



**T.C.**

**CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GÖZ KAPAĞI, KONJUNKTİVA VE ORBİTA TÜMÖRLÜ  
HASTALARDA BAP1 VE BAP1 İLE ETKİLEŞİMDE BULUNAN  
BAZI GENLERİN EKSPRESYON PROFİLLERİNİN  
BELİRLENMESİ**

**AYÇA TAŞ**

**DOKTORA TEZİ**

**TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI**

**SİVAS- 2017**

T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GÖZ KAPAĞI, KONJUNKTİVA VE ORBİTA TÜMÖRLÜ  
HASTALARDA *BAP1* VE *BAP1* İLE ETKİLEŞİMDE BULUNAN  
BAZI GENLERİN EKSPRESYON PROFİLLERİNİN  
BELİRLENMESİ






AYÇA TAŞ

DOKTORA TEZİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI  
PROF. DR. YAVUZ SİLİĞ

SİVAS- 2017

**“Göz kapağı, konjunktiva ve orbita tümörlü hastalarda BAP1 ve BAP1 ile etkileşimde bulunan bazı genlerin ekspresyon profillerinin belirlenmesi”** adlı **Doktora Tezi**, Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyokimya** Ana Bilim Dalında **Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan	Prof.Dr. Sevtap BAKIR	
Üye	Prof. Dr. Süleyman AYDIN	
Üye	Doç.Dr. Ercan ÖZDEMİR	
Üye	Yrd.Doç.Dr. İsmail SARI	
Üye (Danışman)	Prof.Dr. Yavuz SİLİĞ	

ONAY

Bu tez çalışması, ..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyde AKIN POLAT  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması, Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No. T- 687)

Çalışmalarım sırasında bana destek olan sevgili ailem ve tüm arkadaşlarıma...

## ÖZET

# GÖZ KAPAĞI, KONJUNKTİVA VE ORBİTA TÜMÖRLÜ HASTALARDA *BAP1* VE *BAP1* İLE ETKİLEŞİMDE BULUNAN BAZI GENLERİN EKSPRESYON PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Ayça TAŞ

Doktora Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ

2017, 104 Sayfa

Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörler dünya genelinde tüm kanser türleri arasında nadir görülen fakat optomolojide en yaygın tümör tiplerindedir. Göz kapağı birçok doku tipi içerdiğinden dolayı, benign ve malign tümörlerin çeşitli tipleri içerebilmektedir. Göz kapağı tümörlerinin % 90'dan fazlasını bazal hücre karsinomu oluşturmaktadır. Çalışma grubumuzun büyük bir kısmı da bazal hücre karsinomu hastalarından oluşuyordu.

BRCA1 ile ilişkili protein-1 (*BAP1*) bir tümör baskılayıcı genidir ve BRCA1 proteinin RING finger domaini etkileşime giren bir proteindir. O-bağlı N-asetil transferaz (OGT), N-asetilglukozaminin treonin ya da serin rezidülerine O-glikozidik bağla eklenmesini katalizler. Ying Yang1 (YY1), *BAP1* ve OGT ile etkileşime giren bir transkripsiyon faktörüdür. Biz bu çalışmada göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü 20 hastada *BAP1*, OGT ve YY1 ekspresyon düzeylerini Real Time PCR (RT-PCR), Enzim bağlı immünosorbent Analiz (ELİSA) ve immünohistokimya (IHK) gibi yöntemleri ile belirledik. RT-PCR yöntemiyle yapılan analizlerde *BAP1*, OGT ve YY1 ekspresyon düzeylerin artış gözlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadı ( $p>0,05$ ). Ancak ELİSA ve IHK gibi yöntemleriyle yapılan analizde *BAP1* ve YY1 ekspresyon düzeylerinde kontrol gruplarına göre anlamlı bir artış kaydedildi ( $p<0,05$ ). Dolayısıyla buna benzer daha geniş kapsamlı araştırmalarda birey sayısının artırılması; göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü oluşumunda risk faktörlerinin

belirlenmesi açısından anlamlı sonuçlar elde etmemize katkı sağlayabilir. Daha anlamlı değerler elde edilmesiyle çeşitli tümörlerde büyük öneme sahip olan BAP1, OGT ve YY1 proteinlerin bu tür hastalıkların teşitisinde bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği kanısındaız.

**Anahtar Kelimeler:** Gz, Tümör, *BAP1*, *OGT*, *YY1*, Ekspresyon



## ABSTRACT

### DETERMINATION OF THE EXPRESSION PROFILES OF BAP1 AND BAP1 ASSOCIATED SEVERAL GENES IN PATIENTS WITH EYELID, CONJUNCTIVA AND ORBITA TUMOURS

Ayça TAŞ

PhD Thesis, Department of Biochemistry

Supervisor: Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ

2017, 104 Pages

Eyelid, conjunctival and orbital tumors are rare in all types of cancer worldwide but they are the most common tumor types in optomology. Because the eyelid contains many types of tissue, benign and malignant tumors may contain various types. More than 90% of eyelid tumors constitute basal cell carcinoma. Most of our study group consisted of patients with basal cell carcinoma. More than 90% of eyelid tumors constitute basal cell carcinoma. The majority of our study group consisted of patients with basal cell carcinoma.

BRCA1-associated protein-1 (BAP1) is a tumor suppressor gene that interacts with the RING finger domain of the BRCA1 protein. O-linked N-acetyl transferase (OGT) catalyzes the attachment of O-glycosidic linkages to N-acetylglucosamine threonine or serine residues. Ying Yang1 (YY1) is a transcription factor that interacts with BAP1 and OGT. In this study, we determined BAP1, OGT and YY1 expression levels in 20 patients with eyelid, conjunctival and orbital tumors by using Real Time PCR (RT-PCR), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) and immunohistochemistry (IHC). Although the expression levels of BAP1, OGT and YY1 were increased in RT-PCR analysis, no statistically significant correlation was observed ( $p > 0.05$ ). However, a statistically significant correlation was found between BAP1 and YY1 expression levels in ELISA and IHC ( $p < 0,05$ ). Increasing the number of individuals in a wider range of similar studies; Eyelid, conjunctival, and orbital tumor formation. By obtaining more meaningful values, we believe that BAP1, OGT and YY1



proteins, which have large prevalence in various tumors, can be used as a biomarker in the diagnosis of such diseases.

**Keywords:** Eye, Tumour, *BAP1*, *OGT*, *YY1*, Expression



## TEŞEKKÜR

Bu tezi hazırlamaya başladığım andan itibaren desteğini esirgemeyen ve bana her konuda yardımcı olan danışman hocam Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ'e, destek, sabır ve anlayışından dolayı teşekkür ederim. Doktora eğitimim süresince bilgi birikimlerinden yararlandığım ve üzerimde çokça emekleri olan Biyokimya Anabilim Dalı' nın tüm öğretim üyelerine ve tüm çalışanlarına, çalışma grubunun oluşturulması sırasında katkı sunan Prof. Dr. Haydar ERDOĞAN'a teşekkür ederim. İstatistiksel konularda her zaman yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Ziyet ÇINAR'a, çalışmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan, benden desteğini esirgemeyen dostlarım, Erkan GÜMÜŞ, Gonca DÖNMEZ, Solmaz YÜKSEL, Tuğba AĞBEKTAŞ, Cemile ZONTUL, Esmâ ÖZMEN, Esra ÇEVİK, Selenay TAŞ, Serdar GÜNER ve Ahmet Şevki TAŞKIRAN'a teşekkür ederim. Tüm hayatım ve eğitimim boyunca benden hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan ve bana olan güvenlerini daima hissettiğim, annem Lale TAŞ'a, babam Metin TAŞ'a, kardeşlerime ve yeğenim Çağan TAŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>vi</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>5</b>
2.1 Göz Kapağı Anatomisi.....	5
2.1.1 Göz Kapağı Tümörleri .....	5
2.1.1.1 Benign Göz Kapağı Tümörleri.....	5
2.1.1.2 Malign Göz Kapağı Tümörleri.....	6
2.1.1.2.1 Bazal Hücre Karsinomu .....	6
2.1.1.2.2 Skuamöz Hücre Karsinomu .....	7
2.1.1.2.3 Sebace Hücre Karsinomu .....	7
2.1.1.2.4 Malign Melonoma.....	8
2.2 Konjonktiva Anatomisi .....	8
2.2.1 Konjonktiva Tümörleri .....	9
2.2.1.1 Konjonktiva Skuamöz Tümörler.....	9
2.2.1.2 Benign Herediter İntraepiteliyal Diskeratozis.....	9
2.2.1.3 Psödoepitelyematöz Hiperplazi Keratoakantoma .....	9
2.2.1.4 İnvaziv Skuamöz Hücreli Karsinom .....	9
2.3 Orbita Anatomisi.....	9
2.3.1 Orbita Tümörleri .....	10
2.4 BAP1 .....	10
2.5 BAP1 İşlevi.....	11
2.6 BAP1 ve Hastalıklar.....	14
2.7 OGT .....	15
2.8 OGT İşlevi.....	15

2.9 OGT ve Hastalıklar .....	17
2.10 YY1 .....	18
2.11 YY1 İşlevi .....	18
2.12 YY1 ve Hastalıklar.....	20
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>22</b>
3.1 Kullanılan cihazlar .....	22
3.2. Kullanılan plastik malzemeler .....	22
3.3. Kullanılan kimyasallar ve sarf malzemeler.....	23
3.4. Kullanılan Tamponlar ve Çözeltiler.....	24
3.4.1 Bouin Çözeltisi.....	24
3.4.2 % 10' luk Tamponlanmış Nötral Formalin (pH=7) .....	24
3.4.3 Na-Sitrat Tamponu.....	24
3.4.4 Tris EDTA Tamponu .....	24
3.4.5 Peroksidaz Bloklama Çözeltisi .....	24
3.4.6 Yıkama Çözeltisi.....	24
3.5.1 Hasta ve Kontrol Grubu .....	25
3.5.2 Real Time PCR metoduyla Gen ekspresyon analizi .....	25
3.5.2.1 Tümör dokusundan RNA izolasyonu.....	25
3.5.2.2 Kontrol Dokusundan RNA izolasyonu .....	26
3.5.2.3 cDNA Sentezi.....	27
3.5.2.4 Eş zamanlı PCR ile BAP1, OGT ve YY1 genlerinin ekspresyonlarının belirlenmesi.....	29
3.5.2.5 Primerler.....	30
3.5.2.6 RT-PCR Ürünlerinin Özgüllüğünün Belirlenmesi.....	30
3.5.2.7 RT-PCR Verilerinin Analizi .....	30
3.5.3.1 BAP1, OGT ve YY1 protein düzeylerinin ELİSA yöntemi ile Analizi .....	31
3.5.3.2 ELİSA verilerinin Değerlendirilmesi .....	32
3.5.4.1 İmmünohistokmyasal Analiz .....	32
3.5.4.2 İmmünohistokmyasal Boyama Protokolü .....	32
3.5.4.3 İmmünohistokmyasal Değerlendirme Yöntemi .....	33
<b>4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ .....</b>	<b>34</b>
<b>5. BULGULAR.....</b>	<b>35</b>
5.1. Hasta Bilgileri .....	35

5.2. Real Time-PCR sonuçlarının istatistiksel analizi.....	36
5.3. BAP1, OGT ve YY1 Protein Düzeyleri.....	40
5.3.1 Hasta ve kontrol grubunun demografik bilgileri.....	40
5.3.2 ELİSA verilerinin istatistiksel analiz sonuçları .....	41
5.4 İmmünohistokimya Analiz Sonuçları .....	43
5.4.1 BAP1 Protein Ekspresyonu.....	43
5.4.2 OGT Protein Ekspresyonu .....	45
5.4.3 YY1 Protein Ekspresyonu.....	47
<b>6. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....</b>	<b>54</b>
<b>7. KAYNAKLAR .....</b>	<b>65</b>
<b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>82</b>
EK-1 .....	83
EK-2.....	84

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. 1 BAP1 geni ve BAP1 geni ile etkileşimde bulunan genler [20] .....	3
Şekil 2. 1 BAP1 geninin kromozomal lokalizasyonu (OMİM Veri bankası) .....	10
Şekil 2. 2 a BAP1 protein yapısı [72]. Ubiquitin C-terminal hidroksilaz (UCH), Meme kanseri duyarlılık proteini tip 1 (BRCA1), Forkhead transkripsiyon faktörleri (FoxK1/K2), Ying Yang1 (YY1) ve BRCA1 ile ilişkili RING domain protein (BARD1).....	11
Şekil 2. 3 BRCA1 ile ilişkili protein-1 (BAP1)'in etki mekanizması [76]. Meme kanseri duyarlılık proteini tip 1 (BRCA1), BRCA1 ile ilişkili RING domain protein (BARD1), Additional sex combs like-1 (ASXL1/2), Host cell factor 1 (HCF1), Forkhead transkripsiyon faktörleri (FoxK1/K2), O-bağlı N-asetil transferaz (OGT), Ying Yang1 (YY1).....	12
Şekil 2. 4. BRCA1 ile ilişkili protein-1 (BAP1) ve Additional sex combs like-1 (ASXL1), birçok epigenetik modifikasyon üzerindeki etkisi yoluyla gen ekspresyonunu düzenler. BAP1 ve ASXL1 fiziksel olarak etkileşime girer ve ASXL1, BAP1'in enzimatik aktivitesi için önemlidir. BAP1, hücre döngüsünü düzenleyen Host cell factor 1 (HCF1) ve O-bağlı N-asetil transferaz (OGT) proteinlerinin deubiquitinasyonunu sağlar.....	13
Şekil 2. 5 OGT geninin kromozomal lokalizasyonu (OMİM veri bankası) .....	15
Şekil 2. 6 OGT'nin etki mekanizması. Beslenme sonrası hekzozamin biyosentez yoluyla aracılığı ile proteinlerin O-glikolizasyonu[97]. O-bağlı GlcNAc transferaz (OGT), O-GlcNAcase (OGA), DNA bağlayıcı protein (Myc).....	17
Şekil 2. 7 YY1 geninin kromozomal lokalizasyonu (OMİM veri bankası).....	18
Şekil 2. 8 YY1 proteinin çinko-parmak motifi [112].....	19
Şekil 5. 1 BAP1 geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B). .....	37
Şekil 5. 2 OGT geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B).....	37
Şekil 5. 3 YY1 geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B). .....	37
Şekil 5. 4 GAPDH geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B). .....	38
Şekil 5. 5 Kontrol grubu temel alınarak tümör grubunda (grup1), BAP1, OGT ve YY1 genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması .....	40
Şekil 5. 6 BAP1 proteininin standart eğrisi.....	41
Şekil 5. 7 OGT proteininin standart eğrisi .....	42
Şekil 5. 8 YY1 proteininin standart eğrisi.....	42
Şekil 5. 9 BHK A-M ve kontrol N-S örneklerinde BAP1 immunolokalizasyonu. Tümör hücreleri (Şekil 5.9 A, C-D, F; ok), stromal hücreler (Şekil 5.9 A, C-D; ok başı), epitel hücreler (Şekil 5.9 A, F; yıldız), kıl follikülü (Şekil 5.9 D; ok başı), kas doku (Şekil 5.4.1 G-H; ok başı) yağ hücreleri (Şekil 5.9 J; ok başı), ter bezi (Şekil 5.9 K; ok başı) ve kan damarları (Şekil 5.9 L; ok başı)'nda BAP1 immunolokalizasyonu. Beyaz yıldız; melanin pigmentasyonu. E, I, M; BHK için negatif kontrol. S; kontrol dokuları için negatif kontrol. Kromojen; AEC, zıt boyama; Hematoksilen.....	45

Şekil 5. 10 BHK A-M ve kontrol N-S örneklerinde OGT immunolokalizasyonu. Tümör hücreleri (Şekil 5.10 C-D; ok), epidermis (Şekil 5.10 F; yıldız), epitel hücreleri (Şekil 5.10; ok başı), stromal hücreler (Şekil 5.10 D, F; ok başı), yağ doku (Şekil 5.10 H, I; ok başı) kas dokusu (Şekil 5.10 G; ok başı), ter bezi (Şekil 5.10 J; ok başı), kan damarları (Şekil 5.10 K-L; ok başı)'nda OGT immunolokalizasyonu. Beyaz yıldız; melanin pigmentasyonu. E, M; BHK için negatif kontrol. S; kontrol dokuları için negatif kontrol. Kromojen; AEC, zıt boyama; Hematoksilen..... 47

Şekil 5. 11 BHK A-M ve kontrol N-S örneklerinde YY1 immunolokalizasyonu. Tümör hücreleri (Şekil 5.11 A, C-D, F; ok), stromal hücreler (Şekil 5.11 D, H; ok başı), kıl follikülü (Şekil 5.11 F; ok başı), kas doku (Şekil 5.11 G-H; ok başı), yağ doku (Şekil 5.11 J; ok başı), ter bezi (Şekil 5.11 K; ok başı) ve kan damarları (Şekil 5.11 L; ok başı)'nda YY1 immunolokalizasyonu. Beyaz yıldız; melanin pigmentasyonu. E, M; BHK için negatif kontrol. S; kontrol dokuları için negatif kontrol. Kromojen; AEC, zıt boyama; Hematoksilen..... 49

Şekil 5. 12 BHK ve kontrol dokularında BAP1 (A), OGT (B) ve YY1 (C) boyanma skorları..... 51

Şekil 5. 13 (A) BAP1 proteinine ait boyanma % skorları. BAP1 proteinini; BHK'lu dermiste, kontrol dermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda ekspres edilmektedir <sup>a</sup>P<0.05. BHK'lu epidermiste ise BAP1 protein ekspresyonu, kontrol dermis ve epidermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda ekspres edilmektedir <sup>b</sup>P<0.05. (B) OGT proteinine ait boyanma % skorları. OGT proteinini; BHK'lu dermiste, BHK ve kontrol epidermislerinden istatistiksel olarak daha yüksek oranda ekspres edilmektedir <sup>a</sup>P<0.05. BHK'lu epidermiste ise OGT protein ekspresyonu, kontrol dermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda ekspres edilmektedir <sup>b</sup>P<0.05. OGT proteinini; kontrol epidermisinde kontrol dermisine göre istatistiksel olarak daha düşük oranda ekspres edilmektedir <sup>c</sup>P<0.05. (C) YY1 proteinine ait boyanma % skorları. YY1 proteinini; BHK'lu dermiste, BHK ve kontrol epidermislerinden istatistiksel olarak daha yüksek oranda ekspres edilmektedir <sup>a</sup>P<0.05. BHK'lu epidermiste ise YY1 protein ekspresyonu, kontrol dermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda ekspres edilmektedir <sup>b</sup>P<0.05. YY1 proteinini; kontrol epidermisinde kontrol dermisine göre istatistiksel olarak daha düşük oranda ekspres edilmektedir <sup>c</sup>P<0.05..... 53

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3. 1 cDNA sentez Kit İçeriği .....	27
Çizelge 3. 2 Genomik DNA eliminasyon karışımı .....	28
Çizelge 3. 3 Reverse Transkriptaz Karışımı .....	28
Çizelge 3. 4 qRT-PCR koşulları .....	29
Çizelge 3. 5 Döngü koşulları.....	29
Çizelge 3. 6 Real Time PCR yönteminde kullanılan primerler, üretici firma ve katalog numaraları.....	30
Çizelge 3. 7 ELİSA kitlerinin Katolog Numarası .....	31
Çizelge 3. 8 ELİSA Kit içeriği.....	31
Çizelge 5. 1 Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hastaların histopatolojik tipleri .....	35
Çizelge 5. 2 Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hastaların demografik bilgileri.....	36
Çizelge 5. 3 RT-PCR verilerinin kontrol ve tümör dokusu gruplarında CT, kat değişim ve kat düzenlenmesi ve Student's t-testi sonuçları.....	39
Çizelge 5. 4 Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hasta ve kontrollerin demografik bilgileri.....	41
Çizelge 5. 5 Hasta ve Kontrol grubunda BAP1, OGT ve YY1 düzeyleri.....	43
Çizelge 5. 6 BHK ve kontrol dokularında BAP1, OGT ve YY1 boyanma skorları .....	50



## KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	Amerika Birleşik Devletleri
<b>AIDS</b>	Acquired Immune Deficiency Syndrome
<b>Asp</b>	Aspartik Asit
<b>BAP1</b>	<i>BRCAl</i> associated protein-1 (ubiquitin carboxy-terminal “hydrolase)
<b>BHK</b>	Bazal hücre karsinomu
<b>BRCA1</b>	The breast cancertype 1 susceptibility protein
<b>ChIP</b>	Kromatin immünopresipitasyon
<b>CT</b>	Cycle Treshold
<b>Cys</b>	Sistein
<b>1305del-G</b>	<i>BAP1</i> geninin 13. Ekzonunda 1-bp delesyonu
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>DPX</b>	Dokular kapatma medyumu
<b>FoxK1/K2</b>	Forkhead transkripsiyon faktörleri
<b>GAA</b>	Asit alfa-glukosidaz
<b>HCF1</b>	Host cell factor 1
<b>His</b>	Histidin
<b>HRP-AEC</b>	Biyotinle konjuge keçi anti-polivalent kit
<b>kD,kDa</b>	Kilodalton
<b>mRNA</b>	Messenger RNA
<b>OGA</b>	O-GlcAsetilaz
<b>OGT</b>	O-bağlı GlcNAc transferaz
<b>PARP</b>	Poli ADP RibozPolimeraz
<b>PGC1<math>\alpha</math></b>	Peroksizomlarda aktivatör reseptör- $\gamma$ -co-aktivatör 1 $\alpha$
<b>PRCs</b>	Polycomb grup baskılayıcı kompleksler

<b>RNA</b>	Ribonükleik asit
<b>PR-DUB</b>	Polycomb grup baskılayıcı deubiquitinaz kompleksi
<b>RT-PCR</b>	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
<b>SBK</b>	Sebase bezi karsinomu
<b>SHK</b>	Skvamöz hücre karsinomu
<b>UCHs</b>	Ubiquitin C-terminal hidroksilazlar
<b>UV</b>	Ultraviyole
<b>UVA</b>	Ultraviyole A ışını
<b>UVB</b>	Ultraviyole B ışını
<b>YY1</b>	Ying Yang 1

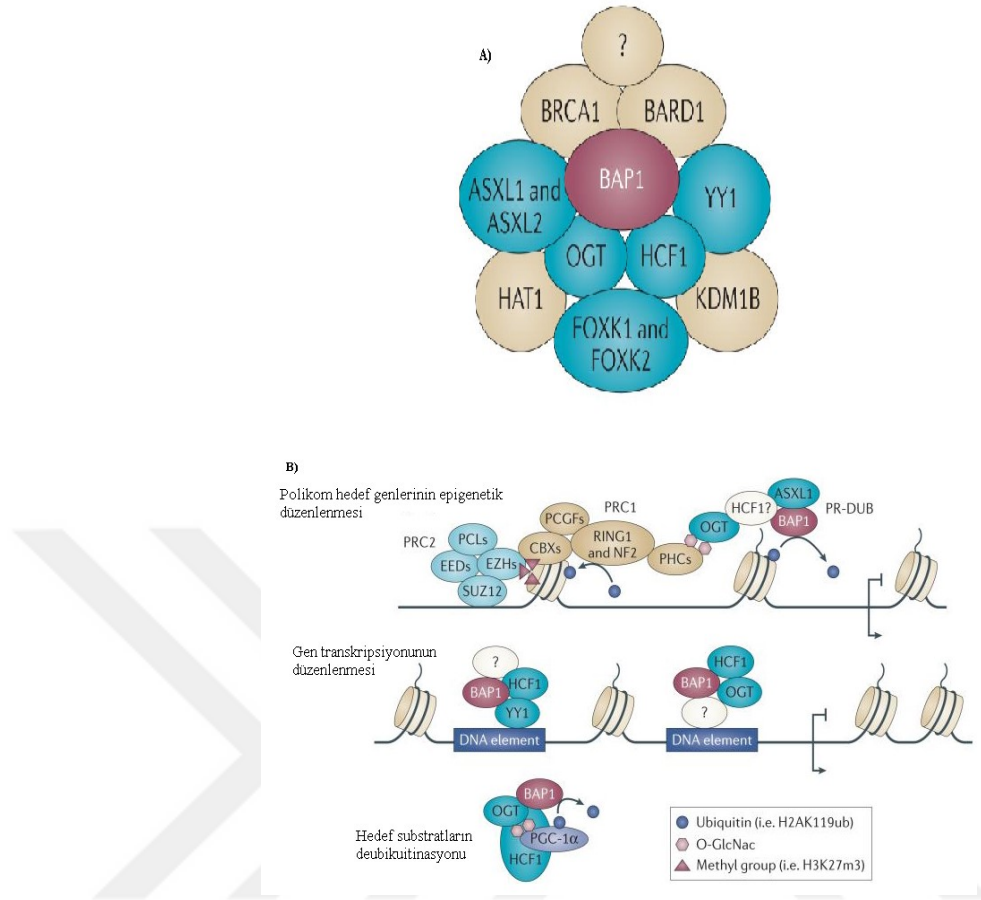
## 1. GİRİŞ

Son yıllarda kanser tüm dünyada artış gösteren bir hastalıktır [1]. Diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye’de de insidans ve ölümler arasındaki yeri açısından gerçekçi bir rakam vermek olası değilse de kanserden ölümler kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırayı almaktadır [2]. Ülkelerin gelişmişlik düzeylerine göre sırası değişmekle beraber tüm dünyada ölüme yol açan ikinci ya da üçüncü hastalık grubudur [3]. Dünya sağlık örgütünün yapmış olduğu istatistiklere göre en sık görülen kanser türleri ise akciğer, prostat, meme, mesane, kolorektal ve mide kanserleri olarak sıralanmaktadır. Göz kapağı ve orbital tümörlerin sıklığına bakıldığında en sonlarda yer aldığı görülmektedir. 2014 dünya kanser istatistiklerine göre 1,440’ı kadın ve 1,290’ı erkek olmak üzere toplamda 2,730 bireyde orbital ve diğer göz kapağı tümörleri saptanmıştır [4].

Göz kapakları, gözün görme işlevi ve anatomik bütünlüğü sağlıklı olarak sürdürebilmesine destek olan, cilt mukoza, kas, salgı bezi gibi çeşitli dokuların bir araya gelmesiyle oluşmuş yapılardır [5]. Göz kapağı etrafında benign ya da malign lezyonlar görülebilir [6]. Malign göz tümörleri nadir olarak görülür, fakat bu tür tümörlerin teşhis ve tedavisi göz uzmanlarının ilgi odağıdır [7]. Gözü etkileyen asıl göz kapağı malign tümörleri Basal Hücre Karsinomu (BHK), yağ bezi hücre karsinomu, skuamöz hücre karsinomu ve malign melanomlardır [8]. BHK, özellikle batı ülkelerinde en yaygın görülen malign göz tümörleridir [9]. Konjunktival malign epitelyal tümörler ise nadir görülen tümör tipidir. Fakat bu tümörlerden konjunktivanın malign lezyonları en sık gözlenenidir. Bu tümörler genellikle limbusa doğru uzanır ve sıklıkla konjunktiva ve korneayı etkiler hatta bazen fornikse kadar yayılım gösterir [10]. Malign epitelyal tümörler genellikle göz kapağı içerisinde lokalizedir. Tedavi edilmediklerindeki görüş ve oküler kaybına neden olurlar [11]. Konjunktival tümörler kadınlarda erkeklerden daha sık rastlanır ve tipik olarak ailesel UV’ye maruz kalan orta yaşlı bireylerde meydana gelirler [10]. Sigara dumanı ve petrol ürünlerine maruz kalanlarda, AIDS ve kronik papilloma virüs enfeksiyon hikayesi olan bireylerde görülme sıklığı yüksektir [10,12]. Göz tümörlerinin diğer bir tipide orbital tümörlerdir. Gözün orbital bölgesinde çıkan koristomalar, çeşitli mezankimal doku tümörleri, lakrimal dokuların epitelyal tümörleri,

lenfoid neoplazmlar ve diğerk çeşitli tümörlere rastlanabilir. Orbital tümörler primer ya da bazı kanser türlerinin metastazı sonucu sekonder olabilirler [13]. Primer orbital tümörlerinin çocuklarda görülme oranı erişkinlere göre daha yüksektir [14].

Normal büyüyen hücrelerimiz bazı genler tarafından kontrol edilir. Bu kontrol hücrenin ya yeni hücrelere bölünmesi ya da ölümü ile sağlanır. Protoonkogenlerin mutasyona uğramasıyla ökaryot hücrelerde tümör oluşmasını sağlayan genler onkogenler olarak bilir. Doğru zamanda hücre bölünmesini yavaşlatan ya da hücre ölümüne yardımcı olan genlerde tümör baskılayıcı genler olarak adlandırılır. Kalıtsal olabilen bazı DNA hasarları birçok hastalık için risk faktörü oluşturmaktadır. Örneğin, BRCA1 ile ilişkiliprotein-1 (ubiquitin carboxy-terminal hydrolase) (BAP1) tümör baskılayıcı geninde mutasyona sahip bazı insanlarda göz melanom risk artışı gözlenmiştir [15]. BAP1, deubiquitinasyon aktivitesi ve nükleer lokalizasyon gibi hücre döngüsünün kontrolünde yer alan deubiquitinasyon yapan bir enzimdir [16]. Memelilerde dört tane Ubiquitin C-terminal hidroksilaz (UCHs) tanımlanmıştır. Bunlar BAP1, UCH-L1, UCH-L3 ve UCH-37'dir [17]. UCH'lar ubiquitin C-terminalindeki eklenti ürünlerinin ortadan kaldırılmasını katalizleyen deubiquitinasyon yapan enzimlerin küçük bir alt sınıfıdır. UCH'lar , Cys, His ve Asp gibi amino asitlerle korunmuş rezidüel tarafından biçimlendirilmiş katalitik domaine sahiptir [18]. Son zamanlarda yapılan çalışmada BAP1 genindeki mutasyonların çeşitli kanser türleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. BAP1 geni, genomik bir bölge olan kromozom 3q21.1 de lokalize ve deubikuitinasyon gerçekleştiren enzimlerin bir alt sınıfıdır [19]. BAP1 geni tarafından kontrol edilen önemli yollar vardır (Şekil 1.1) [20].



**Şekil 1. 1** *BAP1* geni ve *BAP1* geni ile etkileşimde bulunan genler [20]

*BRCA1* ile ilişkili *protein-1 (BAP1)* geni ile etkileşime giren birçok gen olduğu Şekil 1’de görülmektedir. Bunlardan, *O*-bağlı *N*-asetil transferaz (*OGT*) ve *Ying Yang1* (*YY1*) genleri öne çıkmaktadır. *OGT* enzimi tarafından protein glikolizasyonu *O*-bağlı *N*-asetilglikoaminasyon (*O*-GlcNac) yoluyla gerçekleştirilen post-translasyonel modifikasyondur. *OGT*, nükleer, sitoplazmik ve mitokondriyal proteinlerin serin ve treonin gibi amino asit rezidülerine tek bir *N*-asetilglikozamin grubunun eklenmesini katalizler [21]. *OGT* hekzoamin biyosentetik yolağı ile sentezlenen yüksek enerjili bir metabolit olan üridin 5’-difosfat (UDP)-GlcNac substratından hedef protein üzerinde *O*-GlcNac şeker kısmını ekler [22,23]. Diyabet, kalp hastalıkları, nörodejeneratif bozukluklar ve kanser gibi metabolik hastalıkların patolojik olarak ilerlemesinde proteinlerin anormal *O*-GlcNac’nin yol açtığı gösterilmiştir [24–26]. *O*-GlcAsetilaz (*OGA*) ve *OGT* olmak üzere fosforilasyon ve *O*-GlcNac birbirinden farklı iki enzim tarafından kontrol edilir [21]. Kanserde *OGT* ve *OGA*’nın anormal ekspresyonu ve *O*-GlcNac sinyalindeki değişimlerin klinik önemi henüz tam olarak bilinmemektedir.

Farklı tümör tipleri üzerinde yapılan çalışmalarda O-bağlı  $\beta$ -D-N-asetilglikozamin modifikasyonlarının yüksek seviyede olduğu ve OGT ve/veya OGA seviyelerinde de önemli miktarda değişimler olduğu kaydedilmiştir. Kanser hastalarında yapılan başka bir çalışmada ise kanser dokularında OGT ve O-GlcNAc modifikasyonlarının her ikisinin aşırı ekspresyonu gösterilmiştir [27–29].

*BAP1* ile etkileşimde bulunan diğer bir gen ise *YY1*'dir. *YY1* bir ubiquitiöz olan transkripsiyon faktörüdür. Polycomb grup protein ailesinin bir üyesidir [30]. *YY1* proteini, aktivatör yada baskılayıcı fonksiyonuyla karakterize iki spesifik domain ile dört tane C2H2-tip çinko-parmak motifleri içerir [31]. *YY1*'in, embriyogenez, farklılaşma, replikasyon ve hücre proliferasyonu gibi normal biyolojik süreçte temel bir role sahip olduğu bilinmektedir. *YY1* aktivitesi, transkripsiyon faktörleri ve sitoplazmik proteinler tarafından düzenlenir. Bu sitoplazmik proteinler *YY1* genini ya aktive eder ya da tamamen baskılayarak etkinliğini düzenler. Bundan dolayı *YY1*'in fonksiyonu ve ekspresyonu hücre döngüsü fazlarının ilerlemesiyle yakından ilişkilidir. Ancak bu mekanizma henüz tam olarak açık değildir [32]. Dharmaraj ve ark. (2009) tarafından *YY1* geni ekspresyon düzeylerinin akciğer, kolon ve ince bağırsakta çok düşük düzeyde olduğunu saptarken iskelet ve kalp kasında ise çok yüksek düzeyde belirlemişler [33].

Bu çalışmada; nadir görülen tümör tiplerinden olan göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hastalarda, *BAP1* ve *BAP1* ile etkileşimde bulunan *OGT* ve *YY1* genlerinin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 Göz Kapağı Anatomisi

Göz kapakları gözyaşının kornea ve konjonktiva yüzeyine homojen dağılmasını sağlayarak kurummasını önler göze giren ışık miktarını sınırlayan ve gözyaşının lakrimal sisteme drenajından ve göz küresinin korunmasından sorumlu olan koruyucu yapılardır [34,35]. Bu görevinin yanı sıra gözü yabancı cisimlere karşı korur. Göz kapakları elips şeklinde ve birbirine simetrik yapılardır. İç kantustan dış kantusa kadar olan mesafe 30 mm'dir. Göz kapaklarının birbirine bakan serbest kenarları ortalama 2 mm genişliğinde olup çok katlı yassı epitel dokuyla örtülmüş ve soluk renktedir. İç tarafta serbest kenarlar yuvarlak bir köşe yaparak birleşirler. Serbest kenarların iç köşeye yakın parçalarında kirpik bulunmaz ve hafif bir kabartı üzerinde gözyaşı kanalcıklarının delikleri görülmektedir. Serbest kenarları arasında kalan aralığa rima palpebrum denir. Aralığın genişliği ve şekli ırka ve şahsa göre değişebilmektedir [36].

#### 2.1.1 Göz Kapağı Tümörleri

Göz kapağı, konjunktiva, intraoküler ve orbital tümörler, deri kanserleri optimolojide en yaygın görülen tümör tiplerindedir. Bunlar arasında deri kanserleri yaşlı hastalarda güneş ışınlarına maruz kalmayla doğru orantılıdır. Amerika'da her yıl 60000 kişide malign göz kapağı tümörü teşhis edilmektedir. Göz kapağı birçok farklı doku tipi içerdiğinden dolayı, benign veya malign tümörlerin çeşitli tipleri gözükabilir. Bazen bu tümörler şalazyon gibi inflamatuvar göz hastalıklarını taklit ederler [37,38]. Bu tümörler yüz tümörlerinin %15'ini ve bütün kantus tümörlerin %5-10'unu oluşturmaktadır. 60 yaşından sonra maksimum insidans gösterirler ve en yaygın tümörler göz kapağının en iç kısmında ve kantus altında yerleşmiş halde bulunanlardır [39].

##### 2.1.1.1 Benign Göz Kapağı Tümörleri

Benign kapak tümörleri tüm kapak tümörlerinin yaklaşık %73-86'sını oluşturmaktadır. Benign kapak tümörleri yavaş büyümeleri nedeniyle hastaların birçoğu hekime başvurmamakta ve tanı konulan olgularda ise çoğu zaman cerrahi yapılmamaktadır. Bu nedenle histopatolojik inceleme çoğu olguda yapılmamaktadır.

Göz kapağının benign lezyonları arasında en sık; melanositik nevüs, seboreik keratoz, skuamöz papillom ve epidermoid kist görülmektedir [36].

### **2.1.1.2 Malign Göz Kapağı Tümörleri**

Malign deri tümörleri yaygın olarak göz kapağı ve göz çevresi etrafında görülmektedir. Orbital invaziv tümörler ölümcül cilt neoplazilerinin oluşmasında büyük öneme sahiptir. Bazal hücre karsinomu (BHK), skuamöz hücre karsinomu (SHK), sebace bezi karsinomu (SBK) ve malign melanomalar orbital invazyonla sonuçlanan en sık görülen deri kanserleridir. Göz kapağı ve göz çevresindeki tümörlerin çıkartılmasındaki gecikme agresif invazif tümörlerin orbitale hızlı bir şekilde yayılmasına neden olabilmektedir [40].

#### **2.1.1.2.1 Bazal Hücre Karsinomu**

Göz kapağının en sık görülen malign tümörü olup ilk defa 1827 yılında Arthur Jacob tarafından tanımlanmıştır [41–43]. BHK, göz kapağında en yaygın görülen deri tümörlerindedir. BHK'ları malign göz kapağı tümörlerinin % 90'ından sorumludur. Bu tür tümörler nadir olarak metastaz yapmaktadır. Bu tür tümörlerin baş-boyun kısmına yayılması hastalığın ilerlemesine ve ölüm oranının artmasına neden olur. BHK'lu hastaların ölüm oranının % 1–11 olduğu bildirilmiştir. Bu tür tümörler tamamen tedavi edilmediğinde ya da geç teşhis edildiğinde beyine metastazla sonuçlanıp ölümüne neden olurlar [44]. Erkek cinsiyet, beyaz ırk, ileri yaş, konjonktivit, dermatit gibi kronik enfeksiyonlar, arsenik, UVB, UVA maruziyeti, yanık, travma, iyonize radyasyon tedavisi, arsenik, radyoterapi, güneş ışığı BHK neden olabilecekleri düşünülmektedir [35,45–48]. UV ışınları ya direk olarak absorpsiyon yoluyla ya da kimyasal mekanizmalar aracılığı ile DNA hasara yol açmaktadır. BHK'nun her biri farklı biyolojik davranışa ve histopatolojiye sahip dört tipi mevcuttur. Bunlar: nodüler ülseratif BHK, sertleşen deri BHK, yüzeysel çok odaklı ve bazoskümoz BHK'larıdır. En yaygın görülen BHK'u nodüler ülseratiftir. Tüm tümör tiplerinin % 75'ini oluşturur. Nodüler ülseratif BHK'ları başlangıçta yarı saydam ve papiller yapıdadır. Bu papiller yapı kan yoluyla beslenerek nekrozis ile iyice büyür. BHK'larının nodüler ülseratif tipinde daha çok orbital invazyon ortaya çıkmaktadır [49].



### **2.1.1.2.2 Skuamöz Hücre Karsinomu**

Skuamöz hücre karsinomu ikinci en sık görülen göz kapağı tümörüdür. Kan yoluyla, lenf yoluyla veya direkt yayılım yolu ile metastaz yapabilme özelliğine sahiptir [36]. Bu tip karsinomların yaklaşık %9'u tüm göz kapağı tümörlerini oluştururken, %2'den daha az bir kısmı da göz kapağı malign tümörleri oluşturur [50,51]. SHK'ları genellikle eritamatöz sertleşme ve ülserleşmiş lezyonlar şeklinde bulunur. Tümör derinin içerisine doğru yayılırsa o zaman bağ doku, orbita ve gözyaşı bezine yayılır. Tümör çene altında bulunan lenf nodüllerine bağlı olarak minimal düzeyde göz kapağı altına ve orta kantusa kadar yayılım gösterir. SHK'larının yayılım hızı BHK'dan daha fazladır [52]. SHK'ları tüm orbita tümörlerinin yaklaşık olarak %10'dan sorumludur ve çoğunlukla direk olarak doku etrafına hızlı bir şekilde yayılırlar [53]. BHK'larına benzer olarak geç teşhis edilmesi, cerrahi operasyon öncesi yetersiz tedavi gibi nedenlerden dolayı SHK'larında invaziv olabilir. SHK'ları göz kapağı tümörleri ile komşu olan orbitale, burun boşluğundaki sinüslere, konjonktivaya ve göz yaşı bezine yayılabilir. Bu nedenle SHK'ları metastatik olabilmektedir [54].

### **2.1.1.2.3 Sebace Hücre Karsinomu**

Sebace Bezi Karsinomu, göz kapaklarının iç yüzeyinde yer alan yağ bezlerinde meydana gelen göz kapağı tümörlerindedir. Kafkas popülasyonunda tüm malign göz kapağı tümörlerinin % 6'sını SBK'ları oluşturmaktadır [55]. SBK'ları etkilerini 6-7 yıl arasında gösterebilmektedir. SBK'ları göz kapağının en iç kısmınlarından çok en üst tabakada daha yaygın halde bulunurlar [56]. SBK'ları orbitaya ya da göz kapağının tam merkezine yerleşebilir [57]. Bu tür karsinomlar konjunktivit göz iltihabı veya kronik şalazyonları taklit edebilmektedir. Bazı hastalarda, saç köküne tutunan neoplastik lezyonların yayılımıyla kirpik kaybı ve göz kapağında nodüler kalınlaşmalar meydana gelebilir. Ayrıca konjunktivada sikatrisyel değişimlerin olması ve papiller olarak büyümesi SBK'na yol açabilir. Bu nedenle SBK'larının tam olarak orjinini belirlemek mümkün olmayabilir. Bazı tümörler yağ bezleri ve Zeis bezleri kökenli olabilir. Zeis bezi kökenli olan tümörlerin daha olumlu prognozu vardır [58]. Diğer göz kapağı tümörlerine göre üst kapakta daha sık görülür. Prognozu en kötü malign göz kapağı tümörüdür. Lenfatik, kan yoluyla ve lokal yayılım gösterebilir. Özellikle ileri yaşlarda tekrarlayan şalazyon ve göz kapağı iltihabı ile karşılaşıldığında ayırıcı tanıda akılda bulundurulmalıdır [36].

#### **2.1.1.2.4 Malign Melanoma**

Deri melanomları, göz kapağı malign tümörlerin yaklaşık olarak %1'lik kısmını oluşturur [59]. Melanomlar ya göz kapağı derisinde ya da konjunktivaya doğru uzanan alanlarda meydana gelmektedir. Göz kapağı melanomlarından konjunktival olan melanomlar, göz kapağı derisi melanomlarından daha agresif tutum gösterirler [60]. Davranış ve prognoz farklılıklarına göre Clark üç tür deri melanomu tanımlamıştır. Bu melanomlar: Hutchinsonun melanotik çil veya malign benler, premalign melanosis veya yüzeysel yayılım gösteren melanomlar ve önceden mevcut olan ya da sonradan meydana gelen benlerden kaynaklanan nodüler melanomlardır. Bu melanomlara özellikle kafkaslar da çok sık olarak karşılaşılmaktadır. Kafkas ırkında çok fazla gözükmesinin nedeni melanomun etiyolojisinde önemli rol oynayan ultraviyole radyasyona uzun süre maruz kalmalarıdır [58]. Sarışınlarda ve açık tenlilerde daha fazla görülür. Etiyolojide rol oynayan faktörler arasında; aile öyküsü, travma, kronik irritasyonlar, radyasyon, güneş ışığı, eski skar dokuları ve mavi nevüs, yaygın nevüs, lentigo malign gibi prekürsör lezyonlar bulunmaktadır [35,61]. Bu melanom tiplerinden nodüler melanom en fazla orbita invazyonuyla ilişkilidir. Melanomalar orbita gibi lokal dokulara metastaz yaparak ölümcül hale gelebilir. Yapısal olarak melanomların büyüklüğü, dairesel veya dikey şekilde olabilir. Dikey şekilde olan melanomlar, melanomlar içerisinde en önemli negatif prognostik faktör olarak kabul edilir [62].

#### **2.2 Konjunktiva Anatomisi**

Konjunktiva ince ve saydam müköz bir membran yapısındadır. Konjunktiva gözü korur, gözün serbest hareket etmesine olanak sağlar ve gözyaşı için bir rezervuardır. Aynı zamanda, yapısında bulunan goblet hücrelerinin mucus sekresyonu ile gözyaşına katkı sağlar ve içerdiği immün ve antimikrobiyal faktörler ile oküler yüzeyi korumaktadır [63,64]. Konjunktiva, embriyolojik olarak optik vezikülü saran yüzeysel ektoderm ve mezodermden oluşur. Konjunktiva, kapak kenarında mukokutanöz birleşim yerinden başlar ve göz kapaklarının iç yüzünü, gözün dış ortamla temas eden kısımlarını örter ve limbusta sonlanır. Limbusta, karankülde ve mukokutanöz birleşim yeri yakınında çok katlı yassı epitele dönüşür. Konjunktival stroma; zengin damarlar, sinirler ve yardımcı gözyaşı bezlerini içeren bağ dokudan meydana gelir [65].

### **2.2.1 Konjonktiva Tümörleri**

Göz kapaklarının arkasındaki konjonktiva yüzeyinde de doğumsal kitleler gözükabilir, bunların çoğu kistik yapılar olup klinik pratikte en sık rastlananları dermoid kistlerdir. Genellikle korneanın kenarına yerleşik açık sarı renkte tümsekliği olan kitlelerdir, bazıları büyük olup göz yüzeyinin hatta şeffaf bir tabaka olan korneanın büyük bir kısmını işgal ederler ve kendiliğinden küçülmezler [66].

#### **2.2.1.1 Konjonktiva Skuamöz Tümörler**

Konjonktiva yapısında bulunan epitel doku çok katlı keratinize olmayan skuamöz epitel yapısındadır. Konjonktival skuamöz epitelyal tümörlerin çoğu mitotik olarak aktif olan limbal bölgeden başlar ve yakınındaki konjonktiva ve korneal yüzeye yayılırlar [65].

#### **2.2.1.2 Benign Herediter İntraepiteliyal Diskeratozis**

Genellikle yaşamın ilk on yılı içinde görülür. Konjonktival skuamöz epitelyal tümörlerin çoğu mitotik olarak aktif olan limbal bölgeden başlar ve yakınındaki konjonktiva ve korneal yüzeye yayılır. Yüzeysel epitelden gelişen, V-şeklinde, hiperplastik, beyaz gri renkli, limbusta yakın vaskülerize oluşumlardır [65].

#### **2.2.1.3 Psödoepitelyematöz Hiperplazi Keratoakantoma**

Konjonktiva ve kornea epitelinin hızlı büyüyen proliferasyonudur ve aynı zamanda benign yapıdadır. Lezyonlar sıklıkla önceden var olan bir inflamasyona cevap olarak oluşur. Lezyonlar genellikle hiperkeratotik yüzeyi olan beyaz ve kabarık bir kitle şeklindedir. Limbusta oluştuğu zaman skuamöz karsinomdan ayırt etmek zor olabilir [65].

#### **2.2.1.4 İnvaziv Skuamöz Hücreli Karsinom**

Büyük oranda limbusta başlayıp ve interpalpebral aralığa kadar devam eder. Korneaya, fornikslere ve palpebral konjonktivaya doğru yayılır. Açık griden pembe kırmızıya kadar değişen renklerde olabilir. Fakat genellikle pigmentsizdirler [65].

### **2.3 Orbita Anatomisi**

Orbita, göz küresini, ilgili kasları, sinirleri ve bağ dokusunu içeren, kafatası kemiklerinden oluşan ve kafatasımızın üst kısmında yer alan boşluktur. Burnun her iki

yanında olmak üzere iki tanedir. Orbita, üzeri bağ dokusu ile sarılı olan yağ dokusu ile kaplıdır. Orbital kavitenin iç duvarları periosteum ile örtülüdür [34]. İçeriğinde göz küresi yanı sıra başlıca; optik sinir ve kılıfları, tenon kapsülü, kaslar ve bunları innerve eden kranial sinirler, lakrimal bez, kan damarları ve fibro adipöz doku bulunur [67].

### 2.3.1 Orbita Tümörleri

Orbital bölgede çeşitli gelişimsel anomaliler, yangısal hastalıklar ve oküler kasları da tutan sistemik hastalıkların yanı sıra, gerçek neoplazmlar, kistler ve diğer tümöral lezyonlar da izlenebilmektedir [68]. Orbita tümörleri düşük insidanda görülür ve farklı türde lezyonları içermektedir. Göz ve oküler kısmı etkileyen tümörler orbitaya ikincil olarak metastaz yapabilir [69].

Dünya sağlık örgütünün yapmış olduğu istatistiklere göre göz ve orbital tümörler, üriner ve genital sistem tümörlerinden sonra görülen nadir tümörlerdir. Etiyolojisinde aile öyküsü ve genetik faktörlerin önemli rol oynadığı bilinmektedir. Tedavi genellikle cerrahi yöntemle yapılmakta ve bazen hasta bireyler gözlerini tamamen kaybedebilmektedir. Göz kaybı yaşayan bireylerde beden imajı bozulacağı için yaşanacak psikolojik sorunlara ek olarak çalışabilir insan kaybına neden olabilecektir. Bizim araştırmamız ve benzeri çalışmalar bu tür tümörlerin genetik temelini ortaya çıkartılmasında erken tanı konulmasında ve daha basit tedavi yöntemleri ile sorunun giderilmesine katkı sağlayabilir.

### 2.4 BAP1

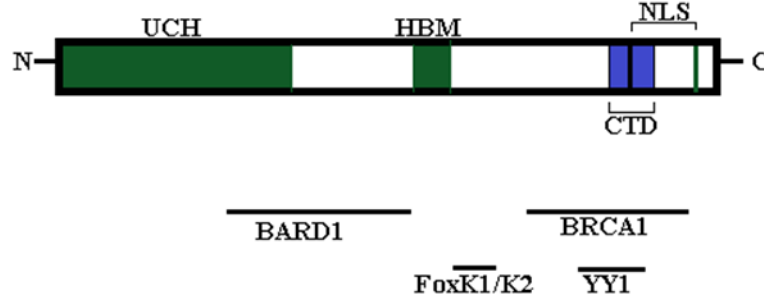
*BRCA1* ile ilişkili *protein-1* geni ilk olarak 1996 yılında Nagese ve ark. tarafından radyasyon hibrit analiz yöntemiyle kromozom 3 de belirlendi [70]. Daha sonra 1998 yılında Jensen ve ark. tarafından BAP1'in floresan hibridizasyon yöntemiyle kromozom 3p21.1 de lokalize ve BRCA1 proteinin RING parmak domainine bağlı bir deubiquitinasyon hidroksilaz olduğunu ortaya konuldu (Şekil 2.1) [71].



**Şekil 2. 1** BAP1 geninin kromozomal lokalizasyonu (OMİM Veri bankası)

BAP1 geninin kodladığı protein, 729 amino asitten meydana gelen 90 kDA ağırlığında ve çekirdekte lokalize bir proteindir. BAP1 proteini aynı zamanda deubiquitinasyon yapan bir enzimdir [72]. Bu proteinin N-terminal ucunda karboksil

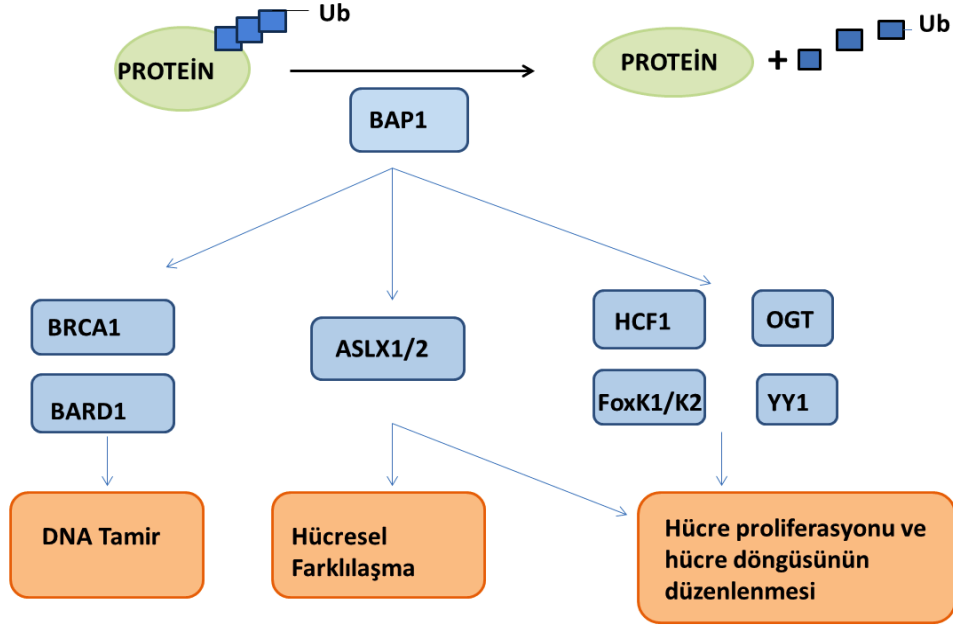
hidroksilaz aktivitesine sahip domain, orta kısmında host cell factor 1 (HCF1) bağlanma domaini bulunur. C-terminal domaini ASXL1/2 etkileşime giren çift kıvrımlı motifi, çekirdek lokalizasyon sinyali ve diğer proteinlerin bağlanma bölgesi içerir (Şekil 2.2) [72–74].



**Şekil 2. 2 a** BAP1 protein yapısı [72]. Ubiquitin C-terminal hidroksilaz (UCH), Meme kanseri duyarlılık proteini tip 1 (BRCA1), Forkhead transkripsiyon faktörleri (FoxK1/K2), Ying Yang1 (YY1) ve BRCA1 ile ilişkili RING domain protein (BARD1).

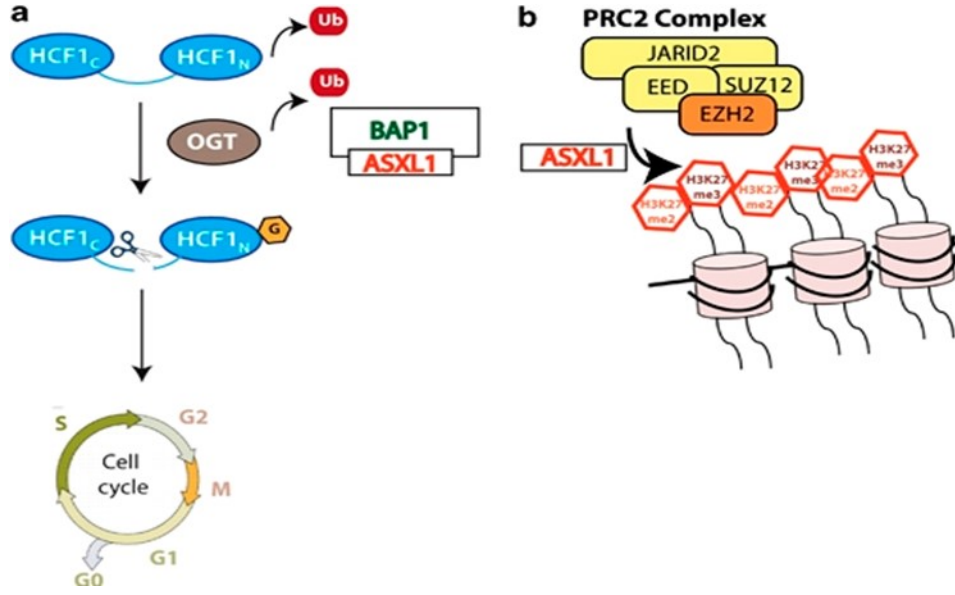
## 2.5 BAP1 İşlevi

BAP1: hücre döngüsü, hücreyel farklılaşma, apoptoz, glukoneogenez ve DNA hasarına cevap gibi hücreyel yolları düzenleyen multi-protein kompleksiyle etkileşebilen bir ubiquitinilazdır [75]. Protein ubiquitinasyonu ve deubikuitinasyonu birçok hücreyel yolağın post-translasyonel olarak karşılıklı olarak düzenlenir. BAP1'in deubikuitinaz aktivitesi vasıtasıyla tümör baskılayıcı, transkripsiyonda hedef genlerin düzenlenmesi gibi fonksiyonları da mevcuttur (Şekil 2.3) [76]. Yu ve ark. tarafından hemen hemen bütün hücreyel BAP1 proteinin yüksek molekül ağırlıklı HCF1, ASXL1, ASXL2, OGT, FOXK1 ve FOXK2 etkileşen multiprotein kompleksinin bir bileşeni olduğu bildirilmiştir. BAP1 bundan dolayı çekirdek kompleks olarak da adlandırılır. Bu çekirdek kompleksin hücre tipine özgü spesifik fonksiyonel kompleks oluşturabilen düzenleyici ve transkripsiyon faktörleriyle etkileşimde olduğu belirtilmektedir [77, 78].



**Şekil 2. 3** BRCA1 ile ilişkili protein-1 (BAP1)'in etki mekanizması [76]. Meme kanseri duyarlılık proteini tip 1 (BRCA1), BRCA1 ile ilişkili RING domain protein (BARD1), Additional sex combs like-1 (ASXL1/2), Host cell factor 1 (HCF1), Forkhead transkripsiyon faktörleri (FoxK1/K2), O-bağlı N-asetil transferaz (OGT), Ying Yang1 (YY1).

BAP1, transkripsiyonel düzenleyici faktör HCF1'de bulunan lizin rezidülerini deubikuitinasyonu yapar [79]. HCF1 ise modifiye histon kompleksleri ve hücre döngüsünün G1/S kontrol noktasında görev alan E2F transkripsiyon faktörü aracılığıyla kromatin yapısını değiştirir [72]. G1'den S fazına geçişi sağlayan HCF1'in orta derecede ekspresyonunun artması BAP1 ekspresyonunun azalmasıyla sonuçlanır (Şekil 2.4) [80]. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda BAP1, HCF1 ve OGT'nin bir düzenleyici olarak görev aldığı ve ayrıca bazı mekanizlarda düzenleyici etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir. BAP1 ayrıca, OGT'nin deubikuitinasyonu sağlar. Buda HCF1'in modifiye ve aktive edilmesini imkân vermektedir [81]. Aktive olan HCF1, OGT'den O-GlcNac'ı peroksizomlarda aktivatör reseptör- $\gamma$ -co-aktivatör1 $\alpha$  (PGC1 $\alpha$ )'ya aktarır. Glukoneogenezin stabilizasyonunu kolaylaştıran bu modifikasyon BAP1 ve deubiquitilat PGC1 $\alpha$ 'nın bağlanmasını sağlar [82].



**Şekil 2. 4.** BRCA1 ile ilişkili protein-1 (BAP1) ve Additional sex combs like-1 (ASXL1), birçok epigenetik modifikasyon üzerindeki etkisi yoluyla gen ekspresyonunu düzenler. BAP1 ve ASXL1 fiziksel olarak etkileşime girer ve ASXL1, BAP1'in enzimatik aktivitesi için önemlidir. BAP1, hücre döngüsünü düzenleyen Host cell factor 1 (HCF1) ve O-bağlı N-asetil transferaz (OGT) proteinlerinin deubiquitinasyonunu sağlar.

a. HCF-1, HCF-1N ve HCF-1C'den oluşan bir öncü proteinin proteolitik bölünmesiyle üretilen bir heterodimerdir. HCF-1 öncülünün bölünmesi, proteinlere şeker modifikasyonu O-bağlı b-D-N-asetilglukozaminin eklenmesinden sorumlu tek enzim olan OGT ile O-GlcNAc modifikasyonuna ihtiyaç duyar. BAP1 düzeylerindeki azalmalardan, her iki proteinin etkilenmesi nedeniyle hem HCF-1 hem de OGT düzeylerinin düşmesine neden olur. ASXL1 düzeylerindeki azalma, HCF-1 ve/veya OGT düzeylerini benzer şekilde etkileyip etkilemediği henüz net değildir.

b. ASXL1'in ekspresyonunun, transkripsiyonel olarak baskılanan H3K27me3'ün histon modifikasyonu artışı ile kuvvetli bir şekilde ilişkili olduğu gösterilmiştir. ASXL1 düzeylerindeki azalma, H3K27'nin metilasyonu için gerekli enzimatik kompleks olan PRC2'nin çekirdek üyelerinin varlığına rağmen, bu modifikasyonun genel olarak azalmasıyla ilişkilidir. ASXL1, çeşitli genomik lokasyonlarda PRC2 kompleksinin işlevinden ve stabilizasyonundan sorumludur [80]. Ayrıca BAP1, hücre proliferasyonu ile ilişkili genlerin transkripsiyon kontrolünü yapan YY1 ve HCF1 ile üçlü kompleks oluşturabilir. Özellikle BAP1, YY1'in sarılmış sarmal motifi aracılığıyla çinko-parmak bölgesiyle etkileşir. BAP1 mitokondriyal solunum zincirinin bileşenlerini kodlayan COX7C'nin promotör bölgesi ve HCF1 ile de kompleks oluşturabilir. Dolayısıyla bu hipotezden yola çıkılarak BAP1'in hücresel

fonksiyonların genişçe bir kısmını etkilemesi beklenmektedir [78]. Bunlara ek olarak BAP1, HCF1 ve forkhead transkripsiyon faktörleri (FoxK1/K2) arasındaki etkileşim için de gereklidir. FoxK1/K2, hücre proliferasyonu ve hücre döngüsünün kontrolü için gerekli olan üçlü protein kompleksin oluşumunu sağlar (Şekil 2.4) [73].

BAP1, polycomb grup baskılayıcı deubiquitinaz kompleksini (PR-DUB) oluşturan ASXL1/2 ile de etkileşime girer. Polycomb grup proteinleri: kök hücre, embriyonik gelişim ve farklılaşma gibi fizyolojik süreçlerin kritik olarak transkripsiyonel düzenleyicileridir. Proteinlerin bu grubu histonların ubiquitinasyonu ve genlerin susturulmasına yol açan polycomb grup baskılayıcı kompleksleri içerir (PRCs). Transkripsiyonel denge ve kontrolü PRCs ubiquitinasyonu ve PR-DUB deubiquitinasyonu sağlamasıyla gerçekleştirilir. BAP1 eksikliği birbirinden farklı polycomb hedef genlerin ekspresyonun önemli derecede değiştirir [72]. BAP1 aynı zamanda DNA hasarı sinyalinde ve tamirinde görev alan önemli enzimlerden birisidir. BAP1, BRCA1/BARD1 heterodimeri ve RAD51 gibi rekombinant proteinleriyle etkileşir [78]. BRCA1/BARD1 heterodimeri, DNA hasarına yanıt oluşturan E3 ubiquitin ligaz aktivitesini düzenler. BAP1, BARD1'e bağlanarak deubiquitinasyonunu sağlar, bundan dolayı da bu tümör baskılayıcı kompleks E3 ubiquitin ligaz aktivitesini düzenler [83].

## 2.6 BAP1 ve Hastalıklar

BRCA1 associated protein-1, kanser hücrelerinde bir tümör baskılayıcı olarak görev yapmaktadır. Akciğer ve meme kanseri örneklerinde ve yüksek oranda metaztatik olan uveal melanomalarda *BAP1* mutasyonları belirlenmiştir. *BAP1*'in ubiquitin C-terminal hidrosilaz domaininde belirlenen 15 tane mutasyondan 5' nin olgunlaşmamış proteinin sonlandırılmasına neden olduğu gösterilmiştir. Kromozom 3p21.1'de lokalize olan *BAP1* geninde %84 oranında metaztatik tümörlere neden olan somatik mutasyonlar kaydedilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada bir tümör tipinde, eşey hücre kökenli çerçeve kayma mutasyonu belirlenip ve bu mutasyonun sonucunda şüpheli bir allel saptanmıştır. Çerçeve kayma mutasyonu ile *BAP1* ekspresyonun azaldığı ve bu durumun uveal melanoma metaztasına yol açtığı gösterilmiştir [84]. Bott ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada ise 53 tane plevral mezoteliyomalı hastaların *BAP1* gen dizisinde somatik mutasyon belirlenmiştir. Ayrıca mezoteliyoma hücre hattında yabancı *BAP1* gen ekspresyonlarının azalmasının hücrelerin, hücre döngüsünün S fazında birikmesiyle



proliferasyon kusurunun meydana geldiği ve *E2F* gen yanıtının azaldığı gösterilmiştir [85]. 156 sporadik melanositik neoplazmalı, 13 uveal melanomalı, 2 atipikal spitz tümör ve 3 tane kutenus melanomalı hastaların *BAP1* geninde somatik mutasyon kaydedilmiştir. Atipikal spitz tümör hastalarında *BAP1* gen ekspresyonunda azalma ve *BRAF* geninde ise mutasyon belirlenmiştir. Ayrıca sporadik melanositik neoplazm, *BAP1*'in biallelik inaktivasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca tümöre yatkınlık sendromlu bir ailenin 4'ünü etkileyen melanositik deri tümörlerinin gelişmesiyle karakterize eşey hücrelerinde *BAP1* geninin 13. Ekzonunda 1-bp delesyonu (1305del-G) tanımlanmıştır [86].

## 2.7 OGT

O-bağlı GlcNAc transferaz (OGT) ilk olarak Shafi ve ark. (2000) tarafından radyasyon hibrit analiz yöntemiyle insan erkek genomunun nörolojik hastalıklarla ilişkili bölgesi olan kromozom Xq13.1'de belirlenmiştir (Şekil 2.5) [87].



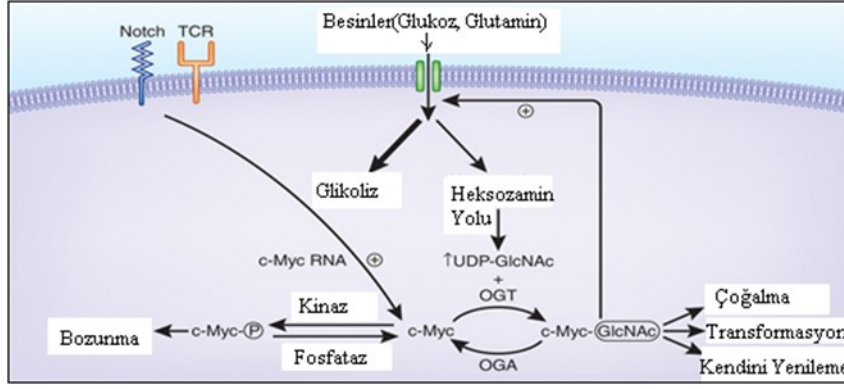
**Şekil 2. 5** OGT geninin kromozomal lokalizasyonu (OMIM veri bankası)

OGT, N-asetilglukozaminin treonin ya da serin rezidülerine O-glikozidik bağla eklenmesini katalizler. Bundan dolayı serin ya da treonin rezidülerinin fosforilasyonu ve glikolizasyonu yarış halindedir [88]. Haltivanger ve ark. tarafından rat karaciğerinde OGT'nin molekül ağırlığı 340 kD olarak belirlenmiştir. OGT'nin 110 kD'luk 2 alt birim ve 78 kD'luk bir alt birimden oluşan heterotrimerik bir kompleks olduğu ileri sürülmüştür [89]. İnsanlarda ise 920 aminoasitlik9 tetra-trikopeptit tekrarlarından oluşan ve iki kısmı nükleer lokalizasyon sinyali olarak kabul edilen bir protein olarak tanımlanmıştır. İnsanlarda OGT'nin iki tane kristal yapısı tanımlanmıştır. Kristal yapılardan ilki UDP ile ikili kompleks oluşturur, ikincisi ise UDP ve bir substrat peptit üçlü kompleks oluşturur. Bu yapılar OGT' nin enzim mekanizması ve hedef peptit diziyi nasıl tanıdığı hakkında ipucu sağlar [90].

## 2.8 OGT İşlevi

O-Nasetilglukozamin, nükleer, sitoplazmik ve mitokondriyal proteinlerin aktiviteleriyle düzenlenen tersinir post-translasyonel bir modifikasyondur. Proteinlerin yapısında bulunan serin ve treonin amino asitlerinin O-Nasetilglukozamin

modifikasyonu transkripsiyon, translasyon, proteozomal yıkım ve apoptoz gibi biyolojik mekanizmalarda düzenleyici rol oynar [24,91-93]. Transkripsiyon faktörleri ve RNA polimeraz II, O-GlcNAc tarafından modifiye edilebilir. Fakat bu modifikasyonun rolü henüz tam olarak bilinmemektedir. Yang ve ark. tarafından bu post-translasyonel modifikasyonu yapan OGT enziminin korepresör Sin3A'ya bağlanarak histon deasetilaz kompleksi ile etkileşime girdiği bildirilmiştir [94]. Memeli 26S proteozomlarında OGT aracılı modifikasyonlarda Sp1 transkripsiyon faktörü ve bir hidrofobik peptidin proteolizinin engellendiği bildirilmiştir. Proteozomların 19S kısmındaki Rpt2 ATPazın *in vivo* ve *in vitro* O-GlcNAc tarafından modifiye edilmesiyle proteozom fonksiyonun azaldığı belirtilmiştir [95]. Dey ve ark. tarafından yapılan bir araştırmada *BAP1* gen ekspresyon analizinde *BAP1*'in *HCFC1* ve *OGT* ile etkileşimde bulunduğunu gösterilmiştir. *OGT* ve *HCFC1* seviyelerinin *BAP1* delesyonlarında azaldığı ve bu epigenetik stabilizasyonda *BAP1*'in kritik bir role sahip olduğu kaydedilmiştir [82]. *HCFC1* hücre döngüsünün ilerlemesinde bir transkripsiyonel düzenleyicidir. *OGT*'nin olgunlaşmasında proteolitik olarak tekrarlayan 6 dizinin yapıdan ayrılması gerekmektedir. *OGT*'nin tekrarlayan tetratrikopeptit domainine *HCFC1*'in C-terminal kısmı bağlanır [96]. Dolaşımında glikoz konsantrasyonun artmasıyla hekzozamin biyosentez yolağı aktive olur (Şekil 2.7.2) ve *OGT* tarafından proteinlerin O-glikolizasyonu sağlanır. *OGT*, düzenlenmiş cAMP bağlı element protein-2 (*CREB2*)'nin O-glikolizasyonunu sağlayarak hepatik glikoneogenezi başlatır. *CREB2*'nin normalde sitoplazmada fosforilasyona bağlı bir mekanizma ile O-glikolizasyonu sağlanır. Deglikolizasyonu sağlayan O-GlcNAcase (*OGA*) enziminin ekspresyonun artmasıyla O-glikolize edilmiş *CREB2* miktarı azalır ve sonuç olarak glikoneogenez yolağındaki glikozun etkisi baskılanır. Böylece glikoz intöleransı gelişir bu durum hekzozamin yolağının önemini ortaya koymaktadır [97].



**Şekil 2. 6** OGT'nin etki mekanizması. Beslenme sonrası hekzozamin biyosentez yolağı aracılığı ile proteinlerin O-glikolizasyonu[97]. O-bağılı GlcNAc transferaz (OGT), O-GlcNAcase (OGA), DNA bağlayıcı protein (Myc).

## 2.9 OGT ve Hastalıklar

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada diyabet, kalp hastalıkları, nörodegeneratif ve kanser gibi metabolik hastalıkların patolojik olarak ilerlemesinde proteinlerin normal olmayan O-glikolizasyonu dikkat çekmektedir [24–26]. O-GlcNAc modifikasyonlarının vücutta artmasıyla Warburg etki olarak bilinen glikolitik yolun etkisinin azalması, kanser ve tümör oluşumunda önemli bir rol oynayabileceği gösterilmiştir [26, 98]. Son on yıldır yapılan çalışmalar malign bir hücre fenotipine neden olan O-glikolizasyon aracılığıyla hücre proliferasyonu, hücre büyümesi, tümör invazyonunun belirlenmesi, hücre fonksiyonları değiştiren transkripsiyon faktörleri, metabolik enzimler ve onkogenik sinyal yolağındaki moleküller mekanizmaların belirlenmesi üzerine odaklanmaktadır. O-glikolizasyon, major onkogenik faktörlerin (Myc, p53, NF-Kb, FOXM1) aktivitesini ve farklı mekanizmalar aracılığıyla ekspresyonunu değiştirerek karsinogenezde önemli bir rolü üstlenir [26, 28, 92, 93, 98–100]. Glikolizasyon modifikasyonu, insülin sinyal ileti yolağında görev alan proteinlerin O-glikolizasyonundan dolayı insülin etki mekanizmasında da önemli bir role sahiptir. Nükleus plazma membranında bulunan fosfatidil-inozitol 3,4,5-trifosfatın insülinle etkileşim göstermesinden sonra Yang ve ark. tarafından OGT'nin fosfoinozitol-bağlanma domaininin bilinmeyen tipi ortaya konulmuştur. OGT plazma membranında bulunan insülin sinyal ileti yolağının O-glikolizasyon modifikasyonunu katalizler. Bu bilgilere dayanarak anahtar sinyal moleküllerin fosforilasyonunun ve insülin sinyal iletiminin azaldığını göstermektedir. OGT'nin hepatik dokudaki aşırı ekspresyonu, insüline yanıt oluşturan genlerin ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Bu durum da insülin direnci ve dislipidemiye neden olur. Yang ve ark. tarafından bu sonuçlardan yola

çıkarak insülin sinyal yolağındaki proteinlerin O-glikolizasyonun düzenlenmesinde beslenme ipuçlarından yararlanarak yeni bir moleküler mekanizma tanımlanmıştır. Bu modifikasyonun insülin direnci ve Tip II diyabetin etiyojine katkı sağlayabileceğini ileri sürülmüştür [21]. Beyinde, O-bağılı  $\beta$ -amiloid ilişkili protein [101], klatrin protein-3 [102], nöroflament [103,104] ve tau [105,106] gibi birçok glikoprotein mevcuttur. Bunların içerisinde tau proteininin anormal fosforilasyonu Alzheimer hastalığının etiyojisinde önemli rol oynamaktadır [106]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada tau proteinin yapısında yer alan serin amino asitinden glikolizasyonu gösterilmiştir. Bundan dolayı tau proteinin fosforilasyonu ve glikolizasyonu arasında karşılıklı bir ilişki mevcuttur. OGT, bu iki post-translasyonel modifikasyon arasında düzenleyici fonksiyona sahiptir. Tau'unun anormal glikolizasyonu ve nörodejeneratif hastalıkların gelişmesi arasında bir ilişki kaydedilmiştir. Sonuç olarak bu durum OGT ve nörodejeneratif hastalıkları arasındaki bağlantıyı açıklayabilir [107].

## 2.10 YY1

Ying Yang 1 (YY1) kromozom 14q32.2'de lokalizedir [108] (Şekil 2.10.1.) YY1 ilk olarak 1991 yılında Shi ve Park tarafından klonlanmıştır. Ayrıca çinko parmak proteinlerin GLI-Kruppel sınıfına ait bir transkripsiyon faktörüdür [109, 110]. YY1'in proksimal promotör bölgesinde SP1 çoklu bağlanma bölgesi mevcuttur fakat yapısında TATA veya CCAAT dizileri bulunmamaktadır [111].



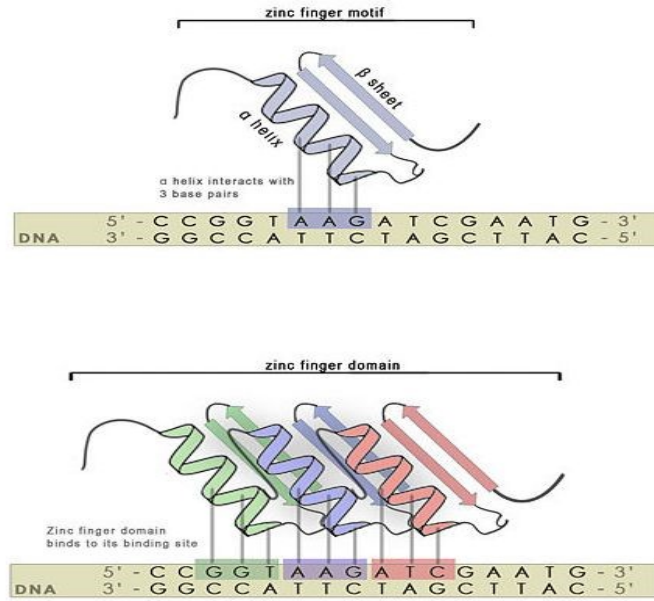
### Şekil 2. 7 YY1 geninin kromozomal lokalizasyonu (OMIM veri bankası)

YY1 geni, 414 amino asit uzunluğunda bir proteini kodlayan beş yüksek oranda korunmuş eksondan meydana gelmiştir ve 44 kDa' luk moleküler ağırlığa sahiptir [30].

## 2.11 YY1 İşlevi

Ubikuitöz transkripsiyon faktörü YY1 embriyogenezis, farklılaşma, replikasyon ve hücre proliferasyonunda temel role sahiptir. YY1, transkripsiyon aktivitesini artırarak ya da baskılayarak genler üzerine etkisini gösterir [32]. YY1 hematopoezis ve hücre döngüsü kontrolünde kritik roller oynayan bir grup homeobox gen reseptörü olan Polycomb Group protein ailesinin bir üyesidir [109]. İnsan YY1 geninden alternatif splicinge sekiz farklı transkript sentezlenebilir. Bu transkriptler sekiz farklı protein

izoformunu kodlar. Protein izoformların fonksiyonel önemi iki tane alternatif promotör bölgesi vardır [32]. YY1 proteini, aktivatör ya da represör gibi fonksiyonlara sahip iki spesifik domain ve dört tane C2H2-tipçinko parmak motif içerir (Şekil 2.8) [30,109].



**Şekil 2. 8** YY1 proteinin çinko-parmak motifi [112]

Yan ve ark. tarafından insan fibroblastlarında YY1 mutajenezi ve aşırı ekspresyonu ile YY1'in asit alfa-glukozidaz'ın (GAA) bir transkripsiyonal aktivatörü olarak işlev gördüğü gösterilmiştir [113]. Daha önceki çalışmalarda, Yan ve ark. tarafından hepatoma hücrelerindeki GAA genine bağlanan YY1'in bir transkripsiyon baskılayıcı işleve sahip olduğu belirlenmiştir [114]. Diğer bir araştırmada YY1 ile poli ADP-riboz polimeraz (PARP) arasında bir etkileşimin olduğu bildirilmiştir. PARP, DNA onarımı ve transkripsiyonu ile ilgili bir işleve sahip olan NAD<sup>+</sup>'dan ADP-riboz polimerlerin sentezini katalize eden bir nükleer enzimdir. YY1'in HeLa hücrelerinde aşırı ekspresyonunun, poli ADP-riboz' un hücre içi birikmesine ve genotoksik ajanlarla DNA hasarına ve bunu takiben DNA tamirinin hızlanmasına yol açtığı belirlenmiştir. Bununla birlikte proteinler arasında işlevsel ve fiziksel etkileşim olduğunu ortaya koyduğu iddia edilmiştir [115]. Sui ve ark. tarafından YY1'in işlev kaybının *in vivo* p53 ubiquitasyonunun azalmasına neden olarak p53 birikimine neden olduğu tespit edilmiştir. Aksine, YY1 aşırı ekspresyonu p53 ubiquitasyonu ve bozunumu uyardığı görülmüştür. Rekombinant YY1, *in vitro* bir çalışmada MDM2 aracılı p53 poli-ubikuitasyonu uyarmak için yeterli olduğu ve YY1'in bu transkripsiyonal aktiviteden bağımsız olduğu düşünülmüştür. YY1'in MDM2 ve p53 ile doğrudan fiziksel etkileşimi bulunmaktadır. p53 ubiquitasyonu düzenleyen başlıca olay YY1'in, MDM2-p53

etkileşimini kolaylaştırma yeteneğidir. Tümör baskılayıcı bir gen olan *p14* (ARF), MDM2-YY1 etkileşimini sağlar. YY1' in p53 homeostazının düzenlenmesinde MDM2' nin potansiyel bir kofaktör olduğu gösterilmiştir [116]. Kim ve ark. kromatin immünopresipitasyon (ChIP) analizleri ile YY1' in Peg3' ün intron 1' inde evrimsel olarak korunmuş bir motife bağlandığını göstermiştir. Peg3' ün YY1 bağlanma bölgeleri sadece X kromozomu üzerinde *in vivo* olarak metillenmektedir. YY1 bağlanma bölgesi CpG dinükleotidi içerir ve bu CpG alanının metilasyonu, *in vitro* YY1'in bağlanma aktivitesini ortadan kaldırır [117]. Gordon ve ark. tarafından YY1' in normal biyolojik süreçlerdeki düzenleyici rollerine ek olarak, tümörigenezin başlatıcısı olarak hareket etme potansiyeline sahip olabileceğini ve dolayısıyla hem diagnostik hem de prognostik tümör belirteci olarak işlev görebileceği ileri sürülmüştür [118].

## 2.12 YY1 ve Hastalıklar

Ying Yang 1, aktivatör ve bir baskılayıcı gibi davranan transkripsiyon faktörüdür [30,119]. Bazı hücrelerde YY1 aynı anda farklı genlerin aktive edilmesini ve baskılanmasını sağlar. YY1'in bu düzenleyici aktivitesi spesifik promotör faktörlerin rolünü açıklamaktadır [120–122]. YY1'in normal büyüme ve gelişimde rolü olmakla beraber histon asetilasyonu, metilasyonu, onkogenler ve tümör baskılayıcı genlerin düzenlenmesi gibi kanserle de ilişkili çeşitli sinyal yollarının düzenlenmesinde rolü vardır [123]YY1, epigenetik değişiklikler ve malign transformasyon dahil olmak üzere hücrel aktivitesinin muhafaza edilmesinde, histon sentezi ve hücre solunumunun düzenlenmesinde rol oynar. YY1, çeşitli histon proteinlerinin ekspresyonuna katkı sağlar [124]. Kanserle ilişkili birçok yolaktaki düzenleyici işlevi ve kanserlerdeki aşırı ekspresyonu nedeniyle, çeşitli çalışmalarda YY1'in prognostik bir belirteç ve terapötik hedef olma potansiyeli önerilmiştir. YY1 diğer birçok tümör baskılayıcı gen ile işlevsel etkileşime sahiptir. YY1, p53 asetilasyonunu önleme [125], p14ARF aracılı p53 stabilizasyonunu azaltma ve p53 aracılı transkripsiyonu inhibe etmektedir. Ayrıca p53'ün MDM2 aracılı ubiquitasyon ve yıkımının yönlendirilmesini de [116] birkaç farklı mekanizma yoluyla antagonize eder [126]. YY1'in aracılık ettiği bu çoklu ve negatif olarak düzenleyici mekanizmalar, büyümekte olan kanser hücrelerinde p53'ü YY1'in birincil hedefi olarak gösterir. p53 mutasyonları veya delesyonları kanserlerin % 50'sinden fazlasında görülebilir, ancak tümörlerin % 40'ından fazlasında p53 işlevseldir. Ayrıca, bazı kanserler sadece geç evrelerde p53 inaktivasyonuna sahiptir. Bu nedenle,

çoğu tümör erken safhalarında p53 aracılı tümör izlenimini yenmek zorundadır [127, 128]. Yapılan birçok tümör çalışmasında YY1 transkript seviyeleri, normal doku ve kanserli doku arasında kıyaslandığında kanserli dokularda daha yüksek olarak bulunmuştur. Varambally ve ark., YY1'in ekspresyonunun primer prostat kanserlerinde metastatik prostat kanserlerine göre anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir [129]. Ayrıca YY1'in gen amplifikasyonu ve kromozomal translokasyon yokluğunda kolon kanserinde aşırı miktarda eksprese edildiği kaydedilmiştir [33]. Bununla birlikte, yumurtalık kanseri, meme kanseri, serviks kanseri ve osteosarkomda artmış YY1 düzeyleri bulunmuştur [130]. Melanomda ise YY1'in ekspresyonu hakkında sınırlı bilgi mevcuttur [131–133].



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Kullanılan cihazlar

- Masaüstü mikro santrifüj (Msc Micro Centaur, UK)
- Hassas tartı (Denver Instrument Company, USA)
- Manyetik karıştırıcı (BIBBY Stuart, UK)
- Vorteks (Clifton Cyclone, UK)
- PH metre (Metle Toledo MP 2200, UK)
- Mikrodalga fırını (Arçelik MD 554 Intellwave, Türkiye)
- Mikropipetler -10 µl, 20 µl, 200 µl ve 1000 µl- (Gilson, USA)
- Thermal cycler (Gen Amplifikasyon PCR 9700 applied biosystems, USA)
- Elektroforez güç kaynağı (EC 1000-90)
- Yatay elektroforez sistemi (Whatman Biometra, Germany)
- Jel görüntüleme (Vilber lourmat photodocumentation and video graphic printer UP895CE)
- Laminar flow kabin (Steril-Vbh)
- Ben Mari (Leica, Germany)
- Doku Takip Cihazı (Leica, Germany)
- Gömme Fırını (MKN Taab, UK)
- Floresan Mikroskop (Olympus BX51, Japan)
- Mikrotom (Leica, Germany)
- Rotor Gene 6000 (Qiagen, Germany)
- Maestro Nanodrop ( Green Bioresearch, USA)

#### 3.2. Kullanılan plastik malzemeler

- 0,2 ml ve 2,0 ml mikro santrifüj tüpleri (Axygen)
- 100 µl PCR tüpleri (Qiagen)
- 15 ml ve 50 ml konik uçlu falkon tüpleri (LP's)
- 0,5–10 µl, 1–200 µl, 100–1000 µl mikropipet uçları (Axygen)
- 5 ml, 10 ml, 25 ml plastik pipetler (LP Italiana SPA)



### 3.3. Kullanılan kimyasallar ve sarf malzemeler

- Etil Alkol (Merck, Germany)
- Ksilol (Merck, Germany)
- Formaldehit (Merck, Germany)
- Hematoksilen (Biooptica, Italy)
- Sodyum dihidrojen fosfat (Merck, Germany)
- Di sodyum hidrojen fosfat (Merck, Germany)
- Phosphate Buffer Saline (PBS) (Sigma, USA)
- Sodyum sitrat (Merck, Germany)
- Triton® X-100 ( Biotech, Canada)
- Tween-20 (Merck, Germany)
- Hidrojen peroksit (Merck, Germany)
- BAP1 antibody (Elabscience)
- OGT antibody (Elabscience)
- YY1 antibody (Elabscience)
- BAP1 Eliza kit (Sunred Biological Technology)(20mg/L-6000mg/L)
- OGT Eliza kit (Sunred Biological Technology)(12,5ng/L-3200ng/L)
- YY1 Eliza kit (Sunred Biological Technology)(0,05ng/mL-15ng/mL)
- RNeasy mini kit (Qiagen, Germany)
- RNeasy fibrous tissue mini kit (Qiagen, Germany)
- RT First standart kit (Qiagen, Germany)
- RT<sup>2</sup> SYBR Green qPCR Mastermix (Qiagen, Germany)
- RT<sup>2</sup> qPCR Primer Assay (Qiagen, Germany)
- RNAlater (Qiagen, Germany)
- QIAzol lysis reagent
- Proteinaz K (Fermentas, USA)
- Tris (Merck, Germany)
- EDTA (Merck, Germany)
- Ultravision polyvalent HRP-AEC kit
- DAB Chromogen & substrat system
- Ultrab diluent
- DPX mounting medium

### **3.4. Kullanılan Tamponlar ve Çözeltiler**

#### **3.4.1 Bouin Çözeltisi**

- Suda doyurulmuş pikrik asit 300 cc
- %40 Formalin 100 cc
- Glasiyal astik asit 20 cc

#### **3.4.2 % 10' luk Tamponlanmış Nötral Formalin (pH=7)**

- Formaldehit 100 cc
- Distile su 900 cc
- NaH<sub>2</sub>P0<sub>4</sub>. H<sub>2</sub>O 4 g
- Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub> 6.5 g

#### **3.4.3 Na-Sitrat Tamponu**

- TriNa- Sitrat (dihidrat) 2,94 g
- Distile su 1000 ml
- pH=6.0 olacak biçimde hazırlandı ve çözeltiliye 0,5 ml Tween-20 eklendi.

#### **3.4.4 Tris EDTA Tamponu**

- Tris 1.211 g
- EDTA 0,372 g
- Distile su 1000 cc
- pH=9.0 olacak biçimde hazırlandı ve çözeltiliye 0,5 ml Tween-20 eklendi.

#### **3.4.5 Peroksidaz Bloklama Çözeltisi**

- %30'luk H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 10 ml
- Metanol 90 ml

#### **3.4.6 Yıkama Çözeltisi**

- 1000 ml PBS içinde 5 ml Tween-20 çözünerek hazırlandı.

### **3.5.1 Hasta ve Kontrol Grubu**

Bu çalışmada; hasta grubu, Cumhuriyet Üniversitesi (CÜ), Tıp Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda göz kapağı tümörü, konjunktival tümör ve orbital tümör tanısı alan bireylerden oluşturuldu. Hasta sayısı tespitinde literatür de benzer bir çalışma bulunamadığı için Biyoistatistik Ana Bilim dalı desteğiyle örnek büyüklüğü etik kuru izni alındığı tarih den itibaren 1 yıl içinde hastanelerde ameliyat edilen hastalardan oluşturulmasına karar verildi. Etik kurul izni alındığı tarihten itibaren (Karar numarası: 2014–05/18) 20 hasta toplanmıştır. Hastalar arasında cinsiyet, yaş veya kanserin histopatolojik tipi ile derecesi yönünden bir kısıtlama yapılmadı. Ameliyatta çıkarılan numune patoloji raporuyla tümörün histopataolojik türü belirlendikten sonra hastalar çalışmaya dahil edildi. Tüm hastalardan ameliyat esnasında alınan 3 µm çapındaki tümörlü ve tümörlü dokunun etrafında bulunan normal dokudan alınan (kontrol) numunelerle ve kan örneklerinden elde edilen plazmalarla çalışma gerçekleştirildi [34]. Çalışmamız deneysel aşaması C.Ü. Tıp Fakültesi Biyokimya ve Histoloji A.B.D olmak üzere iki bölüm üzerinden yürütüldü.

### **3.5.2 Real Time PCR metoduyla Gen ekspresyon analizi**

#### **3.5.2.1 Tümör dokusundan RNA izolasyonu**

Tümör dokusundan RNA izolasyonu, katalog numarası 74704 olan RNeasy Fibrous Tissue (Qiagen) mini izolasyon kiti kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce bazı ön hazırlıklar yapıldı. İlk olarak 1 ml RLT tamponu içerisine 10 µl β-merkaptoetanol eklendi (alternatif olarak 2 M 20 µl dithiothreitolde eklenebilir). İkinci olarak RPE tamponuna % 96'lık etanolden 4 hacim eklendi. Daha sonra DNaseI stok solüsyonu hazırlandı. Liyofilize DNaseI'i çözmek için üzerine 550µl RNase-free su eklendi.

- 1) Su banyosu 55°C ayarlandı.
- 2) 30 mg'dan küçük doku parçası alındı üzerine 300µl RLT tamponu eklenerek homojenize edildi.
- 3) 590µl RNase-free su ve 10µl proteinaz K eklenerek 55°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- 4) 10000xg'de 3 dakika santrifüj yapıldı.

- 5) Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant üzerine %96'lık etanol eklendi.
- 6) Örneğin 700µl'si RNeasy mini kolona alınıp kapakları kapatıldı. 8000xg'de 15 saniye kadar santrifüj edildi. Lizatın tamamı elde edilinceye kadar bu adım tekrarlandı.
- 7) Daha sonra örnek yeni bir RNeasy mini kolona alındı ve üzerine 350µl RW1 tamponu eklendi. Yine 8000xg'de 15 saniye kadar santrifüj edildi.
- 8) RNeasy membran üzerine 70µl RDD tamponu içeren stok DNase solüsyonundan 10µl eklendi. 20–30°C sıcaklıkta inkübe edildi.
- 9) RNeasy mini kolona 350µl RW1 tamponu eklendi ve yine 8000xg'de 15 saniye kadar santrifüj edildi.
- 10) Sonra 500µl RPE eklendi ve 8000xg'de 15 saniye kadar santrifüj edildi.
- 11) RNeasy mini kolona 500µl RPE tamponu eklendi ve 8000xg de 2 dakika santrifüj edildi.
- 12) RNeasy mini kolon yeni 1,5 ml'lik yeni bir ependorf tüpe alındı. 30-50µl RNease-free su eklendi. Son olarak 8000xg de 1 dakika santrifüj edildi.
- 13) Elde edilen RNA'lar, nanodrop cihazı (Green Bioreserch, USA) ile kantitatif olarak ölçüldü. RNA' lar ya hemen kullanıldı ya da daha sonra kullanılmak üzere -80°C'ye kaldırıldı.

### **3.5.2.2 Kontrol Dokusundan RNA izolasyonu**

Kontrol dokusundan RNA izolasyonu, katalog numarası 74104 olan RNeasy (Qiagen) mini izolasyon kiti kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokol doğrultusunda yapıldı. Çalışmaya başlamadan önce bazı ön hazırlıklar yapıldı. İlk olarak 1 ml RLT tamponu içerisine 10 µl β-merkaptotanol eklendi (alternatif olarak 2 M 20 µl dithiothreitolde eklenebilir). İkinci olarak RPE tamponuna % 96'lık etanolden 4 hacim eklendi. Daha sonra DNaseI stok solüsyonu hazırlandı.

- 1) Kontrol dokusundan RNA izolasyonu için 30 mg'dan daha az doku kullanıldı. Dokular üzerine yaklaşık 600µl RTL tamponu eklenerek homejenizasyon işlemi ile dokular lizat haline getirildi.
- 2) Lizat üzerine %70'lik etanolden bir hacim eklendi ve pipet yardımıyla iyice karıştırıldı. Elde edilen lizat 3 dakika maksimum hızda santrifüj edildi. Süpernatant kısım bir pipet yardımıyla dikkatli bir şekilde ayrıldı.

- 3) Örnekten 700µl alındı 2ml toplama tüpü içerisinde bulunan RNeasy mini spin kolona dikkatli bir şekilde aktarıldı. Sonra 8000xg'de 15 saniye kadar santrifüj edildi.
- 4) RNeasy mini spin kolona 700µl RW1 tamponu eklendi ve 8000xg'de 15 saniye kadar santrifüj edildi.
- 5) RNeasy mini spin kolona 500µl RPE tamponu eklendi ve 8000xg'de 15 saniye santrifüj edildi.
- 6) Yine RNeasy mini spin kolona 500µl RPE tamponu eklendi ve 8000xg'de 2 dakika santrifüj edildi. İsteğe bağlı olarak RNeasy mini spin kolon 2 ml'lik yeni bir alındı. Membranı kurutmak için 1 dakika tekrar santrifüj yapıldı.
- 7) RNeasy mini spin kolon yeni bir 1,5ml'lik yeni bir toplama tüpüne alındı. Kolon membranına direk olarak 30–50µl RNeasy-free su eklendi. Toplama tüpünün kapakları kapatılarak 8000xg'de 1 dakika santrifüj edildi.
- 8) Elde edilen RNA'lar, nanodrop cihazı (Green Bioreserch, USA) ile kantitatif olarak ölçüldü. RNA'lar ya hemen kullanıldı ya da daha sonra kullanılmak üzere -80°C'ye kaldırıldı.

### 3.5.2.3 cDNA Sentezi

cDNA sentezi için RT2 First Strand cDNA Sentez Kiti (Qiagen, kat. no: 330404) kullanıldı.

**Çizelge 3. 1** cDNA sentez Kit İçeriği

<b>Madde</b>	<b>Hacim</b>
GE tampon	50µl
BC3 tampon	100µl
RE3 Reverse transkriptaz	50µl
Kontrol P2	25µl
Nükleaz free su	1ml

### cDNA sentez protokolü

- 1) RT<sup>2</sup> First Strand cDNA sentez kiti çözüldükten sonra 15 saniye kadar santrifüj edildi.
- 2) Her bir RNA örneğinden cDNA sentezi Çizelge 3.1.'ye göre gerçekleştirildi.

### Çizelge 3. 2 Genomik DNA eliminasyon karışımı

Madde	Hacim
RNA	25ng–5µg (1µl)
GE tampon	2µl
Nükleaz free su	7µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>10µl</b>

- 3) Genomik DNA eliminasyon karışımı 42°C'de 5 dakika inkübe edildi. Sonra buz üzerinde 1 dakika bekletildi.
- 4) Reverse transkriptaz karışımı Çizelge 3.3 göre hazırlandı.

### Çizelge 3. 3 Reverse Transkriptaz Karışımı

Madde	1 Reaksiyon Hacimi	6 Reaksiyon Hacimi	24 Reaksiyon Hacimi
5xBC3 Tampon	4µl	24µl	96µl
P2 Kontrol	1µl	6µl	24µl
RE3 Reverse Transkriptaz	2µl	12µl	48µl
Nükleaz free su	3µl	18µl	72µl
Toplam hacim	10µl	60µl	240µl

- 5) 0µl genomik DNA eliminasyon karışımı içeren her tüpe 10µl reverse transkriptaz karışımı eklendi. Elde edilen karışım dikkatli bir şekilde alt üst edilerek karıştırıldı.
- 6) mRNA analizi için qPCR protokolü -42°C'de 15 dakika ilk inkübasyon — 95°C'de 5 dakika ikinci inkübasyon yapıp reaksiyon durduruldu.
- 7) Her bir reaksiyon tüpüne 91µl RNase-free su eklendi. Birkaç saniye pipetle alt üst edilerek örnekler karıştırıldı.
- 8) Reaksiyon tüpleri buz üzerine yerleştirildi ve RT-PCR analiz hazırlıkları yapıldı.

### 3.5.2.4 Eş zamanlı PCR ile BAP1, OGT ve YY1 genlerinin ekspresyonlarının belirlenmesi

RT-PCR analizi RT<sup>2</sup> SYBR Green qPCR Mastermix kiti (Qiagen) kullanılarak gerçekleştirildi. Mastermix tüplerinde oluşabilecek çökelti için 42°C’de 1 dakika bekletilip vortekslendi. Çalışmada, 25µl qPCR karışımı 1µl dilüe cDNA içerecek şekilde hazırlandı. Deneylerde tüm cDNA örnekleri aynı şartlarda 3’er kez çalışıldı. Bu üç ölçümün ortalaması analizlerde kullanıldı. Çalışmada housekeeping gen (GAPDH), kontrol ve çalışma grubu arasındaki ifade düzeyi farklılıklarını belirlemek amacıyla iç kontrol olarak kullanıldı. Aşağıdaki reaksiyon karışımı (çizelge 3.4) kullanılarak BAP1, OGT ve YY1 genlerinin ekspresyonlarının belirlenmesi amacı ile amplifikasyonları sağlanmıştır.

**Çizelge 3. 4** qRT-PCR koşulları

Madde	Hacim
RT <sup>2</sup> SYBR Green Mastermix	12,5µl
cDNA	1µl
RT <sup>2</sup> qPCR primer	1µl
RNase free su	10,5µl
<b>Toplam Hacim</b>	<b>25µl</b>

Real Time-PCR reaksiyonu Rototor Gene 6000 marka cihazda Çizelge 5.’de verilen döngü programı uygulanılarak gerçekleştirildi.

**Çizelge 3. 5** Döngü koşulları

Sıcaklık	Süre	Döngü
95°C	10 dakika <sup>1</sup>	1
95°C	15saniye	40
60°C	1dakika <sup>2</sup>	40

<sup>1</sup>HotStart DNA polimerazın aktivasyonu

<sup>2</sup>Her döngünün uzama basamağında her bir örnek için SYBR Green floresans belirlenmesi ve kaydedilmesi.

### 3.5.2.5 Primerler

SYBR Green, gen ekspresyonu kantitasyonunda sıklıkla kullanılan, çift zincirli DNA'ya bağlanarak floresan özellik kazanan bir boyadır. Bu boyanın çift zincirli PCR ürününe bağlanması ürün miktarı ile orantılı olarak floresans açığa çıkmasını sağlar. SYBR Green tekniği ile gen ekspresyonu kantitasyonu için uygun primer seçimi en önemli aşamadır. Bu tekniğin başarıyla uygulanabilmesi için PCR primerlerinin sadece özgül cDNA'ya bağlanması, primer-dimer veya özgül olmayan amplifikasyon ürünü oluşturmaması gereklidir. Çalışmamızda kullanılan primerler üretici firmanın optimize edilmiş garantili primerler olması nedeni ile özgül ürün oluşturma açısından tüm olumsuzlukları minimize etmiştir.

**Çizelge 3. 6** Real Time PCR yönteminde kullanılan primerler, üretici firma ve katalog numaraları.

Primerler	Katalog Numarası	Firma
BAP1	PPH02153C	Qiagen
OGT	PPH19166A	Qiagen
YY1	PPH00440F	Qiagen
GAPDH	PPH00150F	Qiagen

### 3.5.2.6 RT-PCR Ürünlerinin Özgüllüğünün Belirlenmesi

Real-Time PCR reaksiyonu sonrasında amplifiye edilen PCR ürünlerinin özgüllüğü RT-PCR cihazında Erime Eğrisi Analizi ve % 2'lik agaroz jelde elektroforeze tabi tutularak görüntülenmesi ile kontrol edildi. Özgün olmayan PCR ürünlerinin veya primer dimerlerinin saptanması durumunda PCR reaksiyonunu etkileyen faktörlerde birtakım değişikliklere gidilerek optimizasyon tekrar yapıldı.

### 3.5.2.7 RT-PCR Verilerinin Analizi

Gen ekspresyon deneylerine ait tüm RT-PCR analiz sonuçları, Rotor-gene 6000 Series Software Version 1.7 yazılımı ile kantite edildi. Verilerin  $\Delta\Delta C_T$  metodu ile istatistiksel analizi "RT2 profiler RT-PCR Array Data Analysis version 3.5" (<http://pcrdataanalysis.sabiosciences.com/pcr/arrayanalysis.php>) yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi.



### 3.5.3.1 BAP1, OGT ve YY1 protein düzeylerinin ELİSA yöntemi ile Analizi

BAP1, OGT ve YY1 protein düzeylerinin ELİSA yöntemi ile analizi için ayrıca bir kontrol grubu oluşturuldu. Hasta ve kontrollerden antikoagülanlı tüp içerisine alınan kandan plazma elde edildi (1000xg, 15 dk). Elisa analizi 96 testlik BAP1, OGT ve YY1 human elisa kiti kullanılarak yapıldı. Katalog numaraları çizelge 3.7’de verilmiştir.

**Çizelge 3. 7** ELİSA kitlerinin Katalog Numarası

Antibody	Katalog Numarası	Firma
<b>BAP1</b>	201-12-3062	Sunred Biological Technology
<b>OGT</b>	201-12-7461	Sunred Biological Technology
<b>YY1</b>	201-12-7436	Sunred Biological Technology

**Çizelge 3. 8** ELİSA Kit içeriği

Assay plate (12 x 8 coated Microwells)	96 Well
Standard (6400mg/L)	0,5ml
Standard diluent	3ml
Str- HRP-avidin	6ml
Wash Buffer (30x concentrate)	20ml
Biotin-antibody Diluent	1ml
Chromogen solution A	6ml
Chromogen solution B	6ml
Stop Solution	6ml
Plate membranı	2

540 nm veya 570 nm’de dalga boyu aralığında düzeltme yapılarak, 450nm de absorbans ölçme yeteneğine sahip GF-3000 microplate reader cihazı kullanıldı.

### 3.5.3.2 ELİSA verilerinin Değerlendirilmesi

Her bir standart ve örnek için tekrarlanan okumaların ortalaması alındı. Excel kullanılarak oluşturuldu. Bu standart eğri kullanılarak örnek miktarları tayin edildi.

### 3.5.4.1 İmmünohistokmyasal Analiz

Çalışma grubuna ait dokular %10'luk tamponlanmış nötral formalin içerisinde 30–36 saat süre ile tespit edildi. Dokular dehidrasyon, şeffaflandırma ve parafine gömme işlemlerinin ardından +4°C'de muhafaza edildi. Mikrotomla kesit almadan birkaç saat önce bloklar -20°C'ye alınıp 3µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler poli-L-lizin kaplı lamüzerine alındıktan sonra oda ısısında tespit edilip boyama aşamasına kadar +4°C'de saklandı. Alınan kesitlerde *BAP1*, *OGT* ve *YY1* protein ekspresyonları immünohistokimya işaretleyiciler kullanılarak belirlendi. BAP1, OGT ve YY1 için primer antikorlar kullanıldı. Bu üç gene ait ürün antikorları tavşan poliklonal IgG'dir. Sekonder antikor olarak ise ultravision polyvalent HRP-AEC kiti kullanıldı.

### 3.5.4.2 İmmünohistokmyasal Boyama Protokolü

1. 10 dk 2 değişim ksilolde deparafinizasyon
2. %100'lük etil alkol 2 dk
3. %100'lük etil alkol 2 dk
4. %95'lik etil alkol 2 dk.
5. %80'lik etil alkol 2 dk.
6. %70'lik etil alkol 2 dk.
7. Distile su 5 dk.
8. Endojen peroksidaz aktivitesi, kesitler hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Thermo scientific, USA) çözeltisinde 15 dakika oda ısısında bekletilerek giderildi.
9. Yıkama çözeltisi (PBS-Tween 20) 2 kez 3'er dakika yıkandı.
10. Mikrodalg fırında 2 defa 10'ar dakika sırasıyla maksimum güçte ve 600W'da 10 mM sodyum sitrat tamponu (pH 6) içerisinde epitoplarn açığa çıkarılması gerçekleştirildi.
11. Pappen (Dako, Glostrup, Denmark) ile örneklerin etrafı çizildi.
12. Yıkama çözeltisi (PBS-Tween 20) ile 2 kez 3'er dakika yıkandı.
13. Kesitler serum bloklama çözeltisi (Ultra V Block) ile 10 dakika oda sıcaklığında bekletildi.

14. Kesitlere uygun primer antikorlar ilave edilerek +4 oC' de 1 gece nemli ortamda inkube edilecek. Bu çalışmada seyreltme oranları; kullanılan primer antikorların aşağıda verilen katalog numaralarına göre yapıldı.
  - BAP1(EPP10790)
  - OGT (EAP0752)
  - YY1 (EPM12542)
15. Yıkama çözeltisinde (PBS-Tween 20) 4 kez 3'er dakika yıkandı.
16. Sekonder antikor, biyotinle konjuge keçi anti-polivalent (Ultravision polyvalent HRP-AEC) ile oda ısısında 20 dakika nemli karanlık ortamda inkube edildi.
17. Yıkama çözeltisinde (PBS-Tween 20) 3 kez 2'şer dakika yıkandı.
18. Substrat çözeltisi ile 5–10 dakika (mikroskopik kontrollü gerçekleştirilecek). BAP1, OGT ve YY1'de DAB (3,3-diaminobenzidine) kromojen boyası uygulandı.
19. Zıt boyama, Mayer's Hematoksilen (Merck) içinde 1,5 dakika yapıldı.
20. Akarsu altında hematoksilenin fazlası yıkandı.
21. Dokular kapatma medyumu (DPX mounting medium) ile kapatıldı.

#### **3.5.4.3 İmmünohistokmyasal Değerlendirme Yöntemi**

Kontrol ve tümör dokularında incelenen her antikor için immunoreaktivite açısından değerlendirildi. Antikorların ekspresyon şiddeti semikantitatif skorlama yoluyla belirlendi. Boya şiddeti zayıf; 1+, orta; 2+ ve kuvvetli; 3+ olarak ifade edildi. Zayıf boyanma (1+) ancak 40x mikroskop büyütmesinde primer antikorun izlenebildiği alanlar için kullanılırken, orta derecede boyanma (2+) 20x mikroskop büyütmesinde primer antikorun seçilebildiği alanlar ve kuvvetli boyanma (3+) 10x mikroskop büyütmesinde primer antikorun izlenebildiği alanlar olarak belirlendi (Celebi AR, 2016). Her hasta için ardışık olmayan ve rastgele seçilmiş beş histolojik kesitte immünopozitif alanların kantitatif tayini yapıldı. Her kesit için seçilen en az 10 bölgede hücreler 20x ve 40x büyütmede Olympus BX51 mikroskopunda immünoreaktivite açısından değerlendirildi ve fotoğrafları çekildi. Fotoğraflar, National Institute of Health [Bethesda, Maryland, USA, (<http://rsb.info.nih.gov/ij/download.html>)] tarafından geliştirilen bilgisayar temelli ImageJ programı kullanılarak analiz edildi (Safadi RA, 2010).

#### 4. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Çalışmamızda istatistiksel analiz, verilerin SPSS 14.0 programına yüklenerek değerlendirilmesi ile yapıldı. Normal dağılışa uygunluk gösteren veriler varyans analizi Tukey testi, RT-PCR verileri iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi Student's T-testi ile değerlendirildi. Yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen veriler, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U ve  $\chi^2$  testleriyle değerlendirildi. Yanılma düzeyi 0,05 olarak alındı. İmmünohistokimya verileri GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, CA, USA) programı kullanılarak analiz edildi. Verilerin D'Agostino-Pearson omnibus normalite testi ile normal dağılıma uygun olduğu belirlendi. Veriler ortalama  $\pm$ SD olarak sunuldu.



## 5. BULGULAR

### 5.1. Hasta Bilgileri

Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi (CÜ), Tıp Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü tanısı alan 20 hastadan oluşturuldu. Hastalar arasında cinsiyet, yaş veya kanserin histopatolojik tipi ile derecesi yönünden bir kısıtlama yapılmadı. Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü tanısı alan hastalardan ameliyat sırasında alınan doku örneğinin patoloji raporuna dayanarak tümörün histopatolojik tipi verilere eklendi (Çizelge 5.1).

**Çizelge 5. 1** Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümürlü hastaların histopatolojik tipleri

Histopatolojik Tip	Göz kapağı	Konjunktival	Orbital
Bazal hücre karsinomu	12		
Küçük hücreli malign tümör	1		
Trikoepitelyoma	1		
Malign fibröz histositom	1		
Skumöz hücreli karsinom	1	1	
Kronik kazeifiye granülona			1
Malign melonoma	1		
Sebase bezi karsinom	1		

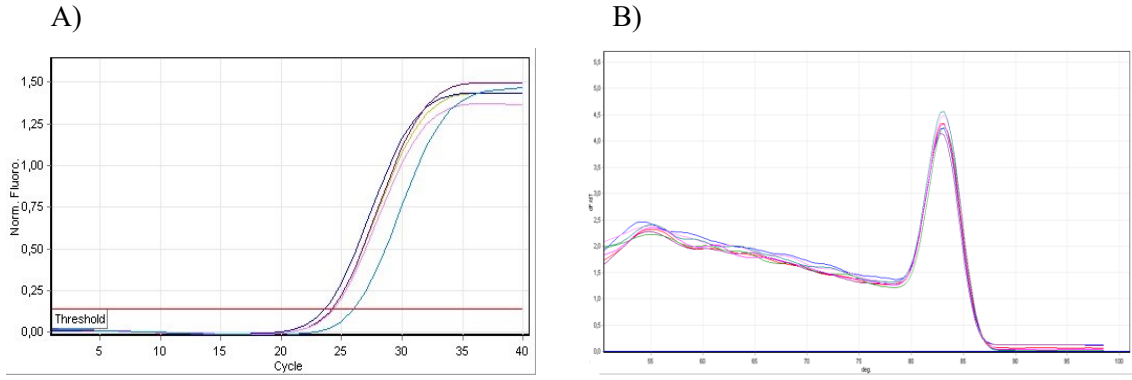
Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü hastaları cinsiyet, yaş aralığı, yaş ortalaması, ailede kanser hikâyesi ve güneşe maruz kalma gibi özellikler Çizelge 5.2' de verilmiştir. Hastaların 13'ü (%65,0) erkek, 7'si (%35,0) kadındır. Hastaların yaş ortalaması ve yaş aralığı sırasıyla 69,03±14,8 ve 38–90 olarak bulundu. Ailede kanser hikayesi bakımından değerlendirildiğinde hastaların 7'sinde (%35,0) kanser hikayesi olduğu tespit edildi. Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü hastaların mesleki durumuna bağlı olarak 7'sinde (%35,0) uzun süre güneş ışınlarına maruz kalma vardı.

**Çizelge 5. 2** Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hastaların demografik bilgileri

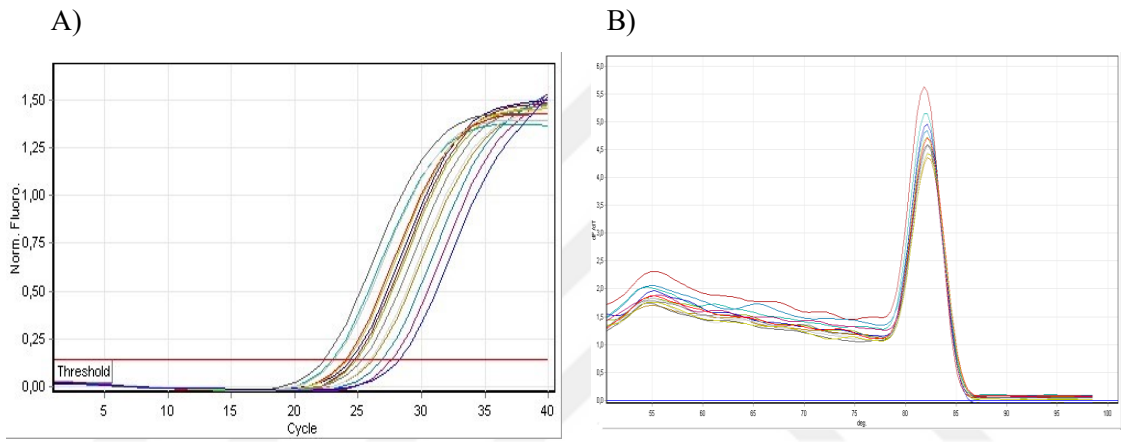
	<b>Hasta n (%)</b>
<b>Birey sayısı</b>	20
<b>Cinsiyet</b>	
Erkek	13(65,0)
Kadın	7(35,0)
<b>Yaş</b>	
Aralık	38–90
<b>Yaş Ortalaması</b>	69,03 ± 14,8
<b>Ailede Kanser Hikâyesi</b>	7(35,0)
<b>Güneşe Maruz Kalma</b>	7(35,0)

### **5.2. Real Time-PCR sonuçlarının istatistiksel analizi**

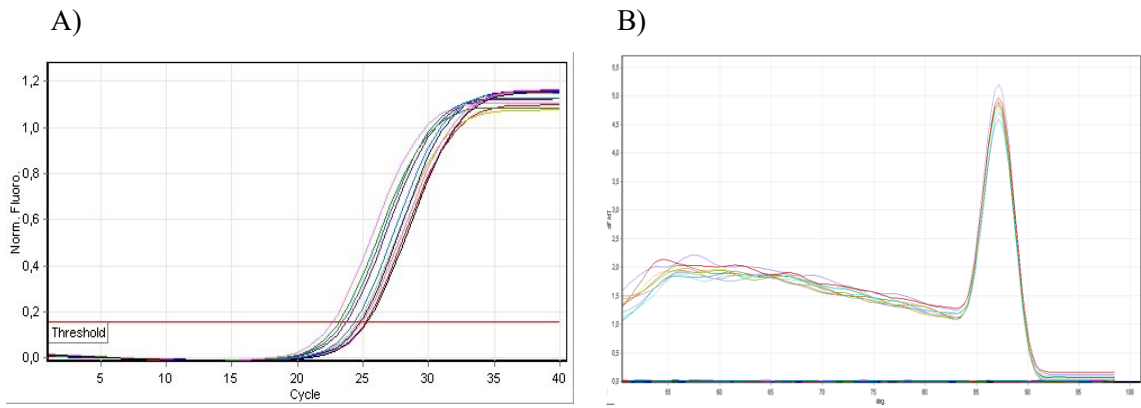
Göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümörü ve kontrol dokusunda BAP1 geni ve BAP1 geni ile etkileşime giren OGT ve YY1 genlerinin ekspresyon düzeyleri RT-PCR metoduyla analiz edilmiştir. Bu çalışmada housekeeping gen olarak GAPDH kullanılmıştır. GAPDH ile çalışma genlerinin ekspresyon düzeyleri normalize edilmiştir. Real Time-PCR reaksiyonu sonucunda her gen için spesifik amplifikasyon eğrisi ve erime eğrileri gözlendi (Şekil 5.1, Şekil 5.2, Şekil 5.3, Şekil 5.4).



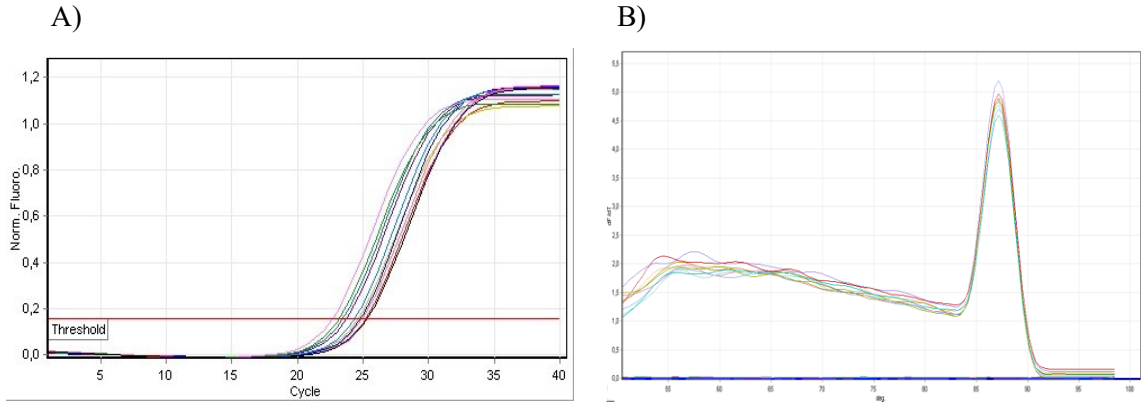
Şekil 5. 1 *BAP1* geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B).



Şekil 5. 2 *OGT* geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B).



Şekil 5. 3 *YY1* geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B).



**Şekil 5. 4** *GAPDH* geninin amplifikasyon eğrisi (A) ve erime eğrisi (B).

RT-PCR verilerinin istatistiksel analizi Rotor-Gene 6000 yazılımı olan RT2 profiler RT-PCR Array Data Analysis version 3.5 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Deney sonucu elde edilen veriler  $\Delta\Delta C_t$  metodu temel alınarak analiz edildi. RT-PCR verileri iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi Student's t-testi ile değerlendirildi (Çizelge 5). Kat değişimi değeri ( $\text{Fold change}=2^{-\Delta\Delta C_t}$ ), birden büyükse genin ifade düzeyinin arttığı anlamına gelir. Eğer kat değişim değeri birden azsa gen ifade düzeyinin azaldığı anlamına gelir. Kat düzenlemesi (Fold regulation), kat değişim sonuçlarının biyolojik sistemlere uyarlanmasıdır. Eğer kat değişimi değeri ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) birden büyükse kat düzenlemesi değerine eşittir. Ancak kat değişimi değeri ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ) birden azsa kat düzenlemesi değeri kat değişimi değerinin negatif tersidir. Verilerin analiz sonucunda her gen bölgesinin ortalama  $C_t$ , kat değişim ve kat düzenlemesi değerleri Çizelge 5.3'de gösterilmiştir.



**Çizelge 5. 3** RT-PCR verilerinin kontrol ve tümör dokusu gruplarında CT, kat değişim ve kat düzenlenmesi ve Student's t-testi sonuçları

Genler	Gruplar (Sayı)	Ortalama CT	Standart Sapma	Kat değişimi (Fold-change)	Kat düzenlenmesi (Fold-regulation)	
<i>BAP1</i>	Tümör	24,97	2,28	1,02	1,02	0,16
	Kontrol	22,70	0,79			
<i>OGT</i>	Tümör	25,52	2,22	1,83	1,83	0,06
	Kontrol	24,08	0,93			
<i>YY1</i>	Tümör	25,52	2,82	1,77	1,77	0,07
	Kontrol	24,05	1,24			
<i>GAPDH</i>	Tümör	21,67	3,06	1,00	1,00	
	Kontrol	19,37	1,16			

\* Kat Değişimi (Fold Change)=  $2^{(-\Delta\Delta Ct)}$

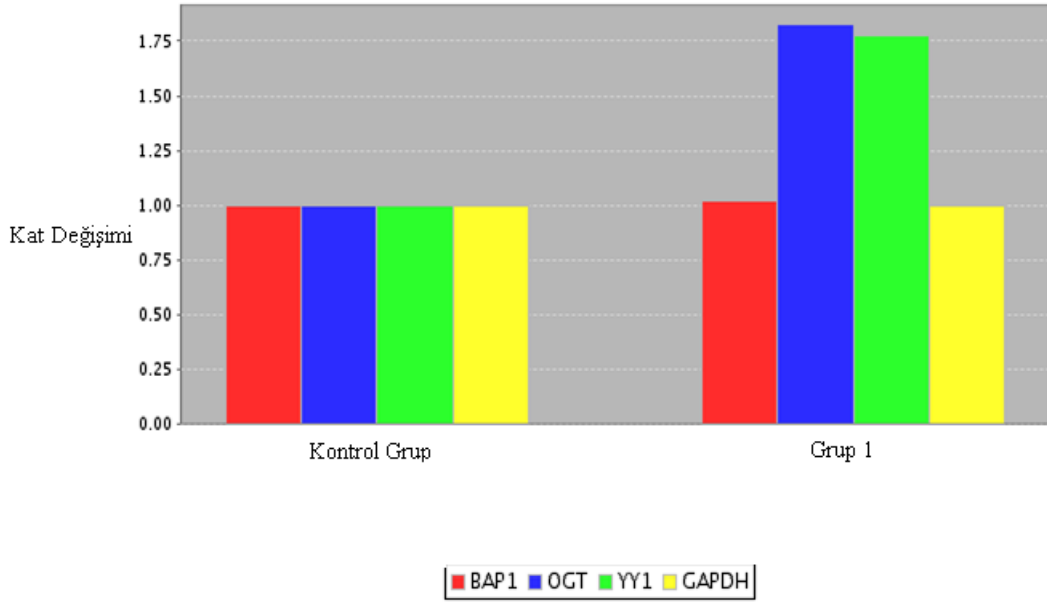
\*\* Kat düzenlemesi (Fold Regulation)=  $-1/ \Delta\Delta Ct$

$\Delta Ct$  tümör= Ort Ct hedef gen tümör - Ort Ct Gapdh tümör

$\Delta Ct$  kontrol= Ort Ct hedef gen kontrol - Ort Ct Gapdh kontrol

$\Delta\Delta Ct$ =  $\Delta Ct$  (hedef gen tümör – Gapdh tümör) –  $\Delta Ct$  (hedef gen kontrol – Gapdh kontrol)

*BAP1* geni ifade düzeylerinde, tümör dokusu grubunda 1,02 kat artma izlendi. Fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p>0,05$ ). *OGT* geni ifade düzeylerinde tümör dokusu grubunda 1,83 kat artma izlenmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ( $p>0,05$ ). Son olarak *YY1* geni ifade düzeylerinde, tümör dokusu grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1,77 kat artma izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ( $p>0,05$ ). Bu çalışma kapsamında değerlendirilen tüm genlerin ifade düzeylerinde çalışma grupları arasında farklılıklar tespit edilmiş olsa da bu farklı ifade düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları izlenmiştir (Çizelge 5.3). Genlerin kontrol grubuna göre çalışma gruplarında ifade düzeyleri toplu olarak Şekil 5.5' de gösterilmiştir.



**Şekil 5. 5** Kontrol grubu temel alınarak tümör grubunda (grup1), *BAP1*, *OGT* ve *YY1* genlerinin ifade düzeylerinin karşılaştırılması

### 5.3. BAP1, OGT ve YY1 Protein Düzeyleri

#### 5.3.1 Hasta ve kontrol grubunun demografik bilgileri

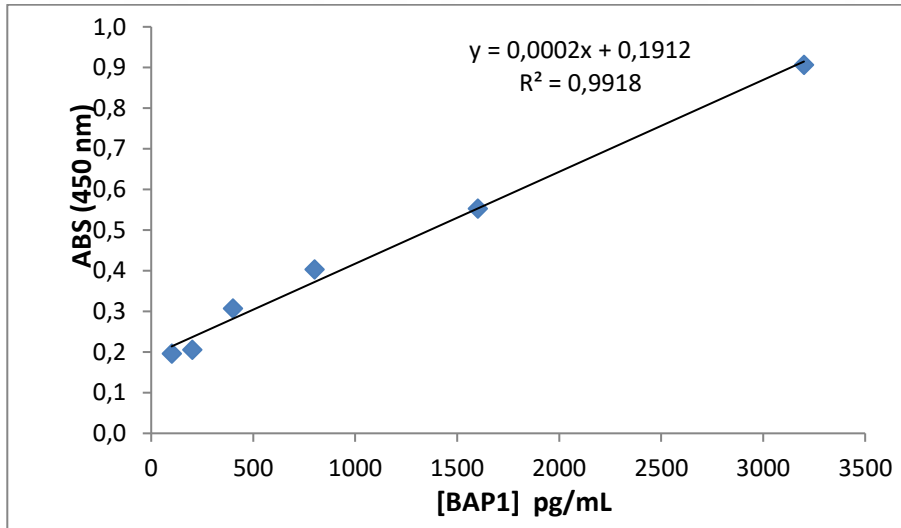
Bu çalışma Cumhuriyet Üniversitesi (CÜ), Tıp Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göz Hastalıkları Ana Bilim Dalına başvuran göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü tanısı alan 20 hastadan oluşturuldu. Kontrol grubu ise yine Cumhuriyet Üniversitesi (CÜ), Tıp Fakültesi, Araştırma ve Uygulama Hastanesi fiziksel tedavi ve rehabilitasyon bölümüne başvuran herhangi bir kanser öyküsü olmayan 24 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü hasta ve kontrollerinin cinsiyet, yaş aralığı ve yaş ortalaması, gibi özellikler Çizelge 5.4' de verilmiştir. Hastaların 13'ü (%65,0) erkek, 7'si (%35,0) kadındır. Hastaların yaş ortalaması ve yaş aralığı sırasıyla 69,03±14,8 ve 38–90 olarak bulundu. Kontrollerin 9'u (38,0) erkek, 15'i (62,0) kadındı ( $p=0,303$ ,  $\chi^2=16,178$ ). Kontrollerin yaş ortalaması ve yaş aralığı sırasıyla 51,75±12,4ve 34–80 olarak kaydedildi.

**Çizelge 5. 4** Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hasta ve kontrollerin demografik bilgileri

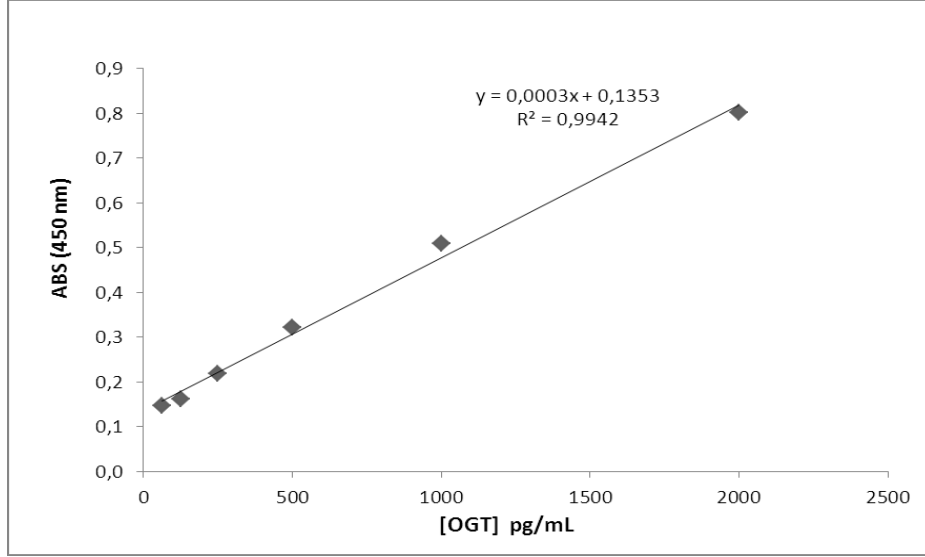
	Hasta Grubu	Kontrol Grubu
<b>Birey sayısı</b>	20	24
<b>Yaş aralığı</b>	38–90	34–80
<b>Yaş ortalaması</b>	69,03 ± 14,8	51,75 ± 12,4
<b>Cinsiyet</b>		
Erkek	13(65,0)	9(38,0)
Kadın	7(35,0)	15(62,0)

### 5.3.2 ELİSA verilerinin istatistiksel analiz sonuçları

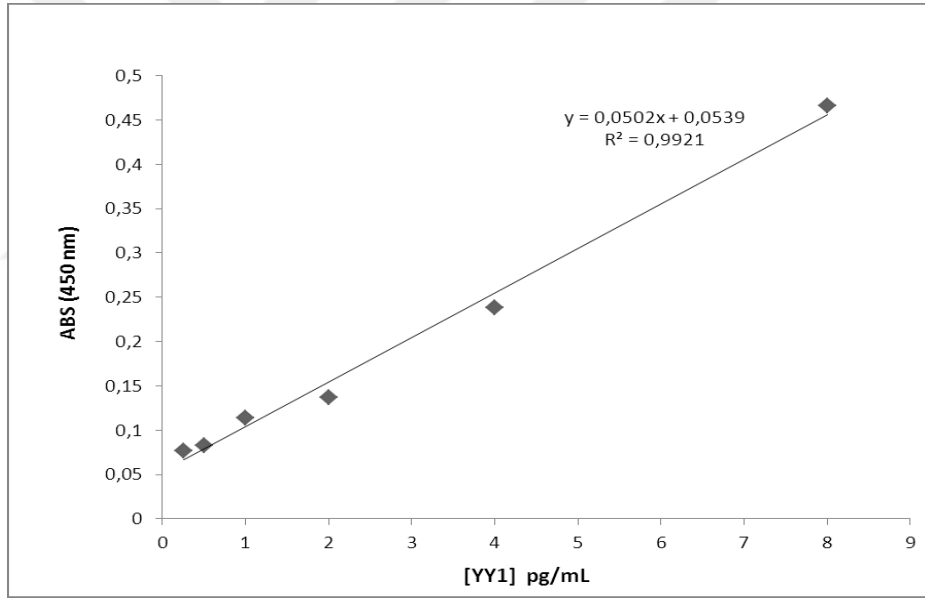
Göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümör ve kontrol BAP1, OGT ve YY1 protein düzeyleri ELİSA metoduyla hasta ve kontrol grubundan elde edilen plazma örneklerinde analiz edilmiştir. BAP1, OGT ve YY1 protein düzeyleri belirlemek amacıyla ilk olarak standart eğriler oluşturulmuştur (Şekil 5.6, Şekil 5.7, Şekil 5.8).



**Şekil 5. 6** BAP1 proteininin standart eğrisi



Şekil 5. 7 OGT proteinin standart eğrisi



Şekil 5. 8 YY1 proteinin standart eğrisi

Hasta ve kontrol grubunda BAP1, OGT ve YY1 protein düzeyleri belirlendi. BAP1 yönünden hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda BAP1 düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek olarak tespit edildi. Buna bağlı olarak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p=0,01$ ). OGT yönünden değerlendirildiğinde hasta ve kontrol grubunda OGT plazma düzeyleri benzer olarak bulundu ve istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,480$ ). Son olarak YY1 düzeyleri kontrol grubuna oranla hasta grubunda daha yüksek bulundu ve bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p=0,039$ ). (Çizelge 5.5)

**Çizelge 5. 5** Hasta ve Kontrol grubunda BAP1, OGT ve YY1 düzeyleri

<b>Birim</b>	<b>Hasta Grup Median</b>	<b>Kontrol Grup Median</b>	<b>P</b>
<i>pg/ml</i>	<b>(min-max)</b>	<b>(min-max)</b>	
<b>BAP1</b>	122,00(-112,00–7349,00)	—91,0(-270,00–4991,00)	<b>0,001*</b>
<b>OGT</b>	884,00(602,60–5728,70)	829(509,60–4993,60)	0,480
<b>YY1</b>	2,87(1,43–36,83)	2,24(1,16–19,98)	<b>0,039*</b>

#### **5.4 İmmünohistokimya Analiz Sonuçları**

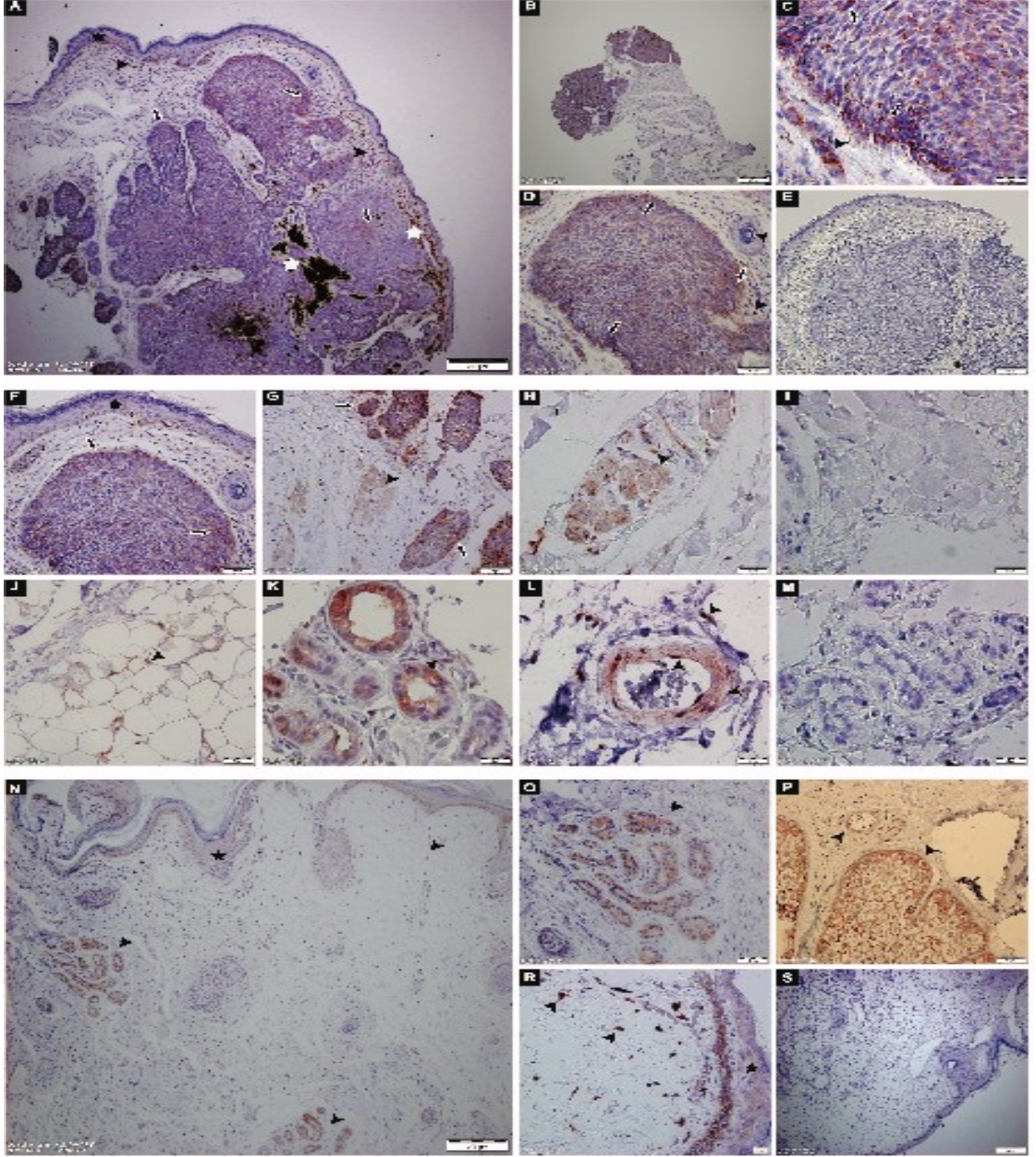
Çalışmamızda ameliyat esnasında alınan 20 doku örneğin 12'sine (%60) en sık izlenen kötü huylu tümör olan BHK, teşhisi konulmuştur. Geri kalan doku örneklerine ise; küçük hücreli malign tümör (1/20), trikoepitelyoma (1/20), malign fibröz histositom (1/20), skumöz hücreli karsinom (2/20), kronik kazeifiye granülona (1/20), malign melanoma (1/20) ve sebace bezi karsinom (1/20) teşhisi konulmuştur. İmmünohistokimyasal değerlendirmede, farklı hastalardan alınan dokuların boyanma modellerinin farklı olabileceği bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamızda en sık rastlanan ve en fazla sayıyla temsil edilen BHK, teşhisi konulmuş doku örneklerinde; BAP1, OGT ve YY1 protein ekspresyonu kontrol dokularıyla karşılaştırılmalı olarak immüno-pozitif alanların yüzdeleri üzerinden değerlendirildi.

##### **5.4.1 BAP1 Protein Ekspresyonu**

BHK'lu tümör alanlarında, BAP1 immüno lokalizasyonunun, tümör hücrelerinde (Şekil 5.9 A, C-D, F; ok) ve tümör alanlarını çevreleyen ekstrasellüler matriks içinde bazı bağ doku hücrelerinde (Şekil 5.9 A, C-D; ok başı), epidermis tabakasında epitelyal hücrelerde (Şekil 5.9 A, F; yıldız), kıl follikülü epitel hücrelerinde (Şekil 5.9 D; ok başı), kas hücrelerinde (Şekil 5.9, G-H; ok başı) yağ bezi ve hücrelerinde (Şekil 5.9 J; ok başı), ter bezi epitel hücrelerinde (Şekil 5.9 K; ok başı) ve kan damarlarının endotel ve tunika media tabakasındaki düz kas dokusunda (Şekil 5.4.1 L; ok başı) farklı yoğunluklarda pozitif olduğu izlendi (Çizelge 5.6). BAP1 ekspresyonunun, dermis içerisinde bulunan farklı doku gruplarında tümör alanlarına oranla daha düşük olduğu tespit edildi (Şekil 5.9). Diğer taraftan BAP1 boyanma yoğunlukları açısından değerlendirildiğinde, tümör alanlarını çevre bağ dokusundan ayıran yoğun bazofilik

boyanan ve geniş çekirdekli malign hücrelerde BAP1 ekspresyonunun kuvvetli ancak dermiste; stromal hücreler, kas, yağ doku ve bezleri, kan damarı endotel hücreleri ve düz kas hücrelerinde ise zayıf eksprese olduğu izlendi (Çizelge 5.6, Şekil 5.9). Kontrol grubu dokularında epidermiste bazal tabakada dağılım gösteren hücrelerde BAP1 immünoaktivitesinin BHK'lu dokulara oranla arttığı ve orta şiddette boyandığı tespit edildi (Şekil 5.9 N, R; yıldız). Benzer şekilde BAP1 protein ekspresyonunun dermiste bağ dokusu hücrelerinde (Şekil 5.9P, R; ok başı) ve yağ bezi/hücrelerinde (Şekil 5.9P; ok başı) BHK'lu dokulara oranla artış gösterdiği ve sırasıyla orta ve kuvvetli şiddette boyandığı görüldü. Bu değişiklikler dışında, kontrol dokularında BAP1 proteininin boyanma şiddetleri açısından BHK'lu dokulardan farklılık göstermediği tespit edildi (Çizelge5.6).





**Şekil 5. 9** BHK A-M ve kontrol N-S örneklerinde BAP1 immunolokalizasyonu. Tümör hücreleri (Şekil 5.9 A, C-D, F; ok), stromal hücreler (Şekil 5.9 A, C-D; ok başı), epitel hücreler (Şekil 5.9 A, F; yıldız), kıl follikülü (Şekil 5.9 D; ok başı), kas doku (Şekil 5.4.1 G-H; ok başı) yağ hücreleri (Şekil 5.9 J; ok başı), ter bezi (Şekil 5.9 K; ok başı) ve kan damarları (Şekil 5.9 L; ok başı)'nda BAP1 immunolokalizasyonu. Beyaz yıldız; melanin pigmentasyonu. E, I, M; BHK için negatif kontrol. S; kontrol dokuları için negatif kontrol. Kromojen; AEC, zıt boyama; Hematoksilen

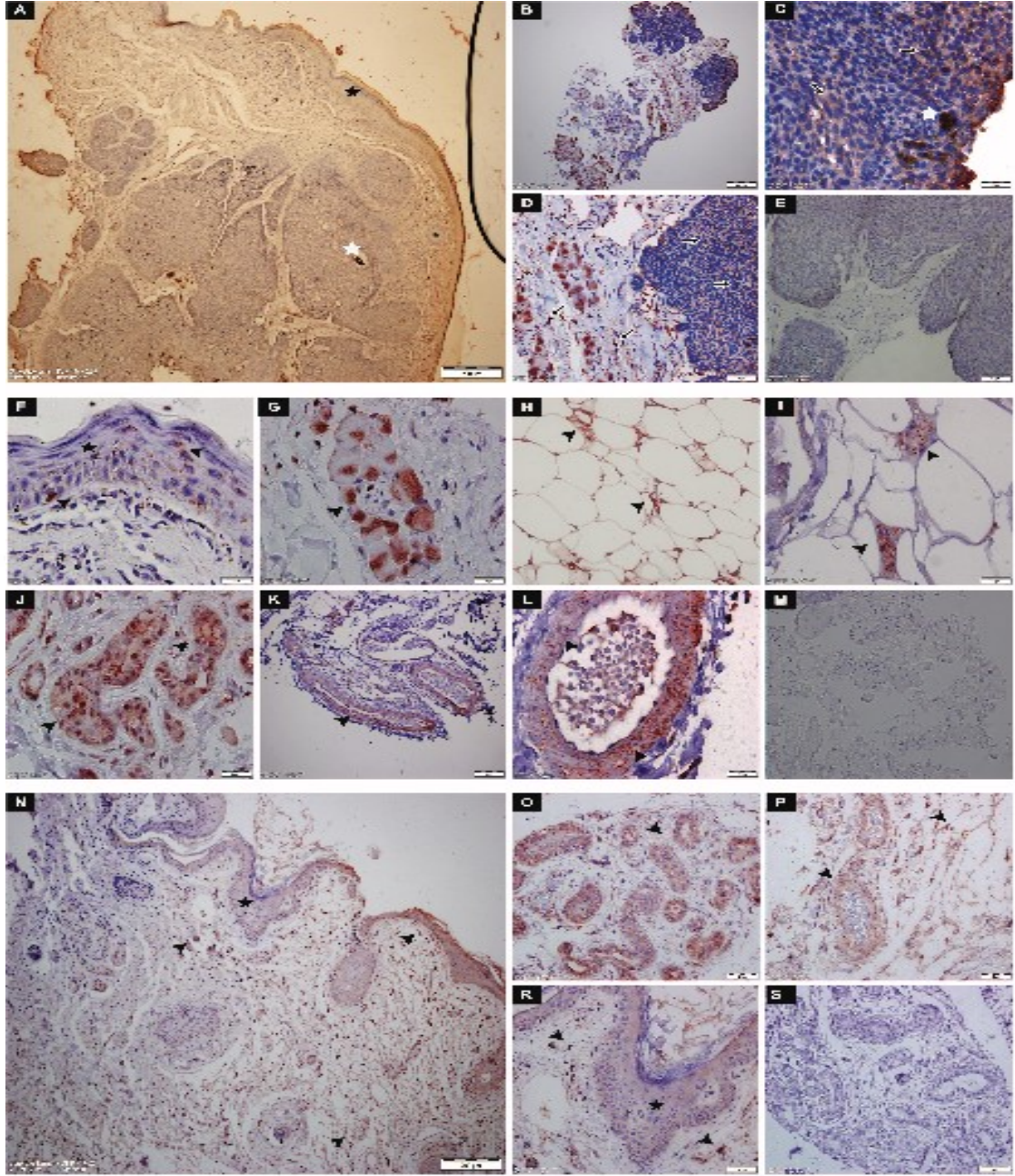
#### 5.4.2 OGT Protein Ekspresyonu

BHK örneklerde OGT proteininin immünoaktivitesinin, bazı tümör hücrelerinde (Şekil 5.10 C-D) ve epidermis tabakasının (Şekil 5.10 F; yıldız) bazı epitelyal hücrelerinde (Şekil 5.10 F; ok başı) eksprese olduğu ve boyanma şiddetinin

zayıf olduğu tespit edildi. Dermis tabakasında ise bağ dokusu stromal hücrelerinde (Şekil 5.10 D, F; ok başı) ve yağ bezi ve hücrelerinde (Şekil 5.10 H, I; ok başı) orta şiddette ancak kas dokusunda (Şekil 5.10G; ok başı), ter bezi epitelyal hücrelerinde (Şekil 5.10 J; ok başı) ve dermal kan damarlarında (Şekil 5.10 K-L; ok başı) OGT ekspresyon şiddetinin kuvvetli olduğu görüldü.

Kontrol grubu dokularında, çizelge 5.4.1’de gösterildiği gibi genel olarak OGT protein ekspresyonunun BHK’lu dokulara benzer şekilde eksprese olduğu (Şekil 5.10 N-R) tespit edildi. Kontrol grubu dokularında, stromal hücrelerde ekspresyonun arttığı ve boyanma şiddetinin kuvvetli olduğu (Şekil 5.10 N, P-R; ok başı) ancak dermal kan damarlarında ise protein ekspresyonunun şaşırtıcı şekilde azaldığı ve zayıf şiddette boyandığı görüldü (Şekil 5.10 P; ok başı).





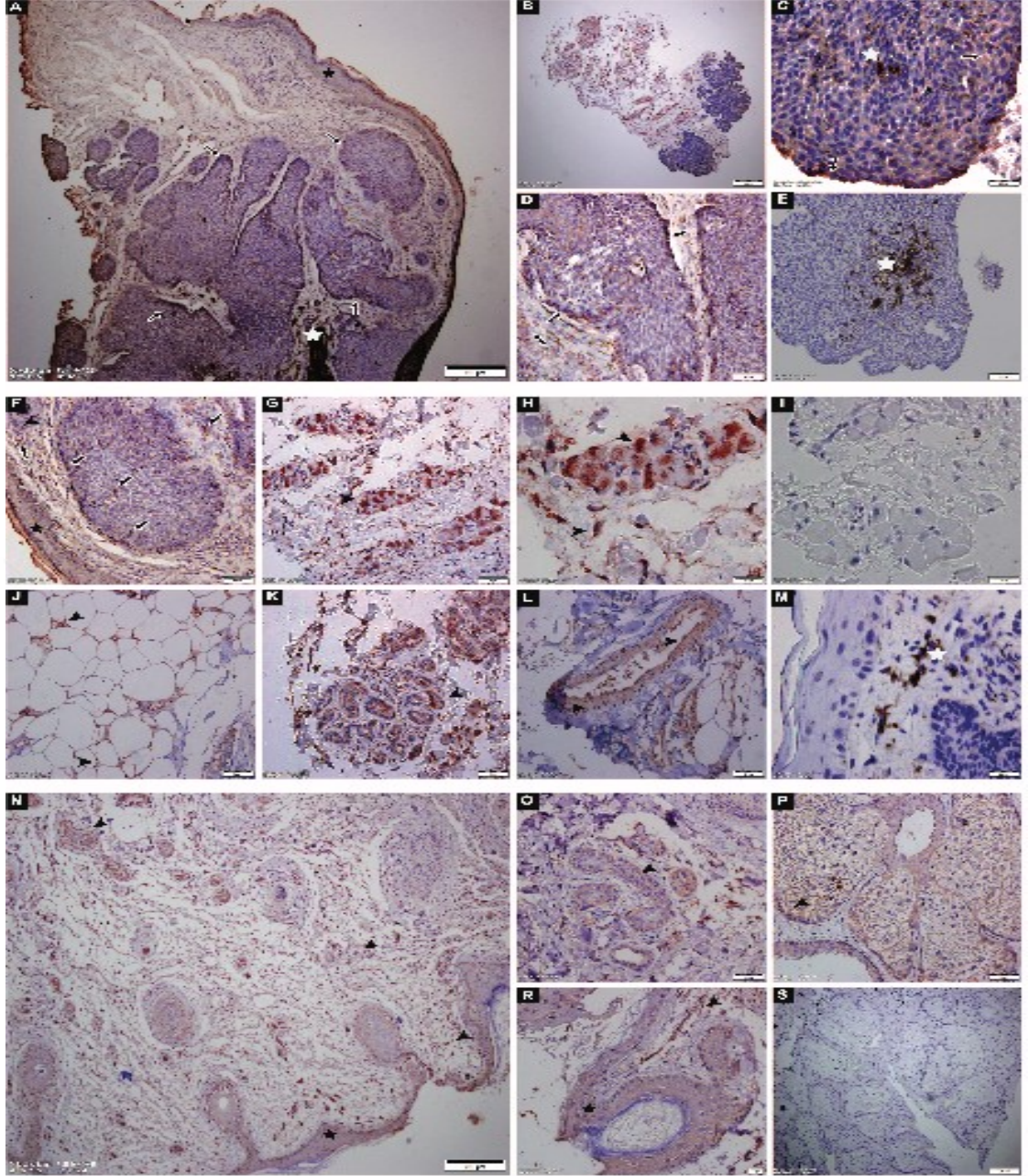
**Şekil 5. 10** BHK A-M ve kontrol N-S örneklerinde OGT immunolokalizasyonu. Tümör hücreleri (Şekil 5.10 C-D; ok), epidermis (Şekil 5.10 F; yıldız), epitel hücreleri (Şekil 5.10; ok başı), stromal hücreler (Şekil 5.10 D, F; ok başı), yağ doku (Şekil 5.10 H, I; ok başı) kas dokusu (Şekil 5.10 G; ok başı), ter bezi (Şekil 5.10 J; ok başı), kan damarları (Şekil 5.10 K-L; ok başı)'nda OGT immunolokalizasyonu. Beyaz yıldız; melanin pigmentasyonu. E, M; BHK için negatif kontrol. S; kontrol dokuları için negatif kontrol. Kromojen; AEC, zıt boyama; Hematoksilen.

### 5.4.3 YY1 Protein Ekspresyonu

YY1 proteininin, BHK hasta dokularında; tümör hücrelerinde (Şekil 5.11 A, C-D, F; ok), tümör alanlarını çevreleyen bağ dokusu hücrelerinde (Şekil 5.11 D, H; ok başı), kıl follikülü epitel hücrelerinde (Şekil 5.11 F; ok başı), kas hücrelerinde (Şekil

5.11 G-H; ok başı), yağ hücrelerinde (Şekil 5.11 J; ok başı), ter bezi epitel hücrelerinde (Şekil 5.4.3K; ok başı) ve kan damarlarının endotel hücrelerinde ve media tabakasındaki düz kas dokusunda (Şekil 5.11 L; ok başı) farklı boyanma şiddetlerinde pozitif olduğu izlendi (Çizelge 5.6). YY1 immünoaktivitesinin epidermis tabakasında zayıf, tümör hücrelerinde, bağ dokusu hücrelerinde orta şiddette ancak kan damarlarında, kas dokusunda, yağ bezi ve hücrelerinde ve ter bezi epitelyal hücrelerinde kuvvetli şiddette eksprese olduğu izlendi (Şekil 5.11). YY1 ekspresyonunun, Bap1 ekspresyonuna benzer şekilde tümör bölgelerinde yoğun bazofilik boyanan ve oval çekirdekli malign hücrelerde belirgin şekilde eksprese edildiği görüldü (Şekil 5.11 C-D).

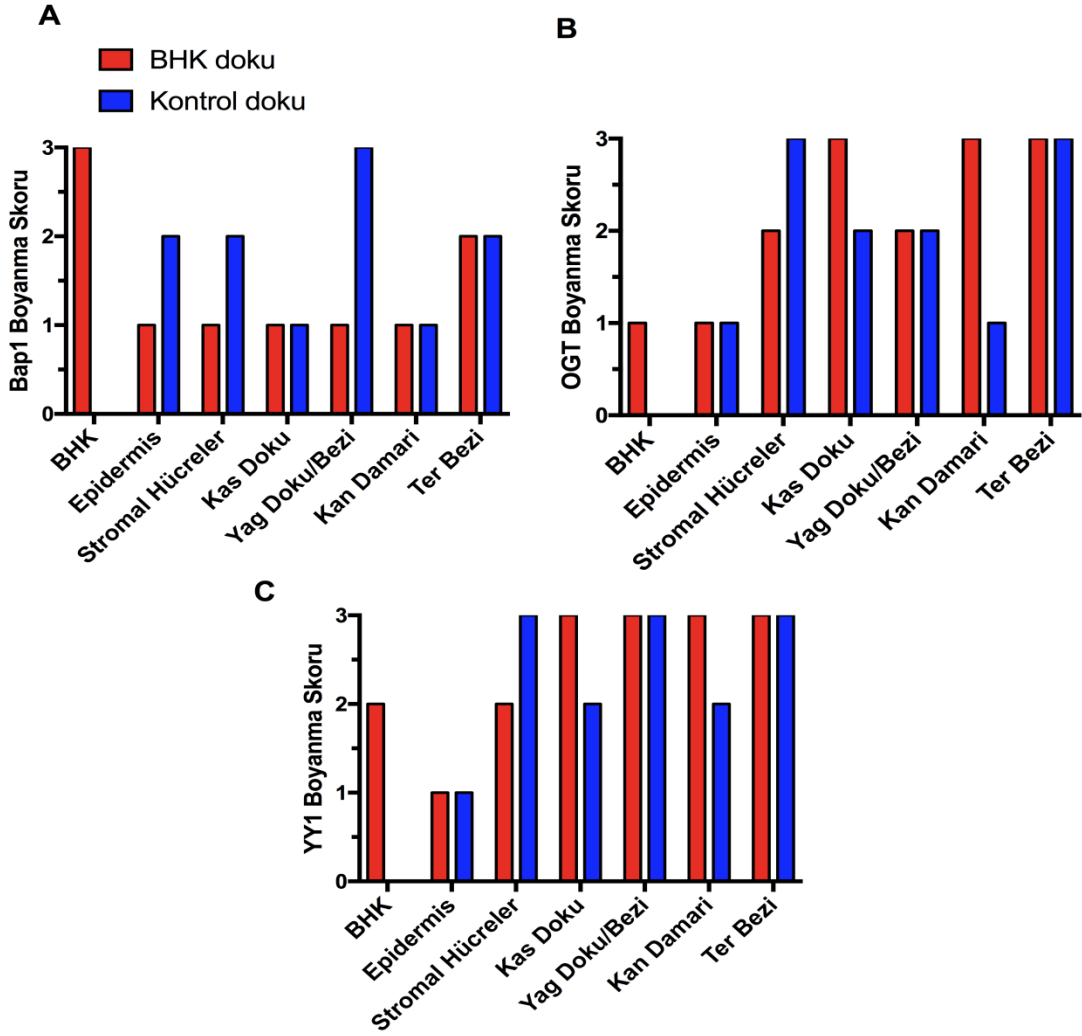
Kontrol grubu dokularında YY1 proteininin boyanma skorları Şekil 5.4.3'de gösterilmiştir. YY1 proteininin immünoaktivitesinin, BHK'lı dokulara benzer şekilde eksprese olduğu (Şekil 5.11 N-R) izlendi. İmmünoaktivitenin, OGT proteine benzer şekilde stromal hücrelerde arttığı ve boyanma şiddetinin kuvvetli olduğu (Şekil 5.11 N, R; ok başı) ancak dermal kan damarlarında immünoaktivitenin azaldığı ve orta şiddette boyandığı görüldü (Şekil 5.11 N; ok başı).



**Şekil 5. 11** BHK A-M ve kontrol N-S örneklerinde YY1 immunolokalizasyonu. Tümör hücreleri (Şekil 5.11 A, C-D, F; ok), stromal hücreler (Şekil 5.11 D, H; ok başı), kıl follikülü (Şekil 5.11 F; ok başı), kas doku (Şekil 5.11 G-H; ok başı), yağ doku (Şekil 5.11 J; ok başı), ter bezi (Şekil 5.11 K; ok başı) ve kan damarları (Şekil 5.11 L; ok başı)'nda YY1 immunolokalizasyonu. Beyaz yıldız; melanin pigmentasyonu. E, M; BHK için negatif kontrol. S; kontrol dokuları için negatif kontrol. Kromojen; AEC, zıt boyama; Hematoksilen.

**Çizelge 5. 6** BHK ve kontrol dokularında BAP1, OGT ve YY1 boyanma skorları

				Hasta Grubu						Kontrol Grubu			
	BHK	Epidermis			Dermis			Epidermis			Dermis		
			Stromal Hücreler	Kas Doku	Yağ Doku/Bezi	Kan Damarı	Ter Bezi		Stromal Hücreler	Kas Doku	Yağ Doku/Bezi	Kan Damarı	Ter Bezi
BAP1	+++	+	+	+	+	+	+	++	++	+	+++	+	+
OGT	+	+	++	+++	++	+++	++	+	+++	++	++	+	++
YY1	++	+	++	+++	+++	+++	++	+	+++	++	+++	++	++



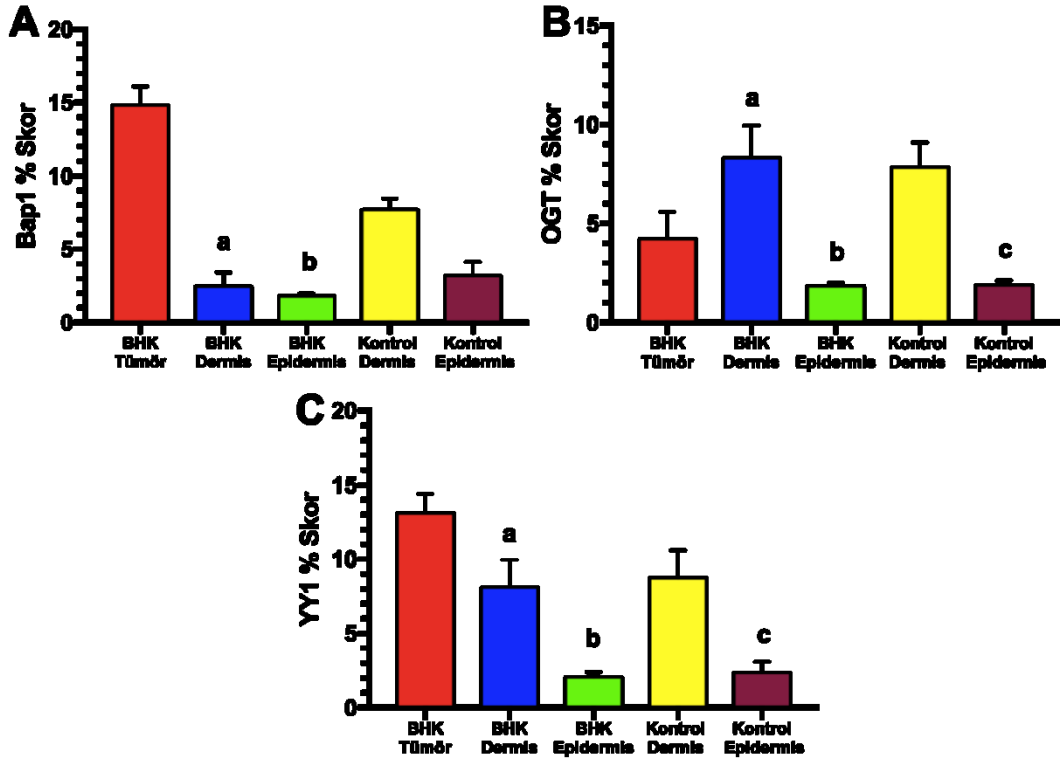
**Şekil 5. 12** BHK ve kontrol dokularında BAP1 (A), OGT (B) ve YY1 (C) boyanma skorları.

BAP1 protein ekspresyonunun, BHK'lu ve kontrol dokularında % boyanma değerleri tespit edildi. BHK tümör alanlarında BAP1 proteininin kuvvetli boyandığı ve % 14.83 olduğu tespit edildi. BHK'lu dokuda dermis ve epidermiste boyanma yüzdelerinin benzer olduğu (sırasıyla,  $\%2.46 \pm 0.96$  ve  $\%1.79 \pm 0.16$ ;  $p=0.47$ ) tespit edildi. BHK'lu dokuda dermis ve kontrol epidermislerinin BAP1 boyanma yüzdelerinde istatistiksel olarak benzer olduğu (sırasıyla,  $\%2.46 \pm 0.96$  ve  $\%3.187 \pm 0.94$ ;  $p=0.38$ ) izlendi. Ancak, BHK'lu dokuda dermis ve kontrol grubu dermis tabakaları karşılaştırıldığında BHK'lu dokularda dermis tabakasında ekspresyon yüzdesinin azaldığı (sırasıyla,  $\%2.46 \pm 0.96$  ve  $\%7.70 \pm 0.77$ ;  $p=0.0001$ ) olduğu tespit edildi. BHK'lu epidermis tabakasında ise BAP1 ekspresyon yüzdesinin kontrol grubu dermis ve epidermisinden daha düşük oranda eksprese edildiği (sırasıyla,  $\%1.79 \pm 0.16$ ,

%7.70±0.77 ve 3.19 ±0.94;  $p=0.0001$  ve  $p= 0.01$ ) görüldü. Kontrol grubu dermis ve epidermis tabakaları değerlendirildiğinde, epidermis tabakasında ekspresyonun daha düşük olduğu izlendi ( $p=0.0001$ ) (Şekil 5.13 A).

OGT protein ekspresyonunun, BHK'lu ve kontrol dokularında % boyanma değerleri tespit edildi. BHK tümör alanlarında OGT proteininin, BAP1 proteinine nazaran çok daha az oranda (% 4.21) eksprese edildiği görüldü. BHK'lu dokuda ve kontrol dokusunda dermis tabakalarının OGT boyanma yüzdelerinin benzer olduğu (sırasıyla, %8.31±1.64 ve %7.83±1.26;  $p=0.87$ ) tespit edildi. BHK'lu dokuda ve kontrol dokusunda epidermis tabakalarının da OGT boyanma yüzdelerinin benzer olduğu (sırasıyla, %1.83±0.18 ve %1.88±0.23;  $p=0.99$ ) izlendi. BHK'lu dermis tabakasında OGT ekspresyon yüzdesinin, BHK'lu epidermis ve kontrol epidermis tabakalarından daha fazla oranda eksprese edildiği (sırasıyla,  $p= 0.0001$  ve  $p=0.0001$ ) ancak kontrol grubu dermis tabakasında OGT ekspresyon yüzdesinin BHK'lu epidermis tabakasından daha fazla olduğu tespit edildi ( $p=0.0001$ ). Kontrol grubu dermis ve epidermis tabakaları değerlendirildiğinde, epidermis tabakasında ekspresyonun daha düşük olduğu izlendi ( $p=0.0001$ ) (Şekil 5.13 B).

YY1 proteinin, BHK'lu ve kontrol gruplarında % boyanma değerleri hesaplanmıştır. BHK tümör alanlarında YY1 proteininin, BAP1 proteinine benzer şekilde yaklaşık %1'lik farkla (% 13.08) eksprese edildiği izlendi. Ancak YY1 proteininin OGT proteinine benzer şekilde hem BHK hem de kontrol grubunda dermis tabakalarında epidermis tabakalarına nazaran daha fazla eksprese edildiği izlendi. BHK'lu dokuda ve kontrol dokusunda dermis tabakalarının YY1 boyanma yüzdelerinin benzer olduğu (sırasıyla, %8.11±1.85 ve %8.72±1.26;  $p=0.85$ ) izlendi. YY1 boyanma yüzdelerinin, epidermis tabakalarında BHK'lu dokuda ve kontrol dokusunda benzer olduğu (sırasıyla, %2.06±0.36 ve %2.35±0.74;  $p=0.99$ ) tespit edildi. BHK'lu dermis tabakasında YY1 ekspresyon yüzdesinin, BHK'lu epidermis ve kontrol epidermis tabakalarından daha fazla oranda eksprese edildiği (sırasıyla,  $p= 0.0001$  ve  $P=0.0001$ ) ancak kontrol grubu dermis tabakasında YY1 ekspresyon yüzdesinin BHK'lu epidermis tabakasından daha fazla olduğu tespit edildi ( $p=0.0001$ ) (Şekil 5.13 C).



**Şekil 5. 13** (A) BAP1 proteinine ait boyanma % skorları. BAP1 proteini; BHK'lu dermiste, kontrol dermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda eksprese edilmektedir <sup>a</sup>P<0.05. BHK'lu epidermiste ise BAP1 protein ekspresyonu, kontrol dermis ve epidermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda eksprese edilmektedir <sup>b</sup>P<0.05. (B) OGT proteinine ait boyanma % skorları. OGT proteini; BHK'lu dermiste, BHK ve kontrol epidermislerinden istatistiksel olarak daha yüksek oranda eksprese edilmektedir <sup>a</sup>P<0.05. BHK'lu epidermiste ise OGT protein ekspresyonu, kontrol dermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda eksprese edilmektedir <sup>b</sup>P<0.05. OGT proteini; kontrol epidermisinde kontrol dermisine göre istatistiksel olarak daha düşük oranda eksprese edilmektedir <sup>c</sup>P<0.05. (C) YY1 proteinine ait boyanma % skorları. YY1 proteini; BHK'lu dermiste, BHK ve kontrol epidermislerinden istatistiksel olarak daha yüksek oranda eksprese edilmektedir <sup>a</sup>P<0.05. BHK'lu epidermiste ise YY1 protein ekspresyonu, kontrol dermisten istatistiksel olarak daha düşük oranda eksprese edilmektedir <sup>b</sup>P<0.05. YY1 proteini; kontrol epidermisinde kontrol dermisine göre istatistiksel olarak daha düşük oranda eksprese edilmektedir <sup>c</sup>P<0.05

## 6. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Kanser, dünya genelinde giderek artan bir sağlık problemidir ve toplumlarda önemli bir sosyoekonomik yüke, bireylerde de maddi ve manevi kayıp ve zorluklara yol açmaktadır [134]. Türkiye 2017 sağlık bakanlığı istatistiklerine göre 2010–2014 yılları arasında toplamda 454 bireyde göz tümörü saptanmıştır. Bu bireylerin %75,9'da histopatolojik incelemeyle tümör varlığı doğrulanmıştır. Göz tümörü, cinsiyete göre yaşa standardize edilmiş hız dağılımı erkeklerde % 0,3, kadınlarda ise % 0,2 olarak tespit edilmiştir [135,136]. Yapılan bir kanser istatistik çalışmasına göre 1510'u (%53) erkek ve 1300'ü (%47) kadın olmak üzere toplamda 2810 tane yeni göz kapağı ve orbital tümör hastası belirlenmiştir [137]. Bizim çalışmamızda ise bir yıl süre içerisinde 13'ü (%65) erkek ve 7'si (%35) kadın olmak üzere toplam 20 hastada göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü tanısı konulmuştur (Çizelge 5.1.2). Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörler dünya genelinde tüm kanser türleri arasında nadir görülen fakat optomolojide en yaygın tümör tiplerindedir. Hasta sayısının düşük olmasına rağmen erkek ve kadın yüzde oranları ABD ile benzerlik göstermektedir. Göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü yaşlı hastalarda güneş ışınlarına maruz kalmayla özel bir ilişkisi bulunmaktadır [37]. Güneş ışınlarındaki UV-B'nin miktarı ekvator ve ekvatora yakın olan bölgelerde artış gösterir ki bu durum o bölgelerde yaşayan insanlar için büyük bir risk faktörüdür. UV ışınları ya direk olarak absorpsiyon yoluyla DNA hasarına ya da kimyasal mekanizmalarda hasara yol açmaktadır [134]. Bizim çalışma grubumuzun yaş ortalaması  $69,03 \pm 14,8$  ve yaş aralığı ise 38–90 idi. Ayrıca çalışma grubumuzdaki 7(%35) hasta mesleği gereği güneş ışınlarına maruz kalmıştı. Çalışmamız bu açıdan değerlendirildiğinde yaş ortalaması  $69,03 \pm 14,8$  olan hastalarda güneş ışınlarına maruz kalması göz tümörleri için bir risk faktörü olduğunu doğrular niteliktedir. Göz kapağı birçok doku tipi içerdiğinden dolayı, benign ve malign tümörlerin çeşitli tipleri içerebilmektedir [37]. Göz kapağı tümörlerinin % 90'dan fazlasını BHK'ları oluşturmaktadır. Bu karsinomlar genellikle agresif değildir ve lenf nodlarına veya uzak organlara yayılım göstermezler. Hastalığın tedavisi, tümörü ameliyatla çıkarmakla yapılmaktadır. SBK ise nadir görülen göz kapağı karsinomlarından birisidir. Göz kapaklarının meibom bezlerinin yanı sıra konjonktivanın veya gözün diğer yüzey yapılarını da etkilemektedir [138]. Paul ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada malign tümörler arasında en yüksek insidansa BHK'larının sahip olduğu ve en düşük insidansa ise SBK olduğunu kaydetmişlerdir [139]. Bizim



çalışmamızda bu çalışmaya bezer olarak 20 hastanın 12 tanesi BHK iken 1 tanesinin SBK histopatolojik tipe sahip olduğu tespit edildi (Çizelge 5.1). Skumöz hücreli karsinomu konjunktival göz kanseri en yaygın olanıdır. Göz yüzeyindeki kornea çevresini veya göz kapaklarının iç konjunktiva tabakasını etkileyebilir. Lenf düğümlerine yayılma riski çok düşüktür [138]. Bizim çalışmamızda SHK histopatolojisine sahip bir hasta kaydedildi. Orbital bölgesinde ise çeşitli gelişimsel anomaliler, yangısal hastalıklar ve oküler kasları da tutan sistemik hastalıklar yanı sıra, gerçek neoplazmlar, kistler ve diğer tümöral lezyonlar da izlenebilmektedir. Orbital tümörler primer ya da sekonder olabilirler. Malign fibröz histositom primer orbital tümörlerden birisidir. Kronik kazeifiye granülon ise benign primer orbital tümördür [140]. Bu çalışmada bir tane malign fibröz histositom ve bir tanede benign kronik kazeifiye granülon histopatolojilerine sahip orbital tümörü saptanmıştır. Göz kapaklarını etkileyen sayısız kalıtsal hastalık mevcuttur. Genetik hastalıklar için sınıflandırma; kalıtım, genlerin fonksiyonu veya hastalığın belirli bir yapıya mı sahip veya diğer koşullarla ilişkili olup olmadığına dayanabilir.

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda *BAP1* geninde meydana gelen germline mutasyonların tümöre yatkınlık sendromu, mezotelioma, uveal melanom, renal hücre karsinomları ve kutanus melanom gibi yeni kanser türlerine neden olduğu gösterilmiştir [141–143,75,86,71]. *BAP1*'in kalıtsal kansere yatkınlık sendromu ilişkisi ilk olarak 2011 yılında iki Amerikalı aile üzerinde yapılan araştırma ile tanımlanmıştır [75]. *BAP1* geni bir tümör süpresör geni olarak tanımlanmaktadır ve germline *BAP1* mutasyonları, uveal melanom, malign mezotelyoma, kutanöz spitzoid tümörler ve muhtemel diğer maligniteler de dahil olmak üzere çeşitli tümörlerle karakterize otozomal dominant tümör sendromuyla ilişkilidir [72]. Bizde, *BAP1* geni ve *BAP1* geni ile etkileşime giren *OGT* ve *YY1* genlerinin ekspresyon düzeylerindeki artma ya da azalmanın göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümörü üzerinde nasıl bir etkisi olduğunu RT-PCR metoduyla belirlemeye çalıştık. Yaptığımız literatür taraması sonucunda göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümör hastalarında RT-PCR metoduyla *BAP1*, *OGT* ve *YY1* gen ekspresyonunu belirleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. *BAP1* bir tümör baskılayıcı gendir ve BRCA1 proteinin RING finger domaini etkileşime giren bir proteindir. *BAP1* ayrıca histonların modifikasyonları tarafından transkripsiyonel olarak düzenlenen multi-protein kompleksin bir üyesidir. Yapılan bir çalışmada *BAP1*'in farklı moleküler fonksiyonları detaylandırılmıştır [144–147, 83,76]. *BAP1*'in fonksiyonel

rolü, HCFC1, YY1, OGT, ASXL1/2 ve FOXK1/2 gibi farklı proteinlerle etkileşimi ve deubiquitinasyon aktivitesidir [76,148,82]. Fakat BAP1 kompleksinin yapı ve stokiyometrisi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu kompleksin fonksiyonu üzerine *BAP1* mutasyonlarının farklı etkilerinin fenotip ve genotiple ilişkisi ise hala belirsizdir [149]. *BAP1* geninin delesyonu veya inaktivasyonu, *BAP1* gen lokusunu (3p21.1) içeren kromozomal kayıpların bir sonucu olarak veya *BAP1* genindeki sekans varyasyonuna bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. *BAP1* geninde, N-terminal bölgesinde büyük oranda ekson kayıplara neden olan delesyonlar veya olgunlaşmamış protein kaybı, merkezi delesyonlar ve insersiyondan dolayı oluşan çerçeve kayma mutasyonu, splayzing bölgesindeki mutasyonlar ve bunlara ek olarak sessiz ve yanlış anlamlı mutasyonlara yol açan baz değişiklik tanımlanmıştır [84,150]. Çerçeve kayma, sessiz ve yanlış anlamlı mutasyonlar, en yaygın görülen değişimlerdir [151]. Çekirdeğe lokalize olan *BAP1*'in büyümeyi baskılaması için katalitik aktivitesini muhafaza etmesi gerekmektedir. Çünkü *BAP1* geni mutant olan akciğer kanserli bireylerde tümör büyümesinin engellenemediği bildirilmiştir. *BAP1*'in sürekli olarak ekspresyonu, hücre döngüsünde ciddi değişiklikler meydana getirir ve hücre ölümünün hızını artırır. Bununla birlikte, insan tümörlerinde *BAP1* geninin sıklıkla heterozigotluk kaybına uğradığı ve akciğer, böbrek ve sporadik meme tümörlerinde sessiz mutasyonların varlığı tespit edilmiştir [152,153]. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda *BAP1* geninde meydana gelen mutasyonların *BAP1* ekspresyonunda kayba neden olduğu ve birçok hastalığa yol açtığı kaydedilmiştir. Andrici ve ark. tarafından Jinekolojik ve primer peritoneal seröz karsinom yapmış olduğu bir çalışmada mutasyona bağlı olarak abdominal mezotelyomalı hastaların %67'sinde *BAP1* ekspresyon kaybı bulunurken, seröz adenokarsinomlu hastaların sadece %0,25'inde ekspresyon kaybı olduğu kaydedilmiştir ( $p<0,01$ ). Bununla birlikte, jinekolojik ve peritoneal seröz karsinomda *BAP1* ekspresyonu kaybı insidansı halen bilinmemektedir [154]. Mochel ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada ise germline *BAP1* mutasyonları taşıyan BHK iki ailede toplam 19 hastanın dördünde *BAP1* genin nükleer ekspresyon kaybı olduğunu tespit etmişlerdir [155]. Ayrıca, Ladanyi ve ark. *BAP1* mutasyonu olmayan mezotelyomaların % 25'inde *BAP1* nükleer ekspresyonunun olmadığını kaydetmişlerdir [156]. Bu bulgular, bir tümör alt grubunda *BAP1*'in inaktivasyonu gibi moleküler mekanizmaların, *BAP1* ekspresyonun kaybolmasından sorumlu olduğu ileri sürülmektedir [150]. Nükleer *BAP1* ekspresyon kaybı, BHK'lerde ve aynı hastaların atipik melanositik çoğalmasında görülmüştür [157]. Melanom ise çok nadir olarak, yetişkin bir hastada melanositik bir

nevüsün intradermal bileşeni içerisinde ortaya çıkmaktadır. Başka bir çalışmada *BAP1* ekspresyonu olan konjenital nevüsün intradermal bileşenleri içerisinde malign melanomun gelişmesiyle *BAP1* ekspresyon kaybının olduğunu kaydedilmiştir [158]. Yoshikawa ve ark. yapmış olduğu çalışmada *BAP1* genomik değişiklikleri olan malign mesothelioma tümörlerde, RT-PCR, Western Blot ve IHK yöntemleriyle değerlendirildiğinde, *BAP1*'in ekspresyon kaybının olduğunu kaydetmişlerdir [150]. Bizim çalışmamızda ise göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümörü ve kontrol dokusunda *BAP1* genin ekspresyon düzeyi RT-PCR metoduyla analiz edilmiştir. *BAP1* geni ifade düzeylerinde, tümör dokusunda 1,02 kat artma izlendi. Fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,16$ ) (Çizelge 5.3).

Bizim çalışmamızda ise göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümörü ve kontrol dokusunda *OGT* genin ekspresyon düzeyi RT-PCR metoduyla analiz edilmiştir. *OGT* geni ifade düzeylerinde, tümör dokusunda 1,83 kat artma izlenmesine rağmen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,06$ ) (Çizelge 5.3). O-GlcNAc glikolizasyon, metabolik fonksiyonlar, hücre kararlılık ve ekspresyon da dahil olmak üzere birçok hücre sel proseste rol oynamaktadır [159]. *OGT*, proteinlere O-GlcNAc grubunun eklenmesini katalize eder *OGA* ise uzaklaştırılması katalize edilir. Fosforilasyona benzer bu dinamik ve geri dönüşümlü posttranslasyonel modifikasyon, protein aktivitesi, protein-protein etkileşi, lokalizasyonu ve proteinin yıkımını gibi metabolik süreçleri düzenlemesinden dolayı protein fonksiyonunun anahtar regülatörü olarak bilinmektedir [160]. O-GlcNAc glikolizasyon, sinyal iletimi, transkripsiyon, hücre döngüsünün ilerlemesi ve metabolizma gibi biyolojik süreçlerin geniş bir yelpazesinde yer alır [161]. O-GlcNAc glikolizasyon sadece normal biyolojik süreçlerde rol oynamakla kalmaz, aynı zamanda diyabet ve nörolojik bozukluklar gibi bazı insan hastalıklarında da bozuklukların düzenlemesinde önemli rol oynamaktadır. İnsan hastalıklarının patolojisinde rol oynayan bazı proteinlerde O-GlcNAc glikolizasyon olduğu gösterilmiştir. Diyabet de, fosfoinositid-3 kinaz/AKT sinyal ileti yolağında görev alan RS-1, PI3K ve AKT gibi çoklu proteinler O-GlcNAc glikolizasyon modifikasyonu ile PI3K/AKT sinyalini ve insülin direncini indükler [162–164]. Son zamanlarda birçok onkogen ve tümör süpresör genin O-GlcNAc ile açillenebileceğini gösterilmiş olup, kanser regülatörü olarak O-GlcNAc glikolizasyonun önemini ortaya koymaktadır [165]. O-GlcNAc glikolizasyonun *in vitro* meme kanseri hücrelerinin invazyonunu ve *in vivo* akciğer metastazını arttırdığı gösterilmiştir [166].

Aynı zamanda *OGT* ekspresyonunun artması ile insan akciğer ve kolon kanseri dokularında ilgili bitişik kontrol dokulara kıyasla O-GlcNAc glikolizasyonu önemli ölçüde arttığı kaydedilmiştir [167]. Toivonen ve ark. tarafından hormon tedavisi alan post menapozlu kadınlarda *OGT* gen ekspresyonundaki artış, kontrol grubunda (% 22.1), hasta grubuna (% 6.2) ( $p = 0.01$ ) göre belirgin şekilde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca bu hasta grubunun diz ekstansör kasları ve *OGT* gen ekspresyonu arasında negatif ilişki olduğunu, OGA geniyle ise pozitif ilişki olduğunu kaydetmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak bu iki enzim arasında uygun bir denge, kas kütlelerinin korunması için önemli olduğunu ve *OGT* / *OGA* oranında bir artışın azalmış mükümler ile ilişkili olduğunu önermişlerdir [168].

Bu çalışmada ise son olarak *YY1* geni ifade düzeylerinde, tümör dokusu grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 1,77 kat artma izlendi. Ancak istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ( $p=0,07$ ). Bu bağlamda tümör dokularında *YY1*'in aşırı ekspresyonu farklı tümör tiplerinde farklı klinik davranışlar gösterebilir. *YY1*, bağlandığı yere bağlı olarak, bir transkripsiyonel baskılayıcı veya aktivator görev yapan, çok işlevli bir transkripsiyon faktörüdür. *YY1* mekanizmaları, bağlandığı yere bağlı olarak transkripsiyonu başlatma, aktive etme veya baskılama yeteneğine sahiptir [169]. *YY1*, *Fas* gen ekspresyonunu inhibe ederek hücreleri *Fas* ligand aracılı apoptoza dirençli kılmaktadır. *YY1* inhibisyonu durumunda ise, *Fas* ekspresyonunun artmasına ve *Fas* ligand aracılı apoptozise duyarlılığın artmasına neden olmaktadır [170]. Yapılan bir çalışmada *YY1*'in aşırı ekspresyonu p53'ün bozunmasına ve transkripsiyonel aktivitesinin inhibe olmasına neden olduğu gösterilmiştir. Bu durum ise *YY1*'in kanser gelişimindeki rolüne ilişkin bilgi sağlamaktadır [116]. *YY1*, hemen her dokuda eksprese edilir ve cis tanıma dizisi olan CGCCATNTT aracılığıyla birçok hücrel ve viral genin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır [171]. *YY1*'in tümörigenezdeki rolü, hücre döngüsü düzenlemesiyle bilinmektedir [116]. Kontrolsüz hücre döngüsü ilerlemesi, tümörigenezin ana sebebidir [172]. Daha önce yapılan birçok çalışmada *YY1*'in aşırı eksprese edildiğini ve çeşitli tümör tiplerinin klinik davranışını etkilediğini bildirmiştir. Araştırmacılar analiz edilen malign prostat örneklerin % 95'inde önemli bir ekspresyon artışı kaydetmişlerdir. Benzer şekilde, *YY1*, prostatektomi sonrası nükseden hastalardan metastatik prostat kanseri dokularında aşırı eksprese bildirilmiştir [31]. Yumurtalık kanser dokusunda mikroarray analiziyle yapılan çalışmada ise, *YY1* aşırı ekspresyonunun uzun süreli sağ kalım ile pozitif korelasyona sahip olduğunu

gösterilmiştir [173,174]. Bu gözlemler, YY1 aşırı ekspresyonunun, kanser tedavisinde kullanılan taksanlar gibi mikrotübül stabilize edici ajanlara duyarlılığı artırmasıyla açıklanabilir. Aksine, meme kanseri hastalarında, YY1 ekspresyon düzeyleri insan Epidermal Büyüme Faktörü Reseptör 2 (ERBB2) ile pozitif korelasyon gösterdiğinden, YY1 aşırı ekspresyonu zayıf bir prognoz ile ilişkilendirilmiştir [175]. *ERBB2* geninin meme kanserlerinin % 20-30'unda amplifiye olduğu açıklanmıştır. ERBB2 aşırı ekspresyonu, östrojen reseptörleri-negatif tümörler arasında yaygındır ve meme kanseri hastalarında daha kötü prognozlarıyla ilişkilidir [176]. Buna göre, YY1'in yüksek transkripsiyon seviyeleri, kanser intraepitelyal neoplazm ve serviks gibi kadın kanseri kontroller ile karşılaştırıldığında önemli bir prognostik değere sahip olduğu gösterilmiştir. Ayrıca YY1'in, düşük dereceli skuamöz intraepitelyal lezyona kıyasla yüksek dereceli skuamöz intraepitelyal lezyon dokularında aşırı eksprese edildiği bildirilmiştir [22]. YY1'in aşırı ekspresyonu insan osteosarkomunda da gözlemlenmiştir. Farklı yaklaşımlar kullanan araştırmacılar, YY1'in osteosarkom hücre hatlarında ve dokularında, osteoblastik hücelere nazaran aşırı eksprese edildiğini ve çekirdekte baskın bir lokalizasyonu olduğunu kaydetmişlerdir [23]. Basso ve ark. [28] tarafından mikroarray analiz çalışmasında, düşük dereceli lenfomalar ve normal B hücreleri ile karşılaştırıldığında *YY1* transkript düzeylerinin yüksek dereceli lenfomalarda anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişlerdir [27].

Sonuç olarak, bu çalışma kapsamında değerlendirilen BAP1, OGT ve YY1 genlerinin ekspresyon düzeylerinde çalışma grupları arasında farklılıklar tespit edilmiş olsa da bu farklı ekspresyon düzeylerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadıkları izlenmiştir.

Göz kapağı, konjunktiva ve orbital tümör grubu ve kontrol grubundan elde edilen plazma örneklerinde BAP1, OGT ve YY1 protein düzeyleri ELİSA metoduyla, kit protokolü doğrultusunda analiz edilmiştir. Yapılan literatür taraması sonucunda BAP1, OGT ve YY1 protein düzeylerini belirleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Deubiquitinasyon yapan BAP1 protein düzeyleri yönünden hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda BAP1 protein düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek olarak tespit edildi. Hasta ve kontrol grubu mean değerleri bakımından kıyaslandığında hasta grubunda mean değeri 122,00 (-112,00–7349,00) pg/ml olarak bulunurken kontrol grubunda ise —91,0 (-270,00–4991,00) pg/ml olarak bulunmuştur. Buna bağlı olarak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p=0,01$ ).

Fakat BAP1 proteinini kodlayan *BAP1* geni ifade düzeyleri, tümör dokusu grubunda 1,02 kat artma izlenmesine rağmen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,16$ ). O-GlcNAc glikolizasyonu sağlayan OGT protein düzeyleri yönünden hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda OGT protein düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek olarak tespit edildi. Hasta ve kontrol grubu mean değerleri bakımından kıyaslandığında hasta grubunda mean değeri 884,00(602,60–5728,70) pg/ml olarak bulundu ve kontrol grubunda da 829(509,60–4993,60)pg/ml benzer bulundu. Buna bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi ( $p=0,480$ ). Bu sonuçlara benzer olarak OGT proteinini kodlayan *OGT* geni ifade düzeyleri, tümör dokusu grubunda 1,83 kat artma izlenmesine rağmen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,06$ ). Çok işlevli bir transkripsiyon faktörü olan YY1 protein düzeyleri yönünden hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında, hasta grubunda YY1protein düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek olarak tespit edildi. Hasta ve kontrol grubu mean değerleri bakımından kıyaslandığında hasta grubunda mean değeri 2,87(1,43–36,83) pg/ml olarak bulunurken kontrol grubunda ise 2,24(1,16–19,98) pg/ml olarak bulunmuştur. Buna bağlı olarak bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ( $p=0,039$ ). Ancak YY1 proteinini kodlayan YY1 geni ifade düzeyleri, tümör dokusu grubunda 1,77 kat artma izlenmesine rağmen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,07$ ). Sonuç olarak, gen ifadelerindeki artış anlamlı olmamasına rağmen BAP1 ve YY1 plazma düzeyleri hasta grubunda anlamlı olarak bulundu. OGT plazma düzeyi ise gen ifadesine benzer olarak hasta grubunda anlamsız olarak bulundu.

Bizim çalışmamızda göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü hastalarında BAP1 ekspresyonları IHK yöntemle belirlendi. Yapılan literatür taramasında bu konu ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. BAP1 immüno lokalizasyonunun BHK'lu tümör alanlarında kuvvetli, kas, yağ ve kan damarlarında zayıf olarak tespit edildi. Ayrıca BHK'lu tümör alanlarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlemlendi ( $p=0,032$ ). BAP1 protein düzeyleri ( $p=0,001$ ) ise IHK sonuçlarıyla benzerlik gösterirken, BAP1 proteinini kodlayan BAP1 geni ifade düzeyleri, tümör dokusu grubunda 1,02 kat artma izlenmesine rağmen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,16$ ). RT-PCR analizi diğer yöntemlerden farklı olarak total dokudan izole edilen RNA örneklerinden gen ekspresyonu belirlendi. Sonuç olarak total doku tümör dokusu, yağ dokusu, kas dokusu

ve kan damarlarını içermektedir ve bu dokulardaki BAP1 ekspresyonlarının farklı olmasından dolayı RT-PCR yönteminin spesifikliği IHK yöntemine göre düşüktür. Göz kapağı tümörlerinin çoğu, epitelyal ve melanositik tümörlerlerdir ve çoğunlukla epidermal olan kutanözden köken alır. Benign epitelyal lezyonlar, BHK, kistik lezyonlar ve melanositik lezyonlar göz kapağı tümörlerinin yaklaşık % 85'ini temsil eder [177]. Optimolojik lezyonlardan en çok orbital, oküler tümörler ve tümör benzeri lezyonlar çoğunlukla cerrahi tedavi gerektirir. Bu nedenle ameliyat öncesi teşhis için histopatolojik inceleme yapılarak tümör tipi saptanır. Hastalığın teşhisi için optimologlar tarafından eksize edilen dokuları inceler. Tümörlü doku makroskopik olarak ve ışık mikroskopisi ile incelenir. Optimolojik histoloji tekniklerinde, fiksasyon ve kesitlemede işlemleri normal dokudan farklı olarak yapılmaktadır [55]. Ayrıca elektron mikroskopu, IHK gibi diğer teknikler ve moleküler biyolojik yöntemler de kullanılmaktadır [178]. IHK, doku kesitlerinde spesifik antijenlerin tespiti için monoklonal ve poliklonal antikörlerin kullanılmasıyla yapılan, tanı amaçlı cerrahi patolojilerin en fazla tercih ettiği yöntemlerden birisidir [179–181]. IHK, kanser tanısı için yaygın olarak kullanılmaktadır. Spesifik tümör antijenleri, bazı kanser türlerinde de novo sentez veya upregüle edilebilmektedir [182]. Bir kanser dokusunda, spesifik tümör antijenlerin, onkogenlerin, tümör süpresör genlerin ve tümör hücre proliferasyon belirteçlerinin tanımlanmasıyla tümörlerin prognozunu hakkında bilgi sağlanabilmektedir. IHK, gelişme ve apoptoz gibi temel biyolojik süreçlerde spesifik gen ürünlerinin fonksiyonunu belirlemek için de kullanılan yöntemlerden birisidir. IHK, ayrıca spesifik tümör belirteçlerini kullanarak bir kanseri benign veya malign olarak teşhis etmek için de kullanılmaktadır [183]. Bu teknikte kullanılan biyolojik belirteçlerin doku ekspresyonu, farklı hücresel bölmelerde ve hatta hücre dışı matris bileşenleri halinde ortaya çıkabilmektedir [184–185]. Hwang ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada mezoteliyoma hastalığı için bir biyobelirteç olan BAP1 proteininin ifade düzeylerini IHK yöntemiyle belirlemişlerdir [186]. BAP1'in mezoteliyal hücrelerde pozitif olarak boyanması nükleer ekspresyonun homejen olduğunu göstermektedir. Hastaların büyük çoğunluğuunda BAP1 ekspresyonu homojen gözükmesine rağmen, mezoteliyoma'lı birkaç hastada BAP1 ekspresyonunda %52 oranında azalma kaydedilmiştir [187]. Daha önce yapılan bazı çalışmalarda *BAP1* genindeki değişim ve protein ekspresyonu arasında güçlü bir ilişki kaydetmişlerdir. BAP1 genindeki mutasyon sonucu akciğer, meme, böbrek karsinomları, üveal ve kutanöz melanoma gibi çeşitli malign tümörlerde meydana gelebilmektedir. Çünkü BAP1'in germline mutasyonu sonucu bu gibi

tümörlerde BAP1 ekspresyon kaybıyla sonuçlanmaktadır [75, 146, 188]. Wiesner ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada *BAP1* ekspresyon kaybını primer uveal melanomla ilişkili olarak bulmuşlardır. Ayrıca uveal melanomlu hastaların hayatta kalma oranının düşük olduğunu gözlemlemişlerdir [86, 189]. Yapılan başka bir çalışmada uveal melanomlu 68 hastanın 33'ünde *BAP1* ekspresyonunun büyük çoğunluğu tümör hücrelerinin çekirdeğinde saptanmıştır. Hastaların tamamında ise sitoplazmik ifade zayıf veya orta derecede gözlemlenmiştir. Mochel ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada yedi BHK'lu hastanın çekirdek boyamasında BAP1 ifade kaybı görülmüştür. Ayrıca 31 sporadik BHK hastanın otuzunda (% 97) BAP1 pozitif boyanması saptanmıştır [155]. Pena ve ark. yaptığı çalışmada ise germline BAP1 mutasyonları bulunan tüm BHK'lı bireylerin tamamında BAP1'in çekirdekte ekspresyon kaybı olduğunu bildirdiler. Dolayısıyla, aile hikayesi olan bireylerde BKH'da çekirdek ekspresyonda BAP1 kaybı, kalıtsal BAP1 kanseri yatkınlığı sendromu olan bireylerin belirlenmesinde yararlı bir belirteç olabilir. *BAP1* ekspresyonunun kaybı, sırasıyla % 100 ve % 98.6'lık pozitif ve negatif prediktif değerlerle, bialelik *BAP1* mutasyonu ile korelasyon göstermiştir [190]. Bir araştırmada, 3p21'de BAP1 gen mutasyonu veya silinmesi yoluyla BAP1 geninin bialelik inaktivasyonunun uveal melanoma hastalarında artmış metastaz riski ile ilişkili olduğunu gösterilmiştir. BAP1 protein kaybının IHK değerlendirmesi birçok çalışmada BAP1'in bialelik olarak inaktivasyonu için mükemmel bir belirteç olarak gösterilmiştir. Bu nedenle, IHK kullanarak BAP1 proteinin, ekspresyonu, fonksiyonel durumunun değerlendirilmesi ve metastatik riskin belirlenmesi ile prognoz tahmin edilmesi için hızlı ve uygun maliyetli bir yöntemdir [191]. Murali ve ark. kütanöz melanomlu hastalarda BAP1'in ekspresyonu IHK olarak tanımlamışlardır. Kütanöz melanomu ve BAP1 ekspresyonu arasında herhangi bir ilişki kaydedememişlerdir [192]. BHK cildin en yaygın görülen malign neoplazmidir. BHK nadiren metastatiktir ve epiderminin saç follikülü kök hücrelerinden veya interfolliküler bölgelerden kaynaklanır [193].

Bizim çalışmamızda göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü hastalarında OGT ekspresyonları IHK yöntemle belirlendi. Yapılan literatür taramasında bu konu ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. OGT immüno lokalizasyonunun BHK'lu tümör alanlarında ve yağ dokusunda zayıf, kas ve kan damarlarında ise kuvvetli olarak tespit edildi. RT-PCR analizi ile belirlenen OGT gen ekspresyonlarındaki 1,83 kat artışın büyük çoğunluğu kas dokusundan kaynaklanıyor olabilir. Sonuç olarak RT-PCR, ELİSA ve IHK yöntemleri ile belirlenen OGT ekspresyonları benzer olarak



istatistiksel olarak anlamlı bulunamadı. O-GlcNAc glikolizasyonu modifikasyonu, çeşitli hücrel olaylarda yeni bir düzenleyici mekanizma olarak ortaya çıkan önemli bir post-translasyonel modifikasyondur. Son zamanlarda, çeşitli çalışmalar O-GlcNAc glikolizasyonunun insan meme, akciğer ve kolon kanserlerinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir [194]. Son zamanlarda, birçok onkogenin ve tümör süpresör genin O-GlcNAc glikolizasyonu olabileceği gösterilmiştir; bu da bir kanser regülatörü olarak O-GlcNAc glikolizasyonunun önemini göstermektedir [165]. O-GlcNAc glikolizasyonunun in vitro meme kanseri hücrelerinin migrasyonunu/invazyonunu ve in vivo akciğer kanseri metastazını arttırdığı gösterilmiştir [166]. O-GlcNAc glikolizasyonunun ve OGT ekspresyonu aynı zamanda, insan akciğer ve kolon kanseri dokularında ilgili bitişik dokulara kıyasla önemli ölçüde yükselmiştir [71]. Meme kanserinde yapılan IHK analiz, O-GlcNAc glikolizasyonu seviyesinin, ilgili bitişik dokuyla karşılaştırıldığında kanser dokularında belirgin bir şekilde yükseldiğini gösterilmiştir. Metastatik lenf düğümlerindeki O-GlcNAc glikolizasyon, primer tümör dokularından çok daha yüksek olduğu kaydedilmiştir [195]. Buna ek olarak, yeni çalışmalar O-GlcNAc glikolizasyonunun tip 2 diyabet ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğunu ileri sürmüştür [196]. Artmış O-GlcNAc glikolizasyonunun, yükselmiş UDP-GlcNAc konsantrasyonları, azaltılmış ekspresyon ve OGA'nın ve artmış OGT ekspresyonu ve aktivitesinden kaynaklandığı da ileri sürülmüştür [167]. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, premalign ve malign deri tümörlerinde O-GlcNAc glikolizasyonunun ve buna paralel olarak OGT ekspresyon düzeylerinin arttığı kaydedilmiştir [196]. Bununla birlikte, deri tümörlerinde O-GlcNAc glikolizasyonunun ve OGT enzimlerin ekspresyonu ve fonksiyonel rolü henüz belirlenmemiştir. Yapılan bir çalışmada, OGT ekspresyonu normal epidermiste ve tüm epidermal tabakalarda gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, O-GlcNAc glikolizasyonunun keratinosit farklılaşması sırasında önemli bir düzenleyici mekanizma olabileceğini ve toplam O-GlcNAc glikolizasyonunun seviyesinde bir düşüşün, OGT'den ziyade OGA'nın artmış ekspresyonundan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir [195,197].

Biz bu çalışmada göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü ile YY1 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi IHK yöntemle belirlemeye çalıştık. YY1immünolokalizasyonunun BHK'lu tümör alanlarında orta derecede bulunurken, kas, yağ ve kan damarlarında kuvvetli olarak tespit edildi. Ayrıca BHK'lu tümör alanlarında istatistiksel olarak anlamlı ilişki gözlemlenmedi ( $p=0,983$ ). YY1 protein

düzeyleri ( $p=0,039$ ) ise IHK sonuçlarıyla benzerlik gösterirken, YY1 proteinini kodlayan YY1 gen ekspresyon düzeyleri, tümör dokusu grubunda 1,77 kat artma izlenmesine rağmen bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p=0,07$ ). Bu artış YY1'in ekspresyonun kas doku, yağ doku ve kan damarlarında yüksek olmasından kaynaklanıyor olabilir. İnsan YY1 geni, sekiz farklı transkript (a, b, c, d, e, f, g ve h olarak adlandırılır) üretebilmektedir. Bununla birlikte, bu farklı izoformların işlevsel önemi henüz tam olarak bilinmemektedir. Yapılan birçok çalışmada YY1'in çoklu tümör tiplerinde aşırı eksprese olduğu bildirilmiştir ve aşırı ekspresyonunun kanserlerin klinik davranışını etkileyebileceği düşünülmektedir [169,198]. Thomassen ve ark. YY1'in metastatik meme kanserinde ekspresyonunun arttığını kaydetmişlerdir [199]. Yine aynı grup YY1 aşırı ekspresyonunun osteosarkom malignitesi ile güçlü ilişkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir [200]. Chinnappan ve ark. YY1 ekspresyon düzeyinin, kötü diferansiye tümörlerde iyi diferansiye edilmiş tümörlerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ancak kanser prognozunda YY1'in rolü halen tartışmalı bir konudur ve tümör türüne veya diğer bilinmeyen faktörlere bağlı olabilmektedir [201]. Yapılan literatür araştırmalarında göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörü ile YY1 ekspresyonu arasındaki ilişkiyi veren herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Sonuç olarak, biz bu çalışmada göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hastalarda BAP1, OGT ve YY1 ekspresyon düzeylerini RT-PCR, ELİSA ve IHK gibi yöntemlerle belirlemeye çalıştık. RT-PCR yöntemiyle yapılan analizlerde BAP1, OGT ve YY1 ekspresyon düzeylerin artış gözlemlenmemize rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptayamadık ( $p>0,05$ ). Ancak ELİSA ve IHK gibi yöntemleriyle yapılan analizde BAP1 ve YY1 ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki kaydettik ( $p<0,05$ ).

Bu çalışma göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü hastalarda BAP1, OGT ve YY1 ekspresyon düzeylerini arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla dünyada yapılan ilk çalışma olması bakımından önem taşımaktadır. Buna benzer daha geniş kapsamlı araştırmalarda birey sayısının artırılması; göz kapağı, konjunktival ve orbital tümörlü oluşumunda risk faktörlerinin belirlenmesi açısından anlamlı sonuçlar elde etmemize katkı sağlayabilir. Dolayısıyla sonuçlarda daha anlamlı değerler elde edilmesiyle çeşitli tümörlerde büyük öneme sahip olan BAP1, OGT ve YY1 proteinlerin bu tür hastalıkların teşhisinde bir biyobelirteç olarak kullanılmasına imkân sunabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. T.C. Sağlık Bakanlığı. Dünya ve Türkiye’de kanser. <http://www.saglik.gov.tr/TR/belge/1-15486/dunya-ve-turkiyede-kanser.html>. Erişim tarihi: 20.10.2013.
2. Causes and Risk Factors. ABTA (American Brain Tumor Association) resmî sitesi ([info@abta.org](mailto:info@abta.org)), 4,18-20.
3. American Cancer Facts and Figures (2014), World Web, [www.cancer.org](http://www.cancer.org)
4. Siegel, R., Ma, J., Zou, Z., and Jemal, A. (2014). Cancer statistics, 2014. *CA-a cancer journal for clinicians*, 64(1), 9-29.
5. Ferry, A. (1972). “The eyelids in modern ophthalmology”. Lippincott, 833-853.
6. Loeffler, M., and Hornblass, A. (1990). Characteristics and behavior of eyelid carcinoma (basal cell, squamous cell, sebaceous gland, and malignant melanoma). *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*, 21(7), 513-518.
7. Lober, C. W., and Fenske, N. A. (1991). Basal cell, squamous cell, and sebaceous gland carcinomas of the periorbital region. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 25(4), 685-690.
8. Coroi, M. C., Roşca, E., Muşiu, G., Coroi, T., and Bonta, M. (2010). Eyelid tumors: histopathological and clinical study performed in County Hospital of Oradea between. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 51(1), 111-115.
9. Tesluk, G. C. (1985). Eyelid lesions: incidence and comparison of benign and malignant lesions. *Annals of ophthalmology*, 17(11), 704-707.
10. Char D. H. (1997).“Conjunctival malignancies: diagnosis and management”. In: Char DH (ed). *Clinical Ocular Oncology*, 2nd edn. Lippincott-Raven Publishers: Philadelphia, ,pp 60-86.
11. Lee, G. A., and Hirst, L. W. (1995). Ocular surface squamous neoplasia. *Survey of ophthalmology*, 39(6), 429-450.
12. Egbert, J. E., and Kersten, R. C. (1997). Female genital tract papillomavirus in conjunctival papillomas of infancy. *American journal of ophthalmology*, 123(4), 551-552.
13. Yanoff M, Fine B.S. (2002). “Ocular Pathology”. 5th Ed, Thailand: Mosby, 511-575.
14. Johansen, S., Heegaard, S., Bøgeskov, L., and Prause, J. U. (2000). Orbital space-occupying lesions in Denmark 1974-1997. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 78(5), 547-552.

15. Eye cancer (Melonoma and Lymphoma). American cancer society <http://www.cancer.org> and [www.eyecancer.com](http://www.eyecancer.com) Son erişim tarihi: 02.09.2014
16. Yang, F., Jia, S. N., Yu, Y. Q., Ye, X., Liu, J., Qian, Y. Q., and Yang, W. J. (2012). Deubiquitinating enzyme BAP1 is involved in the formation and maintenance of the diapause embryos of *Artemia*. *Cell Stress and Chaperones*, 17(5), 577-587.
17. Kurihara, L. J., Kikuchi, T., Wada, K., and Tilghman, S. M. (2001). Loss of Uch-L1 and Uch-L3 leads to neurodegeneration, posterior paralysis and dysphagia. *Human molecular genetics*, 10(18), 1963-1970.
18. Osaka, H., Wang, Y. L., Takada, K., Takizawa, S., Setsuie, R., Li, H., and Harada, T. (2003). Ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L1 binds to and stabilizes monoubiquitin in neuron. *Human molecular genetics*, 12(16), 1945-1958.
19. Bheda, A., Shackelford, J., and Pagano, J. S. (2009). Expression and functional studies of ubiquitin C-terminal hydrolase L1 regulated genes. *PloS one*, 4(8), e6764.
20. Michele C, Haining Y, Harvey I. P, et all. (2013). "BAP1 and cancer". Nature Reviews | Cancer. Volume 13
21. Yang, X., Ongusaha, P. P., Miles, P. D., Havstad, J. C., Zhang, F., So, W. V., and Evans, R. M. (2008). Phosphoinositide signalling links O-GlcNAc transferase to insulin resistance. *Nature*, 451(7181), 964-969.
22. Gandy, J. C., Rountree, A. E., and Bijur, G. N. (2006). Akt1 is dynamically modified with O-GlcNAc following treatments with PUGNAc and insulin-like growth factor-1. *FEBS letters*, 580(13), 3051-3058.
23. Housley, M. P., Rodgers, J. T., Udeshi, N. D., Kelly, T. J., Shabanowitz, J., Hunt, D. F., and Hart, G. W. (2008). O-GlcNAc regulates FoxO activation in response to glucose. *Journal of Biological Chemistry*, 283(24), 16283-16292.
24. Vaidyanathan, K., Durning, S., and Wells, L. (2014). Functional O-GlcNAc modifications: implications in molecular regulation and pathophysiology. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 49(2), 140-163.
25. Bond, M. R., and Hanover, J. A. (2013). O-GlcNAc cycling: a link between metabolism and chronic disease. *Annual review of nutrition*, 33, 205-229.
26. Li, Z., and Yi, W. (2014). Regulation of cancer metabolism by O-GlcNAcylation. *Glycoconjugate journal*, 31(3), 185-191.
27. Itkonen, H. M., Minner, S., Guldvik, I. J., Sandmann, M. J., Tsourlakis, M. C., Berge, V., and Mills, I. G. (2013). O-GlcNAc transferase integrates metabolic pathways to

- regulate the stability of c-MYC in human prostate cancer cells. *Cancer research*, 73(16), 5277-5287.
28. Ma, Z., Vocadlo, D. J., and Vosseller, K. (2013). Hyper-O-GlcNAcylation is anti-apoptotic and maintains constitutive NF- $\kappa$ B activity in pancreatic cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*, 288(21), 15121-15130.
  29. Zhu, Q., Zhou, L., Yang, Z., Lai, M., Xie, H., Wu, L., and Zheng, S. (2012). O-GlcNAcylation plays a role in tumor recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *Medical oncology*, 29(2), 985-993.
  30. Shi, Y., Lee, J. S., and Galvin, K. M. (1997). Everything you have ever wanted to know about Yin Yang 1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 1332(2), F49-F66.
  31. Seligson, D., Horvath, S., Huerta-Yepez, S., Hanna, S., Garban, H., Roberts, A., and Bonavida, B. (2005). Expression of transcription factor Yin Yang 1 in prostate cancer. *International journal of oncology*, 27(1), 131-141.
  32. Gordon, S., Akopyan, G., Garban, H., and Bonavida, B. (2006). Transcription factor YY1: structure, function, and therapeutic implications in cancer biology. *Oncogene*, 25(8), 1125-1142.
  33. Chinnappan, D., Xiao, D., Ratnasari, A., Andry, C., King, T. C., and Weber, H. C. (2009). Transcription factor YY1 expression in human gastrointestinal cancer cells. *International journal of oncology*, 34(5), 1417.
  34. Başmak H. Gözün Anatomisi Ve Fizyolojisi. Türkiye Optik ve Optometrik Meslekler Derneği 11–140
  35. Maden A. (1995). Oküloplastik cerrahi. İzmir; Özden ofset, 3–156.
  36. Duman R, Duman R. (2015) Göz Kapağı ve Hastalıkları. Derman Medical Publishing, 30–39.
  37. Hsu, H. C., and Lin, H. F. (2004). Eyelid tumors in children: a clinicopathologic study of a 10-year review in southern Taiwan. *Ophthalmologica*, 218(4), 274-277.
  38. Barchash S. A; (1971). Aktualnie voprosi diagnostiki lecheniya novoobrazovaniy organa zreniya u detei. In: Diagnostikai lechenie opucholei glaza i orbiti. Kiev., 74-5.
  39. Salomon, J., Bieniek, A., Baran, E., and Szepietowski, J. C. (2004). Basal cell carcinoma on the eyelids: own experience. *Dermatologic surgery*, 30(s2), 257-263.
  40. Axelrod, M., Serafin, D., and Klitzman, B. (1990). Ultraviolet light and free radicals: an immunologic theory of epidermal carcinogenesis. *Plastic and reconstructive surgery*, 86(3), 582-593.

41. Tenzel R.R. (1993). *Orbit and Oculoplastics*. Textbook of Ophtalmology. Gower medical publishing. New York. 16(6)–23.
42. Özkılıç E, Peksayar G. (2003): Kapak tümörlerinin epidemiyolojik açıdan değerlendirilmesi, T. Oft.Gaz, 33, 631-640.
43. Duke E. (1974). *System of Ophthalmology. Vol. XIII, Part II. London: Henry Kimpton*, pp 1105–1107.
44. Moro F, de Caro R, de Caro G, et al. (1998). Eyelid basal cell carcinoma with intracranial extension. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*; 14, 50–56.
45. Nauman GOH, Apple DJ, (1986). *Pathology of the eye*. New York Spünger Verlag Inc.; pp.849-63.
46. Soysal, H. G. (2001). Albayrak A. *Göz kapaklarının primer malign tümörleri*. T Oft Gaz, 31, 370-7.
47. Peksayar G, Kural G, Duman S (1996). *Kapak epitelyomaları kliniği. Türk Oftalmoloji Derneği XXX. Ulusal Kongresi Bülteni, ed, Antalya, 57-61*.
48. Kwitko M, Boniuk M, Zimmerman LE. (1963). Eyelid. Tumors With Reference to Lesions Confused With Squamous Cell Carcinoma. *Arch. Ophthalmol* 69, 693–697.
49. Howard, G. R., Nerad, J. A., Carter, K. D., and Whitaker, D. C. (1992). Clinical characteristics associated with orbital invasion of cutaneous basal cell and squamous cell tumors of the eyelid. *American journal of ophthalmology*, 113(2), 123-133.
50. Reifler D, Hornblass A. (1986). Surgical management of squamous cell carcinoma of the lid. *Ophthalmic Plast Reconstr Surg*, 2, 75–82.
51. Reifler, D. M., and Hornblass, A. (1986). Squamous cell carcinoma of the eyelid. *Survey of ophthalmology*, 30(6), 349-365.
52. Duke-Elder, S., & MacFaul, P. A. (1974). Disorders of the eyebrows and lashes. *Duke-Elder S. System of ophthalmology. London: Henry Kimpton, 13, 373-90*.
53. Csaky, K. G., and Custer, P. (1990). Perineural invasion of the orbit by squamous cell carcinoma. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*, 21(3), 218-220.
54. Ferry, A. P. (1973). The biological behavior and pathological features of carcinoma metastatic to the eye and orbit. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 71, 373.
55. Kass, L. G., and Hornblass, A. (1989). Sebaceous carcinoma of the ocular adnexa. *Survey of ophthalmology*, 33(6), 477-490.
56. Straatsma B. (1958). Meibomian gland tumours. *Arch Ophthalmol*, 56, 71–93.

57. Boniuk, M., and Zimmerman, L. E. (1967). Sebaceous carcinoma of the eyelid, eyebrow, caruncle, and orbit. *Transactions-American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology. American Academy of Ophthalmology and Otolaryngology*, 72(4), 619-642.
58. Kourt, G., and Martin, P. (2005). Eyelid and Periocular Skin Tumors. *Orbital Tumors*, 233-244.
59. Rao, N. A., and Mclean, I. W. (1978). Sebaceous Carcinoma of Eyelid and Caruncle, Correlation of Clinico-pathologic Features with prognosis: Ocular and Adnexal Tumors. *Aesculapius PC, Birmingham*, 461-475.
60. Collin, J. R. O., Allen, L. H., Garner, A., and Hungerford, J. L. (1986). Malignant melanoma of the eyelid and conjunctiva. *Clinical and Experimental Ophthalmology*, 14(1), 29-34.
61. Vaughn G. J, Doryzbach R. K, Gayre G. S. (2004). Eyelid malignancies. In: Yanoff M, Duker J. S, eds. *Ophthalmology* 2nd ed. St. Louis, MO: Mosby; chap.93, p. 711–719
62. Wick M. (1998). Prognostic factors for cutaneous melanoma. *Am J Clin Pathol* 110, 713-718.
63. Spencer, W. H., and Zimmerman, L. E. (1985). Conjunctiva. *Ophthalmic pathology: an atlas and textbook, 1*, 109-228.
64. Friedlaender, M. H. (1995). A review of the causes and treatment of bacterial and allergic conjunctivitis. *Clinical therapeutics*, 17(5), 800-810.
65. Güneş A. (2015). Konjonktiva Hastalıkları. *Derman Tıbbi Yayıncılık kitap bölümü*, 1–13.
66. Pazarlı H. (2006). Pediatrik Göz Tümörleri. Herkes İçin Çocuk Kanserlerinde Tanı Sempozyum Dizisi, 49-54.
67. Scroggs, M. W., and Klintworth, G. K. (1992). Normal eye and ocular adnexa. *Histology for pathologists*, 903-924.
68. Pabuççuoğlu H. U. (2004). Orbital tümörler. *Türkiye Ekopatoloji Dergisi*; 10 (1–2), 75–81.
69. Gündüz, K., and Yanık, Ö. (2015). Myths in the diagnosis and management of orbital tumors. *Middle East African journal of ophthalmology*, 22(4), 415.
70. Nagase, T., Seki, N., Ishikawa, K. I., Ohira, M., Kawarabayasi, Y., Ohara, O., and Nomura, N. (1996). Prediction of the coding sequences of unidentified human genes. VI. The coding sequences of 80 new genes (KIAA0201-KIAA0280) deduced by

- analysis of cDNA clones from cell line KG-1 and brain. *DNA Research*, 3(5), 321-329.
71. Jensen, D. E., Proctor, M., Marquis, S. T., Gardner, H. P., Ha, S. I., Chodosh, L. A., and Minna, J. (1998). BAP1: a novel ubiquitin hydrolase which binds to the BRCA1 RING finger and enhances BRCA1-mediated cell growth suppression. *Oncogene*, 16(9), 1097-1112.
  72. Murali, R., Wiesner, T., and Scolyer, R. A. (2013). Tumours associated with BAP1 mutations. *Pathology*, 45(2), 116-126.
  73. Okino, Y., Machida, Y., Frankland-Searby, S., and Machida, Y. J. (2015). BRCA1-associated protein 1 (BAP1) deubiquitinase antagonizes the ubiquitin-mediated activation of FoxK2 target genes. *Journal of Biological Chemistry*, 290(3), 1580-1591.
  74. Daou, S., Hammond-Martel, I., Mashtalir, N., Barbour, H., Gagnon, J., Iannantuono, N. V., and Wurtele, H. (2015). The BAP1/ASXL2 histone H2A deubiquitinase complex regulates cell proliferation and is disrupted in cancer. *Journal of Biological Chemistry*, 290(48), 28643-28663.
  75. Testa, J. R., Cheung, M., Pei, J., Below, J. E., Tan, Y., Sementino, E., and Hesdorffer, M. (2011). Germline BAP1 mutations predispose to malignant mesothelioma. *Nature genetics*, 43(10), 1022-1025.
  76. White, A. E., and Harper, J. W. (2012). Emerging anatomy of the BAP1 tumor suppressor system. *Science*, 337(6101), 1463-1464.
  77. Carbone, M., Baris, Y. I., Bertino, P., Brass, B., Comertpay, S., Dogan, A. U., and Pass, H. I. (2011). Erionite exposure in North Dakota and Turkish villages with mesothelioma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(33), 13618-13623.
  78. Yu, H., Mashtalir, N., Daou, S., Hammond-Martel, I., Ross, J., Sui, G., and Shi, Y. (2010). The ubiquitin carboxyl hydrolase BAP1 forms a ternary complex with YY1 and HCF-1 and is a critical regulator of gene expression. *Molecular and cellular biology*, 30(21), 5071-5085.
  79. Wang, A., Papneja, A., Hycza, M., Al-Habeeb, A., and Ghazarian, D. (2016). Gene of the month: BAP1. *Journal of clinical pathology*, 69(9), 750-753.
  80. Misaghi, S., Ottosen, S., Izrael-Tomasevic, A., Arnott, D., Lamkanfi, M., Lee, J., and Wilson, A. C. (2009). Association of C-terminal ubiquitin hydrolase BRCA1-associated protein 1 with cell cycle regulator host cell factor 1. *Molecular and cellular biology*, 29(8), 2181-2192.



81. Forma, E., Józwiak, P., Bryś, M., and Krześlak, A. (2014). The potential role of O-GlcNAc modification in cancer epigenetics. *Cellular and Molecular Biology Letters*, 19(3), 438-460.
82. Dey, A., Seshasayee, D., Noubade, R., French, D. M., Liu, J., Chaurushiya, M. S., and Wu, J. (2012). Loss of the tumor suppressor BAP1 causes myeloid transformation. *Science*, 337(6101), 1541-1546.
83. Carbone M, Yang H, Pass H, Krausz T, Testa JR, Gaudino G. (2013). BAP1 and cancer. *Nat Rev Cancer* 13, 153–159.
84. Harbour, J. W., Onken, M. D., Roberson, E. D., Duan, S., Cao, L., Worley, L. A., and Bowcock, A. M. (2010). Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science*, 330(6009), 1410-1413.
85. Bott, M., Brevet, M., Taylor, B. S., Shimizu, S., Ito, T., Wang, L., and Sander, C. (2011). The nuclear deubiquitinase BAP1 is commonly inactivated by somatic mutations and 3p21. 1 losses in malignant pleural mesothelioma. *Nature genetics*, 43(7), 668-672.
86. Wiesner, T., Obenaus, A. C., Murali, R., Fried, I., Griewank, K. G., Ulz, P., and Viale, A. (2011). Germline mutations in BAP1 predispose to melanocytic tumors. *Nature genetics*, 43(10), 1018-1021.
87. Shafi, R., Iyer, S. P. N., Ellies, L. G., O'Donnell, N., Marek, K. W., Chui, D., and Marth, J. D. (2000). The O-GlcNAc transferase gene resides on the X chromosome and is essential for embryonic stem cell viability and mouse ontogeny. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(11), 5735-5739.
88. Lubas, W. A., Frank, D. W., Krause, M., and Hanover, J. A. (1997). O-Linked GlcNAc transferase is a conserved nucleocytoplasmic protein containing tetratricopeptide repeats. *Journal of Biological Chemistry*, 272(14), 9316-9324.
89. Haltiwanger, R. S., Blomberg, M. A., and Hart, G. W. (1992). Glycosylation of nuclear and cytoplasmic proteins. Purification and characterization of a uridine diphospho-N-acetylglucosamine: polypeptide beta-N-acetylglucosaminyltransferase. *Journal of Biological Chemistry*, 267(13), 9005-9013.
90. Lazarus, M. B., Nam, Y., Jiang, J., Sliz, P., and Walker, S. (2011). Structure of human O-GlcNAc transferase and its complex with a peptide substrate. *Nature*, 469(7331), 564-567.
91. Gloster, T. M., and Vocadlo, D. J. (2010). Mechanism, structure, and inhibition of O-GlcNAc processing enzymes. *Current signal transduction therapy*, 5(1), 74-91.

92. Özcan, S., Andrali, S. S., and Cantrell, J. E. (2010). Modulation of transcription factor function by O-GlcNAc modification. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1799(5), 353-364.
93. Ma, J., and Hart, G. W. (2014). O-GlcNAc profiling: from proteins to proteomes. *Clinical proteomics*, 11(1), 8.
94. Yang, X., Zhang, F., and Kudlow, J. E. (2002). Recruitment of O-GlcNAc transferase to promoters by corepressor mSin3A: coupling protein O-GlcNAcylation to transcriptional repression. *Cell*, 110(1), 69-80.
95. Zhang, F., Su, K., Yang, X., Bowe, D. B., Paterson, A. J., and Kudlow, J. E. (2003). O-GlcNAc modification is an endogenous inhibitor of the proteasome. *Cell*, 115(6), 715-725.
96. Lazarus, M. B., Jiang, J., Kapuria, V., Bhuiyan, T., Janetzko, J., Zandberg, W. F., and Walker, S. (2013). HCF-1 is cleaved in the active site of O-GlcNAc transferase. *Science*, 342(6163), 1235-1239.
97. Dentin, R., Hedrick, S., Xie, J., Yates, J., and Montminy, M. (2008). Hepatic glucose sensing via the CREB coactivator CRTC2. *Science*, 319(5868), 1402-1405.
98. Fardini, Y., Dehennaut, V., Lefebvre, T., and Issad, T. (2013). O-GlcNAcylation: a new cancer hallmark? *Frontiers in endocrinology*, 4, 99.
99. Slawson, C., & Hart, G. W. (2011). O-GlcNAc signalling: implications for cancer cell biology. *Nature Reviews Cancer*, 11(9), 678-684.
100. Olivier-Van Stichelen, S., Dehennaut, V., Buzy, A., Zacharyus, J. L., Guinez, C., Mir, A. M., and Ferrara, P. (2014). O-GlcNAcylation stabilizes  $\beta$ -catenin through direct competition with phosphorylation at threonine 41. *The FASEB Journal*, 28(8), 3325-3338.
101. Griffith, L. S., Mathes, M., and Schmitz, B. (1995).  $\beta$ -amyloid precursor protein is modified with O-linked N-acetylglucosamine. *Journal of neuroscience research*, 41(2), 270-278.
102. Murphy, J. E., Hanover, J. A., Froehlich, M., DuBois, G., and Keen, J. H. (1994). Clathrin assembly protein AP-3 is phosphorylated and glycosylated on the 50-kDa structural domain. *Journal of Biological Chemistry*, 269(33), 21346-21352.
103. Dong D. L.-Y., Xu Z.-S., Chevrier M. R., Cotter R. J., Cleveland D. W. and Hart G. W. (1993) Glycosylation of mammalian neurofilaments. Localization of multiple O-linked N-acetylglucosamine moieties on neurofilament polypeptides L and M. *J. Biol. Chem.* 268, 16679–16687.

104. Dong D. L., Xu Z. S., Hart G. W. and Cleveland D. W. (1996) Cytoplasmic o-GlcNAc modification of the head domain and the KSP repeat motif of the neurofilament protein neurofilament-H. *J. Biol. Chem.* 271, 20845–20852.
105. Mandelkow, E. M., Schweers, O., Drewes, G., Biernat, J., Gustke, N., Trinczek, B., and Mandelkow, E. (1996). Structure, microtubule interactions, and phosphorylation of tau protein. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 777(1), 96-106.
106. Arnold, C. S., Johnson, G. V., Cole, R. N., Dong, D. L. Y., Lee, M., and Hart, G. W. (1996). The microtubule-associated protein tau is extensively modified with O-linked N-acetylglucosamine. *Journal of Biological Chemistry*, 271(46), 28741-28744.
107. Okuyama, R., and Marshall, S. (2003). UDP-N-acetylglucosaminyl transferase (OGT) in brain tissue: temperature sensitivity and subcellular distribution of cytosolic and nuclear enzyme. *Journal of neurochemistry*, 86(5), 1271-1280.
108. Zhu, W., Lossie, A. C., Camper, S. A., and Gumucio, D. L. (1994). Chromosomal localization of the transcription factor YY1 in the mouse and human. *Mammalian Genome*, 5(4), 234-236.
109. Shi, Y., Seto, E., Chang, L. S., and Shenk, T. (1991). Transcriptional repression by YY1, a human GLI-Krüppel-related protein, and relief of repression by adenovirus E1A protein. *Cell*, 67(2), 377-388.
110. Park, K., and Atchison, M. L. (1991). Isolation of a candidate repressor/activator, NF-E1 (YY1, delta), that binds to the immunoglobulin kappa 3'enhancer and the immunoglobulin heavy-chain mu E1 site. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(21), 9804-9808.
111. Yao, Y. L., Ghosh, S., Fang, Y., Seto, E., Dupont, B. R., and Leach, R. J. (1998). Cloning, chromosomal localization and promoter analysis of the human transcription factor YY1. *Nucleic acids research*, 26(16), 3776-3783.
112. Sera, T. (2009). Zinc-finger-based artificial transcription factors and their applications. *Advanced drug delivery reviews*, 61(7), 513-526.
113. Yan, B., Raben, N., and Plotz, P. H. (2002). HES-1, a known transcriptional repressor, acts as a transcriptional activator for the human acid  $\alpha$ -glucosidase gene in human fibroblast cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 291(3), 582-587.
114. Yan, B., Heus, J., Lu, N., Nichols, R. C., Raben, N., and Plotz, P. H. (2001). Transcriptional Regulation of the Human Acid  $\alpha$ -Glucosidase Gene Identification Of

- A Repressor Element And Its Transcription Factors Hes-1 And Yy1. *Journal of Biological Chemistry*, 276(3), 1789-1793.
115. Oei, S. L., and Shi, Y. (2001). Transcription factor Yin Yang 1 stimulates poly (ADP-ribose) ation and DNA repair. *Biochemical and biophysical research communications*, 284(2), 450-454.
  116. Sui, G., Affar, E. B., Shi, Y., Brignone, C., Wall, N. R., Yin, P., and Shi, Y. (2004). Yin Yang 1 is a negative regulator of p53. *Cell*, 117(7), 859-872.
  117. Kim, J., Kollhoff, A., Bergmann, A., and Stubbs, L. (2003). Methylation-sensitive binding of transcription factor YY1 to an insulator sequence within the paternally expressed imprinted gene, Peg3. *Human molecular genetics*, 12(3), 233-245.
  118. Gordon, S., Akopyan, G., Garban, H., and Bonavida, B. (2006). Transcription factor YY1: structure, function, and therapeutic implications in cancer biology. *Oncogene*, 25(8), 1125-1142.
  119. Shrivastava, A., and Calame, K. (1994). An analysis of genes regulated by the multi-functional transcriptional regulator Yin Yang-1. *Nucleic Acids Research*, 22(24), 5151-5155.
  120. Bauknecht, T., R. H. See, and Y. Shi. (1996). A novel C/EBPb-YY1 complex controls the cell-type-specific activity of the human papillomavirus type 18 upstream regulatory region. *J. Virol.* 70, 7695–7705.
  121. Lee, T. C., Shi, Y., and Schwartz, R. J. (1992). Displacement of BrdUrd-induced YY1 by serum response factor activates skeletal alpha-actin transcription in embryonic myoblasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(20), 9814-9818.
  122. Lee, T. C., Zhang, Y., and Schwartz, R. J. (1994). Bifunctional transcriptional properties of YY1 in regulating muscle actin and c-myc gene expression during myogenesis. *Oncogene*, 9(4), 1047-1052.
  123. Zhang, Q., Stovall, D. B., Inoue, K., and Sui, G. (2011). The oncogenic role of Yin Yang 1. *Critical Reviews™ in Oncogenesis*, 16(3-4).
  124. Eliassen, K. A., Baldwin, A., Sikorski, E. M., and Hurt, M. M. (1998). Role for a YY1-binding element in replication-dependent mouse histone gene expression. *Molecular and cellular biology*, 18(12), 7106-7118.
  125. Sui, G. (2009). The regulation of YY1 in tumorigenesis and its targeting potential in cancer therapy. *Molecular and Cellular Pharmacology*, 1(3), 157-176.
  126. Grönroos, E., Terentiev, A. A., Punga, T., and Ericsson, J. (2004). YY1 inhibits the activation of the p53 tumor suppressor in response to genotoxic stress. *Proceedings of*

- the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(33), 12165-12170.
127. Wang, X., Feng, Y., Xu, L., Chen, Y., Zhang, Y., Su, D., and Huang, B. (2008). YY1 restrained cell senescence through repressing the transcription of p16. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1783(10), 1876-1883.
  128. Santiago, F. S., Ishii, H., Shafi, S., Khurana, R., Kanellakis, P., Bhindi, R., and Zachary, I. C. (2007). Yin Yang-1 inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal thickening by repressing p21WAF1/Cip1 transcription and p21WAF1/Cip1-Cdk4-cyclin D1 assembly. *Circulation research*, 101(2), 146-155.
  129. Varambally, S., Yu, J., Laxman, B., Rhodes, D. R., Mehra, R., Tomlins, S. A., and Wei, J. T. (2005). Integrative genomic and proteomic analysis of prostate cancer reveals signatures of metastatic progression. *Cancer cell*, 8(5), 393-406.
  130. Zaravinos, A., and Spandidos, D. A. (2010). Yin yang 1 expression in human tumors. *Cell Cycle*, 9(3), 512-522.
  131. de Oliveira Niero, E. L., and Machado-Santelli, G. M. (2013). Cinnamic acid induces apoptotic cell death and cytoskeleton disruption in human melanoma cells. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 32(1), 31.
  132. Flaherty, K. T., Hodi, F. S., and Fisher, D. E. (2012). From genes to drugs: targeted strategies for melanoma. *Nature Reviews Cancer*, 12(5), 349-361.
  133. Chiarion Sileni V, Pigozzo J, Ascierto P. A, Grimaldi A. M, Maio M, Di Guardo L, et al. (2014). Efficacy and safety of ipilimumab in elderly patients with pretreated advanced melanoma treated at Italian centres through the expanded access programme. *J Exp Clin Cancer Res.*, 33:30.
  134. Ferlay, J., Soerjomataram, I., and Ervik, M. (2012). GLOBOCAN, cancer incidence and mortality worldwide: IARC cancer base no. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013.
  135. Lyon, (2013). France: International Agency for Research on Cancer; Erişim Adresi: <http://globocan.iarc.fr>, Erişim Tarihi: 23.05.2017
  136. TÜİK. “Ölüm Nedeni İstatistikleri, 2014”. Erişim Adresi: <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=18855> Erişim Tarihi: 23.05.2017
  137. Siegel, R. L., Miller, K. D., and Jemal, A. (2016). Cancer statistics, 2016. *CA: a cancer journal for clinicians*, 66(1), 7-30.
  138. Eye cancer facts The university of Texas MD. Anderson cancer center 16.05.2017

139. Paul, S., Vo, D. T., and Silkiss, R. Z. (2011). Malignant and benign eyelid lesions in San Francisco: study of a diverse urban population. *Am J Clin Med*, 8(1), 40-6.
140. Yanoff M, Fine B. S. (2002). *Ocular Pathology. 5th Ed, Thailand: Mosby*, 511-575.
141. Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®. Baltimore, M.D: (2014). Johns Hopkins University, 614-327.
142. Abdel-Rahman, M. H., Pilarski, R., Cebulla, C. M., Massengill, J. B., Christopher, B. N., Boru, G., and Davidorf, F. H. (2011). Germline BAP1 mutation predisposes to uveal melanoma, lung adenocarcinoma, meningioma, and other cancers. *Journal of medical genetics*, 48(12), 856-859.
143. Popova, T., Hebert, L., Jacquemin, V., Gad, S., Caux-Moncoutier, V., Dubois-d'Enghien, C., and Sastre-Garau, X. (2013). Germline BAP1 mutations predispose to renal cell carcinomas. *The American Journal of Human Genetics*, 92(6), 974-980.
144. Eletr, Z. M., and Wilkinson, K. D. (2011). An emerging model for BAP1's role in regulating cell cycle progression. *Cell biochemistry and biophysics*, 60(1-2), 3..
145. Jensen, D. E., and Rauscher, F. J. (1999). BAP1, a candidate tumor suppressor protein that interacts with BRCA1. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 886(1), 191-194.
146. Jensen, D. E., and Rauscher, F. J. (1999). Defining biochemical functions for the BRCA1 tumor suppressor protein: analysis of the BRCA1 binding protein BAP1. *Cancer letters*, 143, S13-S17.
147. Yu, H., Mashtalir, N., Daou, S., Hammond-Martel, I., Ross, J., Sui, G., and Shi, Y. (2010). The ubiquitin carboxyl hydrolase BAP1 forms a ternary complex with YY1 and HCF-1 and is a critical regulator of gene expression. *Molecular and cellular biology*, 30(21), 5071-5085.
148. Rai, K. (2015). Comprehensive Review of BAP1 Tumor Predisposition Syndrome.
149. Harbour, J. W., Onken, M. D., Roberson, E. D., Duan, S., Cao, L., Worley, L. A., and Bowcock, A. M. (2010). Frequent mutation of BAP1 in metastasizing uveal melanomas. *Science*, 330(6009), 1410-1413.
150. Yoshikawa, Y., Sato, A., Tsujimura, T., Emi, M., Morinaga, T., Fukuoka, K., and Okumura, Y. (2012). Frequent inactivation of the BAP1 gene in epithelioid-type malignant mesothelioma. *Cancer science*, 103(5), 868-874.
151. COSMIC: (2012). Catalogue of somatic mutations in cancer. Cited 5 Sept <http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic/gene/analysis?ln=BAP1>

152. Angeloni, D. (2007). Molecular analysis of deletions in human chromosome 3p21 and the role of resident cancer genes in disease. *Briefings in functional genomics and proteomics*, 6(1), 19-39.
153. Buchhagen, D. L., Qiu, L., and Etkind, P. (1994). Homozygous deletion, rearrangement and hypermethylation implicate chromosome region 3p14. 3-3p21. 3 in sporadic breast-cancer development. *International journal of cancer*, 57(4), 473-479.
154. Andrici J, Jung J, Sheen A, D'Urso L, Sioson L, Pickett J, Parkhill R. T, Verdonk B, Wardell L.K, Singh A, Clarkson A , Watson N , Toon W. C , Gill J.A . (2016). Loss of BAP1 expression is very rare in peritoneal and gynecologic serous adenocarcinomas and can be useful in the differential diagnosis with abdominal mesothelioma. *Human Pathology* 51, 9–15.
155. Mochel, M. C., Piris, A., Nose, V., and Hoang, M. P. (2015). Loss of BAP1 expression in basal cell carcinomas in patients with germline BAP1 mutations. *American journal of clinical pathology*, 143(6), 901-904.
156. Ladanyi, M., Zauderer, M. G., Krug, L. M., Ito, T., McMillan, R., Bott, M., and Giancotti, F. (2012). New strategies in pleural mesothelioma: BAP1 and NF2 as novel targets for therapeutic development and risk assessment. *Clinical Cancer Research*, 18(17), 4485-4490.
157. Piris, A., Mihm, M. C., and Hoang, M. P. (2015). BAP1 and BRAFV600E expression in benign and malignant melanocytic proliferations. *Human pathology*, 46(2), 239-245.
158. Ardakani, N. M., Palmer, D. L., and Wood, B. A. (2015). BAP1 deficient malignant melanoma arising from the intradermal component of a congenital melanocytic naevus. *Pathology*, 47(7), 707-710.
159. Torres, C. R., and Hart, G. W. (1984). Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *Journal of Biological Chemistry*, 259(5), 3308-3317.
160. Zachara, N. E., and Hart, G. W. (2002). The emerging significance of O-GlcNAc in cellular regulation. *Chemical reviews*, 102(2), 431-438.
161. Hart, G. W., Housley, M. P., and Slawson, C. (2007). Cycling of O-linked  $\beta$ -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature*, 446(7139), 1017-1022.
162. Park, S. Y., Ryu, J., and Lee, W. (2005). O-GlcNAc modification on IRS-1 and Akt2 by PUGNAc inhibits their phosphorylation and induces insulin resistance in rat primary adipocytes. *Experimental and molecular medicine*, 37(3), 220.

163. Yang, X., Ongusaha, P. P., Miles, P. D., Havstad, J. C., Zhang, F., So, W. V., and Evans, R. M. (2008). Phosphoinositide signalling links O-GlcNAc transferase to insulin resistance. *Nature*, *451*(7181), 964-969.
164. Buse, M. G. (2006). Hexosamines, insulin resistance, and the complications of diabetes: current status. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, *290*(1), E1-E8.
165. Kang, J. G., Park, S. Y., Ji, S., Jang, I., Park, S., Kim, H. S., and Cho, J. W. (2009). O-GlcNAc protein modification in cancer cells increases in response to glucose deprivation through glycogen degradation. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(50), 34777-34784.
166. Gu, Y., Mi, W., Ge, Y., Liu, H., Fan, Q., Han, C., and Yu, W. (2010). GlcNAcylation plays an essential role in breast cancer metastasis. *Cancer research*, *70*(15), 6344-6351.
167. Mi, W., Gu, Y., Han, C., Liu, H., Fan, Q., Zhang, X., and Yu, W. (2011). O-GlcNAcylation is a novel regulator of lung and colon cancer malignancy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, *1812*(4), 514-519.
168. Toivonen, M. H., Pöllänen, E., Ahtiainen, M., Suominen, H., Taaffe, D. R., Cheng, S., and Kovanen, V. (2013). OGT and OGA expression in postmenopausal skeletal muscle associates with hormone replacement therapy and muscle cross-sectional area. *Experimental gerontology*, *48*(12), 1501-1504.
169. Castellano, G., Torrisi, E., Ligresti, G., Malaponte, G., Militello, L., Russo, A. E., and Libra, M. (2009). The involvement of the transcription factor Yin Yang 1 in cancer development and progression. *Cell cycle*, *8*(9), 1367-1372.
170. Garbán, H. J., and Bonavida, B. (2001). Nitric oxide inhibits the transcription repressor Yin-Yang 1 binding activity at the silencer region of the Fas promoter: a pivotal role for nitric oxide in the up-regulation of Fas gene expression in human tumor cells. *The Journal of Immunology*, *167*(1), 75-81.
171. Hyde-DeRuyscher, R. P., Jennings, E., and Shenk, T. (1995). DNA binding sites for the transcriptional activator/repressor YY1. *Nucleic acids research*, *23*(21), 4457-4465.
172. Blattner, C. (2008). Regulation of p53: the next generation. *Cell Cycle*, *7*(20), 3149-3153.



173. Berchuck, A., Iversen, E. S., Lancaster, J. M., Pittman, J., Luo, J., Lee, P., and Nevins, J. R. (2005). Patterns of gene expression that characterize long-term survival in advanced stage serous ovarian cancers. *Clinical cancer research*, 11(10), 3686-3696.
174. Matsumura, N., Huang, Z., Baba, T., Lee, P. S., Barnett, J. C., Mori, S., and Gray, J. W. (2009). Yin yang 1 modulates taxane response in epithelial ovarian cancer. *Molecular Cancer Research*, 7(2), 210-220.
175. Allouche, A., Nolens, G., Tancredi, A., Delacroix, L., Mardaga, J., Fridman, V., and Begon, D. Y. (2008). The combined immunodetection of AP-2 $\alpha$  and YY1 transcription factors is associated with ERBB2 gene overexpression in primary breast tumors. *Breast Cancer Research*, 10(1), R9.
176. Revillion, F., Bonnetterre, J., and Peyrat, J. P. (1998). ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *European Journal of Cancer*, 34(6), 791-808.
177. Kersten, RC., Ewing-Chow, D., Kulwin, DR., and Gallon, M. (1997). Accuracy of clinical diagnosis of cutaneous eyelid lesions. *Ophthalmology*. 104,479–484.
178. Wang, JK., Liao, SL., Jou, JR., Lai, PC., Kao, SC., Hou, PK., and Chen, MS. (2003). Malignant eyelid tumours in Taiwan. *Eye* 17, 216–220.
179. Edgar, MA. (2008). Rosenblum MK. The differential diagnosis of central nervous system tumors: A critical examination of some recent immunohistochemical applications. *Arch Pathol Lab Med*. 132,500–509.
180. Garcia, CF., Swerdlow, SH. (2009). Best practices in contemporary diagnostic immunohistochemistry: Panel approach to hematolymphoid proliferations. *Arch Pathol Lab Med*. 133,756–765.
181. Leong, AS., Wright, J. (1987) The contribution of immunohistochemical staining in tumor diagnosis. *Histopathology*. 11, 1295–305.
182. Duraiyan, J., Govindarajan, R., Kaliyappan, K.,<sup>1</sup> and Palanisamy, Mu. (2012). Applications of immunohistochemistry J Pharm Bioallied Sci. 4(2), 307–309.
183. Harsh, Mohan. (2005) Essential pathology for dental students. 3rd edition. New Delhi: Jaypee brother's medical publishers. p. 14.
184. Seidal, T., Balaton, AJ., Battifora, H. (2001) Interpretation and quantification of immunostains. *Am J Surg Pathol*. 25,1204–1207.
185. Zhu, QY. (1989). Analysis of blood vessel invasion by cells of thyroid follicular carcinoma using image processing combined with immunohistochemistry. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 69,573–5. 40.

186. Hwang, HC., Sheffield, BS., Rodriguez, S. et al (2016). Utility of BAP1 Immunohistochemistry and p16 (CDKN2A) FISH in the Diagnosis of Malignant Mesothelioma in Effusion Cytology Specimens. *Am J Surg Pathol*40, 120–126.
187. Hida, T., Hamasaki, M., Matsumoto, S., Sato, A., Tsujimura, T., Kawahara, K., Iwasaki, A., Okamoto, T., Oda, Y., Honda, H., and Nabeshima, K. (2016). BAP1 immunohistochemistry and p16 FISH results in combination provide higher confidence in malignant pleural mesothelioma diagnosis: ROC analysis of the two test. *Pathology International* 66, 563–570
188. Carbone, M., Ferris, LK., Baumann, F., et al. (2012). BAP1 cancer syndrome: malignant mesothelioma, uveal and cutaneous melanoma, and MBAITs. *J Transl Med* 10,179
189. Wiesner, T., Murali, R., Fried, I., et al. (2012) A distinct subset of atypical Spitz tumors is characterized by BRAF mutation and loss of BAP1 expression. *Am J Surg Pathol*36, 818–830
190. Pena-Llopis, S., Vega-Rubin-de-Celis, S., Liao, A., et al(2011). BAP1 loss defines a new class of renal cell carcinoma. *Nat Genet.* 43,1018-1021.
191. Shah, A. A., Bourne, T. D. and Murali, R.(2013) BAP1 protein loss by immunohistochemistry a potentially useful tool for prognostic prediction in patients with uveal melanoma. *Pathology* 45(7), 651–656
192. Murali, R., Wilmott, S. J., Jakrot, V., Ahmadie, A. H., Wiesner, T., McCarthy, W. S., Thompson, F. J., Scolyer, A. R. (2013). BAP1 expression in cutaneous melanoma: a pilot study. *Pathology*, 45(6)
193. Yu, F. L., Y, T. C., Han, N. L., (2011). Differentiating basal cell carcinoma from trichoepithelioma by using androgen receptor expression. *Dermatol Sin* 27,154-160.
194. Lee, Y., Hong, K. D., Choi, K. D., Lim, K.S., Sohn, C. K., Im, M., Seo, J. Y., Lee, Y.H., Lee, J. H., Kim, C. D. (2014) Immunohistochemical Study Of O-GlcNacylation In Human Skin Tumors. *Korean J Phys Anthropol* 27(2), 71-77
195. Vosseller, K., Sakabe, K., Wells, L., Hart, GW. (2002). Diverse regulation of protein function by O-GlcNAc: a nuclear and cytoplasmic carbohydrate post-translational modification. *Curr Opin Chem Biol.* 6,851-857.
196. Slawson, C., Copeland, RJ., Hart, GW. (2010) O-GlcNAc signaling: a metabolic link between diabetes and cancer? *Trends Biochem Sci.* 35,547-55.

197. Hanover, JA., Krause, MW., Love, DC. (2012) Bittersweet memories: linking metabolism to epigenetics through O-GlcNAcylation. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 13,312-21.
198. Zaravinos, A., Spandidos, DA. (2009) Yin Yang 1 as a prognostic factor. *Cell Cycle.*8(9):1305–1307
199. Thomassen, M., Tan, Q., Kruse, TA. (2008). Gene expression meta-analysis identifies metastatic pathways and transcription factors in breast cancer. *BMC Cancer* 8, 394.
200. De Nigris, F., Botti, C., De Chiara, A., Rossiello, R., Apice, G., Fazioli, F., and Napoli, C. (2006). Expression of transcription factor Yin Yang 1 in human osteosarcomas. *European Journal of Cancer*, 42(15), 2420-2424
201. Chinnappan, D., Xiao, D., Ratnasari, A., Andry, C., King, TC., Weber, H.C. (2009). Transcription factor YY1 expression in human gastrointestinal cancer cells. *Int J Oncol.* 34(5):1417–1423

## 8. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı Ayça TAŞ

Doğum Yeri ve Tarihi Amasya 02/0,5/1983

Medeni Hali Bekar

Yabancı Dil İngilizce

İletişim Adresi Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri fak. Beslenme ve Diyetetik Bölümü, , 58140-SİVAS

E-posta Adresi aycatas@cumhuriyet.edu.tr

### Eğitim Durumu

Lise Sivas Lisesi, SİVAS, 2001

Lisans Cumhuriyet Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü, 2006

Yüksek Lisans Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, 2010

Doktora Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Ana Bilim Dalı, 2017

**EK-1****HASTA VE KONTROLLERE AİT SORGU FORMU**

Adı Soyadı :		
Cinsiyeti :		
Adres :		
Tel Ev :		
Cep :		
Doğum yeri :		
Doğum tarihi :		
Dedelerinin Doğum yeri :		
Mesleği :		
Mesleğinin özellikleri		
Sigara :	Evet	Hayır
NE KADAR ZAMANDIR İÇİYOR		
Günlük kaç tane içiyor		
Alkol	Evet	Hayır
Ne kadar zamandır içiyor		
Günlük ne kadar içiyor		
Histopatolojik Tanı		
Ailede Ca Hikayesi		

## EK-2

### ETİK KURUL KARARI

#### KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Göz kapağı, konjunktiva ve orbita tümörlü hastalarda <i>BAP1</i> ve <i>BAP1</i> ile etkileşimde bulunan bazı genlerin ekspresyon profillerinin belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başhekimlik Girişi TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 258 00 25
	FAKS	0346 258 00 24
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç. Dr. Yavuz Silig / Doktora öğrencisi Ayça Taş			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Göz kapağı, konjunktiva ve orbita tümörlü hastalarda <i>BAPİ</i> ve <i>BAPİ</i> ile etkileşimde bulunan bazı genlerin ekspresyon profillerinin belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili			
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>	
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama					
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>					
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>					
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>					
	İLAN	<input type="checkbox"/>					
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>					
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>					
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>					
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2014-05/18	Tarih: 27.05.2014					
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden gerekli izin alınarak gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.						
Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.							

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Üroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kürşat Karadayı	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hülya Tokar	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık Çançalar	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	İzinli
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Görevli
Doç. Dr. Özlem Kayım Yıldız	Nöroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Fatih Kılıçlı	Endokrinoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ziynet Çınar	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Göz kapağı, konjunktiva ve orbita tümörlü hastalarda <i>BAP1</i> ve <i>BAP1</i> ile etkileşimde bulunan bazı genlerin ekspresyon profillerinin belirlenmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Mutlu Doğan	Genel Cerrahi	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Engin Daşlı	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Şemsettin Ağtaş,	Biyoloji Öğretmeni	Sivas Lisesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin  
İmza:



Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.