



T.C.

GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

PSÖDOEKSFOLİASYONU (PEX) OLAN HASTALARDA CLUSTERİN
GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan

Sabire KILIÇARSLAN

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Yüksek Lisans

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Serbülent YİĞİT

II. Danışman

Yrd. Doç. Dr. Akın TEKCAN

TOKAT – 2016

Psödoeksfoliasyonu (PEX) Olan Hastalarda Clusterin Gen Polimorfizminin
Araştırılması

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: / /

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Doç Dr. Nevin KARAKUŞ

Üye : Yrd. Doç Dr. Serbülen YİĞİT

Üye : Yrd. Doç Dr. Ayşe Feyda NURSAL

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun
...../...../..... tarih ve sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul
edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

Mühür

İmza

T.C.
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

(.../.../200...)

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı ve Soyadı

Sabire KILIÇARSLAN

İmzası

ÖNSÖZ

Yüksek lisans öğrenim boyunca bana; desteğini esirgemeyen, bilgisi ve deneyimleri ile öğrenim süreci boyunca bana ışık tutan Danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Serbürent Yiğit'e ve dönem içerisinde bilimsel katkılarından dolayı Doç. Dr. Hacı Ömer ATEŞ, Doç. Dr. Nevin KARAKUŞ ve Doç. Dr. Aydın RÜSTEMOĞLU'na, çalışmamda hasta ve kontrol gruplarının toplanmasında yardımcı olan Dr. Helin Deniz DEMİR'e ve çalışmadaki istatistik sonuçlarımı yapan Yrd. Doç. Dr. Akın TEKCAN'a ve hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen anneme, babama, kardeşlerime ve eşim Serhat KILIÇARSLAN'a teşekkür ederim.

ÖZET

Psödoeksfoliasyon (PEX), tanısı klinik olarak konan, lens ön kapsülü ve/veya pupil kenarında gri beyaz fibrogranüler psödoeksfoliasyon materyali adı verilen maddenin ön segment muayenesinde görülmesi ile karakterize bir hastalıktır. Glokom genellikle göz içi basıncının artışı ile seyreden, optik sinir başında çanaklaşma; retina ganglion hücre dejenerasyonu ve görme alanı kaybı oluşturan, kronik optik nöropatidir. Glokom dünya çapında geriye dönüşsüz ve önlenemez körlüğün en önde gelen nedenidir.

Bu çalışmada, Psödoeksfoliasyon (PEX) hastalarında, hastalıkla ilişkisi olduğu düşünülen Clusterin (*CLU*) geni polimorfizmi incelenmiştir. *CLU* geninde yer alan bir dizi varyantının (rs11136000) farklı populasyonlarda PEX ile ilişkisi saptanmıştır. Bu çalışmada biz Türk populasyonunda *CLU* geninde yer alan bu tek nükleotid polimorfizminin (SNP) PEX ile ilişkili olup olmadığını araştırmayı amaçladık. Vaka grubunda birbirleri ile akrabalık ilişkisi bulunmayan 100 PEXG hastası yer aldı. Kontrol grubunda ise akrabalık ilişkisi bulunmayan 100 sağlıklı gönüllü yer aldı. *CLU* geninde yer alan SNP'nin (rs11136000) genotiplendirmesi polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve restriksiyon fragment uzunluk polimorfizmi (RFLP) yöntemi kullanılarak yapıldı. Verilerin analizi SPSS (Statistical Package for Social Science) 16 paket programında yapıldı. Hasta grubunda C allel sıklığının fazla olduğu görüldü. Kontrol grubunda ise T allel sıklığı fazla idi. Buna göre, hastalığın görülme olasılığı C alleli olan kişilerde daha fazla iken, T alleli bulunan kişilerde daha azdır. Değerlendirmeler sonucunda, *CLU* geni rs11136000 T>C polimorfizmi ile PEX hastalığı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

Anahtar Kelimeler: Psödoeksfoliasyon sendromu, *CLU* Geni, rs11136000, polimorfizm

ABSTRACT

Pseudoexfoliation (PEX), diagnosed as clinically, is a disease characterized by the presence of the gray-white fibrogranular pseudoexfoliation material located on the anterior lens capsule and / or pupillary edge, in the anterior segment examination of the substance. Glaucoma, a chronic optic neuropathy, is usually associated with increased intraocular pressure, optic nerve head cupping; make up the loss of retinal ganglion cells and degeneration of the visual field. Glaucoma is the leading cause of irreversible and preventable blindness.

In this study, Clusterin (*CLU*) gene polymorphisms, thought to be associated with the disease, was investigated in pseudoexfoliation PEX patients. A relationship between a sequence variant (rs11136000) on *CLU* gene and PEX was observed in different populations. In this study, we aimed to investigate if there is a relationship between this single nucleotide polymorphism (SNP) of *CLU* gene, and PEX in Turkish population. The case group included 100 PEX patients who don't have any kindship with each other. The control group included 100 healthy volunteers who dont have any kindship with each other. Genotyping of SNP (rs 11136000) on *CLU* gene, was determined by using polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP) method. Data analysis was performed in SPSS (Statistical Package for Social Science) 16. C allele frequency was observed higher in the patient group. In the control group, T allele frequency was higher. According to this, the possibility of the disease is high in people who has C allele; and the possibility of the disease is low in people who has T allele. We didn't observed a statistically significant correlation between rs 11136000 T> C polymorphism of *CLU* gene and PEX disease.

Keywords: Pseudoexfoliation syndrome, Clusterin, rs11136000, polymorphism

İÇİNDEKİLER TABLOSU

ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
İÇİNDEKİLER TABLOSU.....	VI
ÇİZELGELER TABLOSU	VIII
ŞEKİLLER TABLOSU	IX
SİMGELER-KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. GLOKOM TANIMI.....	2
2.2. PEX.....	3
2.2.2. <i>PEX Tarihçesi – Terminolojisi</i>	3
2.2.3. <i>Epidemiyoloji</i>	4
2.2.4. <i>PEM Yapısı</i>	5
2.2.5. <i>PEX Tanısı</i>	6
2.2.6. <i>PEX ve Glukom</i>	7
2.3. <i>CLUSTERİN (CLU) GEN POLİMORFİZMİ</i>	8
2.3.1. <i>CLU Gen Polimorfizmi Yapısı</i>	10
2.3.2. <i>CLU Gen Polimorfizmi ve PEX Hastalığı Arasındaki İlişki</i>	17
2.3.3. <i>CLU Gen Polimorfizmi ve Apoptozis</i>	18
2.3.4. <i>CLU Gen Polimorfizmi'in İlişkili Olduğu Hastalıklar</i>	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	22
3.1. ÇALIŞMA GRUBU.....	22
3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER	22
3.2.1. <i>Aletler ve Cihazlar</i>	22
3.2.2. <i>Kimyasal Maddeler</i>	23
3.2.3. <i>Çözeltiler</i>	25
3.3. YÖNTEM	26
3.3.1. <i>Genomik DNA İzolasyonu Protokolü</i>	26

3.3.2.	<i>DNA'nın Kalitatif Tayini</i>	27
3.4.	POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİĞİ.....	27
3.5.	RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP).....	28
3.6.	ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ.....	28
3.7.	<i>CLU</i> GEN POLİMORFİZMİN ANALİZİ	29
4.	BULGULAR.....	33
4.1.	DEMOGRAFİK VE KLİNİK BULGULAR.....	33
4.2.	GENOTİPLEME SONUÇLARI.....	34
4.3.	<i>CLU</i> GEN POLİMORFİZMİNDE UYGULANAN (PZR) ANALİZİ	36
4.4.	<i>CLU</i> GEN POLİMORFİZMİNDE UYGULANAN (RFLP) ANALİZİ	37
4.5.	İSTATİSTİKSEL BULGULAR	37
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	39
6.	KAYNAKÇA.....	46
7.	ÖZGEÇMİŞ	59

ÇİZELGELER TABLOSU

Tablo 2. 1. PEX Tanı Kriterleri (Naumann ve ark.'ları, 1998).....	7
Tablo 2. 2. CLU izole edildiği dokular ve kullanılan diğer isimler (Rosenberg ve ark.'ları, 1995, Tunçdemir M., 2006).	9
Tablo 3. 1. Aletler ve Cihazlar Çizelgesi.....	22
Tablo 3. 2. Kimyasal Maddeler Çizelgesi.....	23
Tablo 3. 3. <i>CLU</i> geninin polimorfizminin analizinde kullanılan primerler.....	29
Tablo 3. 4. <i>CLU</i> geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı	31
Tablo 3. 5. <i>CLU</i> geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programı.....	31
Tablo 3. 6. <i>CLU</i> geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan RFLP karışımı	32
Tablo 4. 1. Çalışmaya dahil edilen PEX hastaları ve kontrol grubundaki bireylerin istatistiksel bulgular	33
Tablo 4. 2. PEX hasta ve kontrol grubunun <i>CLU</i> geni genotip ve allel dağılımı.....	35

ŞEKİLLER TABLOSU

Şekil 2. 1. 8.kromozomda <i>CLU</i> geninin bulunduğu lokus (Anonim, 2016).....	11
Şekil 2. 2. <i>CLU</i> 'nun isoform yapıları (Rauhala ve ark.'ları, 2010).....	12
Şekil 2. 3. s <i>CLU</i> proteininin oluşumu (Lakins ve ark.'ları, 1998,Shannan ve ark.'ları, 2006).....	13
Şekil 2. 4. s <i>CLU</i> Protein Yapısı (Jones ve ark.'ları, 2002).....	15
Şekil 3. 1. <i>CLU</i> genine ait baz dizisi (National Center for Biotechnology Information (NCBI)).....	30
Şekil 4. 1. Hasta ve kontrol grubu cinsiyet dağılımı.....	34
Şekil 4. 2. <i>CLU</i> geni rs11136000 poliformizminin hasta ve kontrollerdeki genotip dağılımı	35
Şekil 4. 3. <i>CLU</i> geni rs11136000 poliformizminin hasta ve kontrollerde allel dağılımı	36
Şekil 4. 4. <i>CLU</i> geninin rs11136000 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü (Marker:pUC19).....	36
Şekil 4. 5. <i>CLU</i> geninin rs11136000 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR ürünlerinin XapI enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin %3'lük nüsvli agaroz jeldeki görüntüsü.....	37

SİMGELER-KISALTMALAR

AH	: Alzheimer Hastalığı
ApoJ	: Apolipoprotein J
Bç	: Baz Çifti
BOS	: Beyin-Omurilik Sıvısı
C	: Sitozin
⁰ C	: Santigrad Derece
CLU	: Clusterin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilendiamintetra Asetik Asit
ER	: Endoplazmik Retikulum
EtBr	: Etidyum Bromür
Gr	: Gram
HCl	: Hidroklorik Asit
HSP90	: Isı Şok Proteini
IR	: İyonize Radyasyon
Kb	: Kilobaz
Kda	: Kilodalton
MgCl ₂	: Magnezyum Klorür
ml	: Mililitre
M	: Molar
mRNA	: Mesajcı RNA

μ l	: Mikrolitre
N	: Birey Sayısı
NaOH	: Sodyum Hidroksi
Nclu	: Nüklear Clusterin
NLS	: Nüklear Lokalizasyon Sinyali
P	: İstatistiksel Anlamlılık Değeri
PAAG	: Primer Acık Açılı Glokom
PEM	: Psödoeksfoliasyon Materyali
PEX	: Psödoeksfoliasyon
PEXG	: Psödoeksfoliasyon Glokomu
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
Sclu	: Salgı Clusterin
SNP	: Tek Nükleotid Polimorfizmi
TBE	: Tris Borat Edta
T	: Timin
TGF β 1	: Tümör Growft Faktör Beta 1
UV	: Ultra Viole Işıık

1. GİRİŞ

Psödoeksfoliasyon sendromu (PEX), lens ön kapsülü ve/veya pupil kenarında gri beyaz fibrogranüler psödoeksfoliasyon materyalinin ön segment muayenesinde gözlenmesi ile tanımlanan bir hastalıktır. Glokom, genellikle göz içi basıncının artışı ile meydana gelen, optik sinir başında çanaklaşma; retina ganglion hücre bozulması ve görme kaybı oluşturan, kronik optik nöropatik bir hastalıktır. Glokom, dünya genelinde geriye dönüşsüz ve önlenebilir körlüğün en önde gelen nedenidir. Glokomun görülme sıklığı çeşitli kaynaklara göre % 0.47 ile % 8 arasında değişmektedir. Glokom sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Eksfoliasyon materyalinin gözde birikim gösterdiği olgular PEX, bu birikimin göz içi basıncını artırdığı olgular ise Psödoeksfoliasyon glokomu (PEXG) olarak tanımlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı PEX hastalarında, hastalıkla ilişkisi olduğu düşünülen Clusterin (*CLU*) geni polimorfizmini incelemektir. *CLU* geni, multifonksiyonel özellikte bir protein kodlar. Bu protein lipidlere, komplement faktörlere, membrana ve extrasellüler matriks proteinlerine bağlanabilmektedir. Yapılan araştırmalarda *CLU* mRNA'sı PEXG hastalarında gözün anterior bölümünde artmış olarak bulunmuştur. İmmunohistokimyasal çalışmalarda da PEX materyal içerisinde de mRNA varlığı gösterilmiştir. *CLU* geni ile PEXG hastalığı ile ilişkisi olabilecek aday bir gen olarak düşünülmektedir.

Biz de bu çalışmamızda, *CLU* genindeki (SNP) rs11136000, bölgesindeki tek nükleotid polimorfizmi ile PEX/PEXG hastalığı arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. GLOKOM TANIMI

Glokom genellikle göz içi basıncının artışı ile meydana gelen, optik sinir başında çanaklaşma; retina ganglion hücre yozlaşmasıyla ve görmede gerçekleşen kayıpla karakterize, kronik optik nöropatik bir hastalıktır (Donald ve ark.'ları, 1998). Dünya çapında geriye dönüşü olmayan ve önlenebilir körlüğün en önde gelen nedeni glokom hastalığıdır (Quigley H., 1996). Yaklaşık 70 milyon insanı etkilediği düşünülmektedir. Etkilediği insanların % 10' unda körlüğe yol açmasıyla tedavisi edilemeyen körlük nedenleri arasında ilk sırayı almaktadır (Quigley H., 1996).

Glokomun herhangi bir belirti vermeden, yavaş bir seyirle görme kaybına neden olması hastalığın erken tanı ve takibinin önemini göstermektedir. Glokomun sıklığı %_0.4 ile %_8 arasında değişmektedir ve görülme sıklığı yaşla birlikte artmaktadır (Bengtsson B., 1989). Eksfoliasyon materyalinin gözde yığılma gösterdiği olgular psödoeksfoliasyon sendromu (PEX), bu birikimin göz içi basıncını arttırdığı olgular ise psödoeksfoliasyon glokomu (PEXG) olarak tanımlanmaktadır (Ritch ve ark.'ları, 2001).

Genel olarak, glokom tedavisinin amacı hastanın yaşam süresi boyunca, günlük faaliyetlerini etkilemeden, çok az yan etkiyle ya da zararsız olarak bireyin ihtiyaçlarını karşılayacak düzeyde görme işlevinin korunmasıdır (Grehn ve ark.'ları, 2002). Göz içi basıncının düşürülmesi, günümüzde halen görme fonksiyonunu koruma konusunda etkisi kanıtlanmış tek yaklaşımdır (Grehn ve ark.'ları, 2002). Göz içi basıncını düşürmek için **tıbbi tedavi**, **lazer tedavisi** veya gerekli görüldüğü durumlarda **cerrahi tedavi** uygulandığı çalışmalarda görülmektedir. Lazer tedavisi veya cerrahi tedavi

yaygın olarak tıbbi tedaviye çözüm bulunamadığı durumlarda tercih edilmiş olsa da hastanın durumuna göre ilk tedavi seçeneği olarak da tercih edilebilir.

2.2. PEX

2.2.1. Tanım

PEX, ileri yaşlarda görülen gözün lens ön kapsülü ve/veya pupil kenarında gri beyaz fibrogranüler psödoeksfoliasyon bir maddenin oluşumu ve birikimiyle karakterize yaygın ekstrasellüler matriks bozukluğu olarak tanımlanır (Naumann ve ark.'ları, 1998, Schlotzer ve ark.'ları, 2006).

Mikroskopik incelemeler sonucunda, lens ön kapsülü ve iris dışında trabeküler yapı, zonüler bölge, siliyer cisim proses'leri, vitreus ön yüzeyi, konjonktiva, kornea, humör aköz, arka siliyer arter, vorteks venleri, santral retinal arter, optik sinir kılıfları, orbita bağ doku septaları ve kapak derisinde ayrıca immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemler ile psödoeksfoliatif materyal varlığını deri, ekstraoküler kaslar, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek ve meninkslerde de saptamıştır (Morrison ve ark.'ları, 1988, Streeten ve ark.'ları, 1990, Schlotzer ve ark.'ları,1992, Streeten ve ark.'ları, 1992, Schlotzer ve ark.'ları, 1997).

2.2.2. PEX Tarihçesi – Terminolojisi

PEX, Lindberg tarafından 1917'de ilk olarak ifade edilip, tanımlanmıştır (Lindberg Jg., 1989). 1923 yılında Vogt bu materyalin lens kapsülündeki dejeneratif değişiklikler ve sonrasında soyulma sonucu oluştuğunu öne sürerek glokomla ilişkili olduğundan 'kapsüler glokom' terimini önermiştir (Ritch ve ark.'ları, 2001). 1953'te

Dvorak-Theobald, bu sendromu cam üfleyicilerinin kızıl ötesi ışın maruziyetine ikinci gelişen gerçek lens eksfoliasyonundan ayırmak için 'lens kapsülünün psödoeksfoliasyonu' terimini kullanmıştır (Dvorak G., 1954). Daha sonra Ashton ve Bertelsen tarafından yapılan elektron mikroskopik çalışmalarda ön kapsülün doğrudan maruz kaldığı gösterilmiştir. Bertelsen ve arkadaşları bu fibriller maddenin preekvatoryal lens epitel hücrelerince meydana getirildiğini öne sürerek 'fibrillopathia epitheliocapillaris' terimini önermiştir (Bertelsen ve ark.'ları, 1964, Ashton ve ark.'ları, 1965). Eagle ve arkadaşları bu materyalin anormal bazal membran sekresyonu olduğunu öne sürerek 'bazal membran eksfoliasyonu sendromu' olarak adlandırmışlardır (Eagle ve ark.'ları, 1979). Layden ise gerçek lens eksfoliasyon hastalığının az görülmesi nedeniyle en basit ve uygun adın 'eksfoliasyon sendromu' olacağını belirtmiştir (Layden ve ark.'ları, 1974). Daha sonraları Dark, daha fazla yanlış anlaşılmasına yol açmamak için 'psödoeksfoliasyon' teriminin kullanılmasının uygun olacağını belirtmiştir (Eagle ve ark.'ları, 1979, Skuta Gl., 1985, Ricth ve ark.'ları, 2001).

2.2.3. Epidemiyoloji

Yapılan çalışmalar PEX'in tüm dünyada yaygın olduğunu ancak görülme sıklığının değişik popülasyonlarda ve farklı ırklarda değişiklik gösterdiğini ortaya koymuştur. Hem PEX hem de kapsüler glokomun sıklığı ve prevalans; çalışmaları çok değişik rakamlar ile ifade edilmiştir. Coğrafik özellikler göz önüne alınmaksızın dünyada 60 yaş üstü genel popülasyonda PEX yaygınlığının %10 - %20 civarında olduğu düşünülmektedir (Doğan ve ark.'ları, 1998).

2.2.4. PEM Yapısı

Psödoeksfoliyasyon materyali (PEM)'in mekanizması üzerinde durulan ana düşünce, ekstrasellüler matriks materyalinin fazla üretimi ve yıkılmasındaki azlık olduğu yönündedir. Yapılan çalışmalar, psödoeksfoliyasyon fibrillerinin, iris pigment epitel hücreleri, siliyer cisim nonpigmente epitel hücreleri, preekvatoryal lens epitel hücreleri, endotel ve trabeküler ağ hücrelerinde meydana gelmiş olduğunu desteklemektedir (Schlotzer ve ark.'ları, 1994, Schlotzer ve ark.'ları, 1997, Ritch ve ark.'ları, 2001).

Bu çalışmaların birkaçında PEM'in bazal membrana benzerliğine dikkat çekilmiştir (Bergmanson ve ark.'ları, 1984, Ulusitalo ve ark.'ları, 1993). Bazal membran, endotel ve epitel hücreleri tarafından sentezlenir ve gözün tüm dokularında mevcuttur (Bergmanson ve ark.'ları, 1984, Johnson D., 2000). Bazal membran yapısında glikoprotein ve proteoglikanlar yer almaktadır. Yanlış görünümlü bazal membran üzerinde ve içinde PEM'in gösterilmesiyle bazı araştırmacılar bu tabloya "bazal membran ekfoliyasyon sendromu" adını vermişlerdir. Bazı çalışmalarda ise PEM'in tıpkı amiloid gibi Kongo kırmızısı ve Rutenyum boyası ile boyanabildiği ifade edilmiştir (Ringvold ve ark.'ları, 1973). Ayrıca bazı histokimyasal çalışmalar PEM'in amiloid gibi tirozin ve triptofan ile pozitif reaksiyon verdiğini göstermiştir (Ringvold ve ark.'ları, 1973, Dark ve ark.'ları, 1977). Bazı araştırmacılar da PEM ile lens zonülleri arasındaki benzerlikten yola çıkarak, elastin teorisi üzerinde durmuşlardır. Zonüller, bir çeşit elastin filaman olarak bilinen oksitolondan oluşur (Garner ve ark.'ları, 1984).

2.2.5. PEX Tanısı

Biyomikroskopik muayenede, ön segment yapılarında PEM'nin görülmesi ile PEX tanısı konmaktadır. Biyomikroskopik muayenede, lens ön kapsülünün santral bölgesinde veya periferinde bant şeklinde PEM gözlenmektedir. Ayrıca pupilla kenarında “güve yeniği” tarzında defektler, kornea endotelinde, zonüler lifler ve siliyer prosesler üzerinde psödoeksfolyatif materyal olduğu gözlenmiştir (Schlotzer ve ark.'ları, 2003).

Biyomikroskopik muayenede pupilla kenarında iris pigment epitelindeki melaninin yok olması sonucu oluşan transiluminasyon defektleri, pupil dilatasyonu sonrası ön kamaraya aşırı melanin birikimi, ön segment yapılarında melanin depozisyonu, yetersiz midriyazis, başka bir neden olmadan segmenter veya sirküler posterior sineşi varlığı, zonül zafiyeti bulguları (iridofakodonezis ve lens-iris diyaframının öne gelmesi ve ön kamaranın sığlaşması, posterior veya anterior lens luksasyonu), bu bulguları açıklayacak başka nedenler yoksa PEX açısından uyarıcı olmalıdır (Kanski J.,1994, Hammer ve ark.'ları, 2001, Mardin ve ark.'ları, 2001). PEX tanı kriterleri Tablo 2.1. de gösterilmektedir.

Tablo 2. 1. PEX Tanı Kriterleri (Naumann ve ark.'ları, 1998)

PEX Tanı Kriterler
1. Ön kamara yüzeyinde depozitler
2. Midriyazis ile melanin dispersiyonu
3. İriste transillüminasyon defektleri, stromal atrofi ve zayıf midriyazis
4. Kan-aköz bariyer defekti (psödoüveit)
5. Zonüler instabilite: <ul style="list-style-type: none"> a. Fakodonezis b. Anterior lens subluksasyonu c. Posterior luksasyon d. İris-lens planının öne gelmesi ve ön kamaranın sığlaşması
6. Göz içi basınç artışı/ glokom
7. Korneal endotelyal dekompanzasyon
8. Nükleer katarakt

2.2.6. PEX ve Glokom

1923 yılında Voght, kapsül kaynaklı glokomu “glokoma capsulare” olarak isimlendirildi. Bugünlerde “eksfoliatif glokom” veya “psödoeksfoliatif glokom” ifadeleri literatürde sık olarak telafuz edilmektedir (Naumann ve ark.'ları, 1998). Yalaz ve arkadaşlarının 1992 yılında yaptıkları çalışmada PEX olan hastalarda glokom sıklığı

%34.3, glokom hastalarında PEX sıklığı ise %46.9 saptanmıştır (Yalaz ve ark.'ları, 1992).

PEX; şu an için açık açılı glokomun en önemli ve tek saptanabilir sebebidir. Mitchell ve arkadaşlarının çalışmalarında bazı kişilerde eksfoliatif materyalin niteliği ile onun glokoma neden olma etkisi arasında olası ilişkiyi saptamışlar ve PEX'li gözlerde ise 5 kat artmış glokom riski olduğunu göstermişler (Mithell ve ark.'ları, 1999). Glokom, genellikle açık açılı tipinde görülür ancak kapanabilir açılı sıklığı normal popülasyona göre fazla olduğu söylenmiştir. Ayrıca normal nüfusa göre PEX'li gözlerde oküler hipertansiyon, açık ve dar açılı glokom ile akut açılı kapanması glokomu da daha sık görülür.

2.3. CLUSTERİN (CLU) GEN POLİMORFİZMİ

CLU, beyin, böbrek, pankreas, karaciğer, mide ve testis gibi farklı dokularda belli aralıklarla üretilen, plazma, semen ve serebrospinal sıvıda bulunan bir glikoproteindir (Hidaka ve ark.'ları, 2002). İlk olarak 1983 yılında Blaschuk ve ark. tarafından koç rete testis sıvısından elde edilmiştir. CLU proteini veya mRNA' sını laboratuvarında farklı kişiler aracılığıyla bağımsız olarak farklı isimler altında çalışılmıştır (Redondo ve ark.'ları, 2000, Wilson ve ark.'ları, 2000). Örneğin; Sülfatlanmış glikoprotein-2 (Griswold ve ark.'ları, 1986), Testosteron ile baskılanan prostat mesajı-2 (TRPM-2) (Leger ve ark.'ları, 1987), SP-40/40 (Murphy ve ark.'ları, 1988), Kompleman sitoliz inhibitör (Jenne and Tschopp, 1989), pADHC-9 (Mayetal.,1989), Apolipoprotein-J (Silva ve ark.'ları ,1990), Glikoprotein 80 (Gp 80) (Hartmannetal., 1991). CLU'in izole edildiği dokular ve kullanılan diğer isimler Tablo 2.2.de verilmiştir. 1992 yılında, İngiltere-Cambridge'de düzenlenen Uluslararası Clusterin

seminerinde tüm bilimsel çalışmalarda“clusterin” teriminin literatürde kullanılması önerilmiştir (Redondo ve ark.’ları, 2000, Wilson ve ark.’ları, 2000).

Tablo 2. 2. CLU izole edildiği dokular ve kullanılan diğer isimler (Rosenberg ve ark.’ları, 1995, Tunçdemir M., 2006).

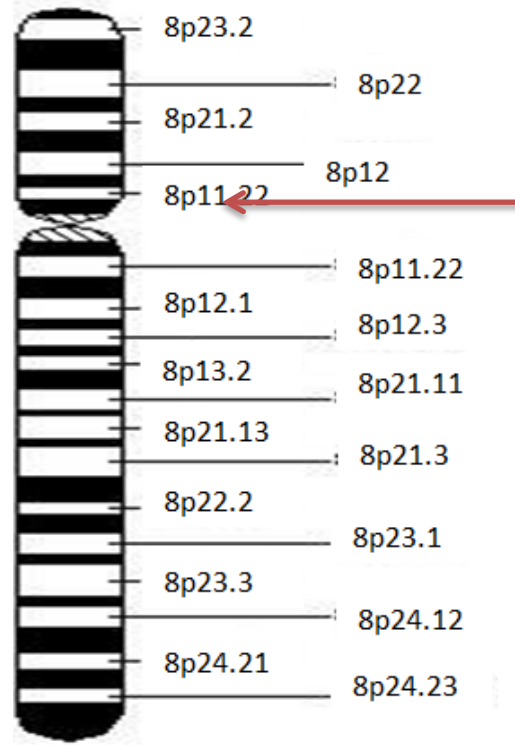
Doku	Tür	İsim
Rete Testis Sıvısı	Koç	CLU
Adrenal Medulla	Sığır	GPIII
Sertoli Hücreleri	Sıçan	SGP-2
Prostat	Sıçan	TRPM-2
Testis	Sıçan	CLU
Nöroretinal Hücreler	Bıldırcın	T64
Serum (Karaciğer)	İnsan	SP-40,40
Serum (Karaciğer)	İnsan	CLI
Beyin	Hamster	SGP-2
Adrenal Medulla	Sığır	Glikoprotein III
Kan	İnsan	Apoj
Beyin	İnsan	pADHC-9
Renal hücreler	Köpek	gp 80
Kan	İnsan	NA1/NA2
Beyin	İnsan	pTB16
Retina	İnsan	K611
Vasküler düz kas	Domuz	pc38K

PEX’li gözlerde, tüm ön segment dokularında glokom oluşması normal gözlere ve primer açık acılı glokomlu (PAAG) gözlere göre clusterin mRNA düzeyinde downregülasyon görülmektedir. İn-vitro analizlerde, Tümör growth faktör beta 1(TGF- β 1) ilavesi sonrası pigmente bulunmayan silier epitelyum hücresinde, *CLU*

mRNA'sında ve protein ekspresyonunda belirgin downregülasyon meydana çıkmıştır (Zenkel ve ark.'ları, 2006, Alaylıoğlu M., 2014). PEX depozitlerinde CLU varlığı ve PEX'li gözlerde aköz humörde azalmış CLU miktarı ,CLU geninin varyantlarının PEX ile ilişkisinin araştırılmasını gündeme getirmiştir (Yaylacıoğlu T., 2013, Alaylıoğlu M., 2014).

2.3.1. CLU Gen Polimorfizmi Yapısı

İnsan CLU geni kromozom 8p12-p21 üzerinde yerleşik, toplam 9 eksonlu tek kopyalı bir gendir ve yaklaşık olarak 17 kb uzunluğundadır. CLU geni, 449 amino asid (aa)'li bir polipeptid için ilk 21 amino asit'de bulunan hidrofobik sinyal dizisinden tanınarak kodlanır (Leskov ve ark.'ları, 2003, Alaylıoğlu M., 2014). CLU geninin kromozom üzerindeki bölgesi Şekil 2.1.de gösterilmektedir.



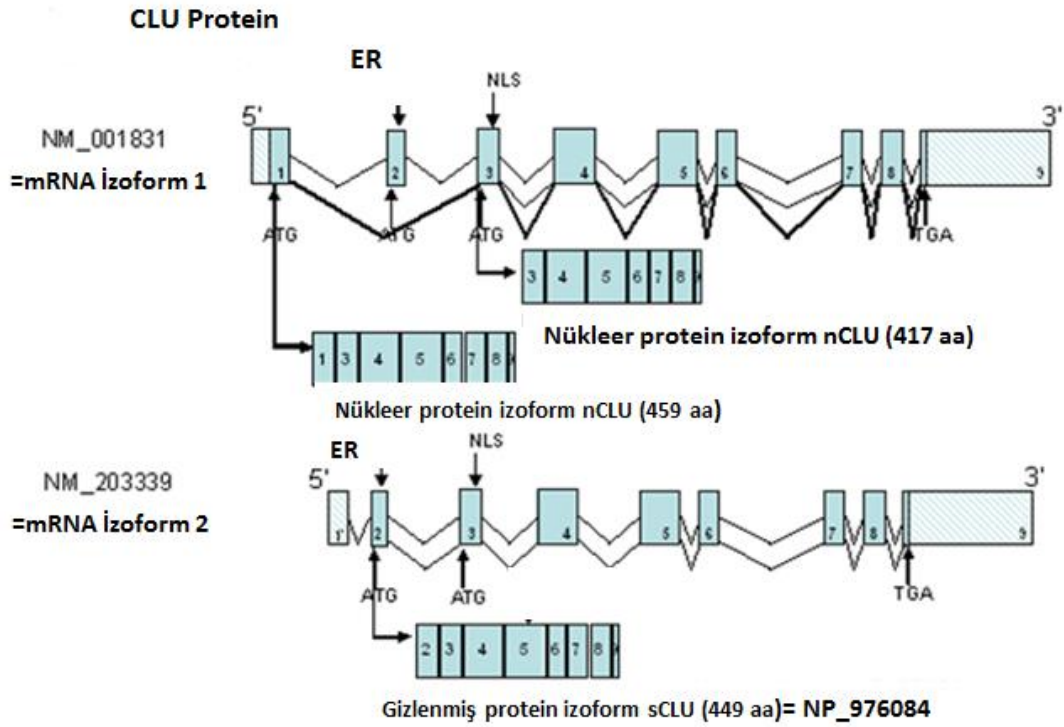
Şekil 2. 1. 8.kromozomda *CLU* geninin bulunduğu lokus (Anonim, 2016)

CLU proteinin yapısında 22 ve 227. aa dizi arasında α katlanması ve 228-449. aa. dizi arasında da β katlanması görülür. Proteinin; α alt ünitesi 205 aa. dizisinden oluşurken, β alt ünitesi 221 aa dizisinden oluşur.

CLU proteini, glikozile olmuş bir başlangıç öncül peptid ve 40 kDa'luk α ve β zincirleri şeklinde kırpılır. Hücre dışına salgılanan olgun formunda beş sülfid birbirine bağlı motif bulunur (Leskov ve ark.'ları, 2003, Alaylıoğlu M., 2014).

CLU'lerin üç izoformu vardır. Bu formlar pro ve antiapoptotik yollarda etkilidir. *CLU* proteini pek çok hastalıkla ilişkilidir. *CLU*; oksidatif stres, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, yaşlanma, iltihaplı hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Protein izoformlarının hepsi farklı subselüler kompartmanlara yerleşmiştir. Birinci izoform nükleusa lokalize olmuştur. Diğerleri ise sitoplazma ve salgıda bulunur.

CLU'nun en sık görülen formu olan sCLU; tüm sCLU mRNA'sının kodlanması sonucu meydana gelir, nCLU; CLU pre mRNA'sından 2. ekzonun kırılması sonucu meydana gelir. (Nuutinen ve ark.'ları, 2009, Koltai T., 2014, Lin ve ark.'ları, 2014, Sansanwal ve ark.'ları, 2015). CLU isoformları Şekil 2.2.de gösterilmektedir.



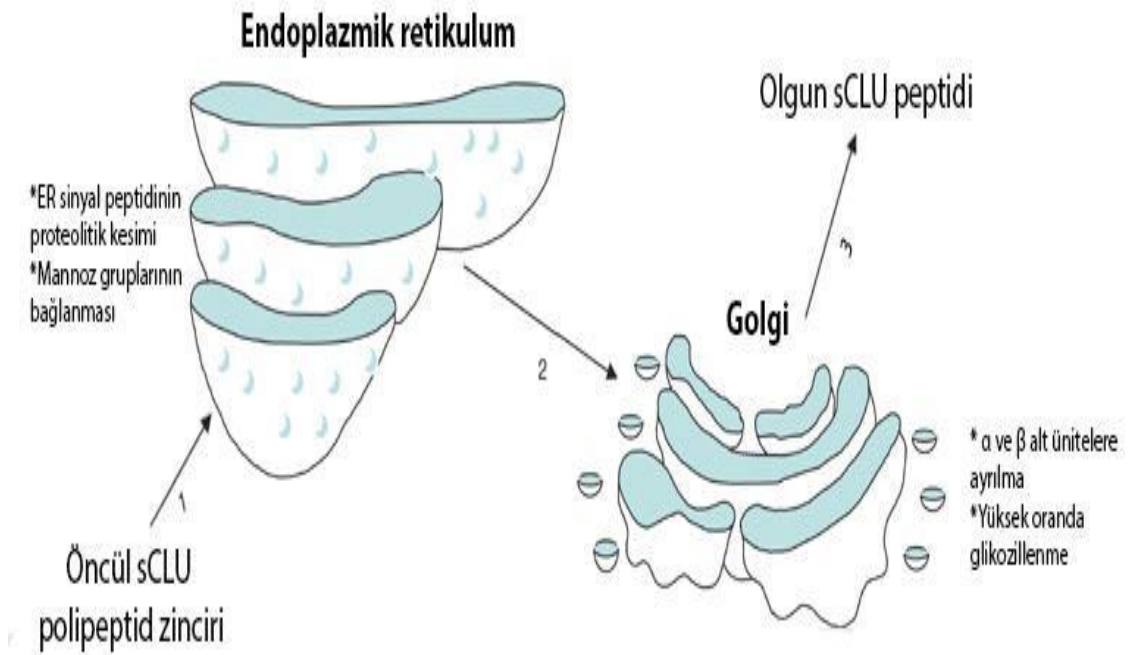
Şekil 2. 2. CLU'nun isoform yapıları (Rauhala ve ark.'ları, 2010)

Doku ve türlere bağlı olarak olgun glikozile olmuş sCLU proteinin büyüklüğü 75-80 kDa'dur. Kırpılmış sCLU'nin büyüklüğü; α zincirde 32-35 kDa ve β zincirde 45-48 kDa olarak gösterilmiştir (Alaylıoğlu M., 2014).

2.3.1.1. s-CLU Tipi

CLU mRNA'sı Endoplazmik retikulum(ER) membranına bağlı ribozomlarda sentezlenir ve öncül peptid ile ER'ye iletir. 21 amino asit hidrofobik sinyal dizisi kesilip

atılır ve 50 kDa holoprotein ER lümeni içine geçer, katlanmalar ve disülfid bağları oluşur, ER'de karbohidrat zincirleri eklenerek CLU'nun 64 kDa'luk yüksek mannoz bağlı tipi oluşturulur. Mannozidaz ve glikozidaz ile karbohidrat zincirleri kısmi olarak modifiye edilerek golgiye aktarılır. Golgi kompleksinde 56 kDa'luk CLU polipeptidinde iç mannoz şekerler kırılır (salgılanma adımı için işleme), 76 kDa proproteinin oluşması için, düşük mannoz tipinde karbohidrat yan zincirleri enzimatik olarak eklenir ve salgılanma için son işlemler gerçekleşir. Şekil 2.3.de sCLU proteininin oluşumu gösterilmiştir.



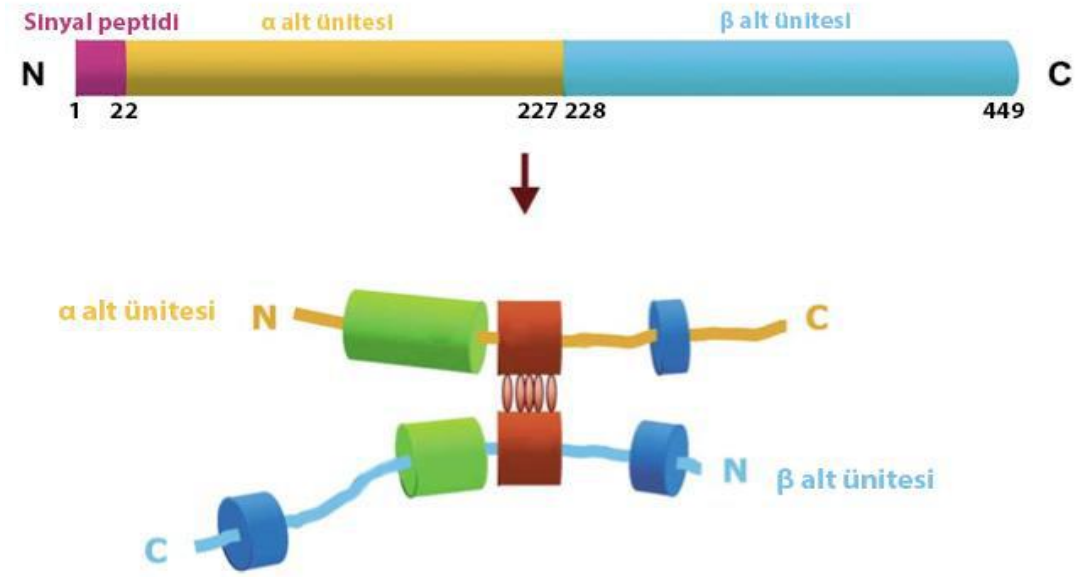
Şekil 2. 3. sCLU proteininin oluşumu (Lakins ve ark.'ları, 1998,Shannan ve ark.'ları, 2006)

Glikolizasyonu takiben, bütün CLU proteini disülfid bağlı α ve β zincirlerine bölünür. Tam uzunlukta ve bölünmüş ürünlerin her ikisinde esas kısım işlenerek golgi

aygıtında toplanır ve depolanır, salgı granüllerinde paketlenir, salgılanma sinyali alındığında ekzositoz ile salınır.

Golgide bulunan 76 kDa, 56 kDa ve 32-48 kDa'luk CLU izotipleri ihtiyaca göre paketlenmektedir, ancak bunlardan hangisinin veziküllerde tutulduğu, hangisinin salgılanma işlemine gittiği belirli değildir (Lakins ve ark.'ları, 1998). Kendi aralarında bir iş bölümü yoktur o anki gelen sinyale göre sentezlenir. sCLU'nin hücre koruyucu bir protein olduğu, nuklear clu'nin aşırı ekspresyonunun hücre yaşamını ve büyümesini engellediği, ölüm uyarıcı protein olarak hareket ettiği belirtilmektedir (Leskov ve ark.'ları, 2003). sCLU, 70-80 kDa heterodimerik bir glikoproteindir, 40 kDa'luk α ve β alt üniteler şeklinde bulunur ve Şekil 2.4.de gösterilmiştir. sCLU, çok fonksiyonel bir proteindir, hücre dışı artıkların temizlenmesi ve stress nedenli hasarı takiben moleküler şaperon faaliyeti, lipid metabolizması, kompleman düzenlenmesi, hücre farklılaşması, dokunun yeniden yapılanması/yenilenmesi, hücre adhezyonu, hücre ölümü, farklı patolojik ve fizyolojik durumlarda rolü olduğu bilinmektedir. sCLU yüksek ve düşük dozlardaki iyonize radyasyon(IR) cevap olarak üretilmektedir. sCLU oluşumu, IR uygulamasından 48 saat sonra başlamaktadır. İnsan MCF-7 meme kanser hücrelerine düşük dozda IR uygulaması sonucu yüksek sCLU protein düzeyleri tespit edilmiştir (Lakins ve ark.'ları, 1998,Leskov ve ark.'ları, 2003). sCLU protein yapısı şekil 2.4. de gösterilmiştir.

İnsan kanser hücrelerinde sCLU'nun aşırı ekspresyonunun ilaç direncine neden olduğu ve apoptozu teşvik eden sitotoksik ajanlara karşı koruyucu faaliyetleri olduğu belirtilmektedir (Leskov ve ark.'ları, 2003). sCLU'nin bir büyüme faktörü benzeri molekül olabileceği ileri sürülmüştür.



Şekil 2. 4. sCLU Protein Yapısı (Jones ve ark.'ları, 2002)

2.3.1.2. nCLU Tipi

Lakins ve ark.'ları 1998 yılında apoptoz ile ilişkili kısalmış CLU izoformu olduğunu tespit etmişler, ancak sentez mekanizmasını aydınlatamamışlardır (Lakins ve ark.'ları, 1998).

Leskov ve ark.'ları 2003 yılındaki araştırmaları ile nukleusa yerleşik kısa kesik formu olan nCLU'nin alternatif kırılma ürünü olduğunu tespit etmişler. Bu CLU tipinin; translasyon başlama yeri olarak ekson III de ikinci bir AUG kodon çerçevesinden sentez edildiğini göstermişlerdir. Kısa mRNA ürünleri 49 kDa öncül n-clu'dir. nCLU pre mRNA ~49 kDa öncül nCLU proteinden üretilir. nCLU, sinyal peptidi içermediği için ER'a hedeflenemez, dolayısıyla α ve β alt ünitelerine ayrılmaz ve glikozillenmez ER hedefleyici lider peptidi olmadığından ER lümenine giremez ve sCLU'daki gibi glikozillenmez (Leskov ve ark.'ları, 2003).

Sitoplazmada yerleşik olan öncül nCLU, hücre hasar meydana geldiğinde translasyon sonrası değişikliğe uğrayarak yaklaşık 55 kDa ağırlığındaki olgun nCLU molekülüne dönüşür ve içerdiği iki nükleer yerleşim sinyali sayesinde nükleusa geçer. Çift zincir DNA kırıklarının onarımı için önemli bir protein olan Ku70 proteinine bağlanarak DNA tamirinin gerçekleşmesini engeller ve apoptozu tetikler (Nuutinen ve ark.'ları, 2009).

TGF- β , IR uygulanması ve bazı sitotoksik olaylardan sonra öncül nCLU'nin sentezi artar ve sitoplazmadan nükleusa geçer. 49 kDa öncül nCLU iki fonksiyonel Nükleer Lokalizasyon Sinyali (NLS) içermektedir ve bu yolla nükleusa hedeflenir. Öncül nCLU proteini; normal koşullarda hücrelerde sentezlenir ve sitoplazmada depolanır. Depolanan protein IR sonrası henüz bilinmeyen posttranslasyonel modifikasyonlar ile aktifleşir ve 55kDa olgun nCLU oluşur (Leskov ve ark.'ları, 2003).

49 kDa öncül nCLU'nun, aşırı ekspresyonu ölüm sinyali gibi etki yapar, hücre büyümesini engeller. Apoptotik hücre ölümü esnasında nCLU sentezi artmakta ve yeni sentezlenen protein apoptotik hücrelerde lokalize olmaktadır [48]. Deneysel hücre ölüm modellerinde, hasarlanmış dokunun çevresindeki hücre dışı birikimlerde, ölü hücrelerde, canlı hücrelerde, fagositik hücrelerde öncül nCLU proteini tanımlanmıştır (Lakins ve ark.'ları, 1998).

İn vivo ve in vitro araştırmalarda kalp, beyin, karaciğer, böbrek, meme ve retina gibi birçok organda stres altında artmış *CLU* mRNA ve protein seviyeleri saptanmıştır. Güncel çalışmalar *CLU* geni ekspresyonunun apoptotik hücre kaybı için bir belirteç olabileceğini göstermektedir (Lakins ve ark.'ları, 1998). *CLU* up-regülasyonu, mesane (Wei ark.'ları, 2009), prostat (Saverio ve ark.'ları, 2000), kolon (Pucci ve ark.'ları,

2004), meme (Leskov ve ark.'ları, 2003) ve akciğer (July ve ark.'ları, 2002) gibi çeşitli kanserlerde rapor edilmiştir.

2.3.2. CLU Gen Polimorfizmi ve PEX Hastalığı Arasındaki İlişki

CLU, küçük ısı-şok proteinlerine benzer bir yapıya sahip olan bir moleküler şaperondur. Yanlış katlanmış proteinleri ATP'den bağımsız bir şekilde bağlayarak HSP90 gibi ısı-şok proteinleri tarafından tekrar katlanmalarına aracılık eder. Isı-şok proteinlerinin bulunmadığı ekstrasellüler alanda ise megalin reseptörüyle etkileşerek yanlış katlanmış proteinlerin endositoz yoluyla temizlenmesine yardımcı olur (Nuutinen ve ark.'ları, 2009).

Tüm memeli dokularında mevcut olan CLU'nin birçok fizyolojik süreçte yer aldığı ileri sürülmüştür. CLU'nin işlevleri arasında ilk akla gelenler lipid transportu, sperm olgunlaşması (Hermo ve ark.'ları, 1994) ve kompleman inhibisyonudur (Trogakos ve ark.'ları, 2002).

Beyin-omurilik sıvısında (BOS) CLU'nun çözünür Amiloid Beta (A β) peptidlerine bağlanabildiği ve A β çözünürlüğünü arttırarak birikimini engellediği gösterilmiştir. Ayrıca CLU'nin PEXG da görülen oksidatif stresin neden olduğu nörotoksik etkiyi azalttığı gösterilmiştir (Nuutinen ve ark.'ları, 2009).

Apolipoprotein J (ApoJ) olarak da bilinen CLU, kolesterol ve fosfolipidler gibi lipidlerin transportunu sağlayan lipoprotein partiküllerinin yapısında yer almaktadır. Plazmada CLU'nun, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) partiküllerinin yapısında bulunduğu gösterilmiştir.

Anti-apoptotik bir protein olarak da bilinen sCLU, apoptozda önemli rol oynayan Bax proteinine bağlanarak oligomerizasyonunu engeller ve böylece mitokondriden sitokrom c salınımına engel olarak apoptozu önler.

Pro-apoptotik bir protein olarak bilinen nCLU da DNA kırıklarının tamirinde önemli bir role sahip Ku70/Ku80 kompleksinde yer alan Ku70 proteinine bağlanarak DNA tamirine engel olur ve böylece apoptozu tetikler (Nuutinen ve ark.'ları, 2009).

Araştırmalar CLU ekspresyonunun, hücrenin hayatta kalımı, tümör progresyonu, in vivo tedaviye direnç gelişmesi ve apoptozis gibi birbiriyle çelişkili olaylarda etkili olduğunu ortaya koymuştur (Trougakos ve ark.'ları, 2002, Gleave ve ark.'ları, 2005).

Güncel veriler bu farklı fonksiyonların birbirinden farklı ama birbiriyle bağlantılı iki CLU protein izoformuna bağlı olduğunu göstermiştir. Bunlar hücre içinde alternatif bağlanma yoluyla meydana gelerek glikozile olan (sCLU) ve non-glikozile nükleer (nCLU) formlardır. Bu iki CLU formu immunolojik yöntemlerle birbirinden ayırt edilebilir (Leskov ve ark.'ları, 2003).

2.3.3. CLU Gen Polimorfizmi ve Apoptozis

CLU upregülasyonunun apoptotik bir cevaba yol açtığı belirtilmişse de programlanmış hücre ölümüyle CLU gen ekspresyonu arasındaki ilişki kesin olarak aydınlanmamıştır. CLU'nun hücrelerde stres sonrası fonksiyonlarının aydınlatılması, iki farklı protein formunun tanımlanmasından sonra oldukça karışık bir hal almıştır. Yapılan bir grup çalışmada, tam uzunluktaki CLU mRNA'nın overekspresyonu ile meydana gelen nCLU'nun, ölüm öncesi sinyali gibi davranmakta olduğu, hücre büyümesi ve hayatta kalımını inhibe ettiği gösterilmiştir (Lakins ve ark.'ları, 1998, Trougakos ve ark.'ları, 2002, Leskov ve ark.'ları, 2003). Ancak başka çalışmalarda

CLU ekspresyonunun sitoprotektif olduğu iddia edilmiştir (Lakins ve ark.'ları, 1998, Trougakos ve ark.'ları, 2002). Sonuç olarak, tümör hücresinin hayatta kalımının sCLU overekspresyonu ve nCLU kaybı ile bağlantılı olduğu söylenebilir (Pucci ve ark.'ları, 2004). Hücrelerin hücre ölümünü stimüle etmeleri için sCLU'yu suprese etmeleri gerektiğini belirten veriler bu düşünceyi desteklemektedir. Hücre ölümündeki önemli mekanizmalardan biri de p53 tümör süpressör geninin aktivasyonudur (Jin ve ark.'ları, 1999). Bu durum yüksek dereceli ve metastatik karsinomlardaki nCLU'dan sCLU ekspresyonuna geçişi açıklamaktadır ve belki de tümör büyümesindeki *CLU*'nun rolü bu izoform yapıları arasındaki değişme ile ilgilidir.

2.3.4. CLU Gen Polimorfizmi'in İlişkili Olduğu Hastalıklar

2.3.4.1. Prostat Kanseri

Birkaç çalışma, prostat kanserinde *CLU* seviyesinin azaldığını gösterir (Saverio ve ark.'ları, 2000, Rauhala ve ark.'ları, 2008). Bunun yanı sıra, özellikle erkeklik hormonu ameliyat tedavisinden sonra, aynı zamanda prostat kanserinde de *CLU*'nin ifadesinin artması üzerine raporlar görülmektedir (July ve ark.'ları, 2002). Bu karşılıklı sonuçlar clusterinin farklı izoformların açıklanmış olduğu durumlardır. Antistreptolizin O (ASO) tedavisine karşı *CLU* proteini günümüzde androjen azalması tedavisinin gelişmesinde onun etkisini değerlendirmek için kliniksel denemelerde ve de kemoterapiyi engellemek için test edildi (Rauhala ve ark.'ları, 2002, Gleave ve ark.'ları, 2005, Sowery ve ark.'ları, 2008). *CLU* için gizli tümör rolleri destekleyen veriler, prostat kanser hücre hatlarında da *CLU* ifadesinin epigenetiğin düzenlenmesinde rol aldığını içeren raporlar vardır (Saverio ve ark.'ları, 2000).

2.3.4.2. Meme Kanseri

CLU geni etkisi üzerine göğüs kanseri üzerine yapılan çalışmalarda artış göstermektedir (Redondo ve ark.'ları, 2000, Krüger ve ark.'ları, 2006). Benzer şekilde prostat kanserinde de, *CLU* ASO tedavisi aynı zamanda göğüs kanseri için test edilmeye başlandı. Denemenin II aşamasındaki sonuçlara göre dozetaksel anti *CLU* tedavisi ile birlikte uygulandığı zaman tedaviye cevap verilmesinde anlamlı sonuçlar elde edilememiştir (Chia ve ark.'ları, 2009).

2.3.4.3. Yumurtalık Kanseri

Sitoplazmik *CLU* ifadesi bir hücrenin hayatta kalmasını destekleyici olarak kemoterapiye etkisi ve tedaviye cevap vermesinde yumurtalık kanserinde artış olduğunu göstermektedir (Wei ve ark.'ları, 2009).

2.3.4.4. Pankreas Kanseri

CLU ifadesinin, pankreas kanserindeki seviyesi kanserler için raporlarda yüksek ve düşük ifadeler olarak tartışılmaktadır (Jhala ve ark.'ları, 2006, Xie ve ark.'ları, 2002). *CLU* ifadesinin eksikliği aynı zamanda ince iğne aspiratlarından pankreas kanserlerinde, pankreas beze uruyla ayırt etmek için potansiyel bir ayırım faktörü olarak gösterilmektedir (Xie ve ark.'ları, 2002). Pankreas kanserinde, *CLU* ifadesi tümör sürecinde clusterin downregulationu fikrini desteklemekte ve daha uzun hayatta kalma ile ilişkilendirilmektedir (Jhala ve ark.'ları, 2006).

2.3.4.5. Alzheimer Hastalığı

CLU ile AH arasındaki ilişki ilk kez Alzheimer hastalarının hipokampus doku örneklerinde kontrol gruplarına kıyasla artmış CLU ifadesinin gösterilmesiyle kurulmuştur. Bu sonuçlar, Alzheimer hastalarında artmış CLU ifadesinin nöroprotektif bir yanıt ile ilişkili olabileceği ihtimalini ortaya koymuştur. Daha sonra yapılan çalışmalar ile CLU'in nörofibril yumakları ve ekstrasellüler amiloid birikimleri ile birlikte yer aldığı tekrarlayan şekilde gösterilmiştir (Nuutinen ve ark.'ları, 2009, Charnay ve ark.'ları, 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA GRUBU

Çalışmamız Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 15-KAEK-001 kayıt numarası ile 04.03.2015 tarihinde onaylandı. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz polikliniğine başvuran ve PEX tanısı konan 100 hasta ve 100 kontrol grubundan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı. Çalışma grubuna katılan tüm bireylerin kanlarından elde edilen DNA'lar çalışmamızda kullanıldı. Çalışmanın tamamı Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Laboratuvarı'nda yapıldı.

3.2. ÇALIŞMADA KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER

3.2.1. Aletler ve Cihazlar

Tez çalışmamız süresince kullandığımız aletler ve cihazlar Tablo 3.1. de verilmektedir.

Tablo 3. 1. Aletler ve Cihazlar Çizelgesi

Aletler ve Cihazlar
PZR Cihazı (Termal Cyclers) (Techne, TC 4000, TC 412)
Elektroforez Tankı (Clever Scientific, MSCHOİCE)
Elektroforez Güç Kaynağı (Thermo Scientific, EC 300 x L)

Manyetik Karıştırıcı (Velp Scientifica, F20520162)

Aletler ve Cihazlar

Jel Görüntüleme Sistemi (QUANTUM – ST4, 1000/20M – 09200806)

Mikrodalga Fırın (Arçelik İntellaware, MD554)

Hassas Terazı (Kern, ABJ 220-4M)

Mikrosantifüj (Mikro 120, Hettich Zentrifugen D – 78 532n)

Vorteks (Velp Scientifica, F20220176)

Mikropipet Seti (Thermo Scientific)

Etüv (Mettler, Beschickung – Loading 100 – 800)

Otoklav (HMC Hirayama, HV – 25L)

Buzdolabı (Vestel, BZp – L3302W)

pH metre (HANNA, 507702)

3.2.2. Kimyasal Maddeler

Tez çalışmamız süresince kullandığımız kimyasal maddeler Tablo 3.2. de verilmektedir.

Tablo 3. 2. Kimyasal Maddeler Çizelgesi

Kimyasal Maddeler

1. Taq DNA polimeraz (GeneAll, Cat.No.501-020)
 2. XapI FD (Restriksiyon Enzimi) (Thermo Scientific-Lot: 00256882)
 3. Primerler
-

F: (IDT;Lot:69591345)

R:(IDT;Lot:69591346)

Kimyasal Maddeler

4. Agaroz(Prona 134527 PR)
 5. Nusieve Agaroz (Prona (Gamma Micropor)(Lot:125505PR)
 6. pUC 19/Msp marker (Thermo Scientific Lot:00151816)
 7. 100 mM dNTP set (Femantes, Lot:00070408)
 8. Trisma Base (Sigma, Lot :SLBF2582V)
 9. Borik Asit (Carlo Erba;, Lot: 0L057180L)
 10. EDTA (Amresco, Lot: 3228B038)
 11. NaOH (Sodyum Hidroksit)(Riedel-de Haen, Lot:70440 UN 1823)
 12. Ethanol(Lot:K45813683431)
 13. 6XLD(Thermo Scientific- Lot:00216922)
 14. RNAaz(Thermo Scientific-Lot:1383185)
 15. Proteinase K(Thermo Scientific Lot:00200657)
 16. 10 X Taq Buffer (GeneAll Cat .No:501-310)
 17. FD Green Buffer(Thermo Scientific- Lot;00275702)
 18. MgCl₂(Thermo Scientific Lot;00134257)
 19. Lysis Solution (Thermo Scientific, Lot;00205333)
 20. Wash Buffer 1(Thermo Scientific, Lot;00203716)
 21. Wash Buffer 2 (Thermo Scientific, Lot;00203067)
 22. Elution Buffer (Thermo Scientific, Lot;00200529)
-

3.2.3. *Çözeltiler*

3.2.3.1. *EDTA Solüsyon (0,5m) Hazırlanışı*

18,16 Na₂EDTAx2H₂O 80 ml distili su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Çözülmenin oluşabilmesi için 2,0 g NaOH karşıma eklendi. pH ayarlaması (pH=8) HCl ile yapıldı ve 100ml'ye tamamlandı.

Hazırlanan EDTA solüsyonu, otoklavlanıp oda sıcaklığında saklandı.

3.2.3.2. *5XTBE (Tris – Borat – EDTA) Tamponu*

- ✓ 54 g Trisma Base,
- ✓ 27,5 g Borik Asit,
- ✓ 20 ml 0.5 M EDTA solüsyonu (pH=8),
- ✓ 500 ml su içerisinde manyetik karıştırıcı ile karıştırıldı. Homojen olunca 1 litreye distili su ile tamamlanarak çözüldü. Çözelti oda ısısında saklandı.

3.2.3.3. *Etidyum Bromid Solüsyonu (10mg/ml)*

- ✓ 0,1 g Etidyum Bromid 10 ml distili su içerisinde bir gece boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.
- ✓ Kullanılacak tüpler alüminyum folyo ile kaplandı.
- ✓ Hazırlanan solüsyon +4 °C'de saklandı.

3.2.3.4. *Elektroferez Yürütme Tamponu*

5X TBE tamponundan distili su ile seyreltilerek 1X TBE hazırlandı.

3.2.3.5. %3'lik Agaroz Jel (100ml)

3 g Agaroz ve 100 ml 1X TBE erlenmayer içerisinde karıştırılıp mikrodalga fırında 1,5 dakika ısıtıldı. Hafif soğuması beklenerek (yaklaşık 60 °C) 5 µl Etidyum bromid (10mg/ml) eklenip hızlı bir şekilde iyice karıştırıldı ve yükleme yapılacak tarafları hazırlanmış olan kasete döküldü.

3.3. YÖNTEM

3.3.1. Genomik DNA İzolasyonu Protokolü

1. Kanlar vortekslenir
2. 200µl kan+20µl proteinkinaz+20µl RNAaz bir eppendorfa (1,5µl) alınır, vortekslendi (7-8sn).
3. Üzerine 400µl lizis solution ekle vortekslendi (7-8sn).
4. 10 dk 55 °C de su banyosunda beklendi. Su banyosundan alınca,
5. Üzerine 200 µl etanol eklendi, vortekslendi (7-8sn).
6. Vortekslenen tüpler, filtrelili eppendorflara alındı.
7. Santrifüjlendi (11000 rpm 1 dk).
8. Eppendorf atıldı, filtrelili kısım alındı. Filtrelili kısımda DNA bulunmaktadır.
9. Filtrelili kısım, başka bir eppendorfa takıldı.
10. Üzerlerine 500 µl wash buffer 1 eklenir, 11000 rpm 1 dk santrifüj edildi.
11. Eppendorflar atılır, yeni eppendorflar filtreye takılır. Üzerlerine 500 µl wash buffer 2 eklenir. 13000 rpm de 3 dk santrifüjlendi.

12. Eppendorflar atılır, fitlereleer başka bir kapalı eppendorf alınır. 200 µl Elution buffer eklendi (DNA'yı dibe çöktürüyor.)
13. 13000 rpm de 1 dk santrifüj edildi (DNA direk alttaki tüpe geçer).

3.3.2. DNA'nın Kalitatif Tayini

1,8 g agaroz, 60ml 1X TBE içerisinde kaynatılarak çözündürüldü, 60 °C'ye kadar soğutulduktan sonra 3µl EtBr (10mg/ml) eklendi. Sıvı haldeki jel, tarakları yerleştirilmiş olan agaroz jel elektroforez setine dökülerek donmaya bırakıldı. 4-5µl DNA, toplam hacim 5-6µl olacak şekilde 10X yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklendi. Örnekler 1X TBE tamponu içerisinde, 120 V 20 dakika yürütüldükten sonra jel, UV altında incelendi ve genomik DNA'nın kalitesi analiz edildi.

3.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR) TEKNİĞİ

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR), nükleik asitlerin "in vitro" olarak, uygun koşullar altında istenilen sayıda tekrarlanabilen döngüler ile çoğaltılmasına dayanan bir yöntemdir. PZR döngüsü sırayla, DNA çift zincirinin ısıyla birbirinden ayrılması (94 °C Denatürasyon), oligonükleotidlerin hedef DNA'ya bağlanması (Hibridasyon 60 °C) ve zincirin yeni çift zincirli DNA'lar oluşturacak şekilde uzaması aşamalarında meydana gelir (Saiki ve ark.'ları, 1988). PZR karışımı için kullanılan malzemeler ve kullanılan miktarları Tablo 3.4.de verilmektedir. Kullanılan PZR programı Tablo 3.5.de verilmektedir. Şekil4.4 .de PZR görüntüsü verilmektedir.

3.5. RESTRİKSİYON PARÇA UZUNLUK POLİMORFİZMİ (RFLP) TEKNİĞİ

Çift iplikli DNA molekülünü belirli nükleotid sıralarından kesen bakteriyel kökenli restriksiyon enzimlerinin keşfedilmesi ile moleküler biyoloji alanında önemli gelişmeler olmuştur. RFLP tekniği DNA düzeyinde polimorfizmi görmek amacıyla günümüzde sık olarak kullanılmaktadır. Bakteriler, bakteriyofajlara karşı savunma mekanizması olarak çeşitli restriksiyon enzimleri oluşturmaktadırlar. Bu enzimler DNA molekülünü özgün tanıma dizilerinden kesebilen enzimlerdir (Turnet ve ark.'ları, 2004).

Restriksiyon enzimlerinin kesim sonucunda oluşturduğu parçalara restriksiyon parçaları denir. Bunların büyüklüğü kullanılan restriksiyon enzimlerine bağlı olarak değişim göstermektedir. Her enzim farklı kesim noktalarına sahiptir. DNA parçalarında görülen bu polimorfizmin nedeni nokta mutasyonu olabileceği gibi, inversiyon, delesyon, translokasyondan kaynaklanan büyük mutasyonlar da olabilmektedir. RFLP; hızlı, ucuz ve uygulanması nispeten kolay olan bir yöntemdir. Ancak birçok fragmentin oluşması ve bunların jelde yakın bir şekilde dizilmesiyle bu bant profillerini ayırmak güçleşmektedir. Bu nedenle tutarlı sonuçların oluşması için birden fazla restriksiyon enziminin kullanımı gerekebilmektedir (Turnet ve ark.'ları, 2004). RFLP için kullanılan malzemeler Tablo 3.6. da verilmektedir.

3.6. ELEKTROFOREZ TEKNİĞİ

Sulu bir çözelti içinde, suspansiye ya da çözülmüş küçük elektrik yüklü parçacıkların, uygulanan bir elektrik alanının etkisi ile göç etmesi sürecine elektroforez denir (Kaya A., 2002). Agaroz, deniz yosunundan üretilen bir polisakkarittir. %0,5-2 arasındaki konsantrasyonlarda sulu çözeltilerle çözüldüğünde katı bir jel oluşturulur.

Elektroforez için kullanılan agaroz, bakteriyel kültür plakları yapmada kullanılan agarın saflaştırılmış formudur (Kaya A., 2002).

3.7. *CLU* GEN POLİMORFİZMİN ANALİZİ

CLU geninin rs11136000 T>C polimorfizminin analizinde kullanılan primerler Tablo 3.3. de verilmektedir. *CLU* genine ait baz dizisi ise Şekil 3.1. de verilmektedir. *CLU* geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı ve miktarları Tablo 3.4. de verilmektedir. *CLU* geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan PZR programı ve sekans sayıları Tablo 3.5.de verilmektedir. *CLU* geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizmin belirlenmesinde kullanılan RFLP karışımı ve miktarları Tablo 3.6 .da verilmektedir.

Tablo 3. 3. *CLU* geninin polimorfizminin analizinde kullanılan primerler

Bölge	Primerler
rs11136000 T>C	F: 5' – CCC TGA ATC TTA CCT TTC TAT TGC -3' R: 5' –ATG GAG TTT CAC CAT GTT AGC C-3'

1 gctttccgcg gcattctttg ggcgtagtc atgcaggttt gcagccagcc ccaaaggggg
 61 tgtgtgcgcg agcagagcgc tataaatagc ggcctccca gtgccacaa cgggcgctcg
 121 ccaggaggag cgcgcgggca cagggtgcg ctgaccgagg cgtgcaaaga ctccagaatt
 (Ekzon 1)
 181 ggaggcatga tgaagactct gctgctggtt gtgggctgc tgctgacctg ggagagtggg
 241 caggtcctgg gggaccagac ggtctcagac aatgagctcc aggaaatgtc caatcagggg
 (Ekzon 2)
 301 agtaagtacg tcaataagga aattcaaaat gctgtcaacg gggtgaaaca gataaagact
 361 ctcatagaaa aaacaaacga agagcgcaag acactgctca gcaacctaga agaagccaag
 421 aagaagaaa aggatgccct aaatgagacc agggaatcag agacaaagct gaaggagctc
 (Ekzon 3)
 481 ccaggagtgt gcaatgagac catgatggcc ctctgggaag agtgtaagcc ctgcctgaaa
 541 cagacctgca tgaagttcta cgcacgcgtc tgcagaagtg gctcaggcct ggttggccgc
 601 cagcttgagg adttcctgaa ccagagctcg ceettctact tctggatgaa tggtgaccgc
 (Ekzon 4)
 661 atcgactccc tgctggagaa cgaccggcag cagacgcaca tgctggatgt catgcaggac
 721 cacttcagcc ggcggtccag catcatagac gagctcttc aggacaggtt cttcaccggg
 781 gagccccagg atacctacca ctacctgcc ttcagcctgc cccaccggag gcctcacttc
 841 ttctttcca agtcccgcac cgtccgcagc ttgatgcct tctctccgta cgagcccctg
 901 aacttccag ccattgtcca gcccttcct gagatgatac acgaggctca gcaggccatg
 961 gacatccact tccatagccc ggccttcag caccgcaca cagaattcat acgagaaggc
 (Ekzon 5)
 1021 gacgatgacc ggactgtgtg ccgggagatc cgccacaact ccacgggctg cctgcggtg
 1081 aaggaccagt gtgacaagtg ccgggagatc ttgtctgtg actgttccac caacaacccc
 (Ekzon 6)
 1141 tcccaggcta agctgctggc ggagctcgac gaatccctcc aggtcgctga gaggttgacc
 1201 aggaaatata acgagctgct aaagtccctac cagtgaaga tgctcaacac ctctccttg
 1261 ctggagcagc tgaacgagca gtttaactgg gtgtccggc tggcaaacct cagcgaaggc
 1321 gaagaccagt actatctgcg ggtcaccagc gtggcttccc aacttctga ctgggaggtt
 (Ekzon 7)
 1381 ccttccggtg tcaactgaggt ggtcgtgaa ctctttgact ctgatcccat cactgtgagc
 1441 gtccctgtag aagtctccag gaagaacct aaatttatgg agaccgtggc ggagaaagcg
 1501 ctgcaggaat accgcaaaaa gcaccgggag gattgagatg tggatgttgc ttttgcacct
 (Ekzon 8)
 1561 acgggggcat ctgagtccag ctcccccaa gatgagctgc agccccccag agagagctct
 1621 gcacgtcacc aagtaaccag gccccagcct ccaggcccc aactccgcc agcctctccc
 (Ekzon 9)
 216781 aggctgcaga ctccctgaat cttaccttc tattgcaacc atgcctcctg nnn...nnn
 (5' Forward Primer 3')
 217021 gaccagcctg gctaacatgg tgaactcca tctctactaa aaatacaaaa attagctggt
 (3' Reverse Primer 5')

Şekil 3. 1. *CLU* genine ait baz dizisi (National Center for Biotechnology Information (NCBI))

Tablo 3. 4. *CLU* geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR karışımı

No	PZR Bileşeni	µl/Tüp
1	Steril distile su	17 µl
2	PZR Buffer	2,5 µl
3	MgCl ₂	1,5 µl
4	dNTP Mix	0.3 µl
5	Primer F	0,8 µl
6	Primer R	0,8 µl
7	Taq Polimeraz	0,2 µl
8	Genomik DNA	2 µl

Tablo 3. 5. *CLU* geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR programı

Program Türü	Derece	Zaman	Döngü sayısı
İlk Denatürasyon	94 °C	5 dk	1
Denatürasyon	94 °C	1 dk	
Bağlanma	60 °C	1 dk	33
Uzama	72 °C	1 dk	

Final uzama	72 °C	5 dk	1
-------------	-------	------	---

Tablo 3. 6. *CLU* geninin rs11136000 T>C bölgesindeki polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan RFLP karışımı

RFLP Karışım Özellikleri	Miktar
Xap1 enzimi	0,5µl
5' R ↓ A A T T Y 3'	
3' Y T T A A ↑ R 5'	
FD Green Buffer	2µl
H2O	5µl
PCR ürünü	10µl

4. BULGULAR

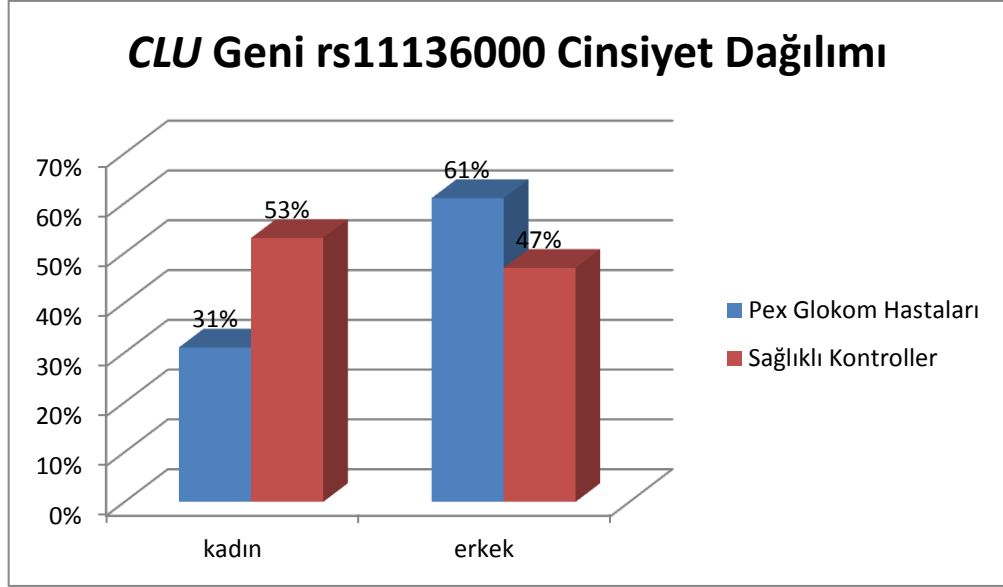
4.1. DEMOGRAFİK ve KLİNİK BULGULAR

Çalışmaya 100 adet hasta (% 61.0 erkek ve %39.0 kadın) ve 100 adet kontrol (%47.00 erkek ve %53.00 kadın) toplam 200 birey dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil olan PEX hastalıklı grubunun yaş ortalaması 71.10±11.48, kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması ise 54.74±12.32 olarak bulunmuştur.

Çalışmaya dahil edilen PEX hastaları ve kontrol grubunun cinsiyet, yaş, hastalıklı göz ve göz tansiyonuna ait istatistiksel bulgular Tablo 4.1.de ve grafikleri Şekil 4.1.de verilmiştir.

Tablo 4. 1. Çalışmaya dahil edilen PEX hastaları ve kontrol grubundaki bireylerin istatistiksel bulgular

Özellik	PEX Hasta Grubu (n=100)	Kontrol Grubu (n=100)
Cinsiyet, n		
Kadın	39 (%39)	53(%53)
Erkek	61 (%61)	47(%47)
Yaş Ortalaması (yıl)	71.10±11.48	54.74±12.32
Göz Tansiyonu(mmHg)		
Sağ Göz	17.59±6.81	
Sol Göz	21.76±13.96	
Hastalık Göz, n(%)		
Unilateral	80.4 (%80.4)	
Bilateral	19.6 (%19.6)	



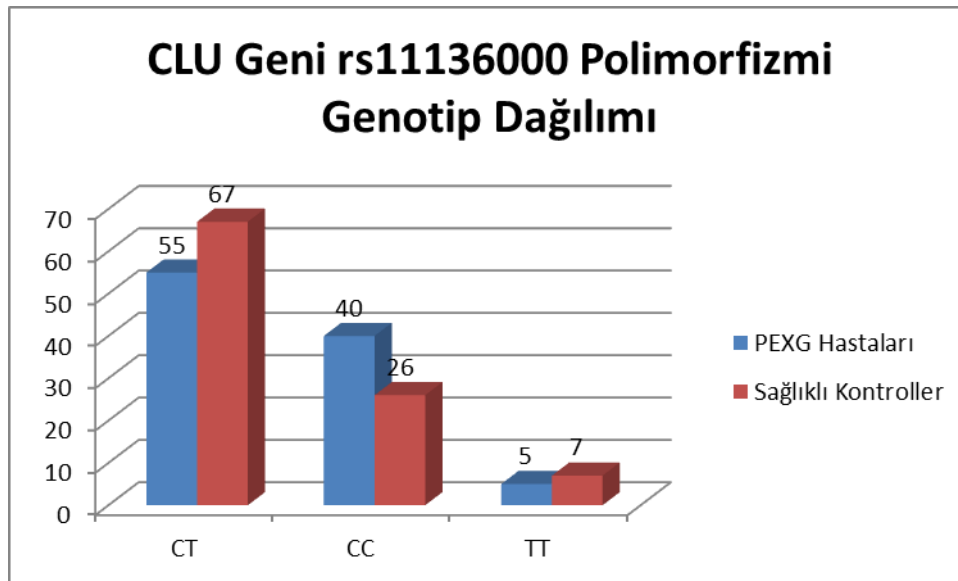
Şekil 4. 1. Hasta ve kontrol grubu cinsiyet dağılımı

4.2. GENOTİPLEME SONUÇLARI

Hasta ve kontrol grubuna ait genomik DNA örneklerinden *CLU* geninin rs11136000 SNP'sine özgü primerler kullanılarak PZR metodu ile genotipleri tespit edildi. PEX hasta ve kontrol grubunun *CLU* geni genotip ve allel dağılımını Tablo 4.2.de gösterilmektedir. PEX hastalarında *CLU* geni rs11136000 polimorfizmine ait genotip dağılımı; 100 hastanın 40'ında CC (%40), 55'inde CT (%55) ve 5'inde TT (%5) olarak belirlendi. 100 bireyden oluşan kontrol grubunun ise 26'sının CC (%26), 67'sinin CT (%67) ve 7'sinin TT (%7) genotipine sahip olduğu belirlendi. Homozigot CC genotipinin hastalarda, kontrole oranla fazla olduğu görülmüştür ($p= 0.035$).

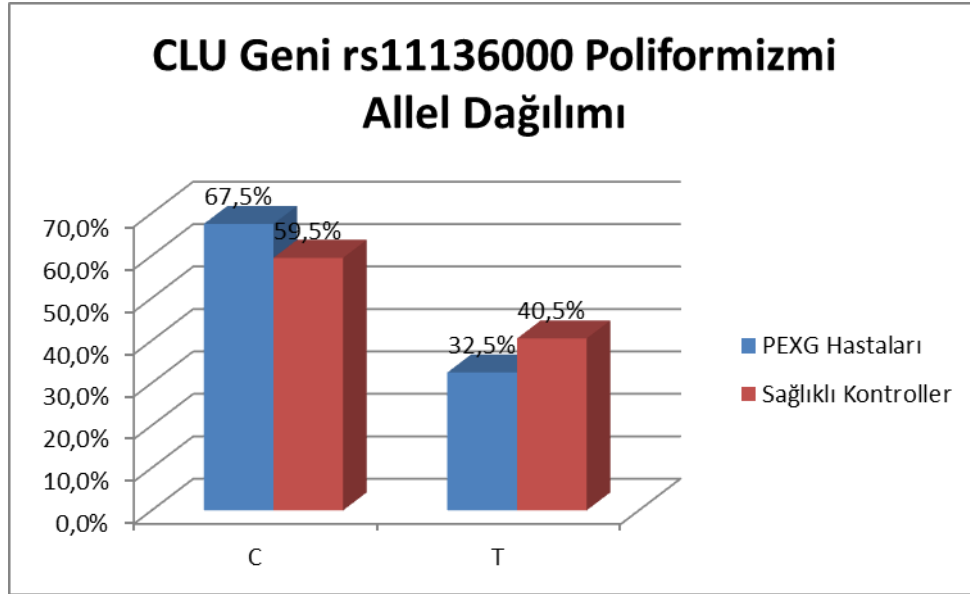
Tablo 4. 2. PEX hasta ve kontrol grubunun *CLU* geni genotip ve allel dağılımı

Gen	Hasta Grubu n=100	Kontrol Grubu n=100	P	OR (CI 95%)
<i>CLU</i>				
Genotipler				
CC	40 (40 %)	26 (26 %)	0.106	
CT	55 (55 %)	67 (67 %)		
TT	5 (5 %)	7 (7 %)		
CC:CT+TT	40:60	26:74	0.035	1,89(1.04-3.48)
Alleller				
C	135 (67.50 %)	119 (59.5 %)	0.09	1.41(0.94-2.13)
T	65 (32.50 %)	81 (40.5 %)		

Şekil 4. 2. *CLU* geni rs11136000 poliformizminin hasta ve kontrollerdeki genotip dağılımı

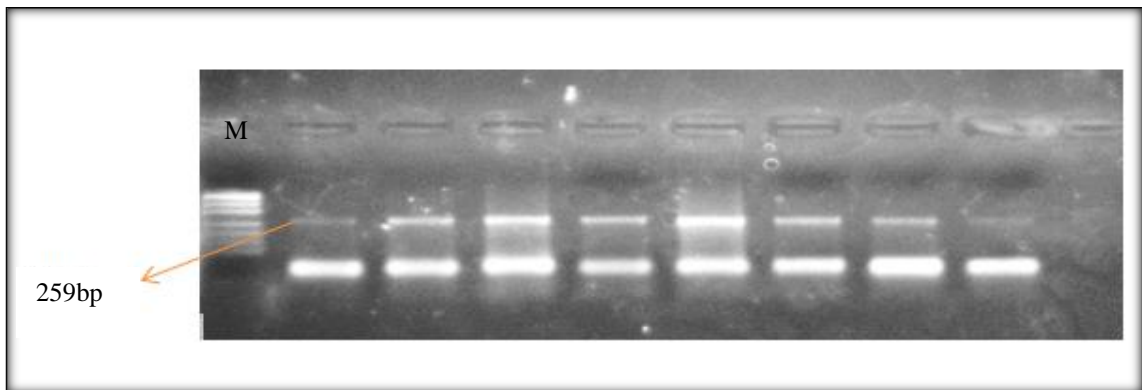
rs11136000 poliformizmi için hasta ve kontrollerdeki allel sıklıklarını karşılaştırıldığında, PEX hasta grubunda C alleli frekansının %67,5; T alleli frekansının ise %32,5 olduğu; kontrol grubunda ise C allelinin %59,5; T allelinin

%40.5 olarak görüldüğü belirlendi. Ancak hasta ve kontrol grupları arasında genotip dağılımları (Şekil 4.2) ve allel dağılımları (Şekil 4.3) istatistik açısından anlamlı bir fark bulunmadı. *CLU* geninin rs11136000 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü Şekil 4.4.de gösterilmiştir.



Şekil 4. 3. *CLU* geni rs11136000 poliformizminin hasta ve kontrollerde allel dağılımı

4.3. *CLU* GEN POLİMORFİZMİNDE UYGULANAN (PZR) ANALİZİ

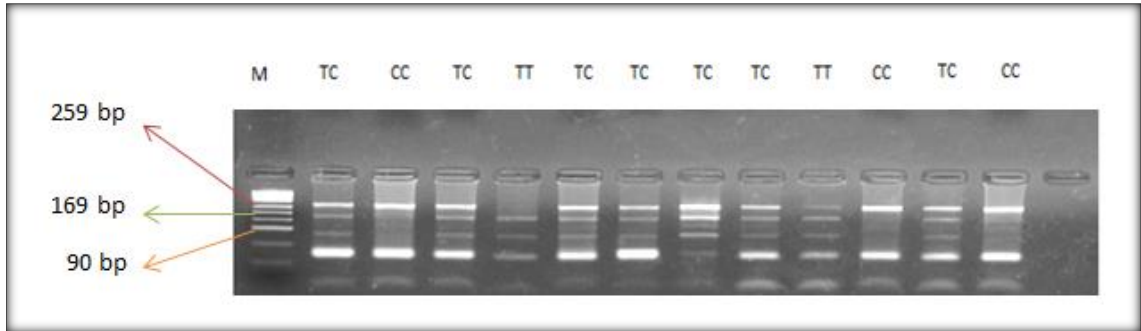


Şekil 4. 4. *CLU* geninin rs11136000 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR ürünlerinin %3'lük agaroz jeldeki görüntüsü (Marker:pUC19).

4.4. CLU GEN POLİMORFİZMİNDE UYGULANAN (RFLP) ANALİZİ

CLU geninin rs11136000 polimorfizmi içeren baz çiftlik bölgesi Tablo 3.4.de verilen PZR karışımına Tablo 3.5.de verilen PZR programına göre çoğaltıldıktan sonra *XapI* restriksiyon enzimi ile 37 °C de iki saat kesime bırakılmıştır. Kesim sonucunu 100 ml 1X TBE tamponu içerisinde %3'lük (2 agaroz ve 1 nusive agaroz) olarak hazırlanmış jel içerisinde 130 V'da 23 dk yürütüldü ve UV'de incelendi.

Kesim sonuçları beklendiği gibi homozigot TT bireylerde 169 ve 90 baz çiftlik DNA parçaları, heterozigot TC bireylerde 259,169,90 baz çiftlik DNA parçaları ve homozigot CC bireylerde ise 259 baz çiftlik DNA parçaları halinde gözlemlendi. İnceleme sonunda elde edilen görüntü Şekil 4.5.de verilmiştir.



Şekil 4. 5. *CLU* geninin rs11136000 polimorfizminin belirlenmesinde kullanılan PZR ürünlerinin *XapI* enzimi ile kesilmesi sonucu oluşan kesim ürünlerinin %3'lük nüsvli agaroz jeldeki görüntüsü.

4.5. İSTATİSTİKSEL BULGULAR

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS 20.0[®] istatistik yazılım programı kullanılarak yapıldı. *CLU* genine ait rs11136000 bölgelerinde görülen tek nükleotid

polimorfizmleri ile genotipleri ve allellerinin gruplara göre dağılımlarının analizleri için kıkare yöntemi kullanıldı. Deđerler ortalama \pm standart sapma (SS) olarak verildi. $p < 0,05$ olan değerler anlamlı olarak değerlendirildi. Çalışmada incelenen *CLU* genine ait polimorfik bölgelerin genotipleri üç grup halinde sınıflandırıldı. Çalışmamızda, *CLU* genine ait kromozom üzerindeki yerlerine göre sırasıyla rs11136000 polimorfizminin analizi yapıldıktan sonra istatistiksel olarak değerlendirildi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

PEX; başlıca pupilla kenarı ve lens ön kapsülünde olmak üzere, irido-korneal açı, siliyer cisim ve zonüller, ön hyaloid yüz, trabeküler ağ, kornea endoteli, kapak konjonktivası gibi göziçi ve göz dışı yapılarda grimsi-beyaz renkli, kepek benzeri fibriller ekstrasellüler bir materyalin üretilmesi ve progresif birikimi ile karakterize, sıklığı yaşla birlikte artan bir hastalıktır (Schlotzer ve ark.'ları, 2006).

PEX'in görülme sıklığıyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bunların çoğunda PEX sıklığında yaş ile birlikte artış olduğu gösterilmiştir. Yunanistan'da 2009'da yapılan çalışmada, altıncı dekatta %1.2 olan PEX prevalansının, seksenli yaşlarda %34'e çıktığı bildirilmiştir (Andrikopoulos ve ark.'ları, 2009). Amerika'da 1982'de yapılan başka bir çalışmada, 52-64 yaşlarında % 0.67, 65-74 yaşlarında % 2.6 ve 78-85 yaşlarında ise %5 sıklıkta PEX görüldüğü izlenmiştir (Hiller ve ark.'ları, 1982).

Ülkemizde yapılan psödoeksfolyasyon prevalansı ile ilgili çalışmalarda ise; 50 yaş üzeri popülasyonda, Kasım ve ark.'ları 2013'de yapılan çalışmada %12 oranında PEX bildirmiştir (Kasım ve ark.'ları, 2013). Yalaz ve ark.'ları Çukurova bölgesinde 60 yaş üzeri kişileri kapsayan çalışmasında PEX sıklığını %11.2 olarak bulmuş ve bu olguların %88.1'inde kataraktın eşlik ettiğini tespit etmiştir (Yalaz ve ark.'ları, 1992). Irkın etkisi, coğrafik koşullarda popülasyonda gözlenme sıklığı değişmektedir. Güney Louisiana'daki Hammer ve ark.'larının yaptığı PEX çalışmasında siyahlarda %0.3 iken; beyazlarda %2 olarak bulunmuştur (Hammer ve ark.'ları, 2001). Yükseklik ve ultraviyole ışığa maruziyetin PEX sıklığını arttırdığı düşünülmektedir, ancak kesin bir sonuç bulunamamıştır. Bu farklı sonuçlar incelenen popülasyonun yaş ve cinsiyet

dağılımının değişken olmasına ve inceleme tekniklerinin farklı olmasına bağlanmıştır (Hiller ve ark.'ları, 1982).

Yaş PEX'in görülme sıklığında önemli bir faktördür. Forsius ve ark.'ları (2002) yaptığı çalışmada 50 yaştan sonra insidansın her dekatda iki kat arttığını bildirmiştir. Özer ve ark.'ları (2007) yaptıkları çalışmada PEX'li olguların yaş ortalamasını 62 ± 4 yıl olarak bildirmişlerdir. Jonas ve ark.'ları 1997'de PEX'li olguların yaş ortalamasını 73.29 ± 13.27 yıl olarak bulmuşlardır. Drolsum ve ark.'ları 1998 yılında 1197 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada PEX'li hastalarda ortalama yaşı 80 ± 6 yıl olarak bulmuşlardır. Jeng ve ark.'ları (2007) yılında, 142 PEX'li olguda yaptıkları çalışmada ortalama yaşı 73 ± 10 yıl olarak bildirmişlerdir. Aygen ve ark.'ları (2005)'de yaptıkları çalışmada PEX grubunun yaş ortalamasını 64.2 ± 5 yıl olarak bulmuşlardır. Lajja ve ark.'ları (2001) yılında, yaş ortalamasını 71 ± 6 yıl olarak bildirmişlerdir. Lumme ve ark.'larının (1993)'de yaptıkları çalışmada PEX'li grupta 60 yaşından genç hastaya rastlamadıklarını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda PEX hastalarının yaş ortalaması 71.10 ± 11.48 olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda ise bu yaş ortalaması hasta grubuna göre daha düşüktü ve yaş ortalaması 54.74 ± 12.32 olarak bulunmuştur. Yapılan laboratuvar sonuçlarına göre istatistiksel olarak 70 yaş üzerinden PEX hastalığının daha görülme sıklığında ciddi artış olduğu sonucuna varılabilmektedir. Bizim çalışmamızda Jonas ve ark.'ları, Jeng ve ark.'ları, Lajja ve ark.'ları ile uyum göstermektedir (Lumme ve ark.'ları, 1993, Drolsum ve ark.'ları, 1994, Jonas ve ark.'ları, 1997, Lajja ve ark.'ları, 2001, Aygen ve ark.'ları, 2005, Jeng ve ark.'ları, 2007, Özer ve ark.'ları, 2007).

Çalışmamızda PEX hasta ve kontrol grubu arasında *CLU* polimorfizm allel ve genotip dağılımları açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p>0.05$). Schlötzer-Schrehardt ve ark.'larının (2006) yılında PEX'li kadavra gözlerinden alınan silier cisim

örneklerinde CLU ekspresyonunun azaldığını bildirmesine ve Khan ve ark.'larının (2010) yılında lens kapsül örneklerinde CLU ekspresyonunda azalmayı PEX'li gözlerde saptayıp glokom olmayan PEX'li gözlerde saptamamalarına ve bu sonuçların CLU ekspresyonu ve direkt PEX arasında ilişki varlığına işaret etmesine rağmen bizim çalışmamızda olduğu gibi CLU polimorfizmlerinin allellik ve genotipik dağılımlarında iki grup arasında fark saptanmıştır. Ayrıca yine yapılan çalışmalarda PEX'in unilateral veya bilateral olarak görülmesi gibi fenotipik farklılıkları ayırt etmede de bu polimorfizmler etkili bulunmamıştır (Rautenbach ve ark.'ları, 2011, Sagong ve ark.'ları, 2011, Micheal ve ark.'ları, 2012). Genotip ile korele oküler CLU ekspresyonunu inceleyen bir çalışmada PEX'in erken dönemlerinde CLU düzeyinin genotiplerden bağımsız arttığı ancak hastalığın ilerlemesiyle birlikte CLU ekspresyonunun yine genotipten bağımsız bir şekilde azaldığı saptanmıştır (Kuhlenbaumer ve ark.'ları, 2007). Bu sonuçlar CLU'deki genotipik farklılıklarının PEX başlangıcında etkili bir faktör olabileceğini ancak diğer fenotipik özellikler konusunda farklı genetik ve çevresel faktörlerin etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

PEX'in sıklıkla gözde tek taraflı olarak görüldüğü bildirilmiştir. Tanı anında, hastaların %27'si ile %76'sında tek gözde eksfoliasyon materyalinin bulunduğu rapor edilmiştir (Kozobolis ve ark.'ları, 1997, Mitchell ark.'ları, 1999, Arvind ve ark.'ları, 2003). Bununla birlikte, yapılan uzun dönem bir çalışmada, hastaların %13'ünde ilerleyen yaşla birlikte PEX' in her iki gözde de ortaya çıktığı görülmüştür (Roth ve ark.'şı, 1980). Bizim çalışmamızda hastalarımızda PEX'in sıklıkla tek gözde olduğu görülmüştür. Muayene sırasında hastalarda PEX'in sağ gözde görülme oranı 17.59 ± 6.81 ve PEX'in sol gözde görülme oranı 21.76 ± 13.96 olarak tespit edilmiştir. Ancak yaşa bağlı olarak hastaların çalışmamızda her iki gözünde de hastalığın olma oranı %19.6

olarak bulunmuştur. İstatistiksel sonuca göre 70 yaş ve üzeri hastalar için her iki gözde de PEX hastalığının rastlanma oranının yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Çalışmamızda tek gözde PEX hastalığının olma olasılığı daha yüksek çıktığı görülmektedir. Tek gözde(unilateral) görülme olasılığı %80.4 iken, iki gözde (bilateral) görülme olasılığı ise %19.6 tür.

Cinsiyete göre PEX dağılımıyla ilgili yapılan çalışmalarda, kesin bir görüş birliği sağlanamamıştır. Erkeklerde kadınlara göre daha sık görüldüğünü gösteren çalışmalar olduğu gibi (Aasved H., 1975) bunun tam tersini belirten yayınlar da olmuştur (Arnarsson AM., 2009) Yalaz ve ark.'ları (1992)'de yaptığı çalışmada PEX'le cinsiyet farkı olmadığını bildirmiştir (Yalaz ve ark.'ları, 1992). Bu sonuçlar ışığında bizim yapmış olduğumuz laboratuvar çalışmaları sonucunda erkek hastaların %61 PEX hastalığı görülürken %39 kadın hastalarda görülme olarak ifade edilebilir. Ancak yapılan araştırmada daha fazla hasta ve kontrol grubu ile çalışıldığında bu cinsiyete göre hastalığın görülme oranı değişebileceği düşünülmektedir. Her iki cinsiyete de hastalık etki etmektedir.

CLU genotipleri ve PEX ilişkisi geniş çapta araştırılmamakla birlikte farklı populasyonlarda çalışılmıştır ve ilişkinin varlığına yönelik birbiriyle çelişen sonuçlar elde edilmiştir. PEX etiyopatogenezine yönelik çalışmalara baktığımızda PEX gerçek bir amiloidozis olmamakla birlikte bu grup hastalıklarla bir takım benzer özelliklere sahiptir: PEX'li hastaların aköz hümlerinde Kongo kırmızısı ile boyanan materyal ve amiloid- β peptid saptanmıştır (Berlau ve ark.'ları, 2001) ,Amiloid-P ve apolipoproteinler PEX fibrilleri ile ilişkili bulunmuştur (Li ve ark.'ları, 1989) ve PEX depozitlerinde APOE saptanmıştır (Sharma ve ark.'ları, 2009). Bu benzer özelliklerin yanı sıra Alzheimer hastalığı ve PEX arasında kontrol işlemlerinde ortak yönlerinin de

olduğu saptanmıştır (Linner ve ark.'ları, 2001). PEX ve APOE genotiplerinin arasındaki benzerliklere yönelik ilk çalışma Türkiye'den Yılmaz ve ark.'larının (2005)'de Mersin'den yaptıkları çalışmadır (Yılmaz ve ark.'ları, 2005). Bu çalışmada PEX grubuna 76 kontrol grubuna ise 74 olgu dâhil edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda PEX hastalığı ile ilişkisinin olduğu bulunmuştur. Bunun dışında İtalya dan 209 hasta ve 190 kontrol, Almanya'dan 661 hasta ve 342 kontrolün katıldığı çalışmada (Krumbiegel ve ark.'ları, 2010) ve yine Norveçten yapılan bir çalışmada (Saverio ve ark.'ları, 2000) benzer bir ilişki tespit edilmemiştir. Burdon ve ark.'ların yapmış olduğu çalışmada PEX 'de *CLU* geninin genetik analizi üzerine yapmış olduğu çalışmada *CLU* SNP'si genotip seviyesi ($p=0.044$) PEX ile seviyesi normal ilişkidir ve yaş aralığı 73 yaş üzerinde sınırlıdır (Scaltriti ve ark.'ları, 2004).

Bizim çalışmamızda da hasta grubunda C alleli pexli kişilerde fazla olduğu, kontrol grubunda T alleli fazla olduğu saptanmıştır. Buna göre C alleli fazla olan bireyde PEX hastalığı görülme riski fazladır. T alleli fazla olan bireyde PEX görülme sıklığı azdır diyebiliriz. PEX ile C alleli arasında paralellik göstermektedir. Böylelikle *CLU* geni ile C alleli arasında uyum olduğu söylenebilir. Padhy ve ark.'ları Hindistan da 2014 yılında yaptığı çalışmada 136 PEX'li hastalar ile 89 kontrol grubu çalışılmıştır (Padhy ve ark.'ları, 2014). Burada PEX hastalığı ile rs2279590 arasındaki ilişkiye bakılmıştır ve çıkan sonuçlara göre p değeri 0.0004 olarak ilişkilendirilmiştir. Yüksek riskli alellerde "G" mRNA expressionu *CLU* geni üzerinde etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Burada "AA" genotipli bireylerin karşılaştırılmasında "GG" genotipli bireylerde *CLU* geni oranının iki katı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada yaş ve cinsiyet arasında güçlü bir ilişkinin bulunduğu tespit edilmiş ve *CLU* geninin PEX sendorumu ile yüksek ilişkisi olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda unilateral gözde PEX hastalığının olma olasılığı daha yüksek çıktığı görülmektedir. Yaş ilerledikçe PEX hastalığının bilateral gözde görülme sıklığı artmaktadır. Tek gözde(unilateral) görülme olasılığı %80,4 iken, iki gözde (bilateral) görülme olasılığı ise %19,6'dır. Çalışmamızdaki hastalar 70 yaş ve üzerindedir. Genel ortalamamız yaşla birlikte PEX hastalığının arttığı yönünde sonuç vermiştir. Çalışmamızda yaşla birlikte iki gözde de PEX hastalığının ortaya çıkma olasılığı artmıştır, ancak tanı ve tedavi yöntemi ve kullanılan ilaçla göz tansiyonu düşürülmüştür. Yaşla arttığı söylediğimiz için iki gözde de basıncın artması gerekirken ilaç tedavisi ve operasyonla göz tansiyonu azalmıştır. Genel olarak hastalarda Latanoprost ve Timolol adlı ilaç etken maddeleri kullanılmaktadır. Bu iki madde artmış intraoküler basıncı farklı etki mekanizmalarıyla düşürür ve her iki etkinin birleşmesi sonucunda, intraoküler basınçta maddelerden biriyle tek başına elde edilebilenden daha fazla bir basınç düşmesi sağlanabildiği tespit edilmiştir.

Sonuç olarak, hastalarda %40 CC, %55 CT, %5 TT iken kontrol grubunda %26 CC, %67 CT, %7 TT çıkmıştır. İstatistiksel anlamlı olmamasına rağmen hasta grubunda C alleli sıklığında büyük bir fark çıktığı ve C allelinin daha fazla görüldüğü gözlendi. Kontrol grubunda ise T allelinin daha fazla görüldüğünü söyleyebiliriz. Buna göre C alleli olan kişilerde hastalığın görülme olasılığı daha fazla, T alleli bulunan da ise hasta olma ihtimali çok az görülmektedir. Bu veriler ışığında hastalık ile C alleli varlığı paralellik göstermektedir. Homozigot CC genotipinin hastalarda daha fazla görülürken kontrollerde daha az görülmüştür. Bu değerlendirmeler sonucunda *CLU* geninin rs11136000 polimorfizmiyle PEX hastalığı arasında anlamlı bir bağlantı tespit edilmiştir ($p=0.035$). Gen polimorfizmi çalışmalarında çalışılan hasta ve kontrol sayıları yetersiz kalmaktadır. Sonuçların daha anlamlı şekilde yorumlanabilmesi ve literatüre katkısı için

farklı ve geniş popülasyonlarda yapılarak bulgularımızın bu hastalıkla bağlantısının değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKÇA

Aasved H. (1975). Study of relatives of persons with fibrillopathia epitheliocapsularis (pseudoexfoliation of the lens capsule). Acta Ophthalmol (Copenh). 53(6):879–886.

Alaylıoğlu M. (2014). Clusterin polimorfizmleri ile alzheimer hastalığı arasındaki ilişkinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi. 86 syf.

Andrikopoulos GK, Mela EK, Georgakopoulos CD, Papadopoulos GE, Damelou AN, Alexopoulos DK. (2009). Pseudoexfoliation syndrome prevalence in Greek patients with cataract and its association to glaucoma and coronary artery disease. Eye (Lond) .23:442–7.

Anonim. (2016). Wikipedia. [https://tr.wikipedia.org/wiki/Kromozom_8_\(insan\)](https://tr.wikipedia.org/wiki/Kromozom_8_(insan)). (20.01.2016)

Arnarsson AM. (2009). Epidemiology of exfoliation syndrome in the Reykjavik Eye Study. Acta Ophthalmol. 87(Thesis 3):1–17.

Arvind H, Raju P, Paul PG. (2003) Pseudoexfoliation in South India. Br J Ophthalmol, 87: 1321-1323

Ashton N, Shakib M, Collyer R. (2003). Electron microscopic study of pseudoexfoliation of the lens capsule. I. Lens capsule and zonular fibers. Invest Ophthalmol. 4:141–53

Aygen A, Erdoğan H, Toker Mİ, Arıcı, MK, Vural A, Topaklara A. (2005). Psödoeksfoliyasyon Sendromunda Optik Sinir Başı Değişiklikleri ve Görme Alanı Arasındaki Korelasyon. Türkiye Klinikleri J Ophthalmol.14:110

Bengtsson B. (1989). Incidence of manifest glaucoma. *Br J Ophthalmol.* 73:483-87.

Bergmanson J, Jones L, Chu WF. (1984). Ultrastructural observations on pseudoexfoliation of the capsula: a reexamination of involvement of the lens epithelium. *Br J Ophthalmol.* 68:118123.

Berlau J, Lorenz P, Beck R, Makovitzky J, Schlotzer-Schrehardt U, Thiesen HJ, Guthoff R. (2001). Analysis of aqueous humour proteins of eyes with and without pseudoexfoliation syndrome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 239:743-6.

Bertelsen TI, Drablos PA, Flood PR. (1964). The so-called senile exfoliation (pseudoexfoliation) of the anterior lens capsule, a product of the lens epithelium. Fibrilopathia epitheliocapsularis. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 42:1096–113.

Charnay, Y., Imhof, A., Vallet, P.G., Kovari, E., Bouras, C. ve iannakopoulos, P. (2012). Clusterin in neurological disorders: molecular perspectives and clinicalrelevance. *Brain Research Bulletin*, 88(5), 434-443.

Chen, L. H., Kao, P. Y. P., Fan, Y. H., Ho, D. T. Y., Chan, C. S. Y., Yik, P. Y., ... & Song, Y. Q. (2012). Polymorphisms of CR1, CLU and PICALM confer susceptibility of Alzheimer's disease in a southern Chinese population. *Neurobiology of aging*, 33(1), 210-e1.

Chia, S., Dent, S., Ellard, S., Ellis, P. M., Vandenberg, T., Gelmon, K., ... & Eisenhauer, E. A. (2009). Phase II trial of OGX-011 in combination with docetaxel in metastatic breast cancer. *Clinical Cancer Research*, 15(2), 708-713.

Dark A, Streeten B, Cornwall C.(1977). Pseudoexfoliative disease of the lens: a study in electron microscopy and histochemistry. *Br J Ophthalmol.* 61:462-472.

Doğan H, Patiroğlu T, Baykal E, Erkiliç K. (1998). Association of HLA Type with pseudoexfoliation of the lens capsule. *Tr. J. Medical Sciences*. 28:661-67.

Donald L, Budenz MD. (1998). Subspecialty Day 1998-Glaucoma. Update on early diagnosis and Progression of glaucoma. 34-37.

Drolsum L, Haaskjold E, Davanger M. (1994). Pseudoexfoliation syndrome and extracapsular cataract extraction. *Acta Ophthalmol*. 71:765-770.

Dubey, S. K., Hejtmancik, J. F., Krishnadas, S. R., Sharmila, R., Haripriya, A., & Sundaresan, P. (2015). Evaluation of Genetic Polymorphisms in Clusterin and Tumor Necrosis Factor-Alpha Genes in South Indian Individuals with Pseudoexfoliation Syndrome. *Current eye research*, (0), 1-7.

Dvorak-Theobald G. (1954). Pseudoexfoliation of the lens capsule. *Am J Ophthalmol*. 37:1-12.

Eagle RC Jr, Font RL, Fine BS. (1979). The basement membrane exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol*. 97:510–515.

Elibol O, Güler C, Alçelik T, Erdoğan H. (1995). Eksfoliasyon sendromunun PEKKE ve arka kamara göziçi lens implantasyonuna etkisi. *MN Oftalmoloji*.2:342-5

Garner A, Alexander RA. (1984). Pseudoexfoliative disease: Histochemical evidence of an affinity with zonular fibers. *Br J Ophthalmol* 68:574-580.

Gleave, M., & Miyake, H. (2005). Use of antisense oligonucleotides targeting the cytoprotective gene, clusterin, to enhance androgen-and chemo-sensitivity in prostate cancer. *World journal of urology*, 23(1), 38-46.

Grehn F, Hollo G, Lachtar Y, Migdal C, Thygesen J. (2009). Terminoloji, sınıflandırma ve tanımlar, Giriş Bölümü, Glokom İçin Terminoloji ve Rehber, Traverso CE, eds, 3.Basım. 186 syf.

Hammer T, Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GO. (2001). Unilateral or asymmetric pseudoexfoliation syndrome? An ultrastructural study. *Arch Ophthalmol.* 119:1023-31

Hermo, L., Barin, K. ve Oko, R. (1994). Developmental expression of sulfated glycoprotein-2 in the epididymis of the rat. *The Anatomical Record*, **240**(3), 327-344.

Hidaka S, Kranzlin B, Gretz N., Witzgall R. (2002). Urinary clusterin levels in the rat correlate with the severity of tubular damage and may help to differentiate between glomerular and tubular injuries. *Cell Tissue Res.* 310:289-296.

Hiller R, Sperduto RD, Krueger DE. (1982). Pseudoexfoliation, intraocular pressure and senile lens changes in a population-based survey. *Arch Ophthalmol.* 100:1080-82.

Jeng SM, Karger RA, Hodge DH. (2007). The Risk of Glaucoma in Pseudoexfoliation Syndrome. *J Glaucoma.* 16:117–121.

Jhala, N., Jhala, D., Vickers, S. M., Eltoun, I., Batra, S. K., Manne, U., ... & Grizzle, W. E. (2006). Biomarkers in Diagnosis of Pancreatic Carcinoma in Fine-Needle Aspirates A Translational Research Application. *American journal of clinical pathology*, *126*(4), 572-579.

Jin G and Howe PH (1999) Transforming growth factor beta regulates CLU gene expression via modulation of transcription factor c-Fos. *Eur. J. Biochem.* 263: 534–542

Johnson D. (2000). The exfoliation syndrome-a countinuing challenge. *Principles and practise of ophthalmology.* Albert DM, JacobiecFA. W B Saunders Company. Vol 3, Chapter; 112:1400-1413.

Jonas JB. (1997). Papastathopoulos KI. Optic Disc Appearance in Pseudoexfoliation Syndrome. *Am J Ophthalmol.* 123:174-180.

Jones, S.E. ve Jomary, C. (2002). Clusterin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **34**, 427-431.

July, L. V., Akbari, M., Zellweger, T., Jones, E. C., Goldenberg, S. L., & Gleave, M. E. (2002). Clusterin expression is significantly enhanced in prostate cancer cells following androgen withdrawal therapy. *The Prostate*, *50*(3), 179-188.

Kanski JJ. (1994). The Glaucomas. *Clinical Ophthalmology*. 3rd Ed. Oxford: Butterworth Heinemann Co. 223-279.

Kasım, B.,İRkeç, M., Alikışifoğlu, M., Orhan, M., Mocan, M. C., & Aktaş, D. (2013). Association of LOXL1 gene polymorphisms with exfoliation syndrome/glaucoma and primary open angle glaucoma in a Turkish population.

Kaya, A. (2002). Elektroforez Yöntemleri. *Dicle Tıp Dergisi*, *C:29,S:3*

Khan TT, Li G, Navarro ID, Kastury RD, Zeil CJ, Semchyshyn TM. (2010). LOXL1 expression in lens capsule tissue specimens from individuals with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *Mol Vis.* 2;16:2236-41.

Koltai T (2014). "Clusterin: a key player in cancer chemoresistance and its inhibition". *OncoTargets and Therapy* 7: 447–56.

Kozobolis VP, Papatzanaki M, Vlachonikolis IG, Pallikaris IG, Tsambarlakis IG. (1997). Epidemiology of pseudoexfoliation in the island of Crete (Greece). *Acta Ophthalmol Scand.*75:726-9

Krumbiegel M, Pasutto F, Mardin CY, Weisschuh N, Paoli D, Gramer E. (2010). Apolipoprotein E genotyPEX in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *J Glaucoma.* 19:561-565.

Krüger, S., Ola, V., Fischer, D., Feller, A. C., & Friedrich, M. (2006). Prognostic significance of clusterin immunoreactivity in breast cancer. *Neoplasma*, 54(1), 46-50.

Kuhlenbäumer G, Friedrichs F, Kis B, Berlit P, Maintz D, Nassenstein I. (2007). Association between single nucleotide polymorphisms in the lysyl oxidase-like 1 gene and spontaneous cervical artery dissection. *Cerebrovasc Dis.* 24:343–8.

Lajja MS, Vasavada A. (2001). Phacoemulsification in Indian eyes with pseudoexfoliation syndrome. *J Cataract Refract Surg.* 27:1629-37.

Lakins J, Bennett SA, Chen JH, Arnold JM, Morrissey C, Wong P. (1998). Clusterin biogenesis is altered during apoptosis in the regressing rat ventral prostate. *J Biol Chem.* 273(43):27887-27895.

Layden WE, Shaffer RN. (1974). Exfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol.* 78:835-841

Leskov K.S, Klokov D.Y., Li J, Kinsella T.J, Boothman D.A. (2003). Synthesis and functional analyses of nuclear clusterin, a cell death protein. *J Biol Chem.* 278 (13): 590-600.

Li ZY, Streeten BW, Yohai N. (1989). Amyloid P protein in pseudoexfoliative fibrilopathy. *Curr Eye Res.* 8:217–227.

Lin CC, Tsai P, Sun HY, Hsu MC, Lee JC, Wu IC, Tsao CW, Chang TT, Young KC . (2014). "Apolipoprotein J, a glucose-upregulated molecular chaperone, stabilizes core and NS5A to promote infectious hepatitis C virus virion production". *Journal of Hepatology* 61 (5): 984–93.

Lindberg JG. (1989). Clinical investigations on depigmentation of the pupillary border and translucency of the iris in cases of senile cataract and in normal eyes in elderly persons. *Acta Ophthalmol.* 190:1–96.

Linner E, Popovic V, Gottfries C-G, Jonsson M, Sjögren M, Wallin A. (2001). The exfoliation syndrome in cognitive impairment of cerebrovascular or Alzheimer's type. *Acta Ophthalmol Scand.* 79:283–285.

Lumme P, Laatikainen L. (1993). Exfoliation syndrome and cataract extraction. *Am J Ophthalmol.* 116:51.

Mardin CY, Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GO. (2001). "Masked" pseudoexfoliation syndrome in unoperated eyes with circular posterior synechiae: clinical-electron microscopic correlation. *Arch Ophthalmol.* 119:1500-3

Micheal S, Khan MI, Akhtar F, Ali M, Ahmed A, den Hollander AI, Qamar R. (2012). Role of Lysyl oxidase-like 1 gene polymorphisms in Pakistani patients with pseudoexfoliative glaucoma. *Mol Vis.* 18:1040-4.

Mitchell P, Wang JJ, Hourihan F. (1999). The relationship between glaucoma and pseudoexfoliation: The Blue Mountains Eye Study. *Arch Ophthalmol.* 117:1319-24.

Morrison JC, Green WR. (1988). Light microscopy of the exfoliation syndrome. Review. *Acta Ophthalmol Suppl.* 66:5-27.

Naumann GO, Schlotzer-Schrehardt U, Kuchle M. (1998). Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist: Intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology.* 105:951-68.

Nuutinen, T., Suuronen, T., Kauppinen, A. ve Salminen, A. (2009). Clusterin: A forgotten player in Alzheimer's disease. *Brain Research Reviews*, 61(2), 89-104.

Özer PA, Altıparmak UE, Şatana B, Aslan BS, Duman S. (2007). Psödoeksfoliyasyon Sendromu olan ve olmayan hastalarda fakoemülsifikasyon sonrası erken dönemde göz içi basınç takibi ve önemi. *Glo-Kat.* 2:267-270.

Padhy, B., Nanda, G. G., Chowdhury, M., Padhi, D., Rao, A., & Alone, D. P. (2014). Role of an extracellular chaperone, Clusterin in the pathogenesis of Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma. *Experimental eye research*, 127, 69-76.

Pucci S, Bonanno E, Pichiorri F, Angeloni C and Spagnoli LG (2004) Modulation of different CLU isoforms in human colon tumorigenesis. *Oncogene* 23: 2298–2304

Quigley HA. (1996). Number of people with glaucoma worldwide. *Br J Ophthalmol.* 80:389-393.

Rauhala, H. E., Porkka, K. P., Saramäki, O. R., Tammela, T. L., & Visakorpi, T. (2008). Clusterin is epigenetically regulated in prostate cancer. *International Journal of Cancer*, 123(7), 1601-1609.

Rauhala, H., & Visakorpi, T. (2010). Gene Section. <http://AtlasGeneticsOncology.org>, 744.

Rautenbach RM, Bardien S, Harvey J, Ziskind A. (2011). An investigation into LOXL1 variants in black South African individuals with exfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol.* 129(2):206-10.

Redondo M, Villar E, Torre-Munoz J, Tellez T, Morrel M, Petito CK. (2000). Overexpression of clusterin in human breast carcinoma. *Am J Pathol.* 157: 393-399.

Redondo, M., Villar, E., Torres-Munoz, J., Tellez, T., Morell, M., & Petito, C. K. (2000). Overexpression of clusterin in human breast carcinoma. *The American journal of pathology*, 157(2), 393-399.

Ringvold A, Husby G. (1973). Pseudoexfoliation material- an amyloid like substance. *Exp eye Res.* 17:289-299.

Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. (2001). Exfoliation (pseudoexfoliation) syndrome: toward a new understanding. Proceedings of the First International Think Tank. *Acla Ophthalmol Scand*.79:213-7

Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. (2001). Exfoliation syndrome. *Survey Ophthalmol*. 45:265-314.

Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. (2004). Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol*. Savona, İtalya, Editrice DogmaRS.r.l., Avrupa Glokom Cemiyeti, Giriş, 1-4. 265-301.

Rosenberg, M. E. ve Silkensen, J. (1995). Clusterin: Physiologic and Pathophysiologic considerations. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 27, 633-645.

Roth M, David Le. (1980). Exfoliation syndrome. *Am J Ophtalmol*. 89:477-481

Sagong M, Gu BY, Cha SC. (2011). Association of lysyl oxidase-like 1 gene polymorphisms with exfoliation syndrome in Koreans. 17:2808-17.

Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., ... & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487-491.

Sansanwal P, Li L, Sarwal MM. (2015). Inhibition of intracellular clusterin attenuates cell death in nephropathic cystinosis. *Journal of the American Society of Nephrology* 26 (3): 612–25.

Saverio, B., Pierpaola, D., Serenella, A., Cesare, C., Bruno, M., Auro, T., & Arnaldo, C. (2000). Tumor progression is accompanied by significant changes in the levels of expression of polyamine metabolism regulatory genes and clusterin (sulfated glycoprotein 2) in human prostate cancer specimens. *Cancer research*, 60(1), 28-34.

Scaltriti, M., Brausi, M., Amorosi, A., Caporali, A., D'Arca, D., Astancolle, S., ... & Bettuzzi, S. (2004). Clusterin (SGP-2, ApoJ) expression is downregulated in low- and high-grade human prostate cancer. *International journal of cancer*, 108(1), 23-30.

Schlotzer-Schrehardt U, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H. (1992). Pseudoexfoliation syndrome: Ocular manifestation of a systemic disorder. *Arch Ophthalmol*. 110:1752-6.

Schlotzer-Schrehardt U, Lommatzsch J, Kuchle M, Konstas AGP, Naumann GOH. (2003). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 44:1117-25

Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GO. (1994). A histopathologic study of zonular instability in pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 15(118):730-743

Schlotzer-Schrehardt U, Naumann GO. (2006). Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 141:921-937.

Schlotzer-Schrehardt U, Von der Mark K, Sakai LY, Naumann GO. (1997). Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 38:970-84.

Seland JH. (1988). The ultrasutritional changes in the exfoliation syndrome [review]. *Acta Ophthalmol Suppl*. 184:28-34

Shannan, B., Seifert, M., Leskov, K., Willis, J., Boothman, D., Tilgen, W. Ve ark. (2006). Challenge and promise: roles for clusterin in pathogenesis, progression and therapy of cancer. *Cell Death and Differentiation*, 13(1), 12-19.

Sharma S, Chataway T, Burdon KP, Jonavicus L, Klebe S, Hewitt AW. (2009). Identification of LOXL1 protein and Apolipoprotein E as components of surgically

isolated pseudoexfoliation material by direct mass spectrometry. *Experimental Eye Research*. 89:479-485.

Skuta Gl. (1985). Pseudoexfoliation syndrome in. Duane TD, Jaeger EA: *Clinical Ophthalmology Revised Edition*. 40:Chap 33.

Sowery, R. D., Hadaschik, B. A., So, A. I., Zoubeidi, A., Fazli, L., Hurtado-Coll, A., & Gleave, M. E. (2008). Clusterin knockdown using the antisense oligonucleotide OGX-011 re-sensitizes docetaxel-refractory prostate cancer PC-3 cells to chemotherapy. *BJU international*, 102(3), 389-397.

Streeten BW, Dark AJ, Wallace RN, Li ZY, Hoepner JA. (1990). Pseudoexfoliative fibrilopathy in the skin of patients with ocular pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol*. 15;110:490-9.

Streeten BW, Li ZY, Wallace RN, Eagle RC Jr, Keshgegian AA. (1992). Pseudoexfoliative fibrilopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmol*. 110:1757-62.

Temizkan, G. Ve Arda N. (2007). *Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler Kitabı*. Nobel Kitap Evi. İstanbul

Trougakos, I.P. ve Gonos, E.S. (2002). Clusterin/Apolipoprotein J in human aging and cancer. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 34(11), 1430-1448.

Tuncay Yaylacioğlu F. (2013). Türk populasyonunda psödoeksfoliasyonda LOXL1 polimorfizmlerinin ve APOE genotiplerinin araştırılması. Gazi Üniversitesi / Tıp Fakültesi / Göz Hastalıkları Anabilim Dalı. 213 syf.

Tunçdemir, M. (2006). STZ-Diabetik Sıçanlarda ACE İnhibitörü ve Angiotensin Reseptör Blokerinin Böbrek Dokusunda Clusterin ve Apoptoz Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, 29-37.

Turnet, PC, MacLennan, A.G., Bates A.D. ve White, M.R.H. (2004). Moleküler Biyolojide Önemli Notlar. Nobel Yayın Dağıtım, 64-65. Ankara.

Ulusitalo M, Kivelda T, Tarkannen A. (1993). Imminoreactivitiy of exfoliation material fort he celladhesion- related HNK-1 carbohydrate epitope. Arch Ophthalmol; 111:1419-1423.

Wei, L., Xue, T., Wang, J., Chen, B., Lei, Y., Huang, Y., ... & Xin, X. (2009). Roles of clusterin in progression, chemoresistance and metastasis of human ovarian cancer. *International Journal of Cancer*, 125(4), 791-806.

Wilson MR, Easterbrook-Smith SB. (2000) Clusterin is a secreted mammalian chaperone. TIBS. 25:95-98.

Wilson, M.R, Yerbury, J.J. ve Poon, S. (2008). Potential roles of abundant extracellular chaperones in the control of amyloid formation and toxicity. *Molecular BioSystems*, 4, 42-52.

Xie, M. J., Motoo, Y., Su, S. B., Mouri, H., Ohtsubo, K., Matsubara, F., & Sawabu, N. (2002). Expression of clusterin in human pancreatic cancer. *Pancreas*, 25(3), 234-238.

Yalaz M, Ofman I, Nas K. (1992). The frequency of the pseudoexfoliation syndrome in the Eastern Mediterranean area of Turkey. *Acta Ophthalmol*. 70:209.

Yilmaz A, Tamer L, Ates NA, Ateş NA, Camdeviren H, Değirmenci U. (2005). Effects of apolipoprotein E genotyPEX on the development of exfoliation syndrome. *Exp Eye Res*. 80:871–875.

Zenkel M, Kruse FE, Junemann AG, Naumann GO, Schlotzer-Schrehardt U. (2006). Clusterin deficiency in eyes with pseudoexfoliation syndrome may be implicated in the aggregation and deposition of pseudoexfoliative material. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 47(5):1982–1990.

7. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sabire KILIÇARSLAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 15.02.1988
Medeni Hali : Evli
E-Posta : sabire.kilicarslan@gmail.com

EĞİTİM DÜZEYİ

DERECE	BÖLÜM	EĞİTİM KURUMU	YIL
LİSE	Fen bilimleri	Mecidiyeköy Lisesi	2005-2007
LİSANS	Biyoloji	Giresun Üniversitesi	2009-2013
YÜKSEK LİSANS	Tıbbi Biyoloji	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2013-2016
DOKTORA			