

Büyüme Faktörleri ve Retinopatiler

Ediz Ural (*), Mucize Yararcan (**), Safiye Can Küçükgül (***), Ergun Öziz (****),

ÖZET

Büyüme faktörleri damarların embriyolojik gelişiminde, patolojik yeni damar oluşumunda önemli rol oynarlar. Retinal hücrelerin çoğalma, göç ve farklılaşmayı içeren olaylarını düzenlemek için gereklidirler. Reseptör düzeyinde etkilerinin artırılıp, azaltılması gelecekteki tedavilerin amacıdır. Bu yazıda retinopatilerle ilgili büyüme faktörleri, bunların etkileri ile tedavideki yerleri değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Büyüme faktörleri, retinopati, kinaz inhibitörleri

SUMMARY

Growth Factors and Retinopathies

Growth factors play an important role in development of vasculer embriogenesis and forming of pathologic neovascularization. They are needed to regulate retinal cellular events, including cell proliferation, migration, differentiation. Increasing or decreasing their effects in the level of receptors has been a new goal of treatment. In this article growth factors related retinopathy, their effects and the role in the treatment have been reviewed.

Key Words: Growth factors, retinopathy, kinase inhibitors

GİRİŞ

Lokal ve dolaşan immün hücrelerin dışında mezenkimal, epitelial hücreler de inflamatuvar süreç içinde rol oynarlar. Tüm bu hücrelerin uyarılması, çoğalması, farklılaşması ve birbirleriyle etkileşimi, yine bu hücrelerce üretilen ve salgılanan biyolojik moleküllerle düzenlenir. Aktif immün hücrelerce üretilen sitokinler, üretildikleri kendi hücreleri dahil birçok hücrenin aktifleşmesi, farklılaşması ve çoğalmasını etkileyen proteinlerdir (1). Dokuda oluşan hasarın ve iyileşmenin düzenleyicisi olan moleküller yanında hem fizyolojik hem de patolojik süreçte rol oynayan birçok faktörün varlığı gösterilmiştir. Retinada hücrelerin birbirleriyle etkileşimi, bunlardan nörotransmitter olarak adlandırılan kimyasal araçlarla ve büyüme veya besleyici faktör olarak adlandırılan peptidlerle sağlanmaktadır.

Retinal neovaskülarizasyondan (NV) sorumlu faktörlerin ortaya çıkarılışı 1948'lere dayanır (2). Neovaskülarizasyonun oluşabilmesi için 3 faktöre ihtiyaç bulunmaktadır:

- 1) Stimulus
- 2) Canlı vasküler endotel hücresi
- 3) Neovaskülarizasyonun üzerinde gelişebileceği çatı

Bu faktörlerden stimulus, çeşitli büyüme faktörleri olabilir. Gözün inflamatuvar süreçlerinden biri olan epiretinal membranlarda da membranı oluşturan hücrelerin otokrin veya parakrin uyarı verebilecek büyüme faktörleri ürettiği gösterilmiştir (3).

Retinopatilerde rol oynayan moleküler yolların ay-

(*) Uzman Dr., Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Adana Eğitim ve Araştırma Hastanesi

(**) Doç. Dr., Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

(***) Prof. Dr., Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Göz Hastalıkları Anabilim Dalı

Mecmuaya Geliş Tarihi: 28.11.2001

Düzeltilmeden Geliş Tarihi: 24.12.2001

Kabul Tarihi: 12.02.2002

dilatılması ve tedavide bunlardan yararlanılması oftalmolojide yeni ufuklar açabilecektir.

BÜYÜME FAKTÖRLERİ

Elde edildikleri yere ve etkilerine göre farklılıklar gösteren bu proteinler insan vücudunda meydana gelen birçok fizyolojik ve patolojik olayda görev almaktadırlar. Başlıca bilinen büyüme faktörleri ve bunların etkileri aşağıda belirtilmiştir.

FİBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜ (FGF)

FGF' ler mitojenik faktör ailesi olup biyolojik etkilerini çeşitli mezenkimal ve nöro ektodermal kökenli hücrelerde gösterirler. Asidik FGF (aFGF) ve bazik FGF (bFGF) bu ailenin prototip üyeleridir. Sinir dokusunda bol miktarda bulunurlar. Erişkin retinası aFGF ve bFGF ile bunların tirozin kinaz reseptörlerini (FGFR) bulundurmaları birlikte retina hücreleri hasara uğramadıkça bölünmezler. Bu faktörlerin varlığı retinal hücrelerin yaşama, göç, değişim ve çoğalması için önemlidir (4).

aFGF ve bFGF hasarlanmış retina pigment epitelinin (RPE) sekrete edilebilir (5). Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve bFGF vasküler endotel hücre çoğalmasına sinerjistik etki gösterirler (6).

aFGF ve bFGF ile FGFR, heparan sülfat proteoglikanları olarak tanınmış düşük çekimli bağlanma yerleriyle etkileşirler. FGFR' leri dört tane olup ayrı genlerde kodlanırlar. 2 ya da 3 hücre dışı immün globulin benzer halkalardan ve bir hücre içi tirozin kinaz alanından oluşurlar. FGFR 1-3 için hücre dışı alanı kodlayan eksonun değişik eklenmesi daha fazla reseptör formunu oluşturur. Üçüncü immün globulin benzer halkanın genomik organizasyonu üç reseptör varyantına yol açar. Ekson 3b ve 3c den önce gelen bir selektif poliadenilasyon yeri FGFR1' in eriyen formunu oluşturmak için kullanılır (4).

bFGF birçok hücre tipi için mitojen olup yara iyileşmesinde anjiyojenik cevaptan sorumlu tutulmuştur (7). bFGF' nin retinal NV' de yer aldığı düşünülmektedir (8). Sinir doku, pitüiter gland, korpus luteum, plenta gibi dokularda olduğu gösterilmiştir (9).

VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF)

VEGF yaklaşık 45 kd ağırlığında bir homodimerik glikoprotein olup oldukça etkili damar endotel hücre mitojenidir (10). Histaminden elli bin kez daha fazla damar geçirgenliği üzerine etkin olduğundan ilk tanındığında vasopermeabilite faktör olarak isimlendirilmiştir (11).

İnsan VEGF' inin altı farklı izoformunun herbiri ayrı heparin bağlama yeteneğinde, çeşitli doku dağılımı gösteren ve hipokside artan, aynı zamanda etkili bir damar geçirgen faktördür (12,13).

VEGF etkisini fsm benzeri tirozin kinaz (flt-1) ile "fetal liver kinase"1' in insandaki karşılığı "kinase insert domain containing receptor" (flk-1/KDR) olarak bilinen iki reseptörü aracılığıyla ortaya çıkarır (14,15). Bu reseptörler otofosforile olan tirozin kinaz proteinleri olup VEGF bağlarlar. Renal mezankimal hücreler, monositler, kan hücreleri ve retina da var olmalarına rağmen esas olarak endotel hücreleri bu reseptörleri ekspresse ederler. Reseptör uyarımı bir çok proteinin fosforilasyonunu sağlar. flk-1/KDR hematopoezis ve vaskülogenezinin düzenlenmesinde önemli iken, flt-1 damarsal kanalların düzenlenmesinde görev alır. Bu reseptörler RPE' ye bakan koriokapiller endotelinde yüksek oranda bulunurlar. Reseptör uyarımının monosit ve vasküler düz kas göçü ile von Willebrand faktör salınımına yol açtığı gösterilmiştir (16,17). VEGF intravitreal verildiğinde retinal damarlarda dilatasyon oluşturur (18).

Tek bir VEGF allelinin kaybı erken embriyonik ölümlle sonuçlandığından normal emriyogenezis için gereklidir. Yenidoğan farelerde VEGF inhibisyonu böbrek glomerüllerinde anormal gelişime, böbrek yetersizliğine, karaciğer gelişiminde geriliğe, anormal trabeküler kemik oluşumu ve korpus luteum yokluğuna yol açar (16).

VEGF mRNA hipoksik durumlarda fazlaca ekspresse edilir. Hipoksiye duyarlı faktör-1 bağlayan alanın gen sırasıyla yakın ilişkisinden dolayı eritropoetin de aynı mekanizma ile artar (19).

Vaskülerize tümörlerde, lösemi, endometriozis ve psoriasis gibi birçok hiperproliferatif hastalıklarda ekspresyon artışı gösterilmiştir. Birçok dokuda düşük doz VEGF' in normalde de üretildiği bilinmektedir. Gözün endotel hücreleri, perisitler, glia hücreleri ve gangliyon hücreleri de VEGF' yi ekspresse edebilirler. Retina endotel hücrelerinde in vitro VEGF reseptörleri gösterilmiştir (16).

TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ (PDGF)

PDGF, yara kenarından agrave olmuş trombositlerden salınarak glial hücre, düz kas hücresi, perisit ve fibroblast gibi yara iyileşmesine katılan hücre tipleri için kimyasal çekici ve mitojen olarak görev alır. Serumdan elde edilen PDGF mezenkimal hücrelerin proliferasyonunu uyarabilir. Dışardan PDGF verilmesi yarayı güçlendirirken, PDGF antikorlarının verilmesi yara iyileş-

mesini engeller. Sinirlerdeki ekspresyonu nörotrofik ve gliotrofik etkilerini düşündürmektedir (20).

PDGF, PDGF-A ve PDGF-B genlerinin ürünlerinden yapılmış bir dimer olup AA, AB, BB şeklinde üç izoformu vardır. PDGF reseptörleri (PDGFR) de iki gen ürünlü olduklarından $\alpha\alpha$, $\alpha\beta$, $\beta\beta$ tipindedirler (20). PDGF BB genel bağlayıcı olup reseptörlerin tüm homodimerlerini bağlarken PDGF AA sadece alfa alfa homodimerlerini birleştirir (21). Reseptör dimerizasyonu ile fosforilasyon olur. Fosforile reseptörler SH2 içeren proteinlerin büyük kısmıyla birleşebilir. Bu proteinlerin bir sınıfında Src ailesi tirozin kinazlarıdır (22).

PDGF ve reseptörlerinin varlığı immünohistokimyasal olarak vasküler ve avasküler epiretinal membranlarda (ERM) gösterilmiştir (23). PDGFR, RPE ve retinal glial hücrelerde de bulunur (3).

Gözün perivasküler hücreleri, gangliyon hücreleri ve RPE de PDGF' in düşük düzeyde yapıcı ekspresyonu vardır. Böylece perisit ve astrositlere yaşamsal destek vererek retina onarımında rol oynadıkları düşünülmektedir. Optik sinirden elde edilmiş glial prekürsör hücreler sadece PDGFR- α ' yı, perisitler ise sadece β ' yı ekspresse ederler (20).

PDGF, fibroblastları kollajen sentez edip depolamaları için uyarır. Glialar için kemotaktik ve mitojeniktir. Kollajen jelin kontraksiyonunu uyarır (24).

İnsan PDGF cDNA'sı ile sığır rodopsin promotörünün birleştirilmesiyle fotoreseptörlerinden PDGF ekspresse eden transgenik fareler (rho/PDGF fareler) yaratılmıştır (25).

HEPATOSİT BÜYÜME FAKTÖRÜ (HGF)

HGF rat trombositlerinden elde edildiğinde epitelial hücre kolonilerini ayrıştırılabildiğinden "scatter faktör" olarak adlandırılmıştır. Kornea, lens, retina gibi oküler yapılar dışında akciğer, deri, dalak, beyin gibi dokularda saptanabilmesine rağmen esas karaciğerden üretilir. HGF hepatositler için invitro mitojen, endotel hücre çoğalmasının düzenleyicisidir (26).

HGF reseptörü bir transmembran tirozin kinazı kodlayan c-met proto-onkogenin protein ürünleri olarak belirlenmiştir. Kapiller endotelial hücreleri c-met reseptörü ekspresse edebilir ve HGF'e cevap verebilirler. Kornea hücrelerinin, RPE'nin ve proliferatif vitreoretinopatiadaki ERM'lerin c-met reseptörlerini ekspresse edebildikleri gösterilmiştir. Anjiyojenik etkisi yanında bFGF, interlökin-1, 6 ve VEGF' den daha etkili mitojeniktir.

Gözde HGF, RPE ve makrofajlarda sentez edilebi-

lidir. HGF ve VEGF'nin vitreustaki düzeyi ön kamarada bulunandan fazladır. Vitrede bol miktarda bulunan hyaluronik asit ve heparan sülfatın HGF'yi bağlamayabilmeleri nedeniyle vitreusta HGF seviyesini arttırabilirler. Heparan sülfat glikozaminoglikanların bFGF gibi büyüme faktörlerini hücre dışı proteolitik yıkımdan korudukları bilinmektedir (26).

PİGMENT EPİTELİ KAYNAKLI FAKTÖR (PEDF)

PEDF 50 kD ağırlığında bir glikoproteindir. Serin proteaz inhibitörlerinin serpin üst ailesinin bir üyesidir. Serpin proteazları ve serpin, sinir sistemi gelişiminde ve patolojisinde önemli rol oynar. İlk olarak retinoblastom hücrelerinde nöronal farklılaşma oluşturan bir protein olarak kültüre edilmiş insan RPE' de salgılandığı belirlendi (27).

PEDF yapımı hiperokside artar, hipokside azalır. Bu durum damarlanma üzerine etkili faktörlerde görülen aksidir. Yaşa bağlı makula dejenerasyonunda oksijenden bağımsız olarak PEDF'nin azaldığı gösterilmiştir. Nöron ve nöroglialara trofik etkili olduklarından yokluğu retina dejenerasyonlarına katkıda bulunmaktadır. PEDF agonistleri retinal distrofiler ile yeni damarlanmanın eşlik ettiği birçok retinopatide kullanılmaya ümitleri taşımaktadır (28).

PEDF rat kornealarında yeni damarlanmayı engellemekte, antikorları varlığında ise büyüme faktörleri olmaksızın damarlanmaya yol açmaktadır. Endotel hücre göçünün önlenmesi doza bağlıdır. 0,4 nM bu etki için yeterlidir. 1nM veya daha fazla dozlarda bFGF' n in uyardığı kapiller hücre endotel çoğalması önlenmektedir. Bu dozun on katında dahi insan akciğer fibroblastlarının, aort düz kas hücrelerinin, oral keratinositlerin ve ya nötrofillerin uyarıcı sitokinlere göçü engellenmemesi değişik hücrelere olan ilgi farklılığını göstermektedir. Vitreustaki seviyeleri PDR'de bulunan VEGF'nin 4 ng'lık düzeyinde bile endotel hücre göçünü engellemeye yetmektedir (29).

BÜYÜME FAKTÖRLERİ ve RETİNOPATİLER

DIABETİK RETİNOPATİ (DR)

Retinal kapillerin kaybının yol açtığı ilerleyici retinal hipoksi, artmış retinal vasküler geçirgenlik ve retinal neovaskülarizasyon diabetik retinopatinin bilinen özellikleridir. İskemik retina NV'yi stimüle eden faktörler salarlar. VEGF mRNA ekspresyonu oküler hücre kültürlerinde hipoksi ile artar, normoksi ile artışı durur. RPE

hücrelerinin VEGF ekspresyonu edebildiklerinin gösterilmesi diabetik retinopati gibi iskemi oluşturabilen hastalıkların yeni damar oluşumundaki patogenezi açıklamamıza yardımcı olmuştur. DR'de insuline benzer büyüme faktörü (IGF), bFGF, HGF ve VEGF gösterilen anjiyogenik faktörlerdir (16). PDR'li hastaların vitreusunda FGF'nin arttığı gösterilmiştir. bFGF anjiyogenik bir faktör olarak PDR gelişiminde önemli rolü vardır (30).

Retinal dolaşım ilk olarak optik sinirde gelişir. Daha sonra vaskülogenezisle retina yüzeyi boyunca periferik ulaşır. Vaskülogenezis var olan öncü hücrelerden damarların oluşumudur. Kan damarları yüzeyel damarlardan tomurcuklanarak anjiyogenezis denilen işlemlerle retina girerler. Böylece orta ve derin kapiller yatak oluşur. Retinal vasküler gelişim postkonsepsiyonel 40. haftada tamamlanır. Avasküler periferik retinanın hipoksisi VEGF'nin artışına yol açar (31). Hiperoksi retinal kan damarı gelişimini durdurur. Vasküler endotelial hücrelerin apoptozisine yol açar. Bu gerileme VEGF'nin azalışı ile ilişkili olup dışardan VEGF verilmesiyle önlenmiştir (32).

Hiperoksiyle retinal damarların geriletilmesi sağlanmış yenidoğan hayvanlarda, hiperoksiden oda havasına geçiş ciddi retinal hipoksi oluşturur. VEGF'nin dramatik artışı retinal NV'yi stimüle eder. İnsandaki premature retinopatinin bu modeli aynı zamanda erişkindeki retinal iskemiye yol açan, damarlarda hasar veya tıkanmanın olduğu birçok hastalık olayının özelliklerini de paylaşır. Bu hastalıklar iskemik retinopatiler olarak adlandırılmış ve gelişmiş ülkelerin 60 yaş altı görme kayıplarından sorumlu olan retinal ven dal oklüzyonu (BRVO), santral retinal ven oklüzyonu (CRVO) ve PDR'dir (32).

Hipoksinin oluşturduğu iskemik retinopati ve rho/VEGF transgenik fare modellerinde retinadaki endotelial hücre ve perisit sayısında artış görülmektedir. Bu modeller rho/PDGFB'ninkinden farklı bir fenotipe sahiptirler. Bu farklılık endotelial hücre ve perisitlerin normal orantıda artarak damar oluşturacak düzende olmaları şeklindedir. Halbuki rho/PDGFB farelerinde endotel hücrelerinden daha fazla perisit olup düzensiz hücre tabakaları oluştururlar. Birincil uyarı VEGF olduğunda endotel hücreleri göç edip çoğalmakta ve muhtemelen PDGF-B üretmekle perisitleri de kullanmaktadırlar. Birincil uyarı PDGF-B'nin olmasıyla perisit ve astrositlerin aşırı çoğalması ve bunların VEGF üretmekle endotel hücrelerini kullanmaları, VEGF'ye karşı PDGF miktarında göreceli farklılık ve veya bunların ürünlerinin ters akış sırasıyla büyük fenotip farklılığına yol açtığını düşündürmektedir (20).

Dokuya özel farklılıklara rağmen NV, yara iyileşmesinde, tümör büyümesi, artrit, aterosklerozis ve pro-

liferatif retinopati gibi birçok patolojik olayda olmaktadır. Diabette oluşan NV'ler panretinal fotokoagülasyon sonrası gerilemekte fakat iyice ilerlemiş NV'ler panretinal fotokoagülasyon sonrası daha az gerilemekte veya ilerlemektedirler (33). PDGF ve reseptörlerinin vasküler ve avasküler ERM'lerde gösterilmesi, ERM'lerin ilerlemesinde otokrin faktörlerin etkisini göstermektedir (23,34).

Diabetik hastaların görme düşüklüğünde önemli rol oynayan maküler ödem NV olmadan da görülebilmektedir. Diabetik ratlarda damar dışına çıkmış albuminin immünohistolojik saptanması yanında, artmış VEGF düzeyinin de gösterilmesi maküler ödemde de bu faktörün etkisini güçlendirmektedir (35).

Hayvan çalışmalarında VEGF'nin tekrarlanan intravitreal verilmesi ile flöresein anjiyografide (FA) DR'ye benzer bulgular gösterilmiştir (36).

Intravitreal protein konsantrasyonu serumdan yirmi kat daha düşüktür. Dolayısıyla belirli proteinlerin serum göre intravitreal yüksek değerleri bunların intraoküler yapımının en önemli kanıtıdır. PDR'li hastaların intravitreal HGF düzeylerinin serumdakinden daha yüksek bulunması, bu faktörün kan retina bariyerini diffüzyonla geçemeyerek gözde sentez edildiğini düşündürmektedir. HGF'nin PDR'de kapillere benzer tübül oluşturduğuna ait güçlü kanıtlar anjiyogenezisteki etkisini göstermektedir. PDR'li hastalarda vitreus ve serum örnekleri aynı hasta grubunda eş zamanlı karşılaştırıldığında vitreusta HGF 25 kat, VEGF 10 kat serumdaki değerlerinden fazla saptanmıştır (26).

PROLİFERATİF VİTREORETİNOPATİ (PVR)

Retina dekolmanı (RD) sonrası vitrede, hyaloidin arka yüzü ile iç retinal yüzeyde, retina altında membranların oluşması PVR olarak isimlendirilir. PVR başarısız RD cerrahisinin en önemli nedenlerindedir (3). Cerrahi ile yatırılmış dekolmanların yaklaşık %10'unda retina yüzeyinde ve vitreusa uzanan, baskın olarak RPE ve gliyal hücrelerin oluşturduğu membranlar traksiyonla tekrar dekolman oluşturmaktadır (37). RPE'nin göç ve çoğalmasında retinanın önleyici etkisinin kaybı, dekolman ve kan retina bariyerinin yıkılmasından salınan uyarıcı faktörlerin ERM oluşturduğu söylenebilir (3). RD sonrası RPE'de PDGF ekspresyonunun belirgin artışı olur (38).

PVR ve travmayı içeren oküler hastalıkların bir çoğunda hücreler vitreye ulaşır retinal yüzeyde kontraktıl membran oluştururlar, bu da traksiyonel RD'ye yol açar. Membran oluşumuna RPE, astrositler ve fibroblastlar

katılır. Serumun RPE, astrosit, fibroblast gibi hücrelere kimyasal çekiciler içerdiği gösterilmiştir. Serum etkili RPE kemotaksisinin aktif komponenti fibronektin ve PDGF' dir. PDGF astrositler için kimyasal uyarıcıdır. Fibronektin ve PDGF fibroblastlar için de kemotaktik özelliğindedir. Tavşan vitreuslarına otolog serum verilerek fibronektin ve PDGF'nin hücresele göçü uyardığı, otolog kan enjeksiyonundan üç hafta sonra %72 oranında kontraktıl membran ile traksiyonel RD oluştuğu gösterilmiştir. Epiretinal membranların kontraktıl içeriğinden fibroblastlardaki 40 ile 60 A subplazmalemmal filamentler sorumlu tutulmaktadır (39).

PVR olan ve olmayan RD' li hastaların vitreusunda bFGF ve PDGF düzeyleri bakıldığında, PVR'li RD'de hemoraji olmasa bile bu faktörlerde önemli artışlar gösterilmiştir. RPE, PVR'de PDGF benzeri proteinlerle kendilerini de etkileyen mitojenik aktivite gösterirler. Mitojenik aktivite sonucu oluşan ERM' lerin kontraksiyonu PVR' nin patogenezinde önemli yer tutar. Bu aktiviteyi uyardığı bilinen faktörler TGF β , PDGF ve endotelin ailesinin bazı üyeleridir (24).

ERM'lerde immünohistokimyasal olarak PDGF-A, PDGF-B, VEGF, trasforming growth faktör β 1 (TGF β 1), TGF β 2, ve bFGF bakıldığında, VEGF ile PDGF' nin eşit boyandığı görülmüştür. PDGF ve VEGF ile karşılaştırıldığında TGF β izoformlarının ve bFGF' nin daha az ve yoğunlukta boyandığı bulunmuştur. Vasküler membranlarda VEGF positif hücreler daha yoğun ve çok boyanırken aynı şekilde avasküler membranlarda da belirgin boyanma saptanmıştır. Retinal glia ve RPE VEGF üretebildiklerinden bu sürpriz değildir. Bu iki hücre tipide vasküler ve avasküler ERM'lerde bulunmaktadırlar. Avasküler membranlarda VEGF bulunmasına rağmen kan damarları olmayışı NV için diğer faktörlerin de gerekliliğini düşündürmektedir. Primat vitreusuna verilen VEGF'nin belirgin bir NV oluşturmadığı bilinmektedir (3). VEGF' nin NV oluşturma etkisinin gillial hücrelerden salınan TGF β gibi inhibitörlerle engellendiği sanılmaktadır (40).

VEGF reseptörü olan flt-1 ve flk-1/KDR'nin endotele özel olmadıkları, bu reseptörlerin vasküler endotelial hücreler dışında retinanın nöral öncü hücrelerinde, korneal endotelial hücrelerde, renal mezengiyal hücrelerde ve melanoma hücrelerinde büyümede rol aldıkları bilinmektedir. Birçok ERM' nin VEGF ve onun reseptörünü içermesi otokrin ve veya parakrin mekanizmanın işleyebileceğini göstermektedir (3).

Traksiyonel RD'nin olduğu PVR'li hastalarda PDGF-A ve PDGF-B' nin ekspresyonu artmıştır. Retinalarında PDGF-A ve B ekspresyone edebilen trasgenik fare-

lere baktığımızda, PDGF-A astrositlerin proliferasyonu nedeniyle retinal gliozise yol açarken, PDGF-B astrosit, perisit ve bir dereceye kadar endotel hücrelerinde proliferasyona sebep olmaktadır. Sonuçta rho/PDGFA fareler normal retina görünümüne sahip olup fenotipleri gizli kalmakta, Rho/PDGFB fareler ise total traksiyonel RD oluşturmaktadırlar. PDGF-B'nin A'dan retinada daha etkili olduğunu ve perisit gibi hayli gelişmiş kontraktıl içeriği olan ek hücre tiplerine de etki edebildiği anlaşılmaktadır (20).

YAŞA BAĞLI MAKULA DEJENERASYONU (YBMD)

Yaşlı popülasyonda santral görme kaybının önemli bir sebebidir. Yaş tipte koroidden kaynaklanan yeni damarların Bruch membranını geçerek subretinal alanda ilerlemesiyle karakterize koroidal neovaskularizasyon (KNV) ve membran (KNVM) görülür. RPE ile Bruch membranı arasında biriken hücre dışı maddelerin lokal iskemi alanları oluşturarak anjiyogenezisi tetiklediği düşünülmektedir. YBMD'de koroidal dolaşımın zayıflaması ile oluşan kronik iskemi KNV için bir başka neden olabilir. İskemi birleşebilen geniş druzenlerden de kaynaklanabilir (41). Esas patolojinin koroidal iskemiden kaynaklandığı daha çok kabul görmektedir (42). KNVM'lerde VEGF, TGF β , aFGF, bFGF saptanmıştır (43). Deneysel modellerde suprakoroidal boşluğa VEGF salınan implant yerleştirilmesiyle damar sızıntısı ve KNV elde edilememesi yanında adenovirus vektörlüğünde RPE'den VEGF'nin salgılatılmasında bu etkinin oluşturulması koroidin RPE bakan yüzündeki reseptör fazlalığına bağlanmaktadır (44). rho/VEGF transgenik farelerde subretinal neovaskularizasyonun kökeni retinal damarlar olarak belirlenmiştir (45). Muhtemelen kan retina bariyeri fotoreseptörlerden salınan VEGF'nin koroide ulaşmasını engelleyerek yeni damarların retinadan oluşmasını sağlamaktadır.

Seyrek bir komplikasyon olmasına rağmen RD cerrahisi sonrası kırılan Bruch membranına doğru koroidal yeni damarların büyüdüğü bilinmektedir. Faktör salgılatıran virusun injekte edildiği noktanın daha ilerisine yeni damarların uzanması ve kontrol viruslerinde Bruch membranındaki kırılmaya rağmen KNV olmaması Bruch membranının kırılmasının KNV gelişimindeki önemi tartışılmalı kılmıştır (41).

İskeminin ortaya çıkardığı sitokinlerle anjiyogenezisin meydana geldiği geniş kabul görse de, iskeminin mi druzen ve bazal laminar birikimleri ortaya çıkardığı yoksa bunların mı lokal iskemi oluşturdukları tartışmalıdır. TGF β 'nin ekstrasellüler matriks oluşturmada-

önemli rolü ve matriks moleküllerinin yapımını artırıp yıkımını azaltması, iskeminin bu birikintileri oluşturduğuna kanıt gösterilmiştir (46).

RETİNAL DİSTROFİ

Retinanın normal fonksiyonunu sürdürebilmesinde RPE'nin önemli rolü vardır. Kalıtsal retinal dejenerasyonlu ratların RPE'lerinin bFGF'yi salgılayamadıkları, bu nedenle pretein kinazlara bağlı iyon kanallarının fonksiyonlarındaki eksikliğin neticesi inositoltrifosfat Ca^{+2} -ikincil mesaj sisteminin fonksiyon bozukluğu gösterilmiştir. Bu ratlardaki RPE, dökülen fotoreseptör dış segmentini bağlayabilmekte ama fagosite edememektedir. Dışardan verilen bFGF ile dejenerasyonun önlendiği gösterilmiştir (47).

RETİNOPATİ TEDAVİSİNDE YENİ YAKLAŞIMLAR

Patolojik olaylarda bulunan uyarıcıların, bunları hedef alan inhibitörlerin kullanılmasıyla istenmeyen etkilerin azaltılması amaçlanmaktadır. Retinal NV'nin farmakolojik tedavisinde VEGF uyarımının engellenmesi iyi bir hedef gibi görünmektedir. VEGF antagonistlerinin (VEGF reseptör/IgG şimerik proteinleri, anti sense VEGF oligomerleri) göze injekte edildiği iskemik retinopatili hayvanlarda yapılan çalışmalar bu düşüncüyü doğrulamıştır.

Farelerde serbet VEGF'leri bağlayarak böylece reseptörlerine bağlanmalarını önleyen eriyebilen VEGF şimerik proteinlerinin yeni damar oluşumunu tama yakın önlemesi yanında VEGF'ye karşı antikörlerin de aynı şekilde etki gösterdikleri bildirilmiştir (16). Yapılan diğer çalışmalarda başarı bu kadar yüksek bulunmamakla birlikte, NV'nin tam olarak önlenememesi antagonistlerin kısmi etkisine ya da kısa ömrüne bağlanmıştır. Bunun yanında fare gözlerine injeksiyonun zor ve güvenilmez olduğu söylenmektedir (32). İskemik retinopatilerde IGF-1 retinal NV'ye katkıda bulunur. IGF-1 ve diğerleri kalan anjiyogenez aktiviteden sorumlu olabilirler.

VEGF ve PDGF reseptörleriyle ve de protein kinaz C (PKC) ailesinin serin /treonin kinazıyla fosforilizasyonun engellendiği kısmı selektif kinaz inhibitörlerinin oral verilmesiyle hipoksinin ortaya çıkardığı iskemik retinopatili murin modellerinde retinal NV' nin tam inhibisyonu mümkün görünmektedir (32).

Selektif kinaz inhibitörleri bakterilerin ürettiği alkaloidlerden elde edilmiş ürünlerdir (48). Bir parsiyel kinaz inhibitörü olan PKC412'nin VEGF ile PDGF reseptörleri ve PKC'nin çeşitli izoformlarıyla olan fosforili-

zasyonunu engeleyerek retinal NV' yi tam olarak inhibe ettiği gösterilmiştir (32).

PTK787 insan VEGF reseptör 2 ve onun faredeki homologue Flk-1'le olan fosforilazasyonu engeller. VEGF reseptör 1' in (flt) daha az-potent inhibitörü olması yanında PDGF β reseptörünü, kök hücre için reseptör olan c-Kit'i, makrofaj koloni uyarıcı faktör-1 olan cFms'yi de engeller. Bu ilaç murinlerde hipoksinin ortaya çıkardığı iskemik retinopatide tamamen, embriyonal gelişim sırasında ise kısmen retinal vaskülarizasyonu inhibe etmiştir. CGP57148 ve CGP53716, PDGF reseptörleriyle olan fosforilazasyonu engellerken VEGF reseptörlerinde bu engellemeyi yapmaz ve retinal NV'de önemli bir etkisi yoktur. Diğer büyüme faktörlerinin katkısına bakmaksızın VEGF uyarımı retinal NV patogenezinde kritik rol oynar. VEGF reseptör kinaz aktivitesinin inhibisyonu retinal NV'yi tamamen bloke eder ve PDR ve diğer iskemik retinopatilerin tedavisi için harika bir hedeftir (32).

PTK787' nin 25 mg/kg günde iki kez oral verilmesi iskemik retinopatili farelerde retinal NV' yi önlemektedir. Neonatal farelerin PTK787 ile 10 mg/kg günlük subkutan tedavisi patolojik retinal neovaskülarizasyon kadar vasküler gelişimi de engellemektedir. Çalışmada kullanılan dozlarda vaskülogenezisin olduğu yüzeysel kapiller yatağın gelişimi tamamen önlenememiş fakat geciktirilmiştir. Dozun 2,5 kat yüksek verildiği durumda anjiyogenezisin olduğu orta ve derin kapiller yatak gelişimi tamamen engellenmiştir (32).

PTK787 erişkin farelere verilmesi ile beş günlük tedavinin matür damar endotel hücrelerine ve retinal nöronlara toksik olmadığı gösterilmiştir (32).

rho/VEGF transgenik farelerde iskemik retinopati modelinden farklı olarak NV'den tek sorumlu devamlı salgılanan VEGF olup dolayısıyla NV'nin kendiliğinden gerilemesi olmamaktadır. Transgenik farelere PTK787'nin oral verilmesiyle NV'nin önlenmesi bu ilacın VEGF üzerindeki etkisini göstermektedir. İskemik retinopati modellerinde de PTK787 ve PKC412'nin VEGF uyarımını engeleyebilmesi retinal NV' nin tam inhibisyonuna yol açmıştır. Diğer büyüme faktörlerinin muhtemel katkılarına rağmen VEGF reseptör uyarımının ortadan kaldırılması retinal NV'nin tam önlenmesinde yeterli görülmektedir. VEGF reseptör kinaz aktivitesinin inhibisyonu VEGF'nin reseptörlerine bağlanabilmesini azaltan yollardan daha aktif görülmektedir.

PTK787 ve PKC412 ile yenidoğan farelerde VEGF reseptör uyarımının blokajı retinal vasküler gelişimi de engeller. Retinal damarların gelişmesi için VEGF'nin hayati önemi vardır. Bu iki potent VEGF reseptör kinaz

inhibitörünün damar gelişimini bozması daha etkin ilaçlarla gelişimin tamamen durdurulabileceğini düşündürmektedir.

ROP'lu infantların tedavisinde VEGF antagonistlerinin vasküler gelişim üzerine olan olumsuz etkileri nedeniyle kullanılmaları zararlı gibi görünmektedir. Oysa erişkin farelerin damar endoteline ve nöronlarına beş günlük inhibitör verilmesinin herhangi etkisinin olmayışı bu ilaçların PDR için güvenli kullanılabileceğini düşündürmektedir (32).

PKC β isoform inhibitörü olan LY333531'in yer aldığı çalışmalarda PDR ve maküler ödemin önlendiği, geciktirildiği yada geriletildiğine ait klinik veriler mevcuttur (49). Bunun dışında nötralizan antikorlar, aptamerler, küçük molekül VEGF reseptör inhibitörleri, antisense oligonükleotitler ile endostatin, anjiostatin gibi endojen inhibitörlerin kullanılması konusunda henüz yeterli klinik çalışma bulunmamaktadır. AMD' de VEGF antikorları olan rhuFab V2 ile henüz tamamlanmamış klinik çalışmalar bulunmaktadır.

Ginkgo - biloba ekstraktları, dipiridamol ve nimodipininin ROP'daki NV'yi vazodilatör etkileri yanında anti trombosit agregasyon faktörü olarak moleküler düzeyde hücre içi aracı ve proto-onkogenleri inhibe ederek önledikleri iddia edilmiştir (50). İskeminin ortadan kalkması büyüme faktörlerinin üretilmesini azaltacağı düşünülürse damar genişleticilerin sitokinler üzerine olan etkileri tartışmalıdır.

Bugün için büyüme faktörlerinin etki ettiği ortak yolun kinaz inhibitörleri ile engellenmesi retinal patolojilerde etkin gözükmesine rağmen klinik deneyime ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Beagley KW, Elson CO: Cells and cytokines in mucosal immunity and inflammation. *Gastroenterol Clin North Am.* 1992;21:347-366.
2. Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E, Okamoto N, Hofmann F, Wood JM, Campochiaro PA: Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. *Am J Pathol.* 2000;156:697-707.
3. Chen YS, Hackett SF, Schoenfeld CL, Vinorez MA, Vinorez SA, Campochiaro PA: Localisation of vascular endothelial growth factor and its receptors to cells of vascular and avascular epiretinal membranes. *Br J Ophthalmol.* 1997;81:919-926.
4. Guillonnet X, Regnier-Ricard F, Laplace O, Jonet L, Bryckaert M, Courtois Y, Mascarelli F: Fibroblast growth factor (FGF) soluble receptor 1 acts as a natural inhibitor of FGF2 neurotrophic activity during retinal degeneration. *Mol Biol Cell.* 1998;9:2785-2802.
5. Amin R, Puklin JE, Frank RN: Growth factor localization in choroidal neovascular membranes of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:3178-3188.
6. Pepper MS, Ferrara N, Orci L, Montesano R: Potent synergism between vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in the induction of angiogenesis in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;189:824-831.
7. Courty J, Chevallier B, Moenner M, Loret C, Lagente O, Bohlen P, Courtois Y, Barritault D: Evidence for FGF-like growth factor in adult bovine retina: analogies with EDGF I. *Biochem Biophys Res Commun.* 1986;136:102-108.
8. Sivalingam A, Kenney J, Brown GC, Benson WE, Donoso L: Basic fibroblast growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1990;108:869-872.
9. Cassidy L, Barry P, Shaw C, Duffy J, Kennedy S: Platelet derived growth factor and fibroblast growth factor basic levels in the vitreous of patients with vitreoretinal disorders. *Br J Ophthalmol.* 1998;82:181-185.
10. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N: Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989;246:1306-1309.
11. 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;219:983-985.
12. Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ, Goeddel DV, Ferrara N: Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science.* 1989;246:1306-1309.
13. Houck KA, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B, Leung DW: The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol Endocrinol.* 1991;5:1806-1814.
14. Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N, Williams LT: The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science.* 1992;255:989-991.
15. Terman BI, Dougher-Vermazen M, Carrion ME, Dimitrov D, Armellino DC, Gospodarowicz D, Bohlen P: Identification of the KDR tyrosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;187:1579-1586.
16. Aiello LP, Wong JS: Role of vascular endothelial growth factor in diabetic vascular complications. *Kidney Int.* 2000;58:113-119.
17. Wada M, Ogata N, Otsuji T, Uyama M: Expression of vascular endothelial growth factor and its receptor (KDR/flk-1) mRNA in experimental choroidal neovascularization. *Curr Eye Res.* 1999;18:203-213.
18. Ozaki H, Hayashi H, Vinorez SA, Moromizato Y, Campochiaro PA, Oshima K: Intravitreal sustained release of VEGF causes retinal neovascularization in rabbits and

- breakdown of the blood-retinal barrier in rabbits and primates. *Exp Eye Res.* 1997;64:505-517.
19. Goldberg MA, Schneider TJ: Similarities between the oxygen-sensing mechanisms regulating the expression of vascular endothelial growth factor and erythropoietin. *J Biol Chem.* 1994;269:4355-4359.
 20. Seo MS, Okamoto N, Viores MA, Viores SA, Hackett SF, Yamada H, Yamada E, Derevjanik NL, LaRochelle W, Zack DJ, Campochiaro PA: Photoreceptor-specific expression of platelet-derived growth factor-B results in traction retinal detachment. *Am J Pathol.* 2000;157:995-1005.
 21. Heldin CH, Ostman A, Ronnstrand L: Signal transduction via platelet-derived growth factor receptors. *Biochim Biophys Acta.* 1998;1378:79-113.
 22. Hooshmand-Rad R, Yokote K, Heldin CH, Claesson-Welsh L: PDGF alpha-receptor mediated cellular responses are not dependent on Src family kinases in endothelial cells. *J Cell Sci.* 1998;111:607-614.
 23. Viores SA, Henderer JD, Mahlow J, Chiu C, Derevjanik NL, Larochelle W, Csaky C, Campochiaro PA: Isoforms of platelet-derived growth factor and its receptors in epiretinal membranes: immunolocalization to retinal pigmented epithelial cells. *Exp Eye Res.* 1995;60:607-619.
 24. Gullberg D, Tingstrom A, Thuresson AC, Olsson L, Terracio L, Borg TK, Rubin K: Beta 1 integrin-mediated collagen gel contraction is stimulated by PDGF. *Exp Cell Res.* 1990;186(2):264-272.
 25. Yamada H, Yamada E, Ando A, Seo MS, Esumi N, Okamoto N, Viores M, LaRochelle W, Zack DJ, Campochiaro PA: Platelet-derived growth factor-A-induced retinal gliosis protects against ischemic retinopathy. *Am J Pathol.* 2000;156:477-487.
 26. Canton A, Burgos R, Hernandez C, Mateo C, Segura RM, Mesa J, Simo R: Hepatocyte growth factor in vitreous and serum from patients with proliferative diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 2000;84:732-735.
 27. Alberdi E, Aymerich MS, Becerra SP: Binding of pigment epithelium-derived factor (PEDF) to retinoblastoma cells and cerebellar granule neurons. Evidence for a PEDF receptor. *J Biol Chem.* 1999;274:31605-31612.
 28. King GL, Suzuma K: Pigment-epithelium-derived factor-a key coordinator of retinal neuronal and vascular functions. *N Engl J Med.* 2000;342:349-351.
 29. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, Bouck NP: Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science.* 1999;285:245-248.
 30. Sivalingam A, Kenney J, Brown GC, Benson WE, Donoso L: Basic fibroblast growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1990;108:869-872.
 31. Stone J, Itin A, Alon T, Pe'er J, Gnessin H, Chan-Ling T, Keshet E: Development of retinal vasculature is mediated by hypoxia-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) expression by neuroglia. *J Neurosci.* 1995;15:4738-4747.
 32. Ozaki H, Seo MS, Ozaki K, Yamada H, Yamada E, Okamoto N, Hofmann F, Wood JM, Campochiaro PA: Blockade of vascular endothelial cell growth factor receptor signaling is sufficient to completely prevent retinal neovascularization. *Am J Pathol.* 2000;156:697-707.
 33. Pournaras CJ, Tsacopoulos M, Strommer K, Gilodi N, Leuenberger PM: Scatter photocoagulation restores tissue hypoxia in experimental vasoproliferative microangiopathy in miniature pigs. *Ophthalmology.* 1990;97:1329-1333.
 34. Robbins SG, Mixon RN, Wilson DJ, Hart CE, Robertson JE, Westra I, Planck SR, Rosenbaum JT: Platelet-derived growth factor ligands and receptors immunolocalized in proliferative retinal diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:3649-3663.
 35. Murata T, Ishibashi T, Khalil A, Hata Y, Yoshikawa H, Inomata H: Vascular endothelial growth factor plays a role in hyperpermeability of diabetic retinal vessels. *Ophthalmic Res.* 1995;27:48-52.
 36. Tolentino MJ, Miller JW, Gragoudas ES, Jakobiec FA, Flynn E, Chatzistefanou K, Ferrara N, Adamis AP: Intravitreal injections of vascular endothelial growth factor produce retinal ischemia and microangiopathy in an adult primate. *Ophthalmology.* 1996;103:1820-1828.
 37. Cowley M, Conway BP, Campochiaro PA, Kaiser D, Gaskin H: Clinical risk factors for proliferative vitreoretinopathy. *Arch Ophthalmol.* 1989;107:1147-1151.
 38. Campochiaro PA, Hackett SF, Viores SA, Freund J, Csaky C, LaRochelle W, Henderer J, Johnson M, Rodriguez IR, Friedman Z, et al: Platelet-derived growth factor is an autocrine growth stimulator in retinal pigmented epithelial cells. *J Cell Sci.* 1994;107:2459-2469.
 39. Yeo JH, Sadeghi J, Campochiaro PA, Green WR, Glaser BM: Intravitreal fibronectin and platelet-derived growth factor. New model for traction retinal detachment. *Arch Ophthalmol.* 1986;104:417-421.
 40. Behzadian MA, Wang XL, Jiang B, Caldwell RB: Angiostatic role of astrocytes: suppression of vascular endothelial cell growth by TGF-beta and other inhibitory factor(s). *Glia.* 1995;15:480-490.
 41. Spilisbury K, Garrett KL, Shen WY, Constable IJ, Rakoczy PE: Overexpression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in the retinal pigment epithelium leads to the development of choroidal neovascularization. *Am J Pathol.* 2000;157:135-144.
 42. Luty G, Grunwald J, Majji AB, Uyama M, Yoneya S: Changes in choriocapillaris and retinal pigment epithelium in age-related macular degeneration. *Mol Vis.* 1999;5:35.
 43. Amin R, Puklin JE, Frank RN: Growth factor localization in choroidal neovascular membranes of age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1994;35:3178-3188.
 44. Kim S, Ng E, Kenney AG, Tolentino MJ, Connolly EJ, Gragoudas ES, Miller JW: Rat model of subretinal choroidal neovascular membrane formation: preliminary results. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1996;37:125

45. Tobe T, Okamoto N, Viores MA, Derevjanik NL, Viores SA, Zack DJ, Campochiaro PA: Evolution of neovascularization in mice with overexpression of vascular endothelial growth factor in photoreceptors. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998;39:180-188.
46. Sporn MB, Roberts AB, Wakefield LM, de Crombrughe B: Some recent advances in the chemistry and biology of transforming growth factor-beta. *J Cell Biol.* 1987;105:1039-1045.
47. Mergler S, Steinhausen K, Wiederholt M, Strauß O: Altered regulation of L-type channels by protein kinase C and protein tyrosine kinases as a pathophysiologic effect in retinal degeneration. *FASEB J.* 1998;12:1125-1134.
48. Seo MS, Kwak N, Ozaki H, Yamada H, Okamoto N, Yamada E, Fabbro D, Hofmann F, Wood JM, Campochiaro PA: Dramatic inhibition of retinal and choroidal neovascularization by oral administration of a kinase inhibitor. *Am J Pathol.* 1999;154:1743-1753.
49. Duh E, Aiello LP: Vascular endothelial growth factor and diabetes: the agonist versus antagonist paradox. *Diabetes.* 1999;48:1899-1906.
50. Juarez CP, Muino JC, Guglielmone H, Sambuelli R, Echenique JR, Hernandez M, Luna JD: Experimental retinopathy of prematurity: angiostatic inhibition by nimodipine, ginkgo-biloba, and dipyridamole, and response to different growth factors. *Eur J Ophthalmol.* 2000;10:51-59.