mail:** muratokutucu83@gmail.com

Peer review under responsibility of Türkiye Klinikleri Journal of Ophthalmology.

**Received:** 10 Sep 2021

**Received in revised form:** 14 Jan 2022

**Accepted:** 18 Jan 2022

**Available online:** 24 Jan 2022

2146-9008 / Copyright © 2022 by Türkiye Klinikleri. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).



Yaşla bağlı makula dejenerasyonu (YBMD) Batı dünyasında 60 yaş üzeri kişilerde yasal körlüğe neden olan hastalıkların başında gelmektedir.<sup>1</sup> Kuru (atrofik) ve yaş (neovasküler) olmak üzere 2 farklı tipi vardır. Atrofik tipi yavaş ilerlerleyip, tüm vakaların yaklaşık %90'ını oluştururken, neovasküler tipi YBMD'ye bağlı körlüklerin %88'inden sorumludur.<sup>1</sup> Neovasküler YBMD (n-YBMD) subretinal veya intraretinal sıvı, retinal hemoraji, retina pigment epitel dekolmanı, sert eksuda ve subretinal fibröz skar doku gibi lezyonlara neden olan koroidal neovaskülarizasyon ile karakterizedir.<sup>2</sup> En iyi bilinen risk faktörleri yaş ve herediterdir.<sup>3</sup> Kronik inflamasyon YBMD gelişiminde önemli bir rol oynar. Yapılan bazı çalışmalarda, YBMD'li hastaların serum ve plazmalarında homosistein, C-reaktif protein (CRP) ve interleükin-6 (IL-6) gibi inflamatuvar sitokinlerin düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur.<sup>4,5</sup> YBMD ayrıca hipertansiyon (HT), koroner arter hastalığı, demans ve vasküler endotelial disfonksiyon gibi sistemik hastalıklarla ilişkili bulunmuştur.<sup>6,7</sup>

Bir akson kılavuz ipucu olan netrin-1'in, nöron proliferasyonunu düzenlemek ve akson yol bulmasına rehberlik etmek gibi görevleri vardır. Netrin-1'in anti-inflamatuvar ve damar endotelini koruyucu özellikleri olduğu gösterilmiştir.<sup>8</sup> Vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)], gelişimsel vaskülogenez ve anjiyogenezin kontrolü, vasküler geçirgenliğin düzenlenmesi ve hücre sağlığının desteklenmesi dâhil olmak üzere çeşitli işlevlere sahiptir. VEGF'nin ayrıca retina ganglion hücreleri, fotoreseptörler ve Müller hücreleri dâhil olmak üzere endotelial olmayan hücre tipleri için bir hayatta kalma faktörü olduğu gösterilmiştir.<sup>9,10</sup> VEGF ayrıca n-YBMD'nin karakteristik lezyonu olan koroid neovaskülarizasyonu oluşumuna neden olan, patolojik subretinal damar büyümesinde de rol oynar.<sup>11</sup>

VEGF ile netrin-1 birbiri ile yakın ilişkili 2 mediyatördür. Tu ve ark. çalışmalarında, netrin-1'in etkisini, VEGF reseptörü VEGFR2 için bir ko-reseptör olan CD146 üzerinden gösterdiğini bildirmişlerdir.<sup>12</sup> Park ve ark. ise VEGF ve netrin ailesi üyelerinin kombinasyonunun, distal hedeflerdeki etkisini sinerji içinde çalışarak gösterdiğini bildirmişlerdir.<sup>13</sup> Daha önce n-YBMD hastalarında serum VEGF düzeyini değerlendiren çalışmalar yapılmasına rağmen aynı

ko-reseptör üzerinden etki gösteren bu 2 mediyatörün birlikte değerlendirildiği çalışma yapılmamıştır.<sup>14</sup> Bu çalışmada, n-YBMD'li hastalarda serum VEGF ve netrin-1 düzeyini değerlendirerek, sistemik durumla ilişkisinin daha iyi anlaşılması hedeflendi.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, 03.02.2020-16.11.2020 tarihleri arasında 50 yaş üstü 71 hasta ile yapıldı. Çalışma protokolü için onay Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 26.12.2019 tarih ve 2019/211 karar numarası ile alındı. Çalışma, Helsinki Deklarasyonu Prensipleri'ne uygun olarak yapıldı. Araştırmanın yürütülebilmesi için tüm katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş onamları alındı. Daha önce intravitreal enjeksiyon yaptıran, HMG-KoA redüktaz inhibitörleri, nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar ve steroidler gibi antiinflamatuvar tedavi gören, kardiyovasküler hastalık gibi VEGF ve netrin-1 düzeylerini etkileyen hastalıkları olanlar, serebrovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, kollajen hastalıkları (sistemik lupus eritematozus, polimiyozit/dermatomyozit), kronik inflamatuvar hastalıklar (romatoid artrit, ülseratif kolit ve Crohn hastalığı vb.), hematolojik hastalıklar, maligniteler, böbrek ve karaciğer hastalığı, vaskülit (Wegener granülomatozu) veya diabetes mellitusu olanlar ve sigara içenler veya alkol kullananlar çalışma dışı bırakıldı. Ayrıca psödoekfoliasyon sendromu, glokom, retinal arter veya ven tıkanıklığı, kuru tip YBMD, anterior iskemik optik nöropati gibi oküler hastalıkları veya üveit öyküsü olan hastalar da çalışma dışı bırakıldı. Fundus floresein anjiyografi (FFA), optik koherens tomografi (OKT) ve fundus muayenesini engelleyebilecek şiddette optik ortam bulanıklığı olan YBMD hastaları da çalışma dışı bırakıldı. Sadece kan basıncı <140/90 mmHg olan ve antihipertansif tedavi alan katılımcılar dâhil edildi.

Çalışmaya n-YBMD'li 37 hasta ve kontrol grubu olarak 34 sağlıklı katılımcı dâhil edildi. N-YBMD hastalarında görme keskinliği, biomikroskopik muayene, göz içi basıncı ölçümü, dilate fundus muayenesi, OKT ölçümleri ve FFA'yı içeren detaylı göz muayenesi yapıldı. Kontrol grubu, FFA dışında diğer detaylı oftalmolojik muayeneler için test edildi. Kontrol grubunun fundus muayenesi ve OKT görün-

tülemesi katarakt cerrahisi sonrası optik ortam şeffaf olduğunda tekrar yapıldı. Katarakt yoğunluğu nedeni ile ameliyat öncesi tespit edilemeyen retina ven dal tıkanıklığı ve kuru tip YBMD'si olan kontrol grubu 2 hasta çalışma dışı bırakıldı. Fundus muayenesi, OKT ve FFA ile değerlendirmede koroid neovaskülarizasyonu, subretinal veya intraretinal sıvı, retina kanaması, seröz, fibrovasküler ve hemorajik retina pigment epitel dekolmanı, sert eksüda veya subretinal fibröz skar dokusu olanlar n-YBMD olarak değerlendirildi. İntravitreal anti-VEGF enjeksiyonu planlanan çalışma grubundan enjeksiyon öncesi ve katarakt ameliyatı planlanan kontrol grubundan ameliyat öncesi kan örnekleri alındı.

### KAN ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI

Çalışma gruplarındaki katılımcılardan intravitreal enjeksiyondan hemen önce venöz kan örnekleri (5 mL) alındı; örnekler serum ayırıcı tüplerde saklandı. Kontrol grubu katılımcılarından ise katarakt ameliyatı öncesi kan örnekleri alındı. Pıhtılaşmış kan örnekleri, netrin-1 ve VEGF konsantrasyonlarının ölçümü yapılabildiği kadar -20 °C'de saklanan serumları elde etmek için 10 dk boyunca 3.000 devirde santrifüjlendi.

### SERUM NETRİN-1 VE VEGF DÜZEYİNİN TESPİTİ

Serum netrin-1 düzeyi, üreticinin talimatlarına göre enzime bağlı immünoorbent deneyi [enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)] kitleri (SunRed Bio, Şanghay, Çin) ile belirlendi. Serum VEGF düzeyi, üretici tarafından önerildiği gibi farklı ELISA kitleri (Elabscience, Houston, ABD) ile belirlendi.

### İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel değerlendirme, ticari yazılım (SPSS sürüm 23.0; SPSS Japonya, Inc.) kullanılarak yapıldı. Tanımlayıcı istatistikler, tüm sürekli değişkenler için

medyan, minimum ve maksimumu içeriyordu. Sürekli değişkenlerin normallik dağılımını test etmek için Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Bu değişkenler normal dağılmadığında, 2 grubu karşılaştırmak için Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenler için ki-kare testi kullanıldı. Kontrol grubunu n-YBMD grubundan ayırt etmek için alıcı işletim karakteristiği [receiver operating characteristic (ROC)] eğrisi ve ROC eğrisinin altındaki alan kullanıldı. Youden indeksi bazında netrin-1 için en iyi kesim değeri belirlendi. Tüm analizler, %95 güven aralığı (GA) gücüyle yapıldı. İstatistiksel analizlerde  $p < 0,05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi.

### BULGULAR

Çalışma grubunda n-YBMD'li 37 (18 erkek; 19 kadın) kontrol grubunda ise sağlıklı 34 (16 erkek; 18 kadın) birey bulunmaktaydı. Çalışma grubundaki hastaların yaşlarının medyan (minimum-maksimum) değeri 77 (61-84), kontrol grubunun ise 75 (50-87) idi. İki grup arasında yaş, HT ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla  $p=0,817$ ;  $p=0,893$ ;  $p=0,462$ ) (Tablo 1).

N-YBMD ve kontrol grubunun netrin-1 medyan (minimum-maksimum) değerleri sırasıyla 404,40 (144,70-693,90) pg/mL ve 749,35 (208,70-3000,00) pg/mL idi (Tablo 1). N-YBMD grubunun netrin-1 medyan değeri kontrol grubundakilerden anlamlı derecede düşüktü ( $p < 0,001$ ) (Tablo 2).

N-YBMD ve kontrol grubunun VEGF medyan (minimum-maksimum) değerleri sırasıyla 310,20 (162,30-957,20) pg/mL ve 177,50 (70,20-559,20) pg/mL idi (Tablo 1). N-YBMD grubunun VEGF medyan değeri kontrol grubundakilerden anlamlı derecede yüksek ölçüldü ( $p < 0,001$ ) (Tablo 2).

**TABLO 1:** N-YBMD ve kontrol grubu hastaların demografik parametreleri.

		n-YBMD	Kontrol	p değeri
Yaş Medyan (minimum-maksimum)		77,00 (61,00-84,00)	75,00 (50,00-87,00)	0,817
Cinsiyet	Erkek	18	16	0,893
	Kadın	19	18	
HT	Var	14	10	0,462
	Yok	23	24	

n-YBMD: Neovasküler yaşa bağlı makula dejenerasyonu; HT: Hipertansiyon.

**TABLO 2:** N-YBMD ve kontrol grubu hastaların serum netrin-1, VEGF düzeyi ve netrin 1/VEGF oranının karşılaştırılması.

	n-YBMD Medyan (minimum-maksimum)	Kontrol Medyan (minimum-maksimum)	p değeri
Netrin-1	404,40 (144,70-693,90)	749,35 (208,70-3000,00)	<0,001
VEGF	310,20 (162,30-957,20)	177,50 (70,20-559,20)	<0,001
Netrin 1/VEGF	1,09 (0,23-2,48)	4,21 (0,90-22,17)	<0,001

n-YBMD: Neovasküler yaşa bağlı makula dejenerasyonu; VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü.

N-YBMD ve kontrol grubunun netrin-1/VEGF oranı medyan (minimum-maksimum) değeri sırasıyla 1,09 (0,23-2,48) ve 4,21 (0,90-22,17) olarak ölçüldü (Tablo 2). N-YBMD'li hastalarda netrin-1/VEGF medyan değeri kontrol grubundan anlamlı derecede düşüktü ( $p<0,001$ ) (Tablo 2).

Youden indeksine göre en iyi kesim değerini ve bu kriterlerdeki duyarlılık ve özgüllüğü hesapladık. ROC analizinde, n-YBMD grubunu bir kontrol grubuna kıyasla öngörmede netrin-1 düzeylerinin kesinliği orta düzeydeydi ve ROC eğrisi altında kalan alan %83,78 (%95 GA, 68-93,8) duyarlılık ve %85,29 (%95 GA, 68,9-95) özgüllük ile 0,883 (%95 GA, 0,797-0,970) idi. Netrin-1 seviyeleri için en iyi kesim değeri  $\leq 485,1$  mg/mL idi ve bu istatistiksel anlamlı olarak değerlendirildi ( $p<0,001$ ) (Şekil 1) (Tablo 3).

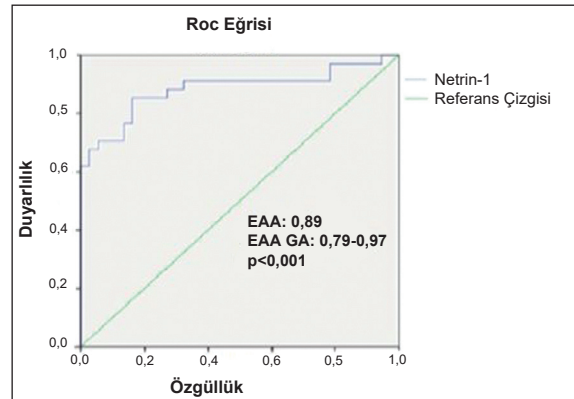
## TARTIŞMA

Bu güncel çalışmada, n-YBMD hastalarının serum VEGF düzeyi kontrol grubuna göre yüksek, netrin-1 düzeyi ise düşük olarak saptandı. Lip ve ark. çalışmalarında, n-YBMD'li hastalarda plazma VEGF, von Willebrand faktör, fibrinojen ve plazma viskozitesi düzeyini kontrol grubuna göre yüksek olarak bulmuşlardır.<sup>14</sup> Artmış plazma fibrinojen düzeyinin artmış plazma viskozitesi, eritrosit agregasyonu, trombosit pıhtılaşması ve endotel tabakası bütünlüğünde bozulma ile ilişkili olduğunu bildirilmiştir.<sup>15</sup> Artmış plazma von Willebrand faktör ve plazma viskozitesi düzeyinin ise endotelial disfonksiyon ile ilişkili olduğu bildirilmiştir.<sup>16,17</sup>

Yapılan birçok çalışmada, netrin-1'in vasküler endotel hücreleri üzerinde antiinflamatuvar ve koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir.<sup>8,18</sup> Toque ve ark. deneysel diyabet modeli oluşturdukları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, netrin-1 aşırı ekspresyonunun, vasküler endotelial fonksiyonun bozulmasını önlediğini, vasküler ve sistemik oksidan oluşumunu azalt-

tığını, DCC-ERK1/2 yolu üzerinden nitrik oksit düzeyini artırdığını ve inflamatuvar ve apoptotik süreci baskıladığını gözlemlemişlerdir.<sup>18</sup> Lin ve ark. ise çalışmalarında netrin 1'in tümör nekrozis faktör alfanın (TNF- $\alpha$ ) indüklediği vasküler adezyon molekülleri olan vasküler hücre adezyon molekülü-1, hücreler arası adezyon molekülü-1 ve E-selektin suprese ederek monositlerin endotel hücrelerine adezyonunu önlediğini bildirmişlerdir. Netrin-1 ayrıca TNF- $\alpha$ 'nın indüklediği monosit kemotaktik protein-1, IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi sitokinlerin üretimini de suprese etmektedir. Netrin-1 toll benzeri reseptör 4 ekspresyonunu inhibe edip, nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) aktivasyonunu önlemektedir. P65'in nükleer akümülasyonunu azaltır ve NF- $\kappa$ B promotör aktivasyonunu güçlü şekilde suprese eder. Araştırmacılar tüm bu veri sonuçlarına göre netrin-1 ve onun reseptörü olan UNC5B'in endotelial hücreler üzerinde antiinflamatuvar etkisi olduğunu ve netrin-1 sinyalinin normal endotelial fonksiyon için zorunlu olduğunu bildirmişlerdir.<sup>8</sup>

N-YBMD'li hastalarda bulduğumuz netrin-1 düzeyi düşüklüğü, Lip ve ark. n-YBMD'li hastalarda bulunduğu endotelial disfonksiyon ile ilişkili sitokinle-



**ŞEKİL 1:** Netrin-1 seviyelerinin alıcı işlem karakteristiği eğrisi. EAA: Eğri altında kalan alan; ROC: Alıcı işlem karakteristiği; GA: Güven aralığı.

**TABLO 3:** Netrin-1 düzeyleri için ROC eğrisi ve EAA.

Kriter	Duyarlık	%95 GA	Özgüllük	%95 GA	LR+	%95 GA	EAA	p değeri
≤485,1	83,78	68-93,8	85,29	68,9-95	5,70	2,5-13	0,883	<0,001

ROC: Alıcı işletim karakteristiği; EAA: Eğri altında kalan alan; GA: Güven aralığı; LR+ : Pozitif olabirlik oranları.

rin artmış düzeyi sonucunu desteklemektedir.<sup>14</sup> Bu çalışma ayrıca Sharma ve ark.nın YBMD'li hastalarda serum VEGF düzeyini yüksek buldukları çalışma sonucunu da desteklemektedir.<sup>19</sup>

Son yıllarda yapılan çalışmalar, n-YBMD'nin sistemik hastalıklar ile ilişkisini ortaya çıkarmıştır. Tomany ve ark. karotis arter plağı olan bireylerde YBMD görülme oranının olmayanlara göre 4 kat daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.<sup>20</sup> Wong ve ark. ise kardiyovasküler hastalık hikâyesi olan olgularda n-YBMD görülme olasılığının 7,5 kat fazla olduğunu bildirmişlerdir.<sup>21</sup> Bruikman ve ark. ise aterosklerozis ile netrin-1 ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında, subklinik ateroskleroz ve plak yükü olan bireylerin plazma netrin-1 düzeyinin düşük olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışma, aterosklerozis ile YBMD'nin ortak patogenezinde sistemik netrin-1 düzeyi düşüklüğü olduğunu göstermektedir.<sup>22</sup>

YBMD ile birlikteliği gösterilmiş diğer hastalık Alzheimer hastalığıdır (AH).<sup>23</sup> AH'de aynı YBMD gibi nörodejeneratif bir hastalıktır. Bu 2 hastalığın da etiolojisinde yaşlanma, obezite, aterosklerozis ve HT gibi ortak risk faktörleri vardır.<sup>23</sup> Lourenço ve ark.  $\beta$ -amiloid prekürsör proteinin (APP) proteazlar tarafından bölünerek, AH ile ilişkili amiloid plakların ana komponenti olan amiloid beta ( $A\beta$ ) peptidi oluşturduğunu bildirmişlerdir. APP bir yetim transmembran reseptörüdür. Alzheimer model transgenik farelerin beyin kesitlerinde netrin-1'in APP'ye bağlanması  $A\beta$  peptidi üretiminde azalmaya neden olmaktadır. Bu farelerin beyinlerine netrin-1 eklenmesinin Alzheimer fenotipinde iyileşmeye neden olduğu gösterilmiştir.<sup>24</sup> Sun ve ark. ise çalışmalarında, deneysel AH olan farelerin hem serebrospinal sıvılarında hem de serumlarında netrin-1 düzeyinin sağlıklı farelere göre düşük olduğunu bildirmişlerdir.<sup>25</sup>

Nörotoksik  $A\beta$  oligomerik peptidlerin birikmesi, AH'nin klinik öncesi aşamalarında proinflamatuvar si-

tokinlerin salınımına yol açar. T lenfositlerinin 2 özellikli alt grubu olan T yardımcı 17 (Th17) hücreleri ve düzenleyici T hücrelerinin (Treg) AH ile ilişkili nöroinflamasyonda rol aldığı gösterilmiştir. Th17 hücreleri proinflamatuvar sitokinler olan IL-17, IL-21, IL-22 ve IL-23 salgırlarlar. Bu sitokinlerin, AH patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir. Treg'ler ise başlıca dönüştürücü büyüme faktörü beta ve IL-10 üretirler. Treg'lerin AH'de koruyucu özellikleri olduğu gösterilmiştir. Th17/Treg dengesinin AH patogenezinde önemli bir rolü vardır. Araştırmacılar, AH model ratlarda, azalmış netrin-1 ile bozulmuş Th17/Treg dengesi arasında korelasyon olduğunu bildirmişlerdir.<sup>25</sup> Bu çalışma sonucuna göre sistemik netrin-1 düzeyi düşüklüğü YBMD ve AH'nin ortak patogenezinde yer almaktadır.

YBMD ile inflamasyon ilişkisine dair çalışmalar da son yıllarda giderek ilgi çekmektedir. Birçok çalışmada YBMD'li hastaların homosistein, CRP ve IL-6 gibi sistemik inflamatuvar sitokin düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olarak bulunmuştur.<sup>4,5</sup> Tadagavadi ve ark. netrin-1'in UNC5B reseptörü aracılığıyla monosit ve nötrofil infiltrasyonunu, serum ve renal sitokin ve kemokin üretimini önlediğini bildirmişlerdir. Çalışmacılar ratlarda deneysel renal iskemi-reperfüzyon hasarı oluşturmuşlar ve netrin-1'in, Th1/Th2/Th17 sitokinlerinin üretimini baskıladığını gözlemlemişlerdir.<sup>26</sup> Mirakaj ve ark. netrin-1'in inflamatuvar peritonit üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Endojen netrin-1 üretimi baskılanmış ratların peritoneal lavajlarında TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-8 seviyelerinin önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. İlginç bir şekilde, farelere ekzojen netrin-1 verildikten sonra sitokin seviyelerinde azalma gözlemlemişlerdir.<sup>27</sup>

Başka bir çalışmada, netrin-1'in akut akciğer hasarının neden olduğu pulmoner inflamasyon üzerindeki etkisi araştırılmış ve endojen netrin-1 üretimi baskılanmış ratlarda bronkoalveolar lavajda TNF- $\alpha$ ,



IL-6, makrofaj inflamatuvar protein-1 $\alpha$  ve IL-8 düzeylerinin yükseldiği gözlenmiştir. Benzer şekilde, sıçanlara ekzojen netrin-1 verildikten sonra inflamatuvar sitokinlerin önemli ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.<sup>28</sup> Netrin-1'in antiinflamatuvar özelliklerini ortaya koyan bu çalışmalara göre n-YBMD'de inflamasyona neden olan etiyolojik faktörlerden biri netrin-1 eksikliğidir. Çalışmamızda bulunan sonuçlar da bu çalışmaların sonuçlarını desteklemektedir.

Bu çalışmadan ortaya çıkan diğer bir önemli sonuç n-YBMD'li hastalarda netrin-1/VEGF dengesinin bozulmuş olmasıdır. Sağlıklı kontrol grubunda netrin-1/VEGF oranı 4,21 iken n-YBMD grubunda 1,09 idi. Park ve ark. netrin-1 ve VEGF arasındaki ilişkiyi incelemek için yaptıkları bir çalışma olan vasküler endotel hücre miğrasyon testinde düşük dozlarda netrin-1 ve VEGF uyguladılar. Netrin-1 ve VEGF miğrasyonu yaklaşık 2 kat artırdı. Netrin-1 ve VEGF'yi birlikte uyguladıklarında ise sonuç 2'sinin toplamından daha fazla idi. Araştırmacılar bu veri sonucuna göre netrin-1 ve VEGF'nin anjiyogenezi indüklemek için sinerjik olarak çalıştıkları sonucuna ulaştılar. Netrinlerin hedef alınarak retinopatiyi, iskemik vasküler hastalıkları veya kanseri tedavi etme potansiyelinin olduğunu bildirdiler. Çalışmacılara göre bu potansiyeli gerçekleştirmek için netrin-1'in anjiyogenik aktivitesinden sorumlu endotel reseptörünün kimliği tespit edilmelidir. Ayrıca her netrin ailesi üyesi ile diğer anjiyogenik peptidler ve nöral kılavuz faktörleri arasındaki etkileşimin de tanımlanması gereklidir. Tu ve ark. ise çalışmalarında netrin-1'in vasküler endotel üzerinde bulunan CD146'ya yüksek afinite ile bağlandığını ve netrin-1 ile indüklenen endotel hücre aktivasyonunun yanı sıra VEGF sinyal transdüksiyonu için netrin-1-CD146 etkileşiminin gerekli olduğunu bildirmişlerdir.<sup>12,13</sup> CD146 (melanom hücre adezyon molekülü olarak da bilinir), immünglobulin (Ig) süper ailesinin hücre adezyon moleküllerinin bir üyesidir.<sup>29</sup> CD146, anjiyogenez, lenfosit aktivasyonu, tümör metastazı, gelişme sırasında morfogenez ve doku rejenerasyonu dâhil olmak üzere birçok biyolojik süreçlere katılır.<sup>30,31</sup> CD146, endotel hücrelerinde VEGF sinyallemesinin transdüksiyonunu kolaylaştırmak için VEGFR2 için bir ortak reseptör görevi görür.<sup>32</sup>

Çalışmamız netrin-1 ve VEGF arasındaki ilişkiyi araştıran bu çalışmaların sonuçları doğrultusunda yeni bir bilgi ortaya koymaktadır. N-YBMD hastalarında netrin-1 düzeyi kontrol grubuna göre yaklaşık 2 kat azalmış iken, VEGF düzeyi yaklaşık 2 kat artmış idi. Fakat VEGF artışının netrin-1 azalmasına bir yanıt mı olduğu, yoksa artmış VEGF'nin netrin-1'i suprese mi ettiği ve bunun hangi sinyal yolları aracılığı ile olduğu başka çalışmaların konusudur.

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları da mevcuttur. Serum netrin-1 ve VEGF düzeyini etkileyebilecek sistemik hastalığı olan hastaları çalışma kapsamı dışına almamıza rağmen kontrol altında HT'si olan hastaları çalışma kapsamına dâhil ettik. Çünkü çalışma yaptığımız yaş grubunda HT hastalığı yüksek oranda görülmektedir. Fakat çalışma ve kontrol grubundaki HT'si olan hasta sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yok idi.

## SONUÇ

N-YBMD hastalarında bulduğumuz azalmış netrin-1 ve artmış VEGF düzeyi bu hastalığın sistemik ve inflamatuvar bir hastalık olduğunu göstermektedir. Oftalmologlar, YBMD hastalarına sistemik yaklaşmalı ve bu hastaların tedavi sürecinde YBMD ile ilişkili diğer Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıklar açısından da ilgili bölümlerle konsülte ederek sistemik araştırma yapmalıdır. YBMD'nin sistemik durum ile ilişkisinin araştırılacağı ilerideki çalışmalarda da tek bir anjiyogenik mediyatör değil birbiri ile ilişkili mediyatörler birlikte değerlendirilmelidir.

### Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

### Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

**Yazar Katkıları**

**Fikir/Kavram:** Murat Okutucu; **Tasarım:** Murat Okutucu; **Denetleme/Danışmanlık:** Murat Okutucu, Hüseyin Fındık, Mehmet Gökhan Aslan; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Murat Okutucu, Mehmet Gökhan Aslan, Medeni Arpa; **Analiz ve/veya Yorum:**

**Murat Okutucu, Hüseyin Fındık, Medeni Arpa; Kaynak Tara-**  
**ması:** Murat Okutucu, Hüseyin Fındık, Feyzahan Uzun; **Makale-**  
**nin Yazımı:** Murat Okutucu, Feyzahan Uzun, Mehmet Gökhan

**Aslan; Eleştirel İnceleme:** Murat Okutucu, Hüseyin Fındık, Feyzahan Uzun; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Murat Okutucu; **Malzemeler:** Murat Okutucu, Medeni Arpa.

**KAYNAKLAR**

- Klein R, Wang Q, Klein BE, Moss SE, Meurer SM. The relationship of age-related maculopathy, cataract, and glaucoma to visual acuity. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1995;36(1):182-91. [PubMed]
- Mitchell P, Liew G, Gopinath B, Wong TY. Age-related macular degeneration. *Lancet.* 2018;392(10153):1147-59. [Crossref] [PubMed]
- Smith W, Assink J, Klein R, Mitchell P, Klaver CC, Klein BE, et al. Risk factors for age-related macular degeneration: Pooled findings from three continents. *Ophthalmology.* 2001;108(4):697-704. [Crossref] [PubMed]
- Axer-Siegel R, Bourla D, Ehrlich R, Dotan G, Benjamini Y, Gavendo S, et al. Association of neovascular age-related macular degeneration and hyperhomocysteinemia. *Am J Ophthalmol.* 2004;137(1):84-9. [Crossref] [PubMed]
- Seddon JM, George S, Rosner B, Rifai N. Progression of age-related macular degeneration: prospective assessment of C-reactive protein, interleukin 6, and other cardiovascular biomarkers. *Arch Ophthalmol.* 2005;123(6):774-82. [Crossref] [PubMed]
- Cheung CM, Wong TY. Is age-related macular degeneration a manifestation of systemic disease? New prospects for early intervention and treatment. *J Intern Med.* 2014;276(2):140-53. [Crossref] [PubMed]
- Baltu F, Sarici AM, Yildirim O, Mergen B, Bolat E. Investigation of vascular endothelial dysfunction in the patients with age-related macular degeneration. *Cutan Ocul Toxicol.* 2019;38(1):29-35. [Crossref] [PubMed]
- Lin Z, Jin J, Bai W, Li J, Shan X. Netrin-1 prevents the attachment of monocytes to endothelial cells via an anti-inflammatory effect. *Mol Immunol.* 2018;103:166-172. [Crossref] [PubMed]
- Nishijima K, Ng YS, Zhong L, Bradley J, Schubert W, Jo N, et al. Vascular endothelial growth factor-A is a survival factor for retinal neurons and a critical neuroprotectant during the adaptive response to ischemic injury. *Am J Pathol.* 2007;171(1):53-67. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Saint-Geniez M, Maharaj AS, Walshe TE, Tucker BA, Sekiyama E, Kurihara T, et al. Endogenous VEGF is required for visual function: evidence for a survival role on müller cells and photoreceptors. *PLoS One.* 2008;3(11):e3554. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Tao Y, Libondi T, Jonas JB. Long-term follow-up after multiple intravitreal bevacizumab injections for exudative age-related macular degeneration. *J Ocul Pharmacol Ther.* 2010;26(1):79-83. [Crossref] [PubMed]
- Tu T, Zhang C, Yan H, Luo Y, Kong R, Wen P, et al. CD146 acts as a novel receptor for netrin-1 in promoting angiogenesis and vascular development. *Cell Res.* 2015;25(3):275-87. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Park KW, Crouse D, Lee M, Karnik SK, Sorensen LK, Murphy KJ, et al. The axonal attractant Netrin-1 is an angiogenic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101(46):16210-5. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Lip PL, Blann AD, Hope-Ross M, Gibson JM, Lip GY. Age-related macular degeneration is associated with increased vascular endothelial growth factor, hemorheology and endothelial dysfunction. *Ophthalmology.* 2001;108(4):705-10. [Crossref] [PubMed]
- Lominadze D, Dean WL, Tyagi SC, Roberts AM. Mechanisms of fibrinogen-induced microvascular dysfunction during cardiovascular disease. *Acta Physiol (Oxf).* 2010;198(1):1-13. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Horvath B, Hegedus D, Szapary L, Marton Z, Alexy T, Koltai K, et al. Measurement of von Willebrand factor as the marker of endothelial dysfunction in vascular diseases. *Exp Clin Cardiol.* 2004;9(1):31-4. [PubMed] [PMC]
- Alkan FA, Cakmak G, Karis D, Sağlam ZA, Saler T, Temiz LU, et al. The evaluation of plasma viscosity and endothelial dysfunction in smoking individuals. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2014;58(3):403-13. [Crossref] [PubMed]
- Toque HA, Fernandez-Flores A, Mohamed R, Caldwell RB, Ramesh G, Caldwell RW. Netrin-1 is a novel regulator of vascular endothelial function in diabetes. *PLoS One.* 2017;12(10):e0186734. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Sharma K, Sharma NK, Singh R, Anand A. Exploring the role of VEGF in Indian Age related macular degeneration. *Ann Neurosci.* 2015;22(4):232-7. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Tomany SC, Wang JJ, Van Leeuwen R, Klein R, Mitchell P, Vingerling JR, et al. Risk factors for incident age-related macular degeneration: pooled findings from 3 continents. *Ophthalmology.* 2004;111(7):1280-7. [Crossref] [PubMed]
- Wong TY, Tikellis G, Sun C, Klein R, Couper DJ, Sharrett AR. Age-related macular degeneration and risk of coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Ophthalmology.* 2007;114(1):86-91. [Crossref] [PubMed]
- Bruikman CS, Vreken D, Hoogeveen RM, Bom MJ, Danad I, Pinto-Sietsma SJ, et al. Netrin-1 and the Grade of Atherosclerosis Are Inversely Correlated in Humans. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020;40(2):462-72. [Crossref] [PubMed]
- Nussenblatt RB, Liu B, Wei L, Sen HN. The immunological basis of degenerative diseases of the eye. *Int Rev Immunol.* 2013;32(1):97-112. [Crossref] [PubMed]
- Lourenço FC, Galvan V, Fombonne J, Corset V, Llambi F, Müller U, et al. Netrin-1 interacts with amyloid precursor protein and regulates amyloid-beta production. *Cell Death Differ.* 2009;16(5):655-63. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Sun L, Ju T, Wang T, Zhang L, Ding F, Zhang Y, et al. Decreased Netrin-1 and Correlated Th17/Tregs Balance Disorder in Aβ1-42 Induced Alzheimer's Disease Model Rats. *Front Aging Neurosci.* 2019;11:124. [Crossref] [PubMed] [PMC]
- Tadagavadi RK, Wang W, Ramesh G. Netrin-1 regulates Th1/Th2/Th17 cytokine production and inflammation through UNC5B receptor and protects kidney against ischemia-reperfusion injury. *J Immunol.* 2010;185(6):3750-8. [Crossref] [PubMed]

27. Mirakaj V, Gatidou D, Pötzsch C, König K, Rosenberger P. Netrin-1 signaling dampens inflammatory peritonitis. *J Immunol.* 2011;186(1):549-55. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
28. Mirakaj V, Thix CA, Laucher S, Mielke C, Morote-Garcia JC, Schmit MA, et al. Netrin-1 dampens pulmonary inflammation during acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;181(8):815-24. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
29. Lehmann JM, Riethmüller G, Johnson JP. MUC18, a marker of tumor progression in human melanoma, shows sequence similarity to the neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989;86(24):9891-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
30. Wang Z, Yan X. CD146, a multi-functional molecule beyond adhesion. *Cancer Lett.* 2013;330(2):150-62. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
31. Ye Z, Zhang C, Tu T, Sun M, Liu D, Lu D, et al. Wnt5a uses CD146 as a receptor to regulate cell motility and convergent extension. *Nat Commun.* 2013;4:2803. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
32. Bu P, Gao L, Zhuang J, Feng J, Yang D, Yan X. Anti-CD146 monoclonal antibody AA98 inhibits angiogenesis via suppression of nuclear factor-kappaB activation. *Mol Cancer Ther.* 2006;5(11):2872-8. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]