PREMATÜRE RETİNOPATİSİNİN BEYİN TÜREVLİ NÖROTROFİK FAKTÖR, VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ, HİPOKSİYLE İNDÜKLENEN FAKTÖR-2 ALFA VE NİTRİK OKSİT SENTAZ GEN POLİMORFİZMLERİ İLE İLİŞKİSİ

GİRİŞ:

Prematüre retinopatisi (ROP) düşük doğum ağırlığı, prematürite, kontrolsüz oksijen tedavisi ve eşlik eden sistemik hastalıklar gibi risk faktörlerinin dışında genetik polimorfizmlerin de hastalığın gelişimi ve şiddeti üzerinde rol oynadığı bir hastalıktır.

GEREÇ VE YÖNTEM:

Bu çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesinde Ocak 2018-Ocak 2020 tarihleri arasında takipleri esnasında tedavisiz vaskülarizasyonu tamamlanan olgular (grup 1) ile tedavi uygulanan ciddi ROP olguları (grup 2) karşılaştırıldı. Genetik analiz için kan alınıp VEGF-A geninde 3 bölge (rs2010963, rs3025039, rs833061), HIF-2α geninde 3 bölge (rs1867785, rs13419896, rs1868085), BDNF geninde 3 bölge (rs7934165, rs2049046, rs7929344), NOS3 geninde 2 bölge (rs2070744, rs1799983) olmak üzere toplam 11 tek nükleotit polimorfizm (SNP) bölgesinin analiz sonuçları iki grup arasında karşılaştırıldı. İstatiksel anlamlılık p<0,05 kabul edildi.

BULGULAR:

Tedavisiz vaskülarizasyonu tamamlanan 75 hafif-orta düzeyde ROP olgusu (grup 1) ile tedavi uygulanan 73 ciddi ROP olgusu (grup 2) olmak üzere toplam 148 hasta çalışmamıza dâhil edildi. Yaptığımız çalışmada 11 polimorfizm bölgesinden 8'inde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde ettik. Bu bölgelerden dördünde (rs2010963, rs3025039, rs13419896, rs2070744), mutant alellerin fazlalığının, ROP şiddetini artırarak olguların tedavi endikasyonu alması açısından risk artışına neden olduğunu gösterdik (p<0,001, p<0,001, p=0,022, p=0,004). Diğer dört bölgede (rs833061, rs7929344, rs1867785, rs1868085) ise mutant alellerin varlığında, ROP kliniğinin daha hafif seyrederek, tedavi gerekmeden, kendiliğinden sonlanma ihtimalinin arttığını gösterdik (p<0,001, p=0,019, p=0,017, p=0,017).

TARTIŞMA-SONUÇ:

ROP patogenezininde bilinen çevresel ve demografik faktörlerin yanında, genetik analiz sonuçlarımıza göre genetik yatkınlığın, ROP kliniği ve seyri üzerinde etkisi olabileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızdaki rs2010963, rs3025039, rs13419896, rs2070744 polimorfizmlerinin, hastalık şiddeti ile ilişkili olabileceğini gösterdik. ROP patogenezini doğrulamak ve güvenilir bir kanıt elde etmek için, daha fazla olgu ve daha fazla gen lokusu ile daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Prematüre retinopatisi, genetik analiz, tek nükleotid polimorfizm (SNP)

GİRİŞ:

Prematüre retinopatisi (ROP); doğum haftası 32 haftanın altında, doğum tartısı 1500 gramdan düşük olan bebeklerin retinalarında tamamlanmamış vasküler yapı zemininde gelişen bir hastalıktır. ROP gelişiminde kesin bilinen risk faktörleri; prematürite, düşük doğum ağırlığı, kontrolsüz oksijen tedavisi ve eşlik eden sistemik hastalıklardır. Ancak tüm bu risk faktörlerinin varlığında bile, ROP olgularının %80'inde evre 2, bazen de evre 3 ROP hastalığının takiplerinde gerileme olduğu gözlenmiştir ancak %20'sinde tedavi ve takip gerektiği saptanmıştır (1, 2). Türk Neonatoloji Derneği'nin çok merkezli çalışmasında gestasyonel yaşı 32 hafta altındaki 11803 vaka taranmış ve %51,2'sinde (n=6038) ROP'un kendiliğinden gerilediği saptanmıştır (3). Prematüre bilinen en önemli risk faktörü olmasına rağmen yapılan bir çalışmada 32 haftadan daha büyük bebeklerde de ROP geliştiği bildirilmiştir (4). Bunlara dayanarak bilinen risk faktörlerinin dışında genetik yatkınlığın da ROP hastalığının gelişimine ve şiddetine etki edebileceği öne sürülmüştür (5, 6). ROP'a benzer retina bulgularının görüldüğü "X'e bağlı ailesel eksudatif vitreoretinopati (FEVR)", "Norrie hastalığı" ve "Coats hastalığı" gibi hastalıkların kendine özgü genetik alt yapıları söz konusu olsa da, aynı gen lokuslarının ROP hastalığına yatkınlığı arttırabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (5, 7, 8). ROP'ta genetik yatkınlığı destekleyen kısıtlı sayıda deneysel çalışma ve polimorfizm çalışması vardır.

Genetik çalışmalarda 4 farklı yolak üzerinde durulmuştur. Bunlar nöron gelişimi, anjiyogenez, enflamatuar ve oksidatif yolaklardır (9). BDNF retina ve beyin dokusunda sinir gelişimi ile ilişkilidir. Nöron gelişim yolağı üzerine yapılan çalışmalarda BDNF geninde bazı polimorfizmler ile ciddi ROP gelişimi arasında anlamlı ilişkiler gösterilmiştir (9). Ayrıca ciddi ROP olgularının serumunda BDNF azalmış olarak bulunmuştur. Anjiyogenez, enflamatuar ve oksidatif yolaklar incelendiğinde farklı genlerdeki polimorfizmler ile ROP arası ilişkiler araştırılmıştır. IHH, AGTR1, TBX5, CETP, GP1BA, NOS, EPAS-1 ve VEGF genlerindeki polimorfizmlerin ROP hastalığı gelişiminde etkili olabileceği öne sürülmüştür (6). VEGF, ROP gelişiminde vasküler permeabilite artışı ve yeni damarların oluşmasında doğrudan rol oynar. Göz içine uygulanan anti-VEGF'lerin ROP tedavisinde önemli bir yeri vardır. Tedavi tercihinde ve prognozun belirlenmesinde VEGF genindeki polimorfizmlerin yeri olabilir (10, 11). EPAS-1, hipoksik ortamlarda VEGF'i aktive ederek etki gösterir. Hem EPAS-1 hem de VEGF genleri hipoksi ile aktive olarak anjiyogenezde önemli rol oynarlar. EPAS-1 "knockout" farelerde yapılan çalışmada ROP gelişmediği gösterilmiştir (12). NOS3 vasküler endotelde yer alarak anjiyogenezde rol oynar. Bebeklerde NOS3 genindeki farklılıklar oksijen tedavisine retina cevabını etkileyerek ROP gelişimine etki edebilir. Bu etki koruyucu veya tetikleyici olabilir (13).

Mevcut literatüre dayanarak, çalışmamızda BDNF (beyin türevli nörotrofik faktör), VEGF (vasküler endotelyal büyüme faktörü), HIF-2α (hipoksiyle indüklenen faktör-2 alfa) ve NOS3 (nitrik oksit sentaz) genlerinde belirlediğimiz bölgeleri analiz etmeyi hedefledik. Farklı yolakların aynı olgularda değerlendirilmesi ve ülkemizde ilk kez bu kapsamda bir çalışma yapılmasının önemli olduğunu düşünüyoruz.

Gereç-Yöntem:

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 28/02/2020 tarih ve 27538 sayılı kurul onayı alındı. Helsinki Bildirgesi şartlarına uygun olarak çalışmamız yürütüldü.

Ocak 2018-Ocak 2020 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Neonatoloji Bilim Dalı tarafından takip edilen 75 hafif-orta düzeyde ROP gelişen ancak tedavisiz vaskülarizasyonu tamamlanan olgu kontrol grubu (grup 1), takipleri esnasında ETROP kriterlerine göre lazer fotokoagulasyon, intravitreal anti-VEGF veya cerrahi tedavi uygulanan 73 ROP olgusu tedavi grubu (grup 2) olarak dâhil edildi.

Çalışmaya, 32 haftadan önce ve doğum ağırlığı 1500 gramın altında olan, retinal vaskülarizasyonu tamamlanana kadar ve/veya tedavi sonrası takipleri düzenli olarak tamamlanan tüm prematüre bebekler dâhil edildi. Metabolik ve/veya genetik hastalığı olan bebekler; son 1 ayda kan transfüzyonu alan bebekler çalışma dışında tutuldu.

Çalışmaya dâhil edilecek bebeklerin ailelerinden onam alınarak genetik analiz için 1 cc EDTA'lı tüplere kan alındı ve çalışma gününe kadar -20°C'de saklandı. Kan örneklerinden DNA elde edilmesinde robotik DNA ekstraksiyon sistemi kullanıldı. VEGF-A geninde belirlediğimiz 3 bölge, HIF-2α (diğer adıyla EPAS-1) geninde 3 bölge, BDNF geninde 3 bölge, NOS3 geninde 2 bölge olmak üzere toplam 11 SNP bölgesi belirledik. Bahsedilen genlerdeki polimorfizmler, "LightSNiP Assays" yöntemi ile Real Time 480 I cihazında gerçekleştirildi. LightSNipler; ilgili gen bölgesindeki single nükleotid polimorfizmini (rs ile belirtilerek tanımlanan) tanımlayan primer çifti ve simple probunu içerir. Belirtilen gen polimorfizmleri her örnek için Real Time-PCR'da melting curve analiz yöntemi ile genotiplendirme yapıldı. Sonuçları iki grup arasında analiz edildi.

Tüm olgulardan sistemik durumları, doğum tartıları, doğum haftaları ve yoğun bakımda yattıkları sürece aldıkları tedaviler not edildi. İki grup doğum kilosu, doğum haftası, sistemik durumları, kaç gün yoğun bakım ünitesinde tedavi gördükleri, yoğun bakımda kaldıkları sürelerde gördükleri tedaviler açısından karşılaştırıldı.

İstatistiksel analizler SPSS for Windows 23,0 programı (SPSS Inc. Chicago, ABD) ile yapıldı. İstatiksel anlamlılık $p<0,05$ kabul edildi.

Bulgular:

Ocak 2018- Ocak 2020 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Neonatoloji Bilim Dalında, prematüre retinopatisi tanısı ile takip edilen 148 olgu çalışmaya dâhil edildi. Hafif-orta düzeyde prematüre retinopatisi gelişen ancak tedavisiz vaskülarizasyonu tamamlanan 75 olgu kontrol grubu (grup 1) olarak dâhil edildi. Ciddi düzeyde ROP olan ve tedavi edilen 73 olgu tedavi grubunu (grup 2) oluşturdu.

Bebeklerin doğum ağırlığı, doğum haftası, ilk muayene haftası, küvözde kalma süresi, MV süresi, postnatal steroid kullanımı açısından iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark

saptandı. Surfaktan kullanımı, cinsiyet, eşlik eden hastalık açısından iki grup karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı. Ayrıntılı analiz tablo 1'de verilmiştir.

VEGF-A'nın rs2010963 SNP'si C>G polimorfizmi açısından GG genotipi tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,001).

VEGF-A'nın rs3025039 SNP'si C>T polimorfizm açısından CG genotipi tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,001).

VEGF-A'nın rs833061 SNP'si C>T polimorfizm açısından CT ve TT genotipi tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,001 ve p<0,001).

BDNF'nin rs7934165 ve rs2049046 SNPs'leri polimorfizm açısından tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. rs7929344 SNP'i T alel açısından tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,019).

EPAS-1'in rs1867785, rs13419896 ve rs1868085 SNPs'leri sırasıyla G alel, T alel, A alel polimorfizmi açısından tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulundu (p=0,017, p=0,022, p=0,017).

NOS'un rs2070744 SNP'inde CC genotipi tedavi grubunda saptanmadı. T aleli tedavi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulundu (P=0,004).

NOS'un rs1799983 SNP'i polimorfizm açısından tedavi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatiksel olarak anlamlı bulunmadı. Ayrıntılı analiz tablo 2'de verildi.

Tartışma

Prematüre retinopatisi çocukluk çağı görme kaybının önlenebilir nedenlerinden birisidir. Düşük doğum ağırlığı, prematürite gibi kesinleşmiş risk faktörlerinin dışında genetik yatkınlığın da ROP hastalığının gelişimine ve şiddetine etki edebileceği öne sürülmüştür (6).

VEGF-A rs2010963 polimorfizm ile ilgili Kalmeh ve ark.'nın 2013 yılında 111 olguyla yaptığı çalışmada olgular 3 gruba ayrılmış; ROP'u olmayan bebekler, ROP'u olan ancak spontan regrese olan bebekler ve ROP'u olan lazer tedavisi gerektiren bebekler. Bütün gruplar birbirleri ile karşılaştırıldığında rs2010963 polimorfizmi için istatiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (14). Kaya ve ark.'nın 34 haftadan önce doğan ve 1500 gram altındaki 123 prematüre bebeği lazer tedavisi almış olanlar, kendiliğinden gerileyen ROP hastaları ve kontrol olarak üç gruba ayırmışlardır. Çalışmada VEGF (−634) ve VEGF (−460) polimorfizmleri üç grup karşılaştırıldığı anlamlı fark saptamamışlardır (15). Vannay ve ark.'nın 2005 yılında 1500 gr altında doğan, 115 tedavisiz takip edilen ROP olgusu ve 86 tedavi gerektiren ciddi ROP olgusu ile yaptığı çalışmada rs2010963 polimorfizmi tedavi grubunda istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,005)(16). Çalışmamızda rs2010963 polimorfizmi açısından kontrol ve tedavi grubu karşılaştırıldığında, mutant alelin tedavi grubunda 20 kat artmış olduğu ve bunun da ciddi ROP ile ilişkili olduğunu saptadık (p<0,001).

Kalmeh ve ark.'nın 2013 yılındaki aynı çalışmada ROP'u olmayan bebekler, ROP'u olan ancak spontan regrese olan bebekler ve ROP'u olan lazer tedavisi gerektiren bebeklerdeki VEGF-A rs3025039 polimorfizm için gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (14). Yagi ve ark.'nın 2011de Japon bebeklerde yaptığı çalışmada, 30 haftadan önce doğan, 30 theroshold ROP ve 37 non-threshold ROP olgusunda rs3025039 polimorfizmi iki grup arasında karşılaştırılmış. VEGF-A rs3025039 poli-morfizminin T alellerinin heterozigot veya homozigot taşıyıcı olduğunda yaklaşık 5 kat theroshold ROP gelişme riskini arttığını saptamışlardır (p=0,023)(17). VEGF-A rs3025039 polimorfizmi, mRNA stabilitesini ve translasyonunu kontrol eden önemli bir düzenleyici bölgesi olan VEGF geninin 3 'UTR'sinde bulunmaktadır (18-20). VEGF-A rs3025039 polimorfizminin plazma VEGF seviyesini etkilediği ve rs3025039 T alelinin yetişkin taşıyıcılarda, plazma VEGF düzeylerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (21-23). Bununla birlikte, immatür gözlerde VEGF seviyesi ilgili yeterli bilgi bulunmamaktadır. Çalışmamızda ise rs3025039 polimorfizmi tedavi grubunda ROP şiddetini artırması açısından istatiksel olarak anlamlı fark saptandı (p<0,001). VEGF-A rs3025039 polimorfizmi açısından taşıyıcı (heterozigot) olmak, ciddi ROP riskini yaklaşık 9 kat artırmaktadır.

Hartnett ve ark.'nın 964 yenidoğan ile 2013 yılında yaptığı çalışmada 1324 SNPs taranmıştır. Bebekler ROP'u olmayan bebekler, ciddi ROP'u olmayan bebekler ve ciddi ROP'u olan bebekler olarak 3 gruba ayrılmıştır. ROP olmayan bebekler-ROP olan bebeklerle, ciddi olmayan ROP'lar-ciddi ROPlarla, ROP olmayan bebekler-ciddi olmayan ROP ve ciddi ROP olan grupla karşılaştırılmıştır. Çalışmada birçok polimorfizm gruplar arasında karşılaştırılmış ve bunlardan birisi olan EPAS-1 rs13419896 polimorfizminin ciddi ROP riskini yaklaşık 2,4 kat artırdığını saptamışlardır (p=0.0012)(24). Yaptığımız çalışmada rs13419896 polimorfizmi A aleline sahip olgularda ciddi ROP'un anlamlı şekilde arttığını gösterdik (p=0,022).

Rusai ve ark. 2008 yılında 2000 gram altında doğan, 105 tedavi edilen ciddi ROP olgusu ile evre 1 veya 2 ROP'ların oluşturduğu tedavisiz takip edilen 127 ROP olgusu NOS rs2070744 polimorfizmi açısından karşılaştırılmıştır. Lojistik regresyon analizinde, erkek cinsiyetin (p = 0.046) ve eNOS aa genotipinin (ab genotipine karşı p = 0.047 ve bb genotipine karşı p = 0.022) tedavi gerektiren ciddi ROP ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur(89). Poggi ve ark.'nın 2015 yılında yaptığı ≤ 28 hafta olan 342 yenidoğanda VEGF-A, eNOS, AGT, AGTR1, ACE ve HMOX-1'in alel ve genotip dağılımını değerlendirmek için retrospektif bir çalışma yapılmış. Çalışmada rs2070744 polimorfizminin RDS, BPD, IKK ve ROP gelişimi üzerinde önemli etkisi olduğu gösterilmiştir (p=0,001)(5). NOS rs2070744 polimorfizmi Gohari ve ark. tarafından 2019 yılına kadar olan PubMed, Medline, ve Embase veritabanında yer alan, endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) ve anjiotensin-1 dönüştürücü enzim (ACE) gen polimorfizmlerinin ROP ile ilişkisini içeren 18 vaka-kontrol çalışmasını meta-analiz yapmışlar. 14 çalışmada (810 olgu ve 1754 kontrol) NOS rs2070744 ve rs1799983 polimorfizmlerinin ROP riskini artırmadığı bulunmuştur (25). Yaptığımız çalışmamızda rs2070744 polimorfizminin ciddi ROP ile ilişkili olduğu ve wild genotipin (CC) hiç görülmediğini saptadık (p=0,004). CC genotipinin tedavi grubunda hiç saptanmamış olması bu bölgedeki polimorfizmin ROP şiddeti ile doğrudan ilişkili olduğunu düşündürmüştür.

VEGF-A rs833061 polimorfizmi Yagi ve ark.'nın yaptığı aynı çalışmada 30 theroshold ROP ve 37 non-threshold ROP olgusu karşılaştırıldığında iki grup arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p=0,172)(17). Kwinta ve ark. 2008 yılında yaptığı çalışmada 181 yenidoğanı, ROP'u olmayan preterm bebekler, ROP'u olan ancak tedavi gerektirmeyen bebekler ve ROP'u olan lazer veya kriyoterapi gerektiren preterm bebekler olarak 3 gruba ayırmışlardır. Çalışmada lazer veya kriyoterapi gereken ROP grubunda rs833061 polimorfizminin istatiksel olarak anlamlı olduğunu göstermişlerdir (p=0,024)(10). Çalışmamızda rs833061 polimorfizmi ROP saptanan ama tedavi gerektirmeyen ROP olgularında istatiksel olarak anlamlıydı (p<0,001). VEGF-A rs833061 polimorfizminin T aleli olan olgularda ciddi ROP açısından koruyucu olduğunu düşündürmektedir.

Hartnett ve ark'nın yaptığı aynı çalışmada ROP olmayan bebekler-ROP olan bebeklerle karşılaştırılmış ve iki grupta da BDNF rs7929344 polimorfizmi taranmıştır. Bu polimorfizm ROP olan bebeklerde istatiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0,006)(24). Yaptığımız çalışmamızda kontrol ve tedavi grupları karşılaştırıldığında, BDNF geni rs7929344 polimorfizminde T aleli olan olgularda, ciddi ROP gelişmediği saptadık ve T alelinin koruyucu role sahip olduğunu düşünüyoruz (p=0,019).

Mohamed ve ark.'nın 2009 yılında 347 olgu(102 ROP olgusu, 245 ROP olmayan olgu) ile yaptığı genetik polimorfizm çalışmasında 153 gende 455 SNPs taranmıştır. Evre 0-I ROP (hastalık yok - hafif hastalık) ile evre II-III ROP'u (daha ciddi hastalık, tedavi gerektiren hastalık) karşılaştıran analizde, EPAS-1 genindeki genetik polimorfizmlerle anlamlı bir ilişki bulmuşlardır. rs1868085 A/G polimorfizminde, A alellerinin sayısı arttıkça ROP için artmış risk olduğu gösterilmiştir (p=0.001). EPAS-1 genindeki rs1867785 polimorfizmi analiz edildiğinde ROP olgularında istatiksel olarak anlamlı saptanmıştır (p=0,007)(6). Çalışmamızda EPAS-1 genindeki rs1867785 ve rs1868085 polimorfizmleri, kontrol ve tedavi grupları arasında karşılaştırıldı. rs1867785 polimorfizminde G aleli ve rs1868085 polimorfizminde A aleli olması, ciddi ROP gelişimi açısından koruyucu rolü olduğunu saptadık (p=0,017 ve p=0,017).

Mohamed ve ark.'nın 2009'da yaptığı aynı çalışmada IHH (p=0.003), AGTR1 (p= 0.005), TBX5 (p=0.003), CETP (p=0.004) ve GP1BA'nın (p=0.005) ROP gelişiminde genetik risk faktörler olarak katkıda bulunduğunu göstermişlerdir (6). Hartnett ve ark.'nın 2014 yılında çok düşük doğum ağırlıklı 817 yenidoğanla yaptığı kohort çalışmasında ROP olmayan bebekler-ROP olan bebeklerle, ciddi olmayan ROP'lar-ciddi ROP'larla, ROP olmayan bebekler-ciddi olmayan ROP ve ciddi ROP olan grupla karşılaştırılmıştır. BDNF genindeki iki intronik SNP (rs7934165 ve rs2049046, P <0,001), gözlemsel kohortta ciddi ROP ile ilişkilendirilmiştir. Fakat replikasyon kohortunda rs7934165 ve rs2049046 polimorfizmlerinin ciddi ROP ile arasında bağlantı saptanamamıştır. Gözlemsel ve replikasyon kohort birlikte meta-analiz edildiğinde ise rs7934165 polimorfizminin ciddi ROP ile ilişkili olduğu saptanmıştır (p<0,001)(9).

Çalışmamızda kontrol ve tedavi grupları arasında, rs7934165 ve rs2049046 polimor-fizmleriyle ciddi ROP gelişimi arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulamadık (p=0,205 ve 0,792).

Yaptığımız çalışmada 4 farklı gen bölgesindeki 11 polimorfizmin ROP olgularında analizini gerçekleştirdik. 11 polimorfizm bölgesinden 8'inde istatistiksel olarak anlamlı

sonuçlar elde ettik. Bu bölgelerden dördünde (rs2010963, rs3025039, rs13419896, rs2070744), mutant alellerin fazlalığının, ROP şiddetini artırarak olguların tedavi endikasyonu alması açısından risk artışına neden olduğunu gösterdik. Diğer dört bölgede ise (rs833061, rs7929344, rs1867785, rs1868085) ise mutant alellerin varlığında, ROP kliniğinin daha hafif seyrederek, tedavi gerekmeden, kendiliğinden sonlanma ihtimalinin arttığını gösterdik.

Kontrol ve tedavi grubunda; genetik polimorfizmlere ek olarak, çevresel ve demografik faktörlerin ciddi ROP gelişimine katkısı olabilir. Yaptığımız çalışmadaki sonuçlarımızda rs2010963, rs3025039, rs13419896, rs2070744 polimorfizmlerinin, hastalık şiddeti ile ilişkili olabileceğini gösterdik; ancak bu bulguları doğrulamak için daha çok sayıda olguyu içeren daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çevresel ve demografik faktörlerin yanında genetik analiz sonuçlarımıza göre genetik yatkınlığın, ROP kliniği ve seyri üzerinde etkisi olabileceğini düşünüyoruz. Çalışmamızda grup 1 ve grup 2 arasında demografik ve çevresel faktörler açısından anlamlı farklar vardı. Bu farkların ROP klinik şiddeti üzerine etkisinin literatürdeki diğer çalışmalarla beraber değerlendirdiğimizde kaçınılmaz olduğunu düşünüyoruz (26). Genetik faktörlerin anlamlı olduğunu bulmamıza rağmen çevresel ve demografik faktörlerin ekarte edilememiş olması çalışmamızın zayıf yönlerinden birisidir.

Prematüre retinopatisi olan bebeklerde doğumdan itibaren rutin göz taramasının yanında erken dönemde genetik tarama yapıp polimorfizmleri saptamak, tedaviye erken dönemde başlamak, görme kaybını kayda değer oranda azaltacaktır. Görme duyusunun bilişsel gelişimde çok önemli bir yeri vardır. Prematüre bebeklerin de doğumdan itibaren bilişsel gelişimini sağlıklı bir şekilde tamamlayıp toplumumuza katkı sağlayacak bireyler olmasını istiyoruz.

ROP patogenezini doğrulamak ve güvenilir bir kanıt elde etmek için, daha fazla olgu ve daha fazla gen lokusu ile daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Chan-Ling T, Gole GA, Quinn GE, Adamson SJ, Darlow BAJPiR, Research E. Pathophysiology, screening and treatment of ROP: A multi-disciplinary perspective. 2018;62:77-119.

2. Smith LE, Hard A-L, Hellström AJCip. The biology of retinopathy of prematurity: how knowledge of pathogenesis guides treatment. 2013;40(2):201-14.

3. Bas AY, Koc E, Dilmen U, Ophthalmology RNSGJBJo. Incidence and severity of retinopathy of prematurity in Turkey. 2015;99(10):1311-4.

4. Başmak H, Niyaz L, Sahin A, Erol N, Gürsoy HH. Retinopathy of prematurity: screening guidelines need to be reevaluated for developing countries. European journal of ophthalmology. 2010;20(4):752-5.

5. Poggi C, Giusti B, Gozzini E, Sereni A, Romagnuolo I, Kura A, et al. Genetic contributions to the development of complications in preterm newborns. 2015;10(7):e0131741.

6. Mohamed S, Schaa K, Cooper ME, Ahrens E, Alvarado A, Colaizy T, et al. Genetic contributions to the development of retinopathy of prematurity. 2009;65(2):193-7.

7. MacDonald M, Goldberg Y, Macfarlane J, Samuels M, Trese M, Shastry BJCg. Genetic variants of frizzled-4 gene in familial exudative vitreoretinopathy and advanced retinopathy of prematurity. 2005;67(4):363-6.

8. Hutcheson KA, Paluru PC, Bernstein SL, Koh J, Rappaport EF, Leach RA, et al. Norrie disease gene sequence variants in an ethnically diverse population with retinopathy of prematurity. 2005;11:501-8.

9. Hartnett ME, Morrison MA, Smith S, Yanovitch TL, Young TL, Colaizy T, et al. Genetic variants associated with severe retinopathy of prematurity in extremely low birth weight infants. 2014;55(10):6194-203.

10. Kwinta P, Bik-Multanowski M, Mitkowska Z, Tomasik T, Pietrzyk JJJGsAfC, Ophthalmology E. The clinical role of vascular endothelial growth factor (VEGF) system in the pathogenesis of retinopathy of prematurity. 2008;246(10):1467.

11. Ali AA, Hussien NF, Samy RM, Al Husseiny KJJoPO, Strabismus. Polymorphisms of vascular endothelial growth factor and retinopathy of prematurity. 2015;52(4):245-53.

12. Hartnett ME, Cotten CM, editors. Genomics in the neonatal nursery: focus on ROP. Seminars in perinatology; 2015: Elsevier.

13. Yu C, Yi J, Yin X, Deng Y, Liao Y, Li XJIjoc, et al. Correlation of interactions between NOS3 polymorphisms and oxygen therapy with retinopathy of prematurity susceptibility. 2015;8(11):15250.

14. Kalmeh ZA, Azarpira N, Mosallaei M, Hosseini H, Malekpour ZJMbr. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for retinopathy of prematurity in South of Iran. 2013;40(7):4613-8.

15. Kaya M, Çokakli M, Berk AT, Yaman A, Yesilirmak D, Kumral A, et al. Associations of VEGF/VEGF-Receptor and HGF/c-Met promoter polymorphisms with progression/regression of retinopathy of prematurity. 2013;38(1):137-42.

16. Vannay A, Dunai G, Banyasz I, Szabo M, Vamos R, Treszl A, et al. Association of genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor and risk for proliferative retinopathy of prematurity. Pediatr Res. 2005;57(3):396-8.

17. Yagi M, Yamamori M, Morioka I, Yokoyama N, Honda NA. VEGF 936C> T is predictive of threshold retinopathy of prematurity in Japanese infants with a 30-week gestational age or less. Res Rep Neonatol. 2011;1:5-11.

18. Ciais D, Cherradi N, Bailly S, Grenier E, Berra E, Pouyssegur J, et al. Destabilization of vascular endothelial growth factor mRNA by the zinc-finger protein TIS11b. Oncogene. 2004;23(53):8673-80.

19. Pagès G, Pouysségur J. Transcriptional regulation of the Vascular Endothelial Growth Factor gene–a concert of activating factors. Cardiovascular research. 2005;65(3):564-73.

20. Ray PS, Jia J, Yao P, Majumder M, Hatzoglou M, Fox PLJN. A stress-responsive RNA switch regulates VEGFA expression. 2009;457(7231):915-9.

21. Krippl P, Langsenlehner U, Renner W, Yazdani-Biuki B, Wolf G, Wascher TC, et al. A common 936 C/T gene polymorphism of vascular endothelial growth factor is associated with decreased breast cancer risk. International journal of cancer. 2003;106(4):468-71.

22. Zhai R, Gong MN, Zhou W, Thompson TB, Kraft P, Su L, et al. Genotypes and haplotypes of the VEGF gene are associated with higher mortality and lower VEGF plasma levels in patients with ARDS. Thorax. 2007;62(8):718-22.

23. Renner W, Kotschan S, Hoffmann C, Obermayer-Pietsch B, Pilger EJJovr. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma levels. 2000;37(6):443-8.

24. Hartnett M, Morrison M, Page G, Cotten M, Murray J, DeAngelis M. Candidate Gene Study of Retinopathy of Prematurity in Extremely Low Birthweight Infants from the Neonatal Research Network. Steroids. 2013;218(82.9):82.9.

25. Gohari M, Dastgheib SA, Noorishadkam M, Lookzadeh MH, Mirjalili SR, Akbarian-Bafghi MJ, et al. Association of eNOS and ACE polymorphisms with retinopathy of prematurity: a systematic review and meta-analysis. Fetal and pediatric pathology. 2019:1-12.

26. Smith L. Pathogenesis of retinopathy of prematurity. Acta Pædiatrica. 2002;91:26-8.

Tablo 1: Çevresel ve demografik faktörler

		GRUP 1	GRUP 2	p-değeri
Doğum Ağırlığı (gram)	Ort±SS	1110,03±300,90	866,90±317,90	0,001[1]
	Q2 (Q1-Q3)**	1100 (860-1435)	805 (630-1035)	
Gestasyonel Hafta	Ort±SS	28,79±2,57	26,22±2,36	0,002[1]
	Q2 (Q1-Q3)	29,00 (26,00-32,00)	26,00 (24,00-27,50)	
İlk Muayene Zamanı (hafta)	Ort±SS	32,75±2,14	31,16±1,61	<0,001[1]
	Q2 (Q1-Q3)	33,00 (31,00-35,00)	31,00 (30,00-31,50)	
Küvözde Kalma Süresi (gün)	Ort±SS	67,65±42,80	100,20±61,96	<0,001[1]
	Q2 (Q1-Q3)	60,00 (39,25-89,25)	94,00 (66,00-120,00)	
MV Süresi (gün)	Ort±SS	62,05±34,70	65,75±34,34	<0,001[1]
	Q2 (Q1-Q3)	28,00 (9,50-45,50)	60,00 (27,50-82,50)	
Surfaktan Kullanımı oranı		36 (%48)	26 (%35,6)	0,127[2]
Postnatal Steroid oranı		15 (%20)	27 (%37)	0,022[1]
Eşlik Eden Hastalık oranı *		41 (%54,7)	34 (%46,6)	0,325[2]
Cinsiyet (K/E)		42/33 (%56/44)	35/38 (%47,9/52,1)	0,327[2]

*BPD, RDS, SEPSİS, İKK, NEK'ten herhangi birisinin olması;

**Q1= 25. Persantil değeri, Q2= 50. Persantil değeri, Q3= 75. Persantil değeri.

[1]Kullanılan istatistik testi; Mann Whitney-U testi kullanılmıştır.

[2]Kullanılan istatistik testi; Pearson Ki-kare testi kullanılmıştır.

Tablo 2: ROP genetik polimorfizmler

Polimorfizm	Genotype/allel	Grup 1 (n=75)	Grup 2 (n=73)	OR (%95 Güven Aralığı)	p-değeri[1]
VEGF-A rs2010963	CC	17 (%22,6)	4 (%5,5)	Referans	
	CG	49 (%65,4)	26 (%35,6)	2,26 (0,69-7,40)	0,180
	GG	9 (%12)	43 (%58,9)	20.31 (5,51-74,87)	<0,001
	G aleli	67/150 (%44,7)	112/146 (%76,7)		<0,001
VEGF-A rs3025039	CC	49 (%65,4)	29 (%39,8)	Referans	
	CT	7 (%9,3)	39 (%53,4)	9,41 (3,73-23,773)	<0,001
	TT	19 (%25,3)	5 (%6,8)	0,45 (0,15-1,32)	0,144
	T aleli	45/150 (%30,0)	49/146 (%33,6)		0,510
VEGF-A rs833061	CC	14 (%18,6)	49 (%67,1)	Referans	
	CT	35 (%46,7)	6 (%8,2)	0,05 (0,017-0,136)	<0,001
	TT	26 (%34,6)	18 (%24,7)	0,20 (0,088-0,481)	<0,001
	T aleli	87/150 (%58,0)	42/146 (%28,8)		<0,001
BDNF rs7934165	GG	69 (%92)	63 (%86,3)	Referans	
	GA	1 (%1,3)	3 (%4,1)	3,29 (0,33-32,407)	0,31
	AA	5 (%6,7)	7 (%9,6)	1,53 (0,49-5,08)	0,48
	A aleli	11/150 (%7,3)	17/146 (%11,6)		0,205
BDNF rs2049046	AA	60 (%65,4)	58 (%79,5)	Referans	
	AT	12 (%9,3)	11 (%15,0)	0,95 (0,39-2,319)	0,90
	TT	3 (%25,3)	4 (%5,5)	1,38 (0,29-6,43)	0,68
	T aleli	18/150 (%12,0)	19/146 (%13,01)		0,792
BDNF rs7929344	CC	1 (%1,3)	5 (%6,9)	Referans	
	CT	21 (%28,0)	16 (%21,9)	0,15 (0,16-1,43)	0,100
	TT	53 (%70,7)	52 (%71,2)	0,19 (0,02-1,73)	0,143
	T aleli	137/150 (%91,3)	120/146 (%82,2)		0,019
EPAS-1 rs1867785	AA	1 (%1,3)	4 (%5,5)	Referans	
	AG	10 (%13,3)	17 (%23,3)	0,42 (0,42-4,35)	0,471
	GG	64 (%85,4)	52 (%71,2)	0,20 (0,22-1,87)	0,160
	G aleli	138/150 (%92,0)	121/146 (%82,9)		0,017
EPAS-1 rs13419896	GG	62 (%82,7)	50 (%68,5)	Referans	
	GA	12 (%16,0)	19 (%26)	1,96 (0,87-4,42)	0,104
	AA	1 (%1,3)	4 (%5,5)	4,96 (0,54-45,79)	0,158
	A aleli	14/150(%9,3)	27/146(%18,5)		0,022
EPAS-1 rs1868085	GG	3 (%4,0)	9 (%12,3)	Referans	
	GA	6 (%8,0)	7 (%9,6)	0,39 (0,07-2,13)	0,277
	AA	66 (%88,0)	57 (%78,1)	0,29 (0,07-1,11)	0,071
	A aleli	138/150 (%92,0)	121/146 (%82,9)		0,017
NOS3 rs2070744	CC	10 (%13,3)	0 (%0)	Referans	
	CT	4 (%5,3)	9 (%12,3)	Hesaplanamaz	
	TT	61 (%81,4)	64 (%87,7)	Hesaplanamaz	
	T aleli	125/150 (%83,3)	137/146 (%93,8)		0,004
NOS3 rs1799983	TT	2 (%13,3)	4 (%0)	Referans	
	TG	10 (%5,3)	10 (%12,3)	0,50 (0.07-3,38)	0,477
	GG	63 (%81,4)	59 (%87,7)	0,47 (0,08-2,65)	0,391
	G aleli	136/150 (%90,7)	128/146 (%87,7)		0,407

[1]Kullanılan istatistik analiz; lojistik regresyon analizi