

**TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PSÖDOEKSFOLİYASYON SENDROMU VE GLOKOMU İLE CLUSTERİN  
GENETİK POLİMORFİZMLERİ VE CLUSTERİN GÖZYAŞI VE AKÖZ  
HUMOR SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sinem DEMİRKAYA BUDAK**

**Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN**

**NİSAN 2018**

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....  
**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığını onaylarım.

.....  
**Prof. Dr. Osman EROĞUL**  
Anabilim Dalı Başkanı

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün **151711017** numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Sinem DEMİRKAYA BUDAK**'ın ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "**PSÖDOEKSFOLİYASYON SENDROMU VE GLOKOMU İLE CLUSTERİN GENETİK POLİMORFİZMLERİ VE CLUSTERİN GÖZYAŞI VE AKÖZ HUMOR SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**" başlıklı tezi **03.04.2018** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı:** **Doç. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN** .....  
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

**Jüri Üyeleri:** **Prof. Dr. Orhan ADALI (Başkan)** .....  
Orta Doğu Teknik Üniversitesi

**Prof. Dr. Mehmet MUTLU** .....  
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Sinem DEMİRKAYA BUDAK

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PSÖDOEKSFOLİASYON SENDROMU VE GLOKOMU İLE CLUSTERİN  
GENETİK POLİMORFİZMLERİ VE CLUSTERİN GÖZYAŞI VE AKÖZ HUMOR  
SEVİYELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

Sinem DEMİRKAYA BUDAK

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN

Tarih: Nisan 2018

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES), yaşa bağlı olarak gelişen, hücre dışı matrikste lifsi materyallerin hem oküler dokularda hem de çeşitli iç organlarda birikmesi ile karakterize edilen sistemik bir bozukluktur. Psödoeksfoliasyon sebebiyle oluşan glokoma psödoeksfoliatif glokom (PEG) adı verilir ve PEG tedavi edilmediğinde körlüğe sebep olabilmektedir. Bu nedenle PEG ve PES hastalığına yol açan potansiyel faktörlerin bulunması ve PEG gelişme riski olan PES hastalarının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır. Clusterin proteini hücrel stres durumlarında, yanlış katlanmış proteinlerin stresle tetiklenen çökmesi ve yığılmasının önlenmesini sağlar. Isı şoku ve oksidatif stres gibi hücrel stres durumlarında clusterin ifadesi indüklenmektedir. PES hastalarında gözün ön kamarasındaki oksidatif ortam nedeniyle protein yanlış katlanmalarının meydana gelmesine rağmen PEG ve PES hastalarının aköz humor örneklerinde clusterin ifadesi azalmıştır. Clusterin ifadesindeki azalmanın sebeplerinden biri genetik polimorfizmler olabilir. Bu çalışma



PEG ve PES riski ile clusterin genetik polimorfizmleri ve aköz humor ile gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlamıştır.

Bu çalışma kapsamındaki 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyin tam kan örnekleri ile clusterin genetik polimorfizmlerinin genotiplenmeleri PCR-RFLP ve real-time PCR yöntemleri ile yapılmıştır. 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrolün aköz humor örneği ile 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrolün gözyaşı örneğinin clusterin ve total protein konsantrasyonu analizleri ise ELISA ve Bradford yöntemleri ile yapılmıştır. Tüm örnekler Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Servisi'nden (Ankara) alınmıştır.

Bu çalışma erkek olmanın PEG riskini ~2 kat arttırdığını göstermiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için TT genotipi ~3 kat koruyucu, rs3087554 A/G için ise AA genotipi PEG hastalığında ~2.4 kat koruyucu görünmektedir. Birleştirilmiş haplotip analizine göre, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için CC genotipi ile rs3087554 A/G için GA genotipine sahip olmak PEG ile PES hastalıkları için ayırt edici olabilir gibi görünmektedir. Aköz humor örneklerindeki clusterin ve total protein konsantrasyonu ile gözyaşı örneklerindeki total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksektir.

Gözyaşında clusterin seviyesini ve Türk toplumunda aköz humordaki clusterin seviyesini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır ve bu yönüyle bu çalışma ilktir. Clusterin rs1532278 C/T PEG ve PES kapsamında, clusterin rs3087554 A/G Türk popülasyonunda, clusterin rs2279590 C/T ise PEG ve PES kapsamında Türk popülasyonunda ilk kez bu çalışmada incelenmiştir. İleride bu konularda daha fazla çalışma yapılarak bu sonuçlar onaylanabilir ve biyobelirteç olarak kullanılacak bir parametre geliştirilebilir. Bu çalışma bu yönüyle Biyomedikal Mühendisliği'ne katkı sağlayan, ileride geliştirilecek tanı ve tedavi araçları için alt yapı hazırlayan bir proje özelliği taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Psödoeksfoliyasyon, Glokom, Clusterin, rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T, rs2279590 C/T, Genotip, Polimorfizm, Aköz humor, Gözyaşı.

## **ABSTRACT**

Master of Science

**INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN CLUSTERIN GENETIC  
POLIMORPHISMS AND CLUSTERIN LEVEL OF TEAR AND AQUEOUS  
HUMOR IN PSEUDOEXFOLIATION SYNDROME AND GLAUCOMA**

Sinem DEMİRKAYA BUDAK

TOBB University of Economics and Technology  
Institute of Natural and Applied Sciences  
Biomedical Engineering Science Programme

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN

Date: April 2018

Pseudoexfoliation syndrome (PES) is an age-related systemic disorder of extracellular matrix characterized by the presence of fibrillar deposits in both ocular tissues and many internal organs. Glaucoma that occurs due to pseudoexfoliation is called pseudoexfoliative glaucoma (PEG) and can cause blindness if it is not treated. Therefore, in order to find potential factors causing PEG and PES diseases, and the identification of PES patients who are at risk of developing PEG is of great importance. Clusterin protein prevents the stress-induced precipitation and aggregation of misfolded proteins under cellular stress conditions. Clusterin expression is induced in cellular stress conditions such as heat shock and oxidative stress. Despite the formation of misfolded proteins due to the oxidative environment in the anterior chamber of the eye in PES patients, clusterin expression level is unexpectedly low in aqueous humor of PEG and PES patients. Genetic polymorphisms may be one of the factors causing low clusterin expression. This study aimed to investigate the association of clusterin

genetic polymorphisms and clusterin protein levels of aqueous humor and tears in PEG and PES risk.

The genotyping of clusterin genetic polymorphisms from whole blood samples of 213 PEG patients, 214 PES patients and 215 control individuals was performed by PCR-RFLP and real-time PCR methods. Clusterin and total protein concentrations of aqueous humor samples of 12 PEG patients, 17 PES patients, 22 controls and of tear samples of 80 PEG patients, 81 PES patients and 80 controls were analyzed by ELISA and Bradford methods. All samples were obtained from University of Health Sciences, Faculty of Medicine, Gülhane Training and Research Hospital, Ophthalmology Unit, Ankara, Turkey.

This study shows that being male significantly increased PEG risk by ~2-fold. TT genotype in clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T and rs2279590 C/T is ~3-fold protective and AA genotype in rs3087554 A/G is ~2.4-fold protective against PEG disease. According to combined genotype analysis, having CC genotype in clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T and rs2279590 C/T and having AG genotype in rs3087554 A/G seems to be distinctive for PEG and PES diseases. Clusterin and total protein concentration in aqueous humor samples and total protein concentration in tear samples were significantly higher in PEG patients than PES patients and controls.

To the best of our knowledge, this study is the first investigation of clusterin levels in tears and of clusterin levels in aqueous humor in Turkish population. Clusterin rs1532278 C/T, clusterin rs3087554 A/G and clusterin rs2279590 C/T are studied for the first time in PEG and PES risk, in Turkish population and in Turkish population for PEG and PES risk, respectively. These results can be confirmed in the future by further studies on these issues and a parameter to be used as a biomarker can be developed. In this respect, this study is a project that contributes to Biomedical Engineering and prepares background for diagnostic and therapeutic tools that will be developed in the future.

**Keywords:** Pseudoexfoliation, Glaucoma, Clusterin, rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T, rs2279590 C/T, Genotype, Polymorphism, Aqueous humor, Tear.

## TEŞEKKÜR

İlk olarak çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, karşılaştığımız tüm problemlerde her daim sabırlı olup desteğini hiç esirgemeyen ve her açıdan bana çok şey katan, her daim hayatımda olmasını temenni ettiğim sevgili danışmanım Doç. Dr. Birsen Can Demirdöğen'e çok teşekkür ederim.

Kıymetli tecrübelerinden faydalandığım TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği Bölümü öğretim üyelerine ve öğrenimim boyunca bana burs sağlayan TOBB ETÜ ailesine teşekkür ederim.

Bu çalışmada kullanılan tüm örneklerin toplanmasında yardımcı olan Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Servisi'nden Doç. Dr. Tarkan Mumcuoğlu ve Doç. Dr. Gökhan Özge'ye teşekkür ederim.

Tez jüri üyelerim olan Prof. Dr. Orhan Adalı ve Prof. Dr. Mehmet Mutlu'ya değerli eleştiri, öneri ve rehberlikleri için teşekkür ederim.

Bu zamana kadar ortak projelerde yer aldığımız ve çalışmalarımnda bana destek olmuş olan sevgili arkadaşlarım Tuğçe Öztepe, Sinan Oflaz, Gizem Yakar ve Ezgi Göksoy'a destekleri için teşekkür ederim.

Şimdiye kadar tüm problemlerde benimle beraber olan ve deneylerde büyük yardımlarını gördüğüm, bana daima destek olan laboratuvar partnerim, sevgili arkadaşım Canan Koçan'a çok teşekkür ederim.

Beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili annem Hülya Demirkaya, babam Ahmet Demirkaya ve kardeşim Emin Demirkaya'ya destek ve anlayışları için çok teşekkür ederim.

Son olarak bana her konuda yardımcı olan, her daim desteği ve sevgisiyle yanımda olan, beni her zaman cesaretlendiren ve sabırla dinleyen sevgili eşim Güngör Budak'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmayı destekleyen TÜBİTAK'a (115S360) ayrıca teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	vi
TEŞEKKÜR .....	viii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
TABLO LİSTESİ .....	xv
KISALTMALAR .....	xxi
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
1.1 Psödoeksfoliasyon Sendromu .....	1
1.1.1 Tarihçe ve terminoloji.....	1
1.1.2 Tanımı .....	1
1.1.3 Psödoeksfoliasyon sendromunun epidemiyolojisi.....	3
1.1.4 Psödoeksfoliasyon materyalinin yapısı ve patogenezi.....	6
1.1.5 Psödoeksfoliasyonun sistemik tutulumu.....	8
1.1.6 Psödoeksfoliatif glokom .....	10
1.1.6.1 Tanımı.....	10
1.1.6.2 Psödoeksfoliatif glokomun epidemiyolojisi .....	11
1.1.7 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu patogenezi .....	13
1.1.7.1 Psödoeksfoliasyon sendromunun patogenezi .....	13
1.1.7.2 Psödoeksfoliatif glokomun patogenezi.....	13
1.1.7.3 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu genetik faktörleri.....	15
1.1.8 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu çevresel faktörleri.....	19
1.1.9 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu risk faktörleri.....	20
1.1.10 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomundan korunma .....	21
1.2 Clusterin.....	22
1.3 Genetik Polimorfizm .....	25
1.3.1 Tek nükleotit polimorfizmi .....	25
1.3.2 Clusterin geni .....	26
1.3.3 Clusterin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizmi.....	28
1.3.4 Clusterin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmi.....	29
1.3.5 Clusterin rs1532278 C/T tek nükleotit polimorfizmi .....	30
1.3.6 Clusterin rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmi .....	30
1.4 Aköz Humor .....	31
1.5 Gözyaşı .....	32
1.6 Çalışmanın Amacı .....	36
<b>2. MATERYALLER VE METOTLAR.....</b>	<b>39</b>
2.1 Materyaller.....	39
2.1.1 Popülasyon.....	39
2.1.2 Tam kan, aköz humor ve gözyaşı örneklerinin toplanması .....	41
2.1.2.1 Aköz humor alma prosedürü.....	41

2.1.2.2 Gözyaşı alma prosedürü.....	42
2.1.3 Kimyasallar .....	42
2.1.4 Primerler.....	42
2.1.5 TaqMan SNP genotipleme kitleri .....	43
2.2 Metotlar.....	43
2.2.1 İnsan genomik DNA örneklerinin genotipleme için hazırlanması.....	43
2.2.1.1 İnsan tam kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu .....	43
2.2.1.2 Spektrofotometre ile insan genomik DNA konsantrasyonunun belirlenmesi.....	45
2.2.1.3 Spektrofotometre ile insan genomik DNA kalitesinin belirlenmesi .....	46
2.2.1.4 Agaroz jel elektroforezi ile insan genomik DNA kalitesinin belirlenmesi.....	46
2.2.2 Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplemesi.....	48
2.2.2.1 Clusterin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizminin genotiplemesi .....	48
2.2.2.2 Clusterin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizminin genotiplemesi .....	55
2.2.3 Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplemesi .....	59
2.2.3.1 TaqMan SNP genotipleme kitleri ile real-time PCR .....	59
2.2.3.2 TaqMan SNP genotipleme kitleri ile real-time PCR prosedürü .....	65
2.2.4 Aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonunun ve clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi .....	67
2.2.4.1 Aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonunun belirlenmesi .....	67
2.2.4.2 Aköz humor örneklerinde clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi.....	69
2.2.5 Gözyaşı örneklerinden protein geri kazanımı, total protein konsantrasyonu ve clusterin protein konsantrasyonu tespiti.....	71
2.2.5.1 Gözyaşı örneklerinden protein geri kazanımı .....	71
2.2.5.2 Gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonunun belirlenmesi ...	73
2.2.5.3 Gözyaşı örneklerinde clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi .....	74
2.2.6 İstatistiksel analizler.....	75
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>77</b>
3.1 Çalışma Grubu .....	77
3.2 Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T Tek Nükleotit Polimorfizmlerinin Genotiplemesi .....	79
3.2.1 Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplemesi.....	79
3.2.1.1 Clusterin rs11136000 C/T SNP genotiplemesi .....	79
3.2.1.2 Clusterin rs3087554 A/G SNP genotiplemesi .....	81
3.2.2 Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplemesi .....	83
3.3 Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T Tek Nükleotit Polimorfizmlerinin Genotip ve Alel Frekansları .....	83
3.3.1 Clusterin rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	84
3.3.2 Clusterin rs3087554 A/G SNP'sinin genotip ve alel frekansları .....	84

3.3.3 Clusterin rs1532278 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	87
3.3.4 Clusterin rs2279590 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları.....	89
3.3.5 Clusterin polimorfizmlerinin ikili, üçlü ve dördü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı.....	89
3.4 Aköz Humor Örneklerinde Analizler .....	93
3.4.1 Aköz humor örneklerinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı .....	93
3.4.2 Aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine bazı risk faktörlerinin etkilerinin değerlendirilmesi .....	99
3.4.2.1 Yaşın etkisi .....	99
3.4.2.2 Cinsiyetin etkisi .....	102
3.4.2.3 Diyabetin etkisi .....	104
3.4.2.4 Hipertansiyonun etkisi .....	106
3.4.2.5 Kalp hastalığının etkisi .....	108
3.4.2.6 Sigaranın etkisi .....	110
3.4.3 Aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile clusterin polimorfizmleri arasındaki ilişki.....	112
3.4.4 Aköz humor örnekleri popülasyonu için korelasyon analizi .....	123
3.5 Gözyaşı Örneklerinde Analizler .....	124
3.5.1 Gözyaşı örneklerinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı .....	124
3.5.2 Gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine bazı risk faktörlerinin etkilerinin değerlendirilmesi .....	130
3.5.2.1 Yaşın etkisi .....	130
3.5.2.2 Cinsiyetin etkisi .....	133
3.5.2.3 Diyabetin etkisi .....	135
3.5.2.4 Hipertansiyonun etkisi .....	137
3.5.2.5 Kalp hastalığının etkisi .....	139
3.5.2.6 İnmenin etkisi .....	141
3.5.2.7 Sigaranın etkisi .....	143
3.5.3 Gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile clusterin polimorfizmleri arasındaki ilişki .....	145
3.5.4 Gözyaşı örnekleri popülasyonu için korelasyon analizi .....	159
3.6 Aköz Humor ve Gözyaşıdaki Protein Seviyeleri Arasındaki İlişki .....	163
3.7 Lojistik Regresyon Analizi .....	165
<b>4. TARTIŞMA .....</b>	<b>177</b>
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>207</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>211</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>237</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>273</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1:	Gözün anatomisi. ....	2
Şekil 1.2:	Psödoeksfoliasyon materyali birikimi. ....	3
Şekil 1.3:	Glokomlu göz. ....	12
Şekil 1.4:	Clusterin 3D yapıları (~%23 benzerlik ile).....	22
Şekil 1.5:	Farklı dokulardaki clusterin gen ekspresyonları. ....	24
Şekil 1.6:	Clusterin geninin 8. kromozom üzerindeki lokasyonu. ....	26
Şekil 1.7:	Clusterin geninin genomik lokasyonu ve transkriptleri.....	27
Şekil 1.8:	Clusterin geninde incelenen SNP'lerin gen üzerindeki lokasyonları. ..	28
Şekil 2.1:	Agaroz jel elektroforezi ile insan genomik DNA kalitesinin belirlenmesi.....	46
Şekil 2.2:	Clusterin geninin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizmini içeren bölgesinin sekansı. ....	49
Şekil 2.3:	Clusterin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizmine ait genotiplerin belirlenmesi ve şematik agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	51
Şekil 2.4:	Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot yabancı tip (CC) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.....	53
Şekil 2.5:	Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot polimorfik (TT) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.....	54
Şekil 2.6:	Clusterin geninin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmini içeren bölgesinin sekansı. ....	55
Şekil 2.7:	Clusterin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmine ait genotiplerin belirlenmesi ve şematik agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	57
Şekil 2.8:	Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot yabancı tip (AA) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.....	60
Şekil 2.9:	Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot polimorfik (GG) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.....	61
Şekil 2.10:	Real-time PCR reaksiyonları şematik gösterimi.....	63
Şekil 2.11:	Amplifikasyon eğrisi ile genotiplerin belirlenmesi. ....	64
Şekil 2.12:	Alelik ayırma grafiğinde örneklerin genotiplerine göre gösterimi. ....	65
Şekil 2.13:	96 kuyucuklu real-time PCR plakasının cihaz içine yerleştirilmesi. ....	66
Şekil 2.14:	Coomassie (Bradford) Protein Assay kiti kullanılarak hazırlanan plaka ve gözlemlenen renk değişimi. ....	68
Şekil 2.15:	Aköz humor örneklerindeki total protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği.....	68
Şekil 2.16:	İnsan clusterin ELISA kiti kullanılarak hazırlanan plaka ve gözlemlenen renk değişimi. ....	70



Şekil 2.17:	Aköz humor örneklerindeki clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. ....	71
Şekil 2.18:	Schirmer striplerden proteinlerin geri kazanımı. ....	72
Şekil 2.19:	Gözyaşı örneklerindeki total protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. ....	73
Şekil 2.20:	Gözyaşı örneklerindeki clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. ....	74
Şekil 3.1:	Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	80
Şekil 3.2:	Clusterin rs11136000 C/T SNP için kesim ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	81
Şekil 3.3:	Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	82
Şekil 3.4:	Clusterin rs3087554 A/G SNP için kesim ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. ....	83
Şekil 3.5:	PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	98
Şekil 3.6:	Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu. ....	117
Şekil 3.7:	PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu. ....	118
Şekil 3.8:	Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonu. ....	119
Şekil 3.9:	PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein konsantrasyonu. ....	120
Şekil 3.10:	Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde total protein içindeki clusterin oranı. ....	121
Şekil 3.11:	PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein içindeki clusterin oranı. ....	122
Şekil 3.12:	PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	129
Şekil 3.13:	Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu. ....	152
Şekil 3.14:	PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu. ....	153
Şekil 3.15:	Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonu. ....	155

- Şekil 3.16: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein konsantrasyonu..... 156
- Şekil 3.17: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde total protein içindeki clusterin oranı..... 157
- Şekil 3.18: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein içindeki clusterin oranı. .... 158



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

Tablo 1.1:	Belirli popülasyonlarda saptanan PES prevalansları özeti. ....	4
Tablo 1.2:	Türkiye’de yapılan çalışmalarda saptanan PES prevalansları özeti. ....	6
Tablo 2.1:	Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP’lerinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılacak olan ileri ve geri primer sekansları.....	43
Tablo 2.2:	TaqMan SNP genotipleme kitlerinin TaqMan assay numaraları.....	43
Tablo 2.3:	Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP’lerinin amplifikasyon bölgeleri, PCR ürün uzunluğu, PCR ürününü kesmek için kullanılacak restriksiyon endonükleaz enzimi (RE), oluşacak kesim ürünlerinin uzunlukları ve buna karşılık gelen genotipler. ....	48
Tablo 2.4:	Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR karışımı içeriği.....	49
Tablo 2.5:	Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR programı. ....	50
Tablo 2.6:	Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesi için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim karışım içeriği.....	52
Tablo 2.7:	Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR karışımı içeriği. ....	56
Tablo 2.8:	Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR programı. ....	56
Tablo 2.9:	Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesi için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim karışım içeriği (iyi bant veren PCR ürünleri için). ....	58
Tablo 2.10:	Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesi için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim karışım içeriği (silik bant veren PCR ürünleri için). .	58
Tablo 2.11:	Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP’lerinin gen üzerinde bulunduğu bölgeler ve bu SNP’ler için FAM ve VIC boyaalarının temsil ettiği aleller. ....	64
Tablo 2.12:	Real-time PCR için gerekli reaksiyon karışımı içeriği. ....	67
Tablo 2.13:	TaqMan SNP genotipleme kiti kullanılarak real-time PCR yapmak için kullanılan program. ....	67
Tablo 3.1:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerin yaş bilgileri. ....	77
Tablo 3.2:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde cinsiyet ve bazı risk faktörlerinin bilgileri ve risk analizi. ....	78
Tablo 3.3:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs11136000 C/T genotip ve alel frekanslarının dağılımı. ....	85
Tablo 3.4:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs11136000 C/T genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları. ....	85
Tablo 3.5:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs3087554 A/G genotip ve alel frekanslarının dağılımı. ....	86

Tablo 3.6:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs3087554 A/G genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları. ....	86
Tablo 3.7:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs1532278 C/T genotip ve alel frekanslarının dağılımı. ....	88
Tablo 3.8:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs1532278 C/T genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları. ....	88
Tablo 3.9:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs2279590 C/T genotip ve alel frekanslarının dağılımı. ....	90
Tablo 3.10:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs2279590 C/T genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları. ....	90
Tablo 3.11:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin ikili olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı. ....	91
Tablo 3.12:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin üçlü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı. ....	94
Tablo 3.13:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin dördü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı. ....	96
Tablo 3.14:	PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	97
Tablo 3.15:	Farklı yaş gruplarının aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	100
Tablo 3.16:	Farklı yaş gruplarının aköz humor örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	101
Tablo 3.17:	Erkek ve kadın bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	102
Tablo 3.18:	Erkek ve kadın bireylerin aköz humor örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	103
Tablo 3.19:	Diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	104
Tablo 3.20:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	105
Tablo 3.21:	Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	106
Tablo 3.22:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	107

Tablo 3.23:	Kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	108
Tablo 3.24:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	109
Tablo 3.25:	Sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	110
Tablo 3.26:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	111
Tablo 3.27:	Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.	113
Tablo 3.28:	Clusterin rs3087554 A/G SNP genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması. ....	114
Tablo 3.29:	PEG hastalarının aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu. ....	125
Tablo 3.30:	PES hastalarının aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu. ....	126
Tablo 3.31:	Kontrol aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu. ....	127
Tablo 3.32:	PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	128
Tablo 3.33:	Farklı yaş gruplarının gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.	131
Tablo 3.34:	Farklı yaş gruplarının gözyaşı örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	132
Tablo 3.35:	Erkek ve kadın bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	133
Tablo 3.36:	Erkek ve kadın bireylerin gözyaşı örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	134
Tablo 3.37:	Diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	135

Tablo 3.38:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	136
Tablo 3.39:	Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.....	137
Tablo 3.40:	Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin gözyaşı örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	138
Tablo 3.41:	Kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	139
Tablo 3.42:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.....	140
Tablo 3.43:	İnme hastalığı geçirmiş (inme +) ve inme hastalığı geçirmemiş (inme –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	141
Tablo 3.44:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan inme hastalığı geçirmiş (inme +) ve inme hastalığı geçirmemiş (inme –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	142
Tablo 3.45:	Sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı. ....	143
Tablo 3.46:	PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.....	144
Tablo 3.47:	Clusterin rs11136000 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.	147
Tablo 3.48:	Clusterin rs3087554 A/G genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.	148
Tablo 3.49:	Clusterin rs1532278 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.	149
Tablo 3.50:	Clusterin rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.	150

Tablo 3.51:	PEG hastalarının gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu. ....	160
Tablo 3.52:	PES hastalarının gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu. ....	161
Tablo 3.53:	Kontrol gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu. ....	162
Tablo 3.54:	PEG hastalarının aköz humor ve gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı korelasyonu. ....	164
Tablo 3.55:	PES hastalarının aköz humor ve gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı korelasyonu. ....	164
Tablo 3.56:	Kontrol aköz humor ve gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı korelasyonu. ....	165
Tablo 3.57:	Model 1.1: Tüm popülasyonda PEG hastalığı risk faktörlerinin toplu, dominant ve resesif genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi. ....	167
Tablo 3.58:	Model 2.1.1: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG hastalığı risk faktörlerinin toplu genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi. ....	170
Tablo 3.59:	Model 2.1.2: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG hastalığı risk faktörlerinin dominant genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi. ....	171
Tablo 3.60:	Model 2.1.3: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG hastalığı risk faktörlerinin resesif genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi. ....	172
Tablo 3.61:	Model 2.2: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PES hastalığı risk faktörlerinin toplu, dominant ve resesif genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi. ....	174
Tablo 4.1:	Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs11136000 C/T polimorfik alel frekansları. ....	183
Tablo 4.2:	Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs3087554 A/G polimorfik alel frekansları. ....	186
Tablo 4.3:	Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs1532278 C/T polimorfik alel frekansları. ....	187
Tablo 4.4:	Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs2279590 C/T polimorfik alel frekansları. ....	189
Tablo 4.5:	Aköz humor total protein konsantrasyonu literatür özeti. ....	194
Tablo Ek.1:	213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. ....	244

- Tablo Ek.2: Tüm çalışma grubunda aköz humor örnekleri de bulunan 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı..... 262
- Tablo Ek.3: Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı..... 264





## KISALTMALAR

<b>3D</b>	: 3 boyutlu
<b>APOE</b>	: Apolipoprotein E
<b>bç</b>	: Baz çifti
<b>bp</b>	: Base pair – baz çifti
<b>CNTNAP</b>	: Contactin associated protein like – kontaktin ilişkili protein benzeri
<b>CTGF</b>	: Bağ dokusu büyüme faktörü
<b>DNA</b>	: Deoksiribo nükleik asit
<b>dNTP</b>	: Deoksi nükleotit trifosfat
<b>ELISA</b>	: Enzyme-linked immunoSorbent assay – enzime bağlı immünosorban testi
<b>EtBr</b>	: Etidyum bromür
<b>GİB</b>	: Göz içi basıncı
<b>gMAF</b>	: Global minör alel frekansı
<b>GST</b>	: Glutasyon S-transferaz
<b>HLA</b>	: Human leukocyte antigen – insan lökosit antijeni
<b>Ig</b>	: İmmüoglobulin
<b>LOXL</b>	: Çapraz bağlayıcı enzim lizil oksidaz-benzeri
<b>LTBP</b>	: Latent-transforming growth factor beta-binding protein – gizli dönüştürücü büyüme faktörü beta bağlayıcı protein
<b>MAGP</b>	: Microfibril-associated glycoprotein – mikrofibril ilişkili glikoprotein
<b>MMP</b>	: Matriks metalloproteinaz
<b>mRNA</b>	: Mesajcı RNA
<b>PCR</b>	: Polymerase chain reaction – poimeraz zincir reaksiyonu
<b>PEG</b>	: Psödoeksfoliatif glokom
<b>PES</b>	: Psödoeksfoliyasyon sendromu
<b>RE</b>	: Restriksiyon endonükleaz enzimi
<b>RFLP</b>	: Restriction Fragment Length Polymorphism – restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi
<b>RPKM</b>	: Reads per kilobase of transcript per million mapped reads – her milyon eşleştirilmiş okumanın, transkriptin her kilobazındaki okuması
<b>SD</b>	: Standart sapma
<b>SNP</b>	: Tek nükleotit polimorfizmi
<b>TGF</b>	: Transforming growth factor – dönüştürücü büyüme faktörü
<b>TGM</b>	: Transglutaminaz
<b>TIA</b>	: Transient ischemic attack – geçici iskemik atak
<b>TIMP</b>	: Tissue inhibitor of metalloproteinases – metalloproteinazların doku inhibitörü
<b>TNF</b>	: Tumor necrosis factor – tümör nekroz faktörü
<b>UTR</b>	: Untranslated region – Transle edilmeyen bölge
<b>UV</b>	: Ultraviyole



# 1. GİRİŞ

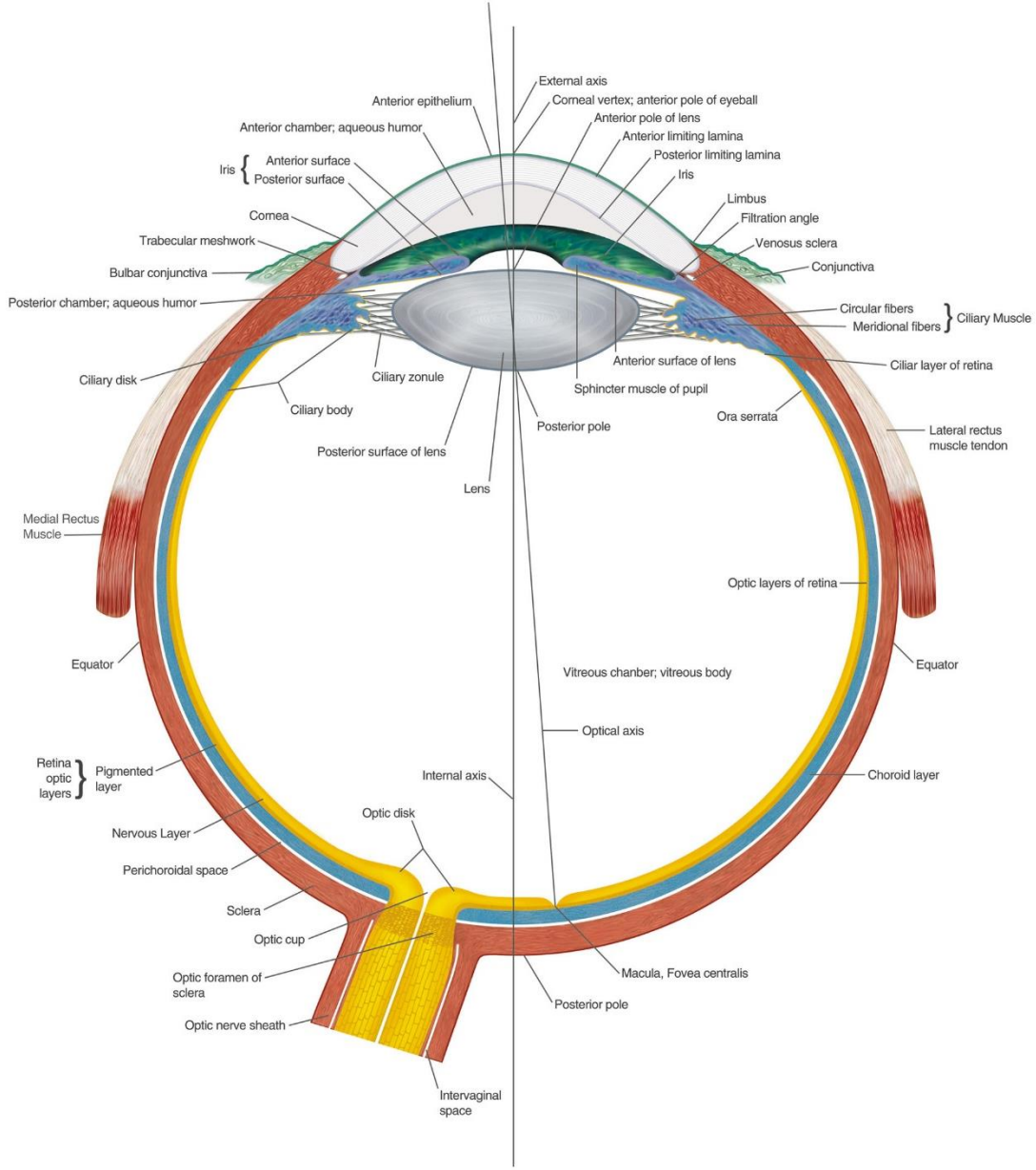
## 1.1 Psödoeksfoliasyon Sendromu

### 1.1.1 Tarihçe ve terminoloji

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES) ilk olarak 1917 yılında Finlandiyalı göz doktoru Lindberg tarafından, muayene ettiği kronik glokomlu hastalarının %50'sinden fazlasında gözlemediği pupilla kenarındaki gri beyaz renkte beneklenmeyi tarif etmesiyle literatüre girmiştir (Lindberg, 1989; Bhat, 2010). 1925 yılında Vogt gri renkteki bu maddenin lens kapsülünden kaynaklandığını, kronik glokom ile ilişkili olduğunu düşünmüş, lens kapsülünün senil ekfoliasyonu (senile exfoliation) ve kapsüler glokom (glaucoma capsulare) terimlerini ortaya atmıştır. 1954 yılında Georgiana Dvorak-Theobald adlı bir Amerikalı oküler patolog, psödoeksfoliasyon terimini, gerçek ekfoliasyon sendromundan (true exfoliation syndrome) ayırt etmek için önermiştir. Gerçek ekfoliasyon, lens kapsülü önünde cam üfleme veya kızılötesi radyasyona maruz kalma nedeniyle oluşur ve lens kapsülünün tabakalı delaminasyonu (tabakaların ayrılması) ile karakterizedir.

### 1.1.2 Tanımı

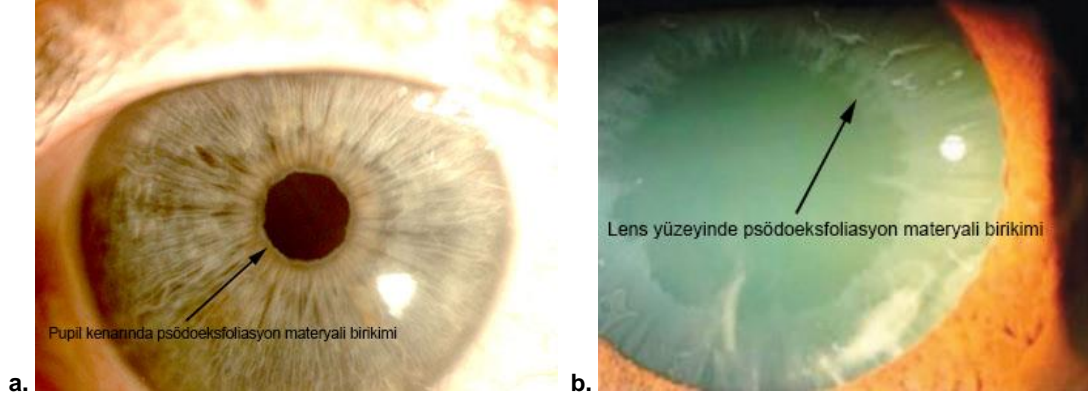
Psödoeksfoliasyon sendromu (PES), yaşa bağlı olarak gelişen, hücre dışı matrikste lifsi materyallerin hem oküler dokularda hem de çeşitli iç organlarda birikmesi ile karakterize edilen sistemik bir bozukluktur (Andrikopoulos vd., 2014). Psödoeksfoliasyon gözün ön segmentindeki tüm dokularda görülmektedir (Şekil 1.1). Lens epiteli, iris, konjonktiva, silier proses, trabeküler ağ ve perioküler dokuların da bu lifsi materyali içerdiği gösterilmiştir (Richardson vd., 1981; Schlötzer-Schrehardt vd., 1991). PES'in sistemik bir hastalık olarak nitelendirilmesi, tipik ekfoliasyon birikimlerine kalp, beyin, aort, böbrek, deri gibi birçok dokuda da rastlanması sebebiyledir (Schlötzer-Schrehardt vd., 1992; Streeten vd., 1992).



Şekil 1.1: Gözün anatomisi. (URL-1).

PES tanısı tam oftalmolojik muayene sırasında psödoeksfoliasyon materyalinin slit lamp (yarık lamba) mikroskobunda inceleme ile direkt gözlenebilmesi sayesinde konur. En önemli tanı kriteri, herhangi bir subjektif bulgu olmadan irisin pupil (göz bebeği) kenarında ve lens üzerinde depolanan beyaz-gri renkli psödoeksfoliasyon materyalinin görülmesidir (Andrikopoulos vd., 2014; Elhawy vd., 2012) (Şekil 1.2).

Psödoeksfoliasyon sebebiyle oluşan glokoma psödoeksfoliatif glokom (PEG) adı verilir ve PEG tedavi edilmediğinde körlüğe sebep olabilmektedir. Bu sebeple glokom gelişme riski olan PES hastalarının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır.



Şekil 1.2: Psödoeksfolyasyon materyali birikimi. a. Pupil kenarında (Fingeret ve Weinreb, 2015'ten uyarlanmıştır). b. Lens yüzeyinde (Ariga vd., 2013'ten uyarlanmıştır).

### 1.1.3 Psödoeksfolyasyon sendromunun epidemiyolojisi

Toplumda PES görülme sıklığı ve psödoeksfolyatif materyal birikimi yaşa bağlı olarak artmaktadır (Mitchell vd., 1999). PES genellikle ilk tanı anında unilateral (tek yönlü) seyreder, ancak 5-10 yıl içinde bilateral (çift yönlü) olma özelliği kazanabilir. Yapılan bir çalışmada hastaların %48-76'sında tek göze PES tanısının konulmasının ardından, 5-10 yıl içerisinde olguların %13-43'ünde her iki gözde de PES görülmüştür (Gillies ve Brooks, 1988). Sikloskopi ile unilateral olguların %76'sında diğer gözde, pupil kenarında ve lens ön yüzünde psödoeksfolyatif materyale rastlanmıştır (Mizuno ve Muroi, 1979). Estonya'da yapılan bir çalışmada, her iki gözde PES görülme oranı %47 (Kaljurand ve Puska, 2004) olarak bildirilirken, Etiyopya'da yapılan bir çalışmada ise bilateralite oranı %62.2 olarak bulunmuştur (Teshome ve Regassa, 2004).

Epidemiyolojik çalışmalar incelendiğinde PES'in tüm dünyada yaygın olduğu, ancak toplumlar arasında değişik sıklıklarda görüldüğü dikkat çekmektedir (Ringvold vd., 1999). PES prevalansı coğrafik, etnik ve irksal varyasyon göstermektedir ve yaşa bağlı olarak prevalansta artış görülmektedir. Dünya genelinde PES görülme sıklığı 60 yaş üstü bireylerde %10 ile %20 arasındadır (Schlötzer-Schrehardt, 2011).

PES Tunus, Norveç, Rusya, Suudi Arabistan, İsveç, Yunanistan, İzlanda, Finlandiya ve Türkiye'de yüksek prevalans göstermektedir ve bu popülasyonlarda PES prevalansı genellikle %15'in üstündedir (Forsius, 1988; Shazly vd., 2011; Lemmelä vd., 2009; Forsius vd., 2002; Forsman vd., 2007; Örgen, 1949) (Tablo 1.1 ve Tablo 1.2). İskandinavya'da, 70 yaş üzerindeki hastalarla yapılan bir çalışmada, en yüksek oran

İzlanda'da %29 ve Finlandiya'da %22.4 olarak rapor edilmiştir (Forsius vd., 2002). Finlandiya'da yapılan bir çalışmada 50 yaş üzerindeki 247 gözde PES %8.1, 70 yaş üzeri 70 gözde %18.4 oranında bulunmuştur (Forsman vd., 2007). Estonya'da yapılan bir çalışmada PES prevalansı %35.4 olarak bildirilmiştir (Kaljurand ve Puska, 2004). Etiyopya'da yapılan bir başka çalışma PES prevalansını %39.3 olarak belirtmiştir (Teshome ve Regassa, 2004). Çeşitli etnik popülasyonlarda yapılan bir çalışmada 50-69 yaşları arasında Finlandiya'da %10 (70 yaş üstünde %25.3), İzlanda'da %11 (70 yaş üstünde %31.5) ve Rusya'nın Novosibirsk bölgesinde %13.3 (70 yaş üstünde %21.4) yaygınlık değerleri bildirilirken, bu oranın Tunus'ta %3.8 (70 yaş üstünde %19.1), Peru yerlileri ve Hindistan'da %0.8 (70 yaş üstünde %14.3) olduğu, Eskimolarda ise PES görülmediği belirtilmiştir (Forsius, 1988). Almanya, Japonya, Danimarka, İngiltere, Avusturya ve İsviçre'de PES görülme sıklığı oldukça düşüktür; 70 yaş üstü kişilerde %6'nın altındadır (Aasved, 1979; Miyazaki vd., 2005; Forsius, 1988). Kanada, Grönland ve Alaska'daki Eskimolarda PES görülmezken (Arnarsson, 2009; Forsius, 1988; Shazly, 2011), Arizona'daki Hint asıllı Navajo popülasyonunda PES görülme sıklığı %38'dir (Arnarsson, 2009). Hastane tabanlı çalışmalar, Pakistan'da %6.45, Hindistan'da %7.4 oranında bir prevalans göstermiştir. Çin'de 60 yaş ve üzeri hastalarda PES prevalansı %0.4 olarak tespit edilmiştir (Bhat, 2010). Avrupa'daki bakımevlerinde yaşayan 60 yaş üzerindeki kişilerde yapılan bir çalışmada PES prevalansı, İngiltere'de %4, Almanya'da %4.7 ve Norveç'te %6.3 olarak bulunmuştur (Aasved, 1979). Asya ve Afrika popülasyonlarında PES prevalansı daha düşük olarak bildirilmektedir. Japonya'da 50 yaş üzerinde yapılan bir çalışmada bu oran %3.4 olarak bulunmuştur (Miyazaki vd., 2005). Singapur Çinlilerinde bu oran 60 yaş üstünde %0.7 (Foster ve Seah, 2005) olarak bulunurken, Hong Kong Çinlilerinde %0.4 (Young vd., 2004) olarak bulunmuştur. Hindistan'da ise bu oran %3.01-6.28 arasındadır (Krishnadas vd., 2003; Thomas vd., 2005) (Tablo 1.1).

Tablo 1.1: Belirli popülasyonlarda saptanan PES prevalansları özeti.

Popülasyon	PES Prevalansı	Referans
Almanya – 60 yaş üstü	%4.7	Aasved, 1979
Arizona'daki Hint asıllı Navajo popülasyonu	%38	Arnarsson, 2009
Avusturya	%1.7	Forsius, 1988
Çin – 60 yaş üstü	%0.4	Bhat, 2010
Danimarka	%1.9 – 4.8	Forsius, 1988

Tablo 1.1 (devamı): Belirli popülasyonlarda saptanan PES prevalansları özeti.

Popülasyon	PES Prevalansı	Referans
Eskimo	%0	Arnarsson, 2009; Forsius, 1988; Shazly, 2011
Estonya	%35.4	Kaljurand ve Puska, 2004
Etiyopya	%39.3	Teshome ve Regassa, 2004
Finlandiya – 50 ile 69 yaş arası	%10	Forsius, 1988
Finlandiya – 50 yaş üstü 247 gözde	%8.1	Forsman vd., 2007
Finlandiya – 70 yaş üstü	%22	Lemmelä vd., 2009
Finlandiya – 70 yaş üstü	%22.4	Forsius vd., 2002
Finlandiya – 70 yaş üstü 70 gözde	%18.4	Forsman vd., 2007
Finlandiya – 70 yaş ve üstü	%25.3	Forsius, 1988
Hindistan	%7.4	Bhat, 2010
Hindistan	%3.01 – 6.28	Krishnadas vd., 2003; Thomas vd., 2005
Hong Kong Çinlileri – 60 yaş üstü	%0.4	Young vd., 2004
İngiltere – 60 yaş üstü	%4	Aasved, 1979
İsveç	%18	Forsius, 1988
İsviçre	%2	Forsius, 1988
İzlanda – 50 ile 69 yaş arası	%11	Forsius, 1988
İzlanda – 60 yaş üstü	%21	Shazly vd., 2011
İzlanda – 70 yaş üstü	%29	Forsius vd., 2002
İzlanda – 70 yaş ve üstü	%31.5	Forsius, 1988
Japonya – 50 yaş üstü	%3.4	Miyazaki vd., 2005
Norveç – 60 yaş üstü	%6.3	Aasved, 1979
Norveç	%18	Forsius, 1988
Norveç	%56	Forsius, 1988
Pakistan	%6.45	Bhat, 2010
Peru yerlileri ve Hindistan – 50 ile 69 yaş arası	%0.8	Forsius, 1988
Peru yerlileri ve Hindistan – 70 yaş ve üstü	%14.3	Forsius, 1988
Rusya'nın Novosibirsk bölgesi – 50 ile 69 yaş arası	%13.3	Forsius, 1988
Rusya'nın Novosibirsk bölgesi – 70 yaş ve üstü	%21.4	Forsius, 1988
Singapur Çinlileri – 60 yaş üstü	%0.7	Foster ve Seah, 2005
Suudi Arabistan	%25	Forsius, 1988
Tunus – 50 ile 69 yaş arası	%3.8	Forsius, 1988
Tunus – 70 yaş ve üstü	%19.1	Forsius, 1988
Ürdün (Arap ülkesi)	%9.1	Shazly vd., 2011
Yemen (Arap ülkesi)	%19.53	Shazly vd., 2011
Yunanistan	>%15	Forsius, 1988

PES ülkemizde de önemli oküler sorunlar arasında yer almaktadır. PES görülme sıklığı ülkemizde 40 yaş üzerinde %11.3 (İskeleli, 1978) olarak bulunurken 50 yaş üzerinde %18.2 (Örgen, 1949) olarak bulunmuştur. PES prevalansı Ankara'da 40 yaş üzerinde

%12.8 (İrkeç ve Bozkurt, 2009), İstanbul'da %11 (Alpay ve Ersoy, 1989), Karadeniz Bölgesi'nde %16.5 (Arıtürk vd., 2005), Orta Karadeniz Bölgesi'nde %12.2 (Cumurcu vd., 2010), Doğu Akdeniz Bölgesi'nde 60 yaş ve üzerindeki kişilerde ise %11.2 (Yalaz vd., 1992) olarak bildirilmiştir (Tablo 1.2).

Tablo 1.2: Türkiye'de yapılan çalışmalarda saptanan PES prevalansları özeti.

Popülasyon	PES Prevalansı	Referans
Türkiye – 40 yaş üstü	% 11.3	İskeleli, 1978
Türkiye – 50 yaş üstü	% 18.2	Örgen, 1949
Ankara – 40 yaş üstü	% 12.8	İrkeç ve Bozkurt, 2009
İstanbul	% 11	Alpay ve Ersoy, 1989
Karadeniz bölgesi	% 16.5	Arıtürk vd., 2005
Orta Karadeniz bölgesi	% 12.2	Cumurcu vd., 2010
Doğu Akdeniz bölgesi – 60 yaş ve üstü	% 11.2	Yalaz vd., 1992

#### 1.1.4 Psödoeksfoliasyon materyalinin yapısı ve patogenezi

Psödoeksfoliatif materyal, ışık mikroskopunda periyodik asit-Schiff pozitif boya tutulumu gösterir ve eozinofilik, nodüler ya da tüsü görünümlü agregatlar olarak ön segment yapılarında görülür. Bu materyal polisakkaritçe zengindir. Psödoeksfoliatif materyalin çok orijinli olan ve yaşlanan epitelyal hücreler tarafından üretilen anormal bazal membran yapı taşlarına bağlı olduğu düşünülmektedir. Psödoeksfoliatif materyal düzensiz fibriler ağlar (Tip A ve Tip B) içermektedir (Schlötzer-Schrehardt vd., 2001a). Son yıllarda yapılmış birçok çalışmaya rağmen psödoeksfoliatif materyalin kimyasal bileşenleri henüz kesin olarak ortaya konamamıştır. Psödoeksfoliatif materyal papain, kollajenaz, pepsin ve tripsin gibi birçok enzim tarafından yıkılmaya dirençlidir (Schlötzer-Schrehardt vd., 2001b). İndirekt histokimyasal ve immünohistokimyasal bulgular, fibriller psödoeksfoliatif materyalin elastik fibril elemanları (fibrillin-1, elastin, tropoelastin, vitronektin, amiloid P) içeren kompleks bir glikoprotein/proteoglikan yapısından oluştuğunu göstermiştir. Aslında elastik mikrofibril bileşenleri olan fibrillin-1, elastin, vitronektin, amiloid P, MAGP-1 (microfibril-associated glycoprotein 1 – mikrofibrille ilişkili glikoprotein 1), emilin, LTBP-1 (latent-transforming growth factor beta-binding protein 1 – gizli dönüştürücü büyüme faktörü beta bağlayıcı protein 1), LTBP-2 gibi elastik fiber epitoplalarının yaygın olarak görülmesi, PES'in özellikle elastik mikrofibrilleri etkileyen bir elastoz



(elastosis – elastik dokunun dejenerasyonu/parçalanması) tipi olduğunu düşündürmektedir (Schlötzer-Schrehardt vd., 2000; Streeten vd., 1992).

PES'in anormal ekstrasellüler matriks sentezi ile ilgili bir bozukluk olduğu hakkında güçlü deliller vardır. Bazı çalışmalarda PES'li hastaların aköz humorlarında büyüme faktörü aktivitesinin belirgin olarak arttığı saptanmıştır ve büyüme faktörü aktivitesini işaret eden TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor beta 1 – dönüştürücü büyüme faktörü beta 1) ile TGF- $\beta$ 2 düzeyleri yüksek bulunmuştur. TGF- $\beta$ 1'in elastik mikrofibrillerin aşırı üretimini, onların enzimatik çapraz bağlanmasını ve post-translasyonel glikolizasyonunu sağlamasıyla, dokular içinde çözülen fakat zamanla birikim gösteren tipik fibrillerin oluşumunu uyardığı düşünülmektedir (Ritch ve Schlötzer-Schrehardt, 2001; Schlötzer-Schrehardt vd., 2001b; Kottler vd., 2005; Schlötzer-Schrehardt vd., 2000).

PES hastalarının aköz humorlarında, matriks metalloproteinazların ve onların inhibitörlerinin konsantrasyonlarında artış saptanmış ve ortalama askorbik asit düzeylerinde belirgin azalma görülmüştür. Askorbik asit, serbest radikallere karşı başlıca koruyucu faktör olduğu için, PES etiolojisinde serbest radikallerin rolü olduğu düşünülmüştür. In vivo oksidatif stres belirteci olan 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$  konsantrasyonunun PES'li hastaların aköz humorlarında kontrol grubundan 5 kat fazla olduğu saptanmıştır. 8-izo-prostaglandin F2 $\alpha$  ile askorbik asit düzeyleri arasında ters korelasyon vardır. Elde edilen bu bulgular serbest radikallerin neden olduğu oksidatif hasarın PES patogenezindeki rolü için ek kanıt sağlamıştır (Schlötzer-Schrehardt vd., 2003).

Elektron mikroskobu ile yapılan histokimyasal çalışmalarda, psödoeksfoliatif materyalde lizozomal enzim belirteci olan asit fosfataz aktivitesinde artış olduğu ve katepsin B gibi diğer lizozomal proteinazlarda da anlamlı artış olduğu saptanmıştır (Mizuno vd., 1980). PES aköz humorlarında  $\alpha$ 1-lipoprotein, transferin, fibronektin, seruloplazmin, albumin ve IgG (immünoglobulin G) düzeylerinde değişiklikler tespit edilmiş ve bunların hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. Oksidatif stresin göstergesi olan protein oksidasyonu, karbonil gruplarının ölçülmesi ile tespit edilmektedir. Yapılan bir çalışmada PES'li hastalardan alınan serum ve aköz humor örneklerinde protein karbonil düzeyleri kontrol grubuna oranla anlamlı yüksek olarak bulunmuştur (Yağcı vd., 2008).

Penetran keratoplastinin (verici korneanın tüm katmanlarıyla alıcı korneaya nakil edilmesi) yaşlı donörlerden yapılmasının ardından PES gelişen genç hastaların varlığı, akraba olmayan evli çiftlerdeki PES prevalansının beklenenden yüksek olarak görülmesi, çocukluktaki travma ya da intraoküler cerrahiden yıllar sonra PES gelişmesi PES etiyolojisinde hem genetik hem de çevresel faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir (Schlötzer-Schrehardt vd., 1997).

### **1.1.5 Psödoeksfoliasyonun sistemik tutulumu**

İlk olarak Schlötzer-Schrehardt ve arkadaşları (1992) elektron mikroskobu ile iki oküler PES hastasının kalp, akciğer, serebral meninks, karaciğer, böbrek ve mesane otopsi örneklerini incelemiş ve bu yapılardaki psödoeksfoliasyon materyalinin varlığını tespit etmişlerdir. Streeten ve arkadaşları da (1992) immünohistokimyasal yöntemler ve ışık mikroskobu ile dört hastada daha bu bulguları doğrulamış ve böylelikle PES hakkındaki tüm yaklaşım biçimi değişmiştir (Schlötzer-Schrehardt vd., 2000). Bu çalışmalarda psödoeksfoliasyon materyalinin çizgili ve düz kas hücreleri, bağ dokusu fibroblastları ve kalp kasından kaynaklandığı düşünülmüştür, çünkü psödoeksfoliasyon materyali ana olarak visseral organların (iç organların) bağ dokularında ve kan damarlarının periferinde tespit edilmiştir. Bu tespitler sayesinde PES'in sadece oküler bir hastalık olmadığı, sistemik bir ekstrasellüler matriks bozukluğu olduğu ve PES'li hastaların başka komorbiditelere (eş zamanlı hastalıklara) sahip olabileceği sonucuna varılmış ve buna yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Buna rağmen PES ile sistemik hastalıklar arasında kesin ve net bir ilişki gösterilememiştir (Naumann vd., 1998).

Yapılan bir çalışmada, diyabetik retinopatili (diyabet kaynaklı retina hastalığı) kişilerde, diyabetik olmayan veya retinopatisi olmayan diyabetik hastalara göre PES'in daha az görüldüğü tespit edilmiştir. Aynı zamanda PES ile diabetes mellitus arasında negatif korelasyon bulunurken, PES ile Alzheimer hastalığı arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Psilas vd., 1991). PES'li kataraktöz gözlerde aköz humorlarının peptid ve serin proteinaz inhibitörleri içerdiği bulunmuş ve bu da PES, glokom ve Alzheimer hastalığının ortak olası etiyolojisini işaret etmiştir. Aynı zamanda oküler PES prevalansının, Alzheimer veya serebrovasküler tipi kognitif bozuklukta belirgin olarak artmış olması da bunu desteklemektedir (Janciauskiene ve Krakau, 2003; Linnér vd., 2001).

Psödoeksfoliasyon materyalinde de bulunduğu tespit edilen elastin, arteriollerin ekstrasellüler matriksinin ana parçasıdır. Bu sebeple, oküler PES ve vasküler hastalıklar arasında olası bir ilişki düşünölmüştür. Yapılan bazı çalışmalarda, PES'in vasküler etkileri olarak düşünölebilecek hipertansiyon, miyokard infarktüsü (kalp krizi), inme ve anjina (kalp spazmı) ile pozitif korelasyon saptanmıştır (Shrum vd., 2000; Mitchell vd., 1997; Bojić vd., 2005). Aksine, yapılan başka bir çalışmada ise serebrovasküler veya kardiyovasküler hastalık ile PES arasında bir ilişki veya mortalite (ölüm) hızlarında bir artış tespit edilememiştir (Shrum vd., 2000). Aynı şekilde, aort anevrizması ile PES arasındaki ilişki hakkında da çelişkiler vardır. Beş oküler PES'li organ donörlerinden alınmış aort duvarı örneklerinin histopatolojik incelemesinde psödoeksfoliasyon materyal birikimi bulunmuştur (Schumacher vd., 2001). Abdominal (karın) aort anevrizması gelişimi için PES'deki abdominal aort duvarındaki histopatolojik değişiklikler zemin hazırlıyor olabilir (Rinvold, 2001). Bu sebeple sistemik vasküler hastalık riski için PES önemli bir gösterge olabilir (Schumacher vd., 2001; Rinvold, 2001). Ancak 6 İzlandalı ailenin takip edildiği bir çalışmada kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile PES arasında bir korelasyon saptanamamış (Allingham vd., 2001) ve PES'li hastaların mortalite hızında artış gözlemlenememiştir (Ringvold vd., 1997; Ritch, 1994). Tüm çalışmalara rağmen PES'de görölen sistemik psödoeksfoliatif materyal birikiminin, kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalıklar ile kesin ilişkisi tespit edilememiştir. PES'li olmanın kardiyovasküler ve serebrovasküler hastalık riskini arttırdığı düşünölse de çok merkezli, ileriye yönelik çalışmalardan elde edilecek pozitif sonuçlar ile bu durumun desteklenmesi gerekmektedir.

Repo ve arkadaşları (1993) tarafından yapılan bir çalışmada geçici iskemik atak (TIA – Transient Ischemic Attack) hastaları yaş karşılaştırmalı olarak incelendiğinde, TIA hastalarında PES görölme olasılığının, genel popölasyona göre 2 kat daha fazla olduğu saptanmıştır. TIA, serebrovasküler bir hastalıktır ve iris hipoperfüzyonuna (kan akımında/basıncında azalma) sebep olarak anormal iris transilluminansı yapmaktadır. PES, pozitif iris transilluminasyonlu TIA hastalarının gözlerinde oldukça fazla görölmekte ve bu durum tutulmuş gözlerin kan akımında patolojik değişikliklerin olduğunu göstermektedir. Tüm bunlar ise PES gelişiminde hipoperfüzyonun rolünü desteklemektedir (Repo vd., 1993; Repo vd., 1995).

İç kulaktaki tektoryal membranda fibrillerin birikimi PES'in sistemik tutulumunu gösteren bir başka delildir. PES'li hastaların büyük kısmında yaş ve glokom ile birlikteliğine bakılmaksızın sensörinöral işitme kaybı saptanmıştır (Cahill vd., 2002).

### **1.1.6 Psödoeksfoliatif glokom**

#### **1.1.6.1 Tanımı**

Aköz humor sıvısının drenajını sağlayan kanalların psödoeksfoliasyon materyali ile tıkanması sebebiyle göz içi basıncının artması ile birlikte glokom ortaya çıkar (Şekil 1.3a). Psödoeksfoliasyon tüm dünyada glokomun en sık görülen nedenlerinden biridir ve bu tip glokoma psödoeksfoliatif glokom (PEG) adı verilir. PES en çok açık açılı glokoma (open-angle glaucoma) yol açsa da açı kapanması glokomuna da (angle-closure glaucoma) yol açabilmektedir (Ritch ve Schlötzer-Schrehardt, 2001). PES kaynaklı açık açılı glokom, açık açılı glokomun %20-60'ını oluşturmaktadır. Örneğin, Umman'da PES kaynaklı açık açılı glokom %51 civarında görülmektedir (Bialasiewicz vd., 2005).

Milyonlarca insanı etkileyen yaygın bir göz hastalığı olan glokom, halk arasında göz tansiyonu olarak bilinmektedir ve tedavi edilmez ise görme kaybına neden olabilir. Göz içinde basınç yükseldiğinde görmeyi sağlayan göz siniri hücrelerinin beslenmesi bozulur ve bu hücreler hasar görerek yavaş yavaş öldükçe çevreden merkeze doğru görme kaybı ortaya çıkar (Şekil 1.3b). Hücrelerin tümü öldüğü zaman kalıcı tam görme kaybı oluşur. PEG, primer açık açılı glokoma göre daha ciddi klinik belirtiler ve daha kötü bir gelişim süreci göstermektedir. PEG hastalarında primer açık açılı glokomlu hastalara göre GİB (göz içi basıncı) daha yüksektir. Bu yüksek GİB'den dolayı, görme alanı kaybı ve optik sinir hasarı daha belirgindir (Bhat, 2010; Ritch vd., 2003).

PES sekonder katarakta da sebep olmaktadır (Küchle vd., 1997). PES'de görülen karakteristik patolojik birikimler fakodonezis (lensin zonüler desteğinin azalmasına bağlı stabilitesinin bozulması durumu), midriyazis (göz bebeği büyümesi), yetersiz kan aköz bariyeri işlev bozukluğu ve melanin dispersiyonu (dağılımı) gibi birçok göz içi komplikasyonuna zemin hazırlamaktadır. Bu birikimler, PES hastalarının göz içi operasyonu ile ilişkili olarak ortaya çıkan arka kapsül rüptürü (yırılması/kopması) ile vitreus kaybı, kornea endotel yetmezliği, lens zonüllerinde kopma, post-operatif enflamasyon ve GİB yükselmeleri, iris kaynaklı göz içi kanaması ve intraoküler lensin

lüksasyonu (lensin bulunduğu yerden tamamen ayrılması) gibi birçok komplikasyonun da nedenidir (Naumann vd., 1998; Schlötzer-Schrehardt ve Naumann, 2006).

### **1.1.6.2 Psödoeksfoliatif glokomun epidemiyolojisi**

Psödoeksfoliasyon bulunan gözlerde glokom gelişme riski çok yüksektir (Mitchell vd., 1999). Eğer gözlerden birinde glokom, diğerinde ise sadece PES var ise, bu gözde beş yıl içinde glokom gelişme riski %50'dir (Yalvaç vd., 2001). Roth ve Epstein (1980), glokom hastalarının %12'sinde PEG varlığını tespit etmişlerdir.

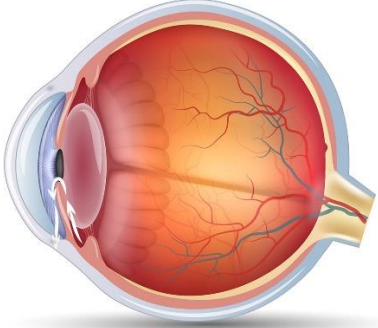
Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre glokom, dünyada körlük nedenleri arasında kataraktan sonra ikinci sırada gelmektedir (Resnikoff vd., 2004). Glokom geri döndürülemez körlüğün ise ana nedeni durumundadır ve 2010 yılında tüm dünya çapındaki körlük nedenlerinin %8'ini teşkil etmektedir (King vd., 2013). Dünya çapındaki kör insanların 6.6 milyonu glokom nedeniyle görme yetisini kaybetmiştir.

Yapılan hesaplara göre glokom 2020 yılında tüm dünyada 80 milyon insanı etkileyecektir. PEG, tüm glokomların yaklaşık %25'ini oluşturur (Schlötzer-Schrehardt vd., 2002). Ülkemizde PES olan hastalarda glokom sıklığı %34.3, glokom hastalarında PES sıklığı ise %46.9 olarak saptanmıştır (Yalaz vd., 1992). Çalışmalar tutarlı bir şekilde göstermiştir ki, ilerleyen yaş glokom için büyük bir risk faktörüdür (Giangiacomo ve Coleman, 2009). Toplumların yaş ortalamasının gittikçe arttığı göz önüne alındığında, PEG ve PES'in gelecekte daha sık görüleceği düşünülmektedir.

Artmış göz içi basıncı, hastaların yaklaşık olarak %50'sinde glokom gelişimine neden olur. Puska (2002), PES'den PEG'e dönüşüm oranını yılda %3.2 olarak bildirmiştir. Jeng ve arkadaşlarına (2007) göre PES olan hastalarda 15 yıl sonra glokom geliştirme olasılığı %44'tür. Grødum ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan bir çalışmada ise ortalama 8.7 yıl sonra hastaların %55.1'inde glokom geliştiği görülmüştür.

Normal GİB 10 ile 21 mmHg arasındadır ve herhangi bir nedenle bu basınçtaki artış oküler hipertansiyon olarak adlandırılır. Bu durumda görme alanında azalma, görme kaybı veya optik sinir hasarı gibi bozukluklar gözlenmezken, glokom daha ciddi bir bozukluktur ve bunların hepsine sebep olabilmektedir. Bu durumda oküler hipertansiyona sahip bireylerin potansiyel glokom hastaları olabileceği söylenebilir. PES hastalarında %15 oranında oküler hipertansiyon ve %7 oranında glokom bulunmuştur (Kozart ve Yanoff, 1982).

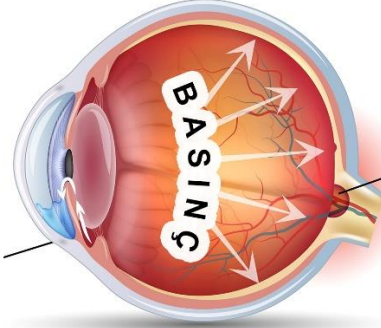
## NORMAL GÖZ



a.

## GLOKOMLU GÖZ

**TIKANMIŞ DRENAJ KANALI**  
Aköz humor sıvısındaki artış gözdeki basıncın artmasına sebep olur



Yüksek basınç optik sinirlere zarar verir

## NORMAL GÖRÜŞ



## ERKEN GLOKOM



## İLERİ GLOKOM



## EKSTREM GLOKOM



b.

Şekil 1.3: Glokomlu göz. a. Normal göz ile glokomlu gözün farkları (URL-2'den uyarlanmıştır). b. Glokom evrelerinde görme alanı değişimleri (URL-3'ten uyarlanmıştır).

Yapılan bir çalışmada 5-10 yıllık takiplerde PES olan ve başlangıçta glokomu olmayan gözlerde glokom gelişme prevalansı %5.3 ile %15.4 arasında bulunmuştur (Henry vd., 1987). Henke ve Naumann (1987) yaptıkları çalışmada sekonder glokomlu hastalarda %3.4 oranında PES'e rastlamışlardır. Kuzeybatı İspanya'da yapılan bir araştırmada, PEG'lilerin açık açılı glokomluların %44.5'ini oluşturduğu ve glokomun, PES'in ortaya çıkmasından bir süre sonra görüldüğü bildirilmiştir (Moreno-Montañés vd., 1990). Gürlü'nün (2004) çalışmasında ise PEG gelişme oranı %5 olarak bildirilmiştir. Fransa'da yapılan bir çalışmada ise PES'lilerin %65.5'inin glokomunun da olduğu saptanmıştır (Colin vd., 1988).

### **1.1.7 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu patogenezi**

#### **1.1.7.1 Psödoeksfoliasyon sendromunun patogenezi**

PES hücre dışı matriksteki elastik lifsi materyallerin kronik olarak birikmesi ile karakterizedir. Bu durum yetersiz yıkılma, çok fazla üretim veya her ikisinin birden gerçekleşmesi sebebiyle ortaya çıkar. PES patogenezinde elastik mikrofibril teorisi moleküler biyoloji, biyokimyasal ve immünohistokimyasal veriler ile desteklenmektedir (Streeten vd., 1986). PES materyali fazlaca çapraz bağlı glikoprotein-proteoglikan kompleksinden oluşmuştur ve birikim yapan bu fibrillerin içinde, elastin, vitronektin, tropoelastin, fibrillin-1, sindekan, fibulin-2 ve versikan gibi moleküllerin yanı sıra, çapraz bağlayıcı enzim lizil oksidaz-benzeri (LOXL) ve ekstrasellüler şaperon clusterin de bulunmaktadır (Ritch, 2008; Andrikopoulos vd., 2014).

Psödoeksfoliasyon materyali bağ dokunun kan damarlarının çevresinde birikir. Bu materyal akciğer, karaciğer, böbrek, safra kesesi ve serebral meninklerde elektron mikroskobu ve immünohistokimyasal yöntemler ile tespit edilmiştir. Anjina (kalp spazmı), aort anevrizması ve bunama gibi kardiyo ve serebrovasküler hastalıklar PES ile ilişkilendirilmiştir (Elhawry vd., 2012).

#### **1.1.7.2 Psödoeksfoliatif glokomun patogenezi**

Mitchell ve arkadaşları (1999) bazı kişilerdeki psödoeksfoliatif materyalin miktarı ile onun glokoma neden olma etkisi arasındaki olası ilişkiyi incelemişler ve psödoeksfoliatif materyalin miktarı ile glokom riskinin PES'li kişilerde 2-3 kat, PES'li gözlerde ise 5 kat arttığını saptamışlardır. GİB'nin unilateral PES'li ve bilateral

glokomlu örneklerde genellikle psödoeksfoliatif materyalinin görüldüğü gözlerde, bilateral tutulumda ise daha ileri psödoeksfoliasyon taşıyan gözlerde daha yüksek bulunması da bu savı desteklemektedir.

Glokom genellikle açık açılı olarak görülmektedir, fakat kapanabilir açı insidansı da normal popülasyona göre fazladır (Yalaz vd., 1992). PES ile ilişkili açık açılı glokom, primer açık açılı glokomdan klinik olarak farklı olmasının yanı sıra morfolojik ve histopatolojik olarak da farklıdır (Schlötzer-Schrehardt vd., 2002). PES ile ilişkili açık açılı glokom, primer açık açılı glokoma göre hastaların steroid cevabı için daha düşük hassasiyet gösterir (Brusini vd., 1994). Ayrıca göreceli olarak daha şiddetli ve ilerleyici glokom tipi olan PES ile ilişkili açık açılı glokom, yüksek GİB seviyeleri ve diüurnal (gündüz) basınç eğrisinde dalgalanmalar göstermektedir. Bu sebeple PES ile ilişkili açık açılı glokom, primer açık açılı glokoma göre medikal tedaviye daha dirençli olduğundan erken dönem glokom cerrahisine ihtiyaç duyabilir (Mitchell vd., 1999). PES ile ilişkili açık açılı glokomda, primer açık açılı glokomdan farklı olarak gonyoskopik muayenede açıda hiperpigmentasyon da mevcuttur.

PES'li hastalarda, açı kapanması glokomu için ana risk faktörü olan kapanabilir açıların prevalansında artma saptanmıştır ve bu durum açı kapanması glokomundaki artış ile uyumludur (Morrison ve Green, 1988). PEG'li hastalarda primer açık açılı glokoma göre daha yüksek ortalama GİB, daha büyük cupping (gözde optik diskin ortası cup olarak adlandırılır ve bu bölümdeki değişimler cupping terimi ile ifade edilir), görme alanı bozuklukları ve daha hızlı ilerleme görülmektedir. PES'li hastalarda, PES olmayan hastalara göre glokomatöz optik sinir hasarı gelişimi daha olasıdır. Ancak primer açık açılı glokomlu hastalara göre PEG'li hastalarda gözlenen elastoz daha şiddetlidir (Netland vd., 1995). PES'li hastalarda görülenden daha yüksek seyreden GİB bu glokomatöz hasar farkına sebep olabilir (Gottanka vd., 1997; Shields, 2001).

Yapılan çalışmalarda, farklı glokom tipleri olan hastalarda, retinada sinir lifleri tabakasında ve optik sinir başında belirgin değişiklikler saptanmıştır (Shields, 2001). Primer açık açılı glokomlu olan gözlere göre PES'li gözlerde optik diskin daha küçük olduğu tespit edilmiştir (Jonas ve Papastathopoulos, 1997). Ancak bulguların glokom gelişimi açısından risk oluşturup oluşturmadığı tartışmalıdır.



PEG'in primer veya sekonder glokom olup olmadığı da tartışmalıdır. Schlemm kanalı ve juktakanaliküler dokulardaki bozukluklar ile Schlemm kanalı ve trabeküler ağ tarafından psödoeksfoliatif materyalin lokal üretimi kronik basınç artışının nedenleri olabilir gibi görülmektedir (Jacobi ve Krieglstein, 1994; Schlötzer-Schrehardt vd., 2003). Bunun yanında basınç artımına katkıda bulunan ek patogenetik faktörler ise belirgin melanin dispersiyonu (dağılımı), vasküler faktörler, lamina kribrozanın bağ doku değişiklikleri ve aköz humorda artmış protein konsantrasyonu olarak sıralanabilir (Schlötzer-Schrehardt vd., 2002; Jacobi ve Krieglstein, 1994). Ancak tek taraflı PES'li olgulardaki her iki gözde de glokom görülmesi ve psödoeksfoliasyon materyali ve pigment dispersiyonu saptanan her gözde glokom görülmemesi, altta yatan sebebin primer trabeküler işlev bozukluğu olabileceğini düşündürmektedir.

### **1.1.7.3 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu genetik faktörleri**

PES hem genetik hem de çevresel faktörler içeren bir patofizyolojiye sahiptir. Genetik mekanizmalar, hücre dışı matriksin yapımı ve yıkımından sorumlu lizil oksidaz-benzeri (lysyl oxidase like; LOXL) ve clusterin gibi düzenleyici proteinlerin genlerindeki bozukluklara dayanıyor olabilir (Sein vd., 2013). Hücre dışı matriks metabolizması ve hücrel stres ile ilgili bir protein olan clusterinin PES'li gözlerde farklı ifade edildiği belirlenmiştir (Zenkel vd., 2006). Clusterin ile ilgili bilgiler ilerleyen kısımlarda daha detaylı verilmektedir.

Nörodejeneratif hastalıklar için apolipoprotein E (APOE) major bir risk faktörüdür ve önceki çalışmalar tanımlı popülasyonlardaki glokom ile APOE alelleri arasında bir ilişki olabileceğine düşündürmüştür (Al-Dabbagh vd., 2009). Çalışma grupları arasında değişik olarak görünen APOE genotipi ile PEG arasındaki ilişki direkt genetik bir etkiden ziyade modifiye edici bir etkiyi göstermektedir. Toplumlar arasında da farklılıklar söz konusudur. Yılmaz ve arkadaşları (2005a) bir Türk popülasyonunda APOE2 alelinin PES gelişimi ile anlamlı ilişkide olduğunu göstermiş olsa da Norveç (Ritland vd., 2007) ve Almanya'da yapılan (Krumbiegel vd., 2010) çalışmalarda PES için alel ve genotip sıklığı açısından anlamlı farklar bulunamamıştır.

Glutatyon S-transferazlar (GST) oksidatif stres sırasında oluşan sekonder metabolitleri ve ksenobiyotikleri inaktive eden bir enzim ailesidir. Bazı araştırmacılara göre GST fonksiyonu azaldığında optik sinir üzerindeki oksidatif stresin direkt veya indirekt hasarlayıcı etkileri kötüleşmektedir. Bu sebeple glokom gelişimi için GST

polimorfizmlerinin risk faktörleri olduğunu savunmuşlardır. Bununla beraber GSTT1 ve GSTM1 polimorfizmleri Suudi Arap hastalarda PEG ile ilişkilendirilmiştir (T0M0 genotipi için  $P=0.002$ ,  $OR=7.12$ , %95  $CI=1.65-35.0$ ; T1M0 genotipi için  $P=0.00001$ ,  $OR=9.01$ , %95  $CI=3.89-21.3$ ; T0M1 genotipi için  $P=0.00001$ ,  $OR=8.07$ , %95  $CI=2.58-26.9$ ) (Abu-Amero vd., 2008a). Bunun aksine, bir Türk popülasyonunda PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında GSTT1, GSTM1 ve GSTP1 gen polimorfizmleri için anlamlı bir fark bulunamamıştır (Yılmaz vd., 2005b).

Yüce ve arkadaşları (2007) Türk popülasyonunda manganaz süperoksit dismutaz polimorfizmlerini incelemiş ve PES ile arasında bir ilişki saptayamamışlardır. TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor alpha – tümör nekroz faktörü alfa), primer açık açılı glokom patogeneğinde önemlidir ve onu kodlayan TNF- $\alpha$  genindeki polimorfizmler hem İran hem de Pakistan popülasyonlarında PEG ile anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur. Bu durum immunolojik faktörlerin psödoeksfoliasyonla ilişkili nörodejenerasyonda bir rolü olabileceğini göstermektedir (Razeghinejad vd., 2009; Khan vd., 2009). Türk ve Avrupalı hastalarda ise TNF- $\alpha$  polimorfizmleri ile PEG arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (Tekeli vd., 2008; Mossböck vd., 2009). Suudi Arap PEG hastalarında OPA1, OPA3, CYP1B1, MYOC, OPTN veya WDR36 gibi diğer glokom tipleri veya diğer kalıtsal optik nöropatilerle ilişkili genlerde bir mutasyon saptanmamıştır. Aynı çalışmadaki PEG hastalarının %10'unda mitokondriyal DNA mutasyonları saptanmıştır (Abu-Amero vd., 2008b). Bu bulgular, psödoeksfoliasyon materyali oluşumu ve birikmesi ile ilişkili diğer faktörlere göre tipik glokomla ilişkili genlerin ve mitokondriyal anormalliklerin PEG açısından daha az önemli olduğunu göstermektedir. Başka bir çalışmada Alman popülasyonunda mitokondriyal haplogrup (benzer haplotip (birlikte iletilen kromozomlar üzerinde birbirleriyle ilişkili lokuslardaki DNA dizisi) gruplarının tümünde ortak atadan gelen aynı tek nükleotit polimorfizmine sahip gen serilerinin oluşturduğu grup) U varlığının PEG gelişimi için riski azalttığı görülmüştür, fakat bu ilişkinin anlamlılığına dair başka çalışmalar gerekmektedir (Wolf vd., 2010).

### **Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomunda aday genler**

LOXL enzim ailesi kolajen ile elastini çapraz bağlayarak elastik liflerin oluşumu, stabilizasyonu, yeniden modellenmesi ve dokuların esnekliklerinin yaşa bağlı olarak azalmasının önlenmesi gibi önemli fonksiyonlardan sorumludur. Bu ailenin bir üyesi

olan LOXL1 enzimini kodlayan gendeki polimorfizmler Amerika ve Avrupalılar (Aragon-Martin vd., 2008), Hintliler (Ramprasad vd., 2008), Avustralyalılar (Hewitt vd., 2008), Almanlar ve İtalyanlar (Pasutto vd., 2008), Japonlar (Hayashi vd., 2008; Ozaki vd., 2008), Çinliler (Chen vd., 2009) ve Türkler (Kasım vd., 2013) gibi birçok farklı popülasyonda PES ile ilişkili bulunmuştur. İzlandalılar, İsveçliler (Thorleifsson vd., 2007), Amerikalı beyazlar (Challa vd., 2008), Amerika ve Avrupalılar (Aragon-Martin vd., 2008; Yang vd., 2008), Almanlar, İtalyanlar (Pasutto vd., 2008), Güney Afrikalılar (Williams vd., 2010) ve Türkler (Kasım vd., 2013) gibi birçok farklı popülasyonda ise LOXL1 enzimini kodlayan gendeki polimorfizmler ile PEG ilişkili bulunmuştur. Bazı PES hastalarında glokom geliştiğinden ve glokom da tedavi edilmediği takdirde körlüğe sebep olabileceğinden, glokom geliştirme riski olan PES hastalarının belirlenmesi son derece kritik bir öneme sahiptir. Yakın zamanda yayımlanan bir çalışmaya göre LOXL1 genetik polimorfizmleri bu ayrımı yapmakta başarısızdır (Anastasopoulos vd., 2014).

LOXL1'in hastalıkla ilişkili her iki tek nükleotit polimorfizmi (SNP – Single Nucleotide Polymorphism) de N-terminal bölgesini kodlayan ekson 1'de bulunur ve bu bölge hem substrat tanıma ve bağlanmasında hem de düzgün enzim aktivasyonunda görev alır. Katalitik bölgelerin yer aldığı proteinin çok korunaklı C-terminalinde ise anormallikler saptanmamıştır. LOXL1 rs1048661 SNP risk alleli olan G (R141L) için oküler LOXL1 ekspresyonu normal kontrollere göre %40 azalmıştır. Aksine, LOXL1 ekspresyon düzeylerinde popülasyonların çoğunda PES için daha yüksek risk oluşturan rs3825942 SNP risk alleli G (G153D) için bir etki saptanmamıştır. Psödoeksfoliasyon materyalinin bulunduğu dokularda LOXL1 ekspresyonu da belirgin şekilde düzensizleşirken, bu düzensizleşmenin kesinlikle fibrotik olayın evresine bağlı olduğu tespit edilmiştir. (Schlötzer-Schrehardt vd., 2008). Psödoeksfoliasyon materyali fibrogenezinin erken evrelerindeki LOXL1'in geçici olarak yukarı doğru düzenlenmesi ve aktive olması, elastik lif oluşumu için gerekli matriks bileşenleri ile birleştiğinde PES hastalarının dokularında biriken anormal fibriller agregatların oluşumuna katkıda bulunur. Dolayısıyla LOXL1 kendisinin normal bağlanma partneri olan fibulin-5 yerine özellikle fibrillin-1 gibi elastik lif bileşenleri ile birlikte bulunduğu tüm intra ve ekstraoküler bölgelerde fibriller, psödoeksfoliasyon materyal agregatlarının önemli bir komponenti olur. Bu durum substrat spesifitesi açısından patolojik matriks oluşumu bölgelerinde bir değişim

olduğunu göstermektedir. Psödoeksfoliasyon materyalinin önemli bileşenlerinden biri de fibrillin-1'dir. LOXL1 rs3825942 SNP'sinin fibrillin içeren mikrofibrillerin, olgun psödoeksfoliasyon materyal fibrillerine anormal işlenmesi, kurulumu, çapraz bağlanması ve agregasyonunda rol aldığı düşünülmektedir (Schlötzer-Schrehardt, 2011).

Yapılan bir çalışmada psödoeksfoliasyon materyali oluşumunda yer alan çeşitli fonksiyonel aday genler incelenmiş (fibrillin-1, LTBP-2, MAGP-2, TGM2 (transglutaminaz-2), TGF- $\beta$ 1 ve clusterin) ve İtalyan hastalarda bir ilişki bulunamazken iki ayrı Alman çalışmasında clusterin geninin bir intronik SNP'si ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Krumbiegel vd., 2009). Avustralyalı hastalarda da clusterinin farklı SNP'leri ve haplotipleri incelenmiş ve PES ile ilişkili bulunmuştur (Burdon vd., 2008). Clusterin yanlış katlanmış ekstrasellüler proteinlerin çökme ve yığılmasını önleyerek ekstrasellüler bir şaperon olarak görev alır. Yapılan bazı çalışmalarda PES'li aköz humor ve ön segment dokularında clusterin ekspresyonunun anlamlı derecede azaldığı gösterilmiş ve ekstrasellüler boşlukta anormal olarak birikmiş olan psödoeksfoliasyon materyalinin stabil birikimine yol açtığı öne sürülmüştür (Zenkel vd., 2006).

İnterlökin-6 gibi pro-fibrotik sitokinler, büyüme faktörleri, özellikle transforme edici büyüme faktörü (TGF- $\beta$ 1), yükselmiş hücrel ve oksidatif stres, matriks metalloproteinazlar ile metalloproteinazların doku inhibitörü arasındaki dengedeki lokal değişiklik de bu patogeneizde rol oynuyor gibi görünmektedir (Gartaganis vd., 2002; Schlötzer-Schrehardt ve Naumann, 2006; Gartaganis vd., 2007; Schlötzer-Schrehardt, 2009). PES'de TGF- $\beta$ 1'in normalden yüksek seviyelerde ifade edildiği tespit edilmiştir (Kaliakos vd., 2001). Oksidatif stres bu hastalığın patofizyolojisinde önemli yer tutuyor gibi durmaktadır. PES hastalarında aköz humordaki askorbik asit seviyesinin düşük, malondialdehit konsantrasyonunun ise yüksek olduğunun görülmesi antioksidan koruma sisteminin bozuk olduğunu ortaya koymaktadır (Koliakos vd., 2002; Yılmaz vd., 2005c).

Başka bir çalışmada ise elastin geninin sık görülen polimorfizmleriyle PEG ve PES arasında bir ilişki bulunmamıştır (Fan vd., 2010). Aköz humorda ve göz dokularında MMP (matrix metalloproteinases) aktivitesinin azalması veya MMP/TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) dengesindeki değişiklikler anormal psödoeksfoliasyon

materyali birikiminde önemli bir patojenik mekanizmadır (Schlötzer-Schrehardt vd., 2003). Fakat Yunan hastalarda MMP-1 ve MMP-3 gen polimorfizmleri PEG ve PES ile net bir anlamlı ilişki göstermemiştir (Tsironi vd., 2009). Homosistein metabolizmasında yer alan bazı genlerin polimorfizmleri ise PEG ve PES ile ilişkili bulunmamış olsa da (Fan vd., 2008) psödoeksfoliyasyon materyali patogenezinde gözyaşı, aköz humor ve plazmadaki yüksek homosistein düzeylerinin katkısı olduğu ve PES hastalarında vasküler riski artırdığı düşünülmektedir (Schlötzer-Schrehardt ve Naumann, 2006). Alman hastalarda yapılan bir çalışmada CNTNAP2 (contactin associated protein like 2) genindeki iki SNP'nin ve ayrıca bunların haplotiplerinin PEG ve PES ile anlamlı bir ilişkisi olduğu belirlenmiştir. CNTNAP2'nin özellikle psödoeksfoliyasyon materyali oluşumunda rol alan hücre tiplerindeki lokalizasyonu ve oküler dokularda CNTNAP2 proteini ekspresyon ve lokalizasyon modelleri CNTNAP2'yi PES için ilgi çekici bir aday gen haline getirmiştir (Schlötzer-Schrehardt, 2011).

#### **1.1.8 Psödoeksfoliyasyon sendromu ve glokomu çevresel faktörleri**

HLA (human leukocyte antigen) ve polimorfik işaretleyici ilişkileri, ailesel agregasyon ve coğrafik kümelenmeler PES'in genetik yönünü vurgulasa da çevresel faktörler de bu hastalığın gelişiminde rol oynamaktadır (Damji vd., 1998). PEG ve PES'in ortaya çıkmasına yol açan çevresel faktörler arasında ultraviyole ışığa maruziyet, travma, beslenme, bulaşıcı ajanlar ve inflamasyon bulunmaktadır (Schlötzer-Schrehardt, 2012). Ultraviyole (UV) ışınlarla daha fazla maruz kalan toplumlarda PES sıklığının daha fazla olduğu görülmüştür (Resnikoff vd., 1991). PES patogenezindeki çevresel faktörlere otoimmünite (Ringvold, 1988) ve yavaş viral enfeksiyonlar (Luntz ve Ballard, 1979) da eklenebilir. Keratoplasti (kornea nakli) geçirmiş olan nispeten genç hastalarda PES görülmesi, bu hastalığın donörden alıcıya geçebildiğini göstermektedir. Fakat bu kesin bir kanıt sayılmaz çünkü PES endotel hücre çoğalması veya travma sebebiyle de gelişebilir (Küchle ve Naumann, 1992). Genç hastalardaki katarakt cerrahisi sonrası PES gelişimi de ön segment travmalarının PES için zemin hazırlayabileceğini göstermektedir (Konstas vd., 1997; Horven ve Hutchinson, 1966).

### 1.1.9 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu risk faktörleri

PES materyali birikimi ve toplumda PES görülme sıklığı yaşa bağlı olarak artmaktadır (Mitchell vd., 1999). PES nadiren 50 yaşından önce görülür ve görülme sıklığı yaşla birlikte giderek artmaktadır. Bununla birlikte, normal yaşlanmanın bir parçası değildir (Bhat, 2010). PES prevalansında en yüksek değerler 70-80 yaş arasında görülmektedir. Reykjavik'deki 70 yaş ve üstü Finlandiyalılarda prevalans %22 olarak bulunurken, 80 yaş ve üstü İzlandalılarda prevalans %40'dır (Jonasson vd., 2003). Framingham'daki glokomu olmayan bireylerde 52-64 yaş arasında PES insidansı %0.6 iken, 75-85 yaş arasında bu oran %5'e çıkmaktadır (Leibowitz vd., 1980). PES prevalansı klinik muayenede saptanandan 2 kat daha fazla olabilir. Ameliyat öncesi muayenelerde hastaların %16'sında PES saptanabilirken, ameliyat sonrası bu hastaların %33'ünde PES olduğu tespit edilmiştir (Aasved, 1971). PES prevalansının 50 yaşından itibaren her on yılda yaklaşık iki katına çıktığını raporlayan bir çalışmaya göre 60-69 yaş arasında PES prevalansı %10, 70-79 yaş arasında %21 ve 80-89 yaş arasında %33 olarak saptanmıştır (Forsius, 1988). Kuzey İsveç'teki bir çalışmada PES oranı 66 yaşında %23 olarak bulunurken, 87 yaşına gelindiğinde bu oranın %61'e yükseldiği görülmüştür (Ekström, 1987). Toplumların yaş ortalaması gittikçe artmaktadır ve bu sebeple PEG ve PES'in gelecekte daha sık görüleceği düşünülmektedir.

Cinsiyet dağılımı ile ilgili pek çok tartışma mevcuttur. Bazı çalışmalarda cinsiyet farkı olmadığı bildirilmiş (Yalaz vd., 1992) ve bazılarında kadınlarda (Mitchell vd., 1999; Kozart ve Yanoff, 1982), bazılarında ise erkeklerde (Kozobolis vd., 1997; Challa, 2009; Stein vd., 2011; Mccarty ve Taylor, 2000) yüksek prevalans bulunmuştur. Örneğin, Kozart ve Yanoff'un çalışmasında (1982), PES kadınlarda erkeklere göre 3 kat daha fazla görülmüştür.

Her ne kadar dünyanın her bölgesinde meydana gelse de PEG ve PES görülme sıklığında önemli ırk varyasyonları vardır. İskandinav ülkelerinde açık açılı glokom olgularının %50'sinden fazlası PES kaynaklıdır. PES, Afrikalı Amerikalılar ve Eskimolar arasında nispeten nadirdir. Kanada'nın kuzey kutbu boyunca yaşayan Inuitlerde (Eskimo) hiç görülmemiştir. Kuzey Avrupa'nın yerli halkı olan Sami halkında PES prevalansı yüksektir. Güney Afrika'da Bantu kabileleri arasında bir glokom kliniğinde hastaların %19'unda ekfoliasyon görülmüştür. Suudi Arabistan, Summanen ve Tonjum'da PES prevalansı %13 olarak bildirilmiştir. New Mexico'daki

İspanyol Amerikanlarda PES prevalansının %3-6 arasında olduğu tahmin edilmektedir (Bhat, 2010).

Aynı ülkenin değişik etnik bölgelerinde de PES prevalansı farklı sonuçlar verebilmektedir. PES oranı Fransa'da %3.6 ile %20.6 arasında (Colin vd., 1988), Girit'te %11.5 ile %27 arasında (Kozobolis vd., 1997), Norveç'in üç farklı kesiminde ise %10.2, %19.6 ve %21 olarak bulunmuştur (Ringvold vd., 1987).

Yapılan epidemiyolojik bir çalışmada, PES oluşumunda iklimin herhangi bir etkisi olmadığı öne sürülmüştür (Forsius vd., 2002). Aynı iklim koşullarına sahip İnuit bölgesinde hiç PES vakası görülmezken, Sami'de PES prevalansı %13 olarak bulunmaktadır. Bu bulgular popülasyonlar arasındaki prevalans farkına genetik nedenlerin sebep olduğu fikrini desteklemektedir (Forsius vd., 2002).

#### **1.1.10 Psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomundan korunma**

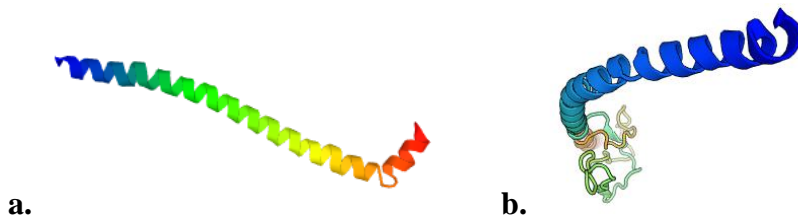
Psödoeksfoliasyon materyalini aspire ederek temizlemeyi hedefleyen operasyonlar sonrasında aynı patolojik birikimlerin yeniden oluşması nedeniyle bu sendromun kesin tedavisi henüz yoktur (Jacobi vd., 1999). Glokom tedavisinde ise görme kaybını önlemeyi veya geri döndürmeyi sağlayacak bir tedavi yapılamamakta, yalnızca gözdeki basıncın düşürülmesi hedeflenmektedir. GİB'nin düşürülmesi için ilaç tedavisi uygulanabileceği gibi gerekli durumlarda laser tedavisi de (özellikle selektif laser trabeküloplasti) uygulanabilmektedir. Ayrıca, PEG primer açık açılı glokoma göre tedaviye daha fazla direnç göstermektedir ve bu da göz içi basıncını düşürmede zorluklara sebep olmaktadır.

Psödoeksfoliasyon materyali yalnızca oküler dokularda değil, kalp, akciğer, karaciğer, safra kesesi, atardamarlar gibi hemen hemen tüm organ ve dokularda birikim yaparak zarar verir (Schlötzer-Schrehardt vd., 1992; Streeten vd., 1992). Örneğin aort damarında birikim yaparak anevrizmaya, kulakta ise işitme kaybına neden olabilmektedir (Samarai vd., 2012). Bu nedenle, uzun vadede, psödoeksfoliasyon materyalinin oluşumunda rol alan faktörlerin tespit edilmesi ve bu sayede PES'in ortaya çıkmasının önlenmesi büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada incelenecek protein PES ile ilgili bulunursa, bunlar mekanistik olarak ilişkilerinin teyit edilmesinin ardından, ileriki yıllarda tedavi için yeni imkânlar yaratabilecektir.

## 1.2 Clusterin

Clusterin (Apolipoprotein J) 8. kromozom üzerinde kodlanan (8p21.1) tek bir genden ifade edilen 5 izoformu olan bir glikoproteindir ve major izoformu (salgılanan clusterin izoformu) 449 amino asitten oluşur. The Protein Model Portal'da insan clusterin proteini salgılanan izoformu için homoloji (benzeyiş) modelleme yöntemi kullanılarak ~%23'lük benzerlik ile iki adet 3D (3 boyutlu) yapı verilmiştir (URL-4; URL-5) (Şekil 1.4). Bunlar dışında clusterin 3D yapısı hakkında bilgi bulunmamaktadır.

Clusterinin tanımlanmış 5 izoformundan biri olan minör izoform nükleer clusterin izoformu, primer transkriptten alternatif sprints (splice) yoluyla üretilen 55 kDa molekül ağırlığında, 416 amino asitten oluşmuş bir proteindir ve apoptozu tetiklemekten sorumludur (URL-5). Proteinin major izoformu olan salgılanan izoformu ise 70-80 kDa molekül ağırlığına sahip, 5 tane disülfür bağıyla birbirine bağlanmış alfa ve beta zincirlerinden oluşan heterodimer bir glikoproteindir ve 449 amino asitten oluşur (URL-5; de Silva vd., 1990). Hemen hemen tüm hücre tiplerinde salgılanan clusterin sentezlenir, hücre dışına salgılanır ve tüm vücut sıvılarında bulunmaktadır (Jones ve Jomary, 2002). Gözde kornea, lens, retina, aköz humor ve vitreus humorda clusterin proteinine rastlanmıştır (Wong vd., 2000). Clusterin tüm memeli dokularında sürekli ifade edilen bir proteindir ve plazma, süt, idrar, beyin-omurilik sıvısı gibi vücut sıvılarının da temel proteinlerinden biridir (Kılıçarslan vd., 2017).



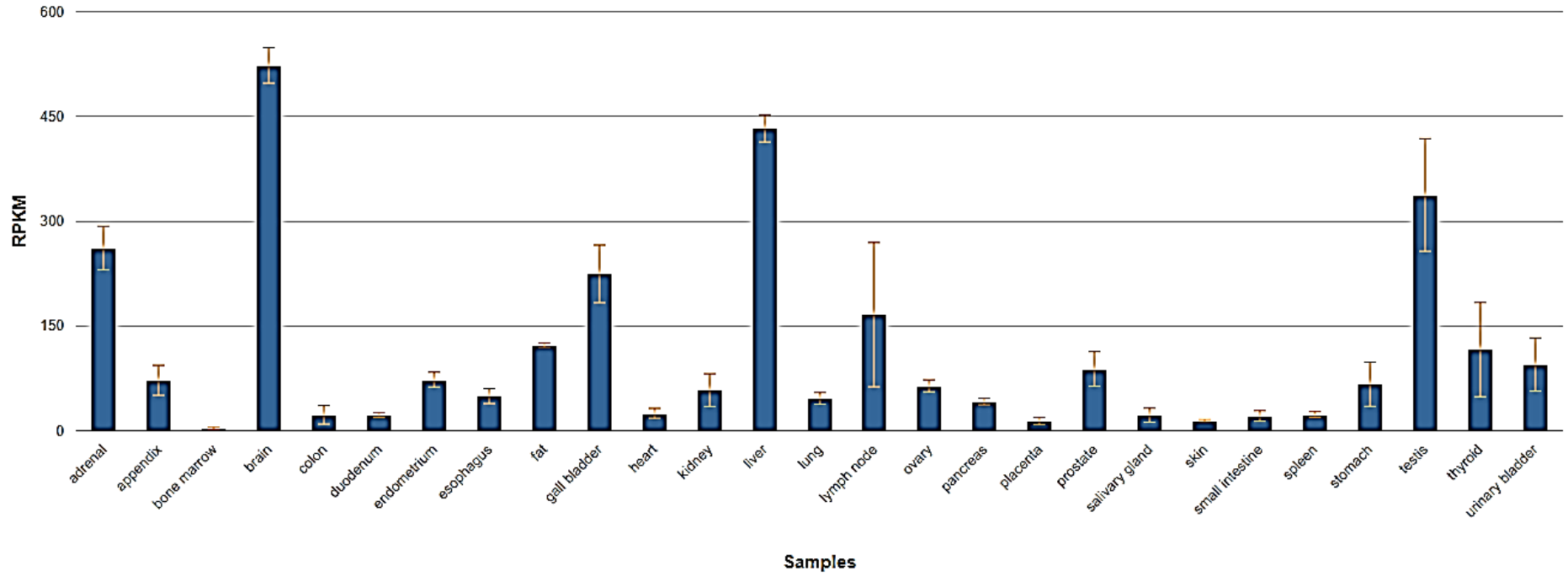
Şekil 1.4: Clusterin 3D yapıları (~%23 benzerlik ile). a. Modbase tarafından belirlenmiş yapı (URL-6). b. Swissmodel tarafından belirlenmiş yapı (URL-7).

Şu ana dek clusterin ile ilişkili olarak hücre zarlarının korunması, hücre-hücre ve hücre-hücre dışı matriks ilişkilerinin dengelenmesi ve komplement düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik fonksiyon belirlenmiştir (Wilson ve Easterbrook-Smith, 2000). Clusterin aynı zamanda hücrel stres durumlarında, salgılandığı yerde yanlış



katlanmış proteinlerin stresle tetiklenen çökmesi ve yığılmasının önlenmesini de sağladığı için hücre dışı şaperon olarak görev yapmaktadır (Humphreys vd., 1999). Proteinlerin yanlış katlanması, mutasyon veya oksidatif hücre hasarı nedeniyle oluşan yapısal modifikasyonlar sonucunda ortaya çıkar. Moleküler şaperonlar, kısmi katlanmış veya katlanmamış proteinlerle etkileşime girerek onların birikmesi ve çökmesine engel olmak suretiyle hücre koruma sistemi olarak görev yaparlar. Clusterin de proteinlerin kısmi olarak açılmış hidrofobik kısımlarına bağlanarak onları çözünür kılar, birbirlerine yapışmalarını ve çökelmelerini engeller (Humphreys vd., 1999; Poon vd., 2000; Carver vd., 2003).

Clusterin bu iki izoformu sayesinde, hücre stres seviyesine göre ya yaşamın devamlılığını ya da hücrenin programlı olarak öldürülmesini sağlar. Buna paralel olarak, şu ana kadar yapılan çalışmalarda anormal hücre ölümü veya çoğalması olan hastalıklarda yüksek seviyede clusterin ifade edildiği görülmüştür. Alzheimer hastalığı (Xing vd., 2012; M. Mullan vd., 2013), multipl skleroz (Polihronis vd., 1993), miyokard enfarktüsü (Väkevä vd., 1993), glomerülonefrit (böbrekteki nefronların iltihaplanması) (Murphy vd., 1989), böbrek hastalığı (Dvergsten vd., 1994) ve çeşitli kanserlerde (Kang vd., 2004) clusterin ifadesinin arttığı gözlenmiştir. Yapılan in vitro çalışmalarda ısı şoku ve oksidatif stres gibi hücre stres durumlarında clusterin ifadesinin indüklendiği görülmüştür (Viard vd., 1999). Clusterin proteini arteriosklerotik plaklar (atardamarların sertleşmesine sebep olan plaklar) (Jordan-Starck vd., 1994), Alzheimer hastalığındaki plaklar (Calero vd., 2000) ve drusen (retinanın altındaki sarı veya beyaz ekstrasellüler matriks materyali birikimleri) (Hollyfield vd., 2003) gibi patolojik ekstrasellüler birikimlerle fiziksel olarak ilişkili bulunmuştur. Beyinde ve diğer organlardaki amiloid birikimlerinin içinde clusterin proteininin varlığı gösterilmiştir (Calero vd., 2000). 2016 yılında yapılmış analize göre 95 bireyden farklı dokular alınmış ve bu dokularda clusterin ekspresyonu bakılarak toplamda 27 doku örneğinde clusterin ekspresyon seviyeleri belirlenmiş ve Şekil 1.5'teki sonuçlar elde edilmiştir (URL-8).



Şekil 1.5: Farklı dokulardaki clusterin gen ekspresyonları. 95 bireyden farklı doku örnekleri ile ve toplamda 27 farklı doku örneği ile oluşturulmuştur. RPKM: reads per kilobase of transcript per million mapped reads – her milyon eşleştirilmiş okumanın, transkriptin her kilobazındaki okuması (URL-8).

PEG ve PES hastalarının ameliyatla çıkarılmış göz dokularında clusterin ifadesi incelendiğinde, çoğu oküler hücrede clusterin mRNA'sına rastlanmıştır, ancak en yüksek ifade seviyesi oküler bazal membran ve stromal lifler gibi ekstrasellüler yapılarda belirlenmiştir. PES birikimlerinde clusterin proteininin varlığı tespit edilmiştir (Zenkel vd., 2006). PES hastalarının iris, lens ve silier proses dokularında clusterin mRNA'sının aşağı düzenlemeye uğradığı gösterilmiştir (Zenkel vd., 2005). Hem PES hem de PEG'li gözlerde ön segment dokularda clusterin mRNA'sının önemli derecede aşağı düzenlemeye uğradığı, arka segment dokularda ise ifade seviyesinde farklılık olmadığı gözlenmiştir (Zenkel vd., 2006).

PES hastalarında gözün ön kamarasındaki oksidatif ortam (Koliakos vd., 2003) nedeniyle protein yanlış katlanmalarının meydana gelebileceği, clusterin ifadesinin de azalmış olmasının sonucunda protein birikiminin arttığı ve PES'de görülen karakteristik patolojik birikimi meydana getirdiği önerisi getirilmiştir (Zenkel vd., 2006). Ancak, yukarıda da belirtildiği gibi bazı çalışmalarda oksidatif stresin clusterin ifadesini indüklediği görülmüştür (Viard vd., 1999). Oksidatif strese rağmen clusterin ifadesinin düşük olması, bize bu patolojide clusterin seviyelerinin düşük olmasına neden olan bazı başka faktörlerin de devrede olabileceğini düşündürmüştür. Bu faktörlerin arasında düşük ifade edilme seviyesine neden olan genetik polimorfizmler olabilir. Clusterin genetik polimorfizmleri ileriki bölümlerde ele alınacaktır.

### **1.3 Genetik Polimorfizm**

Genetik polimorfizm, bir popülasyondaki bireyler arasında DNA dizilimindeki farklılık olarak, yani bir tür içinde birden fazla fenotip varlığı olarak tanımlanır. Bu farklılıklar ekleme, silme, ters çevirme, dizi tekrarları ve tek nükleotit polimorfizmlerini içerir. Genetik materyaldeki bu değişiklikler tesadüf eseri, evrimsel zorlama sebebiyle veya çevresel faktörlerden kaynaklanıyor olabilir. Bu terim, nüfusun %1'inden fazlasında bulunan varyasyonlarda kullanılmak üzere sınırlandırılmıştır (Ford, 1966).

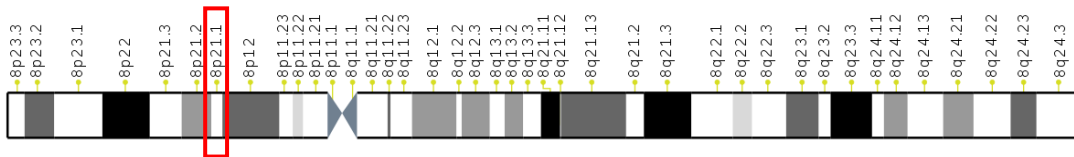
#### **1.3.1 Tek nükleotit polimorfizmi**

Tek bir nükleotitteki değişim tek nükleotit polimorfizmi (SNP-single nucleotide polymorphism) olarak adlandırılır (Lewin, 2007). Tek nükleotit polimorfizmi olarak

sınıflandırılması için popülasyonda en az rastlanan alel %1 veya daha fazla bir frekansa sahip olmalıdır. Frekans bundan daha düşükse mutasyon olarak kabul edilir. SNP'lerin büyük çoğunluğu kodlamayan bölgelerdedir ve doğal seleksiyon altında olmadıkları düşünülmektedir (Shastry vd., 2002). Bununla birlikte, insan genomunun en az %5'i stabilize edici seçilim altındadır (Chinwalla vd., 2002). İntergenik bölgeler ve transkripsiyon faktörü bağlanma mevkileri genomun düzenleyici kısımlarıdır. Dolayısıyla, protein kodlama sekansı üzerindeki varyasyonların neden olduğu fonksiyon değişikliklerine ek olarak düzenleyici alanlardaki değiştirme, silme veya yok etme, hedef genlerin kullanımını bozabilir veya gen ekspresyonunda artış veya azalmaya neden olabilir (Knight vd., 2003). Dolayısıyla, bir genin düzenleyici alanlarında bulunan polimorfizmler, belirli bir transkripsiyon faktörü için bağlanma afinitesini değiştirerek, tamamen farklı bir transkripsiyon faktörü tarafından tanımayaya veya tümüyle bağlanma yerini yok ederek hedef genin ekspresyonu üzerinde etkili olabilirler (Fried vd., n.d.). Bunun yanı sıra intronlarda bulunan polimorfizmler splyas (intronların uzaklaştırılarak eksonların birleştirilmesi) işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozarak düzgün proteinin üretilmesine engel olabilmektedir. Ayrıca 3' UTR (3' untranslated region – 3' transle edilmeyen bölge) translasyonun sonlandırılmasında ve post-transkripsiyonel gen ekspresyonunda kritik rol oynamaktadır. Dolayısıyla bu bölgedeki bir polimorfizm protein ekspresyonunda artış veya azalmaya neden olabilir.

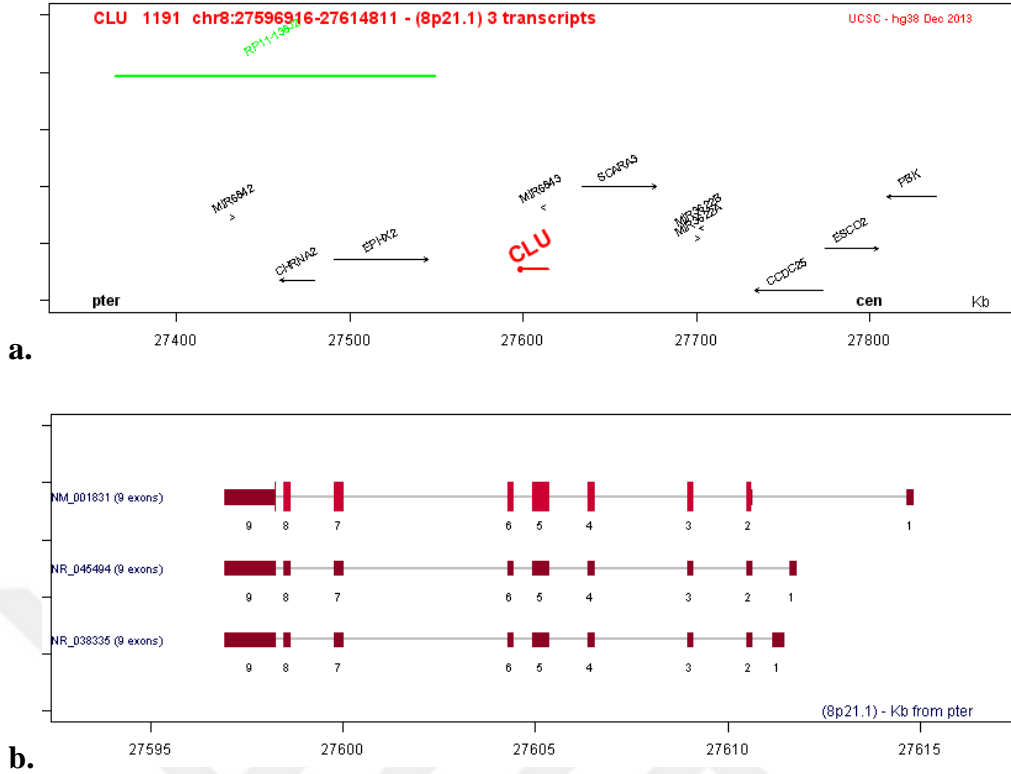
### 1.3.2 Clusterin geni

Clusterin geni 8. kromozomun kısa kolunda (p21.1) bulunur, toplamda 11 tane ekson içerir ve 19801 bp uzunluğundadır (İnsan genomu GRCh38.p7 versiyonuna göre belirtilmiştir) (URL-8) (Şekil 1.6).



Şekil 1.6: Clusterin geninin 8. kromozom üzerindeki lokasyonu. (URL-8).

Bu gen için tanımlanmış 3 transkript bulunmaktadır. Toplam 11 ekson arasında tanımlanmış clusterin transkriptlerindeki 2-9 numaralı eksonlar ortak iken, ilk ekson bu transkriptler arasında değişkenlik göstermektedir (URL-8) (Şekil 1.7)



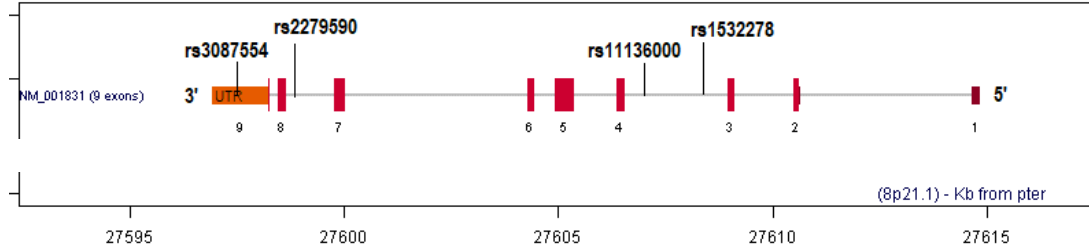
Şekil 1.7: Clusterin geninin genomik lokasyonu ve transkriptleri. a. Clusterin geninin genomik lokasyonu (8p21.1) (27,596,917-27,616,717 bp (base pair - baz çifti) arasında bulunmaktadır). b. Clusterin transkriptleri (NM\_001831, NR\_045494, NR\_038335). Eksonlar numaralandırılmış ve kırmızı kutular olarak gösterilmiştir. Gri çizgiler intronları belirtmektedir. Clusterin eksi iplikçikte bulunduğu ve ters yönde transkript edildiği için numaralandırma sağdan sola doğru yapılmıştır (Rauhala ve Visakorpi, 2010; URL-9).

İnsan clusterin geninde tespit edilmiş 995 polimorfizm vardır. Bunların 887 tanesi SNP'dir. Clusterin geninin kodlayan bölgesinde 138 tane SNP bulunmaktadır ve bunların 81 tanesi yanlış anlamlı SNP'dir.

Clusterin genindeki kodlanan amino asiti, sonuç olarak da proteinin anlamını değiştiren yanlış anlamlı polimorfizmlere toplumda çok az, 0.0002-0.0653 arasında (global Minor Allele Frequency, gMAF değerleri), rastlanmaktadır (URL-8). Yanlış anlamlı polimorfizmler proteinin fonksiyonunu etkileyebildiği için, bu varyasyonların toplumda seyrek görülüyor olmasının, clusterin proteininin birey için vazgeçilmez derecedeki önemli fonksiyonundan ileri geldiği düşünülmektedir. Bu SNP'ler arasında en yüksek gMAF değeri (0.0653) için istatistiksel güç hesaplaması yapıldığında en iyi ihtimalle %41 güç elde edilebileceği tahmin edilmiştir. Bu nedenle yanlış anlamlı polimorfizmler bu çalışmanın kapsamına alınmamıştır.

### 1.3.3 Clusterin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizmi

Clusterin genindeki rs11136000 C/T polimorfizmi 3. intronda (27,607,002 bç konumunda) yer almaktadır ve T>C alel dönüşümüdür (İnsan genomu GRCh38.p7 versiyonuna göre belirtilmiştir) (Ling vd., 2012; URL-10) (Şekil 1.8).



Şekil 1.8: Clusterin geninde incelenen SNP'lerin gen üzerindeki lokasyonları. Gösterim clusterin geni NM\_001831 transkripti üzerinde yapılmıştır. Eksonlar numaralandırılmış ve kırmızı kutular olarak gösterilmiştir. Gri çizgiler intronları belirtmektedir. Clusterin eksi iplikçikte bulunduğu ve ters yönde transkript edildiği için numaralandırma sağdan sola doğru yapılmıştır (Rauhala ve Visakorpi, 2010'dan uyarlanmıştır).

Clusterin, Alzheimer hastalığında görülen protein birikimleri ile ilişkilidir ve psödoeksfolyasyon sendromu da Alzheimer ile benzer patofizyolojik süreçlere sahip olduğu için psödoeksfolyasyon materyalinin oluşumunda da clusterin proteininin rolü olabileceği düşünülmüştür. Alzheimer ile ilgili yapılan çalışmalarda hastalıkla ilişkisi en fazla tespit edilen clusterin genetik polimorfizmi rs11136000 C/T olmuştur. Büyük ölçekli genom-ilişkilendirme çalışmalarında rs11136000 C/T Alzheimer hastalığı ile ilişkili bulunmuştur (Harold vd., 2009; Lambert vd., 2009). Bu polimorfizm Çinlilerde de Alzheimer ile ilişkili bulunmuştur (T aleli ile C aleli karşılaştırması  $P=0.038$ ,  $OR=0.73$ , %95  $CI=0.54-0.98$ ; TT genotipi ile CT+CC genotipi karşılaştırması  $P=0.009$ ,  $OR=0.33$ , %95  $CI=0.14-0.77$ ) (Chen vd., 2012). Öte yandan, Çinlilerde rs11136000 C/T ile Alzheimer hastalığı arasında ilişki bulunmadığı sonucuna varan yayınlar da mevcuttur (Yu ve Tan, 2012; Lu vd., 2014). M. Mullan ve arkadaşlarının (2013) çalışmasında kontrol grubunda TT genotipine sahip bireylerin plazma clusterin seviyesinin CT ve CC genotipli bireylere göre düşük olduğu gözlenmiştir. Aynı çalışmada Alzheimer hastalarının plazma clusterin seviyesi kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Bir başka çalışmada ise Almanlarda, Alzheimer hastalarında düşük clusterin plazma seviyesi ile rs11136000 C/T arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ( $P=0.011$ ) (Schürmann vd., 2011). Polonyalılarda ise rs11136000

C/T SNP ile Alzheimer arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (Klimkowicz-Mrowiec vd., 2013). Zhou ve arkadaşlarının (2010) yaptığı çalışmaya göre ise Çinlilerde C alel frekansı aile geçmişinde de şizofreni olan şizofreni hastalarında kontrollere göre daha yüksek olarak bulunmuştur ve sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P=0.03$ ,  $OR=2.15$ , %95  $CI=1.04-4.43$ ). Cai ve arkadaşlarının (2016) yaptığı çalışmada TT genotipine sahip olmanın CC genotipine sahip olanlara göre hafif bilişsel bozukluk (mild cognitive impairment) riskini azalttığı görülmüştür ( $P=0.043$ ,  $OR=0.158$ , %95  $CI=0.027-0.941$ ).

İntronlarda bulunan polimorfizmler splay işleminde tanınan bölgelerin dizisini bozarak düzgün proteinin üretilmesine engel olabilmektedir. Bu SNP'nin gMAF (global minör alel frekansı) değeri  $T=0.378$  olarak verilmektedir ve polimorfik alelinin (minör alel T) frekansı farklı toplumlarda sıfır ile 1 arasında değişmektedir (URL-10). gMAF değeri Avrupalı ve ABD'lilerde 0.400 (Harold vd., 2009), Çinli Han popülasyonunda ise 0.186 olarak tespit edilmiştir (Lu vd., 2014).

Burdon vd.'nin (2008) çalışmasında rs11136000 C/T incelenmiş, T alel frekansı PES hastalarında kontrollerden yüksek bulunmuştur; ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Türk popülasyonunda yakın zamanda yapılan bir çalışmaya göre rs11136000 C/T SNP ile PES arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmemiş ve CC genotipi PEG hastalarında kontrollere oranla istatistiksel olarak daha fazla görülmüştür (Kılıçarslan vd. 2017).

Bilindiği gibi, SNP'ler toplumlar arasında ciddi farklılıklar sergilemektedir. Bu durum, PES ile ilgili çalışmaların sonuçlarından da görülebilir. Bu nedenle clusterin SNP'lerinin bizim toplumumuzdaki dağılımının ve PES ile ilişkisinin çalışılması son derece önemlidir.

#### **1.3.4 Clusterin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmi**

Clusterin genindeki rs3087554 A/G polimorfizmi 3' transle edilmeyen bölgede (27,597,925 bç konumunda) yer almaktadır. Eksi iplikte yer alır ve A>G alel dönüşümüdür (İnsan genomu GRCh38.p7 versiyonuna göre belirtilmiştir) (Lin vd., 2012; URL-11) (Şekil 1.8). Bu çalışmada eksi ipliğe göre isimlendirme yapılmıştır.

Alzheimer hastalığı ile ilişkili çok sayıda çalışmaya karşın, PEG ve PES'de clusterin genetik polimorfizmlerinin rolünü araştıran çok daha az çalışma vardır (Burdon vd.,

2008; Krumbiegel vd., 2009; Padhy vd., 2014; Fan vd., 2015; Dubey vd., 2015). Bunlardan ilki Avustralya’da yapılmıştır (Burdon vd., 2008) ve clusterin genindeki intron varyantı, yukarı ve aşağı akış bölgesi varyantı olan 8 tane SNP incelenmiştir. Sonuçta rs3087554 A/G PES ile ilişkili bulunmuştur ( $P=0.04$ ) (Burdon vd., 2008). Bunun aksine rs3087554 A/G SNP beyaz ırkta, Almanlarda ve Hintlilerde PES ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermemiştir (Krumbiegel vd., 2009; Fan vd., 2015; Dubey vd., 2015).

Clusterin rs3087554 A/G için gMAF değeri  $C=0.242$  olarak verilmektedir. Eksi iplikte bulunan bu polimorfizmin minör alel (G) frekansı farklı toplumlarda 0.088 ile 0.500 arasında değişmektedir (URL-11). Bu polimorfizm daha önce bizim toplumumuzda hiç çalışılmamıştır.

### **1.3.5 Clusterin rs1532278 C/T tek nükleotit polimorfizmi**

Clusterin genindeki rs1532278 C/T polimorfizmi 3. intronda (27,608,798 bç konumunda) yer almaktadır ve T>C alel dönüşümüdür (İnsan genomu GRCh38.p7 versiyonuna göre belirtilmiştir) (Daimon vd., 2011; URL-12) (Şekil 1.8).

Clusterin rs1532278 C/T, Naj ve arkadaşları (2011) tarafından 8309 hasta ve 7366 kontrol ile gerçekleştirilen genom boyu ilişkilendirme çalışmasında Alzheimer riski ile ilişkili bulunmuştur ( $P=1.9 \times 10^{-8}$ ,  $OR=0.89$ ). Rosenthal ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan istatistiksel analizde Alzheimer hastalığı ile ilgili daha önceden yapılan çalışmalarda incelenmiş olan farklı genlerdeki 614 SNP içinden hastalık ile en güçlü ilişkisi bulunan 3 SNP’den bir tanesinin clusterin genindeki rs1532278 C/T olduğu ortaya konmuştur. Bu SNP ayrıca diyabet ile de ilişkili bulunmuştur ( $P=0.031$ ) (Daimon vd., 2011).

Bu SNP için gMAF  $T=0.264$  olarak verilmektedir ve farklı toplumlarda sıfır ile 0.500 arasında değişmektedir (URL-12). Clusterin rs1532278 C/T daha önce PES veya PEG kapsamında hiç incelenmemiştir.

### **1.3.6 Clusterin rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmi**

Clusterin genindeki rs2279590 C/T polimorfizmi 7. intronda (27,598,736 bç konumunda) yer almaktadır. Eksi iplikte yer alır ve T>C (pozitif ipiliğe göre) alel dönüşümüdür (İnsan genomu GRCh38.p7 versiyonuna göre belirtilmiştir) (Daimon vd., 2011; URL-13) (Şekil 1.8). Bazı kaynaklarda bu polimorfizmin alel frekansları



negatif ipliğe göre verilmektedir. Bu çalışmada alel frekansları pozitif ipliğe göre verilmiştir. Clusterin genindeki rs2279590 C/T için gMAF değeri T=0.241 olarak verilmektedir (URL-13). Minör alel (T) frekansı farklı toplumlarda sıfır ile 0.500 arasında değişmektedir (URL-13) ve Çinli Han popülasyonunda 0.174 olarak bulunmuştur (Lu vd., 2014).

Literatürde bu polimorfizm ile Alzheimer arasında ilişki olduğunu (Chen vd., 2012) ve olmadığını (Yu ve Tan, 2012; Lu vd., 2014) rapor eden yayınlar mevcuttur. Chen ve arkadaşlarının (2012) çalışmasında rs2279590 C/T polimorfizminin C aleli Alzheimer için risk faktörü olarak bulunmuştur (T aleli ile C aleli karşılaştırması  $P=0.035$ ,  $OR=0.72$  %95  $CI=0.53-0.98$ ); bu sonuç T aleli Alzheimer'a karşı koruyucudur şeklinde de ifade edilebilir. Tip 2 diyabette ise bu polimorfizmin T aleli riskli bulunmuştur ( $P=0.0039$ ,  $OR=2.33$ ) (Daimon vd., 2011). Özetle, bu SNP'nin C aleli Alzheimer hastalığı için (Chen vd., 2012), T aleli ise tip 2 diyabet için (Daimon vd., 2011) risk faktörü olarak bulunmuştur.

2009 yılında yapılan başka bir çalışmada rs2279590 C/T polimorfizminin T aleli Almanlarda PES ile ilişkili bulunmuştur ( $P=0.0347$ ,  $OR=1.34$ ). Aynı çalışmada bu SNP İtalyanlarda PES ile ilişkisiz çıkmıştır (Krumbiegel vd., 2009). Padhy ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmada ise daha önce T aleli Almanlarda risk faktörü olarak bulunmuş olan rs2279590 C/T polimorfizminin C alelinin, Hintli popülasyonunda PES hastalığı ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca, rs2279590 C/T için C alelini homozigot olarak taşıyanların (CC) TT genotiplere göre 2 kat daha fazla clusterin mRNA ifade edilme seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir. Dubey ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada Güney Hintlilerde rs2279590 C/T SNP ile PES arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamazken, Fan ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada beyaz ırkta ( $P=0.01$ ,  $OR=1.18$ , %95  $CI=1.03-1.33$ ) ve Hintlilerde ( $P=0.02$ ,  $OR=0.76$ , %95  $CI=0.61-0.96$ ) rs2279590 C/T SNP ile PES arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir. Clusterin genindeki rs2279590 C/T polimorfizmi bizim toplumumuzda daha önce hiç çalışılmamıştır.

#### **1.4 Aköz Humor**

İnsan aköz humoru, gözün ön kamerasında bulunan ve gözü hem besleyen hem de bağışıklığı sağlayan bir sıvıdır. Aköz humor sıvısında proteomiks analizinden elde

edilen sonuçlara göre 676 tane farklı protein bulunmaktadır. Bu proteinler arasında clusterin ve bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) de yer almaktadır (van Setten vd., 2002; Chowdhury vd., 2010). Aköz humordaki clusterin protein seviyeleri kişiler arasında büyük varyasyon göstermektedir ( $752 \pm 519$  ng/mL) (Dota vd., 1999). Şimdiye kadar PEG ve PES hastalarının aköz humorunda clusterin seviyelerini incelediği iki çalışma bulunmaktadır (Zenkel vd., 2006; Padhy vd., 2014). Bu çalışmaların ilkinde PES hastalarında katarakt hastalarına (kontrol), primer açık açılı glokom hastalarına ve PEG hastalarına oranla aköz humorda clusterin mRNA'sı ve protein seviyesi ciddi biçimde düşük bulunmuştur. PEG'li hastaların clusterin seviyesi ise tüm diğer gruplardan yüksek bulunmuştur (Zenkel vd., 2006). İkinci çalışmada PEG hastalarının PES ve kontrol bireylerinkine göre hem aköz humorunda, hem de lens kapsüllerinde clusterin protein seviyesinin yüksek olduğu saptanmıştır. PES'li hastaların clusterin seviyesi ise kontrollerdekinden biraz az bulunmuştur ve aradaki fark anlamlı değildir (Padhy vd., 2014). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre PEG hastası ile PES hastasını, aköz humor örneklerindeki clusterin seviyelerine bakarak ayırt etmek mümkün görünmektedir. Ancak toplumda herkesten aköz humor örneği alınması mümkün olamayacağından, herkese uygulanabilecek bir parametre değildir. Bu nedenle, biz bu çalışmamızda, aşağıda da anlatıldığı gibi, daha kolay ulaşılabılır bir biyolojik örnek olan gözyaşı ile aköz humorda bu proteinlerin seviyesini karşılaştırmayı ve aralarında bir korelasyon olup olmadığını incelemeyi amaçladık. Bu sayede gözyaşı örnekleri PEG ve PES hastalıklarının tanısına katkıda bulunabilir.

## 1.5 Gözyaşı

Gözyaşı, göz epitelinin üstünü örten ve oküler yüzeyin sağlıklı kalmasını sağlayan hücre dışı sıvıdır. Gözlerin temizlenmesi ve nemlenmesini sağlayan berrak ve tuzlu bu sıvı, lakrimal bez, yardımcı bezler, meibomian bezi, kornea ve konjonktiva epitel hücreleri tarafından üretilen salgıların bir karışımıdır. Gözyaşı sıvısı proteinler, peptitler, elektrolitler, lipitler ve küçük metabolitleri içeren son derece karmaşık bir biyolojik sıvıdır (Zhou vd., 2006). Göz epitelinin üstünü örten gözyaşı film tabakası 3 katmandan meydana gelir ve bunlar en dıştaki lipit tabakası (apolar ve polar lipitler ile aralarına yerleşmiş proteinler), ortadaki sulu tabaka ve epitel yüzeyi ile ilişkili içteki müsün tabakasıdır. Gözyaşının çok önemli görevleri vardır ve bunlar göz kapaklarının

ıslatılması, korneanın beslenmesi, ışığın kırılması için düzgün bir yüzey oluşturulması, zararlı maddelerin uzaklaştırılması ve dış ortamdaki patojenlere karşı gözün korunması şeklinde sıralanabilir (Zhou ve Beuerman, 2012). Gözyaşının içeriği de bu görevlerine uygundur. Örneğin, gözyaşının antimikrobiyal özelliği içeriğindeki temel proteinlerden lizozim ve laktoferrin ile sağlanmaktadır (Zhou ve Beuerman, 2012).

Gözyaşındaki proteinlerle ilgili ilk kapsamlı proteomiks çalışmasında, gözyaşında 491 tane farklı protein olduğu tespit edilmiştir (de Souza vd., 2006). 2012 yılındaki bir başka çalışmada ise bu rakam 1543 farklı protein olarak bulunmuştur ve bu proteinlerin arasında clusterin de mevcuttur (Zhou vd., 2012). Bu iki çalışma karşılaştırıldığında ise tespit edilen proteinlerin 239 tanesinin her ikisinde de ortak olduğu görülmüştür. Bu durumda bu iki proteomiks çalışmasının sonuçları toplandığında gözyaşında 1800'e yakın farklı protein bulunduğu sonucuna ulaşılabilir (Zhou vd., 2012). Kıyaslamak için örnek verecek olursak insan plazmasında 1929 tane protein bulunmaktadır (Farrah vd., 2011). Temel gözyaşı proteinleri iki grupta toplanabilir. İlk grupta lizozim, laktoferrin, epidermal büyüme faktörü, lipokalin ve IgA (immünoglobulin A) bulunmaktadır. Diğer grupta ise serum proteinlerinden albumin, transferin, IgG ve IgM gibi proteinler yer almaktadır. Bu ikinci gruptaki proteinler konjonktivadaki damarlardan gözyaşına sızmaktadır (Ohashi vd., 2006). Gözyaşındaki total protein konsantrasyonu Posa ve arkadaşları (2013) tarafından 4.6 mg/mL, Zhou ve arkadaşları (2012) tarafından ise 6–10 mg/mL olarak tespit edilmiştir.

İnsan gözyaşı sıvısının proteomik bileşimi klinik tıpta son yıllarda çok ilgi çekmeye başlamıştır. Bu ilginin nedenlerinin başında gözyaşında bulunan proteinlerin farklı dağılımlarının oküler hastalıkların patofizyolojisi hakkında fikir edinilmesini sağlayabileceğinin düşünülmesi gelmektedir. Ayrıca, gözyaşında bulunan bazı proteinler oküler ve sistemik hastalıkların teşhisinde biyobelirteç (biomarker) olarak da kullanılabilme potansiyeline sahiptir. Bunların yanında, gözyaşı sıvısının cerrahi olmayan girişimsel (invaziv – invasive) olarak, nispeten kolaylıkla alınabilmesi de araştırmacıların ilgisini bu sıvıya yöneltmiş bir etken olmuştur.

Gözyaşı, oküler hastalıkların olduğu bölgeye yakın olması nedeniyle altta yatan patolojinin anlaşılmasında son derece önemli olmaktadır. Gözyaşı sıvısının içeriği ve kalitesi, büyük ölçüde oküler yüzeylerin sağlıklı olup olmaması ve lakrimal bezin fonksiyonu tarafından etkilenmektedir. Bu sebeple gözyaşı bazı hastalıkların

biyobelirteçlerinin keşfedilmesi için biyolojik numune kaynağı olarak kullanılmaktadır. Örneğin, göz kuruluğu (Grus vd., 2005; Zhou vd., 2009; McKown vd., 2009; Versura vd., 2010; Tong vd., 2011), mikrobiyal enfeksiyonlar (Ananthi vd., 2008), blefarit (göz kapağı iltihabı) (Koo vd., 2005; McKown vd., 2009), alerjik göz hastalıkları (Nomura ve Takamura, 1998), keratokonus (korneanın öne doğru bombeleşmesi ve incilmesi ile karakterize bir hastalık) (Lema vd., 2010; Pannebaker vd., 2010) ve Sjogren sendromunun (dış bezlerin öncelikle tutulduğu, gözde kurumaya sebep olan otoimmün bir hastalık) tanısında (Tomosugi vd., 2005) gözyaşının incelenmesinin faydalı olabileceği belirtilmektedir. Örneğin, hâlihazırda basit bir testi olmayan Sjogren sendromunun teşhisi için faydalı olabilecek ve gözyaşı örneklerinin protein dağılımlarının incelenmesine dayalı bir test dizayn edilmiştir (Tomosugi vd., 2005).

Oküler hastalıkların yanında, diyabet (Stolwijk vd., 1994; Kawai vd., 2002; Baca vd., 2007; Park vd., 2008; Chen vd., 2011; Csösz vd., 2012), tiroid göz hastalığı (Graves hastalığı denilen zehirli guatr hastalarında görülen ve gözün büyümesi, kanlanması, kapaklarda çekilme, çift görme, bulanık görme ile kendini gösteren bir hastalık) (Khalil vd., 1989; Baker vd., 2006; Okrojek vd., 2009; Yoon vd., 2010), kanser (Evans vd., 2001; Lebrecht vd., 2009; Böhm vd., 2012) ve multipl skleroz (Salvisberg vd., 2014) gibi bazı sistemik hastalıklarda da bazı gözyaşı proteinlerinin ifadesinde farklılıklar gözlenmiştir. Diabetes mellitus, göz komplikasyonları ve körlükle ilişkili sistemik bir hastalıktır. Diyabetik retinopatisi olan hastalarda bazı temel gözyaşı proteinlerinde değişiklikler görülmüştür (Stolwijk vd., 1994; Csösz vd., 2012) ve bu parametrelerin biyobelirteç olarak kullanılabilmesi önerisi getirilmiştir (Csösz vd., 2012). Diyabetik retinopatisi olan hastaların gözyaşında Apolipoprotein AI (Kawai vd., 2002) ve sinir büyüme faktörü seviyeleri (Park vd., 2008) yüksek bulunmuştur. Ayrıca, diyabetli hastalarda glisemik kontrolün gözyaşından yapılabileceği ortaya konmuş (Baca vd., 2007; Chen vd., 2011) ve bu ölçümü sürekli yapabilen bir kontakt lensin üretim çalışmalarına başlandığı 2014 yılında duyurulmuştur. Fakat 2019 yılında piyasaya sunulacak olan ürün için tarih daha ileri bir zamana ertelenmiştir (URL-14). Tiroide bağlı göz hastalığı (Graves oftalmopati) olan kişilerde gözyaşında IgA/lizozim oranının (Khalil vd., 1989) ve çinko-alfa2 glikoprotein, laktoferrin (Baker vd., 2006) ve sinir büyüme faktörü (Yoon vd., 2010) seviyelerinin yükseldiği gözlenmiştir. Gözyaşı proteomu kanser ile, özellikle meme kanseri ile, ilişkili bulunmuştur (Evans

vd., 2001; Lebrecht vd., 2009). Multipl skleroz hastalarının gözyaşı örneklerinde alfa-1 anti-kimotripsin seviyesinin kontrollerden önemli derecede yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu proteinin multipl skleroz tanısında umut verici bir biyobelirteç olduğu belirtilmiştir (Salvisberg vd., 2014).

Gözyaşı alımı cerrahi olmayan girişimsel bir yöntem olması bakımından diğer bazı biyolojik numunelere göre öne çıkmaktadır. Hasta tercihlerini sorgulayan bir çalışmada hastaların %74'ü kan yerine gözyaşı örneği vermeyi tercih etmiştir. Hatta aynı çalışmada hastaların %69'u girişimsel olmayan bir biyolojik numune olan idrar yerine gözyaşı numunesi vermeyi tercih etmişlerdir (Quah vd., 2014).

Gözyaşı örneği almak için kullanılan en yaygın metotlar mikrokapiller tüp (van Setten, 1990; de Souza vd., 2006; Csösz vd., 2012) ve Schirmer (Schirmer tear test; STT) striplerin (Stuchell vd., 1984; Choy vd., 2001; Li vd. 2008; Chong vd., 2010; Kramann vd., 2011; VanDerMeid vd., 2011; Wong vd., 2011; Denisin vd., 2012; Zhou ve Beuerman, 2012; Funke vd., 2012; Farias vd., 2013) kullanımınıdır. Bunun dışında gözün bir sıvı ile yıkanması ve emici materyallerin kullanımı gibi yöntemlere de rastlanmaktadır fakat bu yöntemler daha az popülerdir (Markoulli vd., 2011). Schirmer stripleri, rutin olarak oftalmolojide kuru göz tanısında kullanılan filtre kâğıtlarıdır. Bu kâğıt striplerin uygulanması hem doktor hem de hasta açısından kolaylık ve avantaj sağlamaktadır. Gözyaşı örneğinin alınmasında Schirmer stripleri ve mikrokapiller tüp kullanımını karşılaştıran bir çalışmada Schirmer strip kullanımının bazı avantajları olduğu belirtilmiştir (Posa vd., 2013). Bu avantajlar şunlardır:

- Schirmer stripi hastanın gözüne yerleştirdikten sonra hekim 5 dakikalık bekleme süresinde başka bir işle meşgul olabilir. Öte yandan mikrokapiller tüp yönteminde uygulayıcının tüpü tüm işlem boyunca yerinde tutması gerekmektedir.
- Mikrokapiller tüp ile gözyaşı örneği almak belli bir tecrübe ve beceri gerektirmektedir ve gözyaşı alımı sıklıkla hastanın gözünü kırpması nedeniyle kesintiye uğramaktadır.
- Hastalar esnek filtre kâğıdından yapılmış Schirmer stripleri ile karşılaştırıldığında sert kapiller tüp ile gözyaşı örneği alınmasına karşı daha tereddütlü yaklaşmışlardır (Posa vd., 2013).

Sonuç olarak, Schirmer stripleri gerek gözle gerekse diğer hastalıklarla ilişkili olabilecek gözyaşındaki biyokimyasal parametrelerin büyük popülasyonlarda çalışılabilmesi için cerrahi olmayan girişimsel ve hastalar tarafından da kabul gören nazik bir araçtır.

## 1.6 Çalışmanın Amacı

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES), hücre dışı matrikste lifsi materyallerin gözün ön segmentindeki tüm dokularda birikmesi ile karakterize, yaşa bağlı gelişen sistemik bir bozukluktur (Schlötzer-Schrehardt vd., 1991). Psödoeksfoliasyon materyalinin, aköz humor sıvısının drenajını sağlayan kanalları tıkaması sonucunda göz içi basıncının artması ile birlikte glokom ortaya çıkar. Psödoeksfoliasyon tüm dünyada glokomun en sık görülen nedenlerinden biridir ve bu tip glokoma psödoeksfoliatif glokom (PEG) adı verilir (Ritch ve Schlötzer-Schrehardt, 2001). Clusterin hemen hemen tüm hücre tiplerinde üretilen, salgılanan ve PES materyalinde biriken çok fonksiyonlu bir glikoproteindir (de Silva vd., 1990; Jones ve Jomary, 2002). Clusterin hücrel stres durumlarında, salgılandığı yerde yanlış katlanmış proteinlerin stresle tetiklenen çökmesi ve yığılmasının önlenmesini sağlar (Humphreys vd., 1999). Hem PES hem PEG hastalarında clusterin ifadesi beklenmedik bir şekilde düşüktür (Zenkel vd., 2006) ve bu durum clusterini kodlayan genlerdeki tek nükleotit polimorfizmleri sebebiyle olabilir. Bu çalışma PEG ve PES riski ile clusterin genetik polimorfizmleri ve aköz humor ile gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlamıştır.

PES sinsi bir hastalıktır, kritik seviyelere gelene kadar tespit edilememektedir ve kesin tedavisi henüz yoktur (Jacobi vd., 1999). PEG'in tedavisinde ise görme kaybını önlemeyi veya geri döndürmeyi sağlayacak bir tedavi yapılamamakta yalnızca gözdeki basınç düşürülebilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada incelenecek clusterin proteini PEG ve PES ile ilgili bulunursa, sonraki yıllarda tedavi için yeni imkânlar yaratabilecektir. PES hastalarının PEG'e yakınlığını gösteren biyobelirteçlerin bulunması erken tanıyı mümkün kılacak, böylece bu bireyler için rutin kontroller sıklaştırılıp glokom tedavisine erken başlanarak glokom kaynaklı görme kayıplarının önüne geçilebilecektir.

Bu tez, Türk popülasyonunda clusterin genetik polimorfizmleri, aköz humor ve gözyaşı clusterin protein seviyeleri ile PEG ve PES arasındaki ilişkiyi inceleyen ilk çalışma olan bir TÜBİTAK 1001 (115S360) araştırma projesinin bir kısmını içermektedir. Bu çalışma aşağıdaki basamakları takip edecek şekilde tasarlanmıştır:

- PEG hastaları, PES hastaları ve kontrol gruplarından tam kan, aköz humor ve gözyaşı örneklerinin alınması,
- Tam kan örneklerinden manuel yol ile ve kit ile genomik DNA izole edilmesi,
- PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) yöntemi ile clusterin genindeki iki tek nükleotit polimorfizminin (rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G) çoğaltılması,
- Tüm bireylerde, clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmlerinin genotipleme için, çoğaltılan parçaların restriksiyon enzimleri ile kesilmesi,
- Tüm bireylerde, real-time PCR yöntemi ile clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplemesinin yapılması,
- Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin PES, PEG ve kontrol grupları için genotip ve alel frekanslarının belirlenmesi,
- Gözyaşı örneklerinin Schirmer striplerinden ekstraksiyonunun yapılması (proteinlerin geri kazanılması),
- Aköz humor ve ekstrakte olmuş gözyaşı örneklerinde Bradford protein assay kiti kullanılarak total protein konsantrasyonunun belirlenmesi,
- Aköz humor ve ekstrakte olmuş gözyaşı örneklerinde ELISA yöntemi kullanılarak clusterin konsantrasyonunun belirlenmesi,
- Aköz humor ve gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişkinin analiz edilmesi,
- Clusterin genotipleri ile aköz humor ve gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişkinin analiz edilmesi,
- Bazı risk faktörlerinin (diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, sigara kullanımı gibi) aköz humor ve gözyaşındaki clusterin protein miktarının, clusterin genotip ve alel frekanslarının istatistiksel analizler yapılarak PES, PEG ve kontrol grupları arasında kıyaslanması,

- Yaş, cinsiyet veya bazı risk faktörlerinden herhangi birine sahip olmanın PES veya PEG için risk faktörü olup olmadığının istatistiksel analizler yapılarak belirlenmesi.





## **2. MATERYALLER VE METOTLAR**

### **2.1 Materyaller**

#### **2.1.1 Popülasyon**

Bu tez 115S360 kodlu ve “Psödoeksfoliasyon sendromu ve psödoeksfoliasyon glokomunda clusterinin ve bağ dokusu büyüme faktörünün (CTGF) rolünün araştırılması” isimli TÜBİTAK 1001 projesinin bir kısmını içermektedir.

Bu çalışma Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Ek A) ve Helsinki Bildirgesi’ndeki prensiplere göre yürütülmüştür. Tam kan, gözyaşı ve aköz humor örnekleri Kasım 2015 ile Şubat 2018 tarihleri arasında Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi (eski adıyla Gülhane Askeri Tıp Akademisi) Göz Hastalıkları Servisi (Ankara, Türkiye) tarafından toplanmıştır. Tüm hasta ve kontrol grupları beyaz ırktan (Caucasian) ve aynı coğrafi bölgedendir (İç Anadolu, Türkiye). Örnekler alınmadan önce tüm katılımcılar bilgilendirilmiş ve onam formu imzalatılmıştır.

Çalışma grubu tam kan örnekleri için 213 PEG (126 erkek ve 87 kadın) ve 214 PES hastası (114 erkek ve 100 kadın) ile 215 kontrol (98 erkek ve 117 kadın) bireyinden, aköz humor örnekleri için 12 PEG (6 erkek ve 6 kadın) ve 17 PES hastası (7 erkek ve 10 kadın) ile 22 kontrol (5 erkek ve 17 kadın) ve gözyaşı örnekleri için ise 80 PEG (45 erkek ve 35 kadın) ve 81 PES hastası (45 erkek ve 36 kadın) ile 80 kontrol (31 erkek ve 49 kadın) bireyinden oluşmuştur. Bu çalışmada hasta ve kontrol gruplarının demografik özelliklerinin benzer olmasına dikkat edilmiştir. Çalışmaya alınan kontrol bireylerin yaşlarının PEG ve PES hastalarının yaşına yakın olmasına dikkat edilmiş olup kadın-erkek her iki cinsiyet de çalışmaya dahil edilmiştir.

PES tanısı, tam oftalmolojik muayene sırasında psödoeksfoliasyon materyalinin biyomikroskopik inceleme ile direkt gözlenebilmesi sayesinde konmuştur. PEG tanısı için psödoeksfoliasyonu olanlarda glokom olup olmadığı değerlendirilmiştir. Bunun için;

- Bütün hastalar rutin tam göz muayenesinden geçirilmiş, görmeler, ön segment yapıları, arka segment yapıları ve optik disk muayenesi, gonyoskopik muayene hasta dosyasına not edilmiştir.
- Göz içi basıncı ölçülmüştür. Göz içi basıncı öncelikle nonkontakt tonometre ile ölçülmüş, gerek duyulan olgularda aplanasyon tonometre ile ölçülmüştür.

Göz içi basıncı yüksek olanlar ve/veya optik sinir muayenesinde glokomdan şüphelenilen durumlarda hastaya;

- Görme alanı testi
- Optik kohorens tomografi (radyasyon yayılımı yapmaz) ile retina sinir lifi kalınlığı ölçümü
- Gereken olgularda tarayıcı lazer oftalmoskopi ile optik sinir ileri değerlendirilmesi yapılmıştır.

Yukarıda sayılan muayene yöntemleri ile psödoeksfoliasyon saptanmayan ve refraksiyon kusuru ve katarakt dışında göz hastalıkları ile ilgili hastalığı bulunmadığı tespit edilen hastalar arasından kontrol grubu oluşturulmuştur.

Gönüllülerin araştırmaya dahil olma kriterleri aşağıdaki gibidir;

- 18 yaşından büyük hastalar
- Bu çalışma için onay veren hasta ve gönüllüler
- Psödoeksfoliasyon sendromlu (PES) olgular
- Psödoeksfoliasyon glokomlu (PEG) olgular

Gönüllülerin araştırmaya dahil edilmeme kriterleri aşağıdaki gibidir;

- Araştırma kriterlerinin tamamını yerine getirmeyen hastalar
- Çalışmaya katılmak istemeyen hastalar
- Yaşa bağlı makula dejenerasyonu, üveit, herediter retinopati ve keratokonus saptanan olgular
- Katarakt ve göz tansiyonu nedeniyle yapılanlar haricinde intraoküler cerrahi geçirenler
- Sistemik romatizmal hastalığı ve alerjisi olanlar
- Düzenli sistemik steroid ya da nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullananlar
- Kontakt lens kullananlar

Lazer veya cerrahi girişimin üzerinden 3 ay geçenler çalışmaya alınırken, yeni müdahaleler alınmamıştır.

### **2.1.2 Tam kan, aköz humor ve gözyaşı örneklerinin toplanması**

Bu çalışma kontrollü tek kör randomize bir çalışmadır. Tam kan, gözyaşı ve aköz humor örneklerinin üzerinde numunenin kime ait olduğu veya kişinin hasta mı kontrol mü olduğu ile ilgili herhangi bir bilgi yazılmamış, tüplerin üzerine sadece numara yazılmıştır. Bu numaraların karşılık geldiği kişilerin isimleri ve diğer bilgileri Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Servisi'ndeki proje ekibi (Doç. Dr. Tarkan Mumcuoğlu ve Doç. Dr. Gökhan Özge) tarafından saklanmış ve proje sonunda yürütücü (Doç. Dr. Birsen Can Demirdögen) ile paylaşılmıştır.

Bu çalışma kapsamında yukarıda anlatıldığı gibi teşhis edilmiş, bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu imzalamış, çalışmamıza katılmayı kabul etmiş PEG ve PES hastaları ile kontrol bireylerden antikoagülan (Na-EDTA) içeren tüplere periferik tam kan alınmıştır. Kan alınan bireylerin bir kısmından aköz humor ve gözyaşı örneği de alınmıştır. Aköz humor sadece tıbbi olarak gereklilik olduğundan dolayı katarakt cerrahisi planlanan hastalardan çalışmamıza katılmayı kabul edenlerden alınabilmektedir. Alınan örnekler Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Servisi'nde zaman kaybetmeksizin  $-20^{\circ}\text{C}$  derin dondurucuya konulmuştur. Bu örnekler maksimum 1 haftalık bir süre içerisinde Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nden alınarak buz kutusu içinde TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Teknoloji Merkezi'nde bulunan 202 numaralı laboratuvara (Ankara, Türkiye) getirilmiş ve analiz edileceği zamana kadar saklanmak üzere  $-86^{\circ}\text{C}$  buzdolabına kaldırılmıştır.

#### **2.1.2.1 Aköz humor alma prosedürü**

Aköz humor gözün ön kamerasında bulunan ve gözü hem besleyen hem de bağışıklığı sağlayan bir sıvıdır. Aköz humor örnekleri sadece katarakt operasyonu geçiren hastalardan alınarak 1.5 mL'lik test tüplerine konulmuştur. Rutin cerrahi sırasında zaten ön kamaradan dışarı çıkacak olan aköz humor, ucuna künt kanül takılarak enjektör içerisine alınır. Alınabilecek aköz humor sıvısı miktarı 150  $\mu\text{L}$  civarındadır. Alınan aköz humor vakit kaybetmeksizin polipropilen tüplere transfer edilir ve Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde  $-20^{\circ}\text{C}$  buzdolabında bekletilir. TOBB

Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Teknoloji Merkezi'ndeki laboratuvarımıza getirildikten sonra ise işlem yapılana kadar -86°C buzdolabında muhafaza edilir.

### **2.1.2.2 Gözyaşı alma prosedürü**

Gözyaşı örnekleri Schirmer kâğıdı (gözyaşı stripi) olarak bilinen 5 mm genişliğinde, 45 mm uzunluğundaki Whatman filtre kâğıdı şeritleri kullanılarak Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Servisi'ndeki proje ekibi tarafından alınmıştır. Bu yöntemde kâğıt ucundan 5 mm kıvrılır, loş bir odada oturtulmuş olan hastanın alt forniksine 1/3 dış ve 1/3 orta kısmın arasına topikal anestezi yapmadan yerleştirilir. Gözler açık kalır ve hasta yukarı baktırılır. Gözyaşı stripinin 45 mm çizgisine kadar ıslanması beklenir. 45 mm çizgisine kadar ıslanmayanlar için ıslak kısım ölçülür ve not edilir. Stripler daha sonra 5 mL'lik steril polipropilen tüplerin içine konular ve örnekler Gülhane Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde -20°C buzdolabında bekletilir. TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Teknoloji Merkezi'ndeki laboratuvara getirildikten sonra ise işlem yapılana kadar -86°C buzdolabında muhafaza edilir.

### **2.1.3 Kimyasallar**

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar, katalog numaraları ve üretici firmaları Ek B'de verilmiştir. Bu çalışmada kullanılan tüm malzemeler kaynaklarından ya moleküler seviyede ya da en yüksek saflık seviyesinde elde edilmiş olanlardır. Bu çalışmada moleküler biyoloji çalışmaları için en uygun olan malzemeler seçilmiştir.

### **2.1.4 Primerler**

İlgilenilen tek nükleotit polimorfizmini içeren bölgeyi çoğaltmak için kullanılacak olan primerler Iontek firmasından (İstanbul, Türkiye) HPLC (High Performance Liquid Chromatography; yüksek performanslı sıvı kromatografisi) saflaştırılmış olarak satın alınmıştır. Stok primerler 100 pmol/μL konsantrasyona getirilip alikotlanarak -20°C'de saklanırken PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism; polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi) için kullanılacağı zaman alikotlar 10 pmol/μL konsantrasyona getirilmiştir. Clusterin rs11136000 C/T SNP için primer dizisi Gu ve arkadaşlarının (2011) yayınından alınıp National Center for Biotechnology Information tarafından sunulan Primer-Blast (URL-15) programından kontrol edilirken rs3087554 A/G SNP için primer dizisi proje yürütücüsü Doç. Dr. Birsen Can Demirdöğen tarafından

Primer-Blast programı kullanılarak dizayn edilmiştir. Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP'leri için kullanılmış olan primer sekansları aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP'lerinin PCR ile çoğaltılmasında kullanılacak olan ileri ve geri primer sekansları.

SNP	Primer sekansı	Kaynak
Clusterin rs11136000 C/T	F: 5' - CAT CTT CCA AAG CAG GCT G - 3' R: 5' - CCT GAC CCC AAG TAA TAT GC - 3'	Gu vd., 2011 Primer-Blast programından kontrol edildi.
Clusterin rs3087554 A/G	F: 5' - AGA TTG TCG CAC CTT GGT CA - 3' R: 5' - TGT GAG CTG ATC GCT TGG AG - 3'	Primer-Blast programı kullanılarak dizayn edildi.

### 2.1.5 TaqMan SNP genotipleme kitleri

Clusterin genindeki rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin genotiplemesi real-time PCR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) cihazında floresan işaretli alel spesifik TaqMan problemleri kullanılarak yapılmıştır. Bu SNP'lerden biri için fonksiyonel olarak test edilmiş, diğeri için ise valide edilmiş genotipleme kitleri piyasada mevcuttur ve Tablo 2.2'de TaqMan assay numaraları verilmiştir.

Tablo 2.2: TaqMan SNP genotipleme kitlerinin TaqMan assay numaraları.

Gen	SNP	TaqMan Assay Numarası (ID)
Clusterin	rs1532278 C/T	C___1522420_1_ (valide edilmiş)
	rs2279590 C/T	C___1842470_20 (fonksiyonel olarak test edilmiş)

## 2.2 Metotlar

### 2.2.1 İnsan genomik DNA örneklerinin genotipleme için hazırlanması

#### 2.2.1.1 İnsan tam kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu

Genomik DNA PCR-RFLP metodunda kullanılmak üzere manuel yolla, real-time PCR metodunda kullanılmak üzere ise kit ile izole edilmiştir.

## **Manuel yol ile genomik DNA izolasyonu**

Antikoagülan (Na-EDTA) içeren tüplere alınan periferik tam kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu, Lahiri ve Schnabel (1993) tarafından tarif edilen tuz-çöktürmeye dayanan yöntemin modifiye edilmiş hali kullanılarak yapılmıştır. Kullanılan solüsyonlar Ek C'de verilmiştir.

DNA izolasyonu için 2 mL'lik tüpte 750 µL tam kan ile 10 mM KCl, 2 mM EDTA ve 4 mM MgCl<sub>2</sub> içeren pH 7.6'da tamponlanmış 10 mM Tris-HCl solüsyonu (TKM) karıştırılır. 20 µL Triton X-100 eklendikten sonra tüpler hafif hareketlerle çalkalanarak hücre zarı parçalanır ve hücresel bileşenler dışarı çıkarılır. Daha sonra hücresel bileşenleri farklı katmanlara ayırmak amacıyla tüpler oda sıcaklığında 1000 g'de 10 dakika santrifüjlenir ve supernatant (süzüntü, yüzen üst faz) seyreltilmiş çamaşır suyuna boşaltılarak atılır. Peletin (çökelek) TKM tamponu ile yıkanması işlemi beyaz berrak bir pelet elde edene kadar tekrarlanır. Beyaz berrak pelet elde edildikten sonra ise pelet 200 µL TKM tamponu içinde çözülür. Hazırlanan karışıma 10 µL %10'luk sodyum dodesil sülfat (SDS) eklendikten sonra 58°C'de 10 dakika inkübe edilir. Ardından 75 µL soğuk (+4°C) ve doymuş NaCl çözeltisi eklenir ve tüpler ters düz edilerek karıştırılır. Soğuk tuz çözeltisi proteinlerin çökmesini sağlar. Böylelikle proteinler organik fazda ayrılırken genomik DNA da sıvı fazda toplanır. Daha sonra tüpler 4°C 14000 g'de 10 dakika santrifüjlenir ve proteinlerin pelete çökmesi sağlanır. Supernatant yeni 1.5 mL'lik tüpe aktararak (~300 µL) pelet atılır. Yeni tüpe aktarılan supernatanta DNA'yı çöktürmek için hacminin iki katı kadar olacak şekilde (~600 µL) %100'lük saf ve soğuk etanol (-20°C) eklenir ve tüpler birkaç kez ters düz edilir. İpliksi DNA'nın görülmesinin ardından tüpler -20°C'de 30 dakika inkübe edilir ve ardından çözeltideki tüm DNA'yı elde edebilmek için 4°C ve 10000 g'de 10 dakika santrifüjlenir. Supernatant dökülerek pelet kurumaya bırakılır. Tüm etanolün uzaklaşmasından sonra ise DNA, pH 8.0'de tamponlanmış 100 µL Tris-EDTA (TE) tamponu ile çözülüp 37°C de en az 3-4 saat inkübe edilmesinin ardından -20°C'ye kaldırılarak muhafaza edilir.

### **Kit ile genomik DNA izolasyonu**

Antikoagülan (Na-EDTA) içeren tüplere alınan periferik tam kan örneklerinden genomik DNA izolasyonu, Qiagen mini blood DNA izolasyon kiti (tam kandan DNA izolasyon kiti, Almanya) kullanılarak yapılmıştır.

DNA izolasyonu için 20 µL proteaz konulmuş 1.5 mL'lik tüpe 200 µL tam kan ile 200 µL Buffer AL eklenerek karışım kısaca vortekslenir. Bu sayede hücrelerin parçalanması sağlanır. Ardından 56°C'de 10 dakika inkübe edilir. Tüplerin kısa süre santrifüjlenmelerinin (3000 rpm'de 10 saniye) ardından 200 µL %100'lük saf ve soğuk (-20°C) etanol eklenerek tüpler kısaca vortekslenir ve santrifüjlenir. Daha sonra bu karışım kolona aktararak kolon 25°C ve 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenir. Ardından toplama tüpünde olan diğer hücresel bileşenler atılır ve kolon yeni toplama tüpüne aktararak üzerine 500 µL Buffer AW1 eklenir. Tekrar 25°C ve 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenir. Kolon yeni toplama tüpüne aktararak üzerine 500 µL Buffer AW2 eklenir ve 25°C ve 15000 rpm'de 3 dakika santrifüjlenir. Kolon yine yeni toplama tüpüne aktararak 25°C ve 15000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenir. Bu aşamalarda DNA'nın diğer tüm hücresel bileşenlerden arınması (yıkınması) sağlanır. Ardından kolon 1.5 mL'lik tüpe aktararak üzerine 100 µL Buffer AE eklenerek 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilir. Tüp 25°C ve 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendikten sonra üzerine 100 µL daha Buffer AE eklenerek 25°C ve 8000 rpm'de 2 dakika santrifüjlenir. Ardından kolon atılarak Buffer AE içinde çözdürülmüş DNA -20°C'ye kaldırılarak saklanır.

### **2.2.1.2 Spektrofotometre ile insan genomik DNA konsantrasyonunun belirlenmesi**

İzole edilmiş olan DNA'ların konsantrasyonu Hitachi U-5100 spektrofotometre (Hitachi High-Technologies Corporation, Tokyo, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. 260 ve 280 nm'deki absorbansları kuvars küvet kullanılarak ve 30 kat seyreltme yapılarak alınmıştır. DNA maksimum absorbansını 260 nm'de verdiği için bu dalga boyunda alınan absorbans değeri DNA'nın konsantrasyonunu hesaplamada kullanılmaktadır.

50 µg/mL konsantrasyonundaki çift zincirli DNA'nın absorpsiyonunun 1.0 olduğu bilinmektedir. Bu bilgi baz alınarak DNA konsantrasyonu aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

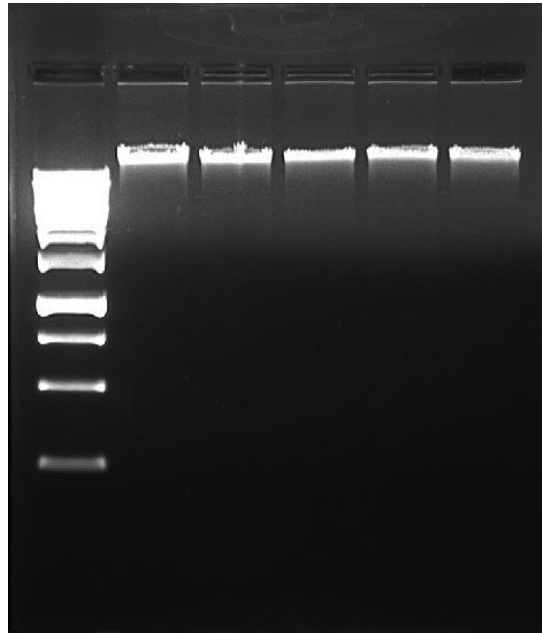
$$\text{Konsantrasyon } (\mu\text{g/mL}) = \text{Absorbans}_{260\text{nm}} \times 50 (\mu\text{g/mL}) \times \text{Seyreltme Faktörü}$$

### 2.2.1.3 Spektrofotometre ile insan genomik DNA kalitesinin belirlenmesi

DNA'nın saflığına (kalitesine) ise 260 ve 280 nm'deki absorpsiyon değerleri alınarak karar verilmiştir. Proteinler maksimum absorpsiyonlarını 280 nm'de verirlerken nükleik asitler maksimum absorpsiyonlarını 260 nm'de verirler. 260 nm'de ölçülen absorpsiyonun 280 nm'de ölçülen absorpsiyona oranı ( $A_{260}/A_{280}$ ) DNA'nın saflığını gösterir. Elde edilen değer 1.8 ise DNA'nın saf olduğu, 1.8'den yüksekse RNA kontaminasyonu olduğu, 1.8'den düşükse protein kontaminasyonu olduğu düşünülür.

### 2.2.1.4 Agaroz jel elektroforezi ile insan genomik DNA kalitesinin belirlenmesi

DNA'nın bütünlüğü ise agaroz jel elektroforezi ile bir kereye mahsus olmak üzere incelenmiştir (Şekil 2.1). Etidyum bromür içeren %0.5'lik agaroz jeli ile yatay agaroz jel elektroforez ünitesi kullanılarak DNA'nın bütünlüğüne karar verilmiştir. Kullanılan solüsyonlar Ek C'de verilmiştir.



Şekil 2.1: Agaroz jel elektroforezi ile insan genomik DNA kalitesinin belirlenmesi.



Deneye başlamadan önce jel elektroforezinin yapılacağı düzeneği oluşturan plastik tabla, kalıp ve tarak %70'lik etanol ile temizlenir, tabla kalıp içine yerleştirilir, tarak da tablanın 0.5-1.0 mm üzerinde yer alacak şekilde yerleştirilir. Ardından %0.5'lik agaroz jeli hazırlamak için öncelikle 0.15 g agaroz ile 30 mL 0.5X TBE tamponu erlenmayer şişesine konularak tüm agaroz parçacıkları çözünene kadar mikrodalga fırında kısa aralıklarla ısıtılır. Bu aşamada köpürerek taşmaları önlemek için erlenmayer şişesinin boyutu toplam hacmin en az 2 katı büyüklükte olacak şekilde seçilir. Bahsedilen jel hacmi mini boyutta bir jel tankı için verilmiştir. Midi boyutta bir jel tankı için 100 mL, maksî boyutunda bir jel tankı için ise 250 mL agaroz jel hazırlanmıştır. Etidyum bromür (EtBr) buharı kanserojen etkiye sahip olduğu için EtBr eklenmeden önce jelin soğutulması gerekmektedir. Bu sebeple ısıtılan jel akan su altında (~60°C olacak şekilde) soğutulur ve ardından stok 10 mg/mL EtBr son konsantrasyonu 0.5 µg/mL olacak şekilde ayarlanarak (1.5 µL) jele eklenir. Hazırlanan agaroz çözeltisi, hiç hava kabarcığı oluşturmadan kalıba dökülür. Eğer kabarcık oluşursa özellikle tarağın dişleri altında ve arasında oluşanlar pipet ucu yardımı ile uzaklaştırılmalıdır. Jelin oda sıcaklığında tamamen katılaşması için yaklaşık 20-40 dakika beklenir. Jel tankı yaklaşık 300 mL 0.5X TBE tamponu ile doldurulur. Tabla kalıptan sökülüp elektroforez ünitesinin içindeki yerine yerleştirilir ve jelin tarak takılı olan kısmı elektroforez tankının negatif kutbu olan katoda doğru yerleştirilir. 0.5X TBE tamponu tanka jeli tamamen kaplayacak ve derinliği 1 mm civarında olacak kadar eklenir. Tarak jelden çok dikkatli bir biçimde çıkarılır. Kuyucuklarda hiç hava kabarcığı bulunmamalıdır, eğer var ise pipet ucu ile uzaklaştırılmalıdır. 5 µL DNA örneği 2 µL 6X jel yükleme tamponu (10 mM Tris- HCl (pH 7.6), 0.03% bromofenol mavisi, 0.03% xylene cyanol FF, 60% gliserol ve 60 mM EDTA) ile karıştırılıp, jelin deliklerine yavaşça yüklenir. Tankın kapağı kapatılıp elektrik kabloları güç kaynağına takılır ve jel 90 voltta (V) ~50 dakika yürütülür. Jelin kaç voltta yürütüleceğine elektrotlar arasındaki mesafe ölçülerek ve 4-10 V/cm kuralı baz alınarak karar verilmektedir. Bu sebeple yapılan deneylerde midi boyutta bir jel tankı için 120 V, maksî boyutunda bir jel tankı için ise 200 V kullanılmıştır. Jel UV (ultraviyole) ışığı altında Vilber Lourmat Gel Imaging System (Marne La Vallee, Cedex, Fransa) kullanılarak görüntülenir ve Vision-Capture (Version 16.09) bilgisayar yazılımı yardımı ile fotoğrafı alınır. Agaroz jelde saf, sağlam ve bozulmamış DNA örnekleri tek bir bant olarak, RNA ile kontamine olmuş örnekler ise iki bant olarak görülür.

Yayılmış, bulanık ve sürüntü halinde bir görüntü var ise bu durum DNA'nın (muhtemelen izolasyon sırasında) kırıldığını gösterir ve izolasyonun tekrarlanması gerekir. Bu çalışmada Şekil 2.1'de de görüldüğü gibi kullanılan DNA örnekleri sağlam ve saftır. Kullanılan izolasyon yöntemleri problemsiz sonuç vermektedir.

## 2.2.2 Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplemeesi

Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP'lerinin genotiplemeleri için PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde öncelikle çalışılmak istenen bölge polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılır, ardından da uygun restriksiyon endonükleaz enzimleri ile bu PCR ürünleri kesilir (Tablo 2.3). PCR işlemi Eppendorf mastercycler (Hamburg, Almanya) cihazında gerçekleştirilirken, kesim işlemleri sırasında örnekleri inkübe etme işlemi Grant kuru blok ısıtıcısında (Cambridgeshire, İngiltere) yapılmıştır.

Tablo 2.3: Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP'lerinin amplifikasyon bölgeleri, PCR ürün uzunluğu, PCR ürününü kesmek için kullanılacak restriksiyon endonükleaz enzimi (RE), oluşacak kesim ürünlerinin uzunlukları ve buna karşılık gelen genotipler.

Gen	SNP	Amplifikasyon bölgesi	PCR ürün uzunluğu	RE	Kırılma ürünlerinin uzunluğu
Clusterin	rs11136000 C/T	3. intron	246 bç	<i>ApoI</i>	CC: 246 bç CT: 246 + 131 + 115 bç TT: 131 + 115 bç
Clusterin	rs3087554 A/G	3' UTR*	335 bç	<i>Acil</i>	AA: 335 bç AG: 335 + 254 + 81 bç GG: 254 + 81 bç

\* 3' untranslated region (3' transle edilmeyen bölge)

### 2.2.2.1 Clusterin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizminin genotiplemeesi

#### Clusterin rs11136000 C/T SNP için polimeraz zincir reaksiyonu

Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primer dizisi Gu ve arkadaşlarının (2011) yayınından alınmış ve Primer-Blast programından kontrol edilmiştir (Tablo 2.1). Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin bağlandığı nükleotitler ve restriksiyon enziminin tanıdığı nükleotitler Şekil 2.2'de gösterilmiştir.

PCR reaksiyon koşullarında ve programında tek ve istenen bandın elde edilmesi için çeşitli denemeler yapılarak bu aşama optimize edilmiştir. İki farklı MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu (1.50 mM – 2.00 mM) ve üç farklı kalıp DNA konsantrasyonu (400 ng – 300 ng – 200 ng) denenerek PCR karışımı koşulları optimize edilmiştir. Ayrıca Tablo 2.5'teki döngü programıyla ilgili de pek çok deneme yapılmıştır. Bunlar; primer bağlanma sıcaklığı (annealing temperature) olarak 48, 50, 52, 54, 56, 58, 59, 60 ve 61°C denenmesi, sentez süresi olarak 50 saniye ve 30 saniye denenmesi ve döngü sayısı olarak 35 ve 40 döngü denenmesidir.

```

TTTCATCTTCCAAAGCAGGCTGCAGACTCCCTGAATCTTACCTTTCTATTGCAACCATGCCTC
CTGGCGTGCAAAGGGAATGGCAGGCATTCAGCACCAAAGCCACACCAGCTATCAAACTCTC
TAACGGGCCCTTGCCACTTGACCCAATAATTCTGTAAGAATCTGTCTCAGGCCAGGTGCGGC
AGCTGACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCAGGCATATTACTTGGGGTCAGG
AGTTTGAGACCAGCCTGGCTAACATGGTGAAACTCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATTAG

```

Şekil 2.2: Clusterin geninin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizmini içeren bölgesinin sekansı. İleri ve geri primerlerin tanıdığı bölgeler mavi renkli kutucuğun içinde, *ApoI* restriksiyon enziminin tanıdığı ve kestiği bölge kırmızı renkli kutucuğun içinde ve polimorfik nükleotit ise kırmızı renkli olarak belirtilmiştir (Sekans URL-10 kaynağından alınmıştır).

Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesi için optimize edilmiş PCR karışımı bileşenleri Tablo 2.4'te verilmiştir. PCR karışımı için (toplam hacim 50 µL) 2.0 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP karışımı, 400 nM ileri ve geri primer, 200 ng genomik DNA ve 1.25 ünite Taq DNA polimeraz kullanılmıştır (Tablo 2.4).

Tablo 2.4: Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR karışımı içeriği.

İçerik	1 tüp için eklenen hacim	Stok konsantrasyonu	50 µL reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon
Steril aprotjen H <sub>2</sub> O	50 µL'ye tamamlayacak kadar		
Amplifikasyon tamponu	5 µL	10X	1X
MgCl <sub>2</sub>	4 µL	25 mM	2.0 mM
dNTP karışımı	1 µL	10 mM	200 µM
İleri primer	2 µL	10 pmol/µL	20 pmol (400 nM)
Geri primer	2 µL	10 pmol/µL	20 pmol (400 nM)
Kalıp DNA	değişken	değişken	200 ng
Taq DNA polimeraz	0.25 µL	5 U/µL	1.25 U

Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesinin amplifikasyonu için kullanılan optimize edilmiş ısıl döngü (thermal cycling) programı Tablo 2.5'te verilmiştir.

Tablo 2.5: Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR programı.

İlk denatürasyon	94°C	3 dk.	} 40 döngü
Denatürasyon	95°C	30 sn.	
Primer bağlanması	60°C	20 sn.	
Sentez	72°C	50 sn.	
Son uzama	72°C	10 dk	

PCR sonucunda elde edilen DNA'lar agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelenmiştir. Bu amaçla, elde edilmesi planlanan PCR bandının büyüklüğünün görülmesini sağlayacak yoğunlukta bir agaroz jel (%2) hazırlanır. Jel bölüm 2.2.1.4'te anlatıldığı gibi ve %2'lik olacak şekilde hazırlanmıştır. PCR ürünlerinin öngörülen büyüklüğü Tablo 2.3'te verildiği gibi 246 bç (baz çifti)'dir. 12 µL PCR ürünü 2 µL bromofenol mavisini ve xylene cyanol FF içeren bir yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklenir. Aynı zamanda 50-1000 bç arasında bantlar veren bir DNA belirteci (50 bç'lik DNA ladder) de jele yüklenir, böylelikle elde edilen bandın büyüklüğü tahmin edilebilir. Bunun için 3 µL DNA belirteci 2 µL yükleme tamponu ile karıştırılarak bir kuyucuğa yüklenir. Jel ~1 saat 120 voltta yürütülür ve UV ışığı altında görüntüsü alınır.

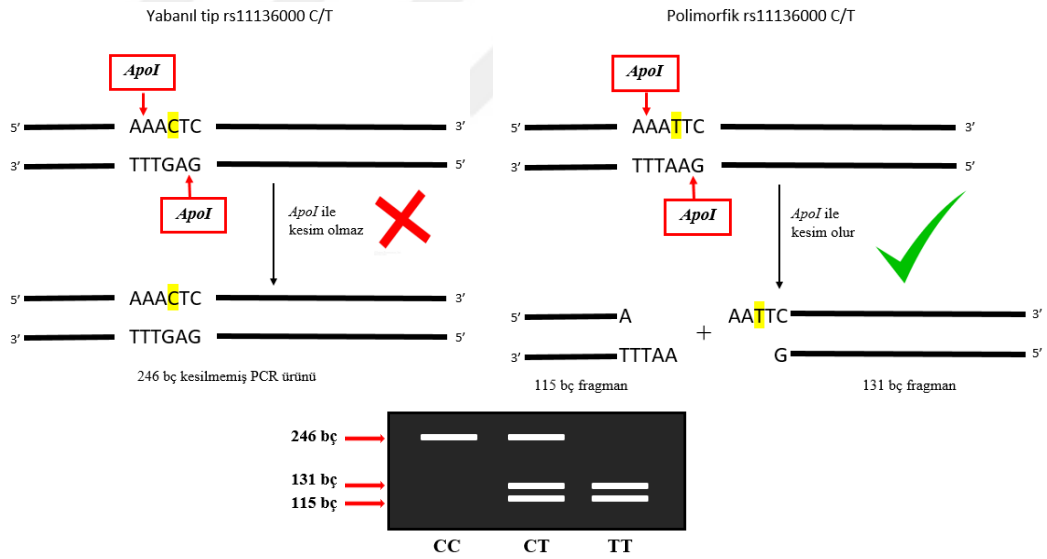
### **Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimleriyle kesilmesi**

Clusterin rs11136000 C/T genotipleri, *ApoI* restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilip, kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonucunda gözlenen bantlarının büyüklüğüne göre belirlenmiştir. *ApoI* enziminin tanıma bölgesi aşağıdaki gibidir ve bu dizide geçen R, A (adenin) veya G (guanin) nükleotitini temsil ederken, Y ise C (sitozin) veya T (timin) nükleotitini temsil etmektedir (URL-16).



Clusterin rs11136000 C/T genetik polimorfizminin genotiplerinin belirlenmesi şematik olarak Şekil 2.3'te açıklanmıştır. Clusterin rs11136000 C/T genetik polimorfizmini belirlemek için üretilen PCR ürününde *ApoI* enziminin tanıma bölgesi

varsa, PCR ürünü *ApoI* ile inkübe edildiğinde 246 bç'lik PCR ürününün 131 bç ve 115 bç'lik iki parçaya ayrılması beklenir. Agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş olan restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilmiş PCR ürünü, 131 bç ve 115 bç boyutlarında iki ayrı bant şeklinde görünmekte ise bu durumda bu PCR ürününün elde edildiği DNA örneğinin alındığı bireyin clusterin rs11136000 C/T genotipinin TT (polimorfik homozigot genotip) olduğuna karar verilir. PCR ürününde *ApoI* enziminin tanıdığı nükleotit dizisi bulunmadığı takdirde, 246 bç'lik PCR ürünü kesilmeyip, agaroz jel elektroforezinde, kontrol amacıyla jele yüklenmiş (*ApoI* restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilmemiş) 246 bç boyutundaki PCR örneğiyle aynı büyüklükte bir bant olarak görünmektedir. Bu durumda bu bireyin genotipinin CC (yabanıl homozigot genotip) olduğuna karar verilir. Heterozigot (CT) olan bireylerden elde edilmiş PCR örneklerinden bazılarında *ApoI* enziminin kesim bölgesi varken, bazılarında ise bu kesim bölgesi bulunmamaktadır. Bu yüzden *ApoI* enzimiyle muamele edilmiş PCR ürünü jele yüklendiğinde 246 bç, 131 bç ve 115 bç boyutlarında üç bant elde edilir.



Şekil 2.3: Clusterin rs11136000 C/T tek nükleotit polimorfizmine ait genotiplerin belirlenmesi ve şematik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Kullanılan *ApoI* enzimi fast-digest bir enzimdir ve inkübasyon süresi 15 dakika olarak önerilmektedir. Ancak yaptığımız optimizasyon çalışmaları sonucunda clusterin rs11136000 C/T bölgesinin *ApoI* restriksiyon endonükleaz enzimiyle kesilmesinde en iyi sonuçların PCR ürününün *ApoI* enzimiyle 40 dakika boyunca 50°C'de inkübe

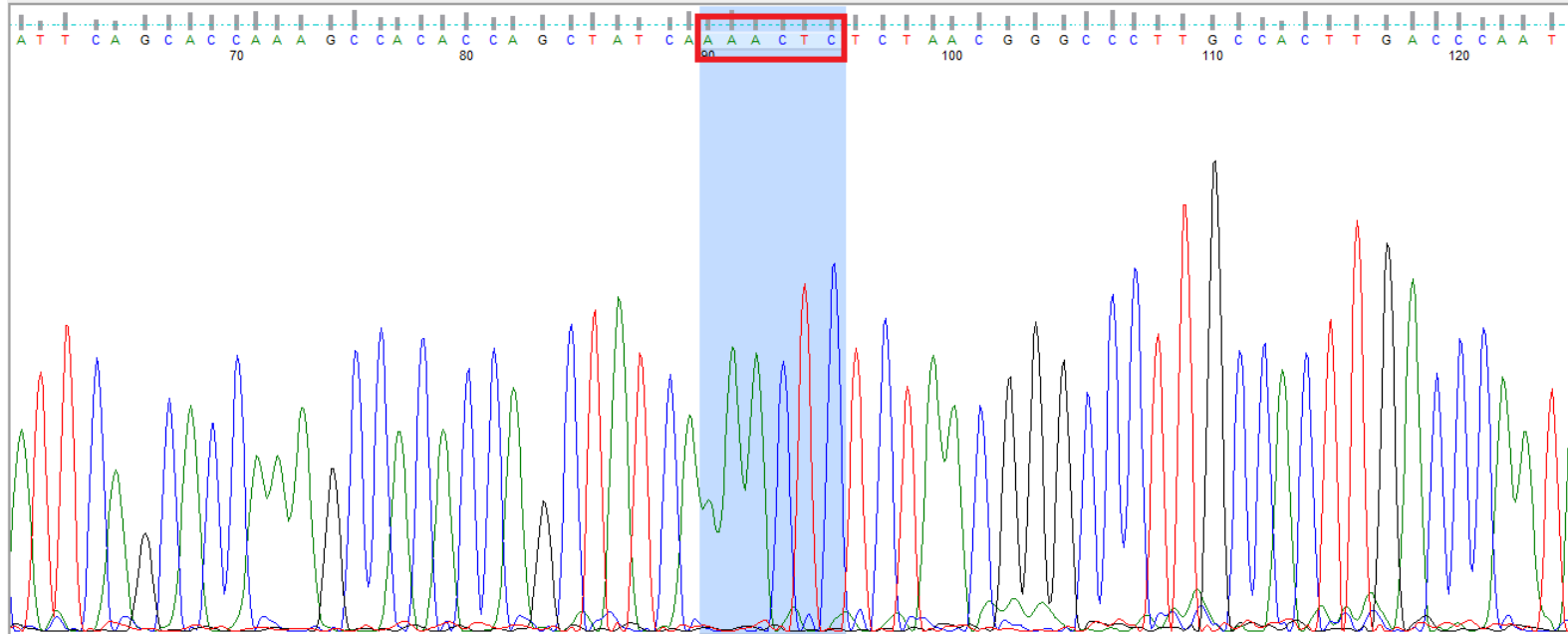
edilmesi ile elde edildiği belirlenmiştir. Ayrıca 20 µL PCR ürününün tam olarak kesilmesi için gereken *ApoI* enzim miktarı da optimize edilmiş ve 20 ünite (U) enzimin en iyi sonucu verdiği görülmüştür (Tablo 2.6).

Bu yöntemde öncelikle clusterin rs11136000 C/T SNP için elde edilen 246 bç uzunluğundaki PCR ürünlerinin 20 µL'si 20 U *ApoI* enzimi ile 50°C'de 40 dakika inkübe edilir (Tablo 2.6), inkübasyondan sonra kesim ürünleri %2.5'lik agaroz jelde analiz edilir. 246 bç'lik PCR ürünü TT polimorfik homozigot genotipi için 131 ve 115 bç'lik iki bant verirken, CC yabanıl homozigot genotipi kesilmemiş 246 bç'lik tek bant verir (Şekil 2.3).

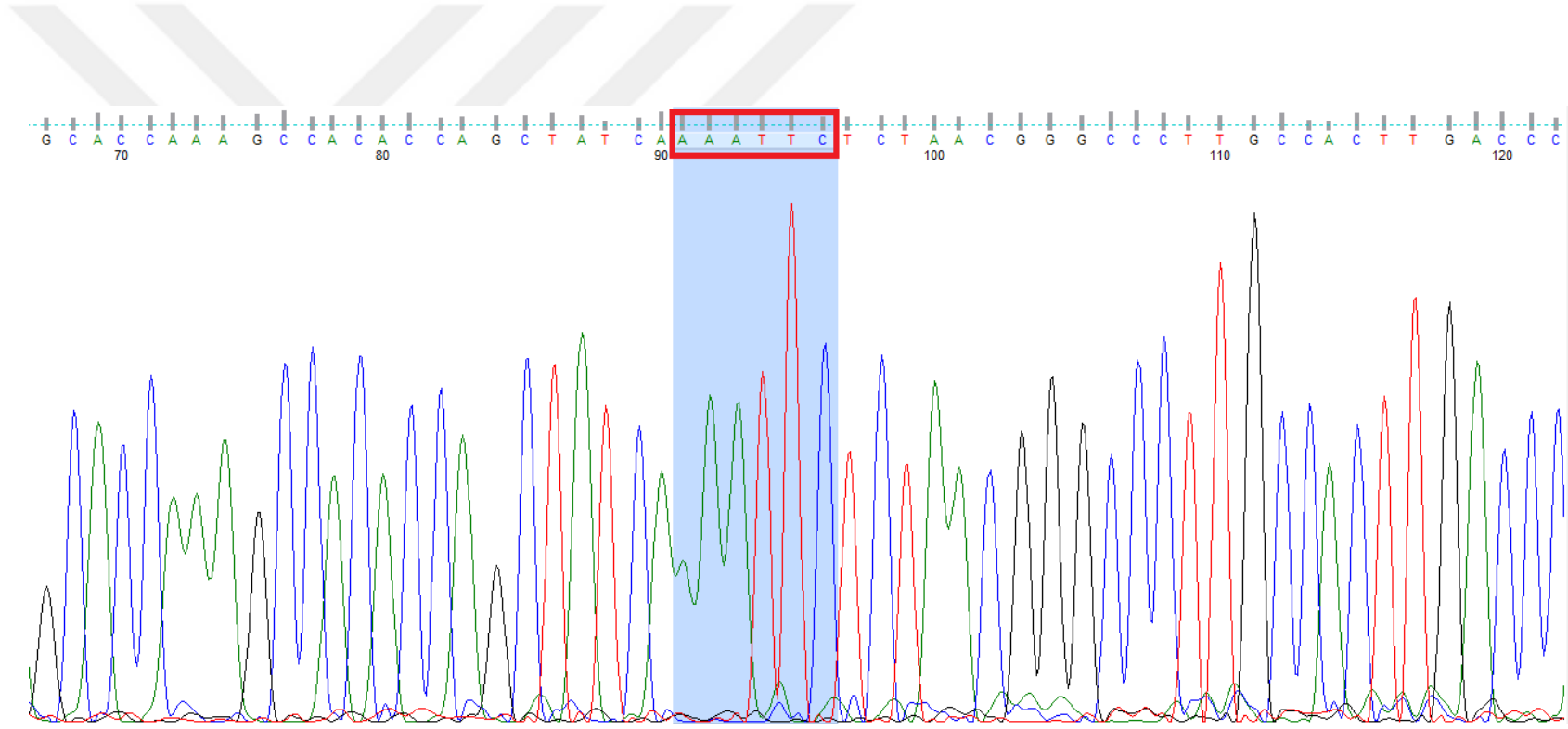
Tablo 2.6: Clusterin rs11136000 C/T SNP bölgesi için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim karışım içeriği.

İçerik	1 tüp için eklenen hacim	Stok konsantrasyonu	30 µL reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon
Steril ajirojen H <sub>2</sub> O	5 µL	---	---
NEB buffer 3.1	3 µL	10 X	1 X
<i>Apo I</i>	2 µL	10000 U/mL	20 U
PCR ürünü	20 µL	---	---

Bu polimorfizm için RFLP yönteminin genotipleri doğru belirleyip belirlemediğini test etmek amacıyla genotipi PCR-RFLP ve agaroz jel elektroforezi yöntemi ile belirlenmiş olan, homozigot yabanıl tip (CC) ve homozigot polimorfik genotipe (TT) sahip iki bireyin PCR ürünü seçilerek sekanslamaya yollanmıştır. Sekanslama işlemi ABI 310 DNA dizi analizi cihazında Ref-Gen firmasından hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.4'te sunulan sekansa göre RFLP ile homozigot yabanıl tip (CC) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününde beklenildiği gibi *ApoI* için kesim bölgesi olarak tanınmayan AAAC<sup>C</sup>TC dizisi görülmüştür. Şekil 2.5'te sunulan sekansa göre ise RFLP ile homozigot polimorfik genotipe (TT) sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününde beklenildiği gibi *ApoI* için kesim bölgesi olarak tanınan AAAT<sup>T</sup>TC dizisi görülmüştür. Bu sonuçlara göre PCR-RFLP yöntemi ile karar verilen genotiplerin doğruluğu teyit edilmiştir.



Şekil 2.4: Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot yabancı tip (CC) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.



Şekil 2.5: Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot polimorfik (TT) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.



### 2.2.2.2 Clusterin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizminin genotiplemesi

#### Clusterin rs3087554 A/G SNP için polimeraz zincir reaksiyonu

Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesinin çoğaltılması için kullanılan primer dizisi Primer-Blast programı kullanılarak dizayn edilmiştir (Tablo 2.1). Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan primerlerin bağlandığı nükleotitler ve restriksiyon enziminin tanıdığı nükleotitler Şekil 2.6’da gösterilmiştir.

```
AAAACTGTCCTGTGAGCTGATCGCTTGGAGCGTCCTCTTTTTATGTTGAGTTGCTGCTTCCC  
GGCATGCCTTCATTTTGCTATGGGGGCGCGSCAGGGGGGATGGAAAATAAGTAGAAACAAAA  
AAGCAGTGGCTAAGATGGTATAGGGACTGTCATACCAGTGAAGAATAAAAGGGTGAAGAATA  
AAAGGGATATGATGACAAGGTTGATCCACTTCAAGAATTGCTTGCTTTCAGGAAGAGAGATG  
TGTTTCAACAAGCCAACATAAAATATATTGCTGCAAATGGAAGCTTTTCTGTTCTATTATAAA  
ACTGTCGATGTATTCGACCAAGGTGCGACAATCTCCTAAAGGAATACACTGAAAGTTAAGG  
AGAAGAATCAGTAAGTGTA
```

Şekil 2.6: Clusterin geninin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmini içeren bölgesinin sekansı. İleri ve geri primerlerin tanıdığı bölgeler mavi renkli kutucuğun içinde, *AciI* restriksiyon enziminin tanıdığı ve kestiği bölge kırmızı renkli kutucuğun içinde ve polimorfik nükleotit ise kırmızı renkli olarak belirtilmiştir (Sekans URL-11 kaynağından alınmıştır).

PCR reaksiyon koşullarında ve programında tek ve istenen bandın elde edilmesi için çeşitli denemeler yapılarak bu aşama optimize edilmiştir. İki farklı MgCl<sub>2</sub> konsantrasyonu (1.50 mM – 2.00 mM) denenerek PCR karışımı koşulları optimize edilmiştir. Ayrıca Tablo 2.8’deki döngü programında primer bağlanma sıcaklığı olarak 56, 58, 59 ve 60°C denemesi yapılmış ve döngü programı optimize edilmiştir.

Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesi için optimize edilmiş PCR karışımı bileşenleri Tablo 2.7’de verilmiştir. PCR karışımı için (toplam hacim 50 µL) 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM dNTP karışımı, 400 nM ileri ve geri primer, 200 ng genomik DNA ve 1.25 ünite Taq DNA polimeraz kullanılmıştır (Tablo 2.7).

Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesinin amplifikasyonu için kullanılan optimize edilmiş ısıl döngü (thermal cycling) programı Tablo 2.8’de verilmiştir.

PCR sonucunda elde edilen DNA’lar agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelenmiştir. Jel bölüm 2.2.1.4’te anlatıldığı gibi ve %2’lik olacak şekilde hazırlanmıştır. PCR ürünlerinin öngörülen büyüklüğü Tablo 2.3’te verildiği gibi 335 bp (baz çifti)’dir. 12 µL PCR ürünü 2 µL yükleme tamponu ile karıştırılarak jele yüklenir. Aynı zamanda 3

$\mu\text{L}$  50 bç'lik DNA belirteci 2  $\mu\text{L}$  yükleme tamponu ile karıştırılarak bir kuyucuğa yüklenir. Jel ~1 saat 120 voltta yürütülür ve UV ışığı altında görüntüsü alınır.

Tablo 2.7: Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR karışımı içeriği.

İçerik	1 tüp için eklenen hacim	Stok konsantrasyonu	50 $\mu\text{L}$ reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon
Steril apirojen $\text{H}_2\text{O}$	50 $\mu\text{L}$ 'ye tamamlayacak kadar		
Amplifikasyon tamponu	5 $\mu\text{L}$	10X	1X
$\text{MgCl}_2$	3 $\mu\text{L}$	25 mM	1.5 mM
dNTP karışımı	1 $\mu\text{L}$	10 mM	200 $\mu\text{M}$
İleri primer	2 $\mu\text{L}$	10 pmol/ $\mu\text{L}$	20 pmol (400 nM)
Geri primer	2 $\mu\text{L}$	10 pmol/ $\mu\text{L}$	20 pmol (400 nM)
Kalıp DNA	değişken	değişken	200 ng
Taq DNA polimeraz	0.25 $\mu\text{L}$	5 U/ $\mu\text{L}$	1.25 U

Tablo 2.8: Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesini çoğaltmak için kullanılan PCR programı.

İlk denatürasyon	94°C	3 dk.	} 40 döngü
Denatürasyon	95°C	30 sn.	
Primer bağlanması	59°C	20 sn.	
Sentez	72°C	50 sn.	
Son uzama	72°C	10 dk	

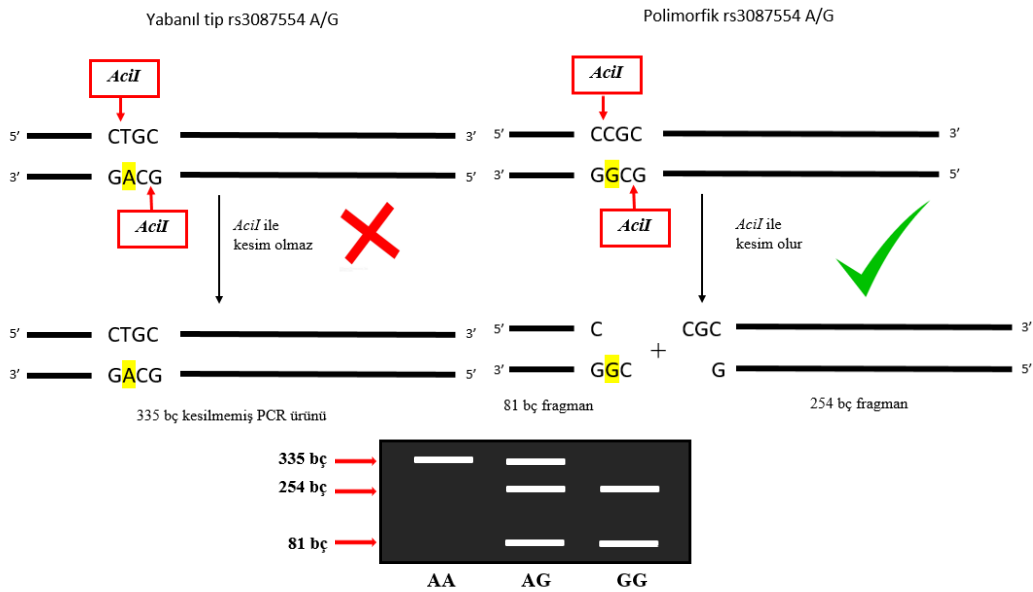
### Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR ürünlerinin restriksiyon endonükleaz enzimleriyle kesilmesi

Clusterin rs3087554 A/G genotipleri, *Acil* restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilip, kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezi sonucunda gözlenen bantlarının büyüklüğüne göre belirlenmiştir. *Acil* enziminin tanıma bölgesi aşağıdaki gibidir (URL-17):



Clusterin rs3087554 A/G genetik polimorfizminin genotiplerinin belirlenmesi şematik olarak Şekil 2.7'de açıklanmıştır. Clusterin rs3087554 A/G genetik

polimorfizmini belirlemek için üretilen PCR ürününde *Acil* enziminin tanıma bölgesi varsa, PCR ürünü *Acil* ile bekletildiğinde 335 bç'lik PCR ürününün 254 bç ve 81 bç'lik iki parçaya ayrılması beklenir. Agaroz jel elektroforezinde yürütülmüş olan restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilmiş PCR ürünü, 254 bç ve 81 bç boyutlarında iki ayrı bant şeklinde görünmektedir. Bu durumda bu PCR ürününün elde edildiği DNA örneğinin alındığı bireyin clusterin rs3087554 A/G genotipinin GG (polimorfik homozigot genotip) olduğuna karar verilir. PCR ürününde *Acil* enziminin tanıdığı nükleotit dizisi bulunmadığı takdirde, 335 bç'lik PCR ürünü kesilmeyip, agaroz jel elektroforezinde, kontrol amacıyla jele yüklenmiş (*Acil* restriksiyon endonükleaz enzimiyle muamele edilmemiş) 335 bç boyutundaki PCR örneğiyle aynı büyüklükte bir bant olarak görünmektedir. Bu durumda bu bireyin genotipinin AA (yabanıl homozigot genotip) olduğuna karar verilir. Heterozigot (AG) olan bireylerden elde edilmiş olan PCR örneklerinden bazılarında *Acil* enziminin kesim bölgesi varken, bazılarında ise bu kesim bölgesi bulunmamaktadır. Bu yüzden *Acil* enzimiyle muamele edilmiş PCR ürünü jele yüklendiğinde 335 bç, 254 bç ve 81 bç boyutlarında üç bant elde edilir.



Şekil 2.7: Clusterin rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmine ait genotiplerin belirlenmesi ve şematik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda clusterin rs3087554 A/G bölgesinin *Acil* restriksiyon endonükleaz enzimiyle kesilmesinde iyi bant veren PCR ürünlerinin 10 µL PCR ürününün 10 U *Acil* enzimiyle (Tablo 2.9), hafif silik bant veren PCR

ürünlerinin ise 20 µL PCR ürününün 20 U *AciI* enzimiyle (Tablo 2.10), 1 saat boyunca 37°C’de inkübe edilmesiyle elde edildiği belirlenmiştir.

Bu yöntemde öncelikle iyi bant veren PCR ürünlerinde clusterin rs3087554 A/G SNP için elde edilen 335 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin 10 µL’si 10 U *AciI* enzimiyle, silik bant veren PCR ürünlerinde 335 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin 20 µL’si 20 U *AciI* enzimi ile 37°C’de 1 saat inkübe edilir (Tablo 2.9 ve 2.10) ve inkübasyondan sonra kesim ürünleri %2.5’lik agaroz jelde analiz edilir. 335 bp’lik PCR ürünü GG polimorfik homozigot genotipi için 254 ve 81 bp’lik iki bant verirken, AA yabanıl homozigot genotipi kesilmemiş 335 bp’lik tek bant verir (Şekil 2.7).

Tablo 2.9: Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesi için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim karışım içeriği (iyi bant veren PCR ürünleri için).

İçerik	1 tüp için eklenen hacim	Stok konsantrasyonu	30 µL reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon
Steril ajirojen H <sub>2</sub> O	16 µL	---	---
CutSmart Buffer	3 µL	10 X	1 X
<i>AciI</i>	1 µL	10000 U/mL	10 U
PCR ürünü	10 µL	---	---

Tablo 2.10: Clusterin rs3087554 A/G SNP bölgesi için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim karışım içeriği (silik bant veren PCR ürünleri için).

İçerik	1 tüp için eklenen hacim	Stok konsantrasyonu	30 µL reaksiyon karışımındaki son konsantrasyon
Steril ajirojen H <sub>2</sub> O	5 µL	---	---
CutSmart Buffer	3 µL	10 X	1 X
<i>AciI</i>	2 µL	10000 U/mL	20 U
PCR ürünü	20 µL	---	---

Bu polimorfizm için RFLP yönteminin genotipleri doğru belirleyip belirlemediğini test etmek amacıyla, genotipi PCR-RFLP ve agaroz jel elektroforezi yöntemi ile belirlenmiş olan, homozigot yabanıl tip (AA) ve homozigot polimorfik genotipe (GG) sahip iki bireyin PCR ürünü seçilerek sekanslamaya yollanmıştır. Sekanslama işlemi ABI 310 DNA dizi analizi cihazında Ref-Gen firmasından hizmet alımı ile gerçekleştirilmiştir. Şekil 2.8’de sunulan sekansa göre RFLP ile homozigot yabanıl tip (AA) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA’sından elde edilen PCR

ürününde beklenildiği gibi *AciI* için kesim bölgesi olarak tanınmayan GCAG dizisi görülmüştür. Şekil 2.9'da sunulan sekansa göre ise RFLP ile homozigot polimorfik genotipe (GG) sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününde beklenildiği gibi *AciI* için kesim bölgesi olarak tanınan GCGG dizisi görülmüştür. Bu sonuçlara göre PCR-RFLP yöntemi ile karar verilen genotiplerin doğruluğu teyit edilmiştir.

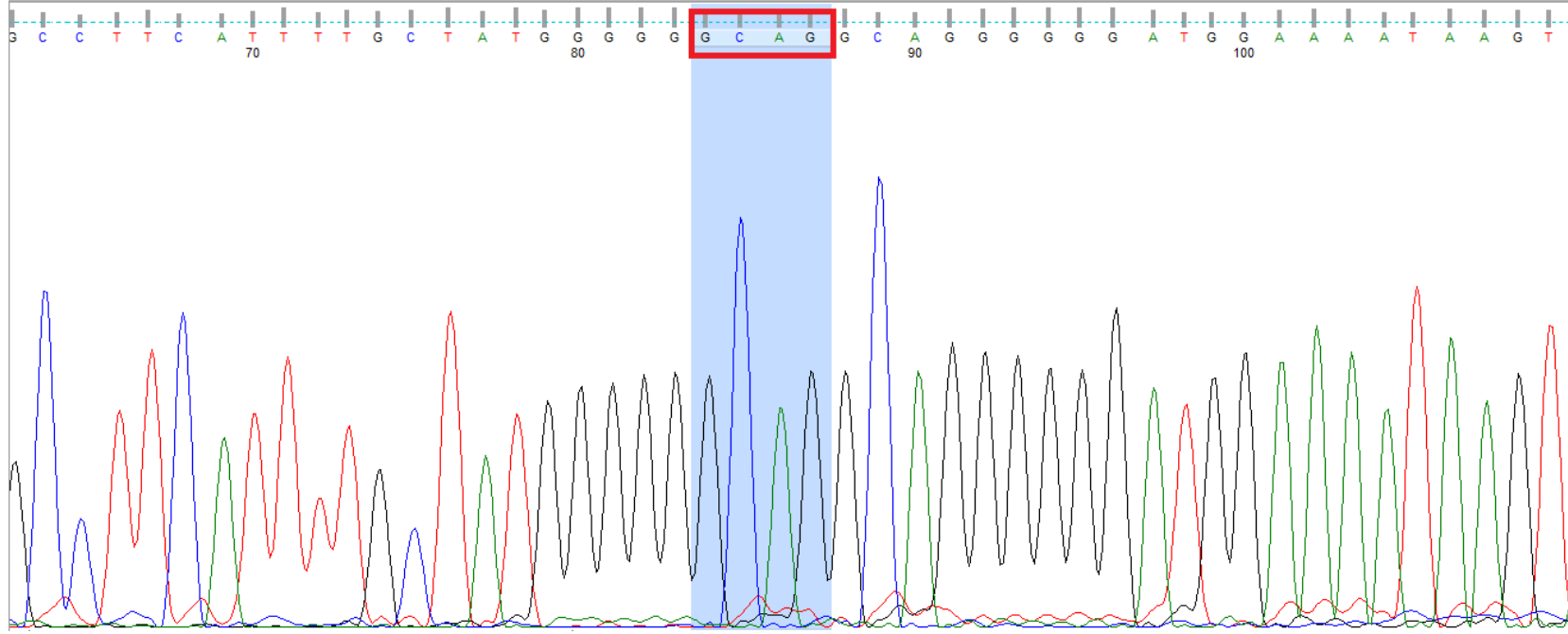
### **2.2.3 Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplenmesi**

Clusterin genindeki rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin genotiplenmesi real-time PCR (gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu) cihazında floresan işaretli alel spesifik TaqMan problemleri kullanılarak yapılmıştır. Bu SNP'ler için genotiplenme kitlelerinin TaqMan Assay numaraları Tablo 2.2'de verilmiştir. Bu çalışma Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR Systems (Woodlands, Singapur) cihazı ile yapılmıştır.

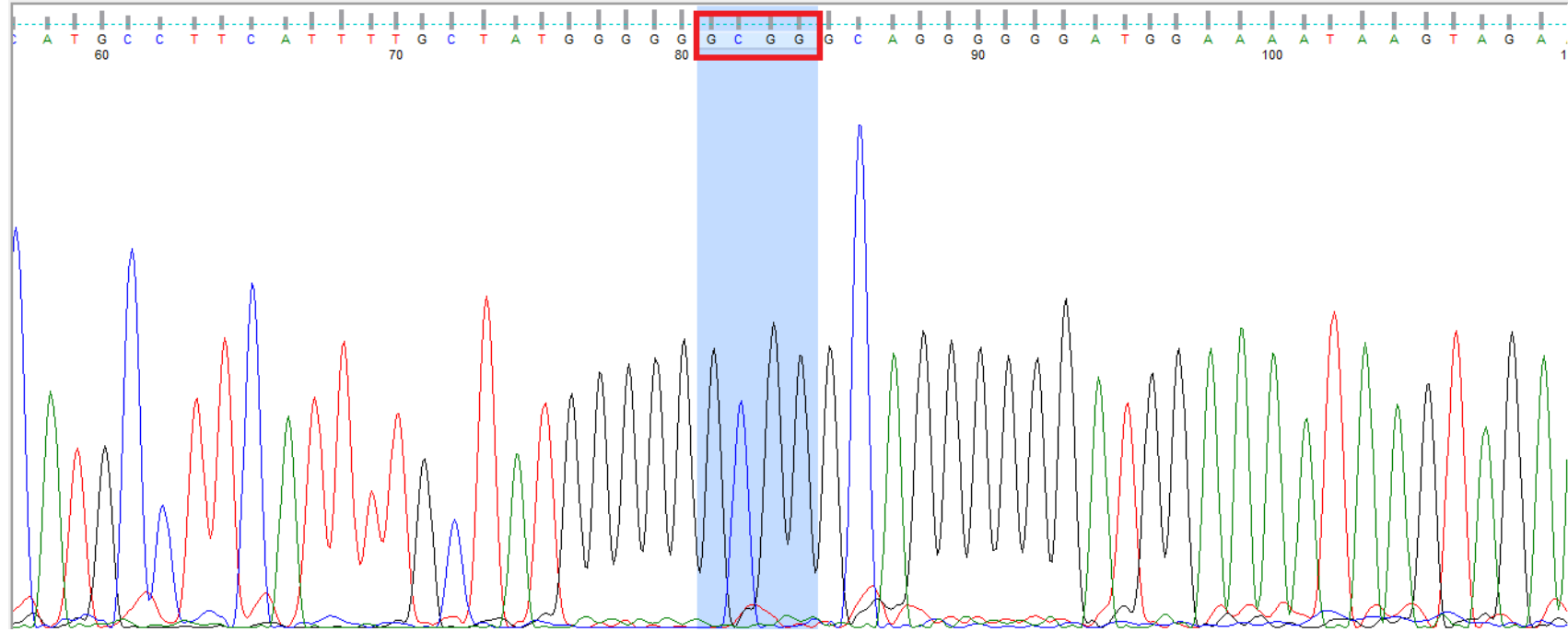
#### **2.2.3.1 TaqMan SNP genotiplenme kitleleri ile real-time PCR**

Real-time PCR, nükleik asit çoğalmasıyla eş zamanlı olarak artış gösteren floresan sinyalin ölçülmesiyle, kısa sürede kantitatif sonuç verebilen bir PCR yöntemidir. Real-time PCR metodu DNA'nın çoğaltımını ve ürünlerini tek bir tüpte belirlemeyi mümkün kılar. PCR çoğaltımını görünür hale getiren ve monitörize edebilen floresan işaretli prob ve boyaların kullanıldığı, floresanın oluşan DNA ile doğru orantılı olarak arttığı bir çoğalma yöntemidir. Bu teknoloji kinetik PCR, homojen PCR ve kantitatif real-time PCR (qPCR – quantitative real-time PCR) gibi çeşitli adlarla da isimlendirilmektedir.

Sıcaklık döngüleri ve floresan okunması aynı cihaz içinde ve aynı tüp içinde gerçekleşmektedir. Böylece hedef bölge, elektroforeze gerek kalmadan kısa bir süre içinde saptanabilmektedir. Aynı cihaz içerisinde hem çoğaltma işleminin, hem de çoğaltılan ürünleri saptama işleminin yapılabilmesi, bu yöntemi çok pratik bir yöntem haline getirmiştir. Ayrıca tüpler açılmadan test tamamlandığı için kontaminasyon riski de azalmaktadır (Bustin, 2005).



Şekil 2.8: Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot yabancı tip (AA) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.

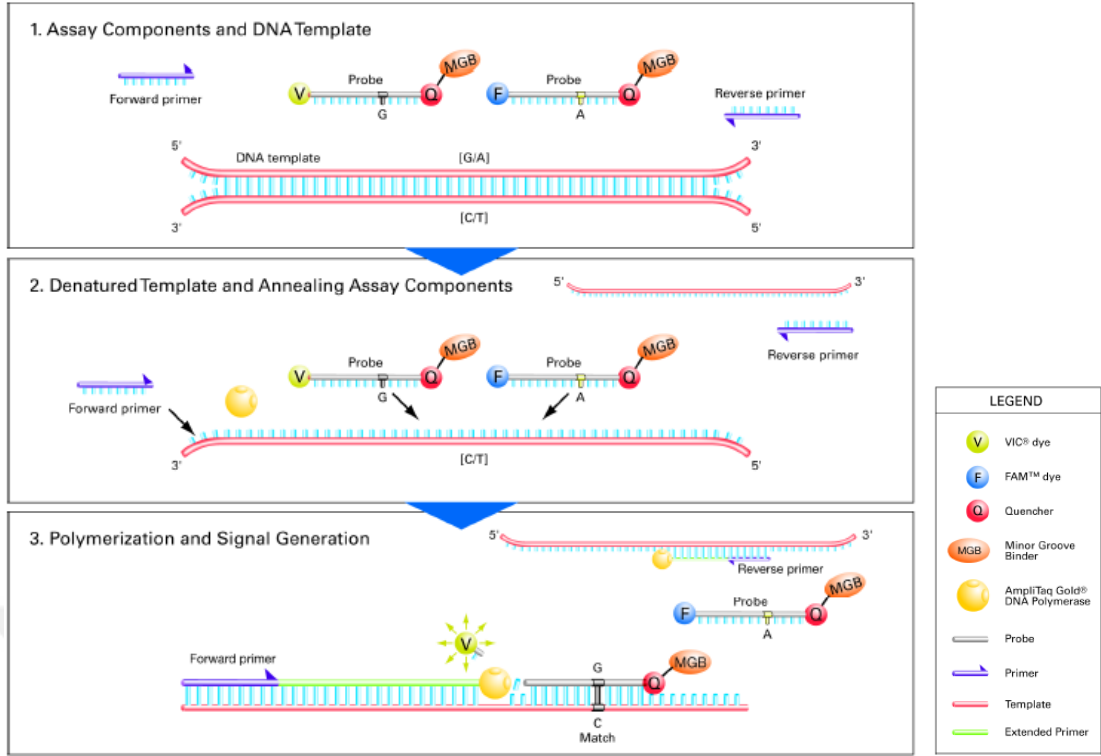


Şekil 2.9: Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR-RFLP yöntemi ile homozigot polimorfik (GG) genotipe sahip olduğuna karar verilen bireyin DNA'sından elde edilen PCR ürününün sekans görüntüsü.

Bu çalışmada TaqMan SNP genotipleme kitleri kullanılmıştır. TaqMan SNP genotipleme kitleri polimorfik bölgelere özel olarak üretilir. Bu kitlerin her birinin içerisinde polimorfik bölgeyi içeren dizinin sınırlarını belirleyen ileri ve geri primerler vardır. Bunlar real-time PCR işlemi sırasında istenilen bölgenin çoğaltılabilmesini sağlar. Problar çoğaltılma sırasında hedef nükleik asit dizisinin belirli bir dizisine komplementer olacak şekilde dizayn edilmelidirler. TaqMan problemler, tek zincirli hedef DNA üzerinde komplementer olduğu bölgeye bağlanırlar. Her assay kitinin içerisinde ait olduğu polimorfik bölgeye özel iki tip TaqMan prob bulunmaktadır. Bu problemlerden biri polimorfik nükleotidin olduğu bölgeyi tanıyıp bağlanırken, diğeri yabancı tip nükleotidin olduğu bölgeyi tanıyıp bağlanır.

TaqMan problemlerinin 5' ucuna reporter (muhabir), 3' ucuna ise quencher (söndürücü) boyaları bağlıdır. 3' uçtaki floresan boyalarla boyanmamış quencher (nonfluorescent quencher – NFQ), floresan boyalarla boyanmış olana göre daha yüksek hassasiyet ile reporter boyanın floresan ışımalarının saptanmasını sağlar. Alınan TaqMan SNP genotipleme kitlerinde de bu sebeple NFQ bulunmaktadır. Reporterlar ise iki prob için de birbirinden farklı floresan boyalar ile işaretlenmiştir. Bu çalışmada kullanılan kitlerde reporterlarda FAM<sup>TM</sup> ve VIC<sup>®</sup> floresan boyaları bulunmaktadır ve her biri her kit için farklı bir aleli temsil eder. TaqMan prob yöntemi çoğaltılmak istenilen DNA'ya komplementer olan ve floresan işaretlenmiş tek zincirli bir prob içerir. Reporter proba bağlı iken, probun diğeri ucunda bağlı olan quencher, reporterı baskılar ve ışımaya vermesini engeller. Reporter serbest haldeyken ise ışımaya verir. Real-time PCR işlemi sırasında amplifikasyon gerçekleşirken prob ile DNA dizisindeki nükleotitler arasında doğru eşleşme sağlanamadıysa reporter proba bağlı kalır ve ışımaya vermez. Eğer prob nükleotide doğru eşleşmeyi yaptıysa probun bağlı olduğu bölgeye gelindiğinde Taq DNA polimeraz enzimi 5'→3' endonükleaz aktivitesi ile probu oradan kaldırır ve bu sırada reporter boya probtan ayrılarak serbest kalır ve ışımaya verir (sinyal oluşturur). Her bir döngüde ürün çoğalımı arttıkça floresan da ona bağlı olarak artmaya devam eder. Floresan sinyali PCR ürün miktarıyla doğru orantılı olarak artmaktadır. Bu reaksiyonlar kısaca Şekil 2.10'da gösterilmiştir.

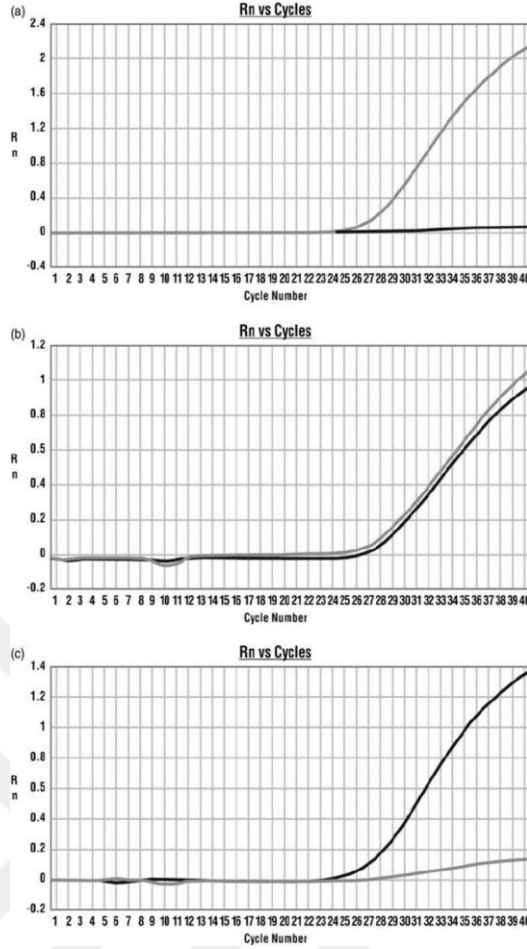




Şekil 2.10: Real-time PCR reaksiyonları şematik gösterimi. TaqMan problemlerinin ve ileri/geri primerlerin genomik DNA'ya bağlanması ve amplifikasyon sırasında reporter boyanın ayrılıp ışımaya vermesi (URL-18).

Bu ışımalar real-time PCR işlemi sırasında eş zamanlı olarak bir yazılım programı tarafından kaydedilir. Bu yazılım programı hem PCR döngüsünü hem de sonuçları anlık görüntülemeye olanak sağlar. Bu yazılım reaksiyon sonucunda örneklerin genotiplerini amplifikasyon eğrileri şeklinde verir ve elde edilen eğrilerden genotiplere göre alelik ayırma grafiği oluşturarak tüm örneklerin tek bir grafikte görüntülenmesini sağlar. Şekil 2.11'de gösterildiği gibi amplifikasyon eğrisinden genotipler şu şekilde belirlenir;

- Eğer örneğin genotipinde FAM boyasının bağlı olduğu probun sekansına uyan alel homozigot olarak varsa sadece FAM boyası ışımaya verir.
- Eğer VIC boyasının bağlı olduğu probun sekansına uyan alel homozigot olarak varsa sadece VIC boyası ışımaya verir.
- Eğer heterozigot birey ise ikisi birden ışımaya verir.



Şekil 2.11: Amplifikasyon eğrisi ile genotiplerin belirlenmesi. **a.** Sadece FAM boyasının bağlı olduğu proba uygun alele sahip bireyin amplifikasyon eğrisi. **b.** Her iki boyanın da bağlı olduğu proba uygun alellere sahip bireyin amplifikasyon eğrisi. **c.** Sadece VIC boyasının bağlı olduğu proba uygun alele sahip bireyin amplifikasyon eğrisi.

Bizim çalışmamızda FAM ve VIC boyaalarının temsil ettiği aleller ve incelenen SNP'lerin gen üzerinde bulunduğu bölgeler Tablo 2.11'deki gibidir.

Tablo 2.11: Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin gen üzerinde bulunduğu bölgeler ve bu SNP'ler için FAM ve VIC boyaalarının temsil ettiği aleller.

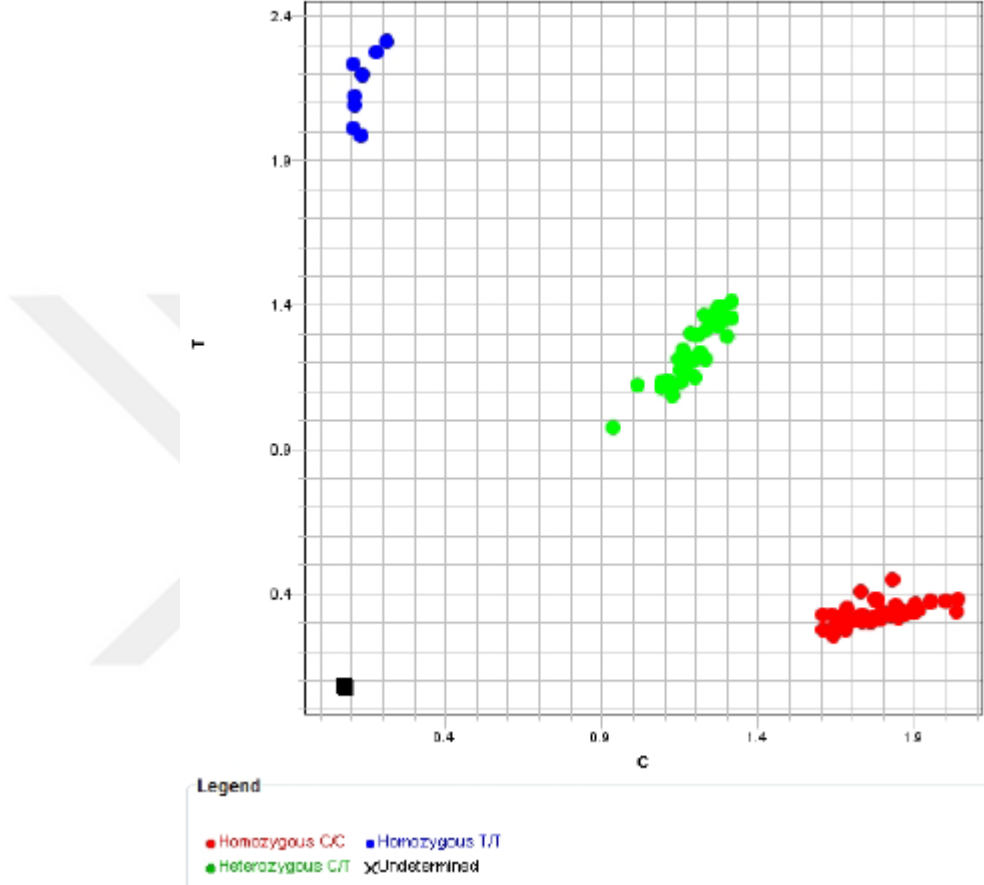
SNP	Gen Bölgesi	FAM	VIC
Clusterin rs1532278 C/T	3. intron	T	C
Clusterin rs2279590 C/T	7. intron	T	C

Genotipler amplifikasyon eğrisine dayanarak belirlendikten sonra tüm örnekler alelik ayırma grafiğinde noktalar ile gösterilir. Alelik ayırma grafiğinde her eksen farklı bir aleli temsil eder. Örneğin Şekil 2.12'de gösterildiği gibi x-ekseni C alelini, y-ekseni T

alelini temsil ediyorsa homozigot CC olanlar x-eksenine yakın noktalar, homozigot TT olanlar y-eksenine yakın noktalar olarak gösterilir. Heterozigot CT olanlar ise grafiğin orta bölgesinde bulunur. Negatif kontroller ise 0 noktasına oldukça yakındır çünkü bu kuyucuklarda amplifikasyon gerçekleşmez.

### Allelic Discrimination Plot

Allelic Discrimination Plot (SNP Assay: C\_\_1522420\_1\_)



Şekil 2.12: Alelik ayırma grafiğinde örneklerin genotiplerine göre gösterimi.

### 2.2.3.2 TaqMan SNP genotipleme kiti ile real-time PCR prosedürü

Real-time PCR reaksiyonu için gerekenler master miks, genotipleme kiti ve genomik DNA'dır. Master miks ile genotipleme kiti örnek sayısına uygun hesaplamalar yapılarak karıştırılır ve daha sonra real-time PCR cihazına uygun 96 kuyucuklu plakanın kuyucuklarına eşit miktarda dağıtılır (Tablo 2.12). Uygun konsantrasyonda hazırlanan genomik DNA'lar duplike olarak kuyucuklara eklenir. İki kuyucuğa ise negatif kontrol olarak içerisinde DNA olmayan saf su eklenir. Plakanın kuyucuklarında baloncuk oluşmamasına dikkat edilir, eğer oluşmuşsa bunlar giderilir. Hazırlanan plaka yapışkan film ile kapatılarak 1000 rpm'de 2 dakika santrifuj edilir.

Plaka real-time PCR cihazının içine Şekil 2.13'teki gibi yerleştirilir. StepOne Software (Version 2.3) yazılım programı kullanılarak PCR döngüsü yazılır ve reaksiyon başlatılır (Tablo 2.13).



Şekil 2.13: 96 kuyucuklu real-time PCR plakasının cihaz içine yerleştirilmesi.

Real-time PCR için kit ile izolasyonu yapılmış olan genomik DNA'lar gerekli seyreltme yapılarak kullanılmıştır. Alınan TaqMan SNP genotipleme kiti 1-20 ng arasında genomik DNA kullanmayı önermiştir. Farklı miktarlarda (8, 10 ve 20 ng) genomik DNA içeren karışımlar hazırlanmış ve denemeler sonucunda hepsi gayet iyi sonuçlar vermiştir. Kimyasal ve genomik DNA israfını önlemek amacıyla 8 ng genomik DNA kullanmaya karar verilmiştir (Tablo 2.12).

Master miksin içeriğinde AmpliTaq Gold® DNA polimeraz, deoksinükleotit trifosfatlar (dNTPs), pasif referans boyası olarak ROX™ ve tampon özellikleri sağlayacak maddeler bulunmaktadır. ROX boyası analiz sırasında reporter boyanın sinyalinin normalize edilmesini sağlar. Master miks olarak hem universal master miks hem de genotipleme çalışmaları için kullanılan genotipleme master miksi denenmiştir. Universal master miks kullanıldığında bazı polimorfik bölgelerin (rs2279590 C/T) Real-time PCR işleminde sonuç alınmadığı için genotipleme master miksi ile çalışmalara devam edilmesine karar verilmiştir. Genotipleme master miksi ile yapılan çalışmalarda hiç sorun yaşanmamıştır ve örneklerin genotipleri kolaylıkla belirlenebilmiştir.

Tablo 2.12: Real-time PCR için gerekli reaksiyon karışımı içeriği.

İçerik	1 tüp
2X TaqMan genotipleme master miksi	5 µL
20X TaqMan SNP genotipleme kiti	0.5 µL
DNA (8 ng)	4.5 µL
Toplam	10 µL

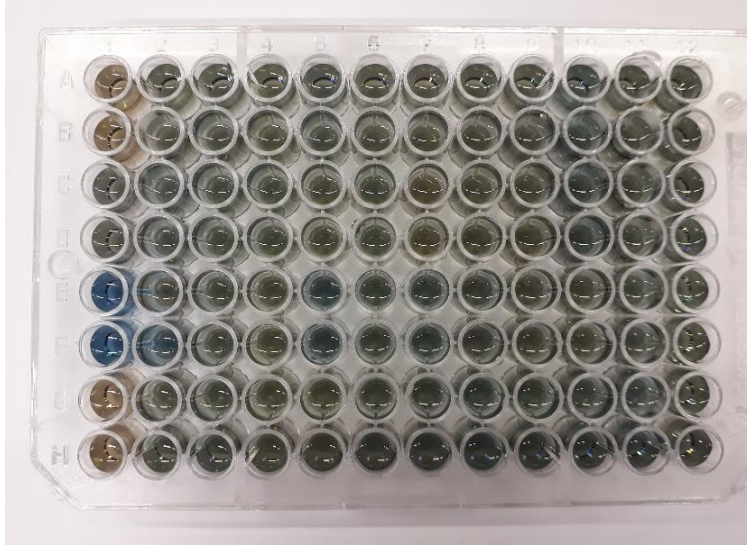
Tablo 2.13: TaqMan SNP genotipleme kiti kullanılarak real-time PCR yapmak için kullanılan program.

Pre-PCR okuması	60°C	30 sn.	} 40 döngü
İlk denatürasyon/enzim aktivasyonu	95°C	10 dk.	
Denatürasyon	95°C	15 sn.	
Primer bağlanması/sentez	60°C	1 dk.	
Post-PCR okuması	60°C	30 sn.	

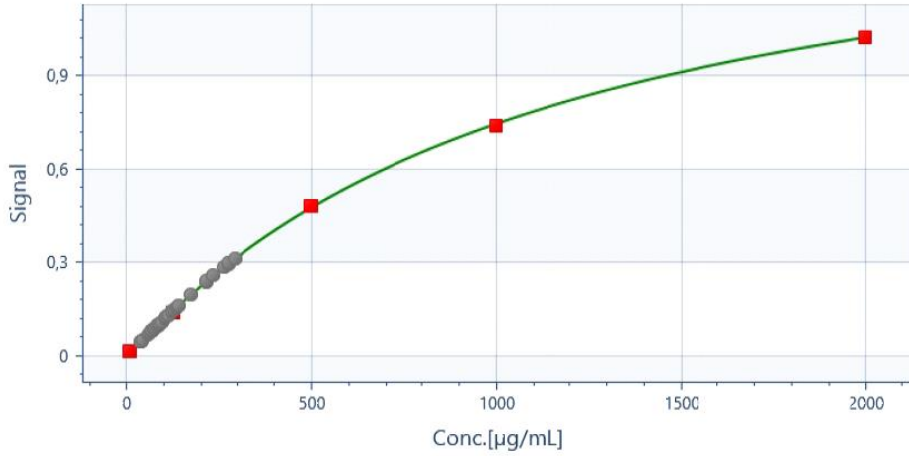
## 2.2.4 Aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonunun ve clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi

### 2.2.4.1 Aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonunun belirlenmesi

Aköz humordaki total protein konsantrasyonu Thermo Scientific Coomassie (Bradford) Protein Assay kiti (ABD) kullanılarak tespit edilmiştir ve bu kitin ölçüm aralığı (deteksiyon aralığı) 100-1500 µg/mL'dir. Bunun için öncelikle tüm örnekler (direkt veya 2 kat seyreltilmiş olarak), standartlar [BSA (2 ng/mL) ile hazırlanmış 5 standart – 12.5, 125, 500, 1000 ve 2000 µg/mL] ve blank (kör, su) karşılaştırılan kuyucuklara (dublike olarak) 5'er µL olarak ve kuyucukların tam ortasına gelecek şekilde dikey olarak konulmuştur ve hepsinin üzerine 250 µL Coomassie Reagent eklenmiştir (Şekil 2.14). Ardından Thermo Scientific mikropłaka okuyucu spektrofotometre (ELISA reader) cihazında (Vantaa, Finlandiya) 595 nm'de absorbansları ölçülerek (Skanlt programı ile), standart eğri üzerinden aköz humor örneklerinin total protein konsantrasyonları hesaplanmıştır (Şekil 2.15).



Şekil 2.14: Coomassie (Bradford) Protein Assay kiti kullanılarak hazırlanan plaka ve gözlemlenen renk değişimi.



$$y = 1,56152 + (0,00217396 - 1,56152) / (1 + (x/1087,23)^{1,05982})$$

R<sup>2</sup>: 1

Şekil 2.15: Aköz humor örneklerindeki total protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. Kırmızı noktalar standartları temsil ederken gri noktalar ise örnekleri temsil etmektedir.

Giriş bölümünün 1.4 kısmında detaylı olarak sunulan literatür bilgilerine göre aköz humor örnekleri direkt kullanıldıkları takdirde kullandığımız kitin deteksiyon aralığında (100-1500 µg/mL) sonuç verecek gibi görünmekteydi. Bu sebeple çoğu örnek direkt olarak kullanılmıştır. Fakat bazı aköz humor örneklerinin az miktarda olması sebebiyle bu örnekler 2 kat seyreltilerek kullanılmıştır.

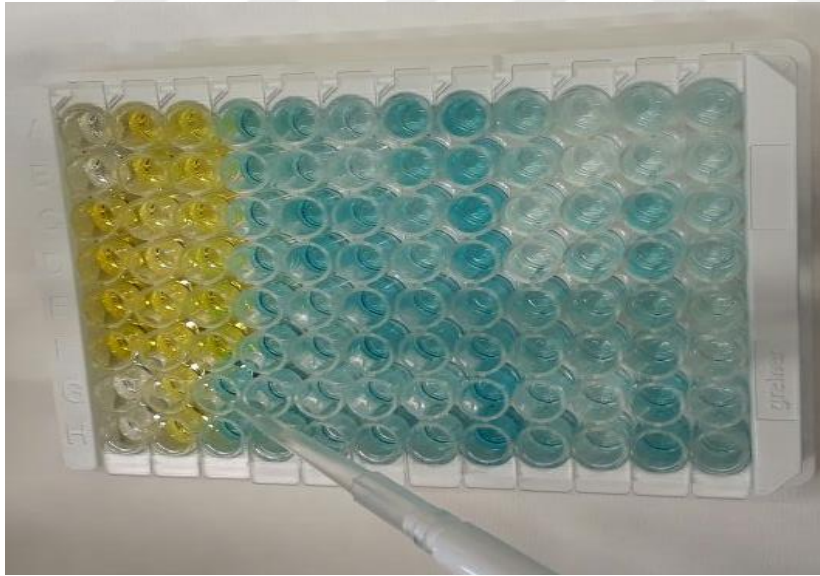
#### **2.2.4.2 Aköz humor örneklerinde clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi**

ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay; enzime bağlı immünosorban testi) antijen-antikor ilişkisini, antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini araştırmak için kullanılan kantitatif bir ölçüm yöntemidir. Aköz humordaki clusterin konsantrasyonunun belirlenmesi için Thermo Scientific insan clusterin ELISA kiti (ABD) kullanılmıştır. Bu clusterin ELISA kiti katı fazlıdır ve sandviç ELISA'dır. Eşleşen bir antikor çifti arasında bağlanan hedef miktarını ölçmek ve tespit etmek için tasarlanmıştır. Hedefe spesifik bir antikor, verilen mikropakanın kuyucuklarına önceden kaplanmıştır. Örnekler, standartlar veya kontroller daha sonra bu kuyucuklara ilave edilir ve immobilize (sabit) antikora bağlanır. Sandviç, immobilize antikordan farklı bir epitop (determinant bölge) üzerinde hedefe bağlanan ikinci (detektör) antikorun eklenmesinden oluşur. İnkübasyon sürelerinden sonra ve bağlanmamış antikor plakadan çıkarmak için yıkama aşamaları sonrasında, ölçülebilir sinyal üretmek üzere enzim-antikor-hedef kompleksi ile reaksiyona giren bir substrat solüsyonu ilave edilir. Bu sinyalin yoğunluğu orijinal numunede bulunan hedef molekülün konsantrasyonu ile orantılıdır.

İnsan clusterin ELISA kitinin ölçüm aralığı (deteksiyon aralığı) 0.015 ng/mL–20 ng/mL (15-20000 pg/mL)'dir (URL-19). Aköz humor örneklerinin ELISA için kullanılabilmesi miktarı ve seyreltme gerekip gerekmediği, Giriş bölümünün 1.4 kısmında bahsedilen Dota ve arkadaşlarının (1999) yayınından faydalanılarak karar verilmiştir. Bu çalışmaya göre 10 katarakt hastasından elde edilen en düşük clusterin konsantrasyonu 196.1 ng/mL (196100 pg/mL) olabilirken en yüksek de 1754.2 ng/mL (1754200 pg/mL) olabilir. Buna göre örneklerin bir kısmı 700 kat seyreltilerek kullanılmış, fakat birkaç tanesinde clusterin konsantrasyonu minimum değerinin altında kaldığı için bundan sonraki örnekler 500 kat seyreltilerek ELISA'da kullanılmıştır.

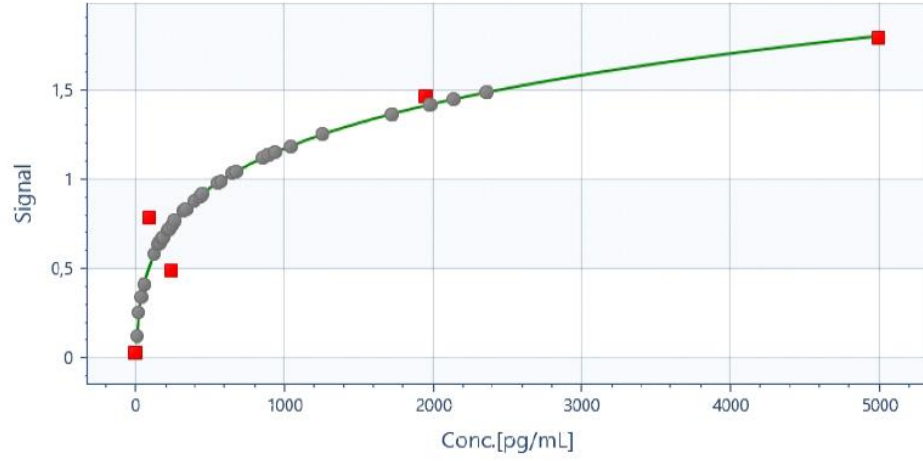
Aköz humor örneklerinin gerekli seyreltmeleri yapılarak hazırlanmasının ardından kitin içinden çıkan insan clusterin standardı (80 ng/mL) kullanılarak 5 standart (9.77, 97.7, 244.25, 1954 ve 5000 pg/mL) hazırlanmıştır. ELISA işleminin ilk basamağında tüm örnekler, standartlar ve blank (1X assay diluent) - pipetleme hatalarını ve kişisel hataları en aza indirmek için - dublike ve 100'er µL olarak kuyucuklara eklenir ve 2.5 saat oda sıcaklığında çalkalamalı inkübatörde (50 rpm'de) inkübe edilir. Bu aşamada

kit ile birlikte gelen tüm solüsyonların gerekli seyreltmeleri kit ile gelen prosedürde belirtildiği gibi yapılarak kullanıma hazır hale getirilir (URL-19). İnkübasyon sonrası tüm solüsyon boşaltılarak plaka 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır. Ardından her kuyucuğa 100 µL biyotinlenmiş antikor eklenerek aynı koşullarda 1 saat inkübe edilir. İnkübasyonun sonunda plaka boşaltılır ve tekrar 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır. Tüm kuyucuklara 100 µL streptavidin-HRP (horseradish peroxidase) eklenir ve 45 dakika aynı koşullarda inkübe edilir. Daha sonra plaka boşaltılarak 4 kez yıkama solüsyonu ile yıkanır. Ardından karanlıkta 100 µL TMB solüsyonu substrat olarak eklenir ve yine karanlıkta olmak üzere aynı koşullarda 30 dakika inkübe edilir. İnkübasyon sonunda her örnekte farklı yoğunluklarda mavi renk gözlemlenir ve vakit kaybetmeksizin 50 µL durdurma solüsyonu kuyucukların üzerine eklenerek maviden sarıya renk dönüşümü gözlemlenir (Şekil 2.16). Rengin yoğunluğu clusterin konsantrasyonunun yoğunluğu ile doğru orantılıdır. Plaka Thermo Scientific ELISA reader'a (Vantaa, Finlandiya) 450 nm ve 550 nm'de absorbans değerleri okunmak üzere konulur. Skanlt programı yardımı ile standart eğri çizilir ve bunun yardımı ile her örnekteki clusterin konsantrasyonu tespit edilir (Şekil 2.17).



Şekil 2.16: İnsan clusterin ELISA kiti kullanılarak hazırlanan plaka ve gözlemlenen renk değişimi.





$$y = 1688,07 + \frac{(-0,818471 - 1688,07)}{(1 + (x/1,32896E+20)^{0,170974})}$$

$$R^2: 0,93$$

Şekil 2.17: Aköz humor örneklerindeki clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. Kırmızı noktalar standartları temsil ederken gri noktalar ise örnekleri temsil etmektedir.

## 2.2.5 Gözyaşı örneklerinden protein geri kazanımı, total protein konsantrasyonu ve clusterin protein konsantrasyonu tespiti

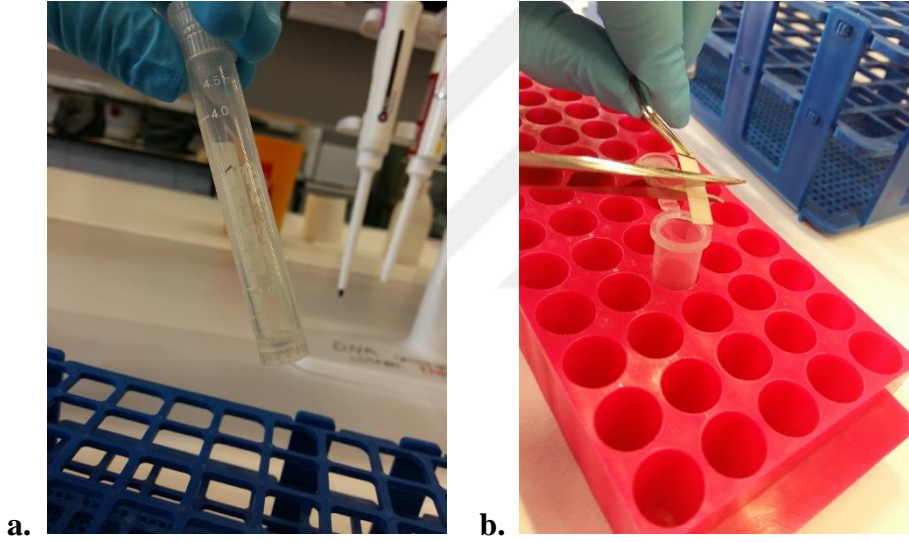
### 2.2.5.1 Gözyaşı örneklerinden protein geri kazanımı

Hasta ve kontrollerin gözyaşı örnekleri Schirmer kâğıdı ile alınmış, 5 mL'lik polipropilen tüplere konulmuş ve bu tüpler  $-86^{\circ}\text{C}$ 'ye kaldırılmıştır. Literatürde, gözyaşı sıvısındaki proteinlerin Schirmer striplerden geri kazanılması için, detayları giriş bölümünün 1.5 kısmında verilen, farklı yöntemler tarif edilmektedir. Biz bu çalışmada proteinlerin stripten başka bir sıvıya difüzyonu tekniğini (Stuchell vd., 1984; Choy vd., 2001; Li vd. 2008; Chong vd., 2010; Kramann vd., 2011; Van Der Meid vd., 2011; Wong vd., 2011; Denisin vd., 2012; Zhou vd. 2012; Farias vd., 2013) kullanmayı tercih ettik.

Gözyaşı örneklerinden proteinlerin ekstraksiyonu için pek çok ekstraksiyon yöntemi denenmiştir (Farias vd., 2013; Denisin vd., 2012; Shoji vd., 2003; Paulett vd., 2008). Bu denemeler sonucu tek bir yöntem yerine birkaç yöntemin modifiye edilmiş halinin uygulanmasına karar verilmiştir. Bu denemeler sırasında striplere bilinen miktarda insan clusterin standart proteini emdirilerek daha sonra ekstrakte edilip ELISA ile miktar tayini yapılmıştır. Kullanılmaya karar verilen modifiye edilmiş yöntemde

bulunan konsantrasyon, stripe emdirilen sıvının konsantrasyonuna en yakın değeri verendir.

Shoji ve arkadaşları (2003) ile Paulett ve arkadaşları (2008) tarafından uygulanan ekstraksiyon yöntemlerinin karışımı olan ve bizim tarafımızdan modifiye edilerek kullanmış olduğumuz yonteme göre oda sıcaklığına getirilmiş olan gözyaşı stripleri 2'şer karelik olarak kesilir, kesilen parçalar 2 mL'lik polipropilen tüpe aktarılır (Şekil 2.18). Ardından üzerine 400 µL PBS, Tween 20 ve NaCl'den oluşan bir solüsyon (Ek C'de verilmiştir) eklenir. 3 saat oda sıcaklığında ve 50 rpm'de çalkalamalı inkübatörde inkübe edilir. Ardından 25°C ve 16000 g'de 5 dakika santrifüj edilerek supernatant başka bir tüpe ayrılır ve tüp -20°C'ye kaldırılarak bir gece bekletilir. Ertesi sabah -20°C'den çıkartılıp oda sıcaklığına geldiğinde 25°C 14000 g'de 5 dakika santrifuj edilir ve supernatant tekrar yeni bir tüpe aktarılarak hazır hale getirilir.



Şekil 2.18: Schirmer striplerden proteinlerin geri kazanımı. **a.** Gözyaşı striplerinin polipropilen tüpteki görüntüsü. **b.** Gözyaşı striplerinin kesimi.

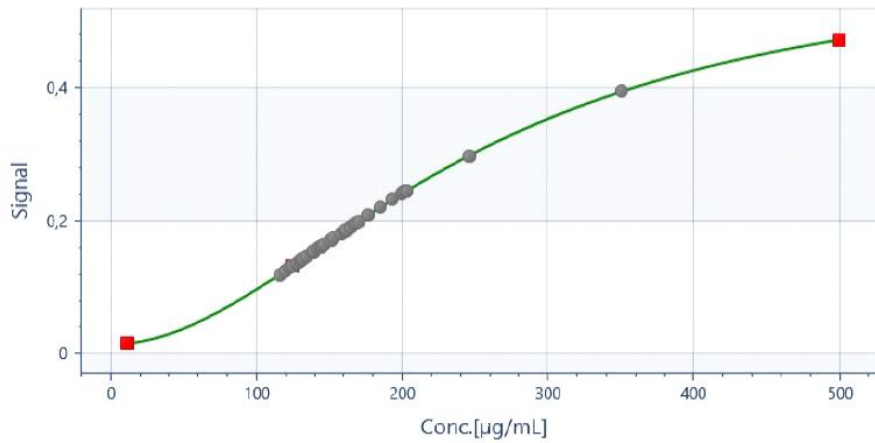
Ekstraksiyon yöntemleri kıyaslanırken TÜBİTAK 1001 projemizin (115S360) diğer kısmı olan bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF – Connective Tissue Growth Factor) ile de iyi sonuçlar veren ortak bir yöntem tespit edilmeye çalışılmıştır. Elimizde çoğu gönüllünün sadece bir adet gözyaşı stripi vardır ve sadece bir ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilebilir. Bu sebeple tüm ekstraksiyon yöntemleri CTGF için de denenmiş ve ortak olarak da bu yöntem ile iyi sonuçlar elde edildiğinden bundan sonra alınan

hasta ve kontrol gözyaşı örneklerinden bu yöntem ile protein ekstraksiyonu yapılmıştır.

### 2.2.5.2 Gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonunun belirlenmesi

Gözyaşındaki total protein konsantrasyonu giriş bölümünün 1.5 kısmında da belirtildiği gibi Posa ve arkadaşları (2013) tarafından 4.6 mg/mL, Zhou ve arkadaşları (2012) tarafından ise 6–10 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu bilgiler baz alınarak gözyaşı striplerinin Bradford Assay'in ölçüm aralığına (100-1500 µg/mL) girmesi için çeşitli seyreltmeler (2, 3, 4, 5, 6, 7 ve 11 kat) denenmiştir. Denemeler için laboratuvar ekibinden gözyaşı örnekleri alınmış ve tüm denemeler bu gözyaşı örnekleri kullanılarak yapılmıştır. Sonuç olarak 3 kat seyreltmenin tüm örneklerde sonuç elde edilmesini sağladığı görülmüştür.

Tüm örnekler (3 kat seyreltilmiş olarak), standartlar [BSA (2 ng/mL) ile hazırlanmış 3 standart – 12.5, 125 ve 500 µg/mL] ve blank (kör, su) karşılaştırılan kuyucuklara (dublike olarak) 5'er µL olarak ve kuyucukların tam ortasına gelecek şekilde dikey olarak konulmuştur ve hepsinin üzerine 250 µL Coomassie Reagent eklenmiştir. Ardından Thermo Scientific mikropilaka okuyucu spektrofotometre (ELISA reader) cihazında (Vantaa, Finlandiya) 595 nm'de absorbansları ölçülerek (Skanlt prgramı ile), standart eğri üzerinden gözyaşı örneklerinin total protein konsantrasyonları hesaplanmıştır (Şekil 2.19).



$$y = 0,591505 + ((0,0145955 - 0,591505) / (1 + (x/250)^{1,95321}))$$

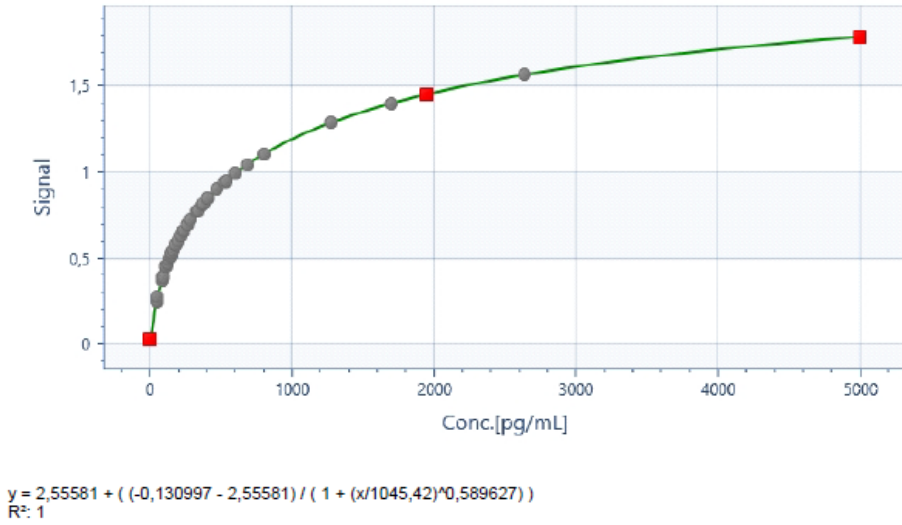
R<sup>2</sup>: 1

Şekil 2.19: Gözyaşı örneklerindeki total protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. Kırmızı noktalar standartları temsil ederken gri noktalar ise örnekleri temsil etmektedir.

Özetle, alınan tüm gözyaşı örneklerinden 2.2.5.1 kısmında açıklanan yöntem ile ekstraksiyon yapılmış. Ardından tüm gözyaşı örnekleri 3 kat seyreltilmiş ve Thermo Scientific Coomassie (Bradford) Protein Assay kiti kullanılarak örneklerin total protein konsantrasyonları tespit edilmiştir.

### 2.2.5.3 Gözyaşı örneklerinde clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi

Ekstrakte edilmiş deneme gözyaşı örnekleri ile pek çok seyreltme (2, 3, 4, 10, 50, 100, 500 ve 1000 kat) denemesi yapılarak ELISA ile clusterin protein konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmıştır. 100 ile 1000 kat arasında seyreltilmiş örneklerden sonuç elde edilebilirken, 50 kat ve altında seyreltilmiş olan örneklerin clusterin konsantrasyonu kitin deteksiyon limitinin (0.015 ng/mL–20 ng/mL) üstünde kalmıştır. Bu sebeple hasta ve kontrollerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonları insan clusterin ELISA kiti ile 500 kat seyreltilmiş gözyaşı örnekleri kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 2.20).



Şekil 2.20: Gözyaşı örneklerindeki clusterin protein konsantrasyonunun belirlenmesi için oluşturulan standart eğri örneği. Kırmızı noktalar standartları temsil ederken gri noktalar ise örnekleri temsil etmektedir.

Gözyaşı örneklerinin gerekli seyreltmeleri yapılarak hazırlanmasının ardından kitin içinden çıkan insan clusterin standardı (80 ng/mL) kullanılarak 3 standart (9.77, 1954 ve 5000 pg/mL) hazırlanmıştır. Bundan sonraki tüm ELISA basamakları 2.2.4.2 kısmında anlatıldığı gibi gerçekleşmiştir. Thermo Scientific ELISA reader'da (Vantaa, Finlandiya) 450 nm ve 550 nm'de plakadaki örneklerin absorban değerleri

okunduktan sonra Skanlt programı yardımı ile standart eğri çizilmiş ve bunun yardımı ile de her örnekteki clusterin konsantrasyonu tespit edilmiştir (Şekil 2.20).

### 2.2.6 İstatistiksel analizler

Sürekli değişkenler (yaş, aköz humorda ve gözyaşında total protein ve clusterin konsantrasyonları) ortalama  $\pm$  SD (standart sapma) olarak verilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediğini incelemek için Kolmogorov-Smirnov testi kullanılmıştır. Örnek sayısı az olan aköz humor analizlerinde sürekli değişkenlerin normal dağılım gösterip göstermediğini incelemek için Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Normal dağılan parametrelerin PEG, PES ve kontroller arasında karşılaştırılmasında Levene's testine uyanlarda One-Way ANOVA, uymayanlarda Welch's ANOVA (ikili karşılaştırma durumunda Independent Samples T-test), normal dağılmayanlar için ise Kruskal-Wallis testi (ikili karşılaştırma durumunda Mann-Whitney Testi) uygulanmıştır. One-Way ANOVA istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç verdiğinde Bonferroni Post Hoc testi, Welch's ANOVA istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç verdiğinde Games-Howell Post Hoc testi uygulanmıştır. Kruskal-Wallis testi sonucu anlamlı sonuç verdiğinde ise ikili gruplar arasındaki fark hesabı için Conover formülü (Conover, 1980) kullanılmıştır.

Kategorik değişkenler (cinsiyet, genotip ve alel frekansları) yüzde veya oran şeklinde ifade edilmiştir. Hasta-kontroller arasında genotip ve alel frekansı karşılaştırması yapmadan önce gözlenen genotip frekanslarının Hardy-Weinberg dengesine uyup uymadığına bakılmıştır. Ardından hasta ve kontrollerin genotip ve alel frekanslarındaki farklılıklar  $\chi^2$  testi ile belirlenmiştir. Ayrıca SNPStats programı kullanılarak (URL-20) genotip ve alel frekansları farklı modeller yapıp yaş ile cinsiyete göre ayarlama yapılmış ve genotip frekansları ile hastalık grupları arasındaki ilişkiye bakılmıştır. Alellerin ve bakılan diğer parametrelerin tek başına veya birlikte PEG ve PES ile ilişkili olup olmadığını belirlemek için lojistik regresyon analizi, Hosmer-Lemeshow kalibrasyonu ile birlikte yapılmıştır. Lojistik regresyondan önce eş değişken olarak atanacak parametreler için eş lineerlik istatistiği (collinearity statistics) yapılmış ve eş lineerlik görülen parametreler hep beraber değil, her seferinde biri modele eklenerek analiz edilmiştir. ELISA ile tespit edilen clusterin protein seviyesi ile total protein konsantrasyonu ve genetik polimorfizmler arasında ilişki olup olmadığını incelemek için Pearson korelasyon yöntemi kullanılmıştır.

*P* değeri 0,05'ten küçük olduğunda bulgular istatistiksel olarak anlamlı sayılmıştır. Bahsedilen bu istatistiksel analizler için SPSS 15.0 paket programı kullanılmıştır.



### 3. BULGULAR

#### 3.1 Çalışma Grubu

Bu çalışma kapsamında 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyin tam kan örnekleri ile clusterin genetik polimorfizmlerinin genotiplemeleri yapılmıştır. Bu çalışma grubunun içinden 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrolün aköz humor örneği ile 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrolün gözyaşı örneği ise clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı analizleri için kullanılmıştır. Çalışma grubunun demografik bilgileri ve bazı risk faktörlerinin prevalansları Tablo 3.1 ve 3.2’de verilmektedir. Bu çalışma grubunun genotip bilgileri de dahil olmak üzere tüm bilgilerini içeren ham data Ek D’de verilmiştir.

Tablo 3.1: PEG ve PES hastaları ile kontrollerin yaş bilgileri.

	<b>PEG (n=213)</b>	<b>PES (n=214)</b>	<b>Kontrol (n=215)</b>	<b>P</b>
Yaş	73.41±8.05	72.01±7.40	72.06±8.30	0.056

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırma için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır.

213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol içeren çalışma grubu oldukça yaşlı bireylerden meydana gelmektedir. Yaş ortalaması PEG hastalarında 73.41±8.05, PES hastalarında 72.01±7.40 ve kontrollerde 72.06±8.30 olarak belirlenmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $P=0.056$ ) (Tablo 3.1). Cinsiyet dağılımına bakıldığında ise PEG hastalarında bulunan erkek birey sayısı kontrollerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $P=0.005$ ). Erkek bireyler kontrollere kıyasla PEG hastalarında 1.7 kat kadar daha çok görülmektedir. PEG ve PES hastalarında erkeklerin kadınlara oranı biraz daha yüksekken, kontrollerde daha düşüktür. PEG hastalarının %59.15’i, PES hastalarının %53.57’si ve kontrollerin %45.58’i erkektir (Tablo 3.2).

Tablo 3.2: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde cinsiyet ve bazı risk faktörlerinin bilgileri ve risk analizi.

	<b>PEG (n=213)</b>	<b>PES (n=214)</b>	<b>Kontrol (n=215)</b>	<b>OR (%95 CI)<sup>A</sup></b>	<b>P<sup>A</sup></b>	<b>OR (%95 CI)<sup>B</sup></b>	<b>P<sup>B</sup></b>	<b>OR (%95 CI)<sup>C</sup></b>	<b>P<sup>C</sup></b>
Cinsiyet									
Erkek/Kadın	126/87	114/100	98/117	1.729	<b>0.005<sup>a</sup></b>	1.361	0.111	1.270	0.220
Erkek %	59.15	53.57	45.58	(1.179-2.536)		(0.931-1.990)		(0.866-1.863)	
Diyabet, n (%)	54 (25.35)	59 (27.57)	56 (26.05)	0.964 (0.625-1.488)	0.869	1.081 (0.705-1.657)	0.722	0.892 (0.580-1.372)	0.603
Hipertansiyon, n (%)	105 (49.30)	104 (48.60)	103 (47.91)	1.057 (0.724-1.545)	0.774	1.028 (0.704-1.501)	0.886	1.028 (0.704-1.503)	0.885
Kalp hastalığı, n (%)	56 (26.29)	65 (30.37)	65 (30.23)	0.823 (0.540-1.255)	0.365	1.007 (0.667-1.520)	1.000	0.818 (0.536-1.247)	0.349
İnme, n (%)*	3 (1.41)	3 (1.40)	10 (4.65)	0.293 (0.079-1.079)	0.087	0.291 (0.079-1.074)	0.087	1.005 (0.201-5.035)	1.000
Sigara, n (%)	30 (14.08)	31 (14.49)	39 (18.14)	0.740 (0.440-1.243)	0.254	0.764 (0.457-1.279)	0.306	0.968 (0.563-1.664)	1.000

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. \*Fisher's exact test kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES. <sup>a</sup>PEG vs. Kontrol  $P \leq 0.05$



Çalışma grubunda bazı risk faktörleri de incelenmiştir. PEG hastalarında diyabet görülme sıklığı (%25.35), PES hastaları (%27.57) ve kontrollerde (%26.05) diyabet görülme sıklığından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı değildir (PEG vs. Kontrol  $P=0.869$ , PES vs. Kontrol  $P=0.722$ , PEG vs. PES  $P=0.603$ ). PEG hastalarında hipertansiyon hastalığı %49.30 oranında görülürken, PES hastalarında %48.60 ve kontrollerde %47.91 oranında görülmektedir (PEG vs. Kontrol  $P=0.774$ , PES vs. Kontrol  $P=0.886$ , PEG vs. PES  $P=0.885$ ). PEG hastalarında kalp hastalığı görülme sıklığı (%26.29), PES hastaları (%30.37) ve kontrollerde (%30.23) görülme sıklığından istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı değildir (PEG vs. Kontrol  $P=0.365$ , PES vs. Kontrol  $P=1.000$ , PEG vs. PES  $P=0.349$ ). PEG hastalarında inme hastalığı prevalansı %1.41, PES hastalarında %1.40 ve kontrollerde %4.65'tir (PEG vs. Kontrol  $P=0.087$ , PES vs. Kontrol  $P=0.087$ , PEG vs. PES  $P=1.000$ ). PEG hastalarının %14.08'i, PES hastalarının %14.49'u ve kontrollerin %18.14'ü sigara kullanmaktadır (PEG vs. Kontrol  $P=0.254$ , PES vs. Kontrol  $P=0.306$ , PEG vs. PES  $P=1.000$ ) (Tablo 3.2).

İncelenen risk faktörlerinin PEG veya PES riski için önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür. Ancak,  $\chi^2$  ve Fisher's exact test ile yapılan bu analiz diğer risk faktörlerinden bağımsız değildir; diğer risk faktörleri ile birlikte değerlendirme lojistik regresyon analizi ile yapılmış ve 3.7 numaralı bölümde sunulmaktadır.

### **3.2 Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T Tek Nükleotit Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi**

#### **3.2.1 Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G tek nükleotit polimorfizmlerinin genotiplenmesi**

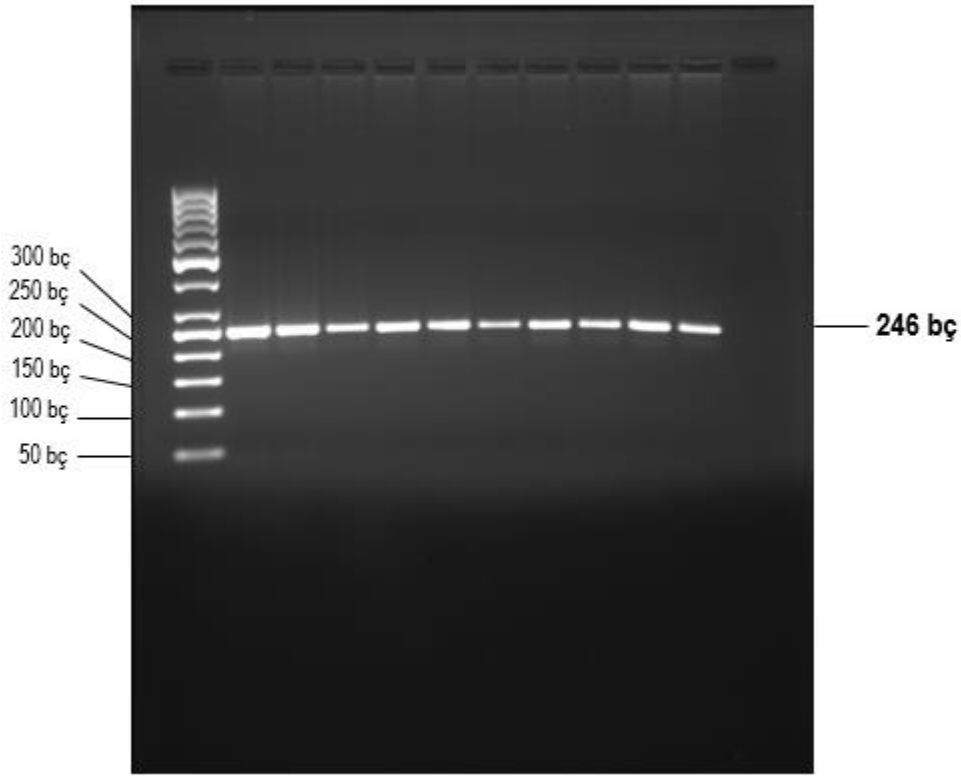
Clusterin genindeki rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G polimorfizmlerinin genotiplenmesi PCR-RFLP yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (Bölüm 2.2.2). Ham genotip bilgileri Ek D'de verilmiştir.

##### **3.2.1.1 Clusterin rs11136000 C/T SNP genotiplenmesi**

###### **Clusterin rs11136000 C/T SNP PCR sonuçları**

Clusterin rs11136000 C/T polimorfik bölgesini içeren gen bölgesi bölüm 2.2.2.1'de anlatıldığı gibi çoğaltılmıştır. PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde bölüm 2.2.1.4'te

anlatıldığı gibi hazırlanarak yürütülmüştür. Şekil 3.1 clusterin rs11136000 C/T SNP PCR ürünleri için temsili agaroz jel elektroforez görüntüsünü göstermektedir.



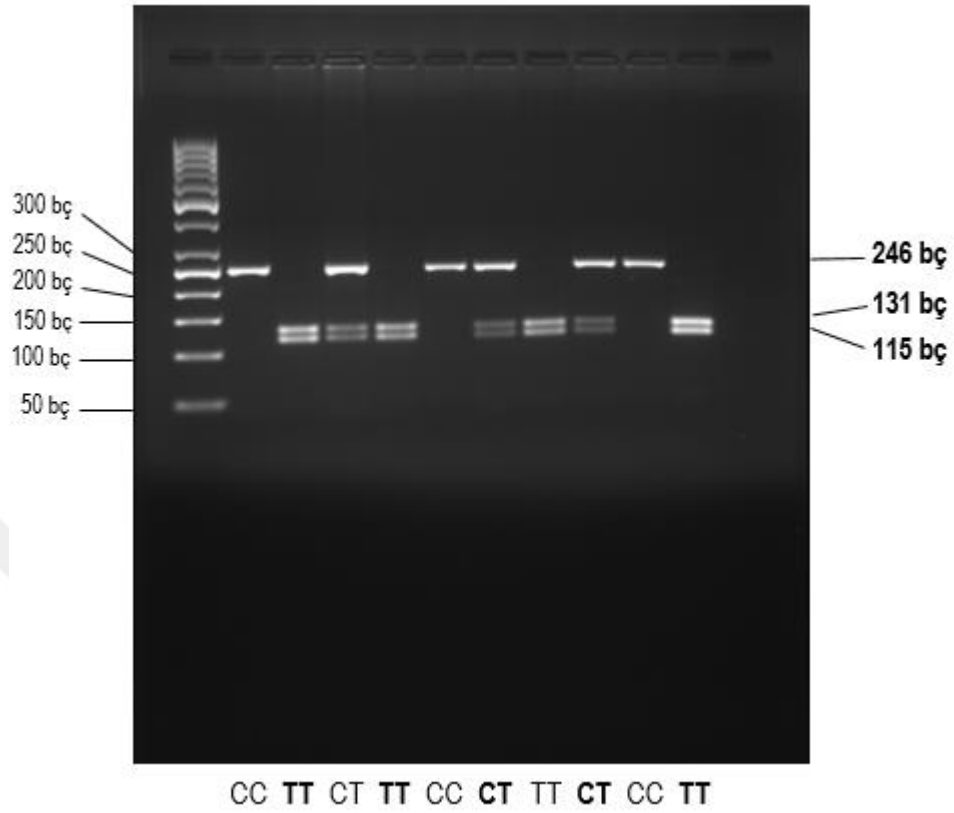
Şekil 3.1: Clusterin rs11136000 C/T SNP için PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

İlk sırada görülen 50 bç'lik (bç: baz çifti) DNA belirteçidir. Yüklenen örneklerin yaklaşık olarak kaç bç olduğunun anlaşılmasını sağlar. Diğer sıralardakiler ise PCR ürünleridir. PCR ürünlerinin olması gereken boyutu 246 bç'dir ve görüntüye bakarak doğru boyutta ürün elde edilip edilemediği değerlendirilebilir. Ayrıca örnek kuyucuklarının hizasında tek bir bant olması da PCR işleminin düzgün gerçekleştiğinin, istenmeyen bölgelerde çoğalmalar olmadığını göstergesidir. Bu kıstaslara göre tüm PCR ürünleri incelenip yeterli kalitede olduğuna karar verildikten sonra restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim reaksiyonuna geçilmiştir.

### **Clusterin rs11136000 C/T SNP restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim sonuçları**

Clusterin rs11136000 C/T PCR ürünleri bölüm 2.2.2.1'de anlatıldığı gibi *ApoI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim ürünleri %2.5'lik agaroz jelde bölüm 2.2.1.4'te anlatıldığı gibi hazırlanarak yürütülmüştür. Şekil 3.2 clusterin

rs11136000 C/T SNP kesim ürünleri için temsili agaroz jel elektroforez görüntüsünü göstermektedir.



Şekil 3.2: Clusterin rs11136000 C/T SNP için kesim ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. Her kesim ürünü için belirlenen genotipler uygun sıranın altında belirtilmiştir.

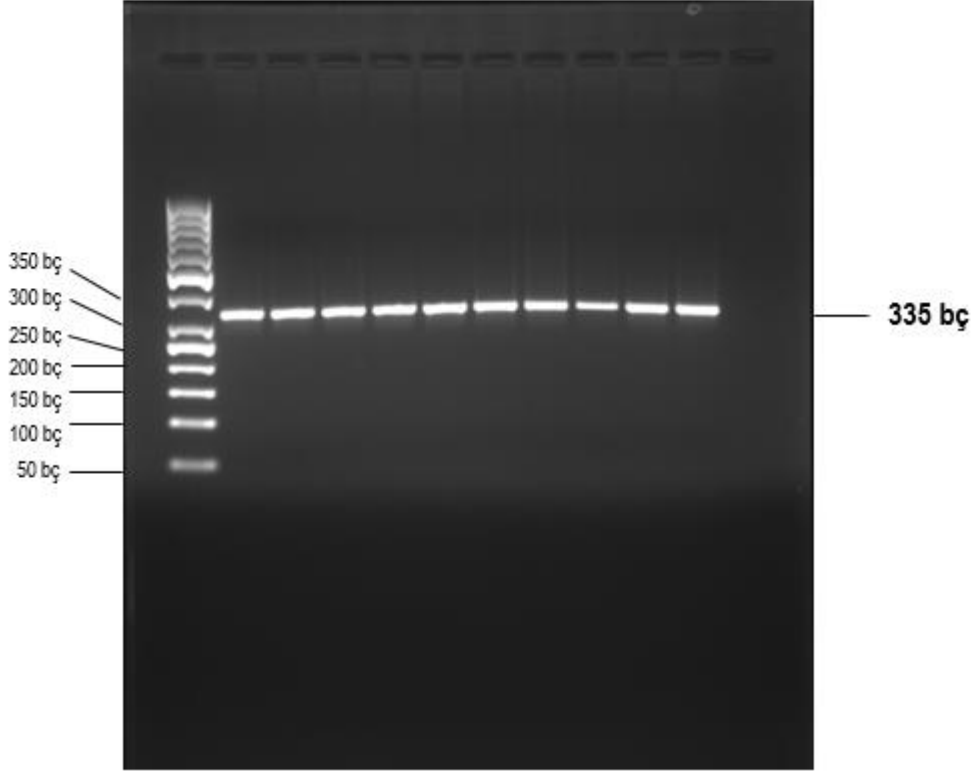
Şekil 3.2'de de gösterildiği gibi 246 bç'lik tek bant olarak gözlenen örnekler yabanıl homozigot (CC), 131 bç ve 115 bç'lik iki bant olarak gözlenenler polimorfik homozigot (TT), üç bant olarak gözlenenler ise heterozigot (CT) olarak genotiplenmiştir. Bu genotiplenmenin doğruluğunu tespit etmek amacıyla detayları bölüm 2.2.2.1'de anlatıldığı gibi bazı PCR ürünleri sekanslamaya gönderilmiş ve genotiplenmenin doğruluğu kanıtlanmıştır.

### 3.2.1.2 Clusterin rs3087554 A/G SNP genotiplenmesi

#### Clusterin rs3087554 A/G SNP PCR sonuçları

Clusterin rs3087554 A/G polimorfik bölgesini içeren gen bölgesi bölüm 2.2.2.2'de anlatıldığı gibi çoğaltılmıştır. PCR ürünleri %2'lik agaroz jelde bölüm 2.2.1.4'te anlatıldığı gibi hazırlanarak yürütülmüştür. Şekil 3.3 clusterin rs3087554 A/G SNP

PCR ürünleri için temsili agaroz jel elektroforez görüntüsünü göstermektedir. PCR ürünlerinin olması gereken boyutu 335 bç'dir ve elde edilen görüntü olması gereken büyüklükte ve kalitededir.



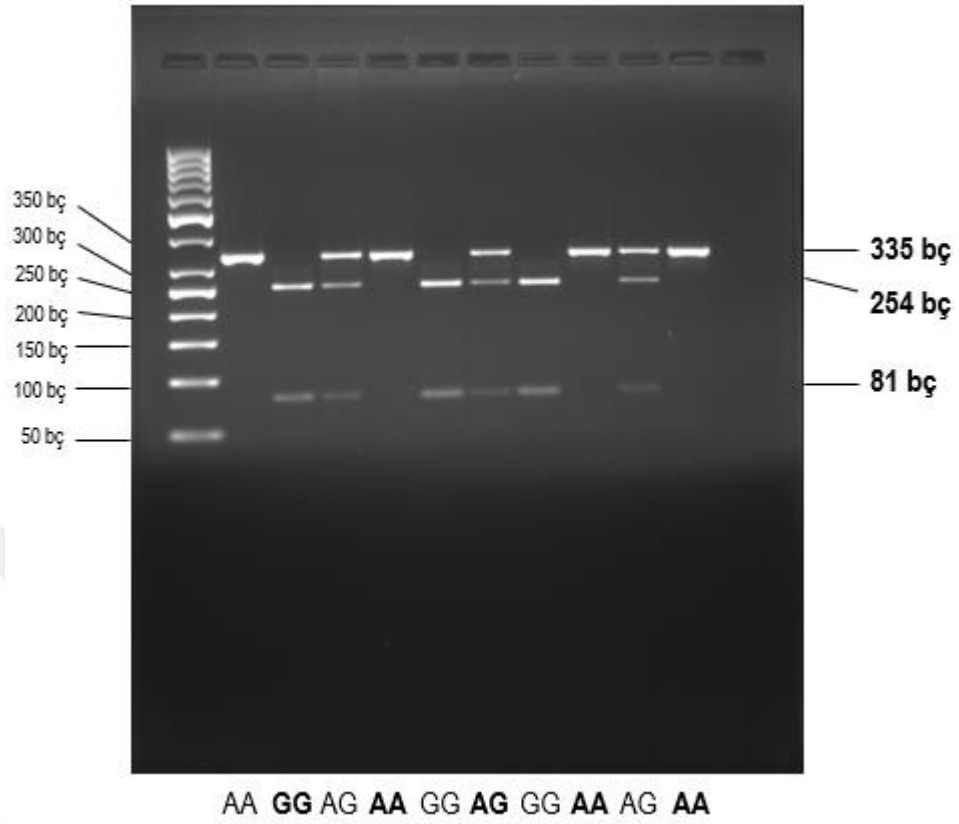
Şekil 3.3: Clusterin rs3087554 A/G SNP için PCR ürünlerinin %2'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

### **Clusterin rs3087554 A/G SNP için restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesim sonuçları**

Clusterin rs3087554 A/G PCR ürünleri bölüm 2.2.2.2'de anlatıldığı gibi *AclI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilmiştir. Kesim ürünleri %2.5'lik agaroz jelde bölüm 2.2.1.4'te anlatıldığı gibi hazırlanarak yürütülmüştür. Şekil 3.4 clusterin rs3087554 A/G SNP kesim ürünleri için temsili agaroz jel elektroforez görüntüsünü göstermektedir.

Şekil 3.4'de de gösterildiği gibi 335 bç'lik tek bant olarak gözlenen örnekler yabancıl homozigot (AA), 254 bç ve 81 bç'lik iki bant olarak gözlenenler polimorfik homozigot (GG), üç bant olarak gözlenenler ise heterozigot (AG) olarak genotiplenmiştir. Bu genotipleme doğruluğunu tespit etmek amacıyla detayları bölüm 2.2.2.2'de

anlatıldığı gibi bazı PCR ürünleri sekanslamaya gönderilmiş ve genotiplemenin doğruluğu kanıtlanmıştır.



Şekil 3.4: Clusterin rs3087554 A/G SNP için kesim ürünlerinin %2.5'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü. Her kesim ürünü için belirlenen genotipler uygun sıranın altında belirtilmiştir.

### 3.2.2 Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T tek nükleotid polimorfizmlerinin genotiplemesi

Clusterin genindeki rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T polimorfizmlerinin genotiplemesi real-time PCR yöntemi ile bölüm 2.2.3'te anlatıldığı gibi gerçekleştirilmiştir. Ham genotip bilgileri Ek D'de verilmiştir.

### 3.3 Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Genotip ve Alel Frekansları

Genel olarak tüm SNP'lerin hasta gruplarındaki genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesine uyumluyken, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T

SNP'lerinin kontroller için genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesine uyumlu değildir. Bunun olası sebepleri tartışma bölümünde verilmiştir.

Tablo 3.3, 3.4, 3.5 ve 3.6 PEG ve PES hastaları ile kontrol bireylerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için genotip ve alel frekanslarının dağılımını göstermektedir.

### **3.3.1 Clusterin rs11136000 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları**

Clusterin rs11136000 C/T genotip ve alel frekansları Tablo 3.3 ve 3.4'te verilmektedir. Buna göre bu bölgedeki minör alel olan T alel frekansı için PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (PEG vs. Kontrol: 0.387 vs. 0.416,  $P=0.388$ ; PES vs. Kontrol: 0.409 vs. 0.416,  $P=0.826$ ; PEG vs. PES: 0.387 vs. 0.409,  $P=0.520$ ).

Clusterin rs11136000 C/T için riskli genotip denilebilecek TT genotipi CT ve CC genotipleri ile (PEG vs. Kontrol: %18.31 vs. %23.26,  $P=0.207$ ; PES vs. Kontrol: %18.22 vs. %23.26,  $P=0.199$ ; PEG vs. PES: %18.31 vs. %18.22,  $P=1.000$ ) ya da TT ve CT genotipleri CC genotipi ile (PEG vs. Kontrol  $P=0.859$ , PES vs. Kontrol  $P=0.449$ ; PEG vs. PES,  $P=0.351$ ) kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.3).

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs11136000 C/T genotip ve alel frekansları farklı modeller yapıp incelendiğinde ve bu modellerde yaş ile cinsiyete göre ayarlama yapıldığında hasta ve kontrol grupları arasında yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.4).

### **3.3.2 Clusterin rs3087554 A/G SNP'sinin genotip ve alel frekansları**

Clusterin rs3087554 A/G genotip ve alel frekansları Tablo 3.5 ve 3.6'da verilmektedir. Clusterin rs3087554 A/G için G alelinin ve riskli genotip denilebilecek GG genotipinin görülme sıklığı oldukça düşüktür. G aleline ve GG genotipine toplumda az rastlanmaktadır.

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde G alel frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (PEG vs. Kontrol: 0.178 vs. 0.135,  $P=0.080$ ; PES vs. Kontrol: 0.164 vs. 0.135,  $P=0.239$ ; PEG vs. PES: 0.178 vs. 0.164,  $P=0.564$ ) (Tablo 3.5).

Tablo 3.3: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs11136000 C/T genotip ve alel frekanslarının dağılımı.

Clusterin rs11136000 C/T	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	<i>P</i> <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	<i>P</i> <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	<i>P</i> <sup>C</sup>
Genotip, n (%)									
CC	87 (40.85)	78 (36.45)	86 (40.00)	0.740 <sup>a</sup>	0.207 <sup>a</sup>	0.735 <sup>a</sup>	0.199 <sup>a</sup>	1.006 <sup>a</sup>	1.000 <sup>a</sup>
CT	87 (40.85)	97 (45.33)	79 (36.74)	(0.462-1.180)		(0.460-1.176)		(0.616-1.643)	
TT	39 (18.31)	39 (18.22)	50 (23.26)	0.966 <sup>b</sup>	0.859 <sup>b</sup>	1.162 <sup>b</sup>	0.449 <sup>b</sup>	0.831 <sup>b</sup>	0.351 <sup>b</sup>
				(0.656-1.421)		(0.787-1.716)		(0.562-1.227)	
Alel frekansı									
C	0.613	0.591	0.584	0.886 <sup>c</sup>	0.388 <sup>c</sup>	0.970 <sup>c</sup>	0.826 <sup>c</sup>	0.914 <sup>c</sup>	0.520 <sup>c</sup>
T	0.387	0.409	0.416	(0.674-1.165)		(0.739-1.273)		(0.695-1.202)	

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES, <sup>a</sup>Resesif model: TT vs. CT+CC, <sup>b</sup>Dominant model: TT+CT vs. CC, <sup>c</sup>T vs. C

Tablo 3.4: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs11136000 C/T genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları.

Genotip modelleri	Genotip, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	<i>P</i> <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	<i>P</i> <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	<i>P</i> <sup>C</sup>
Codominant	CC	87 (40.9%)	78 (36.5%)	86 (40%)	1.00		1.00		1.00	
	CT	87 (40.9%)	97 (45.3%)	79 (36.7%)	1.16 (0.75-1.78)	0.42	1.41 (0.91-2.17)	0.15	0.80 (0.52-1.22)	0.56
	TT	39 (18.3%)	39 (18.2%)	50 (23.3%)	0.81 (0.48-1.37)		0.89 (0.53-1.50)		0.96 (0.56-1.66)	
Dominant	CC	87 (40.9%)	78 (36.5%)	86 (40%)	1.00		1.00		1.00	
	CT-TT	126 (59.1%)	136 (63.5%)	129 (60%)	1.02 (0.69-1.52)	0.91	1.20 (0.81-1.78)	0.36	0.85 (0.57-1.25)	0.40
Resesif	CC-CT	174 (81.7%)	175 (81.8%)	165 (76.7%)	1.00		1.00		1.00	
	TT	39 (18.3%)	39 (18.2%)	50 (23.3%)	0.76 (0.47-1.22)	0.25	0.75 (0.47-1.20)	0.23	1.08 (0.66-1.78)	0.75
Overdominant	CC-TT	126 (59.1%)	117 (54.7%)	136 (63.3%)	1.00		1.00		1.00	
	CT	87 (40.9%)	97 (45.3%)	79 (36.7%)	1.24 (0.83-1.84)	0.29	1.46 (0.99-2.17)	0.06	0.81 (0.55-1.19)	0.29
Log-additive	---	---	---	---	0.93 (0.72-1.20)	0.59	0.99 (0.77-1.28)	0.95	0.95 (0.73-1.23)	0.69

SNPStats SNP association analysis kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES

Tablo 3.5: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs3087554 A/G genotip ve alel frekanslarının dağılımı.

Clusterin rs3087554 A/G	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	<i>P</i> <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	<i>P</i> <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	<i>P</i> <sup>C</sup>
Genotip, n (%)									
AA	144 (67.61)	156 (72.90)	163 (75.81)	1.184 <sup>a</sup>	0.765 <sup>a</sup>	2.069 <sup>a</sup>	0.146 <sup>a</sup>	0.572 <sup>a</sup>	0.245 <sup>a</sup>
AG	62 (29.11)	46 (21.50)	46 (21.40)	(0.391-3.582)		(0.762-5.619)		(0.221-1.482)	
GG	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.502 <sup>b</sup>	0.059 <sup>b</sup>	1.165 <sup>b</sup>	0.489 <sup>b</sup>	1.289 <sup>b</sup>	0.232 <sup>b</sup>
				(0.983-2.295)		(0.755-1.799)		(0.850-1.954)	
Alel frekansı									
A	0.822	0.836	0.865	1.393 <sup>c</sup>	0.080 <sup>c</sup>	1.254 <sup>c</sup>	0.239 <sup>c</sup>	1.111 <sup>c</sup>	0.564 <sup>c</sup>
G	0.178	0.164	0.135	(0.960-2.019)		(0.860-1.828)		(0.777-1.586)	

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES, <sup>a</sup>GG vs. AG+AA, <sup>b</sup>GG+AG vs. AA, <sup>c</sup>G vs. A

Tablo 3.6: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs3087554 A/G genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları.

Genotip modelleri	Genotip, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	<i>P</i> <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	<i>P</i> <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	<i>P</i> <sup>C</sup>
Codominant	AA	144 (67.6%)	156 (72.9%)	163 (75.8%)	1.00	0.16	1.00	0.36	1.00	0.17
	AG	62 (29.1%)	46 (21.5%)	46 (21.4%)	1.52 (0.97-2.38)		1.03 (0.65-1.65)		1.43 (0.92-2.23)	
	GG	7 (3.3%)	12 (5.6%)	6 (2.8%)	1.56 (0.50-4.83)		2.05 (0.75-5.64)		0.67 (0.25-1.75)	
Dominant	AA	144 (67.6%)	156 (72.9%)	163 (75.8%)	1.00	0.05	1.00	0.52	1.00	0.25
	AG-GG	69 (32.4%)	58 (27.1%)	52 (24.2%)	1.52 (0.99-2.34)		1.15 (0.74-1.78)		1.28 (0.84-1.94)	
Resesif	AA-AG	206 (96.7%)	202 (94.4%)	209 (97.2%)	1.00	0.56	1.00	0.15	1.00	0.30
	GG	7 (3.3%)	12 (5.6%)	6 (2.8%)	1.40 (0.45-4.31)		2.04 (0.75-5.58)		0.61 (0.23-1.59)	
Overdominant	AA-GG	151 (70.9%)	168 (78.5%)	169 (78.6%)	1.00	0.08	1.00	0.99	1.00	0.09
	AG	62 (29.1%)	46 (21.5%)	46 (21.4%)	1.49 (0.96-2.33)		1.00 (0.63-1.59)		1.46 (0.94-2.28)	
Log-additive	---	---	---	---	1.41 (0.98-2.05)	0.07	1.20 (0.85-1.71)	0.30	1.10 (0.78-1.55)	0.58

SNPStats SNP association analysis kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES



Clusterin rs3087554 A/G için riskli genotip denilebilecek GG genotipi AG ve AA genotipleri ile kıyaslandığında da (PEG vs. Kontrol: %3.29 vs. %2.79,  $P=0.765$ ; PES vs. Kontrol: %5.61 vs. %2.79,  $P=0.146$ ; PEG vs. PES: %3.29 vs. %5.61,  $P=0.245$ ), GG ve AG genotipleri AA genotipi ile kıyaslandığında da (PEG vs. Kontrol  $P=0.059$ , PES vs. Kontrol  $P=0.489$ , PEG vs. PES  $P=0.232$ ) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.5).

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs3087554 A/G genotip ve alel frekansları farklı modeller yapıp incelendiğinde ve bu modellerde yaş ile cinsiyete göre ayarlama yapıldığında hasta ve kontrol grupları arasında yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.6).

### 3.3.3 Clusterin rs1532278 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları

Clusterin rs1532278 C/T genotip ve alel frekansları Tablo 3.7 ve 3.8'de verilmektedir. Bu bölgede T alel frekansı için PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (PEG vs. Kontrol: 0.387 vs. 0.414,  $P=0.427$ ; PES vs. Kontrol: 0.404 vs. 0.414,  $P=0.772$ ; PEG vs. PES: 0.387 vs. 0.404,  $P=0.614$ ).

Clusterin rs1532278 C/T için riskli genotip denilebilecek TT genotipi CT ve CC genotipleri ile (PEG vs. Kontrol: %18.31 vs. %22.79,  $P=0.251$ ; PES vs. Kontrol: %17.76 vs. %22.79,  $P=0.195$ ; PEG vs. PES: %18.31 vs. %17.76,  $P=0.882$ ), TT ve CT genotipleri de CC genotipi ile (PEG vs. Kontrol  $P=0.859$ , PES vs. Kontrol  $P=0.511$ , PEG vs. PES  $P=0.405$ ) kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.7).

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs1532278 C/T genotip ve alel frekansları farklı modeller yapıp incelendiğinde ve bu modellerde yaş ile cinsiyete göre ayarlama yapıldığında hasta ve kontrol grupları arasında yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.8).

Tablo 3.7: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs1532278 C/T genotip ve alel frekanslarının dağılımı.

Clusterin rs1532278 C/T	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
Genotip, n (%)									
CC	87 (40.85)	79 (36.92)	86 (40.00)	0.759 <sup>a</sup>	0.251 <sup>a</sup>	0.731 <sup>a</sup>	0.195 <sup>a</sup>	1.038 <sup>a</sup>	0.882 <sup>a</sup>
CT	87 (40.85)	97 (45.33)	80 (37.21)	(0.474-1.216)		(0.455-1.175)		(0.634-1.700)	
TT	39 (18.31)	38 (17.76)	49 (22.79)	0.966 <sup>b</sup>	0.859 <sup>b</sup>	1.139 <sup>b</sup>	0.511 <sup>b</sup>	0.848 <sup>b</sup>	0.405 <sup>b</sup>
				(0.656-1.421)		(0.772-1.681)		(0.574-1.251)	
Alel frekansı									
C	0.613	0.596	0.586	0.895 <sup>c</sup>	0.427 <sup>c</sup>	0.960 <sup>c</sup>	0.772 <sup>c</sup>	0.932 <sup>c</sup>	0.614 <sup>c</sup>
T	0.387	0.404	0.414	(0.681-1.177)		(0.732-1.261)		(0.708-1.226)	

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES, <sup>a</sup>Resesif model: TT vs. CT+CC, <sup>b</sup>Dominant model: TT+CT vs. CC, <sup>c</sup>T vs. C

Tablo 3.8: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs1532278 C/T genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları.

Genotip modelleri	Genotip, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
Codominant	CC	87 (40.9%)	79 (36.9%)	86 (40%)	1.00		1.00		1.00	
	CT	87 (40.9%)	97 (45.3%)	80 (37.2%)	1.14 (0.74-1.75)	0.51	1.36 (0.89-2.10)	0.18	0.81 (0.53-1.24)	0.56
	TT	39 (18.3%)	38 (17.8%)	49 (22.8%)	0.83 (0.49-1.41)		0.88 (0.52-1.48)		1.01 (0.58-1.74)	
Dominant	CC	87 (40.9%)	79 (36.9%)	86 (40%)	1.00	0.91	1.00	0.42	1.00	0.47
	CT-TT	126 (59.1%)	135 (63.1%)	129 (60%)	1.02 (0.69-1.52)		1.18 (0.79-1.74)		0.86 (0.58-1.28)	
Resesif	CC-CT	174 (81.7%)	176 (82.2%)	166 (77.2%)	1.00	0.32	1.00	0.23	1.00	0.65
	TT	39 (18.3%)	38 (17.8%)	49 (22.8%)	0.78 (0.49-1.26)		0.75 (0.46-1.20)		1.12 (0.68-1.86)	
Overdominant	CC-TT	126 (59.1%)	117 (54.7%)	135 (62.8%)	1.00	0.34	1.00	0.07	1.00	0.28
	CT	87 (40.9%)	97 (45.3%)	80 (37.2%)	1.21 (0.81-1.79)		1.43 (0.97-2.11)		0.81 (0.55-1.19)	
Log-additive	---	---	---	---	0.94 (0.73-1.22)	0.64	0.98 (0.76-1.27)	0.91	0.97 (0.74-1.26)	0.80

SNPStats SNP association analysis kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES

### 3.3.4 Clusterin rs2279590 C/T SNP'sinin genotip ve alel frekansları

Clusterin rs2279590 C/T genotip ve alel frekansları Tablo 3.9 ve 3.10'da verilmektedir. Bu bölgede T alel frekansı için PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (PEG vs. Kontrol: 0.394 vs. 0.416,  $P=0.514$ ; PES vs. Kontrol: 0.421 vs. 0.416,  $P=1.000$ ; PEG vs. PES: 0.394 vs. 0.421,  $P=0.436$ ).

Clusterin rs2279590 C/T için riskli genotip denilebilecek TT genotipi CT ve CC genotipleri ile (PEG vs. Kontrol: %19.25 vs. %22.79,  $P=0.369$ ; PES vs. Kontrol: %18.69 vs. %22.79,  $P=0.295$ ; PEG vs. PES: %19.25 vs. %18.69,  $P=0.883$ ), TT ve CT genotipleri de CC genotipi ile (PEG vs. Kontrol  $P=0.859$ , PES vs. Kontrol  $P=0.288$ , PEG vs. PES  $P=0.216$ ) kıyaslandığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.9).

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs2279590 C/T genotip ve alel frekansları farklı modeller yapıp incelendiğinde ve bu modellerde yaş ile cinsiyete göre ayarlama yapıldığında, overdominant modelde CT genotipi diğer genotiplere kıyasla PES hastalarında kontrollerden istatistiksel olarak anlamlı derecede çok görülmektedir ( $P=0.049$ ) (Tablo 3.10).

### 3.3.5 Clusterin polimorfizmlerinin ikili, üçlü ve dörtlü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı

İncelenen clusterin polimorfizmlerinin ikili olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı Tablo 3.11'de verilmiştir. Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP'lerinin ikili olarak birleştirilmiş CCAG genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir ( $P=0.034$ ). Clusterin rs3087554 A/G ve rs1532278 C/T SNP'lerinin ikili olarak birleştirilmiş AGCC genotipi ( $P=0.034$ ) ile rs3087554 A/G ve rs2279590 C/T SNP'lerinin AGCC genotipi de ( $P=0.046$ ), PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir.

Tablo 3.9: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs2279590 C/T genotip ve alel frekanslarının dağılımı.

Clusterin rs2279590 C/T	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	<i>P</i> <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	<i>P</i> <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	<i>P</i> <sup>C</sup>
Genotip, n (%)									
CC	86 (40.38)	74 (34.58)	85 (39.53)	0.808 <sup>a</sup>	0.369 <sup>a</sup>	0.779 <sup>a</sup> (0.487-1.244)	0.295 <sup>a</sup>	1.037 <sup>a</sup> (0.639-1.682)	0.883 <sup>a</sup>
CT	86 (40.38)	100 (46.73)	81 (37.67)	(0.507-1.287)					
TT	41 (19.25)	40 (18.69)	49 (22.79)	0.966 <sup>b</sup> (0.656-1.422)	0.859 <sup>b</sup>	1.237 <sup>b</sup> (0.835-1.832)	0.288 <sup>b</sup>	0.781 <sup>b</sup> (0.527-1.156)	0.216 <sup>b</sup>
Alel frekansı									
C	0.606	0.579	0.584	0.913 <sup>c</sup>	0.514 <sup>c</sup>	1.018 <sup>c</sup> (0.776-1.335)	1.000 <sup>c</sup>	0.897 <sup>c</sup> (0.683-1.179)	0.436 <sup>c</sup>
T	0.394	0.421	0.416	(0.695-1.200)					

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES, <sup>a</sup>Resesif model: TT vs. CT+CC, <sup>b</sup>Dominant model: TT+CT vs. CC, <sup>c</sup>T vs. C

Tablo 3.10: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs2279590 C/T genotip ve alel frekanslarının farklı modellerde yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış dağılımları.

Genotip modelleri	Genotip, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR (%95 CI) <sup>A</sup>	<i>P</i> <sup>A</sup>	OR (%95 CI) <sup>B</sup>	<i>P</i> <sup>B</sup>	OR (%95 CI) <sup>C</sup>	<i>P</i> <sup>C</sup>
Codominant	CC	86 (40.4%)	74 (34.6%)	85 (39.5%)	1.00		1.00		1.00	
	CT	86 (40.4%)	100 (46.7%)	81 (37.7%)	1.10 (0.71-1.69)	0.71	1.47 (0.95-2.26)	0.140	0.74 (0.48-1.14)	0.34
	TT	41 (19.2%)	40 (18.7%)	49 (22.8%)	0.88 (0.52-1.48)		0.98 (0.58-1.66)		0.96 (0.56-1.66)	
Dominant	CC	86 (40.4%)	74 (34.6%)	85 (39.5%)	1.00	0.94	1.00	0.220	1.00	0.27
	CT-TT	127 (59.6%)	140 (65.4%)	130 (60.5%)	1.02 (0.69-1.50)		1.28 (0.86-1.91)		0.80 (0.54-1.19)	
Resesif	CC-CT	172 (80.8%)	174 (81.3%)	166 (77.2%)	1.00	0.47	1.00	0.360	1.00	0.62
	TT	41 (19.2%)	40 (18.7%)	49 (22.8%)	0.84 (0.52-1.35)		0.80 (0.50-1.29)		1.13 (0.69-1.86)	
Overdominant	CC-TT	127 (59.6%)	114 (53.3%)	134 (62.3%)	1.00	0.50	1.00	0.049	1.00	0.14
	CT	86 (40.4%)	100 (46.7%)	81 (37.7%)	1.15 (0.77-1.70)		1.48 (1.00-2.18)		0.75 (0.51-1.10)	
Log-additive	---	---	---	---	0.96 (0.74-1.23)	0.74	1.04 (0.80-1.35)	0.760	0.94 (0.72-1.22)	0.64

SNPStats SNP association analysis kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES

Tablo 3.11: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin ikili olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı.

İkili olarak birleştirilmiş haplotipler, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
<b>Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G</b>									
CCAA	43 (20.19)	44 (20.56)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.877	0.575	0.977	1.000
CCAG	37 (17.37)	22 (10.28)	31 (14.42)	1.248	0.404	0.680	0.193	1.835	0.034
CCGG	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245
CTAA	62 (29.11)	73 (34.11)	65 (30.23)	0.948	0.799	1.195	0.390	0.793	0.266
CTAG	25 (11.74)	24 (11.21)	14 (6.51)	1.909	0.060	1.814	0.086	1.053	0.866
TTAA	39 (18.31)	39 (18.22)	49 (22.79)	0.759	0.251	0.755	0.242	1.006	1.000
<b>Clusterin rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T</b>									
CCCC	87 (40.85)	78 (36.45)	86 (40.00)	1.036	0.859	0.860	0.449	1.204	0.351
CTCT	87 (40.85)	96 (44.86)	79 (36.74)	1.189	0.384	1.401	0.087	0.849	0.402
TTCT	0	1 (0.47)	1 (0.47)	-	1.000	1.005	1.000*	-	1.000
TTTT	39 (18.31)	38 (17.76)	49 (22.79)	0.759	0.251	0.731	0.195	1.038	0.882
<b>Clusterin rs11136000 C/T ve rs2279590 C/T</b>									
CCCC	86 (40.38)	73 (34.11)	85 (39.53)	1.036	0.859	0.792	0.244	1.308	0.181
CCCT	1 (0.47)	5 (2.34)	1 (0.47)	1.009	1.000*	5.120	0.122*	0.215	0.197*
CTCT	85 (39.91)	94 (43.93)	77 (35.81)	1.190	0.383	1.404	0.086	0.848	0.400
CTTT	2 (0.94)	2 (0.93)	2 (0.93)	1.009	1.000*	1.005	1.000*	1.005	1.000*
TTCT	0	1 (0.47)	3 (1.40)	-	1.000	0.332	0.623*	-	1.000
TTTT	39 (18.31)	38 (17.76)	47 (21.86)	0.801	0.359	0.772	0.286	1.038	0.882

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunmayan haplotipler tablodan çıkarılmıştır. \*Fisher's exact test kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES.

Tablo 3.11 (devamı): PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin ikili olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı.

İkili olarak birleştirilmiş haplotipler, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
<b>Clusterin rs3087554 A/G ve rs1532278 C/T</b>									
AACC	43 (20.19)	45 (21.03)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.902	0.659	0.950	0.830
AACT	62 (29.11)	73 (34.11)	66 (30.70)	0.927	0.719	1.169	0.450	0.793	0.266
AATT	39 (18.31)	38 (17.76)	48 (22.33)	0.780	0.302	0.751	0.237	1.038	0.882
AGCC	37 (17.37)	22 (10.28)	31 (14.42)	1.248	0.404	0.680	0.193	1.835	0.034
AGCT	25 (11.74)	24 (11.21)	14 (6.51)	1.909	0.060	1.814	0.086	1.053	0.866
GGCC	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245
<b>Clusterin rs3087554 A/G ve rs2279590 C/T</b>									
AACC	43 (20.19)	40 (18.69)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.779	0.295	1.100	0.696
AACT	61 (28.64)	76 (35.51)	66 (30.70)	0.906	0.641	1.243	0.289	0.729	0.128
AATT	40 (18.78)	40 (18.69)	48 (22.33)	0.804	0.364	0.800	0.351	1.006	1.000
AGCC	36 (16.90)	22 (10.28)	30 (13.95)	1.254	0.398	0.707	0.244	1.775	0.046
AGCT	25 (11.74)	24 (11.21)	15 (6.98)	1.773	0.091	1.684	0.127	1.053	0.866
AGTT	1 (0.47)	0	1 (0.47)	1.009	1.000*	-	1.000	-	1.000
GGCC	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245
<b>Clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T</b>									
CCCC	86 (40.38)	74 (34.58)	85 (39.53)	1.036	0.859	0.808	0.288	1.281	0.216
CCCT	1 (0.47)	5 (2.34)	1 (0.47)	1.009	1.000*	5.120	0.122*	0.215	0.197*
CTCT	85 (39.91)	95 (44.39)	78 (36.28)	1.166	0.440	1.402	0.087	0.832	0.348
CTTT	2 (0.94)	2 (0.93)	2 (0.93)	1.009	1.000*	1.005	1.000*	1.005	1.000*
TTTT	39 (18.31)	38 (17.76)	47 (21.86)	0.801	0.359	0.772	0.286	1.038	0.882

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunmayan haplotipler tablodan çıkarılmıştır. \*Fisher's exact test kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES.

İncelenen clusterin polimorfizmlerinin üçlü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı Tablo 3.12’de verilmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G ve rs1532278 C/T SNP’leri ( $P=0.034$ ) ile rs11136000 C/T, rs3087554 A/G ve rs2279590 C/T SNP’lerinin ( $P=0.046$ ) üçlü olarak birleştirilmiş CCAGCC genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir. Clusterin rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP’lerinin üçlü olarak birleştirilmiş AGCCCC genotipi de ( $P=0.046$ ), PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir.

İncelenen clusterin polimorfizmlerinin dördü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı Tablo 3.13’te verilmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP’lerinin dördü olarak birleştirilmiş CCAGCCCC genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir ( $P=0.046$ ).

### **3.4 Aköz Humor Örneklerinde Analizler**

Aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonu Bradford Assay kullanılarak belirlenirken, clusterin konsantrasyonu ELISA ile belirlenmiştir. Elde edilen clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı Ek D’de verilmiştir. Bu çalışmada 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrol olmak üzere toplam 51 aköz humor örneğinin analizleri yapılmıştır.

#### **3.4.1 Aköz humor örneklerinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı**

Aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu ve total protein konsantrasyonu kıyaslandığında PEG hastalarında, PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede daha yüksek değerler görülmüştür (Tablo 3.14).

Tablo 3.12: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin üçlü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı.

Üçlü olarak birleştirilmiş haplotipler, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
<b>Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G ve rs1532278 C/T</b>									
CCAACC	43 (20.19)	44 (20.56)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.877	0.575	0.977	1.000
CCAGCC	37 (17.37)	22 (10.28)	31 (14.42)	1.248	0.404	0.680	0.193	1.835	0.034
CCGGCC	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245
CTAACT	62 (29.11)	72 (33.64)	65 (30.23)	0.948	0.799	1.170	0.448	0.810	0.312
CTAGCT	25 (11.74)	24 (11.21)	14 (6.51)	1.909	0.060	1.814	0.086	1.053	0.866
TTAACT	0	1 (0.47)	1 (0.47)	-	1.000	1.005	1.000*	-	1.000
TTAATT	39 (18.31)	38 (17.76)	48 (22.33)	0.780	0.302	0.751	0.237	1.038	0.882
<b>Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G ve rs2279590 C/T</b>									
CCAACC	43 (20.19)	39 (18.22)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.755	0.242	1.135	0.607
CCAGCC	36 (16.90)	22 (10.28)	30 (13.95)	1.254	0.398	0.707	0.244	1.775	0.046
CCAGCT	1 (0.47)	0	1 (0.47)	1.009	1.000*	-	1.000	-	1.000
CCGGCC	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245
CTAACT	61 (28.64)	70 (32.71)	63 (29.30)	0.968	0.880	1.173	0.445	0.826	0.362
CTAATT	1 (0.47)	2 (0.93)	2 (0.93)	0.502	1.000*	1.005	1.000*	0.500	1.000*
CTAGCT	24 (11.27)	24 (11.21)	14 (6.51)	1.823	0.084	1.814	0.086	1.005	1.000
TTAACT	0	1 (0.47)	3 (1.40)	-	1.000	0.332	0.623*	-	1.000
TTAATT	39 (18.31)	38 (17.76)	46 (21.40)	0.823	0.424	0.793	0.342	1.038	0.882

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunmayan haplotipler tablodan çıkarılmıştır. \*Fisher's exact test kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES.



Tablo 3.12 (devamı): PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin üçlü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı.

Üçlü olarak birleştirilmiş haplotipler, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
<b>Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T</b>									
CCCCCC	86 (40.38)	73 (34.11)	85 (39.53)	1.036	0.859	0.792	0.244	1.308	0.181
CCCCCT	1 (0.47)	5 (2.34)	1 (0.47)	1.009	1.000*	5.120	0.122*	0.197	0.215*
CTCTCT	85 (39.91)	94 (43.93)	77 (35.81)	1.190	0.383	1.404	0.086	0.848	0.400
CTCTTT	2 (0.94)	2 (0.93)	2 (0.93)	1.009	1.000*	1.005	1.000*	1.005	1.000*
TTCTCT	0	1 (0.47)	1 (0.47)	-	1.000	1.005	1.000*	-	1.000
TTTTTT	39 (18.31)	38 (17.76)	47 (21.86)	0.801	0.359	0.772	0.286	1.038	0.882
<b>Clusterin rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T</b>									
AACCCC	43 (20.19)	40 (18.69)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.779	0.295	1.100	0.696
AACTCT	61 (28.64)	71 (33.18)	64 (29.77)	0.947	0.797	1.171	0.447	0.808	0.310
AACTTT	1 (0.47)	2 (0.93)	2 (0.93)	0.502	1.000*	1.005	1.000*	0.500	1.000*
AATTTT	39 (18.31)	38 (17.76)	46 (21.40)	0.823	0.424	0.793	0.342	1.038	0.882
AGCCCC	36 (16.90)	22 (10.28)	30 (13.95)	1.254	0.398	0.707	0.244	1.775	0.046
AGCCCT	1 (0.47)	0	1 (0.47)	1.009	1.000*	-	1.000	-	1.000
AGCTCT	24 (11.27)	24 (11.21)	14 (6.51)	1.823	0.084	1.814	0.086	1.005	1.000
GGCCCC	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunmayan haplotipler tablodan çıkarılmıştır. \*Fisher's exact test kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES.

Tablo 3.13: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin polimorfizmlerinin dörtlü olarak birleştirilmiş haplotiplerinin dağılımı.

Dörtlü olarak birleştirilmiş haplotipler, n (%)	PEG (n=213)	PES (n=214)	Kontrol (n=215)	OR <sup>A</sup>	P <sup>A</sup>	OR <sup>B</sup>	P <sup>B</sup>	OR <sup>C</sup>	P <sup>C</sup>
<b>Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T</b>									
CCAACCCC	43 (20.19)	39 (18.22)	49 (22.79)	0.857	0.512	0.755	0.242	1.135	0.607
CCAGCCCC	36 (16.90)	22 (10.28)	30 (13.95)	1.254	0.398	0.707	0.244	1.775	0.046
CCAGCCCT	1 (0.47)	0	1 (0.47)	1.009	1.000*	-	1.000	-	1.000
CCGGCCCC	7 (3.29)	12 (5.61)	6 (2.79)	1.184	0.765	2.069	0.146	0.572	0.245
CTAACTCT	61 (28.64)	70 (32.71)	63 (29.30)	0.968	0.880	1.173	0.445	0.826	0.362
CTAACTTT	1 (0.47)	2 (0.93)	2 (0.93)	0.502	1.000*	1.005	1.000*	0.500	1.000*
CTAGCTCT	24 (11.27)	24 (11.21)	14 (6.51)	1.823	0.084	1.814	0.086	1.005	1.000
TTAACTCT	0	1 (0.47)	1 (0.47)	-	1.000	1.005	1.000*	-	1.000
TTAATTTT	39 (18.31)	38 (17.76)	46 (21.40)	0.823	0.424	0.793	0.342	1.038	0.882

$\chi^2$  testi kullanılmıştır. PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunmayan haplotipler tablodan çıkarılmıştır. \*Fisher's exact test kullanılmıştır. <sup>A</sup>PEG vs. Kontrol, <sup>B</sup>PES vs. Kontrol, <sup>C</sup>PEG vs. PES.

Tablo 3.14: PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	PEG (n=12)	PES (n=17)	KONTROL (n=22)	P
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	0.690± 0.460 <sup>a,b</sup> (0.171–1.499, 8.77)	0.286± 0.320 <sup>c</sup> (0.006–1.287, 214.50)	0.341±0.392 (0.020–1.661, 83.05)	0.005*
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	359.75± 148.20 <sup>d,e</sup> (175.80–590.40, 3.36)	249.92± 193.38 <sup>f</sup> (78.42–726.50, 9.26)	192.40±95.58 (80.30–472.40, 5.88)	0.004*
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.197± 0.122 (0.080–0.454, 5.68)	0.120± 0.088 (0.003–0.299, 99.67)	0.178±0.176 (0.023–0.762, 33.13)	0.222

Sonuçlar ortalama±standart sapma (minimum-maksimum, değişim katı) olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

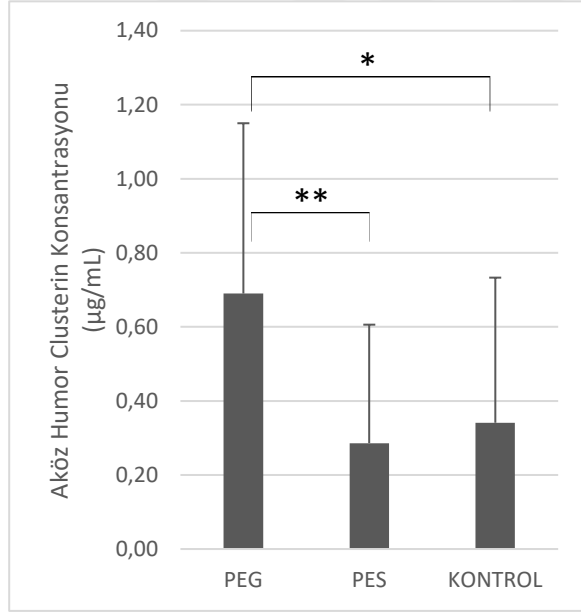
<sup>a</sup>PEG vs. PES  $P=0.002$ , <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol  $P=0.004$ , <sup>c</sup>PES vs. Kontrol  $P=0.631$

<sup>d</sup>PEG vs. PES  $P=0.004$ , <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol  $P=0.001$ , <sup>f</sup>PES vs. Kontrol  $P=0.701$

Ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında  $0.690\pm 0.460$  µg/mL, PES hastalarında  $0.286\pm 0.320$  µg/mL ve kontrollerde  $0.341\pm 0.392$  µg/mL'dir ve bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P=0.005$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.14). En yüksek ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında görülürken, en düşük ortalama clusterin konsantrasyonu PES hastalarında görülmüştür (Şekil 3.5).

Aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu bireyler arasında varyasyon göstermektedir. PEG hastalarında minimum clusterin konsantrasyonu  $0.171$  µg/mL ve maksimum clusterin konsantrasyonu  $1.499$  µg/mL'dir ve bireyler arasında  $8.77$  katlık bir değişim gözlemlenmektedir. Clusterin konsantrasyonu açısından en düşük varyasyon PEG hastalarında görülürken, en büyük varyasyon  $214.50$  kat ile PES hastalarında görülmüştür (aralık:  $0.006-1.287$  µg/mL). Kontrollerde ise  $83.05$  katlık bir varyasyon vardır (aralık:  $0.020-1.661$  µg/mL) (Tablo 3.14).

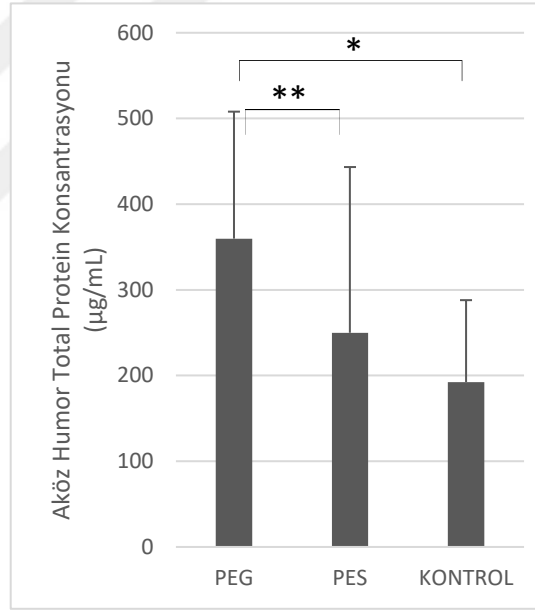
Ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında  $359.75\pm 148.20$  µg/mL, PES hastalarında  $249.92\pm 193.38$  µg/mL ve kontrollerde  $192.40\pm 95.58$  µg/mL'dir ve bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P=0.004$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.004$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.14). En yüksek ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında görülürken, en düşük ortalama total protein konsantrasyonu kontrollerde görülmüştür (Şekil 3.5).



PEG-PES-Kontrol  $P=0.005$

\*PEG vs. Kontrol  $P=0.004$

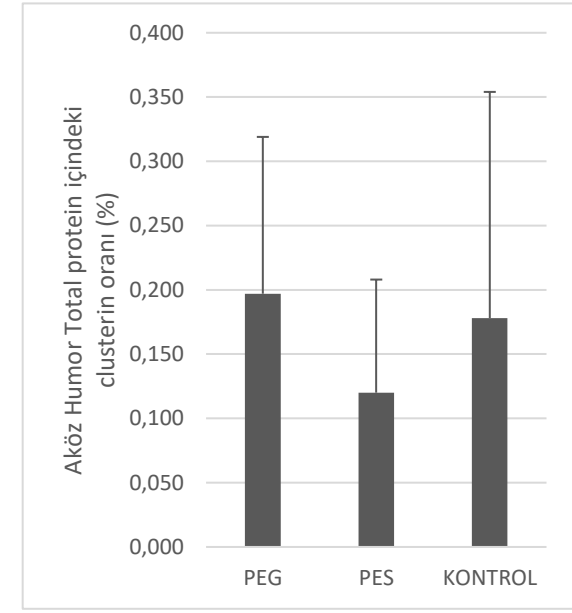
\*\*PEG vs. PES  $P=0.002$



PEG-PES-Kontrol  $P=0.004$

\*PEG vs. Kontrol  $P=0.001$

\*\*PEG vs. PES  $P=0.004$



Şekil 3.5: PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humör örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonu da bireyler arasında varyasyon göstermektedir. Total protein konsantrasyonu açısından en az varyasyon 3.36 kat ile PEG hastalarında (aralık: 175.80-590.40 µg/mL), en büyük varyasyon ise 9.26 kat ile PES hastalarında (aralık: 78.42-726.50 µg/mL) görülmüştür. Kontrollerde ise 5.88 katlık bir varyasyon görülmüştür (aralık: 80.30-472.40 µg/mL) (Tablo 3.14).

Ortalama total protein içindeki clusterin oranı PEG hastalarında %0.197±0.122, PES hastalarında %0.120±0.088 ve kontrollerde %0.178±0.176'dır. Total protein içindeki clusterin oranı açısından üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ( $P=0.222$ ) (Tablo 3.14) (Şekil 3.5).

Aköz humor örneklerinde total protein içindeki clusterin oranı da bireyler arasında varyasyon göstermektedir. Total protein içindeki clusterin oranı açısından en az varyasyon 5.68 kat ile PEG hastalarında (aralık: %0.080-0.454), en büyük varyasyon ise 99.67 kat ile PES hastalarında (aralık: %0.003-0.299) görülmüştür. Kontrollerde ise 33.13 katlık bir varyasyon görülmüştür (aralık: %0.023-0.762) (Tablo 3.14).

Genel olarak en düşük varyasyonlar PEG hastalarında görülürken, en büyük varyasyonlar PES hastalarında görülmüştür. Bu durumda PEG hastalarının protein değerleri açısından PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha düşük varyasyon gösterdiği söylenebilir.

### **3.4.2 Aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine bazı risk faktörlerinin etkilerinin değerlendirilmesi**

Aköz humor örneklerinde yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, kalp hastalığı ve sigara kullanımının clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine etkileri PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında ve tüm aköz humor örneklerinde incelenmiştir.

#### **3.4.2.1 Yaşın etkisi**

Çalışma grubu 54-69 yaş arası ile 70 yaş ve üstü olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Bu şekilde yaşın clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranına etkisi daha iyi gözlemlenebilmiştir.

Tablo 3.15'te de görüldüğü gibi 54-69 yaş arası bireylerdeki ortalama clusterin konsantrasyonu (0.364±0.331 µg/mL), total protein konsantrasyonu (254.14±195.39

$\mu\text{g/mL}$ ) ve total protein içindeki clusterin oranı ( $0.161\pm 0.117$ ) ile 70 yaş ve üstü bireylerdeki ortalama clusterin konsantrasyonu ( $0.422\pm 0.445 \mu\text{g/mL}$ ), total protein konsantrasyonu ( $249.62\pm 142.89 \mu\text{g/mL}$ ) ve total protein içindeki clusterin oranı ( $0.164\pm 0.151$ ) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tablo 3.15: Farklı yaş gruplarının aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	54-69 yaş arası (n=15)	70 yaş ve üstü (n=36)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$0.364\pm 0.331$	$0.422\pm 0.445$	0.934
Total protein konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$254.14\pm 195.39$	$249.62\pm 142.89$	0.549
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	$0.161\pm 0.117$	$0.164\pm 0.151$	0.764

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Farklı yaş gruplarındaki PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.16). 54-69 yaş arası bireylerde ortalama clusterin konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için  $0.473\pm 0.219 \mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.396\pm 0.458 \mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.291\pm 0.182 \mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.778$ ), 70 yaş ve üstü bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $0.734\pm 0.491 \mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.209\pm 0.163 \mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.360\pm 0.450 \mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.009$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu 70 yaş ve üstü PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.003$ ) ve kontrollere ( $P=0.007$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.16).

54-69 yaş arası bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için  $354.70\pm 113.56 \mu\text{g/mL}$ , PES için  $322.45\pm 252.53 \mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $140.92\pm 42.82 \mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.171$ ), 70 yaş ve üstü bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $360.77\pm 159.39 \mu\text{g/mL}$ , PES için  $199.15\pm 130.44 \mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $211.71\pm 103.54 \mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.011$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu 70 yaş ve üstü PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.024$ ) ve kontrollere ( $P=0.021$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.16).

Tablo 3.16: Farklı yaş gruplarının aköz humor örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	54-69 yaş arası (n=15)				70 yaş ve üstü (n=36)			
	PEG (n=2)	PES (n=7)	KONTROL (n=6)	<i>P</i>	PEG (n=10)	PES (n=10)	KONTROL (n=16)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	0.473±0.219	0.396±0.458	0.291±0.182	0.778 <sup>A</sup>	0.734±0.491 <sup>a,b</sup>	0.209±0.163 <sup>c</sup>	0.360±0.450	0.009 <sup>B,x</sup>
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	354.70±113.56	322.45±252.53	140.92±42.82	0.171 <sup>C</sup>	360.77±159.39 <sup>d,e</sup>	199.15±130.44 <sup>f</sup>	211.71±103.54	0.011 <sup>A,y</sup>
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.130±0.020	0.116±0.109	0.225±0.126	0.243 <sup>A</sup>	0.211±0.131	0.124±0.076	0.160±0.192	0.162 <sup>B</sup>

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. <sup>A</sup>Karşılaştırma için One-Way ANOVA kullanılmıştır. <sup>B</sup>Karşılaştırma için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>C</sup>Karşılaştırma için Welch's ANOVA kullanılmıştır. <sup>x</sup>İkili grup karşılaştırmaları Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır. <sup>y</sup>İkili grup karşılaştırmaları için Bonferroni Post Hoc Test kullanılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.003, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.007, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.538

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.024, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.021, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=1.000

54-69 yaş arası bireylerde (PEG için  $0.130 \pm 0.020$ , PES için  $0.116 \pm 0.109$ , kontrol için  $0.225 \pm 0.126$ ,  $P=0.243$ ) veya 70 yaş ve üstü bireylerde (PEG için  $0.211 \pm 0.131$ , PES için  $0.124 \pm 0.076$ , kontrol için  $0.160 \pm 0.192$ ,  $P=0.162$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.16).

### 3.4.2.2 Cinsiyetin etkisi

Erkek ve kadın bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı değerleri Tablo 3.17’de özetlenmiştir. Buna göre erkek ve kadın bireyler arasında clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.17).

Tablo 3.17: Erkek ve kadın bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Erkek (n=18)	Kadın (n=33)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$0.421 \pm 0.437$	$0.396 \pm 0.405$	0.813
Total protein konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$292.21 \pm 190.34$	$228.45 \pm 135.33$	0.365
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	$0.150 \pm 0.111$	$0.171 \pm 0.156$	0.618 <sup>x</sup>

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.  
<sup>x</sup>Karşılaştırma için Independent Samples T-test kullanılmıştır.

Farklı cinsiyet gruplarındaki PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.18). Erkek (PEG için  $0.749 \pm 0.596$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.205 \pm 0.220$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.329 \pm 0.208$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.165$ ) ve kadın bireylerde (PEG için  $0.632 \pm 0.320$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.343 \pm 0.376$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.345 \pm 0.437$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.056$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.18).

Erkek (PEG için  $404.94 \pm 178.34$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $280.81 \pm 219.09$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $172.87 \pm 71.59$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.050$ ) ve kadın bireylerde (PEG için  $314.57 \pm 107.76$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $228.30 \pm 182.27$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $198.15 \pm 102.74$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.053$ ) ortalama total protein konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.18).



Tablo 3.18: Erkek ve kadın bireylerin aköz humor örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Erkek (n=18)				Kadın (n=33)			
	PEG (n=6)	PES (n=7)	KONTROL (n=5)	<i>P</i>	PEG (n=6)	PES (n=10)	KONTROL (n=17)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	0.749±0.596	0.205±0.220	0.329±0.208	0.165 <sup>A</sup>	0.632±0.320	0.343±0.376	0.345±0.437	0.056
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	404.94±178.34	280.81±219.09	172.87±71.59	0.050 <sup>A</sup>	314.57±107.76	228.30±182.27	198.15±102.74	0.053
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.160±0.081	0.088±0.083	0.223±0.143	0.122	0.235±0.152	0.143±0.088	0.164±0.187	0.279

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>A</sup>Karşılaştırma için Welch's ANOVA kullanılmıştır.

Erkek (PEG için %0.160±0.081, PES için %0.088±0.083, kontrol için %0.223±0.143,  $P=0.122$ ) ve kadın bireylerde (PEG için %0.235±0.152, PES için %0.143±0.088, kontrol için %0.164±0.187,  $P=0.279$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.18).

### 3.4.2.3 Diyabetin etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin aköz humor örneklerinde kıyaslanmış ve hepsinin diyabet + bireylerde diyabet – bireylere göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 3.19). Diyabet + bireylerdeki clusterin konsantrasyonu ( $P=0.025$ ) ve total protein içindeki clusterin oranı ( $P=0.042$ ), diyabet – bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir.

Tablo 3.19: Diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Diyabet + (n=11)	Diyabet – (n=40)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	0.713±0.573	0.320±0.316	<b>0.025</b>
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	308.91±212.17	235.01±138.86	0.252
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.267±0.216	0.135±0.098	<b>0.042</b>

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan diyabet + ve diyabet – bireylerdeki clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.20). Diyabet + bireylerde ortalama clusterin konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için 1.086±0.380 µg/mL, PES için 0.449±0.572 µg/mL, kontrol için 0.697±0.660 µg/mL,  $P=0.384$ ), diyabet – bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 0.559±0.421 µg/mL, PES için 0.236±0.208 µg/mL, kontrol için 0.262±0.276 µg/mL,  $P=0.018$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu diyabet – PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.008$ ) ve kontrollere ( $P=0.008$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.20).

Tablo 3.20: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Diyabet + (n=11)				Diyabet – (n=40)			
	PEG (n=3)	PES (n=4)	KONTROL (n=4)	<i>P</i>	PEG (n=9)	PES (n=13)	KONTROL (n=18)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	1.086±0.380	0.449±0.572	0.697±0.660	0.384 <sup>A</sup>	0.559±0.421 <sup>a,b</sup>	0.236±0.208 <sup>c</sup>	0.262±0.276	0.018*
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	349.53±176.88	412.67±295.96	174.69±39.82	0.246 <sup>B</sup>	363.16±149.41 <sup>d,e</sup>	199.85±128.14 <sup>f</sup>	196.34±104.48	0.008*
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.331±0.108	0.104±0.101	0.382±0.283	0.160 <sup>A</sup>	0.153±0.094	0.125±0.087	0.132±0.111	0.564

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Diyabet – bireylerdeki tüm karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>A</sup>Karşılaştırmalar için One-Way ANOVA kullanılmıştır.

<sup>B</sup>Karşılaştırmalar için Welch's ANOVA kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.008, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.008, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.872

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.003, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.743

Diyabet + bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için  $349.53 \pm 176.88$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $412.67 \pm 295.96$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $174.69 \pm 39.82$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.246$ ), diyabet – bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $363.16 \pm 149.41$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $199.85 \pm 128.14$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $196.34 \pm 104.48$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.008$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu diyabet – PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.003$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.20).

Diyabet + (PEG için  $\%0.331 \pm 0.108$ , PES için  $\%0.104 \pm 0.101$ , kontrol için  $\%0.382 \pm 0.283$ ,  $P=0.160$ ) ve diyabet – bireylerde (PEG için  $\%0.153 \pm 0.094$ , PES için  $\%0.125 \pm 0.087$ , kontrol için  $\%0.132 \pm 0.111$ ,  $P=0.564$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.20).

#### 3.4.2.4 Hipertansiyonun etkisi

Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.21).

Tablo 3.21: Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Hipertansiyon + (n=29)	Hipertansiyon – (n=22)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$0.425 \pm 0.482$	$0.379 \pm 0.307$	0.939
Total protein konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$257.11 \pm 164.75$	$242.83 \pm 152.25$	0.482
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	$0.163 \pm 0.158$	$0.163 \pm 0.118$	0.761

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Hipertansiyon – bireylerde ortalama clusterin konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için  $0.708 \pm 0.154$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.315 \pm 0.234$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.335 \pm 0.341$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.119$ ), hipertansiyon + bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $0.685 \pm 0.534$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.260 \pm 0.394$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.347 \pm 0.454$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.013$ ) (Tablo 3.22).

Tablo 3.22: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Hipertansiyon + (n=29)				Hipertansiyon – (n=22)			
	PEG (n=9)	PES (n=9)	KONTROL (n=11)	<i>P</i>	PEG (n=3)	PES (n=8)	KONTROL (n=11)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	0.685±0.534 <sup>a,b</sup>	0.260±0.394 <sup>c</sup>	0.347±0.454	0.013*	0.708±0.154	0.315±0.234	0.335±0.341	0.119
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	346.21±135.67 <sup>d,e</sup>	258.48±237.34 <sup>f</sup>	183.10±55.11	0.014*	400.40±209.45	240.30±144.58	201.70±126.32	0.148
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.192±0.131	0.093±0.070	0.197±0.214	0.228	0.214±0.116	0.151±0.100	0.158±0.137	0.824

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.002, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.041, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.173

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.008, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.005, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.957

Ortalama clusterin konsantrasyonu hipertansiyon + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.041$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.22).

Hipertansiyon – bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için  $400.40\pm 209.45$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $240.30\pm 144.58$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $201.70\pm 126.32$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.148$ ), hipertansiyon + bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $346.21\pm 135.67$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $258.48\pm 237.34$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $183.10\pm 55.11$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.014$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu hipertansiyon + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.008$ ) ve kontrollere ( $P=0.005$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.22).

Hipertansiyon + (PEG için  $\%0.192\pm 0.131$ , PES için  $\%0.093\pm 0.070$ , kontrol için  $\%0.197\pm 0.214$ ,  $P=0.228$ ) ve hipertansiyon – bireylerde (PEG için  $\%0.214\pm 0.116$ , PES için  $\%0.151\pm 0.100$ , kontrol için  $\%0.158\pm 0.137$ ,  $P=0.824$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.22).

#### 3.4.2.5 Kalp hastalığının etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin aköz humor örneklerinde kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.23).

Tablo 3.23: Kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Kalp + (n=17)	Kalp – (n=34)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$0.326\pm 0.376$	$0.445\pm 0.429$	0.353
Total protein konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$234.04\pm 143.18$	$259.41\pm 166.43$	0.719
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	$0.075\pm 0.098$	$0.182\pm 0.156$	0.272

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan kalp + ve kalp – bireylerdeki clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.24).

Tablo 3.24: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Kalp + (n=17)				Kalp – (n=34)			
	PEG (n=4)	PES (n=6)	KONTROL (n=7)	<i>P</i>	PEG (n=8)	PES (n=11)	KONTROL (n=15)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	0.724±0.596	0.218±0.218	0.190±0.143	0.316 <sup>A</sup>	0.674±0.424	0.323±0.369	0.412±0.453	0.061 <sup>B</sup>
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	435.76±164.56	181.26±58.24	164.02±51.62	0.056 <sup>A</sup>	321.75±134.00	287.38±231.88	205.64±109.41	0.111 <sup>B</sup>
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.148±0.087	0.115±0.094	0.122±0.119	0.663 <sup>B</sup>	0.222±0.135	0.124±0.089	0.204±0.196	0.316 <sup>C</sup>

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. <sup>A</sup>Karşılaştırmalar için Welch's ANOVA kullanılmıştır. <sup>B</sup>Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>C</sup>Karşılaştırmalar için One-Way ANOVA kullanılmıştır.

Kalp + (PEG için  $0.724 \pm 0.596$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.218 \pm 0.218$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.190 \pm 0.143$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.316$ ) ve kalp – bireylerde (PEG için  $0.674 \pm 0.424$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.323 \pm 0.369$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.412 \pm 0.453$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.061$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.24).

Kalp + (PEG için  $435.76 \pm 164.56$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $181.26 \pm 58.24$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $164.02 \pm 51.62$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.056$ ) ve kalp – bireylerde (PEG için  $321.75 \pm 134.00$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $287.38 \pm 231.88$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $205.64 \pm 109.41$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.111$ ) ortalama total protein konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.24).

Kalp + (PEG için  $\%0.148 \pm 0.087$ , PES için  $\%0.115 \pm 0.094$ , kontrol için  $\%0.122 \pm 0.119$ ,  $P=0.663$ ) ve kalp – bireylerde (PEG için  $\%0.222 \pm 0.135$ , PES için  $\%0.124 \pm 0.089$ , kontrol için  $\%0.204 \pm 0.196$ ,  $P=0.316$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.24).

### 3.4.2.6 Sigaranın etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin aköz humor örneklerinde kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.25).

Tablo 3.25: Sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Sigara + (n=5)	Sigara – (n=46)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$0.224 \pm 0.237$	$0.425 \pm 0.424$	0.270
Total protein konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	$192.57 \pm 81.87$	$257.30 \pm 163.54$	0.507
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	$0.106 \pm 0.096$	$0.169 \pm 0.144$	0.284

Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Sigara + ve sigara – PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.26). Sigara + birey sayısı oldukça düşüktür ve bu grupta PEG hastası birey bulunmamaktadır.



Tablo 3.26: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Aköz humor	Sigara + (n=5)				Sigara – (n=46)			
	PEG (n=0)	PES (n=3)	KONTROL (n=2)	<i>P</i>	PEG (n=12)	PES (n=14)	KONTROL (n=20)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	-	0.313±0.282	0.091±0.086	0.400	0.690±0.460 <sup>a,b</sup>	0.280±0.337 <sup>c</sup>	0.366±0.403	0.007*
Total protein konsantrasyonu (µg/mL)	-	188.68±81.00	198.41±116.52	0.800	359.75±148.20 <sup>d,e</sup>	263.05±209.68 <sup>f</sup>	191.80±96.84	0.004*
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	-	0.150±0.104	0.040±0.020	0.400	0.197±0.122	0.114±0.087	0.191±0.179	0.204

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Sigara + bireylerdeki karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılırken, sigara – bireylerdeki karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.002, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.009, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.373

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.006, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.001, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.623

Ortalama clusterin konsantrasyonu sigara + bireylerde PES hastaları ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (PES için  $0.313 \pm 0.282$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.091 \pm 0.086$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.400$ ). Sigara – bireylerde ise üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $0.690 \pm 0.460$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $0.280 \pm 0.337$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $0.366 \pm 0.403$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.007$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu sigara – PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.009$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.26).

Ortalama total protein konsantrasyonu sigara + bireylerdeki PES hastaları ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir (PES için  $188.68 \pm 81.00$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $198.41 \pm 116.52$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.800$ ). Sigara – bireylerde ise üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için  $359.75 \pm 148.20$   $\mu\text{g/mL}$ , PES için  $263.05 \pm 209.68$   $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için  $191.80 \pm 96.84$   $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.004$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu sigara – PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.006$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.26).

Sigara + (PES için  $\%0.150 \pm 0.104$ , kontrol için  $\%0.040 \pm 0.020$ ,  $P=0.400$ ) ve sigara – bireylerde (PEG için  $\%0.197 \pm 0.122$ , PES için  $\%0.114 \pm 0.087$ , kontrol için  $\%0.191 \pm 0.179$ ,  $P=0.204$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.26).

### **3.4.3 Aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile clusterin polimorfizmleri arasındaki ilişki**

PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslaması sonuçları 3.4.1 kısmında açıklanmıştır. Bu kısımda ise clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslaması yapılmıştır. Tüm veriler daha açıklayıcı olması açısından hem tablo hem de grafik şeklinde sunulmuştur (Tablo 3.27 ve 3.28; Şekil 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10 ve 3.11).

Tablo 3.27: Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T	PEG (n=12)	PES (n=17)	Kontrol (n=22)	P
<b>Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)</b>	0.690± 0.460 <sup>a,b</sup>	0.286± 0.320 <sup>c</sup>	0.341±0.392	0.005 <sup>C,x</sup>
CC (PEG n=5, PES n=5, Kontrol n=7)	0.879±0.444 <sup>d,e</sup>	0.304±0.300 <sup>f</sup>	0.251±0.161	0.031 <sup>C,x</sup>
CT (PEG n=4, PES n=8, Kontrol n=10)	0.664±0.580	0.146±0.098	0.227±0.248	0.056 <sup>C</sup>
TT (PEG n=3, PES n=4, Kontrol n=5)	0.411±0.244	0.543±0.514	0.696±0.652	0.769 <sup>A</sup>
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.415 <sup>A</sup>	0.302 <sup>B</sup>	0.188 <sup>C</sup>	
<b>Total protein konsantrasyonu (µg/mL)</b>	359.75± 148.20 <sup>g,h</sup>	249.92± 193.38 <sup>i</sup>	192.40±95.58	0.004 <sup>C,x</sup>
CC (PEG n=5, PES n=5, Kontrol n=7)	439.00±135.41 <sup>j,k</sup>	212.14±117.52 <sup>l</sup>	204.91±57.10	0.003 <sup>A,y</sup>
CT (PEG n=4, PES n=8, Kontrol n=10)	313.21±166.85	243.88±202.18	168.70±113.57	0.114 <sup>C</sup>
TT (PEG n=3, PES n=4, Kontrol n=5)	289.73±122.38	309.25±280.16	222.30±106.09	0.479 <sup>C</sup>
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.314 <sup>A</sup>	0.728 <sup>C</sup>	0.178 <sup>C</sup>	
<b>Total protein içindeki clusterin oranı (%)</b>	0.197± 0.122	0.120± 0.088	0.178±0.176	0.222 <sup>C</sup>
CC (PEG n=5, PES n=5, Kontrol n=7)	0.216±0.147	0.116±0.084	0.148±0.134	0.390 <sup>C</sup>
CT (PEG n=4, PES n=8, Kontrol n=10)	0.207±0.122	0.090±0.078	0.136±0.128	0.249 <sup>C</sup>
TT (PEG n=3, PES n=4, Kontrol n=5)	0.155±0.116	0.186±0.098	0.303±0.271	0.543 <sup>A</sup>
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.811 <sup>A</sup>	0.209 <sup>A</sup>	0.289 <sup>C</sup>	

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. <sup>A</sup>Karşılaştırmalar için One-Way ANOVA kullanılmıştır. <sup>B</sup>Karşılaştırmalar için Welch's ANOVA kullanılmıştır. <sup>C</sup>Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>x</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır. <sup>y</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Bonferroni Post Hoc Test ile yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.002, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.631

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.012, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.012, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.823

<sup>g</sup>PEG vs. PES *P*=0.004, <sup>h</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.001, <sup>i</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.701

<sup>j</sup>PEG vs. PES *P*=0.011, <sup>k</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.005, <sup>l</sup>PES vs. Kontrol *P*=1.000

Tablo 3.28: Clusterin rs3087554 A/G SNP genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.

Clusterin rs3087554 A/G	PEG (n=12)	PES (n=17)	Kontrol (n=22)	P
<b>Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)</b>	0.690±0.460 <sup>a,b</sup>	0.286±0.320 <sup>c</sup>	0.341±0.392	0.005 <sup>C,x</sup>
AA (PEG n=8, PES n=13, Kontrol n=18)	0.660±0.513	0.290±0.348	0.387±0.421	0.058 <sup>C</sup>
AG (PEG n=4, PES n=4, Kontrol n=3)	0.752±0.394 <sup>d,e</sup>	0.273±0.247 <sup>f</sup>	0.128±0.076	0.044 <sup>D,y</sup>
GG (PEG n=0, PES n=0, Kontrol n=1)	-	-	-	-
<i>P</i> (AA-AG-GG)	0.761 <sup>A</sup>	0.785 <sup>B</sup>	0.307 <sup>B</sup>	
<b>Total protein konsantrasyonu (µg/mL)</b>	359.75±148.20 <sup>g,h</sup>	249.92±193.38 <sup>i</sup>	192.40±95.58	0.004 <sup>C,x</sup>
AA (PEG n=8, PES n=13, Kontrol n=18)	334.33±155.32 <sup>j,k</sup>	274.22±213.76 <sup>l</sup>	187.59±102.49	0.026 <sup>C,x</sup>
AG (PEG n=4, PES n=4, Kontrol n=3)	410.60±138.10 <sup>m,n</sup>	170.95±76.22 <sup>o</sup>	225.74±68.36	0.027 <sup>D,z</sup>
GG (PEG n=0, PES n=0, Kontrol n=1)	-	-	-	-
<i>P</i> (AA-AG-GG)	0.427 <sup>A</sup>	0.624 <sup>B</sup>	0.307 <sup>B</sup>	
<b>Total protein içindeki clusterin oranı (%)</b>	0.197±0.122	0.120±0.088	0.178±0.176	0.222 <sup>C</sup>
AA (PEG n=8, PES n=13, Kontrol n=18)	0.193±0.107	0.113±0.091	0.203±0.185	0.226 <sup>D</sup>
AG (PEG n=4, PES n=4, Kontrol n=3)	0.207±0.168	0.144±0.085	0.053±0.024	0.275 <sup>D</sup>
GG (PEG n=0, PES n=0, Kontrol n=1)	-	-	-	-
<i>P</i> (AA-AG-GG)	0.858 <sup>A</sup>	0.566 <sup>A</sup>	0.125 <sup>B</sup>	

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. <sup>A</sup>Karşılaştırmalar için Independent Samples T-test kullanılmıştır. <sup>B</sup>Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır. <sup>C</sup>Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>D</sup>Karşılaştırmalar için One-Way ANOVA kullanılmıştır. <sup>x</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır. <sup>y</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma LSD (Least Significant Difference) Post Hoc Test ile yapılmıştır. <sup>z</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Bonferroni Post Hoc Test ile yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.002, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.631  
<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.046, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.022, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.528  
<sup>g</sup>PEG vs. PES *P*=0.004, <sup>h</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.001, <sup>i</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.701  
<sup>j</sup>PEG vs. PES *P*=0.048, <sup>k</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.006, <sup>l</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.392  
<sup>m</sup>PEG vs. PES *P*=0.032, <sup>n</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.137, <sup>o</sup>PES vs. Kontrol *P*=1.000

Tablo 3.27 ve 3.28’de rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP’leri için tablo halinde sunulmuş olan veriler aynı zamanda tüm SNP’ler bir arada olacak şekilde clusterin konsantrasyonu için Şekil 3.6 ve 3.7’de, total protein konsantrasyonu için Şekil 3.8 ve 3.9’da ve total protein içindeki clusterin oranı için ise Şekil 3.10 ve 3.11’de grafik halinde sunulmuştur.

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrollerin aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslanmış ve üç SNP için de tüm aköz humor örneklerinde aynı birey için aynı genotipler elde edilmiştir. Bu sebeple elde edilen sonuçlar birebir aynıdır. Tüm yorumlar 3 SNP için de ortaktır.

Tablo 3.27’de de görüldüğü gibi CC genotipli bireylerin aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında anlamlı derecede farklıdır ( $P=0.031$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu CC genotipli PEG hastalarında CC genotipli PES hastalarına ( $P=0.012$ ) ve kontrollere ( $P=0.012$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Şekil 3.6 ve 3.7). Aynı şekilde CC genotipli bireylerin aköz humor örneklerindeki total protein konsantrasyonu da PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında anlamlı derecede farklıdır ( $P=0.003$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu CC genotipli PEG hastalarında CC genotipli PES hastalarına ( $P=0.011$ ) ve kontrollere ( $P=0.005$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Şekil 3.8 ve 3.9).

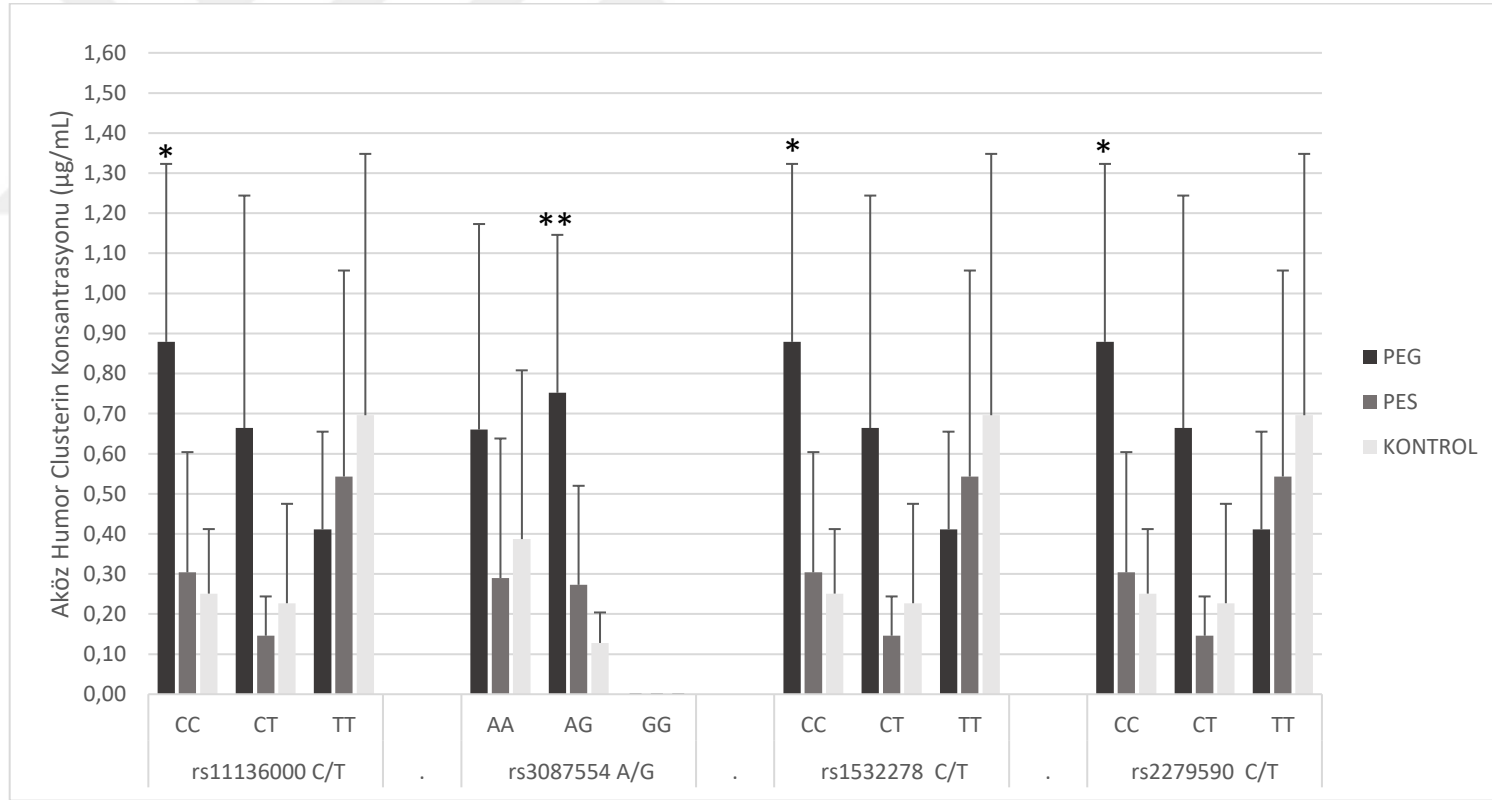
Clusterin rs3087554 A/G SNP genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslanmıştır. Tablo 3.28’de de görüldüğü gibi AG genotipli bireylerin aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında anlamlı derecede farklıdır ( $P=0.044$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına ( $P=0.046$ ) ve kontrollere ( $P=0.022$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Şekil 3.6 ve 3.7). Aynı şekilde clusterin rs3087554 A/G için AG genotipli bireylerin aköz humor örneklerindeki total protein konsantrasyonu da PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında anlamlı derecede farklıdır ( $P=0.027$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına

kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $P=0.032$ ). AA genotipli bireylerin aköz humor örneklerindeki total protein konsantrasyonu da PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında anlamlı derecede farklıdır ( $P=0.026$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu AA genotipli PEG hastalarında AA genotipli PES hastalarına ( $P=0.048$ ) ve kontrollere ( $P=0.006$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.28) (Şekil 3.8 ve 3.9).

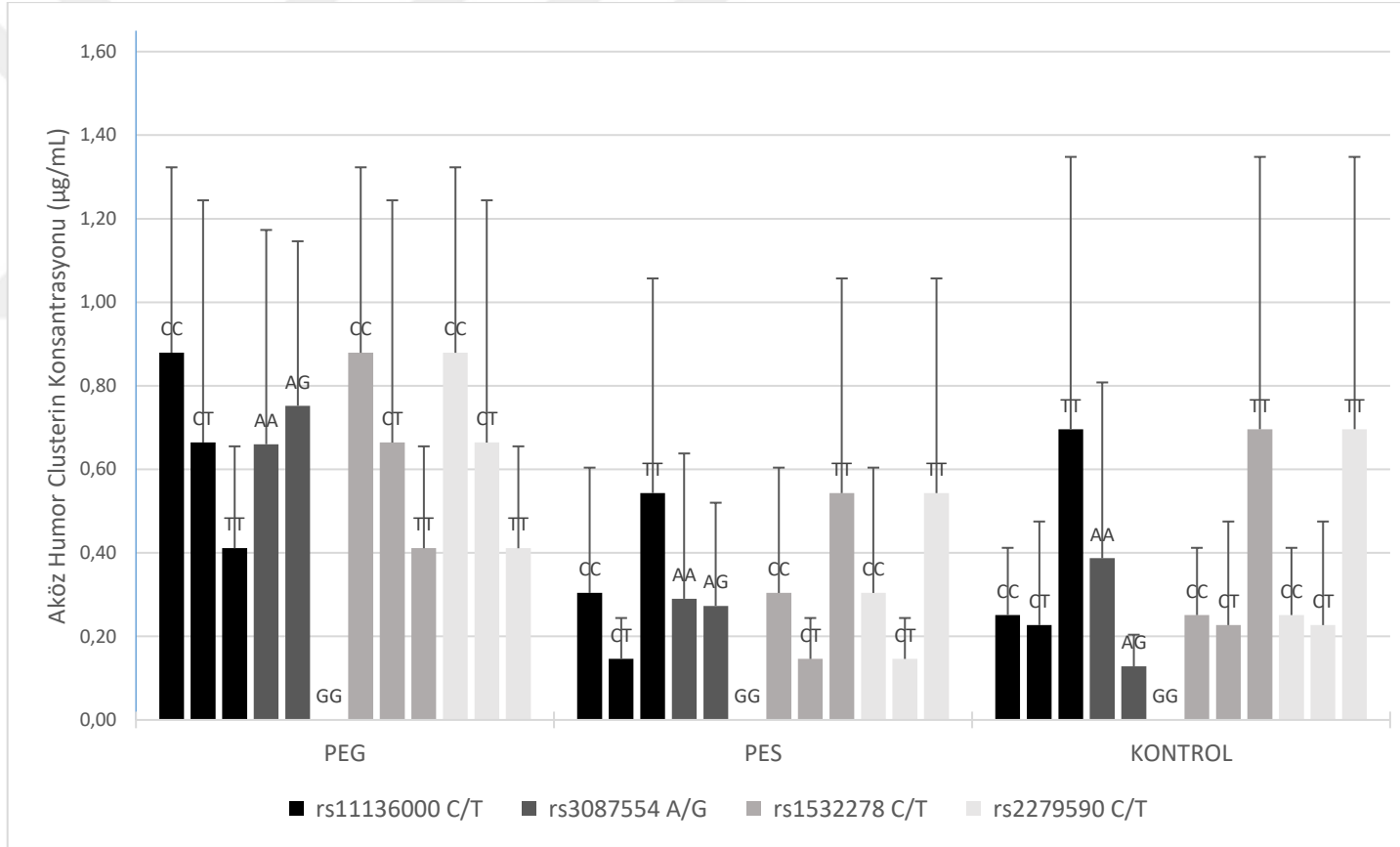
Clusterin konsantrasyonu, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için CC ve CT genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksekken, TT genotipli bireylerde ise kontrollerde PEG ve PES hastalarına kıyasla daha yüksektir. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise clusterin konsantrasyonu AA ve AG genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksektir (Şekil 3.6).

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında en yüksek CC genotipli bireylerde görülürken, PES hastalarında ve kontrollerde TT genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.7). Ortalama clusterin konsantrasyonu CC genotipli PEG hastalarında CC genotipli PES hastalarına ( $P=0.012$ ) ve kontrollere ( $P=0.012$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.27) (Şekil 3.6). Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında en yüksek AG genotipli bireylerde görülürken, PES hastalarında ve kontrollerde AA genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.7). Ortalama clusterin konsantrasyonu AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına ( $P=0.046$ ) ve kontrollere ( $P=0.022$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.28) (Şekil 3.6).

Total protein konsantrasyonu, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için CC ve CT genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksekken, TT genotipli bireylerde ise PES hastalarında PEG hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksektir. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise total protein konsantrasyonu AA ve AG genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksektir (Şekil 3.8).

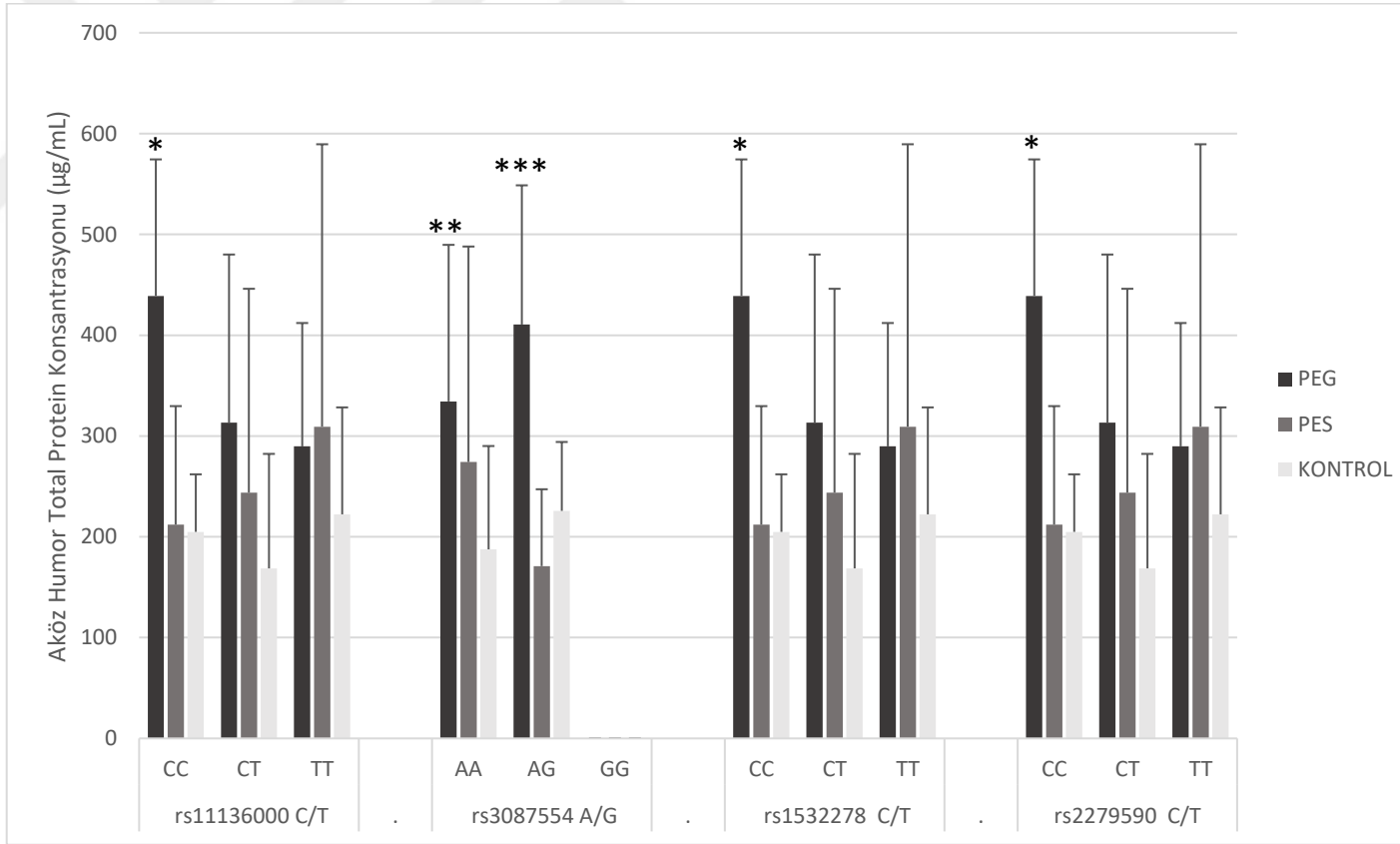


Şekil 3.6: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu. \*PEG-PES-Kontrol  $P=0.031$ , PEG vs. PES  $P=0.012$ , PEG vs. Kontrol  $P=0.012$  \*\*PEG-PES-Kontrol  $P=0.044$ , PEG vs. PES  $P=0.046$ , PEG vs. Kontrol  $P=0.022$

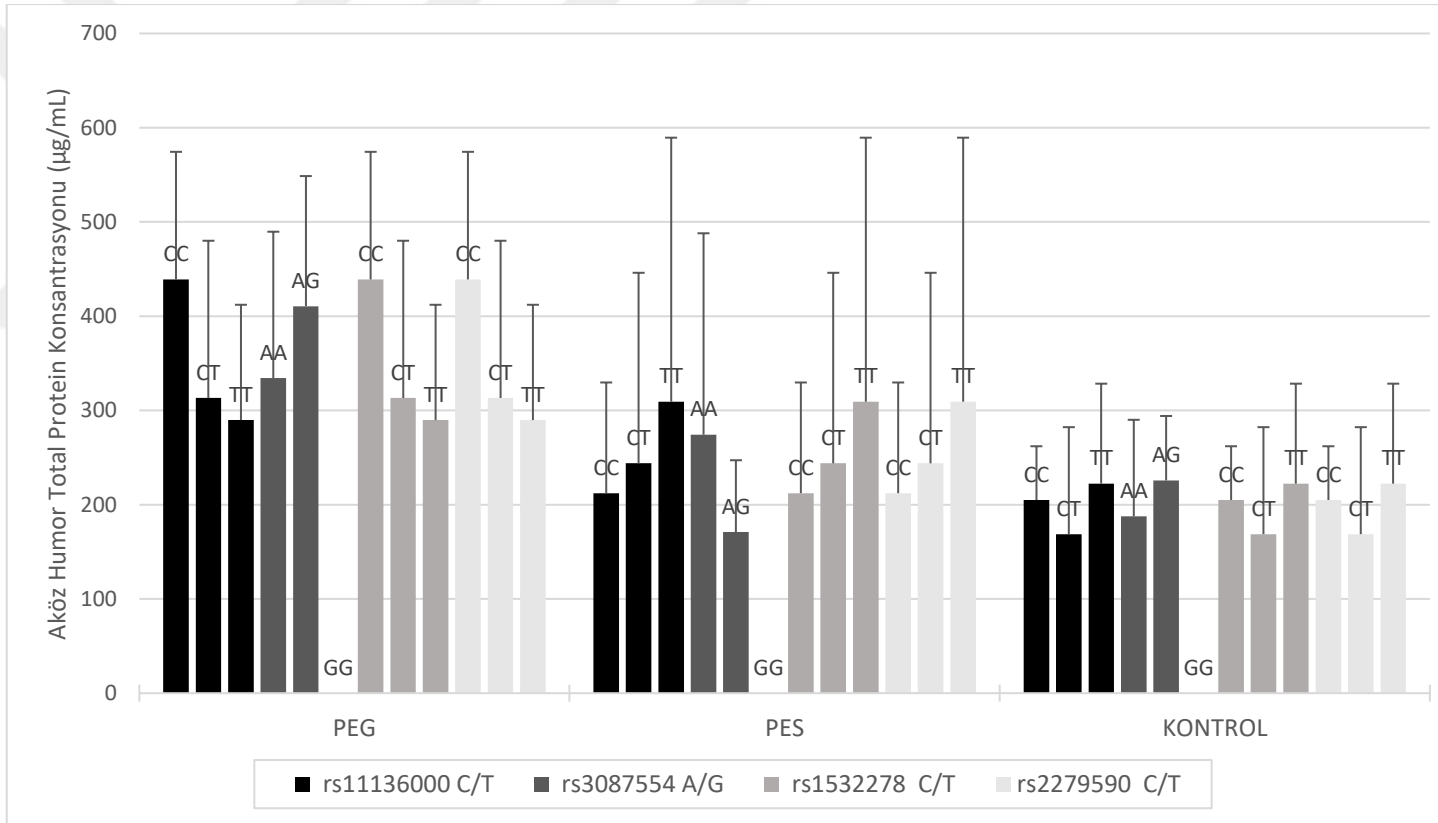


Şekil 3.7: PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu.

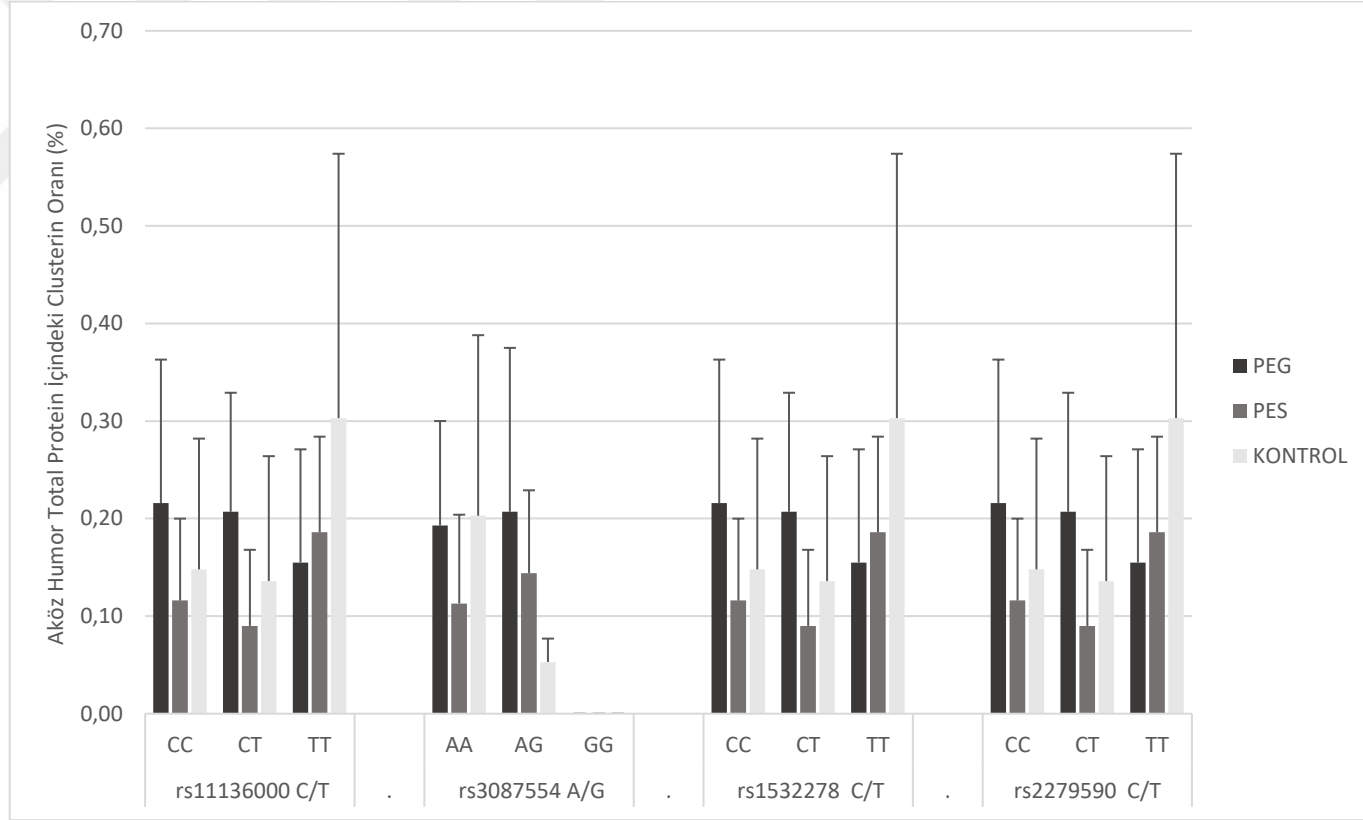




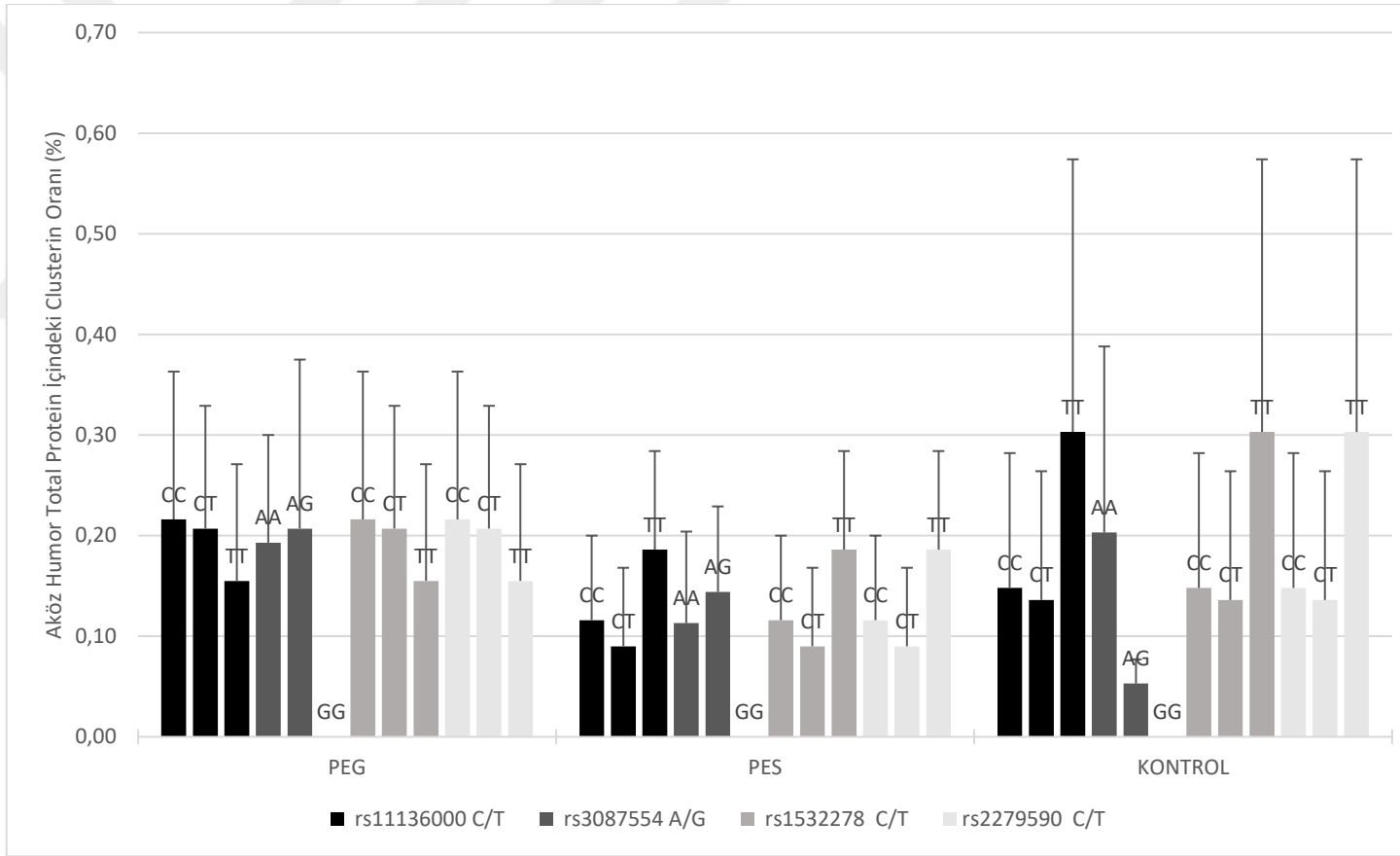
Şekil 3.8: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde total protein konsantrasyonu. \*PEG-PES-Kontrol  $P=0.003$ , PEG vs. PES  $P=0.011$ , PEG vs. Kontrol  $P=0.005$  \*\*PEG-PES-Kontrol  $P=0.026$ , PEG vs. PES  $P=0.048$ , PEG vs. Kontrol  $P=0.006$  \*\*\*PEG-PES-Kontrol  $P=0.027$ , PEG vs. PES  $P=0.032$



Şekil 3.9: PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein konsantrasyonu.



Şekil 3.10: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde total protein içindeki clusterin oranı.



Şekil 3.11: PEG ve PES hastaları ile kontrol aköz humor örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein içindeki clusterin oranı.

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için total protein konsantrasyonu PEG hastalarında en yüksek CC genotipli bireylerde görülürken, PES hastalarında ve kontrollerde TT genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.9). Ortalama total protein konsantrasyonu CC genotipli PEG hastalarında CC genotipli PES hastalarına ( $P=0.011$ ) ve kontrollere ( $P=0.005$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.27) (Şekil 3.8). Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise total protein konsantrasyonu PEG hastalarında en yüksek AG genotipli bireylerde görülürken, PES hastalarında ve kontrollerde AA genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.9). Ortalama total protein konsantrasyonu AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $P=0.032$ ). AA genotipli PEG hastalarında bulunan total protein konsantrasyonu ise AA genotipli PES hastalarına ( $P=0.048$ ) ve kontrollere ( $P=0.006$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.28) (Şekil 3.8).

Total protein içindeki clusterin oranı, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için CC ve CT genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksekken, TT genotipli bireylerde ise kontrollerde PEG ve PES hastalarına kıyasla daha yüksektir. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise total protein içindeki clusterin oranı AA ve AG genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksektir (Şekil 3.10).

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için total protein içindeki clusterin oranı PEG hastalarında en yüksek CC genotipli bireylerde görülürken, PES hastalarında ve kontrollerde TT genotipli bireylerde görülmüştür. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise total protein içindeki clusterin oranı PEG ve PES hastalarında en yüksek AG genotipli bireylerde görülürken, kontrollerde AA genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.11).

#### **3.4.4 Aköz humor örnekleri popülasyonu için korelasyon analizi**

Aköz humor örneklerinde belirlenen clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin birbirleri ile korelasyonu PEG hastaları, PES hastaları ve kontrollerde ayrı ayrı analiz edilmiştir (Tablo 3.29, 3.30 ve 3.31).

Aköz humor clusterin konsantrasyonu ile total protein konsantrasyonu arasında PEG hastalarında ( $r=0.598$ ,  $P=0.040$ ), PES hastalarında ( $r=0.614$ ,  $P=0.009$ ) ve kontrollerde ( $r=0.443$ ,  $P=0.039$ ) korelasyon görülmektedir. Aynı şekilde clusterin konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı arasında da PEG hastalarında ( $r=0.685$ ,  $P=0.014$ ), PES hastalarında ( $r=0.582$ ,  $P=0.014$ ) ve kontrollerde ( $r=0.863$ ,  $P=0.000$ ) pozitif korelasyon vardır. Clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile incelenen clusterin polimorfizmleri arasında korelasyon görülmemiştir (Tablo 3.29, 3.30 ve 3.31).

Total protein içindeki clusterin oranı ile diyabet arasında PEG hastalarında ( $r=0.658$ ,  $P=0.020$ ) ve kontrollerde ( $r=0.558$ ,  $P=0.007$ ) korelasyon bulunmuştur (Tablo 3.29 ve 3.31). Kontrollerin clusterin konsantrasyonu da diyabet ile pozitif korelasyon göstermektedir ( $r=0.438$ ,  $P=0.041$ ) (Tablo 3.31).

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotipleri ile rs3087554 A/G genotipleri arasında PEG hastalarında ( $r=-0.737$ ,  $P=0.006$ ) ve kontrollerde ( $r=-0.426$ ,  $P=0.048$ ) negatif korelasyon görülmektedir (Tablo 3.29 ve 3.31). Clusterin rs11136000 C/T genotipleri ile clusterin rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotipleri ise PEG ve PES hastaları ile kontrollerde birbirleriyle pozitif korelasyon göstermiştir ( $r=1.000$ ,  $P=0.000$ ) (Tablo 3.25, 3.26 ve 3.27).

### **3.5 Gözyaşı Örneklerinde Analizler**

Gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonu Bradford Assay kullanılarak belirlenirken, clusterin konsantrasyonu ELISA ile belirlenmiştir. Elde edilen clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı Ek D'de verilmiştir. Bu çalışmada 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol olmak üzere toplam 241 gözyaşı örneğinin analizleri yapılmıştır.

#### **3.5.1 Gözyaşı örneklerinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı**

Gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonu kıyaslandığında PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek değerler görülmüştür (Tablo 3.32).

Tablo 3.29: PEG hastalarının aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu.

		Clusterin Konsantrasyonu	Total Protein Konsantrasyonu	Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Diyabet	Kalp Hastalığı	Hipertansiyon	Sigara
Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.598(*)	0.685(*)	0.421	-0.098	0.421	0.421	0.518	0.054	-0.023	(a)
	<i>P</i>		<b>0.040</b>	<b>0.014</b>	0.173	0.761	0.173	0.173	0.084	0.868	0.943	.
Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.598(*)	1	-0.119	0.445	-0.253	0.445	0.445	-0.042	0.379	-0.165	(a)
	<i>P</i>	<b>0.040</b>		0.713	0.147	0.427	0.147	0.147	0.898	0.225	0.607	.
Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.685(*)	-0.119	1	0.196	-0.058	0.196	0.196	0.658(*)	-0.296	-0.080	(a)
	<i>P</i>	<b>0.014</b>	0.713		0.542	0.858	0.542	0.542	<b>0.020</b>	0.349	0.805	.
Clusterin rs11136000 C/T	Pearson Correlation	0.421	0.445	0.196	1	-0.737(**)	1.000(**)	1.000(**)	0.120	0.295	-0.361	(a)
	<i>P</i>	0.173	0.147	0.542		<b>0.006</b>	<b>0.000</b>	<b>0.000</b>	0.709	0.352	0.249	.
Clusterin rs3087554 A/G	Pearson Correlation	-0.098	-0.253	-0.058	-0.737(**)	1	-0.737(**)	-0.737(**)	0.000	-0.250	0.408	(a)
	<i>P</i>	0.761	0.427	0.858	<b>0.006</b>		<b>0.006</b>	<b>0.006</b>	1.000	0.433	0.188	.
Clusterin rs1532278 C/T	Pearson Correlation	0.421	0.445	0.196	1.000(**)	-0.737(**)	1	1.000(**)	0.120	0.295	-0.361	(a)
	<i>P</i>	0.173	0.147	0.542	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>		<b>0.000</b>	0.709	0.352	0.249	.
Clusterin rs2279590 C/T	Pearson Correlation	0.421	0.445	0.196	1.000(**)	-0.737(**)	1.000(**)	1	0.120	0.295	-0.361	(a)
	<i>P</i>	0.173	0.147	0.542	<b>0.000</b>	<b>0.006</b>	<b>0.000</b>		0.709	0.352	0.249	.
Diyabet	Pearson Correlation	0.518	-0.042	0.658(*)	0.120	0.000	0.120	0.120	1	-0.408	0.333	(a)
	<i>P</i>	0.084	0.898	<b>0.020</b>	0.709	1.000	0.709	0.709		0.188	0.290	.
Kalp Hastalığı	Pearson Correlation	0.054	0.379	-0.296	0.295	-0.250	0.295	0.295	-0.408	1	0.000	(a)
	<i>P</i>	0.868	0.225	0.349	0.352	0.433	0.352	0.352	0.188		1.000	.
Hipertansiyon	Pearson Correlation	-0.023	-0.165	-0.080	-0.361	0.408	-0.361	-0.361	0.333	0.000	1	(a)
	<i>P</i>	0.943	0.607	0.805	0.249	0.188	0.249	0.249	0.29	1.000		.
Sigara	Pearson Correlation	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)	(a)
	<i>P</i>	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

a En az bir değişken sabit olduğu için hesaplanamamıştır.

Tablo 3.30: PES hastalarının aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu.

		Clusterin Konsantrasyonu	Total Protein Konsantrasyonu	Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Diyabet	Kalp Hastalığı	Hipertansiyon	Sigara
Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.614(**)	0.582(*)	-0.245	0.024	-0.245	-0.245	0.291	-0.162	-0.088	0.040
	<i>P</i>		0.009	0.014	0.344	0.927	0.344	0.344	0.257	0.535	0.737	0.879
Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.614(**)	1	-0.095	-0.184	0.233	-0.184	-0.184	0.481	-0.270	0.048	-0.151
	<i>P</i>	0.009		0.716	0.479	0.367	0.479	0.479	0.051	0.294	0.854	0.563
Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.582(*)	-0.095	1	-0.270	-0.150	-0.270	-0.270	-0.105	-0.050	-0.337	0.162
	<i>P</i>	0.014	0.716		0.295	0.566	0.295	0.295	0.687	0.848	0.185	0.534
Clusterin rs11136000 C/T	Pearson Correlation	-0.245	-0.184	-0.270	1	-0.337	1.000(**)	1.000(**)	-0.236	-0.230	0.076	-0.038
	<i>P</i>	0.344	0.479	0.295		0.185	0.000	0.000	0.361	0.375	0.771	0.886
Clusterin rs3087554 A/G	Pearson Correlation	0.024	0.233	-0.150	-0.337	1	-0.337	-0.337	-0.019	-0.171	-0.245	-0.471
	<i>P</i>	0.927	0.367	0.566	0.185		0.185	0.185	0.942	0.512	0.343	0.056
Clusterin rs1532278 C/T	Pearson Correlation	-0.245	-0.184	-0.270	1.000(**)	-0.337	1	1.000(**)	-0.236	-0.230	0.076	-0.038
	<i>P</i>	0.344	0.479	0.295	0.000	0.185		0.000	0.361	0.375	0.771	0.886
Clusterin rs2279590 C/T	Pearson Correlation	-0.245	-0.184	-0.270	1.000(**)	-0.337	1.000(**)	1	-0.236	-0.230	0.076	-0.038
	<i>P</i>	0.344	0.479	0.295	0.000	0.185	0.000		0.361	0.375	0.771	0.886
Diyabet	Pearson Correlation	0.291	0.481	-0.105	-0.236	-0.019	-0.236	-0.236	1	-0.119	0.245	-0.257
	<i>P</i>	0.257	0.051	0.687	0.361	0.942	0.361	0.361		0.648	0.343	0.320
Kalp Hastalığı	Pearson Correlation	-0.162	-0.270	-0.050	-0.230	-0.171	-0.230	-0.230	-0.119	1	-0.290	0.627(**)
	<i>P</i>	0.535	0.294	0.848	0.375	0.512	0.375	0.375	0.648		0.259	0.007
Hipertansiyon	Pearson Correlation	-0.088	0.048	-0.337	0.076	-0.245	0.076	0.076	0.245	-0.290	1	-0.182
	<i>P</i>	0.737	0.854	0.185	0.771	0.343	0.771	0.771	0.343	0.259		0.485
Sigara	Pearson Correlation	0.040	-0.151	0.162	-0.038	-0.471	-0.038	-0.038	-0.257	0.627(**)	-0.182	1
	<i>P</i>	0.879	0.563	0.534	0.886	0.056	0.886	0.886	0.320	0.007	0.485	

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).



Tablo 3.31: Kontrol aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu.

		Clusterin Konsantrasyonu	Total Protein Konsantrasyonu	Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Diyabet	Kalp Hastalığı	Hipertansiyon	Sigara
Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.443(*)	0.863(**)	-0.390	0.232	-0.390	-0.390	0.438(*)	-0.269	0.015	-0.207
	<i>P</i>		0.039	0.000	0.073	0.299	0.073	0.073	0.041	0.226	0.946	0.357
Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.443(*)	1	-0.005	-0.041	-0.069	-0.041	-0.041	-0.089	-0.208	-0.100	0.020
	<i>P</i>	0.039		0.984	0.856	0.761	0.856	0.856	0.692	0.354	0.659	0.928
Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.863(**)	-0.005	1	-0.299	0.283	-0.299	-0.299	0.558(**)	-0.222	0.112	-0.253
	<i>P</i>	0.000	0.984		0.177	0.202	0.177	0.177	0.007	0.322	0.619	0.257
Clusterin rs11136000 C/T	Pearson Correlation	-0.390	-0.041	-0.299	1	-0.426(*)	1.000(**)	1.000(**)	0.102	0.182	0.124	0.177
	<i>P</i>	0.073	0.856	0.177		0.048	0.000	0.000	0.650	0.419	0.582	0.432
Clusterin rs3087554 A/G	Pearson Correlation	0.232	-0.069	0.283	-0.426(*)	1	-0.426(*)	-0.426(*)	0.208	0.112	-0.264	-0.167
	<i>P</i>	0.299	0.761	0.202	0.048		0.048	0.048	0.354	0.621	0.235	0.457
Clusterin rs1532278 C/T	Pearson Correlation	-0.390	-0.041	-0.299	1.000(**)	-0.426(*)	1	1.000(**)	0.102	0.182	0.124	0.177
	<i>P</i>	0.073	0.856	0.177	0.000	0.048		0.000	0.650	0.419	0.582	0.432
Clusterin rs2279590 C/T	Pearson Correlation	-0.390	-0.041	-0.299	1.000(**)	-0.426(*)	1.000(**)	1	0.102	0.182	0.124	0.177
	<i>P</i>	0.073	0.856	0.177	0.000	0.048	0.000		0.650	0.419	0.582	0.432
Diyabet	Pearson Correlation	0.438(*)	-0.089	0.558(**)	0.102	0.208	0.102	0.102	1	0.184	0.236	-0.149
	<i>P</i>	0.041	0.692	0.007	0.650	0.354	0.650	0.650		0.412	0.291	0.508
Kalp Hastalığı	Pearson Correlation	-0.269	-0.208	-0.222	0.182	0.112	0.182	0.182	0.184	1	-0.098	-0.216
	<i>P</i>	0.226	0.354	0.322	0.419	0.621	0.419	0.419	0.412		0.666	0.334
Hipertansiyon	Pearson Correlation	0.015	-0.100	0.112	0.124	-0.264	0.124	0.124	0.236	-0.098	1	0.000
	<i>P</i>	0.946	0.659	0.619	0.582	0.235	0.582	0.582	0.291	0.666		1.000
Sigara	Pearson Correlation	-0.207	0.020	-0.253	0.177	-0.167	0.177	0.177	-0.149	-0.216	0.000	1
	<i>P</i>	0.357	0.928	0.257	0.432	0.457	0.432	0.432	0.508	0.334	1.000	

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Tablo 3.32: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	PEG (n=80)	PES (n=81)	KONTROL (n=80)	P
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	9.86±9.75 (0.48-50.22, 104.63)	7.67±5.77 (0.34-24.38, 71.71)	7.83±6.67 (0.21-41.29, 196.62)	0.729
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	18.86±8.82 <sup>a,b</sup> (8.34-46.31, 5.55)	15.73±8.54 <sup>c</sup> (6.44-58.41, 9.07)	16.41±10.22 (4.91-55.71, 11.35)	0.004*
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.050±0.037 (0.002-0.164, 82.00)	0.049±0.031 (0.005-0.137, 27.40)	0.052±0.035 (0.003-0.127, 42.33)	0.864

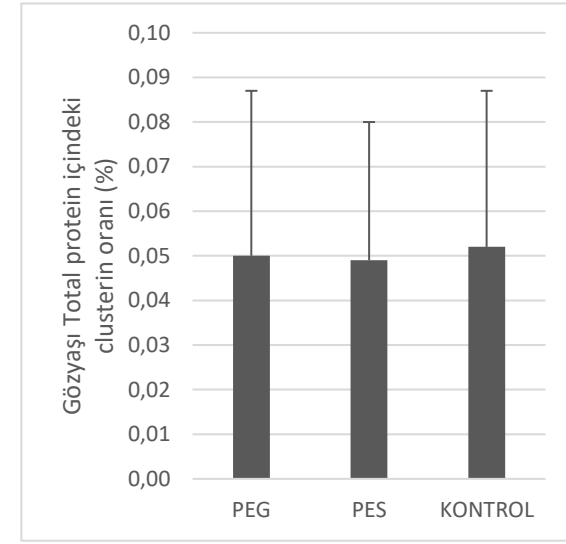
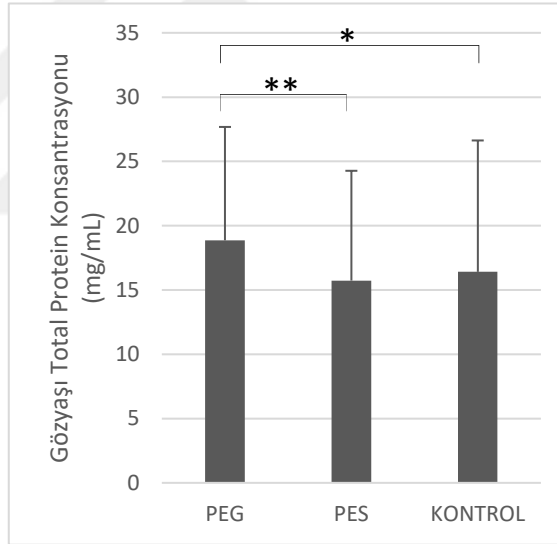
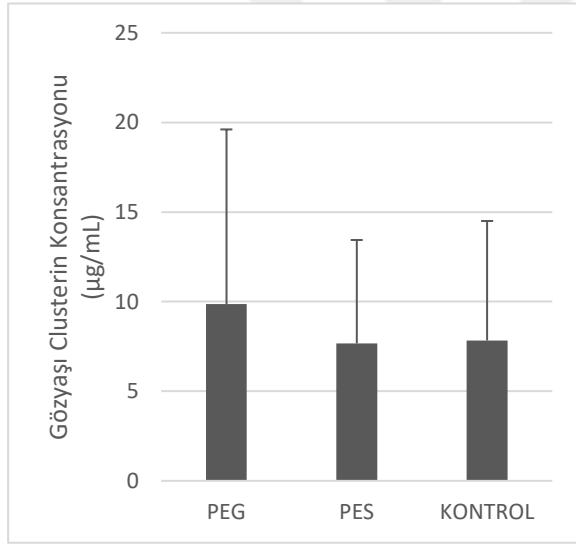
Sonuçlar ortalama±standart sapma (minimum-maksimum, değişim katı) olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES  $P=0.004$ , <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol  $P=0.004$ , <sup>c</sup>PES vs. Kontrol  $P=0.999$

Ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında  $9.86±9.75$  µg/mL, PES hastalarında  $7.67±5.77$  µg/mL ve kontrollerde  $7.83±6.67$  µg/mL'dir ( $P=0.729$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu açısından üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.32) (Şekil 3.12).

Gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu bireyler arasında varyasyon göstermektedir. PEG hastalarında minimum clusterin konsantrasyonu  $0.48$  µg/mL ve maksimum clusterin konsantrasyonu  $50.22$  µg/mL'dir ve bireyler arasında  $104.63$  katlık bir değişim gözlemlenmektedir. Clusterin konsantrasyonu açısından en düşük varyasyon  $71.71$  kat ile PES hastalarında görülürken (aralık:  $0.34-24.38$  µg/mL), en büyük varyasyon  $196.62$  kat ile kontrollerde görülmüştür (aralık:  $0.21-41.29$  µg/mL) (Tablo 3.32).

Ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında  $18.86±8.82$  mg/mL, PES hastalarında  $15.73±8.54$  mg/mL ve kontrollerde  $16.41±10.22$  mg/mL'dir ve bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P=0.004$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.004$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.32) (Şekil 3.12).



PEG-PES-Kontrol  $P=0.004$

\*PEG vs. Kontrol  $P=0.004$

\*\*PEG vs. PES  $P=0.004$

Şekil 3.12: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı total protein konsantrasyonu da bireyler arasında varyasyon göstermektedir. Total protein konsantrasyonu açısından en az varyasyon 5.55 kat ile PEG hastalarında (aralık: 8.34-46.31 mg/mL), en büyük varyasyon ise 11.35 kat ile kontrollerde (aralık: 4.91-55.71 mg/mL) görülmüştür. PES hastalarında ise 9.07 katlık bir varyasyon görülmüştür (aralık: 6.44-58.41 mg/mL) (Tablo 3.32).

Ortalama total protein içindeki clusterin oranı PEG hastalarında  $0.050 \pm 0.037$ , PES hastalarında  $0.049 \pm 0.031$  ve kontrollerde  $0.052 \pm 0.035$ 'tir ( $P=0.864$ ) (Tablo 3.32). Ortalama total protein içindeki clusterin oranı PEG ve PES hastaları ile kontrollerde oldukça benzerdir (Şekil 3.12).

Gözyaşı örneklerinde total protein içindeki clusterin oranı bireyler arasında varyasyon göstermektedir. Total protein içindeki clusterin oranı açısından en az varyasyon 27.40 kat ile PES hastalarında (aralık:  $0.005-0.137$ ), en büyük varyasyon ise 82.00 kat ile PEG hastalarında (aralık:  $0.002-0.164$ ) görülmüştür. Kontrollerde ise 42.33 katlık bir varyasyon görülmüştür (aralık:  $0.003-0.127$ ) (Tablo 3.32).

### **3.5.2 Gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine bazı risk faktörlerinin etkilerinin değerlendirilmesi**

Gözyaşı örneklerinde yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, kalp hastalığı, inme ve sigara kullanımının clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine etkileri PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında ve tüm gözyaşı örneklerinde incelenmiştir.

#### **3.5.2.1 Yaşın etkisi**

Çalışma grubu 51-69 yaş arası ile 70 yaş ve üstü olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Tablo 3.33'te de görüldüğü gibi ortalama clusterin konsantrasyonu 51-69 yaş arası bireylerde ( $7.39 \pm 6.52$  µg/mL), 70 yaş ve üstü bireylere göre ( $9.38 \pm 8.37$  µg/mL) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ( $P=0.044$ ). Total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı açısından ise yaş grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir.

Tablo 3.33: Farklı yaş gruplarının gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	51-69 yaş arası (n=112)	70 yaş ve üstü (n=129)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	7.39 $\pm$ 6.52	9.38 $\pm$ 8.37	0.044
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	16.73 $\pm$ 9.95	17.23 $\pm$ 8.68	0.171
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.046 $\pm$ 0.033	0.054 $\pm$ 0.035	0.052

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırma için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Farklı yaş gruplarındaki PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.34).

51-69 yaş arası bireyler (PEG için 9.41 $\pm$ 9.14  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 6.64 $\pm$ 5.69  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 6.84 $\pm$ 5.06  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.682$ ) ile 70 yaş ve üstü bireylerde (PEG için 10.09 $\pm$ 10.13  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 8.72 $\pm$ 5.72  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 9.05 $\pm$ 8.13  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.884$ ) clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.34).

70 yaş ve üstü bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için 18.55 $\pm$ 9.30 mg/mL, PES için 15.21 $\pm$ 6.56 mg/mL, kontrol için 17.52 $\pm$ 9.58 mg/mL,  $P=0.204$ ), 51-69 yaş arası bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 19.46 $\pm$ 7.90 mg/mL, PES için 16.24 $\pm$ 10.17 mg/mL, kontrol için 15.51 $\pm$ 10.73 mg/mL,  $P=0.006$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu 51-69 yaş arası PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.020$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.34).

51-69 yaş arası bireyler (PEG için %0.046 $\pm$ 0.036, PES için %0.041 $\pm$ 0.031, kontrol için %0.051 $\pm$ 0.034,  $P=0.310$ ) ile 70 yaş ve üstü bireylerde (PEG için %0.053 $\pm$ 0.038, PES için %0.058 $\pm$ 0.029, kontrol için %0.053 $\pm$ 0.036,  $P=0.528$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.34).

Tablo 3.34: Farklı yaş gruplarının gözyaşı örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	51-69 yaş arası (n=112)				70 yaş ve üstü (n=129)			
	PEG (n=27)	PES (n=41)	KONTROL (n=44)	<i>P</i>	PEG (n=53)	PES (n=40)	KONTROL (n=36)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	9.41±9.14	6.64±5.69	6.84±5.06	0.682	10.09±10.13	8.72±5.72	9.05±8.13	0.884
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	19.46±7.90 <sup>a,b</sup>	16.24±10.17 <sup>c</sup>	15.51±10.73	<b>0.006*</b>	18.55±9.30	15.21±6.56	17.52±9.58	0.204
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.046±0.036	0.041±0.031	0.051±0.034	0.310	0.053±0.038	0.058±0.029	0.053±0.036	0.528

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili grup karşılaştırmaları Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.020, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.001, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.317

### 3.5.2.2 Cinsiyetin etkisi

Erkek ve kadın bireyler arasında clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.35).

Tablo 3.35: Erkek ve kadın bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Erkek (n=121)	Kadın (n=120)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	8.98 $\pm$ 9.02	7.92 $\pm$ 5.86	0.830
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	16.77 $\pm$ 9.52	17.22 $\pm$ 9.06	0.475
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.052 $\pm$ 0.037	0.048 $\pm$ 0.031	0.647

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Farklı cinsiyet gruplarındaki PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir (Tablo 3.36).

Erkek (PEG için 10.61 $\pm$ 11.44  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 7.22 $\pm$ 6.11  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 9.16 $\pm$ 8.38  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.470$ ) ve kadın bireylerde (PEG için 8.90 $\pm$ 7.05  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 8.23 $\pm$ 5.34  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 6.99 $\pm$ 5.23  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.380$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.36).

Kadın bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için 17.58 $\pm$ 7.77 mg/mL, PES için 17.52 $\pm$ 8.61 mg/mL, kontrol için 16.75 $\pm$ 10.32 mg/mL,  $P=0.418$ ), erkek bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 19.85 $\pm$ 9.52 mg/mL, PES için 14.30 $\pm$ 8.30 mg/mL, kontrol için 15.88 $\pm$ 10.20 mg/mL,  $P=0.001$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu erkek PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.000$ ) ve kontrollere ( $P=0.006$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.36).

Erkek (PEG için %0.050 $\pm$ 0.041, PES için %0.050 $\pm$ 0.036, kontrol için %0.059 $\pm$ 0.035,  $P=0.419$ ) ve kadın bireylerde (PEG için %0.050 $\pm$ 0.033, PES için %0.048 $\pm$ 0.024, kontrol için %0.048 $\pm$ 0.034,  $P=0.870$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.36).

Tablo 3.36: Erkek ve kadın bireylerin gözyaşı örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Erkek (n=121)				Kadın (n=120)			
	PEG (n=45)	PES (n=45)	KONTROL (n=31)	<i>P</i>	PEG (n=35)	PES (n=36)	KONTROL (n=49)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	10.61±11.44	7.22±6.11	9.16±8.38	0.470	8.90±7.05	8.23±5.34	6.99±5.23	0.380
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	19.85±9.52 <sup>a,b</sup>	14.30±8.30 <sup>c</sup>	15.88±10.20	<b>0.001*</b>	17.58±7.77	17.52±8.61	16.75±10.32	0.418
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.050±0.041	0.050±0.036	0.059±0.035	0.419	0.050±0.033	0.048±0.024	0.048±0.034	0.870

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.000, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.006, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.585



### 3.5.2.3 Diyabetin etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin gözyaşı örneklerinde kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür (Tablo 3.37).

Tablo 3.37: Diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Diyabet + (n=72)	Diyabet – (n=169)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	9.74 $\pm$ 9.32	7.90 $\pm$ 6.72	0.179
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	17.17 $\pm$ 9.31	16.92 $\pm$ 9.29	0.676
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.056 $\pm$ 0.036	0.048 $\pm$ 0.033	0.157

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan diyabet + (PEG için 12.46 $\pm$ 12.22  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 8.41 $\pm$ 6.61  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 8.80 $\pm$ 8.66  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.389$ ) ve diyabet – bireylerde (PEG için 8.94 $\pm$ 8.64  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 7.35 $\pm$ 5.40  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 7.34 $\pm$ 5.41  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.991$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.38).

Diyabet – bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından gruplar arasında fark görülmezken (PEG için 17.92 $\pm$ 8.46 mg/mL, PES için 15.73 $\pm$ 9.11 mg/mL, kontrol için 17.08 $\pm$ 10.34 mg/mL,  $P=0.112$ ), diyabet + bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 21.48 $\pm$ 9.47 mg/mL, PES için 15.73 $\pm$ 7.18 mg/mL, kontrol için 15.10 $\pm$ 10.03 mg/mL,  $P=0.006$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu diyabet + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.020$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.38).

Diyabet + (PEG için %0.058 $\pm$ 0.042, PES için %0.051 $\pm$ 0.033, kontrol için %0.058 $\pm$ 0.035,  $P=0.755$ ) ve diyabet – bireylerde (PEG için %0.047 $\pm$ 0.035, PES için %0.048 $\pm$ 0.030, kontrol için %0.049 $\pm$ 0.035,  $P=0.925$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında oldukça benzerdir (Tablo 3.38).

Tablo 3.38: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan diyabet hastası olan (diyabet +) ve diyabet hastası olmayan (diyabet –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Diyabet + (n=72)				Diyabet – (n=169)			
	PEG (n=21)	PES (n=24)	KONTROL (n=27)	<i>P</i>	PEG (n=59)	PES (n=57)	KONTROL (n=53)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	12.46±12.22	8.41±6.61	8.80±8.66	0.389	8.94±8.64	7.35±5.40	7.34±5.41	0.991
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	21.48±9.47 <sup>a,b</sup>	15.73±7.18 <sup>c</sup>	15.10±10.03	<b>0.006*</b>	17.92±8.46	15.73±9.11	17.08±10.34	0.112
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.058±0.042	0.051±0.033	0.058±0.035	0.755 <sup>x</sup>	0.047±0.035	0.048±0.030	0.049±0.035	0.925

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*Karşılaştırma için One-Way ANOVA kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.020, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.001, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.349

### 3.5.2.4 Hipertansiyonun etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon -) bireylerin gözyaşı örneklerinde kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.39).

Tablo 3.39: Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon -) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Hipertansiyon + (n=116)	Hipertansiyon - (n=125)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	9.18 $\pm$ 8.08	7.78 $\pm$ 7.13	0.087
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	17.19 $\pm$ 8.60	16.81 $\pm$ 9.89	0.299
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.054 $\pm$ 0.035	0.047 $\pm$ 0.033	0.125

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Hipertansiyon + (PEG için 10.89 $\pm$ 10.87  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 8.28 $\pm$ 6.04  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 8.22 $\pm$ 5.87  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.758$ ) ve hipertansiyon - bireylerde (PEG için 8.79 $\pm$ 8.42  $\mu\text{g/mL}$ , PES için 7.10 $\pm$ 5.52  $\mu\text{g/mL}$ , kontrol için 7.52 $\pm$ 7.31  $\mu\text{g/mL}$ ,  $P=0.969$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında oldukça benzerdir (Tablo 3.40).

Hipertansiyon + bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için 19.07 $\pm$ 9.37 mg/mL, PES için 15.87 $\pm$ 7.88 mg/mL, kontrol için 16.47 $\pm$ 8.29 mg/mL,  $P=0.147$ ), hipertansiyon - bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 18.63 $\pm$ 8.31 mg/mL, PES için 15.61 $\pm$ 9.20 mg/mL, kontrol için 16.36 $\pm$ 11.66 mg/mL,  $P=0.023$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu hipertansiyon - PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.022$ ) ve kontrollere ( $P=0.012$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.40).

Hipertansiyon + (PEG için %0.055 $\pm$ 0.037, PES için %0.052 $\pm$ 0.032, kontrol için %0.055 $\pm$ 0.037,  $P=0.906$ ) ve hipertansiyon - bireylerde (PEG için %0.046 $\pm$ 0.038, PES için %0.047 $\pm$ 0.030, kontrol için %0.049 $\pm$ 0.033,  $P=0.822$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında oldukça benzerdir (Tablo 3.40).

Tablo 3.40: Hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) ve normal tansiyonlu (hipertansiyon –) bireylerin gözyaşı örneklerinde PEG ve PES hastaları ile kontroller için clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Hipertansiyon + (n=116)				Hipertansiyon – (n=125)			
	PEG (n=41)	PES (n=39)	KONTROL (n=36)	<i>P</i>	PEG (n=39)	PES (n=42)	KONTROL (n=44)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	10.89±10.87	8.28±6.04	8.22±5.87	0.758	8.79±8.42	7.10±5.52	7.52±7.31	0.969
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	19.07±9.37	15.87±7.88	16.47±8.29	0.147	18.63±8.31 <sup>a,b</sup>	15.61±9.20 <sup>c</sup>	16.36±11.66	0.023*
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.055±0.037	0.052±0.032	0.055±0.037	0.906 <sup>x</sup>	0.046±0.038	0.047±0.030	0.049±0.033	0.822

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*Karşılaştırma için One-Way ANOVA kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.022, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.012, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.838

### 3.5.2.5 Kalp hastalığının etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin gözyaşı örneklerinde kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.41).

Tablo 3.41: Kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Kalp + (n=75)	Kalp – (n=166)	P
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	8.04±7.52	8.64±7.67	0.399
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	17.76±10.24	16.65±8.82	0.807
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.045±0.033	0.053±0.035	0.076

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Kalp + (PEG için 10.35±10.12 µg/mL, PES için 6.41±5.59 µg/mL, kontrol için 7.64±6.19 µg/mL,  $P=0.365$ ) ve kalp – bireylerde (PEG için 9.67±9.69 µg/mL, PES için 8.27±5.80 µg/mL, kontrol için 7.93±6.93 µg/mL,  $P=0.860$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.42).

Kalp + bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için 18.10±9.78 mg/mL, PES için 15.74±7.84 mg/mL, kontrol için 19.49±12.54 mg/mL,  $P=0.534$ ), kalp – bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 19.16±8.47 mg/mL, PES için 15.73±8.92 mg/mL, kontrol için 14.93±8.63 mg/mL,  $P=0.001$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu kalp – PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.000$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.42).

Kalp + (PEG için %0.056±0.040, PES için %0.038±0.024, kontrol için %0.043±0.034,  $P=0.237$ ) ve kalp – bireylerde (PEG için %0.048±0.037, PES için %0.055±0.033, kontrol için %0.056±0.035,  $P=0.316$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 3.42).

Tablo 3.42: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan kalp hastalığı olan (kalp +) ve kalp hastalığı olmayan (kalp -) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Kalp + (n=75)				Kalp - (n=166)			
	PEG (n=23)	PES (n=26)	KONTROL (n=26)	<i>P</i>	PEG (n=57)	PES (n=55)	KONTROL (n=54)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	10.35±10.12	6.41±5.59	7.64±6.19	0.365	9.67±9.69	8.27±5.80	7.93±6.93	0.860
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	18.10±9.78	15.74±7.84	19.49±12.54	0.534	19.16±8.47 <sup>a,b</sup>	15.73±8.92 <sup>c</sup>	14.93±8.63	0.001*
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.056±0.040	0.038±0.024	0.043±0.034	0.237	0.048±0.037	0.055±0.033	0.056±0.035	0.316

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.002, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.000, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.558

### 3.5.2.6 İnmenin etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı inme hastalığı geçirmiş (inme +) ve inme hastalığı geçirmemiş (inme –) bireylerin gözyaşı örneklerinde kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.43).

Tablo 3.43: İnme hastalığı geçirmiş (inme +) ve inme hastalığı geçirmemiş (inme –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	İNme + (n=12)	İNme – (n=229)	P
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	6.10±3.81	8.58±7.75	0.447
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	13.59±9.00	17.17±9.28	0.070
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.054±0.038	0.050±0.034	0.734

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

PEG ve PES hastaları ile kontrollerdeki inme + ve inme – bireyler arasında clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı da incelenmiştir. PES hastalarından sadece biri inme + olduğu için kıyaslamalara dahil edilmemiştir (Tablo 3.44).

İNme + (PEG için 4.93±3.57 µg/mL, kontrol için 6.01±4.01 µg/mL,  $P=0.695$ ) ve inme – bireylerde (PEG için 10.06±9.87 µg/mL, PES için 7.64±5.79 µg/mL, kontrol için 8.04±6.89 µg/mL,  $P=0.664$ ) ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.44).

İNme + bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından fark görülmezken (PEG için 13.35±4.31 mg/mL, kontrol için 14.05±10.97 mg/mL,  $P=0.630$ ), inme – bireylerde üç grup arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (PEG için 19.07±8.89 mg/mL, PES için 15.79±8.57 µg/mL, kontrol için 16.67±10.18 µg/mL,  $P=0.006$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu inme – PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.003$ ) ve kontrollere ( $P=0.008$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.44).

Tablo 3.44: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan inme hastalığı geçirmiş (inme +) ve inme hastalığı geçirmemiş (inme -) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	İnme + (n=12)				İnme - (n=229)			
	PEG (n=3)	PES (n=1)	KONTROL (n=8)	P	PEG (n=77)	PES (n=80)	KONTROL (n=72)	P
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	4.93±3.57	-	6.01±4.01	0.695 <sup>A</sup>	10.06±9.87	7.64±5.79	8.04±6.89	0.664 <sup>C</sup>
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	13.35±4.31	-	14.05±10.97	0.630 <sup>B</sup>	19.07±8.89 <sup>a,b</sup>	15.79±8.57 <sup>c</sup>	16.67±10.18	0.006 <sup>C*</sup>
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.035±0.019	-	0.056±0.042	0.426 <sup>A</sup>	0.051±0.038	0.049±0.031	0.052±0.034	0.895 <sup>C</sup>

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. <sup>A</sup>Karşılaştırmalar için Independent Samples T-Test kullanılmıştır. <sup>B</sup>Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır. <sup>C</sup>Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. \*İkili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır. <sup>a</sup>PEG vs. PES  $P=0.003$ , <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol  $P=0.008$ , <sup>c</sup>PES vs. Kontrol  $P=0.815$



İNme + (PEG için %0.035±0.019, kontrol için %0.056±0.042,  $P=0.426$ ) ve inme – bireylerde (PEG için %0.051±0.038, PES için %0.049±0.031, kontrol için %0.052±0.034,  $P=0.895$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.44).

### 3.5.2.7 Sigaranın etkisi

Clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin gözyaşı örneklerinde kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.45).

Tablo 3.45: Sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Sigara + (n=42)	Sigara – (n=199)	<i>P</i>
Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	8.62±9.10	8.42±7.29	0.839
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	16.02±9.90	17.20±9.15	0.095
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.053±0.032	0.050±0.035	0.420

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Mann-Whitney Testi kullanılmıştır.

Sigara – bireylerde ortalama clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken (PEG için 8.86±8.59 µg/mL, PES için 8.16±5.82 µg/mL, kontrol için 8.24±7.44 µg/mL,  $P=0.876$ ), sigara + bireylerde üç grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (PEG için 14.60±13.42 µg/mL, PES için 3.17±2.30 µg/mL, kontrol için 6.61±3.25 µg/mL,  $P=0.002$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu sigara + PEG hastalarında PES hastalarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekken ( $P=0.019$ ), PES hastalarında ise kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ( $P=0.014$ ) (Tablo 3.46).

Sigara – bireylerde ortalama total protein konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmezken (PEG için 18.24±7.88 mg/mL, PES için 16.38±8.78 mg/mL, kontrol için 17.05±10.84 mg/mL,  $P=0.069$ ), sigara + bireylerde üç grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır (PEG için 21.76±12.27 mg/mL, PES için 9.80±1.84 mg/mL, kontrol için 14.50±8.01 mg/mL,  $P=0.005$ ) (Tablo 3.46).

Tablo 3.46: PEG ve PES hastaları ile kontrollerde bulunan sigara kullanan (sigara +) ve sigara kullanmayan (sigara –) bireylerin gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı.

Gözyaşı	Sigara + (n=42)				Sigara – (n=199)			
	PEG (n=14)	PES (n=8)	KONTROL (n=20)	P	PEG (n=66)	PES (n=73)	KONTROL (n=60)	P
Clusterin konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )	14.60 $\pm$ 13.42 <sup>a,b</sup>	3.17 $\pm$ 2.30 <sup>c</sup>	6.61 $\pm$ 3.25	0.002 <sup>x</sup>	8.86 $\pm$ 8.59	8.16 $\pm$ 5.82	8.24 $\pm$ 7.44	0.876
Total protein konsantrasyonu (mg/mL)	21.76 $\pm$ 12.27 <sup>d,e</sup>	9.80 $\pm$ 1.84 <sup>f</sup>	14.50 $\pm$ 8.01	0.005 <sup>y</sup>	18.24 $\pm$ 7.88	16.38 $\pm$ 8.78	17.05 $\pm$ 10.84	0.069
Total protein içindeki clusterin oranı (%)	0.063 $\pm$ 0.033	0.030 $\pm$ 0.020	0.056 $\pm$ 0.032	0.061	0.048 $\pm$ 0.038	0.051 $\pm$ 0.031	0.051 $\pm$ 0.036	0.574

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Sigara + bireylerdeki total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması için One-Way ANOVA kullanılırken, sigara – bireylerdeki tüm karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>x</sup>Üçlü karşılaştırmalar için Welch’s ANOVA kullanılırken, ikili karşılaştırmalar için Games-Howell Post Hoc Testi kullanılmıştır. <sup>y</sup>Üçlü karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılırken, ikili karşılaştırmalar Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES  $P=0.019$ , <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol  $P=0.109$ , <sup>c</sup>PES vs. Kontrol  $P=0.014$

<sup>d</sup>PEG vs. PES  $P=0.001$ , <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol  $P=0.020$ , <sup>f</sup>PES vs. Kontrol  $P=0.087$

Ortalama total protein konsantrasyonu sigara + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.001$ ) ve kontrollere ( $P=0.020$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.46).

Sigara + (PEG için  $\%0.063\pm0.033$ , PES için  $\%0.030\pm0.020$ , kontrol için  $\%0.056\pm0.032$ ,  $P=0.061$ ) ve sigara – bireylerde (PEG için  $\%0.048\pm0.038$ , PES için  $\%0.051\pm0.031$ , kontrol için  $\%0.051\pm0.036$ ,  $P=0.574$ ) ortalama total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.46).

### **3.5.3 Gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile clusterin polimorfizmleri arasındaki ilişki**

PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslaması sonuçları 3.5.1 kısmında açıklanmıştır. Bu kısımda ise clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslaması yapılmıştır. Tüm veriler daha açıklayıcı olması açısından hem tablo hem de grafik şeklinde sunulmuştur. Tablo 3.47, 3.48, 3.49 ve 3.50’de rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP’leri için tablo halinde sunulmuş olan veriler aynı zamanda tüm SNP’ler bir arada olacak şekilde clusterin konsantrasyonu için Şekil 3.13 ve 3.14’te, total protein konsantrasyonu için Şekil 3.15 ve 3.16’da ve total protein içindeki clusterin oranı için ise Şekil 3.17 ve 3.18’de grafik halinde sunulmuştur.

Clusterin rs11136000 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslanmıştır. Tablo 3.47’de de görüldüğü gibi kontrollerde clusterin rs11136000 C/T genotipleri arasında clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark vardır ( $P=0.029$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu, CT genotipli kontrol bireylerinde CC genotipli kontrol bireylerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $P=0.011$ ) (Şekil 3.13 ve 3.14). PEG ve PES hastalarında ise rs11136000 C/T genotiplerine göre clusterin

konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Clusterin rs3087554 A/G genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslanmıştır. Tablo 3.48’de de görüldüğü gibi AG genotipli bireylerin gözyaşı örneklerindeki total protein konsantrasyonu PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında anlamlı derecede farklıdır ( $P=0.008$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu, AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına ( $P=0.013$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. AG genotipli PES hastalarında ve kontrollerde ise ortalama total protein konsantrasyonu değerleri oldukça benzerdir ( $P=0.999$ ) (Şekil 3.15 ve 3.16). Clusterin konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı açısından ise clusterin rs3087554 A/G genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Clusterin rs1532278 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslanmıştır. Tablo 3.49’da da görüldüğü gibi kontrollerde clusterin rs1532278 C/T genotipleri arasında clusterin konsantrasyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı derecede fark vardır ( $P=0.029$ ). Ortalama clusterin konsantrasyonu, CT genotipli kontrol bireylerinde CC genotipli kontrol bireyelerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $P=0.011$ ) (Şekil 3.13 ve 3.14). PEG ve PES hastalarında ise rs1532278 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Clusterin rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı kıyaslanmıştır. Tablo 3.50’de de görüldüğü gibi PEG ve PES hastaları ile kontrollerde rs2279590 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Tablo 3.47: Clusterin rs11136000 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.

Clusterin rs11136000 C/T	PEG (n=80)	PES (n=81)	Kontrol (n=80)	P
<b>Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)</b>	9.86±9.75	7.67±5.77	7.83±6.67	0.729
CC (PEG n=30, PES n=34, Kontrol n=25)	8.59±8.42	7.50±6.30	5.57±3.39	0.594
CT (PEG n=39, PES n=25, Kontrol n=28)	10.62±11.59	7.92±5.43	9.49±5.84 <sup>a</sup>	0.436
TT (PEG n=11, PES n=22, Kontrol n=27)	10.67±5.22	7.65±5.52	8.22±9.00 <sup>b,c</sup>	0.123
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.208	0.761	<b>0.029*</b>	
<b>Total protein konsantrasyonu (mg/mL)</b>	18.86±8.82 <sup>d,e</sup>	15.73±8.54 <sup>f</sup>	16.41±10.22	<b>0.004*</b>
CC (PEG n=30, PES n=34, Kontrol n=25)	15.98±5.36	14.98±6.85	14.92±9.13	0.767 <sup>x</sup>
CT (PEG n=39, PES n=25, Kontrol n=28)	20.70±10.52	16.31±10.25	19.09±11.34	0.132
TT (PEG n=11, PES n=22, Kontrol n=27)	20.14±8.39	16.23±9.08	15.02±9.73	0.087
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.196	0.894	0.124	
<b>Total protein içindeki clusterin oranı (%)</b>	0.050±0.037	0.049±0.031	0.052±0.035	0.864
CC (PEG n=30, PES n=34, Kontrol n=25)	0.051±0.043	0.048±0.034	0.046±0.033	0.992
CT (PEG n=39, PES n=25, Kontrol n=28)	0.048±0.036	0.052±0.030	0.058±0.035	0.396
TT (PEG n=11, PES n=22, Kontrol n=27)	0.056±0.024	0.048±0.029	0.051±0.036	0.798 <sup>y</sup>
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.439	0.850	0.382	

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>x</sup>Karşılaştırma için Welch's ANOVA kullanılmıştır. <sup>y</sup>Karşılaştırma için One-Way ANOVA kullanılmıştır. <sup>z</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>CT vs. CC *P*=0.011, <sup>b</sup>TT vs. CC *P*=0.511, <sup>c</sup>TT vs. CT *P*=0.050

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.004, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.999

Tablo 3.48: Clusterin rs3087554 A/G genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.

Clusterin rs3087554 A/G	PEG (n=80)	PES (n=81)	Kontrol (n=80)	P
<b>Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)</b>	9.86±9.75	7.67±5.77	7.83±6.67	0.729
AA (PEG n=52, PES n=58, Kontrol n=65)	8.79±8.01	7.64±5.95	8.19±7.04	0.890
AG (PEG n=24, PES n=18, Kontrol n=13)	11.88±13.11	6.63±5.42	6.77±4.68	0.615
GG (PEG n=4, PES n=5, Kontrol n=2)	11.68±6.24	11.73±3.06	3.18±3.50	0.116 <sup>x</sup>
<i>P</i> (AA-AG-GG)	0.567	0.122	0.418	
<b>Total protein konsantrasyonu (mg/mL)</b>	18.86±8.82 <sup>a,b</sup>	15.73±8.54 <sup>c</sup>	16.41±10.22	<b>0.004*</b>
AA (PEG n=52, PES n=58, Kontrol n=65)	17.90±8.26	16.13±9.40	17.09±10.55	0.199
AG (PEG n=24, PES n=18, Kontrol n=13)	20.61±9.90 <sup>d,e</sup>	14.57±6.37 <sup>f</sup>	14.25±8.65	<b>0.008*</b>
GG (PEG n=4, PES n=5, Kontrol n=2)	20.79±9.41	15.25±4.08	8.44±3.20	0.149 <sup>x</sup>
<i>P</i> (AA-AG-GG)	0.374	0.801	0.112	
<b>Total protein içindeki clusterin oranı (%)</b>	0.050±0.037	0.049±0.031	0.052±0.035	0.864
AA (PEG n=52, PES n=58, Kontrol n=65)	0.048±0.033	0.048±0.029	0.052±0.034	0.853
AG (PEG n=24, PES n=18, Kontrol n=13)	0.052±0.043	0.045±0.036	0.054±0.038	0.799 <sup>x</sup>
GG (PEG n=4, PES n=5, Kontrol n=2)	0.068±0.060	0.080±0.022	0.050±0.060	0.727 <sup>x</sup>
<i>P</i> (AA-AG-GG)	0.840	0.067 <sup>x</sup>	0.943	

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar Kruskal-Wallis Testi ile yapılmıştır. <sup>x</sup>Karşılaştırmalar için One-Way ANOVA kullanılmıştır. \*İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.004, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.999

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.013, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.529

Tablo 3.49: Clusterin rs1532278 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.

Clusterin rs1532278 C/T	PEG (n=80)	PES (n=81)	Kontrol (n=80)	P
<b>Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)</b>	9.86±9.75	7.67±5.77	7.83±6.67	0.729
CC (PEG n=30, PES n=34, Kontrol n=25)	8.59±8.42	7.50±6.30	5.57±3.39	0.594
CT (PEG n=39, PES n=26, Kontrol n=28)	10.62±11.59	5.63±5.36	9.49±5.84 <sup>a</sup>	0.406
TT (PEG n=11, PES n=21, Kontrol n=27)	10.67±5.22	7.79±5.61	8.22±9.00 <sup>b,c</sup>	0.138
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.208	0.785	<b>0.029*</b>	
<b>Total protein konsantrasyonu (mg/mL)</b>	18.86±8.82 <sup>d,e</sup>	15.73±8.54 <sup>f</sup>	16.41±10.22	<b>0.004*</b>
CC (PEG n=30, PES n=34, Kontrol n=25)	15.98±5.36	14.98±6.85	14.92±9.13	0.767 <sup>x</sup>
CT (PEG n=39, PES n=26, Kontrol n=28)	20.70±10.52	16.09±10.11	19.09±11.34	0.100
TT (PEG n=11, PES n=21, Kontrol n=27)	20.14±8.39	16.50±9.21	15.02±9.73	0.089
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.196	0.913	0.124	
<b>Total protein içindeki clusterin oranı (%)</b>	0.050±0.037	0.049±0.031	0.052±0.035	0.864
CC (PEG n=30, PES n=34, Kontrol n=25)	0.051±0.043	0.048±0.034	0.046±0.033	0.992
CT (PEG n=39, PES n=26, Kontrol n=28)	0.048±0.036	0.052±0.029	0.058±0.035	0.396
TT (PEG n=11, PES n=21, Kontrol n=27)	0.056±0.024	0.048±0.030	0.051±0.036	0.813 <sup>y</sup>
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.439	0.861	0.382	

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>x</sup>Karşılaştırma için Welch's ANOVA kullanılmıştır. <sup>y</sup>Karşılaştırma için One-Way ANOVA kullanılmıştır. <sup>z</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

<sup>a</sup>CT vs. CC *P*=0.011, <sup>b</sup>TT vs. CC *P*=0.511, <sup>c</sup>TT vs. CT *P*=0.050

<sup>d</sup>PEG vs. PES *P*=0.004, <sup>e</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>f</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.999

Tablo 3.50: Clusterin rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı karşılaştırması.

Clusterin rs2279590 C/T	PEG (n=80)	PES (n=81)	Kontrol (n=80)	P
<b>Clusterin konsantrasyonu (µg/mL)</b>	9.86±9.75	7.67±5.77	7.83±6.67	0.729
CC (PEG n=30, PES n=31, Kontrol n=24)	8.59±8.42	7.58±6.50	5.73±3.35	0.650
CT (PEG n=38, PES n=29, Kontrol n=30)	10.85±11.65	5.69±5.22	8.87±5.87	0.693
TT (PEG n=12, PES n=21, Kontrol n=26)	9.94±5.58	7.79±5.61	8.57±9.17	0.358
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.382	0.802	0.133	
<b>Total protein konsantrasyonu (mg/mL)</b>	18.86±8.82 <sup>a,b</sup>	15.73±8.54 <sup>c</sup>	16.41±10.22	<b>0.004*</b>
CC (PEG n=30, PES n=31, Kontrol n=24)	15.98±5.36	14.80±6.99	15.12±9.26	0.200
CT (PEG n=38, PES n=29, Kontrol n=30)	20.78±10.65	16.16±9.68	17.81±10.19	0.103
TT (PEG n=12, PES n=21, Kontrol n=26)	19.97±8.02	16.50±9.21	15.99±11.24	0.097
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.193	0.770	0.329	
<b>Total protein içindeki clusterin oranı (%)</b>	0.050±0.037	0.049±0.031	0.052±0.035	0.864
CC (PEG n=30, PES n=31, Kontrol n=24)	0.051±0.043	0.049±0.035	0.047±0.033	0.999
CT (PEG n=38, PES n=29, Kontrol n=30)	0.049±0.036	0.050±0.028	0.057±0.035	0.593
TT (PEG n=12, PES n=21, Kontrol n=26)	0.052±0.026	0.048±0.030	0.051±0.037	0.933 <sup>x</sup>
<i>P</i> (CC-CT-TT)	0.729	0.957	0.557	

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis Testi kullanılmıştır. <sup>a</sup>Karşılaştırma için One-Way ANOVA kullanılmıştır. <sup>\*</sup>İkili gruplar arası karşılaştırma Conover formülüne (Conover, 1980) göre yapılmıştır.

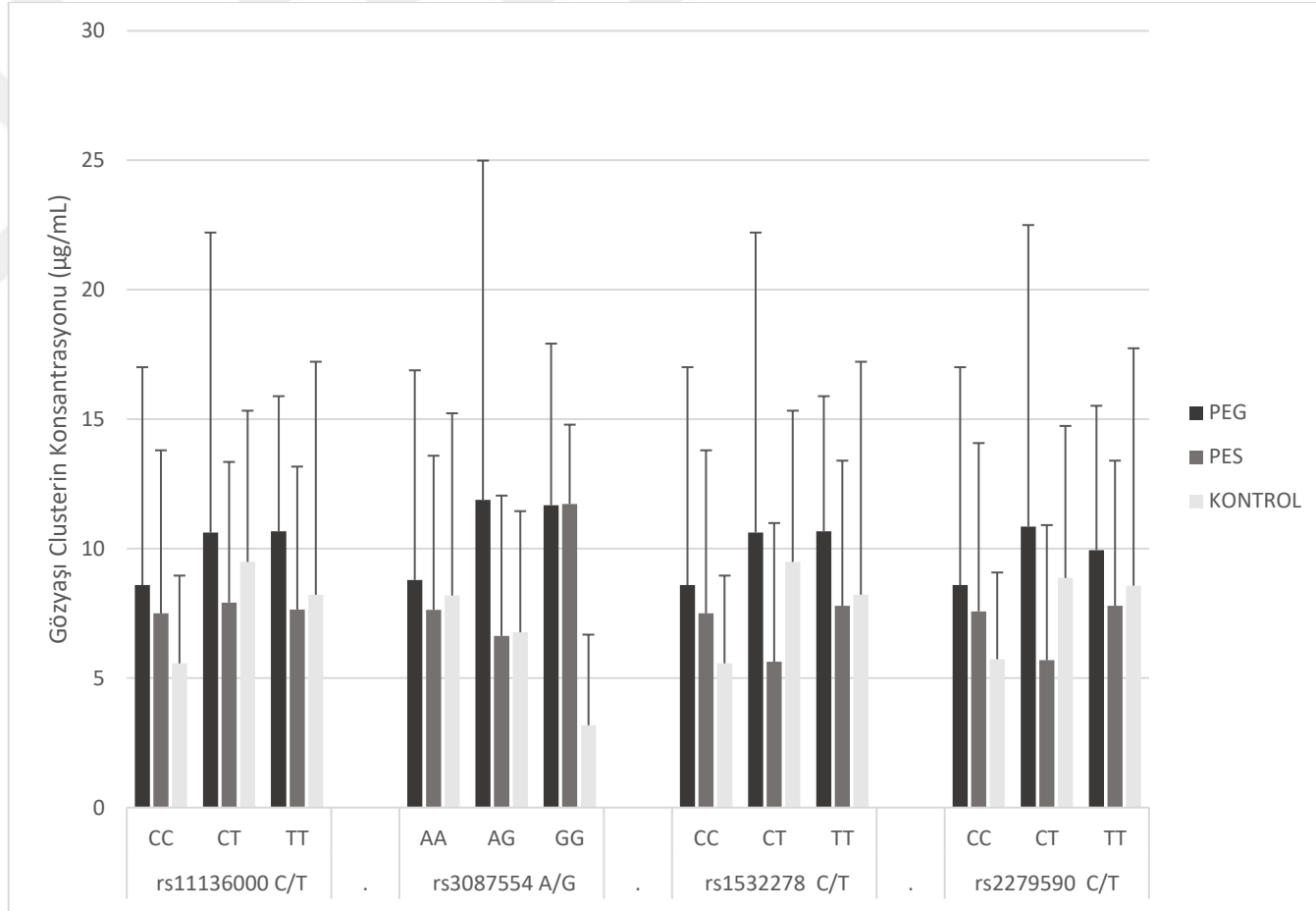
<sup>a</sup>PEG vs. PES *P*=0.004, <sup>b</sup>PEG vs. Kontrol *P*=0.004, <sup>c</sup>PES vs. Kontrol *P*=0.999



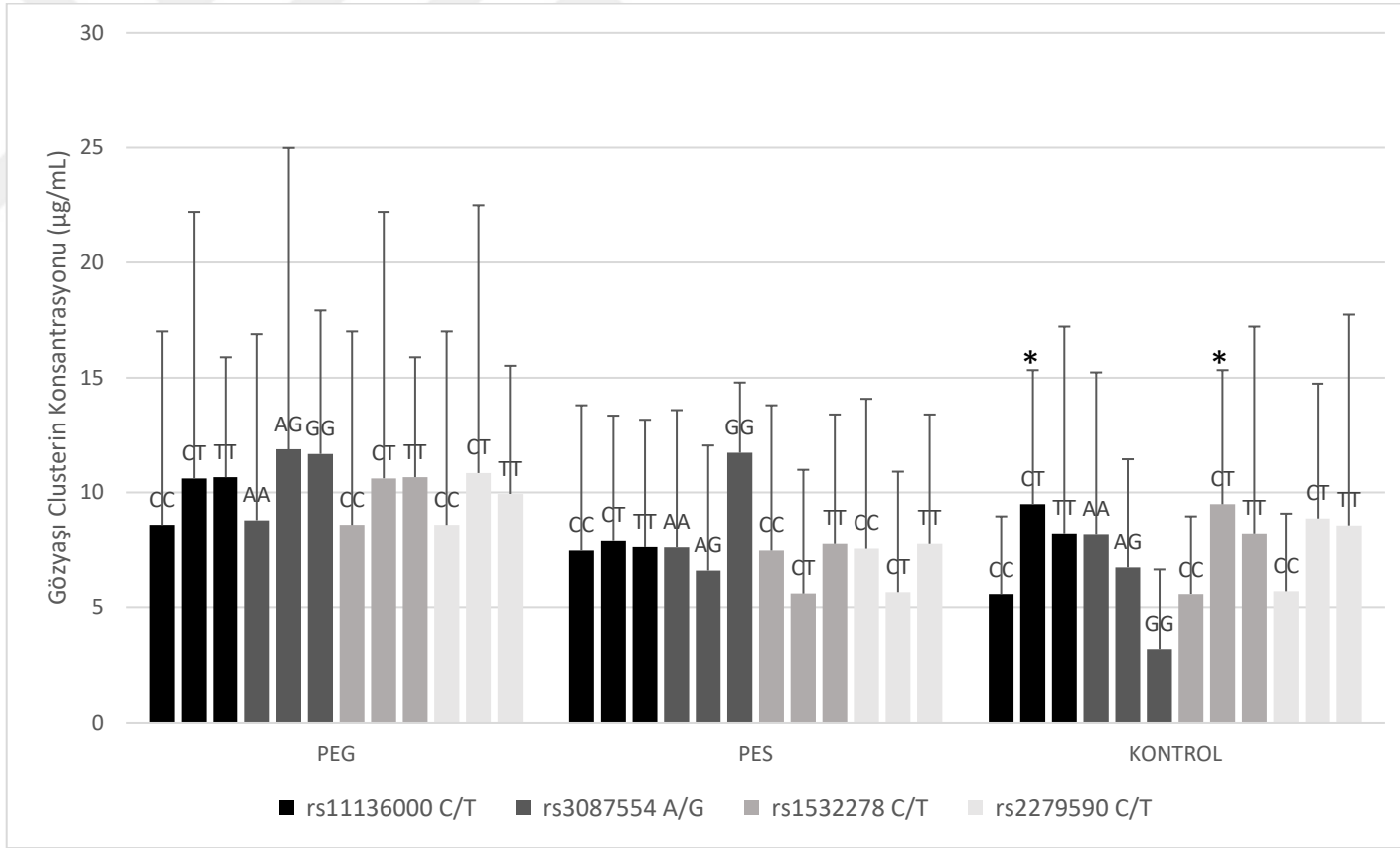
Clusterin konsantrasyonu, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için tüm genotiplerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksektir (Şekil 3.13). Ortalama clusterin konsantrasyonu rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri için, CT genotipli kontrollerde CC genotipli ( $P=0.011$ ) kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.47 ve 3.49) (Şekil 3.14). Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise clusterin konsantrasyonu AA ve AG genotipli bireylerdeki PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksekken, GG genotipli bireylerde PEG ve PES hastalarında benzer ve kontrollere kıyasla yüksektir (Şekil 3.13).

Clusterin rs11136000 C/T SNP için clusterin konsantrasyonu PEG ve PES hastalarında CT ve TT genotipli bireylerde benzer ve CC genotipli bireylere göre yüksekken, kontrollerde en yüksek CT, en düşük ise CC genotipli bireylerde görülmüştür. Clusterin rs3087554 A/G SNP için clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında AG ve GG genotipli bireylerde benzer ve AA genotipli bireylere göre yüksekken, PES hastalarında en yüksek GG, en düşük AG genotipli bireylerde görülmüştür. Kontrollerde ise clusterin konsantrasyonu en yüksek AA, en düşük ise GG genotipli bireylerde görülmüştür. Clusterin konsantrasyonu clusterin rs1532278 C/T SNP için PEG hastalarında, rs2279590 C/T SNP için ise kontrollerde CT ve TT genotipli bireylerde benzer ve CC genotipli bireylere göre yüksektir. Her iki SNP'de de PES hastalarında en yüksek clusterin konsantrasyonu TT, en düşük ise CT genotipli bireylerde görülmüştür. Clusterin konsantrasyonu clusterin rs1532278 C/T SNP için kontrollerde, rs2279590 C/T SNP için ise PEG hastalarında en yüksek CT, en düşük ise CC genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.14).

Total protein konsantrasyonu, incelenen tüm clusterin SNP'leri için tüm genotiplerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksektir (Şekil 3.15).



Şekil 3.13: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu.

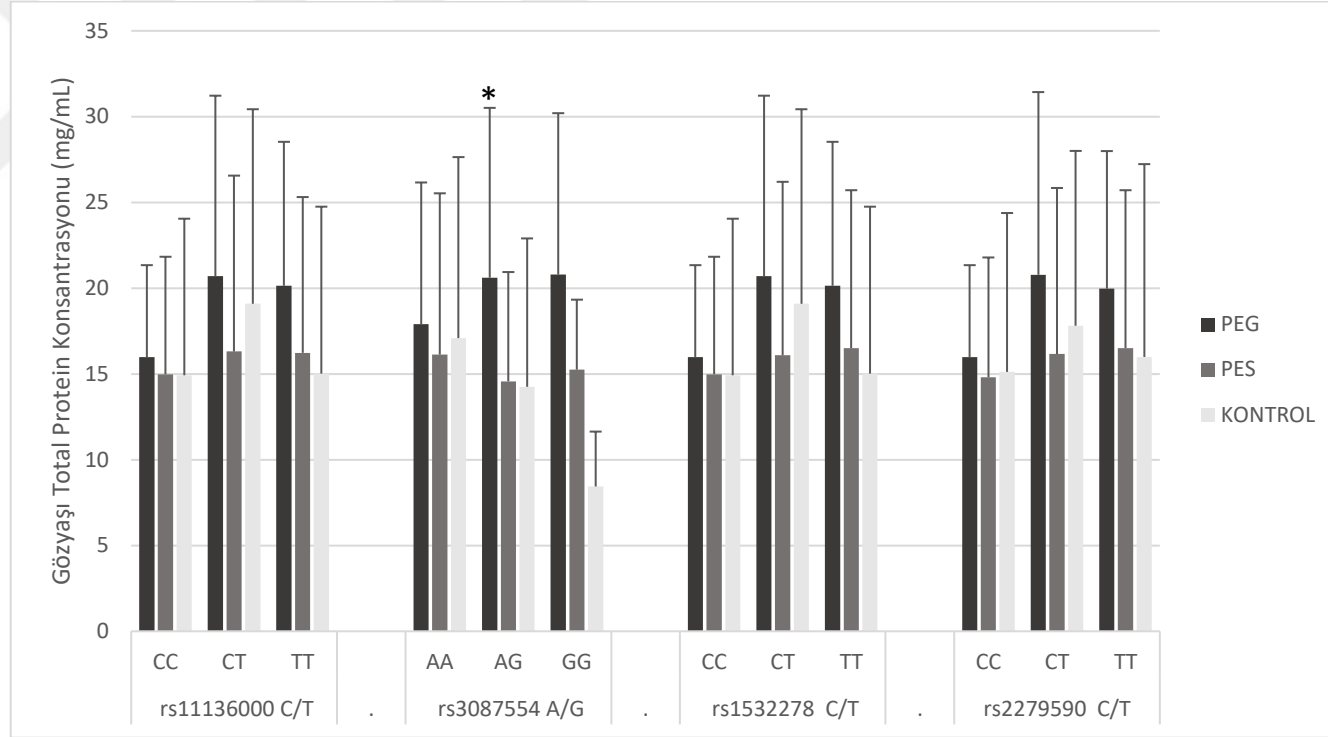


Şekil 3.14: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu. \*CC-CT-TT için  $P=0.029$ , CT vs. CC  $P=0.011$

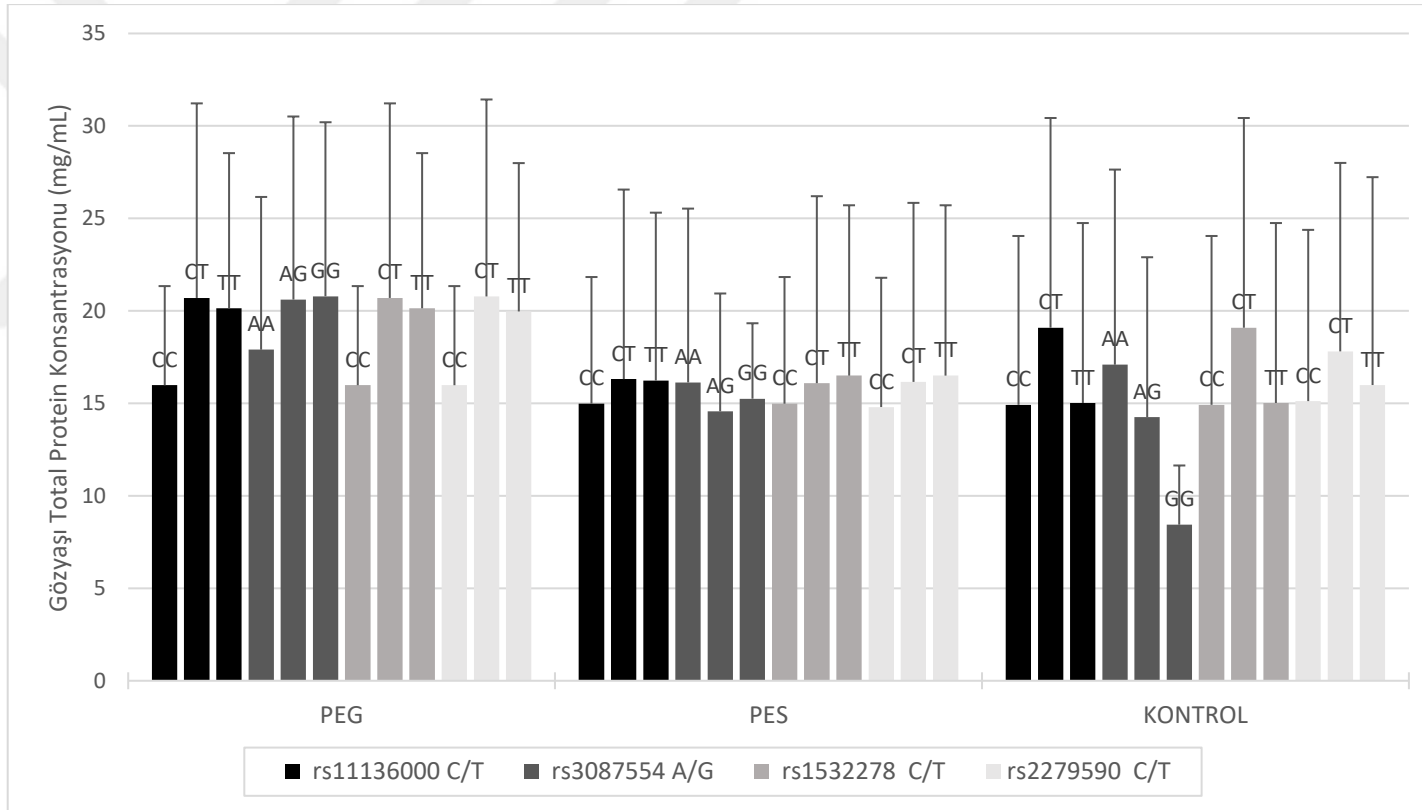
Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için total protein konsantrasyonu PEG ve PES hastalarında CT ve TT genotipli bireylerde benzer ve CC genotipli bireylere göre yüksekken, kontrollerde TT ve CC genotipli bireylerde benzer ve CT genotipli bireylere göre düşüktür. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise total protein konsantrasyonu PEG ve PES hastalarında AG ve GG genotipli bireylerde benzer ve PEG hastalarında AA genotipli bireylere göre yüksekken, PES hastalarında AA genotipli bireylere göre düşüktür. Kontrollerde ise en yüksek total protein konsantrasyonu AA genotipli bireylerde görülürken, en düşük GG genotipli bireylerde görülmüştür (Şekil 3.16). Ortalama total protein konsantrasyonu, AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına ( $P=0.013$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.48) (Şekil 3.15).

Total protein içindeki clusterin oranı, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için CC ve TT genotipli bireylerde PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla daha yüksekken, CT genotipli bireylerde ise kontrollerde PEG ve PES hastalarına kıyasla daha yüksektir. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise total protein içindeki clusterin oranı AA genotipli bireylerde PEG ve PES hastalarında benzer ve kontrollerden düşükken, AG genotipli bireylerde ise PEG hastaları ile kontrollerde benzer ve PES hastalarından yüksektir. GG genotipli bireylerde en yüksek total protein içindeki clusterin oranı PES hastalarında görülürken, en düşük total protein içindeki clusterin oranı kontrollerde görülmüştür (Şekil 3.17).

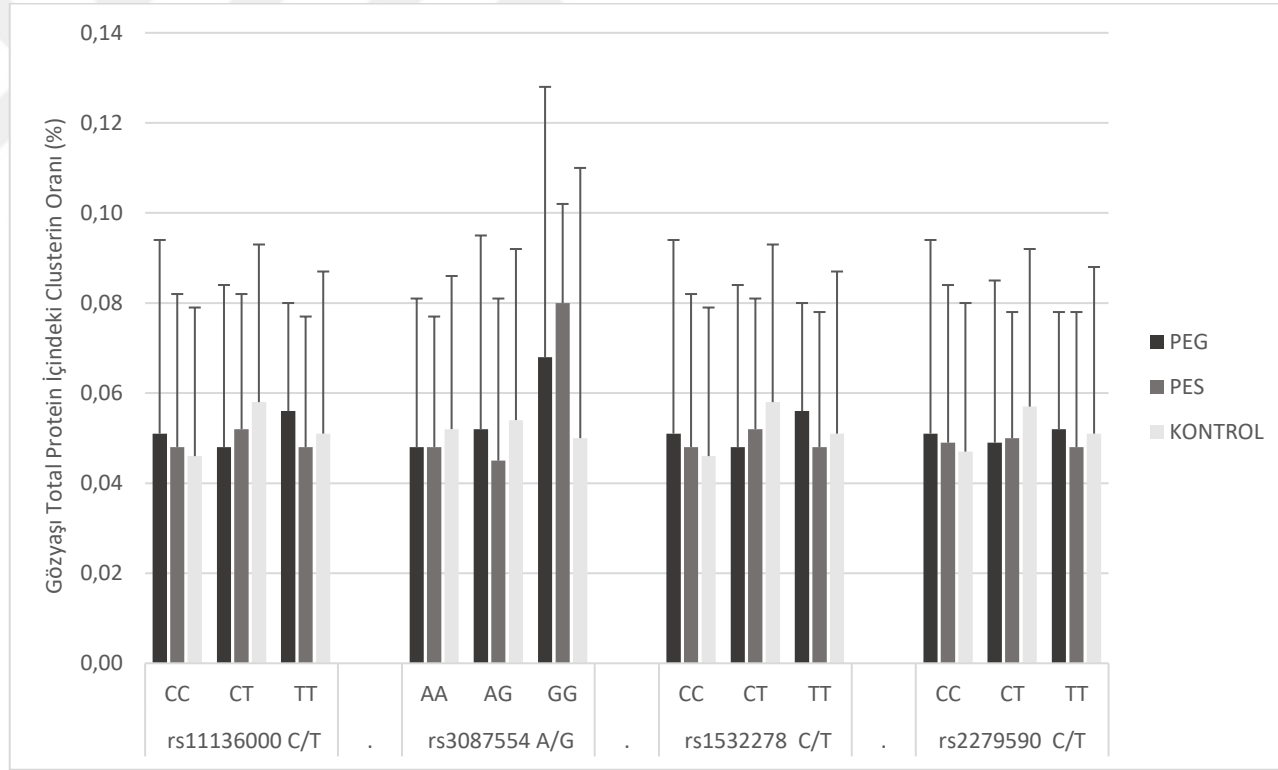
Clusterin rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri için total protein içindeki clusterin oranı PEG hastalarında en yüksek TT genotipli bireylerde görülürken, PES hastalarında ve kontrollerde CT genotipli bireylerde görülmüştür. Clusterin rs2279590 C/T SNP için total protein içindeki clusterin oranı PEG ve PES hastalarındaki tüm genotiplerde benzer görülürken, kontrollerde en yüksek CT genotipli bireylerde görülmüştür. Clusterin rs3087554 A/G SNP için total protein içindeki clusterin oranı ise PEG ve PES hastalarında en yüksek GG genotipli bireylerde görülürken, kontrollerde total protein içindeki clusterin oranı AG ve AA genotipli bireylerde benzer ve GG genotipli bireylere göre yüksektir (Şekil 3.18).



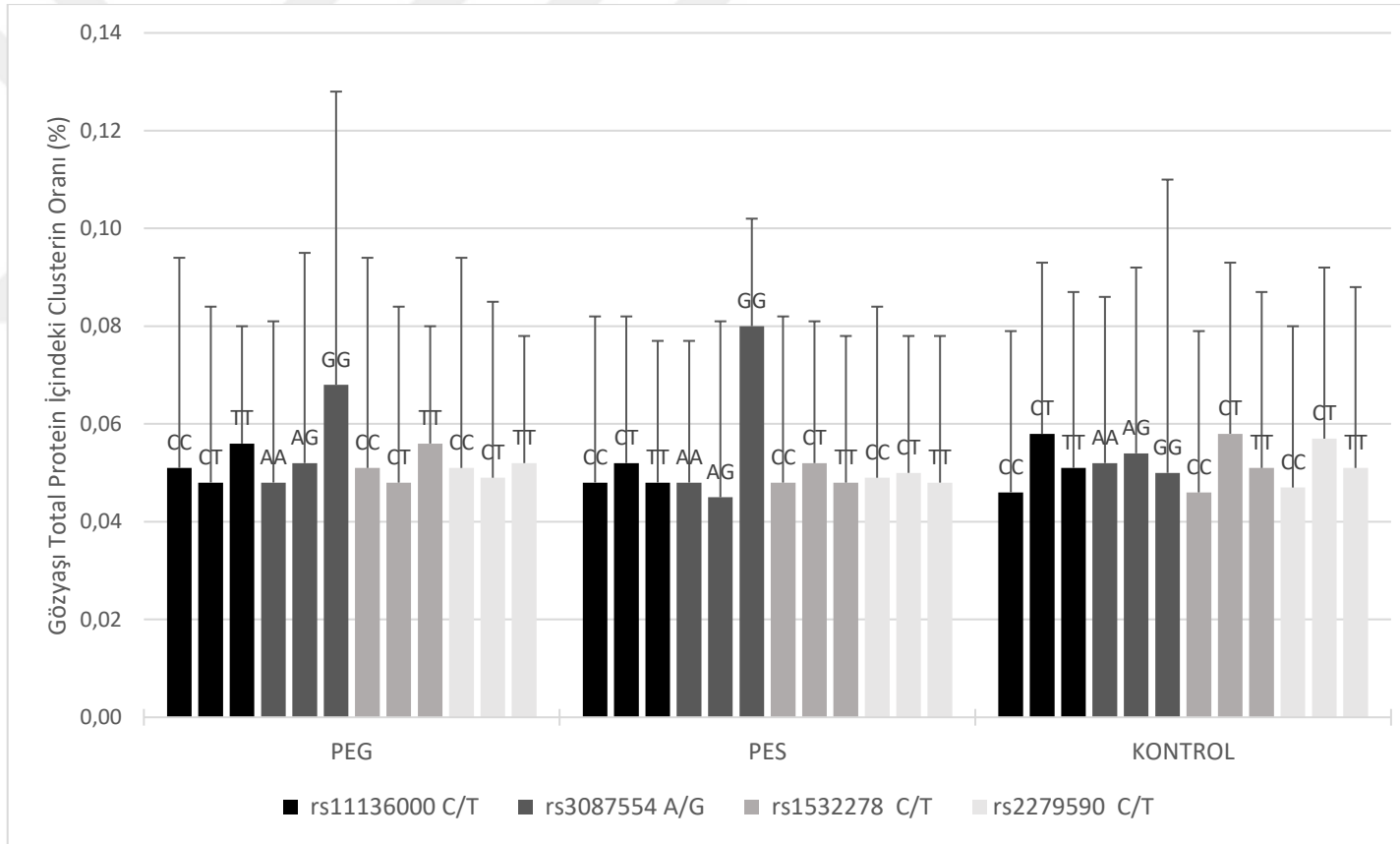
Şekil 3.15: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonu. \*PEG-PES-Kontrol  $P=0.008$ , PEG vs. PES  $P=0.013$ , PEG vs. Kontrol  $P=0.004$



Şekil 3.16: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein konsantrasyonu.



Şekil 3.17: Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde total protein içindeki clusterin oranı.



Şekil 3.18: PEG ve PES hastaları ile kontrol gözyaşı örneklerinde clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotiplerine göre total protein içindeki clusterin oranı.



### 3.5.4 Gözyaşı örnekleri popülasyonu için korelasyon analizi

Gözyaşı örneklerinde belirlenen clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin birbirleri ile korelasyonu PEG ve PES hastaları ile kontrollerde ayrı ayrı analiz edilmiştir (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53).

Clusterin ve total protein konsantrasyonu, PEG hastalarında ( $r=0.631$ ,  $P=0.000$ ), PES hastalarında ( $r=0.525$ ,  $P=0.000$ ) ve kontrollerde ( $r=0.469$ ,  $P=0.000$ ) pozitif korelasyon göstermiştir. Aynı şekilde clusterin konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı arasında da PEG hastalarında ( $r=0.783$ ,  $P=0.000$ ), PES hastalarında ( $r=0.781$ ,  $P=0.000$ ) ve kontrollerde ( $r=0.663$ ,  $P=0.000$ ) pozitif korelasyon vardır. Buna göre clusterin konsantrasyonundaki artış görüldüğünde total protein konsantrasyonunda ve total protein içindeki clusterin oranında da artış görülmüştür. Clusterin konsantrasyonu ile sigara kullanımı arasında PEG hastalarında pozitif ( $r=0.225$ ,  $P=0.045$ ), PES hastalarında ise negatif ( $r=-0.260$ ,  $P=0.019$ ) korelasyon görülmektedir. Buna göre sigara kullanan bireylerde PEG hastalığı görülürken, PES hastalığı görülmemiştir. Clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile incelenen clusterin polimorfizmleri arasında korelasyon görülmemiştir. PES hastalarında total protein konsantrasyonu ile sigara kullanımı arasında negatif korelasyon görülmüştür ( $r=-0.231$ ,  $P=0.038$ ), sigara kullanan bireylerde total protein konsantrasyonu daha azdır. Total protein içindeki clusterin oranı ile kalp hastalığı arasında da negatif korelasyon görülmüştür ( $r=-0.255$ ,  $P=0.021$ ), kalp hastalığı olan bireylerde total protein içindeki clusterin oranı daha azdır. Ayrıca PEG hastalarında clusterin rs3087554 A/G genotipleri ile diyabet hastalığı arasında negatif korelasyon görülmüştür ( $r=-0.224$ ,  $P=0.046$ ) (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53).

İncelenen risk faktörleri karşılaştırıldığında PES hastalarında kalp hastalığı ile sigara kullanımı arasında pozitif korelasyon görülürken ( $r=0.304$ ,  $P=0.006$ ), kontrollerde hipertansiyon ile sigara kullanımı arasında negatif korelasyon ( $r=-0.290$ ,  $P=0.009$ ) görülmüştür (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53).

Tablo 3.51: PEG hastalarının gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu.

		Clusterin Konsantrasyonu	Total Protein Konsantrasyonu	Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Diyabet	Kalp Hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme
Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.631**	0.783**	-0.090	-0.139	-0.090	-0.073	0.160	0.032	0.108	0.225*	-0.100
	<i>P</i>		0.000	0.000	0.427	0.218	0.427	0.517	0.156	0.780	0.339	0.045	0.375
Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.631**	1	0.119	-0.212	-0.141	-0.212	-0.206	0.179	-0.055	0.025	0.152	-0.124
	<i>P</i>	0.000		0.295	0.059	0.212	0.059	0.066	0.112	0.630	0.823	0.177	0.273
Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.783**	0.119	1	-0.018	-0.098	-0.018	0.001	0.126	0.094	0.118	0.157	-0.083
	<i>P</i>	0.000	0.295		0.873	0.385	0.873	0.990	0.265	0.407	0.298	0.163	0.465
Clusterin rs11136000 C/T	Pearson Correlation	-0.090	-0.212	-0.018	1	-0.425**	1.000**	0.987**	0.001	0.104	-0.101	-0.065	0.125
	<i>P</i>	0.427	0.059	0.873		0.000	0.000	0.000	0.996	0.360	0.371	0.569	0.268
Clusterin rs3087554 A/G	Pearson Correlation	-0.139	-0.141	-0.098	-0.425**	1	-0.425**	-0.430**	-0.224*	-0.038	0.103	-0.023	0.135
	<i>P</i>	0.218	0.212	0.385	0.000		0.000	0.000	0.046	0.739	0.364	0.842	0.231
Clusterin rs1532278 C/T	Pearson Correlation	-0.090	-0.212	-0.018	1.000**	-0.425**	1	0.987**	0.001	0.104	-0.101	-0.065	0.125
	<i>P</i>	0.427	0.059	0.873	0.000	0.000		0.000	0.996	0.360	0.371	0.569	0.268
Clusterin rs2279590 C/T	Pearson Correlation	-0.073	-0.206	0.001	0.987**	-0.430**	0.987**	1	0.011	0.113	-0.081	-0.055	0.127
	<i>P</i>	0.517	0.066	0.990	0.000	0.000	0.000		0.920	0.317	0.476	0.628	0.263
Diyabet	Pearson Correlation	0.160	0.179	0.126	0.001	-0.224*	0.001	0.011	1	0.123	-0.043	0.024	0.032
	<i>P</i>	0.156	0.112	0.265	0.996	0.046	0.996	0.920		0.276	0.703	0.831	0.780
Kalp Hastalığı	Pearson Correlation	0.032	-0.055	0.094	0.104	-0.038	0.104	0.113	0.123	1	0.067	-0.147	0.165
	<i>P</i>	0.780	0.630	0.407	0.360	0.739	0.360	0.317	0.276		0.555	0.193	0.143
Hipertansiyon	Pearson Correlation	0.108	0.025	0.118	-0.101	0.103	-0.101	-0.081	-0.043	0.067	1	-0.143	-0.202
	<i>P</i>	0.339	0.823	0.298	0.371	0.364	0.371	0.476	0.703	0.555		0.205	0.072
Sigara	Pearson Correlation	0.225*	0.152	0.157	-0.065	-0.023	-0.065	-0.055	0.024	-0.147	-0.143	1	-0.091
	<i>P</i>	0.045	0.177	0.163	0.569	0.842	0.569	0.628	0.831	0.193	0.205		0.423
İnme	Pearson Correlation	-0.100	-0.124	-0.083	0.125	0.135	0.125	0.127	0.032	0.165	-0.202	-0.091	1
	<i>P</i>	0.375	0.273	0.465	0.268	0.231	0.268	0.263	0.780	0.143	0.072	0.423	

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Tablo 3.52: PES hastalarının gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu.

		Clusterin Konsantrasyonu	Total Protein Konsantrasyonu	Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Diyabet	Kalp Hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme
Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.525**	0.781**	-0.014	-0.080	-0.023	-0.014	0.084	-0.151	0.103	-0.260*	0.052
	<i>P</i>		0.000	0.000	0.900	0.478	0.842	0.899	0.454	0.177	0.362	0.019	0.644
Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.525**	1	-0.020	-0.065	0.063	-0.075	-0.083	0.000	0.000	0.015	-0.231*	-0.066
	<i>P</i>	0.000		0.857	0.567	0.576	0.506	0.464	0.998	0.997	0.892	0.038	0.556
Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.781**	-0.020	1	-0.012	-0.162	-0.015	0.001	0.044	-0.255*	0.088	-0.204	0.174
	<i>P</i>	0.000	0.857		0.916	0.148	0.897	0.990	0.696	0.021	0.435	0.068	0.121
Clusterin rs11136000 C/T	Pearson Correlation	-0.014	-0.065	-0.012	1	-0.405**	0.991**	0.963**	-0.018	-0.028	-0.023	-0.060	-0.157
	<i>P</i>	0.900	0.567	0.916		0.000	0.000	0.000	0.871	0.807	0.835	0.595	0.162
Clusterin rs3087554 A/G	Pearson Correlation	-0.080	0.063	-0.162	-0.405**	1	-0.401**	-0.436**	0.059	-0.135	-0.105	-0.016	0.065
	<i>P</i>	0.478	0.576	0.148	0.000		0.000	0.000	0.599	0.230	0.350	0.884	0.562
Clusterin rs1532278 C/T	Pearson Correlation	-0.023	-0.075	-0.015	0.991**	-0.401**	1	0.972**	-0.028	-0.038	-0.038	-0.015	-0.161
	<i>P</i>	0.842	0.506	0.897	0.000	0.000		0.000	0.801	0.734	0.733	0.898	0.152
Clusterin rs2279590 C/T	Pearson Correlation	-0.014	-0.083	0.001	0.963**	-0.436**	0.972**	1	-0.033	-0.040	0.006	0.001	-0.159
	<i>P</i>	0.899	0.464	0.990	0.000	0.000	0.000		0.771	0.720	0.959	0.995	0.157
Diyabet	Pearson Correlation	0.084	0.000	0.044	-0.018	0.059	-0.028	-0.033	1	-0.214	0.186	0.057	0.172
	<i>P</i>	0.454	0.998	0.696	0.871	0.599	0.801	0.771		0.054	0.096	0.613	0.124
Kalp Hastalığı	Pearson Correlation	-0.151	0.000	-0.255*	-0.028	-0.135	-0.038	-0.040	-0.214	1	-0.027	0.304**	-0.077
	<i>P</i>	0.177	0.997	0.021	0.807	0.230	0.734	0.720	0.054		0.808	0.006	0.495
Hipertansiyon	Pearson Correlation	0.103	0.015	0.088	-0.023	-0.105	-0.038	0.006	0.186	-0.027	1	0.012	-0.108
	<i>P</i>	0.362	0.892	0.435	0.835	0.350	0.733	0.959	0.096	0.808		0.913	0.338
Sigara	Pearson Correlation	-0.260*	-0.231*	-0.204	-0.060	-0.016	-0.015	0.001	0.057	0.304**	0.012	1	-0.037
	<i>P</i>	0.019	0.038	0.068	0.595	0.884	0.898	0.995	0.613	0.006	0.913		0.743
İnme	Pearson Correlation	0.052	-0.066	0.174	-0.157	0.065	-0.161	-0.159	0.172	-0.077	-0.108	-0.037	1
	<i>P</i>	0.644	0.556	0.121	0.162	0.562	0.152	0.157	0.124	0.495	0.338	0.743	

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Tablo 3.53: Kontrol gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı, clusterin polimorfizmleri ve bazı risk faktörlerinin korelasyonu.

		Clusterin Konsantrasyonu	Total Protein Konsantrasyonu	Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Diyabet	Kalp Hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme
Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.469**	0.663**	-0.157	0.131	-0.157	-0.166	0.104	-0.021	0.052	-0.107	-0.092
	<i>P</i>		0.000	0.000	0.164	0.246	0.164	0.140	0.360	0.856	0.646	0.347	0.417
Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.469**	1	-0.197	0.000	0.158	0.000	-0.031	-0.092	0.211	0.006	-0.108	-0.078
	<i>P</i>	0.000		0.080	0.998	0.161	0.998	0.785	0.417	0.061	0.961	0.338	0.494
Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.663**	-0.197	1	-0.059	-0.017	-0.059	-0.045	0.126	-0.184	0.089	0.063	0.040
	<i>P</i>	0.000	0.080		0.606	0.882	0.606	0.692	0.266	0.103	0.431	0.581	0.723
Clusterin rs11136000 C/T	Pearson Correlation	-0.157	0.000	-0.059	1	-0.413**	1.000**	0.961**	0.055	0.088	0.028	-0.090	0.165
	<i>P</i>	0.164	0.998	0.606		0.000	0.000	0.000	0.628	0.439	0.805	0.430	0.142
Clusterin rs3087554 A/G	Pearson Correlation	0.131	0.158	-0.017	-0.413**	1	-0.413**	-0.388**	-0.015	0.087	-0.127	-0.108	-0.027
	<i>P</i>	0.246	0.161	0.882	0.000		0.000	0.000	0.896	0.441	0.263	0.339	0.813
Clusterin rs1532278 C/T	Pearson Correlation	-0.157	0.000	-0.059	1.000**	-0.413**	1	0.961**	0.055	0.088	0.028	-0.090	0.165
	<i>P</i>	0.164	0.998	0.606	0.000	0.000		0.000	0.628	0.439	0.805	0.430	0.142
Clusterin rs2279590 C/T	Pearson Correlation	-0.166	-0.031	-0.045	0.961**	-0.388**	0.961**	1	0.023	0.090	0.029	-0.055	0.169
	<i>P</i>	0.140	0.785	0.692	0.000	0.000	0.000		0.842	0.430	0.801	0.629	0.135
Diyabet	Pearson Correlation	0.104	-0.092	0.126	0.055	-0.015	0.055	0.023	1	0.013	-0.061	-0.046	0.115
	<i>P</i>	0.360	0.417	0.266	0.628	0.896	0.628	0.842		0.911	0.590	0.687	0.312
Kalp Hastalığı	Pearson Correlation	-0.021	0.211	-0.184	0.088	0.087	0.088	0.090	0.013	1	-0.091	-0.216	0.036
	<i>P</i>	0.856	0.061	0.103	0.439	0.441	0.439	0.430	0.911		0.421	0.055	0.754
Hipertansiyon	Pearson Correlation	0.052	0.006	0.089	0.028	-0.127	0.028	0.029	-0.061	-0.091	1	-0.290**	0.034
	<i>P</i>	0.646	0.961	0.431	0.805	0.263	0.805	0.801	0.590	0.421		0.009	0.768
Sigara	Pearson Correlation	-0.107	-0.108	0.063	-0.090	-0.108	-0.090	-0.055	-0.046	-0.216	-0.290**	1	0.192
	<i>P</i>	0.347	0.338	0.581	0.430	0.339	0.430	0.629	0.687	0.055	0.009		0.087
İnme	Pearson Correlation	-0.092	-0.078	0.040	0.165	-0.027	0.165	0.169	0.115	0.036	0.034	0.192	1
	<i>P</i>	0.417	0.494	0.723	0.142	0.813	0.142	0.135	0.312	0.754	0.768	0.087	

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Clusterin rs11136000 C/T genotipleri ile rs3087554 A/G genotipleri arasında PEG hastalarında ( $r=-0.425$ ,  $P=0.000$ ), PES hastalarında ( $r=-0.405$ ,  $P=0.000$ ) ve kontrollerde ( $r=-0.413$ ,  $P=0.000$ ) negatif korelasyon görülürken, rs11136000 C/T genotipleri ile rs1532278 C/T (PEG ve kontrol için  $r=1.000$ ,  $P=0.000$ , PES için  $r=0.991$ ,  $P=0.000$ ) ve rs2279590 C/T (PEG için  $r=0.987$ ,  $P=0.000$ , PES için  $r=0.963$ ,  $P=0.000$ , kontrol için  $r=0.961$ ,  $P=0.000$ ) genotipleri arasında ise pozitif korelasyon görülmüştür. Clusterin rs3087554 A/G genotipleri ile rs1532278 C/T genotipleri (PEG için  $r=-0.425$ ,  $P=0.000$ , PES için  $r=-0.401$ ,  $P=0.000$ , kontrol için  $r=-0.413$ ,  $P=0.000$ ) ve rs3087554 A/G genotipleri ile rs2279590 C/T genotipleri (PEG için  $r=-0.430$ ,  $P=0.000$ , PES için  $r=-0.436$ ,  $P=0.000$ , kontrol için  $r=-0.388$ ,  $P=0.000$ ) arasında negatif korelasyon görülmüştür. Clusterin rs1532278 C/T genotipleri ile rs2279590 C/T genotipleri PEG hastalarında ( $r=0.987$ ,  $P=0.000$ ), PES hastalarında ( $r=0.972$ ,  $P=0.000$ ) ve kontrollerde ( $r=0.961$ ,  $P=0.000$ ) ise pozitif korelasyon görülmüştür (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53).

### **3.6 Aköz Humor ve Gözyaşındaki Protein Seviyeleri Arasındaki İlişki**

Hem aköz humor hem de gözyaşı örneği alınmış olan 10 PEG hastası, 11 PES hastası ve 15 kontrol bireyinde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı arasındaki korelasyona bakılmıştır (Tablo 3.54, 3.55 ve 3.56). 3.4.4 kısmında aköz humor örnekleri popülasyonunda ve 3.5.4 kısmında gözyaşı örnekleri popülasyonunda yapılan korelasyon analizlerinde elde edilen sonuçlar ile bu kısımda yapılan analizler benzer sonuçlar vermiştir. PEG hastaları ile kontrollerde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı açısından aköz humor ve gözyaşı örnekleri arasında herhangi bir korelasyon görülmemiştir. PES hastalarında aköz humor clusterin konsantrasyonu ile gözyaşı total protein konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon görülmüştür ( $r=0.733$ ,  $P=0.010$ ) (Tablo 3.55).

Tablo 3.54: PEG hastalarının aköz humor ve gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı korelasyonu.

		Aköz Humor Clusterin Kons.	Aköz Humor Total Protein Kons.	Aköz Humor Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Gözyaşı Clusterin Kons.	Gözyaşı Total Protein Kons.	Gözyaşı Total Protein İçindeki Clusterin Oranı
Aköz Humor Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.559	0.701(*)	-0.186	-0.561	0.271
	<i>P</i>		0.093	0.024	0.606	0.091	0.448
Aköz Humor Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.559	1	-0.149	-0.377	-0.439	-0.190
	<i>P</i>	0.093		0.681	0.282	0.205	0.598
Aköz Humor Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.701(*)	-0.149	1	0.084	-0.332	0.487
	<i>P</i>	0.024	0.681		0.817	0.349	0.154
Gözyaşı Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	-0.186	-0.377	0.084	1	0.754(*)	0.726(*)
	<i>P</i>	0.606	0.282	0.817		0.012	0.017
Gözyaşı Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	-0.561	-0.439	-0.332	0.754(*)	1	0.126
	<i>P</i>	0.091	0.205	0.349	0.012		0.729
Gözyaşı Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.271	-0.190	0.487	0.726(*)	0.126	1
	<i>P</i>	0.448	0.598	0.154	0.017	0.729	

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Tablo 3.55: PES hastalarının aköz humor ve gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı korelasyonu.

		Aköz Humor Clusterin Kons.	Aköz Humor Total Protein Kons.	Aköz Humor Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Gözyaşı Clusterin Kons.	Gözyaşı Total Protein Kons.	Gözyaşı Total Protein İçindeki Clusterin Oranı
Aköz Humor Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	1	0.760(**)	0.627(*)	0.302	0.733(*)	-0.311
	<i>P</i>		0.007	0.039	0.367	0.010	0.352
Aköz Humor Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.760(**)	1	0.144	0.076	0.566	-0.457
	<i>P</i>	0.007		0.672	0.823	0.070	0.158
Aköz Humor Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	0.627(*)	0.144	1	0.124	0.328	-0.129
	<i>P</i>	0.039	0.672		0.716	0.324	0.705
Gözyaşı Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.302	0.076	0.124	1	0.429	0.696(*)
	<i>P</i>	0.367	0.823	0.716		0.188	0.017
Gözyaşı Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation	0.733(*)	0.566	0.328	0.429	1	-0.276
	<i>P</i>	0.010	0.070	0.324	0.188		0.412
Gözyaşı Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation	-0.311	-0.457	-0.129	0.696(*)	-0.276	1
	<i>P</i>	0.352	0.158	0.705	0.017	0.412	

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

\* Korelasyon 0.05 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

Tablo 3.56: Kontrol aköz humor ve gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı korelasyonu.

		Aköz Humor Clusterin Kons.	Aköz Humor Total Protein Kons.	Aköz Humor Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Gözyaşı Clusterin Kons.	Gözyaşı Total Protein Kons.	Gözyaşı Total Protein İçindeki Clusterin Oranı
Aköz Humor Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation <i>P</i>	1	-0.070	0.923(**)	0.267	-0.367	0.453
Aköz Humor Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation <i>P</i>	-0.070	1	-0.356	0.336	0.178	-0.295
Aköz Humor Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation <i>P</i>	0.923(**)	-0.356	1	0.511	0.304	0.286
Gözyaşı Clusterin Konsantrasyonu	Pearson Correlation <i>P</i>	0.267	-0.184	0.207	1	0.285	0.857(**)
Gözyaşı Total Protein Konsantrasyonu	Pearson Correlation <i>P</i>	-0.367	0.284	-0.465	0.285	1	-0.123
Gözyaşı Total Protein İçindeki Clusterin Oranı	Pearson Correlation <i>P</i>	0.453	-0.295	0.462	0.857(**)	-0.123	1

\*\* Korelasyon 0.01 seviyesinde anlamlıdır (2-tailed).

### 3.7 Lojistik Regresyon Analizi

İki değişkenli lojistik regresyon (binary logistic regression) analizi yapılırken tüm analizlerde backward stepwise (likelihood ratio) metodu kullanılmış ve araştırılan parametreler ile farklı modeller oluşturularak analiz yapılmıştır. Yapılan iki değişkenli lojistik regresyon analizinde PEG hastalığı ile kontroller (Model 1.1 ve 2.1) ve PES hastalığı ile kontroller (Model 1.2 ve 2.2) arasındaki ilişkiye bakılmıştır.

Analiz için 2 model oluşturulmuştur. 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm popülasyon (tüm çalışma grubu) için lojistik regresyon analizi Model 1 başlığı altında yapılmıştır. 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan gözyaşı örnekleri popülasyonu için lojistik regresyon analizi ise Model 2 başlığı altında yapılmıştır. Model 2’de Model 1’den farklı olarak gözyaşındaki clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı datası da analize dahil edilmiştir. Her iki modelde de PEG hastalığı ve kontroller ile PES hastalığı ve kontroller arasındaki ilişki ayrı ayrı ele alınmıştır.

İki değişkenli lojistik regresyon analizi için her modelde 3 alt model kullanılmıştır. Bunlar genotipler için toplu (additive) model, dominant model ve resesif modeldir. Bu alt modeller analize tek tek eş değişken olarak eklenerek her birinin etkisine ayrı ayrı

bakılmıştır. Toplu modelde minör alelin (polimorfik alel) homozigot olma durumu, yabancı alelin homozigot olma durumu ve heterozigot olma durumu ayrı ayrı modelde yer almıştır. Dominant modelde minör alelin homozigot ve heterozigot olma durumunun hastalık ile ilişkisine, resesif modelde ise minör alelin homozigot olma durumunun hastalık ile ilişkisine bakılmıştır. Dominant modelde minör alelin dominant, resesif modelde ise minör alelin resesif karakterde olduğu varsayılmıştır.

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için (T minör alel) resesif modelde TT genotipinin CT ve CC genotipine göre, dominant modelde TT ve CT genotipinin CC genotipine göre, toplu modelde ise her bir genotipin hastalık ile ilişkisine bakılmıştır. Clusterin rs3087554 A/G için ise (G minör alel) resesif modelde GG genotipinin AG ve AA genotipine göre, dominant modelde GG ve AG genotipinin AA genotipine göre, toplu modelde ise her bir genotipin hastalık ile ilişkisi incelenmiştir.

Eş değişken olarak atanan parametreler için lojistik regresyon analizinden önce eş lineerlik istatistiği (collinearity statistics) yapılmış ve eş lineerlik görülen parametreler hep beraber değil, her seferinde biri modele eklenerek analiz edilmiştir. Tüm modellerde clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik göstermiştir. Bu nedenle bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir.

### **MODEL 1: Tüm popülasyon**

Bu modelde 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrolden oluşan tüm popülasyonda incelenen 4 clusterin SNP'sinin genotipleri, cinsiyet ile diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara gibi risk faktörleri incelenmiştir. Bu popülasyondaki PEG hastalığı ile kontroller arasında analizler Model 1.1 altında yapılırken ve PES hastalığı ile kontroller arasındaki analizler Model 1.2 altında yapılmıştır.

#### **Model 1.1: Tüm popülasyonda PEG vs. Kontrol**

Bu modelin 3 alt modelinde de PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu eş değişken olarak atanmıştır. Her alt modelde bu eş



değişkenlere ek olarak incelenen clusterin genetik polimorfizmlerinin genotip bilgileri de alt model içeriğine uygun olarak eş değişken olarak eklenmiştir.

### **Model 1.1.1: Toplu genotip modeli**

Bu modelde PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerin her bir genotipi ayrı ayrı belirtilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Bölüm 3.7'de de belirtildiği gibi rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir.

Bu modelin sonuçlarına göre cinsiyet PEG için belirleyici olarak bulunmuştur (OR=1.761, %95 CI=1.198-2.589,  $P=0.004$ ). Erkek olmak PEG ile 1.8 kat ilişkilidir (Tablo 3.57). Bu model vakaların %57.7'sini doğru tahmin etmiş ve Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testi de modelin kalibrasyonunun güvenilir olduğunu göstermiştir (chi-square=0.001, 1 degrees of freedom,  $P=0.978$ ).

Tablo 3.57: Model 1.1: Tüm popülasyonda PEG hastalığı risk faktörlerinin toplu, dominant ve resesif genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi.

<b>Parametre</b>	<b>OR</b>	<b>%95 CI</b>	<b>P</b>
Cinsiyet (erkek)	1.761	1.198-2.589	0.004

### **Model 1.1.2: Dominant genotip modeli**

Bu modelde PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot ve heterozigot olma durumu birlikte riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Bu modelde toplu genotip modelindekiyle birebir aynı sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 3.57).

### **Model 1.1.3: Resesif genotip modeli**

Bu modelde PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile

incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Bu modelde de toplu genotip modelindekiyle birebir aynı sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 3.57).

Genel olarak Model 1.1, PEG için belirleyici faktör olarak sadece cinsiyeti göstermiştir ve erkek olmak PEG ile 1.8 kat ilişkilidir (Tablo 3.57).

### **Model 1.2: Tüm popülasyonda PES vs. Kontrol**

Bu modelin 3 alt modelinde de PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu eş değişken olarak atanmıştır. Her alt modelde bu eş değişkenlere ek olarak incelenen clusterin genetik polimorfizmlerinin genotip bilgileri de alt model içeriğine uygun olarak eş değişken olarak eklenmiştir.

#### **Model 1.2.1: Toplu genotip modeli**

Bu modelde PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelen tüm SNP'lerin her bir genotipi ayrı ayrı belirtilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Bölüm 3.7'de de belirtildiği gibi rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. PES hastalığı ile ilişkili herhangi bir parametre bulunmamıştır.

#### **Model 1.2.2: Dominant genotip modeli**

Bu modelde PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot ve heterozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. PES hastalığı ile ilişkili herhangi bir parametre bulunmamıştır.

### **Model 1.2.3: Resesif genotip modeli**

Bu modelde PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. PES hastalığı ile ilişkili herhangi bir parametre bulunmamıştır.

Genel olarak Model 1.2'de PES hastalığı ile ilişkili herhangi bir parametre bulunmamıştır.

### **MODEL 2: Gözyaşı örnekleri popülasyonu**

Bu modelde 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan gözyaşı örnekleri popülasyonunda clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, 4 clusterin SNP'sinin genotipleri, cinsiyet ile diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara gibi risk faktörleri incelenmiştir. Bu popülasyondaki PEG hastalığı ile kontroller arasında analizler Model 2.1 altında yapılırken ve PES hastalığı ile kontroller arasındaki analizler Model 2.2 altında yapılmıştır.

#### **Model 2.1: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG vs. Kontrol**

Bu modelin 3 alt modelinde de PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu eş değişken olarak atanmıştır. Her alt modelde bu eş değişkenlere ek olarak incelenen clusterin genetik polimorfizmlerinin genotip bilgileri de alt model içeriğine uygun olarak eş değişken olarak eklenmiştir.

##### **Model 2.1.1: Toplu genotip modeli**

Bu modelde PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerin her bir genotipi ayrı ayrı belirtilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Bölüm 3.7'de de belirtildiği gibi rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve

rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Ayrıca clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da eş lineerlik gösterdiğinden bu parametrelerin her biri de incelendiklere modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir.

İncelenen toplu genotip modeline göre PEG ile erkek olmak ~2.0 kat (Eş lineer clusterin rs11136000 ve rs1532278 ayrı ayrı eklendiğinde OR=2.051, %95 CI=1.071-3.928,  $P=0.030$ ; eş lineer clusterin rs2279590 ayrı olarak eklendiğinde OR=1.992, %95 CI=1.046-3.792,  $P=0.036$ ) ilişkilidir. PEG için clusterin rs11136000 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~3.0 kat (OR=2.989, %95 CI=1.224-7.300,  $P=0.016$ ) ve CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~3.4 kat (OR=3.436, %95 CI=1.446-8.165,  $P=0.005$ ) ilişkili görülmüştür. Clusterin rs1532278 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ve CT genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında da rs11136000 C/T SNP ile aynı oranlarda PEG ile ilişkili bulunmuştur. PEG için clusterin rs2279590 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~2.7 kat (OR=2.702, %95 CI=1.120-6.533,  $P=0.027$ ) ve CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~2.6 kat (OR=2.645, %95 CI=1.135-6.165,  $P=0.024$ ) ilişkili görülmüştür (Tablo 3.58).

Tablo 3.58: Model 2.1.1: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG hastalığı risk faktörlerinin toplu genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi.

Parametre	OR	%95 CI	P
Cinsiyet (erkek) (Eş lineer clusterin rs11136000 ve rs1532278 ayrı ayrı eklendiğinde)*	2.051	1.071-3.928	0.030
Clusterin rs11136000 ve rs1532278 için CC genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında*	2.989	1.224-7.300	0.016
Clusterin rs11136000 ve rs1532278 için CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında*	3.436	1.446-8.165	0.005
Cinsiyet (erkek) (Eş lineer clusterin rs2279590 ayrı olarak eklendiğinde)	1.992	1.046-3.792	0.036
Clusterin rs2279590 için CC genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında	2.706	1.120-6.533	0.027
Clusterin rs2279590 için CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında	2.645	1.135-6.165	0.024

\*Eş lineer clusterin rs11136000 C/T SNP modele eklendiğinde elde edilen değerler, clusterin rs1532278 C/T SNP modele eklendiğinde çıkan sonuçlarla birebir aynı olduğundan tek bir satırda belirtilmişlerdir.

Bu model clusterin rs11136000 C/T SNP modele eklendiğinde ve clusterin rs1532278 C/T SNP modele eklendiğinde vakaların %65.6'sını doğru tahmin etmiş ve Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testi de modelin kalibrasyonunun güvenilir olduğunu göstermiştir (chi-square=7.957, 4 degrees of freedom,  $P=0.093$ ). Bu model clusterin rs2279590 C/T SNP modele eklendiğinde vakaların %63.8'ini doğru tahmin etmiş ve Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testi de modelin kalibrasyonunun güvenilir olduğunu göstermiştir (chi-square=3.825, 4 degrees of freedom,  $P=0.430$ ).

### **Model 2.1.2: Dominant genotip modeli**

Bu modelde PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot ve heterozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Ayrıca clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da eş lineerlik gösterdiğinden bu parametrelerin her biri de incelendiklere modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir.

İncelenen dominant genotip modeline göre PEG ile erkek olmak ~2.1 kat (OR=2.058, %95 CI=1.083-3.911,  $P=0.028$ ) ilişkili bulunmuştur. Clusterin rs3087554 A/G için GG ve AG genotipi PEG ile ~2.4 kat (OR=2.365, %95 CI=1.132-4.944,  $P=0.022$ ) ilişkilidir (Tablo 3.59). AA genotipi PEG için ~2.4 kat koruyucu görünmektedir. Bu model vakaların %62.5'ini doğru tahmin etmiş ve Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testi de modelin kalibrasyonunun güvenilir olduğunu göstermiştir (chi-square=1.134, 2 degrees of freedom,  $P=0.567$ ).

Tablo 3.59: Model 2.1.2: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG hastalığı risk faktörlerinin dominant genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi.

<b>Parametre</b>	<b>OR</b>	<b>%95 CI</b>	<b>P</b>
Cinsiyet (erkek)	2.058	1.083-3.911	0.028
Clusterin rs3087554 için GG ve AG genotipi ile AA genotipi kıyaslandığında	2.365	1.132-4.944	0.022

### Model 2.1.3: Resesif genotip modeli

Bu modelde PEG hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Ayrıca clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da eş lineerlik gösterdiğinden bu parametrelerin her biri de incelendiklere modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir.

İncelenen resesif genotip modeline göre PEG ile erkek olmak ~2.0 kat (Eş lineer clusterin rs11136000 ve rs1532278 ayrı ayrı eklendiğinde OR=2.054, %95 CI=1.073-3.932,  $P=0.030$ ; eş lineer clusterin rs2279590 ayrı olarak eklendiğinde OR=1.990, %95 CI=1.046-3.786,  $P=0.036$ ) ilişkilidir. PEG için clusterin rs11136000 C/T SNP'sinde CT ve CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~3.2 kat (OR=3.226, %95 CI=1.451-7.174,  $P=0.004$ ) ilişkili görülmüştür. Clusterin rs1532278 C/T SNP'sinde CT ve CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında da rs11136000 C/T SNP ile aynı oranlarda PEG ile ilişkili bulunmuştur. PEG için clusterin rs2279590 C/T SNP'sinde CT ve CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~2.7 kat (OR=2.672, %95 CI=1.222-5.840,  $P=0.014$ ) ilişkili görülmüştür (Tablo 3.60).

Tablo 3.60: Model 2.1.3: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG hastalığı risk faktörlerinin resesif genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi.

Parametre	OR	%95 CI	P
Cinsiyet (erkek) (Eş lineer clusterin rs11136000 ve rs1532278 ayrı ayrı eklendiğinde)*	2.054	1.073-3.932	0.030
Clusterin rs11136000 ve rs1532278 için CT ve CC genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında*	3.226	1.451-7.174	0.004
Cinsiyet (erkek) (Eş lineer clusterin rs2279590 ayrı olarak eklendiğinde)	1.990	1.046-3.786	0.036
Clusterin rs2279590 için CT ve CC genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında	2.672	1.222-5.840	0.014

\*Eş lineer clusterin rs11136000 C/T SNP modele eklendiğinde elde edilen değerler, clusterin rs1532278 C/T SNP modele eklendiğinde çıkan sonuçlarla birebir aynı olduğundan tek bir satırda belirtilmiştir.

Resesif genotip modeli clusterin rs11136000 C/T SNP modele eklendiğinde ve clusterin rs1532278 C/T SNP modele eklendiğinde vakaların %65.6'sını doğru tahmin etmiştir. Bu model clusterin rs2279590 C/T SNP modele eklendiğinde ise vakaların %63.8'ini doğru tahmin etmiş ve Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testi de modelin kalibrasyonunun güvenilir olduğunu göstermiştir (chi-square=3.790, 2 degrees of freedom,  $P=0.150$ ).

Genel olarak Model 2.1'in tüm alt modellerinde PEG ile erkek olmak ~2 kat ilişkili çıkmıştır. Ayrıca PEG ile Model 2.1.1'de clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için CT genotipi ve CC genotipi ayrı ayrı TT genotipi ile kıyaslandığında ~3 kat, Model 2.1.2'de clusterin rs3087554 A/G için GG ve AG genotipi AA genotipi ile kıyaslandığında ~2.4 kat ve Model 2.1.3'te clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için CT ve CC genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ~3 kat ilişkili bulunmuştur (Tablo 3.58, 3.59 ve 3.60).

### **Model 2.2: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PES vs. Kontrol**

Bu modelin 3 alt modelinde de PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu eş değişken olarak atanmıştır. Her alt modelde bu eş değişkenlere ek olarak incelenen clusterin genetik polimorfizmlerinin genotip bilgileri de alt model içeriğine uygun olarak eş değişken olarak eklenmiştir.

#### **Model 2.2.1 Toplu genotip modeli**

Bu modelde PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelen tüm SNP'lerin her bir genotipi ayrı ayrı belirtilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Bölüm 3.7'de de belirtildiği gibi rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Ayrıca clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da eş lineerlik gösterdiğinden bu parametrelerin her biri de incelendiklere modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir.

İncelenen toplu genotip modeline göre PES ile erkek olmak ~2.2 kat (OR=2.169, %95 CI=1.126-4.180,  $P=0.021$ ) ilişkilidir (Tablo 3.61). Bu model vakaların %62.7'sini doğru tahmin etmiş ve Hosmer-Lemeshow goodness-of-fit testi de modelin kalibrasyonunun güvenilir olduğunu göstermiştir (chi-square=0.867, 3 degrees of freedom,  $P=0.833$ ).

Tablo 3.61: Model 2.2: Gözyaşı örnekleri popülasyonunda PES hastalığı risk faktörlerinin toplu, dominant ve resesif genotip modelinde iki değişkenli lojistik regresyon analizi.

Parametre	OR	%95 CI	P
Cinsiyet (erkek)	2.169	1.126-4.180	0.021

### Model 2.2.2 Dominant genotip modeli

Bu modelde PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot ve heterozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Ayrıca clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da eş lineerlik gösterdiğinden bu parametrelerin her biri de incelendiklere modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Bu model toplu genotip modelindekiyle birebir aynı sonuçları vermiştir (Tablo 3.61).

### Model 2.2.3 Resesif genotip modeli

Bu modelde PES hastalığı ile kontrol olma durumu bağımlı değişken olarak atanırken, clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı, cinsiyet, diyabet, kalp hastalığı, hipertansiyon, inme ve sigara kullanma durumu ile incelenen tüm SNP'lerde minör alelin homozigot olma durumu riskli genotip olarak değerlendirilerek eş değişken olarak eklenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik gösterdiği için bu SNP'lerin her biri incelendikleri modele diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Ayrıca clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı da eş lineerlik gösterdiğinden bu parametrelerin her biri de incelendiklere modele



diğer parametreler ile beraber ayrı ayrı eklenmişlerdir. Bu model toplu modeldekiyle birebir aynı sonuçları vermiştir (Tablo 3.61).

Genel olarak Model 2.2 PES için belirleyici faktör olarak cinsiyeti göstermiştir. PES ile erkek olmak ~2.2 kat ilişkilidir (Tablo 3.61).





#### 4. TARTIŞMA

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES), yaşa bağılı olarak gelişen, hücre dışı matrikste lifsi materyallerin hem oküler dokularda hem de çeşitli iç organlarda birikmesi ile karakterize edilen sistemik bir bozukluktur (Andrikopoulos vd., 2014). Psödoeksfoliasyon sebebiyle oluşan glokoma psödoeksfoliatif glokom (PEG) adı verilir ve PEG tedavi edilmediğinde körlüğe sebep olabilmektedir. Psödoeksfoliasyon materyalini aspire ederek temizlemeyi hedefleyen operasyonlar sonrasında aynı patolojik birikimlerin yeniden oluşması nedeniyle bu sendromun kesin tedavisi henüz yoktur (Jacobi vd., 1999). PEG ve glokom tedavisinde ise görme kaybını önlemeyi veya geri döndürmeyi sağlayacak bir tedavi yapılamamakta, yalnızca gözdeki basıncın düşürülmesi hedeflenmektedir. Bu sebeple glokom gelişme riski olan PES hastalarının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır.

PES materyali birikimi ve toplumda PES görülme sıklığı yaşa bağılı olarak artmaktadır (Mitchell vd., 1999). PES nadiren 50 yaşından önce görülür ve görülme sıklığı yaşla birlikte giderek artmaktadır. Bununla birlikte, normal yaşlanmanın bir parçası değildir (Bhat, 2010). Toplumların yaş ortalaması gittikçe artmaktadır ve bu sebeple PEG ve PES'in gelecekte daha sık görüleceği düşünülmektedir.

Her ne kadar dünyanın her bölgesinde meydana gelse de PEG ve PES'in görülme sıklığında önemli ırk varyasyonları vardır. Aynı ülkenin değişik etnik bölgelerinde de PEG ve PES prevalansı farklı sonuçlar verebilmektedir (Tablo 1.1 ve 1.2).

Clusterin hemen hemen tüm hücre tiplerinde üretilen, salgılanan ve PES materyalinde biriken çok fonksiyonlu bir glikoproteindir. Hücresel stres durumlarında, yanlış katlanmış proteinlerin stresle tetiklenen çökmesi ve yığılmasının önlenmesini sağlar (Zenkel vd., 2006). PES hastalarının iris, lens ve silier proses dokularında clusterin mRNA'sının aşağı düzenlemeye uğradığı gösterilmiştir (Zenkel vd., 2005). Hem PES hem de PEG'li gözlerde ön segment dokularda clusterin mRNA'sının önemli derecede aşağı düzenlemeye uğradığı, arka segment dokularda ise ifade seviyesinde farklılık olmadığı gözlenmiştir (Zenkel vd., 2006). Yapılan in vitro çalışmalarda ısı şoku ve

oksidatif stres gibi hücrel stres durumlarında clusterin ifadesinin indüklendiği görülmüştür (Viard vd., 1999). PES hastalarında gözün ön kamarasındaki oksidatif ortam (Koliakos vd., 2003) nedeniyle protein yanlış katlanmalarının meydana gelebileceği, clusterin ifadesinin de azalmış olmasının sonucunda protein birikiminin arttığı ve PES’de görülen karakteristik patolojik birikimi meydana getirdiği önerisi getirilmiştir (Zenkel vd., 2006). Oksidatif strese rağmen clusterin ifadesinin düşük olması, bize bu patolojide clusterin seviyelerinin düşük olmasına neden olan bazı başka faktörlerin de devrede olabileceğini düşündürmüştür. Bu faktörlerin arasında düşük ifade edilme seviyesine neden olan genetik polimorfizmler olabilir. Bu çalışma PEG ve PES riski ile clusterin genetik polimorfizmleri ve aköz humor ile gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlamıştır.

### **Çalışma grubunun demografik bilgileri**

Bu çalışma kapsamındaki 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyin tam kan örnekleri ile clusterin genetik polimorfizmlerinin genotiplenmeleri yapılmıştır. Bu çalışma grubunun içindeki 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrolün aköz humor örneği ile 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrolün gözyaşı örneği ise clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı analizleri için kullanılmıştır.

PES materyali birikimi ve toplumda PEG ve PES görülme sıklığı yaşa bağlı olarak artmaktadır (Mitchell vd., 1999). PES nadiren 50 yaşından önce görülür ve görülme sıklığı yaşla birlikte giderek artmaktadır (Jonasson vd., 2003; Leibowitz vd., 1980; Forsius, 1988; Ekström, 1987). Yaştaki artış ile PEG ve PES hastalığı arasında anlamlı bir ilişki vardır (Caprioli ve Spaeth, 1985; Jonasson vd., 2003; Leibowitz vd., 1980; Forsius, 1988; Ekström, 1987; Mitchell vd., 1999). Yaş ile beraber bu hastalıkların görülme olasılıkları artmaktadır. Bu çalışma grubundaki yaş ortalaması PEG hastalarında 73.41, PES hastalarında 72.01 ve kontrollerde 72.06 olarak belirlenmiştir ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (Tablo 3.1). Gruplar arasındaki yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmamasına özellikle dikkat edilmiştir. Bu şekilde incelenen clusterin genetik polimorfizmlerinin genotip frekansları ile protein konsantrasyonları yaştan etkilenmemiştir.

PEG ve PES kapsamında cinsiyet dağılımı ile ilgili pek çok tartışma mevcuttur. Bazı çalışmalarda cinsiyet farkı olmadığı bildirilmiş (Yalaz vd., 1992) ve bazılarında

kadınlarda (Mitchell vd., 1999; Kozart ve Yanoff, 1982; Karger vd., 2003), bazılarında ise erkeklerde (Kozobolis vd., 1997; Challa, 2009; Stein vd., 2011; Mccarty ve Taylor, 2000) yüksek prevalans bulunmuştur. Bazı çalışmalar PES ile kadınlar arasında (Arnarsson vd., 2007; Hiller vd., 1982), bazı çalışmalar PES ile erkekler arasında (Kozobolis vd., 1999) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bildirirken, bazı çalışmalarda PES ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Mccarty ve Taylor, 2000). Yüksel ve arkadaşları (2001) da PEG ve PES hastalığı ile kontroller arasında cinsiyet karşılaştırması yaptıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamıştır. Bu çalışmada PEG hastalarında bulunan erkek birey sayısı kontrollerden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ( $P=0.005$ ). Erkek bireyler kontrollere kıyasla PEG hastalarında ~1.7 kat kadar daha çok görülmektedir. PEG ve PES hastalarında erkeklerin kadınlara oranı biraz daha yüksekken, kontrollerde daha düşüktür. PEG hastalarının %59.15'i, PES hastalarının %53.57'si ve kontrollerin %45.58'i erkektir (Tablo 3.2). Yapılan lojistik regresyon analizi de erkek olmak ile PEG hastalığının ~2 kat ilişkili olduğunu göstermiştir (Tablo 3.57, 3.58, 3.59, 3.60 ve 3.61).

Çalışma grubunda bazı risk faktörleri de incelenmiştir. PES ve diyabet hastalığının patofizyolojisinde kolajen metabolizmasındaki değişikliklerin rol aldığı düşünülmektedir ve bu yönüyle iki hastalık benzerlik göstermektedir (Sollosy, 2004). Bu çalışmada PES hastalarında diyabet görülme sıklığı (%27.57), PEG hastaları (%25.35) ve kontrollerinkinden (%26.05) biraz fazla görülmüş ve bu gruplar ile diyabet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.2). Yapılan çalışmalarda da bu çalışmaya benzer şekilde PEG veya PES hastalığı ile diyabet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Allingham vd., 2001; Topouzis vd., 2011; Miyazaki vd. 2005; Brajković vd., 2007; Jonas ve Gründler, 1998; Tarkkanen vd. 2008). Bu çalışmalarda diyabet en fazla kontrollerde, daha sonra PES hastalarında, en düşük ise PEG hastalarında görülmüştür (Topouzis vd., 2011; Psilas vd., 1991; Shapoori vd., 2007; Miyazaki vd. 2005; Brajković vd., 2007; Shingleton vd. 2003; Jonas ve Gründler, 1998; Tarkkanen vd. 2008). Yapılan bir çalışmada, diyabetik retinopatili (diyabet kaynaklı retina hastalığı) kişilerde, diyabetik olmayan veya retinopatisi olmayan diyabetik hastalara göre PES'in daha az görüldüğü tespit edilmiştir. Aynı zamanda PES ile diabetes mellitus arasında negatif korelasyon saptanmıştır (Psilas vd., 1991).

Hipertansiyon hastalığının patofizyolojisinde oksidatif stres sebebiyle meydana gelen vasküler hasar görülmektedir (Montezano vd., 2015; Grossman, 2008). PEG ve PES hastalıklarında da biriken psödoeksfoliatif materyalin oksidatif stres kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda hipertansiyon ile PES arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunurken (Mitchell vd., 1997; Shingleton vd., 2003; Jonas ve Gründler, 1998; Topouzis vd., 2011), hipertansiyon ile PEG arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Tarkkanen vd., 2008). Mitchell ve arkadaşlarının (1997) çalışmasında PEG ve PES hastalığı ile hipertansiyon arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Yapılan pek çok çalışmada hipertansiyon hastalığının PEG ve PES hastalarında görülme sıklığı kontrollerdekinden daha fazla bulunmuştur (Miyazaki vd. 2005; Brajković vd., 2007; Mitchell vd., 1997; Topouzis vd., 2011). Bu sonuçlarla benzer şekilde bizim çalışmamızda da hipertansiyon hastalığı bulunan PEG hastaları %49.30 oranındayken, PES hastaları %48.60 ve kontroller %47.91 oranındadır, fakat aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Tablo 3.2).

Psödoeksfoliasyon materyali yalnızca oküler dokularda değil, kalp, akciğer, karaciğer, safra kesesi, atardamarlar gibi hemen hemen tüm organ ve dokularda birikim yaparak zarar verir (Schlötzer-Schrehardt vd., 1992; Streeten vd., 1992). Ancak yapılan çalışmalarda PES hastalarında kalp hastalığı kontrollere göre daha az görülmüştür ve PES ile kalp hastalığı arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir (French vd., 2012; Brajković vd., 2007; Ritland vd., 2004). Bazı çalışmalar PEG hastalarında kalp hastalığının PES hastalarından daha sık görüldüğünü bildirseler de PEG ile kalp hastalığı arasında da anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Topouzis vd., 2011; Tarkkanen vd., 2008). Bu çalışma da diğer çalışmalara benzer şekilde incelenen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.2).

İnme beyne kan akımını sağlayan damarlardan birinin aniden tıkanmasıyla birlikte, beyne giden kan akımının gidişinin yavaşlaması ya da durması sonucunda meydana gelmektedir ve daha önce de belirtildiği gibi psödoeksfoliasyon materyali yalnızca oküler dokularda değil, kalp, akciğer, karaciğer, safra kesesi, atardamarlar gibi hemen hemen tüm organ ve dokularda birikim yaparak zarar verir (Schlötzer-Schrehardt vd., 1992; Streeten vd., 1992. Mitchell ve arkadaşlarının (1997) yaptığı çalışmaya göre PES hastalarında inme hastalığı görülme sıklığı kontrollerden fazladır ve aralarında

istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur; ayrıca PES hastalığı ile inme arasında pozitif korelasyon görülmüştür (Mitchell vd., 1997). Daha önce PEG hastalarında inme hastalığını inceleyen bir çalışma yapılmamıştır. Yapılan bu çalışmada ise Mitchell ve arkadaşlarının (1997) aksine incelenen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.2).

Yapılan çalışmalarda sigara kullanma durumu ile PEG ve PES hastalığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Topouzis vd., 2011; Gökce ve Gökce, 2015). Špečkauskas ve arkadaşlarının (2012) çalışmasına göre uzun süreli sigara kullanımının PES riskini arttırdığı görülmüştür. Bizim çalışmamızdaki PEG hastalarının %14.08'i, PES hastalarının %14.49'u ve kontrollerin %18.14'ü sigara kullanmaktadır ve aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.2).

Özetle, incelenen risk faktörlerin hiçbirinin PEG ve PES hastaları ile kontrollerde görülme sıklıklarının anlamlı derecede farklı olmadığı görülmüştür. Erkek bireyler kontrollere kıyasla PEG hastalarında ~1.7 kat kadar daha çok görülmüştür ve yapılan lojistik regresyon analizi de erkek olmak ile PEG hastalığının ~2 kat ilişkili olduğunu göstermiştir (Tablo 3.2, 3.57, 3.58, 3.59 ve 3.60).

### **Clusterin genetik polimorfizmleri için Hardy-Weinberg dengesi**

Genel olarak tüm SNP'lerin hasta gruplarındaki genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesine uyumluyken, clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin kontroller için genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesine uyumlu değildir. Bunun çeşitli sebepleri olabilir. Göç sebebiyle bir popülasyona diğer bir popülasyondan alel girişi olduğu için alel sıklığında değişim görülmüş olabilir. Diğer bir sebep ise genetik sapma/kayma olabilir. Genetik sapma popülasyonun küçüklüğü, kurucu etkisi (bir popülasyonun az sayıda birey tarafından oluşturulmuş olması) ve darboğaz etkisi (popülasyonda ciddi azalmalar) ile oluşur. Genetik sapma bir popülasyonda alel sıklığında değişime, alellerin sabitlenmesi nedeniyle genetik çeşitliliğin kaybına ve popülasyonlar arasında genetik ayrışmaya (divergence) neden olur. Ayrıca Hardy-Weinberg kanunu sonsuz geniş bir popülasyonda tesadüfi çiftleşmeyi esas alır. Popülasyonun büyüklüğü ancak sonsuz olduğunda gametlerin taşıdığı genler atasal gen havuzunu bütünüyle yansıtacaktır. Ancak hiçbir gerçek popülasyon bu duruma uymaz (URL-21).

## **Clusterin genetik polimorfizmlerin etnik dağılımı ve bu polimorfizmlerin PEG ve PES riski ile ilişkisi**

Genel olarak clusterin genetik polimorfizmlerinin etnik dağılımı hem PEG ve PES hastalarında hem de bu hastalıklarla patofizyolojik olarak benzer diğer hastalıklarda varyasyon göstermektedir. Aynı ülkede bile aynı alel, farklı frekanslarda görülebilmektedir. Bu çalışma kapsamında clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532287 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri ile çalışılmıştır.

### ***Clusterin rs11136000 C/T***

Clusterin rs11136000 C/T için gMAF (global minör alel frekansı) değeri T=0.378 olarak verilmektedir ve polimorfik alelinin (minör alel T) frekansı farklı toplumlarda sıfır ile 1 arasında değişmektedir (URL-10). gMAF değeri Avrupalı ve ABD'lilerde 0.400 (Harold vd., 2009), Çinli Han popülasyonunda ise 0.186 olarak tespit edilmiştir (Lu vd., 2014). Tablo 4.1'de farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs11136000 C/T polimorfik alel frekansları ve *P* değerleri verilmiştir. Bu tabloya PEG ve PES hastalığı dışında patofizyolojik olarak bu hastalıklarla benzer olabilecek diğer hastalıklardan elde edilen değerler de eklenmiştir. Clusterin, Alzheimer hastalığında ve hafif bilişsel bozuklukta (mild cognitive impairment-MCI) görülen protein birikimleri ve beyin atrofisi ile ilişkilidir ve psödoeksfoliyasyon sendromu da Alzheimer gibi hastalıklar ile benzer patofizyolojik süreçlere sahip olduğu için psödoeksfoliyasyon materyalinin oluşumunda da clusterin proteininin rolü olabileceği düşünülmüştür (Cai vd., 2016). Alzheimer ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda hastalıkla ilişkisi en fazla tespit edilen clusterin genetik polimorfizmi rs11136000 C/T olmuştur (Harold vd., 2009; Lambert vd., 2009; Chen vd., 2012). Yapılan çalışmalarda bu SNP'nin PEG ve PES ile ilişkisi bulunmamıştır. Buna benzer diğer hastalıklardaki minör alel frekansları ise Tablo 4.1'de verilmiştir.

Bu çalışmada PEG grubunda rs11136000 C/T için minör alel olan T aleli frekansı 0.387, PES grubunda 0.409 ve kontrollerde ise 0.416 olarak bulunmuştur ve hem aleller hem de genotipler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.3, 3.4 ve 4.1). Lojistik regresyon analizine göre ise gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG ile clusterin rs11136000 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~3.0 kat ( $P=0.016$ ) ve CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~3.4 kat ( $P=0.005$ ) ilişki görülmüştür (Tablo 3.58). CT ve CC



genotipi beraber TT genotipi ile kıyaslandığında ise PEG ile ~3.2 kat ilişkili görülmüştür ( $P=0.004$ ) (Tablo 3.60). Bu sonuçlara göre C aleli varlığının rs11136000 C/T SNP için PEG ve PES hastalığı ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Clusterin rs11136000 C/T polimorfizmi clusterin genindeki 3. intronda yer almaktadır ve intronlarda bulunan polimorfizmler splays (intronların uzaklaştırılarak eksonların birleştirilmesi) işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozarak düzgün proteinin üretilmesine engel olabilmektedir. C aleline sahip olmak splays işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozmuş ve bu da clusterin üretiminin azalmasına sebep olmuş olabilir. Bu sebeple bu hastalıklarda gözlenen karakteristik psödoeksfoliatif materyal birikimleri oluşuyor olabilir.

Tablo 4.1: Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs11136000 C/T polimorfik alel frekansları.

Yayın	Hastalık	Popülasyon	T alel frekansı		P
			Hasta	Kontrol	
Bu çalışma	PEG	Türk	0.387	0.416	0.388
	PES	Türk	0.409	0.416	0.826
Kılıçarslan vd., 2017	PEG	Türk	0.325	0.405	0.090
Burdon vd., 2008	PES	Avustralya (Blue Mountain) – çoğunluğu Kuzey batı Avrupa kökenli	0.470	0.400	0.061
Krumbiegel vd., 2009	PES	Alman	0.602	0.660	0.096
Fan vd., 2015	PES	Amerikalı	0.370	0.360	0.710
	PES	İsrailli	0.370	0.380	
Dubey, 2015	PEG	Güney Hindistanlı	0.258	0.279	0.535
	PES	Güney Hindistanlı	0.230	0.279	0.134
	PEG+PES	Güney Hindistanlı	0.244	0.279	0.203
Jun vd., 2010	Alzheimer	Beyaz ırk	0.430	–	0.010
Harold vd., 2009	Alzheimer	Avrupalı ve Amerikalı	–	0.400	$8.5 \times 10^{-10}$
Lu vd., 2014	Alzheimer	Çinli Han	0.187	0.186	0.941
Lambert vd., 2009	Alzheimer	Fransız	0.350	0.380	$7.5 \times 10^{-9}$
Chen vd., 2012	Alzheimer	Güney Çinli	0.213	0.240	0.038
M. Mullan vd., 2013	Alzheimer	Kuzey İrlandalı	0.451	0.412	0.930
	MCI <sup>a</sup>	Kuzay İrlandalı	0.414	0.412	0.960
Cai vd., 2016	MCI <sup>a</sup>	Çinli Han	0.167	0.219	0.153
Alaylıoğlu vd., 2016	LOAD <sup>b</sup>	Türk	0.347	0.367	0.591
Yu vd., 2010	LOAD <sup>b</sup>	Çinli Han	0.167	0.193	0.194

<sup>a</sup>MCI: Mild Cognitive Impairment (hafif bilişsel bozukluk). <sup>b</sup>LOAD: Late-Onset Alzheimer Disease

Bu çalışmada PEG grubunda rs11136000 C/T için minör alel olan T aleli frekansı 0.387, PES grubunda 0.409 ve kontrollerde ise 0.416 olarak bulunmuştur ve hem aleller hem de genotipler açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.3, 3.4 ve 4.1). Lojistik regresyon analizine göre ise gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG ile clusterin rs11136000 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~3.0 kat ( $P=0.016$ ) ve CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~3.4 kat ( $P=0.005$ ) ilişki görülmüştür (Tablo 3.58). CT ve CC genotipi beraber TT genotipi ile kıyaslandığında ise PEG ile ~3.2 kat ilişkili görülmüştür ( $P=0.004$ ) (Tablo 3.60). Bu sonuçlara göre C aleli varlığının rs11136000 C/T SNP için PEG ve PES hastalığı ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Clusterin rs11136000 C/T polimorfizmi clusterin genindeki 3. intronda yer almaktadır ve intronlarda bulunan polimorfizmler splays (intronların uzaklaştırılarak eksonların birleştirilmesi) işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozarak düzgün proteinin üretilmesine engel olabilmektedir. C aleline sahip olmak splays işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozmuş ve bu da clusterin üretiminin azalmasına sebep olmuş olabilir. Bu sebeple bu hastalıklarda gözlenen karakteristik psödoeksfoliatif materyal birikimleri oluşuyor olabilir.

PEG grubundaki clusterin rs11136000 C/T için T alel frekansı yine Türk popülasyonunda yapılan bir diğer çalışma ile oldukça benzer sonuçlar vermiştir (PEG: 0.325, Kontrol: 0.405) (Kılıçarslan vd., 2017) (Tablo 4.1). Kılıçarslan ve arkadaşlarının (2017) çalışmasına göre CC genotipi TT ve CT genotiplerine göre PEG hastalarında kontrollere oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmüştür ( $P=0.03$ ).

Güney Hindistan'da ise PEG hastalığında T alel frekansı Türk popülasyonuna kıyasla daha düşüktür (0.258) (Dubey, 2015). Fan ve arkadaşlarının (2015) İsrail popülasyonunda PES hastalığı ile ilgili yaptıkları çalışmada (PES: 0.370, Kontrol: 0.380) bu çalışmadakine yakın sonuçlar elde edilmiş ve bu çalışmadaki gibi PES grubundaki T alel frekansı kontrollere göre düşük bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalar bu çalışmaya oranla ya daha yüksek (Burdon vd., 2008; Krumbiegel vd., 2009) ya da daha düşük (Dubey, 2015) frekanslar verirken, bazılarında PES grubunda kontrollere kıyasla daha düşük frekans (Krumbiegel vd., 2009; Fan vd., 2015; Dubey, 2015), bazılarında ise daha yüksek frekans görülmüştür (Burdon vd., 2008; Fan vd.,

2015). Örneğin Burdon ve arkadaşlarının (2008) çalışmasında rs11136000 C/T incelenmiş, T alel frekansı bu çalışmanın aksine PES hastalarında kontrollerden yüksek bulunmuştur; ancak aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. PES grubu için elde edilen frekans değerleri açısından toplumlar arasında oldukça fazla varyasyon görülmektedir (Tablo 4.1).

Diğer hastalıkların çoğundan elde edilen T alel frekansları da bu çalışmada ve benzer çalışmalarda elde edilen frekanslardan çok farklı görünmektedir (Lu vd., 2014; Cai vd., 2016; Chen vd., 2012; Yu vd., 2010). Örneğin Alzheimer için görülen T alel frekansları hem PEG ve PES hastalığında görülen T alel frekanslarından farklıdır hem de toplumlar arasında Alzheimer hastalığı için T alel frekansları varyasyon göstermektedir (Jun vd., 2010; Harold vd., 2009; Lu vd., 2014; Lambert vd., 2009; Chen vd., 2012) (Tablo 4.1).

#### ***Clusterin rs3087554 A/G***

Tablo 4.2’de farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs3087554 A/G polimorfik alel frekansları verilmiştir. Bu tabloya PEG ve PES hastalığı dışında patofizyolojik olarak bu hastalıklarla benzer olabilecek diğer hastalıklardan elde edilen değerler de eklenmiştir.

Clusterin rs3087554 A/G için gMAF değeri  $C=0.242$  olarak verilmektedir. Eksi iplikte bulunan bu polimorfizmin minör alel (G) frekansı farklı toplumlarda 0.088 ile 0.500 arasında değişmektedir (URL-11). Bu polimorfizm daha önce bizim toplumumuzda hiç çalışılmamıştır.

Bu çalışmada clusterin rs3087554 A/G için G aleli frekansı PEG grubunda 0.178, PES grubunda 0.164 ve kontrollerde 0.135 olarak bulunmuştur ve alel ile genotip frekansları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.5, 3.6 ve 4.2). Yapılan lojistik regresyon analizine göre gözyaşı örnekleri popülasyonunda clusterin rs3087554 A/G için GG ve AG genotipi PEG ile ~2.4 kat ilişkilidir ( $P=0.022$ ) (Tablo 3.59). AA genotipi PEG için ~2.4 kat koruyucu görünmektedir. Clusterin rs3087554 A/G polimorfizmi clusterin geninin 3’ transle edilmeyen bölgesinde yer almaktadır ve bu bölge translasyonun sonlandırılmasında ve post-transkripsiyonel gen ekspresyonunda kritik rol oynamaktadır. Dolayısıyla bu bölgedeki bir polimorfizm protein ekspresyonunda artış veya azalmaya neden olabilir.

AA genotipine sahip olmak clusterin seviyesinin artmasına sebep olarak bu hastalıklarda görülen karakteristik birikimlerin oluşmasını engelliyor olabilir. Bu polimorfizm Türk popülasyonunda ilk kez incelenmiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T genotipleri ile rs3087554 A/G genotipleri arasında aköz humor örnekleri popülasyonunda PEG hastalarında ve kontrollerde, gözyaşı örnekleri popülasyonunda ise PEG ve PES hastaları ile kontrollerde negatif korelasyon görülmektedir (Tablo 3.29, 3.31, 3.51, 3.52 ve 3.53).

Tablo 4.2: Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs3087554 A/G polimorfik alel frekansları.

Yayın	Hastalık	Popülasyon	G alel frekansı		P
			Hasta	Kontrol	
Bu çalışma	PEG	Türk	0.178	0.135	0.080
	PES	Türk	0.164	0.135	0.239
Krumbiegel vd., 2009	PES	Alman	0.172	0.204	0.135
Burdon vd., 2008	PES	Avustralya (Blue Mountain) – çoğunluğu Kuzey batı Avrupa kökenli	0.160	0.180	0.515
Fan vd., 2015	PES	Amerikalı	0.180	0.180	0.630
	PES	İsraili	0.160	0.150	
Dubey, 2015	PEG	Güney Hindistanlı	0.322	0.340	0.611
	PES	Güney Hindistanlı	0.357	0.340	0.641
	PEG+PES	Güney Hindistanlı	0.339	0.340	1.000
Padhy vd., 2014	PEG	Hintli	0.500	0.540	0.090
	PES	Hintli	0.420	0.540	0.910
Jun vd., 2010	Alzheimer	Kafkasyalı	0.160	--	0.710
Yu vd., 2013	LOAD <sup>a</sup>	Çinli Han	0.242	0.237	0.740
Kuot vd., 2012	Fuchs' endothelial dystrophy	Avustralyalı	0.150	0.170	0.497

<sup>a</sup>LOAD: Late-Onset Alzheimer Disease

Burdon ve arkadaşları (2008) tarafından yapılan çalışmada rs3087554 A/G, PES ile ilişkili bulunmuştur ve GG genotipinin frekansı AA ve AG genotipine göre oldukça düşüktür ( $P=0.044$ ). Bunun aksine rs3087554 A/G SNP için yapılan bazı çalışmalar beyaz ırkta, Almanlarda ve Hintlilerde bu çalışmadakine benzer şekilde PES ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki göstermemiştir (Krumbiegel vd., 2009; Fan vd., 2015; Dubey vd., 2015; Burdon vd., 2008). Fan ve arkadaşlarının (2015) İsrail popülasyonunda PES hastalığı ile ilgili yaptıkları çalışmada (PES: 0.160, Kontrol: 0.150) bu çalışmadakine yakın sonuçlar elde edilmiş ve bu çalışmadaki gibi PES grubundaki G alel frekansı kontrollere göre yüksek bulunmuştur. Yapılan diğer

çalışmaların bazılarında PEG veya PES grubunda kontrollere kıyasla daha düşük frekans görülmüş (Krumbiegel vd., 2009; Burdon vd., 2008; Dubey, 2015), bazılarında ise bizim çalışmamıza benzer şekilde daha yüksek frekans görülmüştür (Fan vd., 2015; Dubey, 2015). Dubey (2015) ile Padhy ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmalarda G alel frekansı hem hasta hem de kontrol gruplarında yapılan diğer çalışmalara ve bizimkine oranla oldukça yüksek bulunmuştur. Genel olarak çoğu popülasyonda bu SNP için minör alel frekans değerleri oldukça benzer çıkmıştır ve toplumda görülme sıklığı oldukça düşüktür (Tablo 4.2).

### ***Clusterin rs1532278 C/T***

Tablo 4.3'te farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs1532278 C/T polimorfik alel frekansları verilmiştir. Bu tabloda patofizyolojik olarak PEG ve PES hastalıklarına benzer olabilecek diğer hastalıklardan elde edilen değerler de yer almaktadır.

Bu SNP için gMAF T=0.264 olarak verilmektedir ve farklı toplumlarda sıfır ile 0.500 arasında değişmektedir (URL-12). Clusterin rs1532278 C/T daha önce PEG veya PES kapsamında hiç incelenmemiştir.

Tablo 4.3: Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs1532278 C/T polimorfik alel frekansları.

Yayın	Hastalık	Popülasyon	T alel frekansı		P
			Hasta	Kontrol	
Bu çalışma	PEG	Türk	0.387	0.414	0.427
	PES	Türk	0.404	0.414	0.772
Naj vd., 2011	LOAD <sup>a</sup>	Avrupa kökenli	0.360	–	1.9x10 <sup>-8</sup>
Yu vd., 2013	LOAD <sup>a</sup>	Çinli Han	0.205	0.211	0.694
Lu vd., 2014	Alzheimer	Güney Çinli Han	0.190	0.190	0.976
Kuot vd., 2012	Fuchs' endothelial dystrophy	Avustralyalı	0.410	0.400	0.747
Li vd., 2015	Esophageal squamous cell carcinoma	Çinli Han	0.561	0.563	0.905

<sup>a</sup>LOAD: Late-Onset Alzheimer Disease

Clusterin rs1532278 C/T, Naj ve arkadaşları (2011) tarafından yapılan çalışmada Alzheimer riski ile ilişkili bulunmuştur ( $P=1.9 \times 10^{-8}$ ) (Tablo 4.3). Rosenthal ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan istatistiksel analizde Alzheimer hastalığı ile ilgili

daha önceden yapılan çalışmalarda incelenmiş olan farklı genlerdeki 614 SNP içinden hastalık ile en güçlü ilişkisi bulunan 3 SNP'den bir tanesinin clusterin genindeki rs1532278 C/T olduğu ortaya konmuştur. Bu SNP ayrıca diyabet ile de ilişkili bulunmuştur ( $P=0.031$ ) (Daimon vd., 2011).

Bu çalışmada clusterin rs1532278 C/T için T aleli frekansı PEG grubunda 0.387, PES grubunda 0.404 ve kontrollerde 0.414 olarak bulunmuştur ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.7, 3.8 ve 4.3). Tablo 4.3'te listenen hastalıkların herhangi biri ile bu çalışmada elde edilen PEG ve PES için T alel frekansları açısından benzerlik yoktur. Elde edilen T alel frekansı PEG ve PES kapsamında ilk defa belirlenmiştir. Yapılan lojistik regresyon analizine göre gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG için clusterin rs1532278 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~3.0 kat ( $P=0.016$ ) ve CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~3.4 kat ( $P=0.005$ ) ilişkili görülmüştür (Tablo 3.58). CT ve CC genotipi beraber TT genotipi ile kıyaslandığında ise PEG ile ~3.2 kat ilişkili görülmüştür ( $P=0.004$ ) (Tablo 3.60). Elde edilen bu lojistik regresyon analizi sonuçları clusterin rs11136000 C/T ile birebir aynı görünmektedir. Bunun nedeni, bu iki SNP için neredeyse tüm çalışma grubunda aynı kişilerde birebir aynı genotiplerin çıkmasıdır. Ayrıca yapılan eş lineerlik istatistiğine göre clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri eş lineerlik göstermiştir. Bu sonuçlara göre C aleli varlığının rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri için PEG ve PES hastalığı ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Clusterin rs1532278 C/T polimorfizmi clusterin genindeki 3. intronda yer almaktadır ve intronlarda bulunan polimorfizmler splay's işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozarak düzgün proteinin üretilmesine engel olabilmektedir C aleline sahip olmak da bu tanıma dizilerini bozarak clusterin üretiminin azalmasına sebep olabilir ve bu sebeple bu hastalıklarda gözlenen karakteristik psödoeksfoliatif materyal birikimleri oluşuyor olabilir. Ayrıca hem aköz humor (Tablo 3.29, 3.30 ve 3.31) hem de gözyaşı örneklerinde (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53) yapılan korelasyon analizinde bu 3 SNP'nin PEG ve PES hastaları ile kontrollerde korele oldukları görülmüştür.

#### ***Clusterin rs2279590 C/T***

Tablo 4.4'te farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs2279590 C/T polimorfik alel frekansları verilmiştir. Bu tabloya PEG ve PES hastalığı dışında

patofizyolojik olarak bu hastalıklarla benzer olabilecek diğer hastalıklardan elde edilen değerler de eklenmiştir.

Clusterin genindeki rs2279590 C/T için gMAF değeri T=0.241 olarak verilmektedir. Minör alel (T) frekansı farklı toplumlarda sıfır ile 0.500 arasında değişmektedir (Url-13) ve Çinli Han popülasyonunda 0.174 olarak bulunmuştur (Lu vd., 2014). Clusterin genindeki rs2279590 C/T polimorfizmi bizim toplumumuzda daha önce hiç çalışılmamıştır.

Tablo 4.4: Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda clusterin rs2279590 C/T polimorfik alel frekansları.

Yayın	Hastalık	Popülasyon	T allel frekansı		P
			Hasta	Kontrol	
Bu çalışma	PEG	Türk	0.394	0.416	0.514
	PES	Türk	0.421	0.416	1.000
Krumbiegel vd., 2009	PES	Alman	0.417	0.347	0.035
Padhy vd., 2014	PEG	Hintli	0.350	0.480	0.100
	PES	Hintli	0.340	0.480	0.040
Dubey, 2015	PEG	Güney Hindistanlı	0.255	0.263	0.801
	PES	Güney Hindistanlı	0.230	0.263	0.301
	PEG+PES	Güney Hindistanlı	0.242	0.263	0.440
Fan vd., 2015	PES	Amerikalı	0.350	0.320	0.560
	PES	İsrailli	0.360	0.350	
Lu vd., 2014	Alzheimer	Güney Çinli Han	0.173	0.174	0.984
Lambert vd., 2009	Alzheimer	Fransız	0.370	0.410	8.9x10 <sup>-9</sup>
Yu vd., 2013	LOAD <sup>a</sup>	Çinli Han	0.193	0.202	0.533
Yu vd., 2010	LOAD <sup>a</sup>	Çinli Han	0.154	0.183	0.157
Chen vd., 2012	LOAD <sup>a</sup>	Güney Çinli Han	0.211	0.234	0.035
Alaylıoğlu vd., 2016	LOAD <sup>a</sup>	Türk	0.341	0.367	0.493

<sup>a</sup>LOAD: Late-Onset Alzheimer Disease

Bu çalışmada clusterin rs2279590 C/T için T aleli frekansı PEG grubunda 0.394, PES grubunda 0.421 ve kontrollerde 0.416 olarak bulunmuştur ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 3.9 ve 4.4). Bu polimorfizm PEG ve PES kapasamında Türk popülasyonunda ilk kez incelenmiştir. PEG ve PES hastaları ile kontrollerde clusterin rs2279590 C/T genotip frekansları için farklı modeller kurularak yaş ile cinsiyete göre ayarlama yapıldığında, overdominant modelde CT genotipi diğer

genotiplere kıyasla PES hastalarında kontrollerden istatistiksel olarak anlamlı derecede çok görülmüştür ( $P=0.049$ ) (Tablo 3.10). Yapılan lojistik regresyon analizine göre gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG için clusterin rs2279590 C/T SNP'sinde CC genotipi, TT genotipi ile kıyaslandığında ~2.7 kat ( $P=0.027$ ) ve CT genotipi TT genotipi ile kıyaslandığında ise ~2.6 kat ( $P=0.024$ ) ilişkili görülmüştür (Tablo 3.58). CT ve CC genotipi beraber TT genotipi ile kıyaslandığında ise PEG ile ~3.2 kat ilişkili görülmüştür ( $P=0.014$ ) (Tablo 3.60). Clusterin rs2279590 C/T polimorfizmi clusterin genindeki 7. intronda yer almaktadır ve intronlarda bulunan polimorfizmler splay's işlemi sırasında tanınan bölgelerin dizisini bozarak düzgün proteinin üretilmesine engel olabilmektedir. C aleline sahip olmak da bu tanıma dizilerini bozarak clusterin üretiminin azalmasına sebep olabilir ve bu sebeple bu hastalıklarda gözlenen karakteristik psödoeksfoliatif materyal birikimleri oluşuyor olabilir. Bu sonuçlara göre C aleli varlığının rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri için PEG ve PES hastalığı ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri yapılan eş lineerlik istatistiğine göre eş lineerlik göstermiştir. Ayrıca hem aköz humor (Tablo 3.29, 3. 30 ve 3.31) hem de gözyaşı örneklerinde (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53) yapılan korelasyon analizinde bu 3 SNP'nin PEG ve PES hastaları ile kontrollerde korele oldukları görülmüştür.

Bu SNP'nin C aleli Alzheimer hastalığı için ( $P=0.035$ ) (Chen vd., 2012), T aleli ise tip 2 diyabet için (Daimon vd., 2011) risk faktörü olarak bulunmuştur. Krumbiegel ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmada rs2279590 C/T polimorfizminin T aleli Almanlarda PES ile ilişkili bulunurken ( $P=0.035$ , OR=1.34), İtalyanlarda PES ile ilişkisiz çıkmıştır. Padhy ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmada ise C alelinin Hintli popülasyonunda PES hastalığı ile ilişkili olduğu gözlenmiş, ayrıca rs2279590 C/T için C alelini homozigot olarak taşıyanların (CC) TT genotiplere göre 2 kat daha fazla clusterin mRNA ifade edilme seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir. Dubey ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada Güney Hintlilerde rs2279590 C/T SNP ile PES arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamazken, Fan ve arkadaşlarının (2015) yaptığı çalışmada beyaz ırkta ( $P=0.01$ ) ve Hintlilerde ( $P=0.02$ ) rs2279590 C/T SNP ile PES arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.



Padhy ve arkadaşlarının (2014) Hintli popülasyonunda PEG hastalığı ile ilgili yaptıkları çalışmada (PEG: 0.350, Kontrol: 0.480) bu çalışmadakine yakın sonuçlar elde edilmiş ve bu çalışmadaki gibi PEG grubundaki T alel frekansı kontrollere göre düşük bulunmuştur. Krumbiegel ve arkadaşlarının (2009) Alman popülasyonunda (PES: 0.417, Kontrol: 0.347), Fan ve arkadaşlarının (2015) ise İsrail popülasyonunda (PES: 0.360, Kontrol: 0.350) PES hastalığı ile ilgili yaptıkları çalışmada bu çalışmadakine yakın sonuçlar elde edilmiş ve bu çalışmadaki gibi PES grubundaki T alel frekansı kontrollere göre yüksek bulunmuştur. PEG hastalığı ile ilgili olarak yapılan tüm çalışmalarda bu çalışmada olduğu gibi PEG grubundaki T alel frekansı kontrollere göre düşüktür (Padhy vd., 2014; Dubey, 2015). PES grubundaki T alel frekansı ise bazı popülasyonlarda bu çalışmada da olduğu gibi kontrollerden yüksek (Krumbiegel vd., 2009; Fan vd., 2015), bazılarında ise düşük olarak bulunmuştur (Padhy vd., 2014; Dubey, 2015). Dubey (2015) tarafından yapılan çalışmalarda T alel frekansı hem hasta hem de kontrol gruplarında yapılan diğer çalışmalara ve bizimkine oranla oldukça düşük bulunmuştur. Aynı şekilde diğer hastalıklardan elde edilen T alel frekansları da bu çalışmada ve benzer çalışmalarda elde edilen frekanslardan daha düşük görünmektedir (Lu vd., 2014; Yu vd., 2013; Yu vd., 2010; Chen vd., 2012) (Tablo 4.4).

#### ***Clusterin polimorfizmlerinin haplotipleri***

Clusterin rs11136000 C/T ve rs3087554 A/G SNP'lerinin ikili olarak birleştirilmiş CCAG genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir ( $P=0.034$ ). Clusterin rs3087554 A/G ve rs1532278 C/T SNP'lerinin ikili olarak birleştirilmiş AGCC genotipi ( $P=0.034$ ) ile rs3087554 A/G ve rs2279590 C/T SNP'lerinin AGCC genotipi de ( $P=0.046$ ), PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir (Tablo 3.11).

Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G ve rs1532278 C/T SNP'leri ( $P=0.034$ ) ile rs11136000 C/T, rs3087554 A/G ve rs2279590 C/T SNP'lerinin ( $P=0.046$ ) üçlü olarak birleştirilmiş CCAGCC genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir. Clusterin rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin üçlü olarak birleştirilmiş AGCCC genotipi de ( $P=0.046$ ), PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir (Tablo 3.12).

Clusterin rs11136000 C/T, rs3087554 A/G, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin dörtlü olarak birleştirilmiş CCAGCCCC genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmektedir ( $P=0.046$ ) (Tablo 3.13).

Bu sonuçlara göre clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için CC genotipi ile rs3087554 A/G için AG genotipine sahip olmak PEG ile PES hastalıkları için ayırt edici olabilir gibi görünmektedir

### **Aköz humor clusterin konsantrasyonu**

Aköz humorun proteomiks analizinden elde edilen sonuçlarda clusterin proteininin varlığı da tespit edilmiştir (van Setten vd., 2002; Chowdhury vd., 2010). Aköz humordaki clusterin protein seviyeleri kişiler arasında büyük varyasyon göstermektedir ( $752 \pm 519$  ng/mL) (Dota vd., 1999). Zenkel ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında PES hastalarında katarakt hastalarına (kontrol), primer açık açılı glokom hastalarına ve PEG hastalarına oranla aköz humorda clusterin mRNA'sı ve protein seviyesi oldukça düşük bulunmuştur. PEG'li hastaların clusterin seviyesi ise tüm diğer gruplardan yüksek bulunmuştur (Zenkel vd., 2006). Padhy ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında ise PEG hastalarının PES ve kontrol bireylerinkine göre hem aköz humorunda hem de lens kapsüllerinde clusterin protein seviyesinin yüksek olduğu saptanmıştır. PES'li hastaların clusterin seviyesi ise kontrollerdekinden biraz az bulunmuştur ve aradaki fark anlamlı değildir (Padhy vd., 2014). Bu çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre PEG hastası ile PES hastasını, aköz humor örneklerindeki clusterin seviyelerine bakarak ayırt etmek mümkün görünmektedir. Bu çalışmalara göre aköz humor clusterin konsantrasyonu en yüksek PEG hastalarında, en düşük ise PES hastalarında görülmüştür. Bizim çalışmamızda da bu çalışmalardakiyle benzer şekilde ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında  $0.690 \pm 0.460$  µg/mL, PES hastalarında  $0.286 \pm 0.320$  µg/mL, kontrollerde  $0.341 \pm 0.392$  µg/mL olarak bulunmuştur ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır. Ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.14). Önceki çalışmalarda elde edilen sonuçlarla benzer şekilde bizim çalışmamızda da en yüksek ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında görülürken, en düşük ortalama

clusterin konsantrasyonu PES hastalarında görülmüştür. Bu, Türk toplumunda aköz humordaki clusterin konsantrasyonunu ölçen ilk çalışmadır.

Aköz humordaki clusterin protein seviyeleri Dota ve arkadaşlarının (1999) çalışmasına göre kişiler arasında (katarakt hastası kontrol bireyler) büyük varyasyon göstermektedir ( $752\pm 519$  ng/mL). Bizim çalışmamızdaki kontrol aköz humor ortalama clusterin konsantrasyonu aralığı  $0.020-1.661$  µg/mL olarak tespit edilmiştir ve literatürdeki ile benzerdir. Bizim çalışmamızda ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında 8.77 kat, PES hastalarında 214.50 kat ve kontrollerde 83.05 kat varyasyon göstermektedir (Tablo 3.14)

### **Aköz humor total protein konsantrasyonu**

Bu çalışmada ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında  $359.75\pm 148.20$  µg/mL, PES hastalarında  $249.92\pm 193.38$  µg/mL ve kontrollerde  $192.40\pm 95.58$  µg/mL'dir ve bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ( $P=0.004$ ) (Tablo 3.14 ve 4.5). Ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.004$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir ve bu sonuçlar literatürdeki sonuçlar ile oldukça benzerdir. Bu çalışma da dahil olmak üzere yapılan tüm çalışmalarda da total protein konsantrasyonu en yüksek PEG hastalarında, daha sonra PES hastalarında, en düşük ise kontrollerde bulunmuştur (Tablo 4.5).

Zenkel ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında da bizim çalışmamıza benzer şekilde total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES, katarakt ve POAG (primary open angle glaucoma-primer açık açılı glokom) hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $P<0.001$ ). Padhy ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında ise total protein konsantrasyonu PEG hastalarında kontrollere göre 2 kat daha yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P=0.02$ ). Aynı çalışmada total protein konsantrasyonu PES hastalarında da kontrollere göre yüksek bulunmuştur fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P=0.34$ ). Tablo 4.5'te verilen aköz humor total protein konsantrasyonu hakkındaki çalışmaların özetine göre total protein konsantrasyonu aralığı genel olarak PEG, PES ve kontrollerde  $20-1370$  µg/mL arasındadır. Bizim çalışmamızda da buna benzer şekilde  $78.42-726.50$  µg/mL aralığı bulunmuştur.

Zenkel ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında PEG hastalarında clusterin ile total protein konsantrasyonu arasında anlamlı derecede yüksek korelasyon görülmüştür ( $r=0.873$ ,  $P<0.001$ ). Zenkel ve arkadaşlarının (2006) çalışmasına benzer şekilde bizim çalışmamızda da PEG hastalarında ( $r=0.598$ ,  $P=0.040$ ), PES hastalarında ( $r=0.614$ ,  $P=0.009$ ) ve kontrollerde ( $r=0.443$ ,  $P=0.039$ ) aköz humor clusterin ile total protein konsantrasyonu arasında korelasyon görülmektedir. Aynı şekilde clusterin konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı arasında da PEG hastalarında ( $r=0.685$ ,  $P=0.014$ ), PES hastalarında ( $r=0.582$ ,  $P=0.014$ ) ve kontrollerde ( $r=0.863$ ,  $P=0.000$ ) pozitif korelasyon görülmüştür (Tablo 3.29, 3.30 ve 3.31).

Tablo 4.5: Aköz humor total protein konsantrasyonu literatür özeti.

Yayın	Hastalık	Total Protein Konsantrasyonu ( $\mu\text{g/mL}$ )
Bu çalışma	PEG	359.75±148.20 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 175.8-590.4 $\mu\text{g/mL}$
	PES	249.92±193.38 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 78.42-726.50 $\mu\text{g/mL}$
	Kontrol	192.40±95.58 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 80.30-472.40 $\mu\text{g/mL}$
Küchle vd., 1994	PES	420±160 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 180-990 $\mu\text{g/mL}$
	Katarakt	220±80 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 40-340 $\mu\text{g/mL}$
	OAG (Open-angle glaucoma)	260±90 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 120-500 $\mu\text{g/mL}$
Dota vd., 1999	10 katarakt hastası	291.6±92.1 $\mu\text{g/mL}$
Picht vd., 2001	JG (Juvenile glaucoma)	451±215 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 232-784 $\mu\text{g/mL}$
	PEG	728±142 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 448-923 $\mu\text{g/mL}$
Zenkel vd., 2006	PEG	563±228 $\mu\text{g/mL}$
	PES	245±118 $\mu\text{g/mL}$
	Katarakt	197±85 $\mu\text{g/mL}$
	POAG (Primary open angle glaucoma)	214±96 $\mu\text{g/mL}$
Padhy vd., 2014	PEG	162.51±112.21 $\mu\text{g/mL}$
	PES	98.46±61.43 $\mu\text{g/mL}$
	Kontrol	76.54±48.03 $\mu\text{g/mL}$
Prata vd., 2007	POAG	320 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 80-1370 $\mu\text{g/mL}$
	Kontrol	160 $\mu\text{g/mL}$ , aralık: 20-850 $\mu\text{g/mL}$
Chowdhury vd., 2010	155 katarakt hastası	100-500 $\mu\text{g/mL}$

Bu sonuçlara göre PEG ve PES hastaları ile kontroller aköz humor clusterin ve total protein konsantrasyonuna bakılarak ayırt edilebilir gibi görünmektedir, ancak bu

konuda daha büyük popülasyonlarda daha ileri araştırmaların yapılarak bu ilişkinin teyit edilmesi gerekmektedir.

Tablo 4.5'te verilen çalışmaların özetine göre aköz humor total protein konsantrasyonu aralığı PEG, PES ve kontrol gruplarında genel olarak 20-1370  $\mu\text{g/mL}$ 'dir. Bizim alışmamızda da buna benzer Şekilde 78.42-726.50  $\mu\text{g/mL}$  aralığı bulunmuştur. Bu çalışmada ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında 3.36 kat, PES hastalarında 9.26 kat ve kontrollerde 5.88 kat varyasyon göstermektedir (Tablo 3.14).

Bu çalışmada total protein içindeki clusterin oranı açısından ise PEG hastalarında 5.68 kat, PES hastalarında 99.67 kat ve kontrollerde 33.13 kat varyasyon grlmüştur (Tablo 3.14).

Genel olarak aköz humor clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı oldukça geniş aralıklar vermektedir ve bireyler arası varyasyon oldukça fazladır.

#### **Aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine bazı risk faktörlerinin etkileri**

Aköz humor örneklerinde yaş, cinsiyet, diyabet, hipertansiyon, kalp hastalığı ve sigara kullanımının clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine etkileri PEG ve PES hastaları ile kontroller arasında ve tüm aköz humor örneklerinde incelenmiştir.

PES materyali birikimi ve toplumda PES görülme sıklığı yaşa bağlı olarak artmaktadır (Mitchell vd., 1999). PES nadiren 50 yaşından önce görülür ve görülme sıklığı yaşla birlikte giderek artmaktadır. (Bhat, 2010). PES prevalansının 50 yaşından itibaren her on yılda yaklaşık iki katına çıktığını raporlayan bir çalışmaya göre 60-69 yaş arasında PES prevalansı %10, 70-79 yaş arasında %21 ve 80-89 yaş arasında %33 olarak saptanmıştır (Forsius, 1988). Bu çalışmada da aköz humor örneklerin 54-69 yaş arası ile 70 yaş ve üstü olmak üzere iki gruba bölünerek analizler yapılmıştır. Ortalama clusterin konsantrasyonu 70 yaş ve st PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.003$ ) ve kontrollere ( $P=0.007$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.16). Aynı Şekilde ortalama total protein konsantrasyonu da 70

yaş ve üstü PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.024$ ) ve kontrollere ( $P=0.021$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Tablo 3.16).

Yapılan çalışmalarda diyabet en fazla kontrollerde, daha sonra PES hastalarında en düşük ise PEG hastalarında görülmüştür (Topouzis vd., 2011; Psilas vd., 1991; Shapoori vd., 2007; Miyazaki vd. 2005; Brajković vd., 2007; Shingleton vd. 2003; Jonas ve Gründler, 1998; Tarkkanen vd. 2008). Daha önce diyabeti olan hastaların aköz humor örneklerindeki clusterin seviyesi incelenmemiştir. Trougakos ve arkadaşlarının (2002) çalışmasında serum clusterin protein seviyesinin tip II diyabetli hastalarda anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür ( $P<0.001$ ). Diyabet hastalığında oksidatif stres büyük rol oynamaktadır (Giacco ve Brownlee, 2010). Oksidatif stresin clusterin seviyesini arttırdığı da bilinmektedir (Viard vd., 1999). Bu durumda diyabetli hastaların da aköz humor örneklerinde clusterin protein seviyelerinin incelenmesi önem arz etmektedir. Bu çalışmada diyabeti olan (diyabet +) bireylerdeki clusterin konsantrasyonu ( $P=0.025$ ) ve total protein içindeki clusterin oranı ( $P=0.042$ ), diyabeti olmayan (diyabet -) bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.19). Bu sonuç Trougakos ve arkadaşlarının (2002) çalışmasına benzer şekilde diyabet hastalarının aköz humor örneklerinde de clusterin konsantrasyonunun anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada ayrıca PEG ve PES hastaları ile kontroller arasındaki diyabet + ve diyabet - bireylerdeki ortalama aköz humor clusterin konsantrasyonu kıyaslandığında, diyabet - PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.008$ ) ve kontrollere ( $P=0.008$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek clusterin seviyesi saptanmıştır. Aynı şekilde ortalama total protein konsantrasyonu diyabet - PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.003$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.20). Aköz humor örneklerinde yapılan korelasyon analizinde ise kontrollerin clusterin konsantrasyonu diyabet ile pozitif korelasyon göstermiştir ( $r=0.438$ ,  $P=0.041$ ) (Tablo 3.31). Ayrıca total protein içindeki clusterin oranı ile diyabet arasında PEG hastalarında ( $r=0.658$ ,  $P=0.020$ ) ve kontrollerde ( $r=0.558$ ,  $P=0.007$ ) korelasyon bulunmuştur (Tablo 3.29 ve 3.31).

Hipertansiyon hastalığının patofizyolojisinde oksidatif stres sebebiyle meydana gelen vasküler hasar görülmektedir (Montezano vd., 2015; Grossman, 2008) ve clusterin seviyesinin hipertansiyon durumunda arttığı tespit edilmiştir (Yoo vd., 1998). Ayrıca

bazı clusterin genetik polimorfizmlerinin hipertansiyon hastalarında serum lipid seviyelerini etkilediği görülmüştür (Miwa vd., 2005). Mitchell ve arkadaşları (1997) PEG ve PES hastalığı ile hipertansiyon arasında pozitif korelasyon bulmuşlardır. Daha önce hipertansiyon hastası (hipertansiyon +) bireylerin aköz humor örneklerindeki clusterin seviyesi incelenmemiştir. Bu çalışmada ortalama clusterin konsantrasyonu hipertansiyon + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.041$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.22). Benzer şekilde ortalama total protein konsantrasyonu da hipertansiyon + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.008$ ) ve kontrollere ( $P=0.005$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Tablo 3.22). Genel olarak hipertansiyon + PEG hastalarında genel kıyaslamayla benzer şekilde clusterin ve total protein konsantrasyonu diğer gruplara kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Daha önce kalp hastalığı olan bireylerde clusterin seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (Trogakos vd., 2002). Yapılan çalışmalarda PES ile kalp hastalığı arasında anlamlı bir ilişki görülürken (French vd., 2012; Brajković vd., 2007; Ritland vd., 2004), PEG ile kalp hastalığı arasında anlamlı bir ilişki görülmemiştir (Topouzis vd., 2011; Tarkkanen vd., 2008). Bu çalışmada ise aköz humor örneklerindeki clusterin konsantrasyonu PEG ve PES hastaları ile kontrollerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yaratmamıştır.

Akciğerde sigara kullanımı sebebiyle meydana gelen oksidatif strese clusterin proteininin koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (Carnevali vd., 2006). Yapılan bazı çalışmalarda sigara kullanma durumu ile PEG ve PES hastalığı arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Topouzis vd., 2011; Gökce ve Gökce, 2015). Špečkauskas ve arkadaşlarının (2012) çalışmasına göre ise uzun süre sigara kullanımı PES riskini arttırmaktadır. Bu çalışmada ortalama clusterin konsantrasyonu sigara kullanmayan PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.009$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.26). Benzer şekilde ortalama total protein konsantrasyonu da sigara kullanmayan PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.006$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.26).

Aköz humor örnekleri popülasyonundaki tüm risk faktörleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde 70 yaş ve üstü, diyabet -, hipertansiyon + ve sigara kullanmayan

PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek clusterin ve total protein konsantrasyonu görülmüştür.

### **Aköz humor örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile clusterin polimorfizmleri arasındaki ilişki**

PES hastalarında gözün ön kamarasındaki oksidatif ortam (Koliakos vd., 2003) nedeniyle protein yanlış katlanmalarının meydana gelebileceği, clusterin ifadesinin de azalmış olmasının sonucunda protein birikiminin arttığı ve PES'de görülen karakteristik patolojik birikimi meydana getirdiği önerisi getirilmiştir (Zenkel vd., 2006). Oksidatif strese rağmen clusterin ifadesinin düşük olması, bize bu patolojide clusterin seviyelerinin düşük olmasına neden olan bazı başka faktörlerin de devrede olabileceğini düşündürmüştür. Bu faktörlerin arasında düşük ifade edilme seviyesine neden olan genetik polimorfizmler olabilir. Clusterin genetik polimorfizmleri ile PEG ve PES riski konusunda yapılan çalışmalar tartışma bölümündeki clusterin genetik polimorfizmlerin etnik dağılımı ve bu polimorfizmlerin PEG ve PES riski ile ilişkisi başlığı altında özetlenmiştir. Daha önce aköz humor örneklerinde bu çalışmada incelenen SNP'ler ile clusterin seviyesinin kıyaslandığı sadece bir çalışma vardır. Padhy ve arkadaşları (2014) tarafından yapılan çalışmada rs2279590 C/T için C alelinin Hintli popülasyonunda PES hastalığı ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca, rs2279590 C/T için C alelini homozigot olarak taşıyanların (CC) TT genotiplere göre 2 kat daha fazla clusterin mRNA ifade edilme seviyesine sahip olduğu gösterilmiştir (Padhy vd., 2014).

Bu çalışmada clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T, rs2279590 C/T için aköz humor ortalama clusterin konsantrasyonu CC genotipli PEG hastalarında CC genotipli PES hastalarına ( $P=0.012$ ) ve kontrollere ( $P=0.012$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Padhy ve arkadaşlarının (2014) çalışmalarındaki gibi CC genotipli PES hastalarında clusterin konsantrasyonu kontrollere göre yüksek olarak bulunsa da aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Aynı şekilde ortalama total protein konsantrasyonu da CC genotipli PEG hastalarında CC genotipli PES hastalarına ( $P=0.011$ ) ve kontrollere ( $P=0.005$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (Tablo 3.27). Özetle, aköz humor ortalama clusterin ve total protein konsantrasyonu açısından clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T,



rs2279590 C/T SNP'leri için CC genotipi PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu SNP'ler için CC genotipli bireylerde PEG ve PES hastalığı ile kontrolleri aköz humor clusterin ve total protein konsantrasyonlarına bakarak ayırt etmek mümkün görünmektedir. Lojistik regresyon analizine göre gözyaşı örnekleri popülasyonunda CC genotipi ile PEG hastalığı ~3.0 kat ( $P=0.016$ ) ilişkili görülmüştür (Tablo 3.58). Aköz humor örnekleri de bu ilişkiyi destekler nitelikte görünmektedir.

Clusterin rs3087554 A/G için aköz humor ortalama clusterin konsantrasyonu AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına ( $P=0.046$ ) ve kontrollere ( $P=0.022$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda ortalama total protein konsantrasyonu AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır ( $P=0.032$ ). Ortalama total protein konsantrasyonu AA genotipli PEG hastalarında da AA genotipli PES hastalarına ( $P=0.048$ ) ve kontrollere ( $P=0.006$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.28). Lojistik regresyon analizine göre gözyaşı örnekleri popülasyonunda GG ve AG genotipi ile PEG hastalığı ~2.4 kat ( $P=0.022$ ) ilişkili görülmüştür (Tablo 3.59). Aköz humor örnekleri de bu ilişkiyi destekler nitelikte görünmektedir.

### **Gözyaşı clusterin konsantrasyonu**

Yukarıdaki tartışma bölümlerinde de özetlendiği gibi PEG ve PES hastaları ile kontroller, aköz humor örneklerindeki clusterin ve total protein seviyelerine bakılarak ayırt edilebilir gibi görünmektedir. Aköz humor örnekleri katarakt ameliyatı olan bireylerden ameliyat sırasında alınmaktadır. Ancak toplumda herkesten aköz humor örneği alınması mümkün olmayacağından, herkese uygulanabilecek bir parametre değildir. Bu nedenle, biz bu çalışmamızda daha kolay ulaşılabilir bir biyolojik örnek olan gözyaşı ile aköz humorda bu proteinlerin seviyesini karşılaştırmayı ve aralarında bir korelasyon olup olmadığını incelemeyi amaçlayarak, gözyaşı örneklerinin PEG ve PES hastalıklarının tanısına katkıda bulunabileceğini düşündük.

Daha önce yapılan çalışmalarda gözyaşında clusterinin varlığı tespit edilmiştir (Zhou vd., 2012), fakat gözyaşında clusterin konsantrasyonunu inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yönüyle bu çalışma ilktir. Bu çalışmada ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında  $9.86 \pm 9.75$   $\mu\text{g/mL}$ , PES hastalarında

7.67±5.77 µg/mL ve kontrollerde 7.83±6.67 µg/mL olarak bulunmuştur ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemiştir ( $P=0.729$ ). Kontrollerde gözyaşı ortalama clusterin konsantrasyonu aralığı 0.21-41.29 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada kontrol gözyaşı ortalama clusterin konsantrasyonu aralığı 0.21-41.29 µg/mL olarak tespit edilmiştir. Gözyaşı ortalama clusterin konsantrasyonu PEG hastalarında 104.63 kat, PES hastalarında 71.71 kat ve kontrollerde 196.62 kat varyasyon göstermektedir (Tablo 3.32).

### **Gözyaşı total protein konsantrasyonu**

Gözyaşındaki total protein konsantrasyonu sağlıklı bireylerde Posa ve arkadaşları (2013) tarafından (9 sağlıklı, 23-35 yaş arası bireyde) 4.6 mg/mL, Zhou ve arkadaşları (2012) tarafından (4 sağlıklı, 36±14 yaşında bireyde) ise 6–10 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Assouti ve arkadaşlarının (2006) çalışmasında (25 PES hastası ve 22 kontrol, 56-90 yaş arası bireylerde) gözyaşındaki total protein konsantrasyonu ise kontrollerde 0.921±0.52 mg/mL (aralık: 0.400-1.442 mg/mL), PES grubunda ise 1.159±0.63 mg/mL (aralık: 0.526-1.792 mg/mL) olarak bulunmuştur ve bu değerler diğer iki çalışmaya ve bizim çalışmamıza göre oldukça düşüktür. PEG hastalarının gözyaşı total protein konsantrasyonunu inceleyen bir çalışma literatürde bulunmamaktadır ve bu yönden bizim çalışmamız ilktir.

Bizim çalışmamızda gözyaşındaki ortalama total protein konsantrasyonu (80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyde) PEG hastalarında 18.86±8.82 mg/mL, PES hastalarında 15.73±8.54 mg/mL ve kontrollerde 16.41±10.22 mg/mL olarak bulunmuştur ve bu üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ( $P=0.004$ ). Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.004$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.32). Bizim çalışmamızda belirlenen total protein konsantrasyonu değerleri yukarıda özetlenen çalışmalara göre daha yüksektir ve literatürdeki çalışmaların çoğunda bu çalışmadakine nazaran düşük örnek sayısı ile çalışılmış ve çalışılan grupların yaş ortalaması bu çalışmaya göre daha düşüktür. Ayrıca gözyaşı örneklerinden proteinlerin geri kazanımı için kullandıkları metot her birinde farklıdır ve bizim çalışmamızda geliştirdiğimiz ekstraksiyon yönteminin proteinlerin geri kazanımında çok daha başarılı olduğu görülmektedir (Posa vd., 2013; Zhou vd., 2012; Assouti vd., 2006). Bu çalışmada en yüksek ortalama total protein

konsantrasyonu PEG hastalarında görülürken, en düşük ortalama total protein konsantrasyonu PES hastalarında görülmüştür. Kontrol gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu aralığı 4.91-55.71 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Tablo 3.32).

Clusterin ve total protein konsantrasyonu, PEG hastalarında ( $r=0.631$ ,  $P=0.000$ ), PES hastalarında ( $r=0.525$ ,  $P=0.000$ ) ve kontrollerde ( $r=0.469$ ,  $P=0.000$ ) pozitif korelasyon göstermiştir. Aynı şekilde clusterin konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı arasında da PEG hastalarında ( $r=0.783$ ,  $P=0.000$ ), PES hastalarında ( $r=0.781$ ,  $P=0.000$ ) ve kontrollerde ( $r=0.663$ ,  $P=0.000$ ) pozitif korelasyon vardır. Buna göre clusterin konsantrasyonunda artış görüldüğünde total protein konsantrasyonunda ve total protein içindeki clusterin oranında da artış görülmüştür (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53).

Bu çalışmadaki kontrol gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu aralığı 4.91-55.71 mg/mL olarak tespit edilmiştir ve diğer çalışmalara göre çok daha geniş bir aralık belirlenmiştir. Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında 5.55 kat, PES hastalarında 9.07 kat ve kontrollerde 11.35 kat varyasyon göstermektedir (Tablo 3.32).

Bu çalışmada total protein içindeki clusterin oranı açısından ise PEG hastalarında 82.00 kat, PES hastalarında 27.40 kat ve kontrollerde 42.33 kat varyasyon görülmüştür (Tablo 3.30).

Genel olarak gözyaşı clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı oldukça geniş aralıklar vermektedir ve bireyler arası varyasyon oldukça fazladır.

### **Gözyaşı örneklerindeki clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı üzerine bazı risk faktörlerinin etkilerinin değerlendirilmesi**

Bu çalışmada gözyaşı örneklerinde ortalama clusterin konsantrasyonu 51-69 yaş arası bireylerde ( $7.39\pm 6.52$  µg/mL), 70 yaş ve üstü bireylere göre ( $9.38\pm 8.37$  µg/mL) istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ( $P=0.044$ ) (Tablo 3.33). Yaş ile beraber gözyaşı clusterin konsantrasyonunda da artış gözlenmiştir. Ortalama total protein konsantrasyonu ise 51-69 yaş arası PEG hastalarında PES hastalarına

( $P=0.020$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Tablo 3.34).

Cinsiyete göre kıyaslama yapıldığında gözyaşı örneklerindeki ortalama total protein konsantrasyonu erkek PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.000$ ) ve kontrollere ( $P=0.006$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek çıkmıştır (Tablo 3.36). Hem tüm popülasyonda (213 PEG, 214 PES, 215 Kontrol) hem de gözyaşı popülasyonunda (80 PEG, 81 PES, 80 Kontrol) yapılan lojistik regresyon analizi erkek olmak ile PEG hastalığının ~2 kat ilişkili olduğunu göstermiştir. Bu durumda PEG hastalığı için kadın olmak ~2 kat koruyucudur denilebilir (Tablo 3.57, 3.58, 3.59, 3.60 ve 3.61).

Stolwijk ve arkadaşlarının (1994) çalışmasında retinopatisi olan diyabet hastaları, retinopatisi olmayan diyabet hastaları ve kontrollerin gözyaşı örneklerinde total protein konsantrasyonları incelenmiş ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. PEG ve PES hastalarında diyabetli olan ve olmayan bireyler için gözyaşı total protein konsantrasyonu daha önce incelenmemiştir ve bu çalışma bu yönüyle ilktir. Bu çalışmada gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu diyabeti olan (diyabet +) PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.020$ ) ve kontrollere ( $P=0.001$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.38).

Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu normal tansiyonlu (hipertansiyon –) PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.022$ ) ve kontrollere ( $P=0.012$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Tablo 3.40). PEG ve PES hastalarında hipertansiyon hastalığı olan ve olmayan bireyler için gözyaşı total protein konsantrasyonu daha önce incelenmemiştir ve bu çalışma bu yönüyle ilktir.

Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu kalp hastalığı olmayan (kalp –) PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.002$ ) ve kontrollere ( $P=0.000$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.42). PES hastalarında gözyaşındaki total protein içindeki clusterin oranı ile kalp hastalığı arasında da negatif korelasyon görülmüştür ( $r=-0.255$ ,  $P=0.021$ ), kalp hastalığı olan bireylerde total protein içindeki clusterin oranı daha azdır (Tablo 3.52). PEG ve PES hastalarında kalp hastalığı olan ve olmayan bireyler için gözyaşı total protein konsantrasyonu daha önce incelenmemiştir ve bu çalışma bu yönüyle ilktir.

Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu inme hastalığı geçirmemiş (inme –) PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.003$ ) ve kontrollere ( $P=0.008$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 3.44). PEG ve PES hastalarında inme hastalığı geçirmiş ve geçirmemiş bireyler için gözyaşı total protein konsantrasyonu daha önce incelenmemiştir ve bu çalışma bu yönüyle ilktir.

Bu çalışmaya göre gözyaşı ortalama clusterin konsantrasyonu sigara kullanan (sigara +) PEG hastalarında PES hastalarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekken ( $P=0.019$ ), PES hastalarında ise kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür ( $P=0.014$ ). Gözyaşı clusterin konsantrasyonu ile sigara kullanımı arasında PEG hastalarında pozitif ( $r=0.225$ ,  $P=0.045$ ), PES hastalarında ise negatif ( $r=-0.260$ ,  $P=0.019$ ) korelasyon görülmektedir (Tablo 3.51 ve 3.52). Grus ve arkadaşlarının (2002) çalışmasına göre sigara içen bireylerde içmeyenlere göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek total protein seviyesi gözlenmiştir. PEG ve PES kapsamında gözyaşı total protein konsantrasyonu açısından sigara içme durumunu kıyaslayan bir çalışma ise literatürde bulunmamaktadır. Bu çalışmaya göre gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu sigara + PEG hastalarında PES hastalarına ( $P=0.001$ ) ve kontrollere ( $P=0.020$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir (Tablo 3.46). PES hastalarında gözyaşı total protein konsantrasyonu ile sigara kullanımı arasında negatif korelasyon görülmüştür ( $r=-0.231$ ,  $P=0.038$ ), buna göre sigara kullanan bireylerde total protein konsantrasyonu daha azdır (Tablo 3.52).

Gözyaşı örnekleri popülasyonunda incelenen risk faktörleri karşılaştırıldığında PES hastalarında kalp hastalığı ile sigara kullanımı arasında pozitif korelasyon görülürken ( $r=0.304$ ,  $P=0.006$ ), kontrollerde hipertansiyon ile sigara kullanımı arasında negatif korelasyon ( $r=-0.290$ ,  $P=0.009$ ) görülmüştür (Tablo 3.52 ve 3.53).

Gözyaşı örnekleri popülasyonundaki tüm risk faktörleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde 51-69 yaş arası, erkek, diyabet +, hipertansiyon –, kalp –, inme – ve sigara + PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek total protein konsantrasyonu görülmüştür.

### **Gözyaşı örneklerinde clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı ile clusterin polimorfizmleri arasındaki ilişki**

Önceki bölümlerde de belirtildiği gibi gözyaşında clusterin seviyesini inceleyen bir çalışma mevcut değildir ve bu çalışma bu yönden ilktir.

Bu çalışmada clusterin rs11136000 C/T ve rs1532278 C/T SNP'leri için gözyaşı ortalama clusterin konsantrasyonu, CT genotipli kontrol bireylerinde CC genotipli kontrol bireylerine kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ( $P=0.011$ ) (Tablo 3.47 ve 3.49).

Clusterin rs3087554 A/G SNP için gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu, AG genotipli PEG hastalarında AG genotipli PES hastalarına ( $P=0.013$ ) ve kontrollere ( $P=0.004$ ) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek görülmüştür (Tablo 3.48)

PEG ve PES hastaları ile kontrollerde rs2279590 C/T genotiplerine göre clusterin konsantrasyonu, total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 3.50).

Gözyaşı örnekleri popülasyonunda yapılmış olan korelasyon analizinde PEG ve PES hastaları ile kontrollerde genel olarak clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri ile rs3087554 A/G SNP'si arasında negatif korelasyon görülürken, rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri arasında pozitif korelasyon görülmüştür (Tablo 3.51, 3.52 ve 3.53). Bu durum aköz humor örnekleri popülasyonunda da aynı şekilde gözlenmiştir.

### **Aköz humor ve gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişki**

Hem aköz humor hem de gözyaşı örneği alınmış olan 10 PEG hastası, 11 PES hastası ve 15 kontrol bireyde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı arasındaki korelasyona bakılmıştır (Tablo 3.54, 3.55 ve 3.56). PEG hastaları ile kontrollerde clusterin ve total protein konsantrasyonu ile total protein içindeki clusterin oranı açısından aköz humor ve gözyaşı örnekleri arasında herhangi bir korelasyon görülmemiştir. PES hastalarında aköz humor clusterin konsantrasyonu ile gözyaşı total protein konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon görülmüştür ( $r=0.733$ ,  $P=0.010$ ) (Tablo 3.55).

## Sonuç

Sonuç olarak bu çalışma erkek olmak ile PEG hastalığının ~2 kat ilişkili olduğunu göstermiştir. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'leri arasında pozitif ve bu 3 SNP ile rs3087554 A/G arasında ise negatif korelasyon görülmüştür. Clusterin rs1532278 C/T PEG ve PES kapsamında daha önce incelenmemiştir ve bu çalışma ilktir. Birbiri ile korele olan 3 SNP için TT genotipi ~3 kat, rs3087554 A/G için ise AA genotipi PEG için ~2.4 kat koruyucu görünmektedir. Bu 4 SNP'nin ikili, üçlü ve dörtlü olarak birleştirilmiş CCAG, CCAGCC ve CCAGCCCC genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmüştür. Bu sonuçlara göre clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için CC genotipi ile rs3087554 A/G için AG genotipine sahip olmak PEG ile PES hastalıkları için ayırt edici olabilir gibi görünmektedir.

Aköz humor ortalama clusterin ve total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aköz humor ortalama clusterin ve total protein konsantrasyonu açısından clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T, rs2279590 C/T SNP'leri için CC genotipi, rs3087554 A/G için ise AA ve AG genotipi PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Gözyaşında clusterin seviyesini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yönüyle bu çalışma ilktir. Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. Ayrıca gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu açısından clusterin rs3087554 A/G SNP için AG genotipi PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

PES hastalarında aköz humor clusterin konsantrasyonu ile gözyaşı total protein konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon görülmüştür ( $r=0.733$ ,  $P=0.010$ ). İleride bu konuda daha fazla çalışma yapılarak bu sonuçlar onaylanabilir ve biyobelirteç olarak kullanılacak bir parametre üzerinde çalışmalar geliştirilebilir.





## 5. SONUÇ

Psödoeksfoliasyon sendromu (PES), yaşa bağlı olarak gelişen, hücre dışı matrikste lifsi materyallerin hem oküler dokularda hem de çeşitli iç organlarda birikmesi ile karakterize edilen sistemik bir bozukluktur (Andrikopoulos vd., 2014). Psödoeksfoliasyon sebebiyle oluşan glokoma psödoeksfoliatif glokom (PEG) adı verilir ve PEG tedavi edilmediğinde körlüğe sebep olabilmektedir. Bu sebeple PEG gelişme riski olan PES hastalarının tespit edilmesi büyük önem taşımaktadır.

Clusterin proteini hücrel stres durumlarında, yanlış katlanmış proteinlerin stresle tetiklenen çökmesi ve yığılmasının önlenmesini sağlar (Zenkel vd., 2006). Yapılan in vitro çalışmalarda ısı şoku ve oksidatif stres gibi hücrel stres durumlarında clusterin ifadesinin indüklendiği görülmüştür (Viard vd., 1999). PES hastalarında gözün ön kamarasındaki oksidatif ortam (Koliakos vd., 2003) nedeniyle protein yanlış katlanmalarının meydana gelebileceği, clusterin ifadesinin de azalmış olmasının sonucunda protein birikiminin arttığı ve PES’de görülen karakteristik patolojik birikimi meydana getirdiği önerisi getirilmiştir (Zenkel vd., 2006). Oksidatif strese rağmen clusterin ifadesinin düşük olması, bize bu patolojide clusterin seviyelerinin düşük olmasına neden olan bazı başka faktörlerin de devrede olabileceğini düşündürmüştür. Bu faktörlerin arasında düşük ifade edilme seviyesine neden olan genetik polimorfizmler olabilir. Bu çalışma PEG ve PES riski ile clusterin genetik polimorfizmleri ve aköz humor ile gözyaşındaki clusterin protein seviyeleri arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçlamıştır.

Yapılan lojistik regresyon analizi erkek olmak ile PEG hastalığının ~2 kat ilişkili olduğunu göstermiştir.

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP’leri yapılan eş lineerlik istatistiğine göre eş lineerlik göstermiştir. Ayrıca hem aköz humor hem de gözyaşı örneklerinde yapılan korelasyon analizinde bu 3 SNP’nin PEG ve PES hastaları ile kontrollerde korele oldukları görülmüştür. Clusterin rs1532278 C/T, PEG ve PES kapsamında daha önce incelenmemiştir ve bu çalışma ilktir. Yapılan lojistik

regresyon analizine göre gözyaşı örnekleri popülasyonunda PEG için clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinde CT genotipi ve CC genotipi ayrı ayrı ve beraber olarak TT genotipi ile kıyaslandığında ~3 kat riskli bulunmuştur. Bu sonuçlara göre C alelinin PEG ve PES hastalığı ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir. Clusterin rs3087554 A/G SNP için ise AA genotipi PEG için ~2.4 kat koruyucu görünmektedir.

Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T SNP'lerinin her biri ile rs3087554 A/G SNP'sinin ikili olarak birleştirilmiş CCAG genotipi, üçlü olarak birleştirilmiş CCAGCC ve dördü olarak birleştirilmiş CCAGCCCC genotipi, PEG hastalarında PES hastalarından istatistiksel olarak anlamlı derecede fazla görülmüştür. Bu sonuçlara göre clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T ve rs2279590 C/T için CC genotipi ile rs3087554 A/G için AG genotipine sahip olmak PEG ile PES hastalıkları için ayırt edici olabilir gibi görünmektedir.

Aköz humor ortalama clusterin ve total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Aköz humor clusterin konsantrasyonu ile total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı arasında PEG ve PES hastaları ile kontrollerde pozitif korelasyon görülmüştür. Aköz humor örnekleri popülasyonundaki tüm risk faktörleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde 70 yaş ve üstü, diyabet -, hipertansiyon + ve sigara kullanmayan PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek clusterin ve total protein konsantrasyonu görülmüştür. Clusterin rs11136000 C/T, rs1532278 C/T, rs2279590 C/T SNP'leri için CC genotipi, rs3087554 A/G için ise AA ve AG genotipi aköz humor ortalama clusterin ve total protein konsantrasyonu açısından PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

Gözyaşında clusterin seviyesini inceleyen herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yönüyle bu çalışma ilktir. Gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksektir. Gözyaşı clusterin konsantrasyonu ile total protein konsantrasyonu ve total protein içindeki clusterin oranı PEG ve PES hastaları ile kontrollerde pozitif korelasyon göstermiştir. Gözyaşı örnekleri popülasyonundaki tüm risk faktörleri ayrı ayrı değerlendirildiğinde 51-69 yaş arası, erkek, diyabet +, hipertansiyon -, kalp -,

inme – ve sigara kullanan PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derece yüksek total protein konsantrasyonu görülmüştür. Ayrıca clusterin rs3087554 A/G SNP için AG genotipi gözyaşı ortalama total protein konsantrasyonu açısından PEG hastalarında PES hastalarına ve kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur.

PES hastalarında aköz humor clusterin konsantrasyonu ile gözyaşı total protein konsantrasyonu arasında pozitif korelasyon görülmüştür ( $r=0.733$ ,  $P=0.010$ ).

Bu çalışma gözyaşında clusterin seviyesini ve clusterin rs1532278 C/T polimorfizmi ile PEG ve PES ilişkisini inceleyen ilk çalışmadır. Bu, Türk toplumunda aköz humordaki clusterin konsantrasyonunu ölçen ilk çalışmadır. Clusterin rs3087554 A/G Türk popülasyonunda ilk kez bu çalışmada incelenirken, rs2279590 C/T ise PEG ve PES kapsamında Türk popülasyonunda ilk kez incelenmiştir. Bu çalışma aköz humor örneklerindeki clusterin ve total protein konsantrasyonunun PEG teşhisinde ve PEG hastaları ile PES hastalarının ayırımında kullanılabileceğine işaret etmiştir. Ancak PES'leri kontrollerden ayıramamaktadır, bu nedenle PES teşhisinde kullanılamaz. Öte yandan, gözyaşı total protein konsantrasyonu parametresi PEG teşhisi için kullanılma potansiyeli taşımaktadır. Bu konuda daha büyük popülasyonlarda daha ileri araştırmalar yapılarak bu ilişkinin teyit edilmesi gerekmektedir. Ayrıca, ilerleyen zamanlarda popülasyon genetik haritasının varlığında, bu çalışmada hastalık teşhis ve tedavisi için belirlenen risk faktörleri ve genotipleri PEG ve PES hastalıklarının tanısında yol gösterici olacaktır. İncelenen protein bu hastalıklar için biyobelirteç olarak kullanılma potansiyeli taşımaktadır. İleride yapılacak daha ileri analizler sonucunda bu çalışmada belirlenen biyobelirteçler hastalığın tanı ve tedavisi için bir tanı kiti veya biyosensör geliştirilmesinde yol gösterici olabilir. Bu çalışma literatüre sağladığı katkılar ile biyoenformatik çalışmaları için de veri kaynağıdır. Bu çalışma bu yönleriyle Biyomedikal Mühendisliği'ne katkı sağlayan bir proje özelliği taşımaktadır.



## KAYNAKLAR

- Aasved, H.** (1971). Mass screening for fibrilloglione epitheliocapsularis. *Acta ophthalmologica*, 49(2), 334-343.
- Aasved, H.** (1979). Prevalence of fibrilloglione epitheliocapsularis (pseudoexfoliation) and capsular glaucoma. *Transactions of the ophthalmological societies of the United Kingdom*, 99(2), 293-295.
- Abu-Amero, K. K., Bosley, T. M., Morales, J.** (2008b). Analysis of nuclear and mitochondrial genes in patients with pseudoexfoliation glaucoma. *Molecular vision*, 14, 29.
- Abu-Amero, K. K., Morales, J., Mohamed, G. H., Osman, M. N., Bosley, T. M.** (2008a). Glutathione S-transferase M1 and T1 polymorphisms in Arab glaucoma patients. *Molecular vision*, 14, 425.
- Alayhoğlu, M., Gezen-Ak, D., Dursun, E., Bilgiç, B., Hanağası, H., Ertan, T., Gürvit, H., Emre, M., Eker, E., Uysal, Ö., Yılmaz, S.** (2016). The association between clusterin and APOE polymorphisms and late-onset Alzheimer disease in a Turkish cohort. *Journal of geriatric psychiatry and neurology*, 29(4), 221-226.
- Al-Dabbagh, N. M., Al-Dohayan, N., Arfin, M., Tariq, M.** (2009). Apolipoprotein E polymorphisms and primary glaucoma in Saudis. *Molecular vision*, 15, 912.
- Allingham, R. R., Loftsdottir, M., Gottfredsdottir, M. S., Thorgeirsson, E., Jonasson, F., Sverisson, T., Hodge, W.G., Damji, K.F., Stefánsson, E.** (2001). Pseudoexfoliation syndrome in Icelandic families. *British journal of ophthalmology*, 85(6), 702-707.
- Alpay, H., Ersoy, G.** (1989). Psödoeksfoliasyon sendromu (İstatistiksel bir çalışma). *Türk Oftalmoloji Gazetesi*, 19, 63-66.
- Ananthi, S., Chitra, T., Bini, R., Prajna, N. V., Lalitha, P., Dharmalingam, K.** (2008). Comparative analysis of the tear protein profile in mycotic keratitis patients. *Molecular vision*, 14, 500.
- Anastasopoulos, E., Coleman, A. L., Wilson, M. R., Sinsheimer, J. S., Yu, F., Katafigiotis, S., Founti, P., Salonikiou, A., Pappas, T., Koskosas, A., Katopodi, T., Lambropoulos, A., Topouzis, F.** (2014). Association of LOXL1 Polymorphisms With Pseudoexfoliation, Glaucoma, Intraocular Pressure, and Systemic Diseases in a Greek Population. The Thessaloniki Eye Study LOXL1 and Pseudoexfoliation in the Thessaloniki Eye Study. *Investigative ophthalmology & visual science*, 55(7), 4238-4243.

- Andrikopoulos, G. K., Alexopoulos, D. K., Gartaganis, S. P.** (2014). Pseudoexfoliation syndrome and cardiovascular diseases. *World journal of cardiology*, 6(8), 847.
- Aragon-Martin, J. A., Ritch, R., Liebmann, J., O'Brien, C., Blaaw, K., Mercieca, F., Spiteri, A., Cobb, C. J., Damji, K. F., Tarkkanen, A., Rezaie, T., Child, A. H., Sarfarazi, M.** (2008). Evaluation of LOXL1 gene polymorphisms in exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Molecular vision*, 14, 533.
- Arıtürk, N., Oge, I., Eski Yücel, O.** (2005). Exfoliation syndrome in middle east and black sea area of Turkey. In *5th International Glaucoma Symposium-IGS Final Program and Book of Abstracts*.
- Ariga, M., Nivean, M., Utkarsha, P.** (2013). Pseudoexfoliation syndrome. *Journal of current glaucoma practice*, 7(3), 118.
- Arnarsson, Á. M.** (2009). Epidemiology of exfoliation syndrome in the Reykjavik Eye Study. *Acta ophthalmologica*, 87(thesis3), 1-17.
- Arnarsson, A., Damji, K. F., Sverrisson, T., Sasaki, H., Jonasson, F.** (2007). Pseudoexfoliation in the Reykjavik Eye Study: prevalence and related ophthalmological variables. *Acta Ophthalmologica*, 85(8), 822-827.
- Assouti, M., Vynios, D. H., Anagnostides, S. T., Papadopoulos, G., Georgakopoulos, C. D., Gartaganis, S. P.** (2006). Collagen type IX and HNK-1 epitope in tears of patients with pseudoexfoliation syndrome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(1), 54-58.
- Baca, J. T., Finegold, D. N., Asher, S. A.** (2007). Tear glucose analysis for the noninvasive detection and monitoring of diabetes mellitus. *The ocular surface*, 5(4), 280-293.
- Baker, G. R., Morton, M., Rajapaska, R. S., Bullock, M., Gullu, S., Mazzi, B., Ludgate, M.** (2006). Altered tear composition in smokers and patients with graves ophthalmopathy. *Archives of ophthalmology*, 124(10), 1451-1456.
- Bhat, S.** (2010). Pseudoexfoliation syndrome: an identifiable cause of open angle glaucoma. *KJO*, 22(4), 330-335.
- Bialasiewicz, A. A., Wali, U., Shenoy, R., Al-Saeidi, R.** (2005). Patients with secondary open-angle glaucoma in pseudoexfoliation (PEX) syndrome among a population with high prevalence of PEX. Clinical findings and morphological and surgical characteristics. *Der Ophthalmologe: Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 102(11), 1064-1068.
- Bojić, L., Ermacora, R., Polić, S., Ivanišević, M., Mandić, Z., Rogošić, V., Lešin, M.** (2005). Pseudoexfoliation syndrome and asymptomatic myocardial dysfunction. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 243(5), 446-449.

- Böhm, D., Keller, K., Pieter, J., Boehm, N., Wolters, D., Siggelkow, W., Lebrecht, A., Schmidt, M., Pfeiffer, N., Grus, F. H.** (2012). Comparison of tear protein levels in breast cancer patients and healthy controls using a de novo proteomic approach. *Oncology reports*, 28(2), 429-438.
- Brajković, J., Kalauz-Surać, I., Ercegović, A., Miletić-Jurić, A., Sušić, N., Burić, Ž.** (2007). Ocular pseudoexfoliation syndrome and internal systemic diseases. *Acta Clinica Croatica*, 46(1-Supplement 1), 57-61.
- Brusini, P., Tosoni, C., Miani, P.** (1994). Increased prevalence of occludable angles and angle-closure glaucoma in patients with pseudoexfoliation. *Am J Ophthalmol.* 118:540.
- Burdon, K. P., Sharma, S., Hewitt, A. W., McMellon, A. E., Wang, J. J., Mackey, D. A., Mitchell, P., Craig, J. E.** (2008). Genetic analysis of the clusterin gene in pseudoexfoliation syndrome. *Molecular vision*, 14, 1727.
- Bustin, S. A.** (2005). Real-time PCR. *Encyclopedia of diagnostic genomics and proteomics*, 10(1), 117-1.
- Cahill, M., Early, A., Stack, S., Blayney, A. W., Eustace, P.** (2002). Pseudoexfoliation and sensorineural hearing loss. *Eye*, 16(3), 261-266.
- Cai, R., Han, J., Sun, J., Huang, R., Tian, S., Shen, Y., Dong, X., Xia, W., Wang, S.** (2016). Plasma clusterin and the CLU gene rs11136000 variant are associated with mild cognitive impairment in type 2 diabetic patients. *Frontiers in aging neuroscience*, 8.
- Calero, M., Rostagno, A., Matsubara, E., Zlokovic, B., Frangione, B., Ghiso, J.** (2000). Apolipoprotein J (clusterin) and Alzheimer's disease. *Microscopy research and technique*, 50(4), 305-315.
- Caprioli, J., Spaeth, G. L.** (1985). Comparison of the optic nerve head in high-and low-tension glaucoma. *Arch Ophthalmol*, 103(8), 1145-1149.
- Carnevali, S., Luppi, F., D'arca, D., Caporali, A., Ruggieri, M. P., Vettori, M. V., Caglieri, A., Astancolle, S., Panico, F., Davalli, P., Mutti, A., Fabbri, L. M., Corti, A.** (2006). Clusterin decreases oxidative stress in lung fibroblasts exposed to cigarette smoke. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 174(4), 393-399.
- Carver, J. A., Rekas, A., Thorn, D. C., Wilson, M. R.** (2003). Small Heat-shock Proteins and Clusterin: Intra-and Extracellular Molecular Chaperones with a Common Mechanism of Action and Function? *IUBMB life*, 55(12), 661-668.
- Challa, P.** (2009). Genetics of pseudoexfoliation syndrome. *Current opinion in ophthalmology*, 20(2), 88.
- Challa, P., Schmidt, S., Liu, Y., Qin, X., Vann, R. R., Gonzalez, P., Allingham, R. R., Hauser, M. A.** (2008). Analysis of LOXL1 polymorphisms in a United States population with pseudoexfoliation glaucoma. *Molecular vision*, 14, 146.

- Chen, L. H., Kao, P. Y. P., Fan, Y. H., Ho, D. T. Y., Chan, C. S. Y., Yik, P. Y., Ha, J. C. T., Chu, L. W., 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.
- Chen, L., Jia, L., Wang, N., Tang, G., Zhang, C., Fan, S., Liu, W., Meng, H., Zeng, W., Liu, N., Wang, H., Jia, H.** (2009). Evaluation of LOXL1 polymorphisms in exfoliation syndrome in a Chinese population. *Molecular vision*, 15, 2349.
- Chen, L., Zhou, L., Chan, E. C., Neo, J., Beuerman, R. W.** (2011). Characterization of the human tear metabolome by LC-MS/MS *Journal of proteome research*, 10(10), 4876-4882.
- Chinwalla, A. T., Cook, L. L., Delehaunty, K. D., Fewell, G. A., Fulton, L. A., Fulton, R. S., ... & Miner, T. L.** (2002). Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*, 420(6915), 520-562.
- Chong, R. S., Jiang, Y. Z., Boey, P. Y., Yu, S. J., Htoon, H. M., Aung, T., Khaw, P. T., Wong, T. T.** (2010). Tear cytokine profile in medicated glaucoma patients: effect of monocyte chemoattractant protein 1 on early posttrabeculectomy outcome. *Ophthalmology*, 117(12), 2353-2358.
- Chowdhury, U. R., Madden, B. J., Charlesworth, M. C., Fautsch, M. P.** (2010). Proteome analysis of human aqueous humor. *Investigative ophthalmology & visual science*, 51(10), 4921-4931.
- Choy, C. K. M., Cho, P., Chung, W. Y., Benzie, I. F.** (2001). Water-soluble antioxidants in human tears: effect of the collection method. *Investigative ophthalmology & visual science*, 42(13), 3130-3134.
- Colin, J., Gall, G. L., Jeune, B. L., Cambrai, M. D.** (1988). The prevalence of exfoliation syndrome in different areas of France. *Acta Ophthalmologica*, 66(S184), 86-89.
- Conover, W.J.**, *Practical Nonparametric Statistics* 2nd Ed., (1980). John Wiley & Sons, New York. Chapter 5 Some methods based on ranks, Section 5.2 Several independent samples. 229-239.
- Csász, É., Boross, P., Csutak, A., Berta, A., Tóth, F., Póliska, S., Török, Z., Tózsér, J.** (2012). Quantitative analysis of proteins in the tear fluid of patients with diabetic retinopathy. *Journal of proteomics*, 75(7), 2196-2204.
- Cumurcu, T., Kilic, R., Yologlu, S.** (2010). The frequency of pseudoexfoliation syndrome in the middle Black Sea region of Turkey. *European journal of ophthalmology*, 20(6), 1007-1011.
- Daimon, M., Oizumi, T., Karasawa, S., Kaino, W., Takase, K., Tada, K., Jimbu, Y., Wada, K., Kameda, W., Susa, S., Muramatsu, M., Kubota, I., Kawata, S., Kato, T.** (2011). Association of the clusterin gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism*, 60(6), 815-822.



- Damji, K. F., Bains, H. S., Stefansson, E., Loftsdottir, M., Sverrisson, T., Thorgeirsson, E., Jonasson, F., Gottfredsdottir, M., Allingham, R. R.** (1998). Is pseudoexfoliation syndrome inherited? A review of genetic and nongenetic factors and a new observation. *Ophthalmic genetics*, 19(4), 175-185.
- de Silva, H. V., Harmony, J. A., Stuart, W. D., Gil, C. M., Robbins, J.** (1990). Apolipoprotein J: structure and tissue distribution. *Biochemistry*, 29(22), 5380-5389.
- de Souza, G. A., de Godoy, L. M., Mann, M.** (2006). Identification of 491 proteins in the tear fluid proteome reveals a large number of proteases and protease inhibitors. *Genome biology*, 7(8), R72.
- Denisin, A. K., Karns, K., Herr, A. E.** (2012). Post-collection processing of Schirmer strip-collected human tear fluid impacts protein content. *Analyst*, 137(21), 5088-5096.
- Dota, A., Nishida, K., Quantock, A. J., Kinoshita, S.** (1999). Clusterin in human corneal endothelium and aqueous humor. *Experimental Eye Research*, 69, 705-08.
- 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*, 40(12), 1218-1224.
- Dvergsten, J., Manivel, J. C., Correa-Rotter, R., Rosenberg, M. E.** (1994). Expression of clusterin in human renal diseases. *Kidney international*, 45(3), 828-835.
- Dvorak-Theobald, G.** (1954). Pseudo-Exfoliation of the Lens Capsule\*: Relation to "True" Exfoliation of the Lens Capsule as Reported in the Literature and Role in the Production of Glaucoma Capsulocuticulare. *American journal of ophthalmology*, 37(1), 1-12.
- Ekström, C.** (1987). Prevalence of pseudoexfoliations in a population 65–74 years of age. *Acta Ophthalmologica*, 65(S182), 9-10.
- Elhawy, E., Kamthan, G., Dong, C. Q., Danias, J.** (2012). Pseudoexfoliation syndrome, a systemic disorder with ocular manifestations. *Human genomics*, 6(1), 22.
- Evans, V., Vockler, C., Friedlander, M., Walsh, B., Willcox, M. D.** (2001). Lacryglobin in human tears, a potential marker for cancer. *Clinical & experimental ophthalmology*, 29(3), 161-163.
- Fan, B. J., Chen, T., Grosskreutz, C., Pasquale, L., Rhee, D., DelBono, E., Haines, J. L., Wiggs, J. L.** (2008). Lack of association of polymorphisms in homocysteine metabolism genes with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *Molecular vision*, 14, 2484.

- Fan, B. J., Pasquale, L. R., Kang, J. H., Levkovitch-Verbin, H., Haines, J. L., Wiggs, J. L.** (2015). Association of clusterin (CLU) variants and exfoliation syndrome: an analysis in two Caucasian studies and a meta-analysis. *Experimental eye research*, 139, 115-122.
- Fan, B. J., Sena, D. R. F., Pasquale, L. R., Grosskreutz, C. L., Rhee, D. J., Chen, T. C., DelBono, E. A., Haines, J. L., Wiggs, J. L.** (2010). Lack of association of polymorphisms in elastin with pseudoexfoliation syndrome and glaucoma. *Journal of glaucoma*, 19(7), 432-436.
- Farias, E., Yasunaga, K. L., Peixoto, R. V., Fonseca, M. P., Fontes, W., Galera, P. D.** (2013). Comparison of two methods of tear sampling for protein quantification by Bradford method. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(2), 261-264.
- Farrah, T., Deutsch, E. W., Omenn, G. S., Campbell, D. S., Sun, Z., Bletz, J. A., Mallick, P., Katz, J. E., Malmström, J., Ossola, R., Watts, J. D., Lin, B., Zhang, H., Moritz, R. L., Aebersold, R.** (2011). A high-confidence human plasma proteome reference set with estimated concentrations in PeptideAtlas. *Molecular & cellular proteomics*, 10(9), M110-006353.
- Fingeret, M., Weinreb, R. N.** (2015). 2014 East Coast Optometric Glaucoma Symposium: highlights from live event. *Review of Optometry*, 152(2), 84-94.
- Ford, E. B.** (1966). Genetic polymorphism. Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 164(995), 350-361.
- Forsius, H.** (1988). Exfoliation syndrome in various ethnic populations. *Acta Ophthalmologica*, 66(S184), 71-85.
- Forsius, H., Forsman, E., Fellman, J., Eriksson, A. W.** (2002). Exfoliation syndrome: frequency, gender distribution and association with climatically induced alterations of the cornea and conjunctiva. *Acta Ophthalmologica*, 80(5), 478-484.
- Forsman, E., Cantor, R. M., Lu, A., Eriksson, A., Fellman, J., Järvelä, I., Forsius, H.** (2007). Exfoliation syndrome: prevalence and inheritance in a subsolate of the Finnish population. *Acta Ophthalmologica*, 85(5), 500-507.
- Foster, P. J., Seah, S. K. L.** (2005). The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Chinese people: the Tanjong Pagar Survey. *British journal of ophthalmology*, 89(2), 239-240.
- French, D. D., Margo, C. E., Harman, L. E.** (2012). Ocular pseudoexfoliation and cardiovascular disease: a national cross-section comparison study. *North American journal of medical sciences*, 4(10), 468.
- Fried, C., Stadler, P. F., Ahnert, P.** (n.d). Genome-Wide Analysis of Single Nucleotide Polymorphisms in and near Genes and Evolutionary Conserved DNA.

- Funke, S., Azimi, D., Wolters, D., Grus, F. H., Pfeiffer, N.** (2012). Longitudinal analysis of taurine induced effects on the tear proteome of contact lens wearers and dry eye patients using a RP-RP-Capillary-HPLC–MALDI TOF/TOF MS approach. *Journal of proteomics*, 75(11), 3177-3190.
- Gartaganis, S. P., Georgakopoulos, C. D., Mela, E. K., Exarchou, A., Ziouti, N., Assouti, M., Vynios, D. H.** (2002). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in exfoliation syndrome. *Ophthalmic research*, 34(3), 165-171.
- Gartaganis, S. P., Patsoukis, N. E., Nikolopoulos, D. K., Georgiou, C. D.** (2007). Evidence for oxidative stress in lens epithelial cells in pseudoexfoliation syndrome. *Eye*, 21(11), 1406-1411.
- Giacco, F., Brownlee, M.** (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*, 107(9), 1058-1070.
- Giangiacomo, A., Coleman, A. L.** (2009). The epidemiology of glaucoma. *Glaucoma*, 13-21.
- Gillies, W. E., Brooks, A.** (1988). The presentation of acute glaucoma in pseudoexfoliation of the lens capsule. *Clinical & Experimental Ophthalmology*, 16(2), 101-106.
- Gottanka, J., Flügel-Koch, C., Martus, P., Johnson, D. H., Lütjen-Drecoll, E.** (1997). Correlation of pseudoexfoliative material and optic nerve damage in pseudoexfoliation syndrome. *Investigative ophthalmology & visual science*, 38(12), 2435-2446.
- Gökce, S. E., Gökce, M. I.** (2015). Relationship between pseudoexfoliation syndrome and erectile dysfunction: a possible cause of endothelial dysfunction for development of erectile dysfunction. *International braz j urol*, 41(3), 547-551.
- Grødum, K., Heijl, A., Bengtsson, B.** (2005). Risk of glaucoma in ocular hypertension with and without pseudoexfoliation. *Ophthalmology*, 112(3), 386-390.
- Grossman, E.** (2008). Does increased oxidative stress cause hypertension? *Diabetes care*, 31(Supplement 2), S185-S189.
- Grus, F. H., Podust, V. N., Bruns, K., Lackner, K., Fu, S., Dalmasso, E. A., Wirthlin, A., Pfeiffer, N.** (2005). SELDI-TOF-MS ProteinChip array profiling of tears from patients with dry eye. *Investigative ophthalmology & visual science*, 46(3), 863-876.
- Grus, F. H., Sabuncuo, P., Augustin, A., Pfeiffer, N.** (2002). Effect of smoking on tear proteins. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*, 240(11), 889-892.
- Gu, H., Wei, X., Chen, S., Kurz, A., Müller, U., Gasser, T., Dodel, R. C., Farlow, M. R., Du, Y.** (2011). Association of clusterin gene polymorphisms with late-onset Alzheimer's disease. *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 32(3), 198-201.
- Gürlü, V. P.** (2004). Psödoeksfoliasyon sendromlu olgularda glokom gelişme riski. *Turk J Ophthalmol*, 34, 371-5.

- Harold, D., Abraham, R., Hollingworth, P., Sims, R., Gerrish, A., Hamshere, M. L., Pahwa, J. S., ... & Williams, J.** (2009). Genome-wide association study identifies variants at *CLU* and *PICALM* associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, *41*, 1088-1093.
- Hayashi, H., Gotoh, N., Ueda, Y., Nakanishi, H., Yoshimura, N.** (2008). Lysyl oxidase-like 1 polymorphisms and exfoliation syndrome in the Japanese population. *American journal of ophthalmology*, *145*(3), 582-585.
- Henke, V., Naumann, G. O. H.** (1987). Zur Häufigkeit des Pseudo-Exfoliations-Syndroms in enukleierten Augen. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, *190*(03), 173-175.
- Henry, J. C., Krupin, T., Schmitt, M., Lauffer, J., Miller, E., Ewing, M. Q., Scheie, H. G.** (1987). Long-term follow-up of pseudoexfoliation and the development of elevated intraocular pressure. *Ophthalmology*, *94*(5), 545-552.
- Hewitt, A. W., Sharma, S., Burdon, K. P., Wang, J. J., Baird, P. N., Dimasi, D. P., Mackey, D. A., Mitchell, P., Craig, J. E.** (2008). Ancestral *LOXL1* variants are associated with pseudoexfoliation in Caucasian Australians but with markedly lower penetrance than in Nordic people. *Human molecular genetics*, *17*(5), 710-716.
- Hiller, R., Sperduto, R. D., Krueger, D. E.** (1982). Pseudoexfoliation, Intraocular Pressure, and Senile Lens Changes in Population-Based Survey. *Arch Ophthalmol*, *100*(1080).
- Hollyfield, J. G., Salomon, R. G., Crabb, J. W.** (2003). Proteomic approaches to understanding age-related macular degeneration. *Advances in experimental medicine and biology*, *533*, 83-90.
- Horven, I., Hutchinson, B. T.** (1966). Exfoliation syndrome. Case reports of 31 and 35-year-old patients. *Acta ophthalmologica*, *45*(3), 294-298.
- Humphreys, D. T., Carver, J. A., Easterbrook-Smith, S. B., Wilson, M. R.** (1999). Clusterin has chaperone-like activity similar to that of small heat shock proteins. *Journal of Biological Chemistry*, *274*(11), 6875-6881.
- Irkeç, M., Bozkurt, B.** (2009). Pseudoexfoliation and glaucoma. *Contemporary Ophthalmology*, *8*(1), 1-8.
- İskeleli, G.** (1978). Psödoeksfoliasyon sıklığı XII. Ulusal Oftalmoloji Kongresi. Antalya, 171
- Jacobi, P. C., Dietlein, T. S., Krieglstein, G. K.** (1999). Comparative study of trabecular aspiration vs trabeculectomy in glaucoma triple procedure to treat pseudoexfoliation glaucoma. *Archives of Ophthalmology*, *117*(10), 1311-1318.
- Jacobi, P. C., Krieglstein, G. K.** (1994). Trabecular aspiration: a new surgical approach to improve trabecular facility in pseudoexfoliation glaucoma. *International ophthalmology*, *18*(3), 153-157.

- Janciauskiene, S., Krakau, T.** (2003). Alzheimer's peptide and serine proteinase inhibitors in glaucoma and exfoliation syndrome. *Documenta ophthalmologica*, 106(3), 215-223.
- Jeng, S. M., Karger, R. A., Hodge, D. O., Burke, J. P., Johnson, D. H., Good, M. S.** (2007). The risk of glaucoma in pseudoexfoliation syndrome. *Journal of glaucoma*, 16(1), 117-121.
- Jonas, J. B., Gründler, A. E.** (1998). Prevalence of diabetes mellitus and arterial hypertension in primary and secondary open-angle glaucomas. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*, 236(3), 202-206.
- Jonas, J. B., Papastathopoulos, K. I.** (1997). Optic disk appearance in pseudoexfoliation syndrome. *American journal of ophthalmology*, 123(2), 174-180.
- Jonasson, F., Damji, K. F., Arnarsson, A., Sverrisson, T., Wang, L., Sasaki, H., Sasaki, K.** (2003). Prevalence of open-angle glaucoma in Iceland: Reykjavik Eye Study. *Eye*, 17(6), 747-753.
- Jones, S. E., Jomary, C.** (2002). Clusterin. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 34(5), 427-431.
- Jordan-Starck, T. C., Lund, S. D., Witte, D. P., Aronow, B. J., Ley, C. A., Stuart, W. D., Swertfeger, D. K., Clayton, L. R., Sells, S. F., Paigen, B.** (1994). Mouse apolipoprotein J: characterization of a gene implicated in atherosclerosis. *Journal of lipid research*, 35(2), 194-210.
- Jun, G., Naj, A. C., Beecham, G. W., Wang, L. S., Buros, J., Gallins, P. J., ... & Inzelberg, R.** (2010). Meta-analysis confirms CR1, CLU, and PICALM as Alzheimer disease risk loci and reveals interactions with APOE genotypes. *Archives of neurology*, 67(12), 1473-1484.
- Kaljurand, K., Puska, P.** (2004). Exfoliation syndrome in Estonian patients scheduled for cataract surgery. *Acta Ophthalmologica*, 82(3p1), 259-263.
- Kang, Y. K., Hong, S. W., Lee, H., Kim, W. H.** (2004). Overexpression of clusterin in human hepatocellular carcinoma. *Human pathology*, 35(11), 1340-1346.
- Karger, R. A., Jeng, S. M., Johnson, D. H., Hodge, D. O., Good, M. S.** (2003). Estimated incidence of pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma in Olmsted County, Minnesota. *Journal of glaucoma*, 12(3), 193-197.
- Kasım, B., İrkeç, M., Alikasıfoğlu, 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. *Molecular vision*, 19, 114.
- Kawai, S., Nakajima, T., Hokari, S., Komoda, T., Kawai, K.** (2002). Apolipoprotein AI concentration in tears in diabetic retinopathy. *Annals of clinical biochemistry*, 39(1), 56-61.

- Khalil, H. A., de Keizer, R. J. W., Bodelier, V. M. W., Kijlstra, A.** (1989). Secretory IgA and lysozyme in tears of patients with Graves' ophthalmopathy. *Documenta ophthalmologica*, 72(3-4), 329-334.
- Khan, M. I., Micheal, S., Rana, N., Akhtar, F., den Hollander, A. I., Ahmed, A., Qamar, R.** (2009). Association of tumor necrosis factor alpha gene polymorphism G-308A with pseudoexfoliative glaucoma in the Pakistani population. *Molecular vision*, 15, 2861.
- Kılıçarslan, S., Tekcan, A., Demir, H. D., Yiğit, S.** (2017). Psödoeksfoliasyon sendrom/glokom hastalığının clusterin rs11136000 gen polimorfizmiyle ilişkisinin araştırılması. *Bozok Tıp Dergisi*, 1.
- King, A., Azuara-Blanco, A., Tuulonen, A.** (2013). Glaucoma. *British Medical Journal*, 346, f3518.
- Klimkowicz-Mrowiec, A., Sado, M., Dziubek, A., Dziedzic, T., Pera, J., Szczudlik, A., Słowik, A.** (2013). Lack of association of CR1, PICALM and CLU gene polymorphisms with Alzheimer disease in a Polish population. *Neurologia i neurochirurgia polska*, 47(2), 157-160.
- Knight, J. C., Keating, B. J., Rockett, K. A., Kwiatkowski, D. P.** (2003). In vivo characterization of regulatory polymorphisms by allele-specific quantification of RNA polymerase loading. *Nature genetics*, 33(4), 469-475.
- Koliakos, G. G., Konstas, A. G., Schlötzer-Schrehardt, U., Bufidis, T., Georgiadis, N., Ringvold, A.** (2002). Ascorbic acid concentration is reduced in the aqueous humor of patients with exfoliation syndrome. *American journal of ophthalmology*, 134(6), 879-883.
- Koliakos, G. G., Konstas, A. G., Schlötzer-Schrehardt, U., Hollo, G., Katsimbris, I. E., Georgiadis, N., Ritch, R.** (2003). 8-Isoprostaglandin F2a and ascorbic acid concentration in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *British journal of ophthalmology*, 87(3), 353-356.
- Koliakos, G. G., Schlötzer-Schrehardt, U., Konstas, A. G., Bufidis, T., Georgiadis, N., Dimitriadou, A.** (2001). Transforming and insulin-like growth factors in the aqueous humour of patients with exfoliation syndrome. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*, 239(7), 482-487.
- Konstas, A. G., Ritch, R., Bufidis, T., Morales, J., Qi, Y., Streeten, B. W.** (1997). Exfoliation syndrome in a 17-year-old girl. *Archives of Ophthalmology*, 115(8), 1063-1067.
- Koo, B. S., Lee, D. Y., Ha, H. S., Kim, J. C., Kim, C. W.** (2005). Comparative analysis of the tear protein expression in blepharitis patients using two-dimensional electrophoresis. *Journal of proteome research*, 4(3), 719-724.

- Kottler, U. B., Jünemann, A. G., Aigner, T., Zenkel, M., Rummelt, C., Schlötzer-Schrehardt, U.** (2005). Comparative effects of TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2 on extracellular matrix production, proliferation, migration, and collagen contraction of human Tenon's capsule fibroblasts in pseudoexfoliation and primary open-angle glaucoma. *Experimental eye research*, 80(1), 121-134.
- Kozart, D. M., Yanoff, M.** (1982). Intraocular pressure status in 100 consecutive patients with exfoliation syndrome. *Ophthalmology*, 89(3), 214-218.
- Kozobolis, V. P., Detorakis, E. T., Tsilimbaris, M. K., Vlachonikolis, I. G., Tsambarlakis, I. C., Pallikaris, I. G.** (1999). Correlation between age-related macular degeneration and pseudoexfoliation syndrome in the population of Crete (Greece). *Archives of Ophthalmology*, 117(5), 664-669.
- Kozobolis, V. P., Papatzanaki, M., Vlachonikolis, I. G., Pallikaris, I. G., Tsambarlakis, I. G.** (1997). Epidemiology of pseudoexfoliation in the island of Crete (Greece). *Acta Ophthalmologica*, 75(6), 726-729.
- Kramann, C., Boehm, N., Lorenz, K., Wehrwein, N., Stoffelns, B. M., Pfeiffer, N., Grus, F. H.** (2011). Effect of contact lenses on the protein composition in tear film: a ProteinChip study. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 249(2), 233-243.
- Krishnadas, R., Nirmalan, P. K., Ramakrishnan, R., Thulasiraj, R. D., Katz, J., Tielsch, J. M., Friedman D.S., Robin, A. L.** (2003). Pseudoexfoliation in a rural population of southern India: the Aravind Comprehensive Eye Survey. *American journal of ophthalmology*, 135(6), 830-837.
- Krumbiegel, M., Pasutto, F., Mardin, C. Y., Weisschuh, N., Paoli, D., Gramer, E., Zenkel, M., Weber, B. H. F., Kruse, F. E., Schlötzer-Schrehardt, U., Reis, A.** (2009). Exploring functional candidate genes for genetic association in german patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 50(6), 2796-2801.
- Krumbiegel, M., Pasutto, F., Mardin, C. Y., Weisschuh, N., Paoli, D., Gramer, E., Weber, B. H. F., Kruse, F. E., Schlötzer-Schrehardt, U., Reis, A.** (2010). Apolipoprotein E genotypes in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Journal of glaucoma*, 19(8), 561-565.
- Kuot, A., Hewitt, A. W., Griggs, K., Klebe, S., Mills, R., Jhanji, V., ... & Burdon, K. P.** (2012). Association of TCF4 and CLU polymorphisms with Fuchs' endothelial dystrophy and implication of CLU and TGFBI proteins in the disease process. *European Journal of Human Genetics*, 20(6), 632
- Küchle, M., Amberg, A., Martus, P., Nguyen, N. X., Naumann, G. O.** (1997). Pseudoexfoliation syndrome and secondary cataract. *British journal of ophthalmology*, 81(10), 862-866.
- Küchle, M., Ho, T. S., Nguyen, N. X., Hannappel, E., Naumann, G. O.** (1994). Protein quantification and electrophoresis in aqueous humor of pseudoexfoliation eyes. *Investigative ophthalmology & visual science*, 35(2), 748-752.

- Küchle, M., Naumann, G. O.** (1992). Occurrence of pseudoexfoliation following penetrating keratoplasty for keratoconus. *British journal of ophthalmology*, 76(2), 98-100.
- Lahiri, D. K., Schnabel, B.** (1993). DNA isolation by a rapid method from human blood samples: effects of MgCl<sub>2</sub>, EDTA, storage time, and temperature on DNA yield and quality. *Biochemical genetics*, 31(7-8), 321-328.
- Lambert, J. C., Heath, S., Even, G., Campion, D., Sleegers, K., Hiltunen, M., Combarros, O., Zelenika, D., Bullido, M. J., Tavernier, B., Letenneur, L., Bettens, K., Berr, C., Pasquier, F., Fiévet, N., Barberger-Gateau, P., ... & Amouyel, P.** (2009). Genome-wide association study identifies variants at CLU and CR1 associated with Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 41, 1094–99.
- Lebrecht, A., Boehm, D., Schmidt, M., Koelbl, H., Schwirz, R. L., Grus, F. H.** (2009). Diagnosis of breast cancer by tear proteomic pattern. *Cancer Genomics-Proteomics*, 6(3), 177-182.
- Leibowitz, H. M., Krueger, D. E., Maunder, L. R., Milton, R. C., Kini, M. M., Kahn, H. A., Nickerson, R. J., Pool, J., Colton, T. L., Ganley, J. P., Loewenstein, J. I., Dawber, T. R.** (1980). The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975. *Survey of ophthalmology*, 24(Suppl), 335-610.
- Lema, I., Brea, D., Rodríguez-González, R., Díez-Feijoo, E., Sobrino, T.** (2010). Proteomic analysis of the tear film in patients with keratoconus. *Molecular vision*, 16, 2055.
- Lemmelä, S., Forsman, E., Onkamo, P., Nurmi, H., Laivuori, H., Kivelä, T., Puska P., Heger M., Eriksson A., Forsius H., Järvelä, I.** (2009). Association of LOXL1 gene with Finnish exfoliation syndrome patients. *Journal of human genetics*, 54(5), 289-297.
- Lewin, B.** (2007). *Genes IX*. New Jersey, Ed.
- Li, K., Wang, J., Ma, Z. B., Guo, G. H.** (2015). Association between clusterin polymorphisms and esophageal squamous cell carcinoma risk in Han Chinese population. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(8), 14004.
- Li, S., Sack, R., Vijmasi, T., Sathe, S., Beaton, A., Quigley, D., Gallup, M., McNamara, N. A.** (2008). Antibody protein array analysis of the tear film cytokines. *Optometry and vision science: official publication of the American Academy of Optometry*, 85(8), 653.
- Lin, Y. L., Chen, S. Y., Lai, L. C., Chen, J. H., Yang, S. Y., Huang, Y. L., Chen, T. F., Sun, Y., Wen, L. L., Yip, P. K., Chu, Y. M., Chen, W. J., Chen, Y. J.** (2012). Genetic polymorphisms of clusterin gene are associated with a decreased risk of Alzheimer's disease. *European journal of epidemiology*, 27(1), 73-75.



- Lindberg J. G.** (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 Suppl*; 190:1–96.
- Ling, I. F., Bhongsatiern, J., Simpson, J. F., Fardo, D. W., Estus, S.** (2012). Genetics of clusterin isoform expression and Alzheimer's disease risk. *PloS one*, 7(4), e33923.
- Linnér, 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 Ophthalmologica*, 79(3), 283-285.
- Lu, S. J., Li, H. L., Sun, Y. M., Liu, Z. J., Yang, P., Wu, Z. Y.** (2014). Clusterin variants are not associated with southern Chinese patients with Alzheimer's disease. *Neurobiology of aging*, 35(11), 2656-e9.
- Luntz, M. H. T. E., Ballard, R.** (1979). MC Pseudoexfoliation of the lens. *Ann Inst Barraquer*, 14, 514-529.
- M Mullan, G., McEneny, J., Fuchs, M., McMaster, C., Todd, S., McGuinness, B., Mark, H., Passmore, P., S. Young, I., A. Johnston, J.** (2013). Plasma clusterin levels and the rs11136000 genotype in individuals with mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Current Alzheimer research*, 10(9), 973-978.
- Malukiewicz, G., Lesiewska-Junk, H., Linkowska, K., Mielnik, M., Grzybowski, T., Sulima, N.** (2011). Analysis of LOXL1 single nucleotide polymorphisms in Polish population with pseudoexfoliation syndrome. *Acta ophthalmologica*, 89(1).
- Markoulli, M., Papas, E., Petznick, A., Holden, B.** (2011). Validation of the flush method as an alternative to basal or reflex tear collection. *Current eye research*, 36(3), 198-207.
- Mccarty, C. A., Taylor, H. R.** (2000). Pseudoexfoliation syndrome in Australian adults. *American journal of ophthalmology*, 129(5), 629-633.
- McKown, R. L., Wang, N., Raab, R. W., Karnati, R., Zhang, Y., Williams, P. B., Laurie, G. W.** (2009). Lacritin and other new proteins of the lacrimal functional unit. *Experimental eye research*, 88(5), 848-858.
- Mitchell, P., Wang, J. J., Hourihan, F.** (1999). The relationship between glaucoma and pseudoexfoliation: the Blue Mountains Eye Study. *Archives of Ophthalmology*, 117(10), 1319-1324.
- Mitchell, P., Wang, J. J., Smith, W.** (1997). Association of pseudoexfoliation syndrome with increased vascular risk. *American journal of ophthalmology*, 124(5), 685-687.
- Miwa, Y., Takiuchi, S., Kamide, K., Yoshii, M., Horio, T., Tanaka, C., Banno, M., Miyata, T., Sasaguri, T., Kawano, Y.** (2005). Insertion/deletion polymorphism in clusterin gene influences serum lipid levels and carotid intima-media thickness in hypertensive Japanese females. *Biochemical and biophysical research communications*, 331(4), 1587-1593.

- Miyazaki, M., Kubota, T., Kubo, M., Kiyohara, Y., Iida, M., Nose, Y., Ishibashi, T.** (2005). The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in a Japanese population: the Hisayama study. *Journal of glaucoma*, 14(6), 482-484.
- Mizuno, K., Hara, S., Ishiguro, S., Takei, Y.** (1980). Acid phosphatase in eyes with pseudoexfoliation. *American journal of Ophthalmology*, 89(4), 482-489.
- Mizuno, K., Muroi, S.** (1979). Cycloscopy of pseudoexfoliation. *American journal of ophthalmology*, 87(4), 513514a517-514518.
- Montezano, A. C., Dulak-Lis, M., Tsiropoulou, S., Harvey, A., Briones, A. M., Touyz, R. M.** (2015). Oxidative stress and human hypertension: vascular mechanisms, biomarkers, and novel therapies. *Canadian Journal of Cardiology*, 31(5), 631-641.
- Moreno-Montañés, J., Serna, A. A., Paredes, A. A.** (1990). Pseudoexfoliative glaucoma in patients with open-angle glaucoma in the Northwest of Spain. *Acta ophthalmologica*, 68(6), 695-699.
- Morrison, J. C., Green, W. R.** (1988). Light microscopy of the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmologica*, 66(S184), 5-27.
- Mossböck, G., Renner, W., El-Shabrawi, Y., Faschinger, C., Schmut, O., Wedrich, A., Zimmermann, C., Weger, M.** (2009). TNF- $\alpha$ -308 G> A and-238 G> A polymorphisms are not major risk factors in Caucasian patients with exfoliation glaucoma. *Molecular vision*, 15, 518.
- Murphy, B. F., Davies, D. J., Morrow, W., D'apice, A. J.** (1989). Localization of terminal complement components, S-protein and SP-40, 40 in renal biopsies. *Pathology*, 21(4), 275-278.
- Naj, A. C., Jun, G., Beecham, G. W., Wang, L. S., Vardarajan, B. N., Buross, J., Gallins, P. J., ... & Schellenberg, G. D.** (2011). Common variants at MS4A4/MS4A6E, CD2AP, CD33 and EPHA1 are associated with late-onset Alzheimer's disease. *Nature Genetics*, 43(5), 436-41.
- Naumann, G. O., Schlötzer-Schrehardt, U., Kuchle, M.** (1998). Pseudoexfoliation syndrome for the comprehensive ophthalmologist: intraocular and systemic manifestations. *Ophthalmology*, 105(6), 951-968.
- Netland, P. A., Ye, H., Streeten, B. W., Hernandez, M. R.** (1995). Elastosis of the lamina cribrosa in pseudoexfoliation syndrome with glaucoma. *Ophthalmology*, 102(6), 878-886.
- Nomura, K., Takamura, E.** (1998). Tear IgE concentrations in allergic conjunctivitis. *Eye*, 12(2), 296-298.
- Ohashi, Y., Dogru, M., Tsubota, K.** (2006). Laboratory findings in tear fluid analysis. *Clinica chimica acta*, 369(1), 17-28.
- Okrojek, R., Grus, F. H., Matheis, N., Kahaly, G. J.** (2009). Proteomics in autoimmune thyroid eye disease. *Hormone and metabolic research*, 41(06), 465-470.

- Ozaki, M., Lee, K. Y., Vithana, E. N., Yong, V. H., Thalamuthu, A., Mizoguchi, T., Venkatraman, A., Aung, T.** (2008). Association of LOXL1 gene polymorphisms with pseudoexfoliation in the Japanese. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(9), 3976-3980.
- Örgen, C.** (1949). Lens kapsülü eksfoliyasyonu. *Oto-Nöro-Oftalmoloji*, 4, 1-28.
- 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.
- Pannebaker, C., Chandler, H. L., Nichols, J. J.** (2010). Tear proteomics in keratoconus. *Molecular vision*, 16, 1949.
- Park, K. S., Kim, S. S., Kim, J. C., Kim, H. C., Im, Y. S., Ahn, C. W., Lee, H. K.** (2008). Serum and tear levels of nerve growth factor in diabetic retinopathy patients. *American journal of ophthalmology*, 145(3), 432-437.
- Pasutto, F., Krumbiegel, M., Mardin, C. Y., Paoli, D., Lämmer, R., Weber, B. H. F., Kruse, F. E., Schlötzer-Schrehardt, U., Reis, A.** (2008). Association of LOXL1 common sequence variants in German and Italian patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49(4), 1459-1463.
- Paulett, C., Chandler, H., Nichols, K.** (2008). Tear protein extraction from Schirmer Strips. *American Academy of Optometry*, 80022.
- Picht, G., Welge-Luessen, U., Grehn, F., Lütjen-Drecoll, E.** (2001). Transforming growth factor  $\beta$ 2 levels in the aqueous humor in different types of glaucoma and the relation to filtering bleb development. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*, 239(3), 199-207.
- Polihronis, M., Paizis, K., Carter, G., Sedal, L., Murphy, B.** (1993). Elevation of human cerebrospinal fluid clusterin concentration is associated with acute neuropathology. *Journal of the neurological sciences*, 115(2), 230-233.
- Poon, S., Easterbrook-Smith, S. B., Rybchyn, M. S., Carver, J. A., Wilson, M. R.** (2000). Clusterin is an ATP- independent chaperone with very broad substrate specificity that stabilizes stressed proteins in a folding-competent state. *Biochemistry*, 39(51), 15953-15960.
- Posa, A., Bräuer, L., Schicht, M., Garreis, F., Beileke, S., Paulsen, F.** (2013). Schirmer strip vs. capillary tube method: non-invasive methods of obtaining proteins from tear fluid. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 195(2), 137-142.
- Prata, T. D. S., Navajas, E. V., Junior, M., Soares, L. A., Martins, J. R. M., Nader, H. B., Belfort, R. J.** (2007). Concentração de proteínas no humor aquoso de pacientes com glaucoma primário de ângulo aberto em tratamento clínico. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*.

- Psilas, K. G., Stefaniotou, M. J., Aspiotis, M. B.** (1991). Pseudoexfoliation syndrome and diabetes mellitus. *Acta ophthalmologica*, 69(5), 664-666.
- Puska, P. M.** (2002). Unilateral exfoliation syndrome: conversion to bilateral exfoliation and to glaucoma: a prospective 10-year follow-up study. *Journal of glaucoma*, 11(6), 517-524.
- Quah, J. H. M., Tong, L., Barbier, S.** (2014). Patient acceptability of tear collection in the primary healthcare setting. *Optometry and Vision Science*, 91(4), 452.
- Ramprasad, V. L., George, R., Soumitra, N., Sharmila, F., Vijaya, L., Kumaramanickavel, G.** (2008). Association of non-synonymous single nucleotide polymorphisms in the LOXL1 gene with pseudoexfoliation syndrome in India. *Molecular vision*, 14, 318.
- Rauhala, H., Visakorpi, T.** (2010). CLU (clusterin). *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol.*, 14(8):744-748.
- Razeghinejad, M. R., Rahat, F., Kamali-Sarvestani, E.** (2009). Association of TNFA-308 G/A and TNFRI+ 36 A/G gene polymorphisms with glaucoma. *Ophthalmic research*, 42(3), 118-124.
- Repo, L. P., Suhonen, M. T., Teräsvirta, M. E., Koivisto, K. J.** (1995). Color Doppler imaging of the ophthalmic artery blood flow spectra of patients who have had a transient ischemic attack: Correlations with generalized iris transluminescence and pseudoexfoliation syndrome. *Ophthalmology*, 102(8), 1199-1205.
- Repo, L. P., Teräsvirta, M. E., Koivisto, K. J.** (1993). Generalized transluminescence of the iris and the frequency of the pseudoexfoliation syndrome in the eyes of transient ischemic attack patients. *Ophthalmology*, 100(3), 352-355.
- Resnikoff, S., Filliard, G., Dell'Aquila, B.** (1991). Climatic droplet keratopathy, exfoliation syndrome, and cataract. *British journal of ophthalmology*, 75(12), 734-736.
- Resnikoff, S., Pascolini, D., Etya'Ale, D., Kocur, I., Pararajasegaram, R., Pokharel, G. P., Mariotti, S. P.** (2004). Global data on visual impairment in the year 2002. *Bulletin of the world health organization*, 82(11), 844-851.
- Richardson, T. M., Epstein, D. L.** (1981). Exfoliation glaucoma: a quantitative perfusion and ultrastructural study. *Ophthalmology*, 88(9), 968-980.
- Ringvold, A.** (1988). Exfoliation syndrome immunological aspects. *Acta Ophthalmologica*, 66(S184), 35-43.
- Ringvold, A.** (1999). Epidemiology of the pseudo-exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 77, 371-375.
- Ringvold, A., Blika, S., Elsås, T., Guldahl, J., Brevik, T., Hesstvedt, P., Hoff, K., Høisen, H., Kjørsvik, S., Rossvoll, I.** (1987). The prevalence of pseudoexfoliation in three separate municipalities of Middle-Norway. A preliminary report. *Acta Ophthalmologica*, 65(S182), 17-20.

- Ringvold, A., Blika, S., Sandvik, L.** (1997). Pseudo-exfoliation and mortality. *Acta Ophthalmologica*, 75(3), 255-256.
- Rinvold A.** 2001. Pseudoexfoliation and aortic aneurysms. *The Lancet*. 357:2139.
- Ritch, R.** (1994). Exfoliation syndrome-the most common identifiable cause of open-angle glaucoma. *Journal of glaucoma*, 3(2), 176-177.
- Ritch, R.** (2008). The management of exfoliative glaucoma. *Progress in brain research*, 173, 211-224.
- Ritch, R., Schlötzer-Schrehardt, U.** (2001). Exfoliation (pseudoexfoliation) syndrome: toward a new understanding. *Acta Ophthalmologica*, 79(2), 213-217.
- Ritch, R., Schlötzer-Schrehardt, U., Konstas, A. G.** (2003). Why is glaucoma associated with exfoliation syndrome? *Progress in retinal and eye research*, 22(3), 253-275.
- Ritland, J. S., Egge, K., Lydersen, S., Juul, R., Semb, S. O.** (2004). Exfoliative glaucoma and primary open-angle glaucoma: associations with death causes and comorbidity. *Acta Ophthalmologica*, 82(4), 401-404.
- Ritland, J. S., Utheim, T. P., Utheim, Ø. A., Espeseth, T., Lydersen, S., Semb, S. O., Rootwelt, H., Elsås, T.** (2007). Effects of APOE and CHRNA4 genotypes on retinal nerve fibre layer thickness at the optic disc and on risk for developing exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmologica*, 85(3), 257-261.
- Rosenthal, S. L., Barmada, M. M., Wang, X., Demirci, F. Y., Kamboh, M. I.** (2014). Connecting the dots: potential of data integration to identify regulatory SNPs in late-onset Alzheimer's disease GWAS findings. *PloS one*, 9(4), e95152.
- Roth, M., Epstein, D. L.** (1980). Exfoliation syndrome. *American journal of ophthalmology*, 89(4), 477-481.
- Salvisberg, C., Tajouri, N., Hainard, A., Burkhard, P. R., Lalive, P. H., Turck, N.** (2014). Exploring the human tear fluid: discovery of new biomarkers in multiple sclerosis. *Proteomics-Clinical Applications*, 8(3-4), 185-194.
- Samarai, V., Samarei, R., Haghghi, N., Jalili, E.** (2012). Sensory-neural hearing loss in pseudoexfoliation syndrome. *International journal of ophthalmology*, 5(3), 393.
- Schlötzer-Schrehardt, U.** (2009). Molecular pathology of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma—new insights from LOXL1 gene associations. *Experimental eye research*, 88(4), 776-785.
- Schlötzer-Schrehardt, U.** (2011). Genetics and genomics of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Middle East African journal of ophthalmology*, 18(1), 30.
- Schlötzer-Schrehardt, U.** (2012). Pseudoexfoliation syndrome: the puzzle continues. *Journal of ophthalmic & vision research*, 7(3), 187.

- Schlötzer-Schrehardt, U. M., Koca, M., Naumann, G. O. H., Volkholz, H.** (1992). Pseudoexfoliation syndrome: ocular manifestation of a systemic disorder? *Archives of Ophthalmology*, 110, 1752–6.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Körtje, K. H., Erb, C.** (2001a). Energy-filtering transmission electron microscopy (EFTEM) in the elemental analysis of pseudoexfoliative material. *Current eye research*, 22(2), 154-162.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Kühle, M., Hofmann-Rummelt, C., Kaiser, A., Kirchner, T.** (2000). Latentes TGF- $\beta$ 1-Bindungsprotein (LTBP-1): ein neuer Marker für intra-und extraokuläre PEX-Ablagerungen in histologischen Schnitten. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*, 216(06 (216)), 412-419.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Kühle, M., Jünemann, A., Naumann, G. O.** (2002). Relevance of the pseudoexfoliation syndrome for the glaucomas. *Ophthalmologe*, 99, 683-90.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Kühle, M., Naumann, G.O.** (1991). Electron-microscopic identification of pseudoexfoliation material in extrabulbar tissue. *Archives of Ophthalmology*, 109(4), 565–570.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Lommatzsch, J., Kühle, M., Konstas, A. G., Naumann, G. O.** (2003). Matrix metalloproteinases and their inhibitors in aqueous humor of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and primary open-angle glaucoma. *Investigative ophthalmology & visual science*, 44(3), 1117-1125.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Naumann, G. O.** (2006). Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *American journal of ophthalmology*, 141(5), 921-937.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Pasutto, F., Sommer, P., Hornstra, I., Kruse, F. E., Naumann, G. O., Reis, A., Zenkel, M.** (2008). Genotype-correlated expression of lysyl oxidase-like 1 in ocular tissues of patients with pseudoexfoliation syndrome/glaucoma and normal patients. *The American journal of pathology*, 173(6), 1724-1735.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Von der Mark, K., Sakai, L. Y., Naumann, G. O.** (1997). Increased extracellular deposition of fibrillin-containing fibrils in pseudoexfoliation syndrome. *Investigative ophthalmology & visual science*, 38(5), 970-984.
- Schlötzer-Schrehardt, U., Zenkel, M., Kühle, M., Sakai, L. Y., Naumann, G. O.** (2001b). Role of transforming growth factor- $\beta$ 1 and its latent form binding protein in pseudoexfoliation syndrome. *Experimental eye research*, 73(6), 765-780.
- Schumacher, S., Schlötzer-Schrehardt, U., Martus, P., Lang, W., Naumann, G. O. H.** (2001). Pseudoexfoliation syndrome and aneurysms of the abdominal aorta. *The Lancet*, 357(9253), 359-360.

- Schürmann, B., Wiese, B., Bickel, H., Weyerer, S., Riedel-Heller, S. G., Pentzek, M., Bachmann, C., Williams, J., van den Bussche, H., Maier, W., Jessen, F.** (2011). Association of the Alzheimer's disease clusterin risk allele with plasma clusterin concentration. *Journal of Alzheimer's Disease*, 25(3), 421-424.
- Sein, J., Galor, A., Sheth, A., Kruh, J., Pasquale, L. R., Karp, C. L.** (2013). Exfoliation syndrome: new genetic and pathophysiologic insights. *Current opinion in ophthalmology*, 24(2), 167-174.
- Shapoori, H., Miratashi, A. M., Rashidi, M., Manaviat, M. R.** (2007). Prevalence of Pseudoexfoliation Syndrome in Diabetic Patients. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*, 15(3), 3-8.
- Shastry, B. S.** (2002). SNP alleles in human disease and evolution. *Journal of human genetics*, 47(11), 561-566.
- Shazly, T. A., Farrag, A. N., Kamel, A., Al-Hussaini, A. K.** (2011). Prevalence of pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma in Upper Egypt. *BMC ophthalmology*, 11(1), 18.
- Shields, M. B.** (2001). The shape of glaucoma. quantitative neural imaging techniques. Edited by Hans G. Lemij and Joel S. Schuman. The Hague, The Netherlands, Kugler Publications, 2000. 331 pages, illustrated. Hardbound. *American Journal of Ophthalmology*, 131(6), 821.
- Shingleton, B. J., Heltzer, J., O'Donoghue, M. W.** (2003). Outcomes of phacoemulsification in patients with and without pseudoexfoliation syndrome. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 29(6), 1080-1086.
- Shoji, J., Kitazawa, M., Inada, N., Sawa, M., Ono, T., Kawamura, M., Kato, H.** (2003). Efficacy of tear eosinophil cationic protein level measurement using filter paper for diagnosing allergic conjunctival disorders. *Japanese journal of ophthalmology*, 47(1), 64-68.
- Shrum, K. R., Hattenhauer, M. G., Hodge, D.** (2000). Cardiovascular and cerebrovascular mortality associated with ocular pseudoexfoliation. *American journal of ophthalmology*, 129(1), 83-86.
- Sitaramamma T., Shivaji S., Rao G. N.** (1998). Effect of storage on protein concentration of tear samples. *Current Eye Research*, 17(10):1027-1035.
- Sollosy, M.** (2004). Incidence of the uveal pseudoexfoliation syndrome in patients with diabetes mellitus. *Oftalmologia (Bucharest, Romania: 1990)*, 48(1), 76-80.
- Špečkauskas, M., Tamošiūnas, A., Jašinskas, V.** (2012). Association of ocular pseudoexfoliation syndrome with ischaemic heart disease, arterial hypertension and diabetes mellitus. *Acta ophthalmologica*, 90(6).
- Stein, J. D., Pasquale, L. R., Talwar, N., Kim, D. S., Reed, D. M., Nan, B., Kang, J. H., Wiggs, J.L., Richards, J. E.** (2011). Geographic and climatic factors associated with exfoliation syndrome. *Archives of ophthalmology*, 129(8), 1053-1060.

- Stolwijk, T. R., Kuizenga, A. B., Haeringen, N. J., Kijlstra, A., Oosterhuis, J. A., Best, J. A.** (1994). Analysis of tear fluid proteins in insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta ophthalmologica*, 72(3), 357-362.
- Streeten, B. W.** (1993). Aberrant synthesis and aggregation of elastic components in pseudoexfoliative fibrilopathy: a unifying concept. *New Trends Ophthalmol*, 8, 187-196.
- Streeten, B. W., Li, Z. Y., Wallace, R. N., Eagle, R. C., Keshgegian, A. A.** (1992). Pseudoexfoliative fibrilopathy in visceral organs of a patient with pseudoexfoliation syndrome. *Arch Ophthalmology*, 110, 1757-1762.
- Streeten, B., Gibson, S. A., Dark, A. J.** (1986). Pseudoexfoliative material contains an elastic microfibrillar-associated glycoprotein. *Transactions of the American Ophthalmological Society*, 84, 304.
- Stuchell, R. N., Feldman, J. J., Farris, R. L., Mandel, I. D.** (1984). The effect of collection technique on tear composition. *Investigative ophthalmology & visual science*, 25(3), 374-377.
- Tarkkanen, A., Reunanen, A., Kivelä, T.** (2008). Frequency of systemic vascular diseases in patients with primary open-angle glaucoma and exfoliation glaucoma. *Acta ophthalmologica*, 86(6), 598-602.
- Tekeli, O., Turacli, M. E., Egin, Y., Akar, N., Elhan, A. H.** (2008). Tumor necrosis factor alpha-308 gene polymorphism and pseudoexfoliation glaucoma. *Molecular vision*, 14, 1815.
- Teshome, T., Regassa, K.** (2004). Prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Ethiopian patients scheduled for cataract surgery. *Acta Ophthalmologica*, 82(3p1), 254-258.
- Thomas, R., Nirmalan, P. K., Krishnaiah, S.** (2005). Pseudoexfoliation in southern India: the Andhra Pradesh Eye Disease Study. *Investigative ophthalmology & visual science*, 46(4), 1170-1176.
- Thorleifsson, G., Magnusson, K. P., Sulem, P., Walters, G. B., Gudbjartsson, D. F., Stefansson, H., Jonsson, T., Jonasdottir, ... & Stefansson, K.** (2007). Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science*, 317(5843), 1397-1400.
- Tomosugi, N., Kitagawa, K., Takahashi, N., Sugai, S., Ishikawa, I.** (2005). Diagnostic potential of tear proteomic patterns in Sjögren's syndrome. *Journal of proteome research*, 4(3), 820-825.
- Tong, L., Zhou, L., Beuerman, R. W., Zhao, S. Z., Li, X. R.** (2011). Association of tear proteins with Meibomian gland disease and dry eye symptoms. *British Journal of Ophthalmology*, 95(6), 848-852.
- Topouzis, F., Wilson, M. R., Harris, A., Founti, P., Yu, F., Anastasopoulos, E., Pappas, T., Koskosas, A., Salonikiou, A., Coleman, A. L.** (2011). Risk factors for primary open-angle glaucoma and pseudoexfoliative glaucoma in the Thessaloniki eye study. *American journal of ophthalmology*, 152(2), 219-228.



- Trougakos, I. P., Poulakou, M., Stathatos, M., Chalikia, A., Melidonis, A., Gonos, E. S.** (2002). Serum levels of the senescence biomarker clusterin/apolipoprotein J increase significantly in diabetes type II and during development of coronary heart disease or at myocardial infarction. *Experimental gerontology*, 37(10-11), 1175-1187.
- Tsironi, E. E., Pefkianaki, M., Tsezou, A., Kotoula, M. G., Dardiotis, E., Almpnidou, P., Papathanasiou, A. A., Rodopoulou, P., Chatzoulis, D. Z., Hadjigeorgiou, G. M.** (2009). Evaluation of MMP1 and MMP3 gene polymorphisms in exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Molecular vision*, 15, 2890.
- Väkevä, A., Laurila, P., Meri, S.** (1993). Co-deposition of clusterin with the complement membrane attack complex in myocardial infarction. *Immunology*, 80(2), 177.
- van Setten, G. B.** (1990). Epidermal growth factor in human tear fluid: increased release but decreased concentrations during reflex tearing. *Current eye research*, 9(1), 79-83.
- van Setten, G. B., Blalock, T. D., Grotendorst, G., Schultz, G. S.** (2002). Detection of connective tissue growth factor in human aqueous humor. *Ophthalmic research*, 34(5), 306-308.
- VanDerMeid, K. R., Su, S. P., Krenzer, K. L., Ward, K. W., Zhang, J. Z.** (2011). A method to extract cytokines and matrix metalloproteinases from Schirmer strips and analyze using Luminex. *Molecular vision*, 17, 1056.
- Versura, P., Nanni, P., Bavelloni, A., Blalock, W. L., Piazzini, M., Roda, A., Campos, E. C.** (2010). Tear proteomics in evaporative dry eye disease. *Eye*, 24(8), 1396-1402.
- Viard, I., Wehrli, P., Jornot, L., Bullani, R., Vechietti, J. L., French, L. E., Schifferli, J. A., Tschopp, J.** (1999). Clusterin gene expression mediates resistance to apoptotic cell death induced by heat shock and oxidative stress. *Journal of Investigative Dermatology*, 112(3), 290-296.
- Vogt A.** (1925). Ein neues Spaltlampenbild des Pupillengebiets: Hellblauer Pupillensaumfilz mit Häutchenbildung auf der Linsenvorderkapsel. *Klein Monatsbl Augenheilkd*; 75:1–12.
- Williams, S. E., Whigham, B. T., Liu, Y., Carmichael, T. R., Qin, X., Schmidt, S., Ramsay, M., Hauser, M. A., Allingham, R. R.** (2010). Major LOXL1 risk allele is reversed in exfoliation glaucoma in a black South African population. *Molecular vision*, 16, 705.
- Wilson, M. R., Easterbrook-Smith, S. B.** (2000). Clusterin is a secreted mammalian chaperone. *Trends in biochemical sciences*, 25(3), 95-98.
- Wolf, C., Gramer, E., Müller-Myhsok, B., Pasutto, F., Wissinger, B., Weisschuh, N.** (2010). Mitochondrial haplogroup U is associated with a reduced risk to develop exfoliation glaucoma in the German population. *BMC genetics*, 11(1), 8.

- Wong, P., Pfeffer, B. A., Bernstein, S. L., Chambers, M. L., Chader, G. J., Zakeri, Z. F., Wu, Y., Wilson, M., Becerra, S. P.** (2000). Clusterin protein diversity in the primate eye. *Molecular Vision*, 6 184-191
- Wong, T. T., Zhou, L., Li, J., Tong, L., Zhao, S. Z., Li, X. R., Yu, S. J., Koh, S. K., Beuerman, R. W.** (2011). Proteomic profiling of inflammatory signaling molecules in the tears of patients on chronic glaucoma medication. *Investigative ophthalmology & visual science*, 52(10), 7385-7391.
- Xing, Y. Y., Yu, J. T., Cui, W. Z., Zhong, X. L., Wu, Z. C., Zhang, Q., Tan, L.** (2012). Blood clusterin levels, rs9331888 polymorphism, and the risk of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, 29(3), 515-519.
- Yağcı, R., Ersöz, I., Erdurmuş, M., Gürel, A., Duman, S.** (2008). Protein carbonyl levels in the aqueous humour and serum of patients with pseudoexfoliation syndrome. *Eye*, 22(1), 128-131.
- Yalaz, M., Othman, I., Nas, K., Eroğlu, A., Homurlu, D., Çikintas, Z., Ashouri, A.** (1992). The frequency of pseudoexfoliation syndrome in the eastern Mediterranean area of Turkey. *Acta ophthalmologica*, 70(2), 209-213.
- Yalvaç, I., Önal, M.** (2001). Temel Göz Hastalıkları, Glukom (1. Baskı). Editörler: Aydın, P., Akova, Y. A. *Ankara, Güneş Kitabevi*, 259-285.
- Yang, X., Zabriskie, N. A., Hau, V. S., Chen, H., Tong, Z., Gibbs, D., Farhi, P., Katz, B. J., Luo, L., .. & Zeng, J., Zhang, K., Yang, Z.** (2008). Genetic association of LOXL1 gene variants and exfoliation glaucoma in a Utah cohort. *Cell Cycle*, 7(4), 521-524.
- Yılmaz, A., Adıgüzel, U., Tamer, L., Yıldırım, Ö., Öz, Ö., Vatansever, H., Ercan, B., Değirmenci, U., Atik, U.** (2005c). Serum oxidant/antioxidant balance in exfoliation syndrome. *Clinical & experimental ophthalmology*, 33(1), 63-66.
- Yılmaz, A., Tamer, L., Ateş, N. A., Çamdeviren, H., Değirmenci, U.** (2005a). Effects of apolipoprotein E genotypes on the development of exfoliation syndrome. *Experimental eye research*, 80(6), 871-875.
- Yılmaz, A., Tamer, L., Ates, N. A., Yildirim, Ö., Yildirim, H., Atik, U.** (2005b). Is GST gene polymorphism a risk factor in developing exfoliation syndrome? *Current eye research*, 30(7), 575-581.
- Yoo, K. H., Thornhill, B. A., Wolstenholme, J. T., Chevalier, R. L.** (1998). Tissue-specific regulation of growth factors and clusterin by angiotensin II. *American journal of hypertension*, 11(6), 715-722.
- Yoon, J. S., Choi, S. H., Lee, J. H., Lee, S. J., Lee, S. Y.** (2010). Ocular surface inflammation, and nerve growth factor level in tears in active thyroid-associated ophthalmopathy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 248(2), 271-276.
- Young, A. L., Tang, W. W. T., Lam, D. S. C.** (2004). The prevalence of pseudoexfoliation syndrome in Chinese people. *British journal of ophthalmology*, 88(2), 193-195.

- Yu, J. T., Li, L., Zhu, Q. X., Zhang, Q., Zhang, W., Wu, Z. C., Guan, J., Tan, L.** (2010). Implication of CLU gene polymorphisms in Chinese patients with Alzheimer's disease. *Clinica Chimica Acta*, 411(19-20), 1516-1519.
- Yu, J. T., Ma, X. Y., Wang, Y. L., Sun, L., Tan, L., Hu, N., Tan, L.** (2013). Genetic variation in Clusterin gene and Alzheimer's disease risk in Han Chinese. *Neurobiology of aging*, 34(7), 1921-e17.
- Yu, J. T., Tan, L.** (2012). The role of clusterin in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis, and therapy. *Molecular neurobiology*, 45(2), 314-326.
- Yüce, H., Hepsen, I. F., Tekedereli, I., Keskin, U., Elyas, H., Akyol, O.** (2007). Lack of association between pseudoexfoliation syndrome and manganese superoxide dismutase polymorphism. *Current eye research*, 32(4), 387-391.
- Yüksel, N., Karabaş, V. L., Arslan, A., Demirci, A., Çağlar, Y.** (2001). Ocular hemodynamics in pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Ophthalmology*, 108(6), 1043-1049.
- Zenkel, M., Kruse, F. E., Jünemann, A. G., Naumann, G. O., Schlötzer-Schrehardt, U.** (2006). Clusterin deficiency in eyes with pseudoexfoliation syndrome may be implicated in the aggregation and deposition of pseudoexfoliative material. *Investigative ophthalmology & visual science*, 47(5), 1982-1990.
- Zenkel, M., Pöschl, E., Von Der Mark, K., Hofmann-Rummelt, C., Naumann, G. O., Kruse, F. E., Schlötzer-Schrehardt, U.** (2005). Differential gene expression in pseudoexfoliation syndrome. *Investigative ophthalmology & visual science*, 46(10), 3742-3752.3
- Zhou, L., Beuerman, R. W.** (2012). Tear analysis in ocular surface diseases. *Progress in retinal and eye research*, 31(6), 527-550.
- Zhou, L., Beuerman, R. W., Chan, C. M., Zhao, S. Z., Li, X. R., Yang, H., Tong, L., Liu, S., Stern, M. E., Tan, D.** (2009). Identification of tear fluid biomarkers in dry eye syndrome using iTRAQ quantitative proteomics. *Journal of proteome research*, 8(11), 4889-4905.
- Zhou, L., Beuerman, R. W., Foo, Y., Liu, S., Ang, L. P., Tan, D. T.** (2006). Characterisation of human tear proteins using high-resolution mass spectrometry. *Annals-Academy of Medicine Singapore*, 35(6), 400.
- Zhou, L., Zhao, S. Z., Koh, S. K., Chen, L., Vaz, C., Tanavde, V., Li, X. R., Beuerman, R. W.** (2012). In-depth analysis of the human tear proteome. *Journal of proteomics*, 75(13), 3877-3885.
- Zhou, Y., Wang, J., Wang, K., Li, S., Song, X., Ye, Y., Wang, L., Ying, B.** (2010). Association analysis between the rs11136000 single nucleotide polymorphism in clusterin gene, rs3851179 single nucleotide polymorphism in clathrin assembly lymphoid myeloid protein gene and the patients with schizophrenia in the Chinese population. *DNA and cell biology*, 29(12), 745-751.

**URL-1:** [http://archives.evergreen.edu/webpages/curricular/2011-2012/m2o1112/web/file\\_anatomy\\_of\\_the\\_eye.html](http://archives.evergreen.edu/webpages/curricular/2011-2012/m2o1112/web/file_anatomy_of_the_eye.html). Alındığı tarih: 21.12.2017

**URL-2:** <https://www.prudhommevision.com/eyecare-services/glaucoma.html>. Alındığı tarih: 16.12.2017

**URL-3:** <http://www.eyessociateslancaster.com/glaucoma-center/>. Alındığı tarih: 16.12.2017

**URL-4:** <https://www.proteinmodelportal.org/query/uniprot/P10909>. Alındığı tarih: 19.12.2017

**URL-5:** <http://www.uniprot.org/uniprot/P10909#sequences>. Alındığı tarih: 25.12.2017

**URL-6:** [https://modbase.compbio.ucsf.edu/modbase-cgi/model\\_details.cgi?queryfile=1513682346\\_8135&searchmode=default&displaymode=moddetail&referer=yes&snpflag=&](https://modbase.compbio.ucsf.edu/modbase-cgi/model_details.cgi?queryfile=1513682346_8135&searchmode=default&displaymode=moddetail&referer=yes&snpflag=&). Alındığı tarih: 19.12.2017

**URL-7:** <https://swissmodel.expasy.org/repository/uniprot//P10909>. Alındığı tarih: 19.12.2017

**URL-8:** [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=Graphics&list\\_uids=1191](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?cmd=Retrieve&dopt=Graphics&list_uids=1191). Alındığı tarih: 20.12.2017

**URL-9:** [http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg38&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr8%3A27596917-27611437&hgsid=649636225\\_czZItvXgcb3eA8PH25U90yziAzNM](http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg38&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr8%3A27596917-27611437&hgsid=649636225_czZItvXgcb3eA8PH25U90yziAzNM). Alındığı tarih: 20.12.2017

**URL-10:** [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=11136000](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=11136000). Alındığı tarih: 20.12.2017

**URL-11:** [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=3087554](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=3087554). Alındığı tarih: 20.12.2017

**URL-12:** [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=1532278](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=1532278). Alındığı tarih: 20.12.2017

**URL-13:** [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp\\_ref.cgi?rs=2279590](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/snp_ref.cgi?rs=2279590). Alındığı tarih: 20.12.2017

**URL-14:** <https://labiotech.eu/contact-lens-glucose-diabetes/>. Alındığı tarih: 21.12.2017

**URL-15:** <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>. Alındığı tarih: 29.10.2015

**URL-16:** <https://www.neb.com/products/r0566-apoi#Product%20Information>. Alındığı tarih: 18.03.2016

**URL-17:** <https://www.neb.com/products/r0551-acii#Product%20Information>. Alındığı tarih: 18.03.2016

**URL-18:** <https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/pcr/real-time-pcr/qpcr-education/how-taqman-assays-work.html>. Alındığı tarih: 25.04.2017

**URL-19:** <https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/EHCLU.pdf>.  
Alındığı tarih: 20.05.2017

**URL-20:** <https://www.snpstats.net/start.htm?>

**URL-21:** <http://www.hammiverse.com/lectures/23/4.html>. Alındığı tarih: 12.02.2018





## **EKLER**

Ek A: Etik kurul onayı

Ek B: Kimyasallar, katalog numaraları ve üretici listesi

Ek C: Solüsyonlar

Ek D: Çalışma grubu listesi



## EK A

### ETİK KURUL ONAYI

#### HİZMETE ÖZEL

HİZMETE ÖZEL

T.C.  
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI  
ANKARA

KLİN. ARŞ. ETİK. KRL.: 50687469-1491- 44 -15/SEK.1677

KONU : GATA (KAEK 2015-07) Doç. Dr. Birsen  
CAN DEMİRDÖĞEN'e Ait Kurul Raporu

**İVEDİ**  
26 Ocak 2015

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ BIYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİNE  
ANKARA

İLGİ: GATA Y 66-2 (A) Gülhane Askeri Tıp Akademisi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Yönergesi.

İlgi Yönerge gereğince değerlendirilmek üzere GATA Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna sunulan Doç. Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN'e ait GATA KAEK-2015-07 kayıt numaralı ve "*Psödoeksfolyasyon Sendromu ve Psödoeksfolyasyon Glokomu'nda Clusterin'in ve Bağ Dokusu Büyüme Faktörü'nün (CTGF) Rolünün Araştırılması*" Klinik araştırması isimli Tek Merkezli başlıklı araştırma projesi ile ilgili, GATA Klinik Araştırmalar Etik Kurulu kararı EK-A'dadır.

Rica ederim.



Mustafa GEREK  
Profesör Hava Tabip Tuğgeneral  
GATA Klinik Araştırmalar  
Etik Kurul Başkanı

EKİ \_\_\_\_\_  
EK-A (2 Adet Klinik Araştırmalar Etik Kurulu  
Karar Formu)

HİZMETE ÖZEL  
Bağlantı Noktası Svl.Me.G.ÜNAL (TEL:2293)

**HİZMETE ÖZEL**



**GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI  
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU**

EK-A

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Psödoeksfoliyasyon Sendromu ve Psödoeksfoliyasyon Glokomu'nda Clusterin'in ve Bağ Dokusu Büyüme Faktörü'nün (CTGF) Rolünün Araştırılması
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	BMM-2014/003

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	ETİK KURULUN ADI	Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Gülhane Askeri Tıp Akademisi Komutanlığı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu 06010 Keçiören / ANKARA
	TELEFON	0312 304 2293
	FAKS	0312 304 6370
	E-POSTA	kliniketik@gata.edu.tr

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Doç.Dr. Birsen CAN DEMİRDÖĞEN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	<b>ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ</b>	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"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
İn vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
Klinik ilaç araştırması		<input type="checkbox"/>			
Klinik araştırması	<input checked="" type="checkbox"/>				
Diğer ise belirtiniz:					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	12.01.2015	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	12.01.2015	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	12.01.2015	01	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	-	-	Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>



Etik Kurul/Başkanının:  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Hv.Tbp.Tuğg. Mustafa GEREK  
İmza:

*Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.*

**GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ KOMUTANLIĞI**  
**KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU**

EK-A

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Psödoeksfoliasyon Sendromu ve Psödoeksfoliasyon Glokomu'nda Clusterin'in ve Bağ Dokusu Büyüme Faktörü'nün (CTGF) Rolünün Araştırılması
ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	BMM-2014/003

DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama
	SIGORTA	<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	<b>Karar No:</b> 2015/01 (KAEK-2015-07)	<b>Tarih:</b> (İlk değerlendirme tarihi: 21.01.2015)	
	TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği öğretim üyelerinden Doç.Dr.Birsen CAN DEMİRDÖĞEN'in sorumlu araştırmacı, asistan Ece BAYRAK'ın yardımcı araştırmacı olduğu; GATA K.İğr. Göz Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Doç.Dr.Tarkan MUMCUOĞLU'nun koordinatör, Uzm.Dr. Gökhan ÖZGE'nin yardımcı araştırmacı olduğu "Psödoeksfoliasyon Sendromu ve Psödoeksfoliasyon Glokomu'nda Clusterin'in ve Bağ Dokusu Büyüme Faktörü'nün (CTGF) Rolünün Araştırılması" isimli Çok Merkezli Çalışma, 21 Ocak 2015 tarihinde gerçekleştirilen KAEK toplantısında proje öneri dosyası, bu dosyaya ait ekli belge ve dökümanlar; araştırmacının/çalışmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, araştırmacının/çalışmanın gerçekleştirilmesinde tıbbi etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.		
25 Haziran 2014 ve 29041 sayılı Resmi Gazete'de yayımlanarak yürürlüğe giren "İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.			

ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu						
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Başkan Prof.Hv.Tbp.Tuğg.Mustafa GEREK						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi	Katılım*		İmza
Prof.Hv.Tbp.Tuğg. Mustafa GEREK	KBB AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Tbp.Kd.Alb. Fatih Mehmet MUTLU	Göz Hastalıkları AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Tbp.Kd.Alb. Sezai DEMİRBAŞ	Genel Cerrahi AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Tbp.Kd.Alb. Müfit Cemal YENEN	Kadın Hast. Ve Doğum AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dz.Ecz.Kd.Alb. Yalçın ÖZKAN	Ecz.Bil.Mrk.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Tbp.Kd.Alb. Nuri ARSLAN	Nükleer Tıp AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb. Cemil YILDIZ	Ortopedi ve Travmatoloji AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Yrd.Doç.Tbp.Kd.Alb. Engin KURT	Tıp Tarih ve Deontoloji AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Tbp.Kd.Alb. Selim KILIÇ	Halk Sağlığı AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Doç.Hv.Tbp.Kd.Alb. Melik SEYREK	Tıbbi Farmakoloji AD.	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Dr.Öğ.Yb.Osman ANKET	SAMYO (Sağ.Mensubu Olmayan Üye)	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr.Osman EROĞUL	TOBB.Etu Üniversitesi Biyomedikal	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr.Şeref KÖMÜRCÜ	Memorial Ankara Hastanesi	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		
Prof.Dr.Mahmut KÖMÜRCÜ	Muayenehane Kızılırmak Mh.1425.Cd.1450.Sk. Ulusoy Plaza No.5/59-18 Çukurambar-ANKARA	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>		İZİNLI
Öğ.Gör.Sağ.Kd.Beşv. Şemsettin VAROL	SAMYO (Hukukçu)	GATA K.İğr.	E	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>		

\* :Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanı:  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Hv.Tbp.Tuğg. Mustafa GEREK  
İmza:

*Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.*

## EK B

### KİMYASALLAR, KATALOG NUMARALARI VE ÜRETİCİ LİSTESİ

Kimyasal	Katalog numarası	Üretici
<i>Acil</i>	R0551L	New England Biolabs Inc., ABD
Agaroz	16500	Thermo Scientific, ABD
<i>ApoI</i>	R0566L	New England Biolabs Inc., ABD
BSA (Bovine Serum Albumin)	A7511	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Coomassie (Bradford) Protein Assay	23200	Thermo Scientific, ABD
İnsan Clusterin ELISA kit	EHCLU	Thermo Scientific, ABD
dNTP mix	R0192	Thermo Scientific, Litvanya
Etanol	32221	Sigma-Aldrich Co., Almanya
Etidyum bromür	15585011	Thermo Scientific, ABD
Etilen diamin tetra asetik asit disodyum tuz (EDTA)	E5134	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Gene Ruler™ 50 bp DNA Ladder	SM0372	Thermo Scientific, Litvanya
Magnezyum klorür (MgCl <sub>2</sub> )	M8266	Sigma-Aldrich Co., Çin
Phosphate buffered saline (PBS)	P4417	Sigma-Aldrich Co., İsviçre
Potasyum klorür (KCl)	sc-203207	Santa Cruz Biotechnology, Dallas TX
Primerler		Iontek İlaç Tanı ve Biyoteknoloji Ürünleri Ar-Ge San. ve Tic. AŞ., İstanbul/Türkiye
Sodyum dodesil sülfat (SDS)	L3771	Sigma-Aldrich Co., Japonya
Sodyum klorür (NaCl)	31434	Sigma-Aldrich Co., Danimarka
Su	34877	Sigma-Aldrich Co., İsviçre
Tam kandan DNA izolasyon kiti	51106	Qiagen GmbH, Almanya
Taq DNA polimeraz	EP0402	Thermo Scientific, ABD
TaqMan® genotyping master mix	4371355	Applied Biosystems, Avustralya
TaqMan® SNP genotyping assays	4351376	Applied Biosystems, ABD
Tris (hidroksimetil) amino-metan	252859	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Trizma hidroklorür (Tris-HCl)	T5941	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Triton X-100	T8787	Sigma-Aldrich Co., St. Louis, ABD
Tween 20	P1379	Sigma-Aldrich Co., Fransa

## **EK C**

### **SOLÜSYONLAR**

#### **1. Manuel yol ile genomik DNA izolasyonu için gerekli solüsyonlar**

##### **1.1 TKM tamponu (pH 7.6, 200 mL)**

10 mM Trizma base (pH 7.6)

10 mM KCl

2 mM EDTA.H<sub>2</sub>O

4 mM MgCl<sub>2</sub>

Solüsyon kullanılmadan önce otoklavlanmıştır ve 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

##### **1.2 %10 SDS solüsyonu (100 mL)**

10 g SDS deterjanı 100 mL distile suyun içinde çözdürülmüş ve 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

##### **1.3 Doymuş NaCl solüsyonu (100 mL)**

35.7 g NaCl 100 mL distile suyun içinde çözdürülmüş ve 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

##### **1.4 TE tamponu (pH 8.0, 100 mL)**

100 mM Tris-HCl

500 mM EDTA

4 °C’de muhafaza edilmiştir.

##### **1.5 Tris-HCl (pH 8.0, 100 mM, 100 mL)**

Solüsyon kullanılmadan önce otoklavlanmıştır ve 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

##### **1.6 EDTA (pH 8.0, 500 mM, 100 mL)**

Solüsyon kullanılmadan önce otoklavlanmıştır ve 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

## **2. Agaroz jel elektroforezi için gerekli solüsyonlar**

### **2.1 0.5X TBE tamponu (Tris-Borate-EDTA) (pH: 8.3)**

45 mM Trizma base

45 mM Borik asit

1 mM EDTA.2H<sub>2</sub>O

0.5X TBE tamponunun hazırlanması için öncelikle 5X TBE tamponu hazırlanmış, kullanılacağı zaman 5X tamponun 10 kat seyreltilmesi ile 0.5X TBE tamponu elde edilmiştir. Bu solüsyon 5X TBE tamponu şeklinde daha uzun ömürlü muhafaza edilebilmektedir.

#### **2.1.1 5X TBE tamponu (Tris-Borate-EDTA) (pH: 8.3, 1 Litre)**

450 mM Trizma base

450 mM Borik asit

10 mM EDTA.2H<sub>2</sub>O

Solüsyon otoklavlanır ve çökelmeyi engellemek için oda sıcaklığında tutulur.

### **2.2 Etidyum bromür (10 mg/mL)**

Etidyum bromür ışığa karşı hassas olduğu için çözeltinin konduğu şişe alüminyum folyo ile kaplanır ve oda sıcaklığında tutulur. Kullanılırken konsantrasyonu 0.5 µg/mL olacak şekilde ayarlanır.

## **3. Gözyaşı örneklerinden protein geri kazanımı için gerekli solüsyonlar**

### **3.1 PBS, NaCl ve Tween 20 solüsyonu (100 mL)**

1X PBS

500 mM NaCl

%0.5 Tween 20

4 °C'de muhafaza edilmiştir.

## EK D

### ÇALIŞMA GRUBU LİSTESİ

Tablo Ek.1: 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Dişabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs113600 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
1	Kontrol	77	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
2	PES	68	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
4	PEG	75	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
8	PES	89	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
9	PES	76	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
10	PES	92	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
11	PEG	79	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
12	PES	77	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
13	PEG	70	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
14	Kontrol	71	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
15	Kontrol	68	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
16	PEG	85	K	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
17	Kontrol	69	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
18	Kontrol	79	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
19	PES	80	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
20	PES	82	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
21	PES	66	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
22	PES	74	K	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
24	PES	76	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
25	PES	79	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
26	PES	68	E	P	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
27	PES	81	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
28	PEG	84	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
29	PES	75	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
30	Kontrol	70	E	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
31	PES	70	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
32	PES	76	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
33	PEG	73	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
34	Kontrol	71	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
35	Kontrol	83	E	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC
36	PES	70	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
37	PES	83	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
38	PES	72	K	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
39	PES	77	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
40	PES	81	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
41	PEG	83	E	P	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT
42	PEG	83	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
43	Kontrol	65	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
44	Kontrol	68	K	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
45	Kontrol	70	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
46	Kontrol	73	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
47	PES	83	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
48	Kontrol	79	K	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
49	PEG	79	E	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
50	PES	76	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
51	PEG	67	E	P	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT
52	PEG	71	K	P	P	N	P	N	TT	AA	TT	TT
53	PES	86	E	N	P	P	P	N	CT	AG	CT	CT
54	PES	86	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
55	PEG	68	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
56	Kontrol	86	E	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
57	PES	73	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
58	Kontrol	81	E	N	N	N	P	N	CC	AA	CC	CC
59	Kontrol	74	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
60	PEG	77	E	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
61	PES	77	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
62	Kontrol	80	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
63	PES	77	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
64	Kontrol	78	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
66	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
67	PEG	82	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
68	PES	75	K	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
69	PES	74	E	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
70	Kontrol	68	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
73	Kontrol	81	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
76	PES	92	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
77	PES	90	E	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC
78	PEG	66	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
80	Kontrol	83	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
81	PEG	71	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
86	PEG	81	E	P	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT
88	PEG	85	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
89	Kontrol	69	E	N	P	P	P	N	CC	AA	CC	CC
90	PEG	78	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
92	PEG	79	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
95	PEG	69	K	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC
96	PES	79	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
97	PEG	79	E	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT
98	PEG	78	E	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC
99	PES	88	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
100	PES	71	K	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
101	PEG	73	E	N	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
102	PEG	83	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
103	PES	82	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
104	PES	64	K	N	N	P	P	N	TT	AA	TT	TT
105	PEG	73	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
106	PEG	75	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
107	PES	78	K	N	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT
108	Kontrol	76	K	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
109	Kontrol	73	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
110	PES	76	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
112	PES	79	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
113	Kontrol	73	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
114	PEG	79	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
115	PES	70	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
116	PES	86	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
117	Kontrol	69	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
118	Kontrol	84	E	N	N	P	P	N	TT	AA	TT	TT
119	Kontrol	68	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
120	PEG	85	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC



Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
121	Kontrol	80	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
122	PEG	84	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
123	PEG	84	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
124	Kontrol	67	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
125	Kontrol	76	K	P	N	N	N	P	CT	AA	CT	CT
127	Kontrol	76	E	N	P	P	P	N	CC	AG	CC	CC
129	Kontrol	67	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
130	Kontrol	91	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
131	Kontrol	80	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
132	Kontrol	76	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
133	Kontrol	78	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
134	PEG	73	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
136	Kontrol	82	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
137	PEG	82	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
138	Kontrol	83	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
139	Kontrol	77	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
140	Kontrol	69	E	N	N	N	P	N	CC	AA	CC	CC
141	PEG	76	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
142	Kontrol	72	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
143	PES	88	E	P	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT
144	Kontrol	73	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
145	PEG	77	E	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
147	PES	63	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
148	PEG	73	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
149	PEG	66	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
150	Kontrol	85	K	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
153	PEG	66	E	N	N	P	P	N	TT	AA	TT	TT
154	Kontrol	79	E	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
155	PES	82	E	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
156	PEG	70	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
157	PEG	76	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
158	PEG	73	K	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
159	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
160	Kontrol	79	E	N	N	N	P	N	TT	AG	TT	TT
161	PEG	70	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
162	Kontrol	80	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
163	PEG	85	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
164	PEG	83	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
165	PEG	89	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
166	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
167	PEG	71	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
168	Kontrol	90	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
169	PEG	76	K	N	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT
170	PEG	78	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
171	PEG	74	E	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT
172	PEG	72	E	N	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT
173	PEG	75	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
174	PEG	67	K	N	N	N	P	N	CC	AA	CC	CC
175	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
176	PEG	69	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
177	PEG	82	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
178	PES	73	E	N	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
179	PEG	84	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
180	PEG	76	E	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
181	Kontrol	74	K	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
183	PEG	79	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
184	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
185	PEG	80	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
187	PEG	77	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	TT
188	PEG	81	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
189	PEG	73	E	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
190	PEG	82	K	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
191	PEG	78	K	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT
192	Kontrol	66	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
194	PEG	79	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
195	PES	79	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
196	PEG	78	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
197	PEG	66	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
198	PEG	76	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
199	PES	63	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
200	PEG	87	K	P	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
201	PEG	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
202	PES	83	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
203	PES	88	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
204	PEG	85	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
205	PEG	65	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
206	PEG	70	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
207	PEG	67	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
208	PEG	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
209	PEG	87	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
210	PEG	71	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
211	PEG	81	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
212	PES	75	E	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
213	PEG	55	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
214	PEG	69	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
215	Kontrol	76	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
216	PEG	77	E	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
217	PES	68	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
218	PEG	69	E	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
219	PES	81	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
220	PEG	70	K	P	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
221	PEG	84	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
222	PEG	72	K	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
223	PES	64	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
224	Kontrol	80	K	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
225	PEG	63	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
226	PEG	79	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
227	PEG	77	E	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
228	PES	78	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
229	Kontrol	54	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
230	PES	81	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
231	PES	86	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
232	PEG	75	E	P	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
233	PEG	79	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
234	Kontrol	52	K	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
235	Kontrol	78	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
236	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
237	Kontrol	79	K	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
238	PES	66	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
239	Kontrol	74	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
240	Kontrol	73	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
241	PEG	91	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
242	Kontrol	64	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
243	PEG	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
244	PES	71	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
245	PES	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
246	Kontrol	76	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
247	Kontrol	83	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
248	PEG	68	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
249	PES	66	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
250	Kontrol	85	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
251	Kontrol	87	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
252	PEG	64	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	TT
253	PEG	95	E	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
254	PES	81	E	N	P	P	P	N	CT	AG	CT	CT
255	Kontrol	54	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
256	PES	63	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
257	Kontrol	82	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
258	PEG	61	E	N	P	N	P	N	CC	AG	CC	CC
259	Kontrol	78	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
260	Kontrol	72	E	N	N	P	P	N	CC	AG	CC	CC
262	Kontrol	53	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
263	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
264	Kontrol	76	E	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
265	PEG	65	E	P	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
266	PES	72	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
267	PEG	78	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
268	Kontrol	84	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
269	PEG	75	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
270	Kontrol	85	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
271	PEG	78	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
273	Kontrol	56	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
274	Kontrol	83	K	P	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
275	PES	78	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
276	Kontrol	83	E	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CT
277	PEG	79	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
278	PEG	84	E	N	P	P	N	N	CC	GG	CC	CC
279	PES	72	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
280	PEG	82	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
281	PEG	74	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
282	PES	86	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CC	CC
283	PEG	82	E	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
284	Kontrol	67	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
285	PES	70	K	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
286	Kontrol	74	K	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
288	PES	81	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
289	Kontrol	74	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
290	PEG	74	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CT
291	Kontrol	74	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
292	PEG	93	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
293	PES	75	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
294	Kontrol	77	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
295	Kontrol	78	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
296	PEG	84	E	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
297	Kontrol	83	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
298	PEG	86	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
299	Kontrol	81	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
300	Kontrol	69	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
301	PEG	79	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
302	PES	82	K	N	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT
303	Kontrol	80	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
305	Kontrol	82	K	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
306	PEG	71	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
307	Kontrol	86	K	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
308	Kontrol	104	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
309	Kontrol	81	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
310	PEG	61	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
311	Kontrol	69	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
312	PEG	79	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
313	PES	76	K	N	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
314	Kontrol	84	K	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
315	Kontrol	82	E	N	P	P	P	N	CT	AA	CT	CT
316	PEG	85	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
317	Kontrol	78	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
318	PEG	64	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
319	Kontrol	82	K	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
322	PEG	76	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
324	PES	71	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
325	Kontrol	73	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
326	PEG	70	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
327	PES	85	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
328	Kontrol	80	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
330	PES	72	K	N	P	N	N	N	CC	GG	CC	CC
331	PES	73	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
332	Kontrol	72	K	N	P	P	N	N	CC	GG	CC	CC
333	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
334	Kontrol	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
335	PES	75	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
336	Kontrol	86	E	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
337	Kontrol	71	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
338	PES	73	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
339	Kontrol	75	K	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
340	Kontrol	62	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	TT
341	PES	68	K	N	P	P	P	N	TT	AA	TT	TT
342	Kontrol	81	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
343	PEG	61	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
344	PEG	70	E	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
345	PES	68	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CT
346	PES	74	E	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
347	Kontrol	70	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
348	PES	75	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
349	PES	87	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
352	Kontrol	74	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
353	Kontrol	91	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
356	Kontrol	79	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
359	PEG	86	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
360	PES	66	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
361	PES	63	K	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
362	PEG	79	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
363	PES	71	E	N	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
364	Kontrol	70	K	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
365	PEG	77	E	N	P	P	P	N	CC	AA	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
367	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
368	PEG	76	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
369	PES	63	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
370	Kontrol	74	K	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
371	PEG	77	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
372	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
373	PEG	67	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
374	PEG	76	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
375	Kontrol	74	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
376	PES	70	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
377	PEG	63	E	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
378	PEG	78	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
379	PEG	68	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
380	PES	68	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
381	Kontrol	71	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
382	PEG	63	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
384	PES	67	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
385	PES	83	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
386	PES	85	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
387	PEG	73	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
388	Kontrol	66	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
389	PEG	57	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
391	PES	76	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
392	PES	63	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
393	Kontrol	70	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
394	PEG	73	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
395	PEG	82	E	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
396	PEG	78	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
397	PES	76	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
399	Kontrol	66	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
400	PES	78	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
401	Kontrol	68	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
402	Kontrol	70	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
403	PES	77	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
404	PES	68	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
405	PES	66	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
406	Kontrol	71	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
407	PEG	63	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
408	PEG	71	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
409	PEG	61	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
410	PES	76	E	P	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
411	PES	76	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
412	Kontrol	66	E	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
413	Kontrol	76	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
414	PEG	66	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
415	Kontrol	70	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
416	PES	69	E	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
417	PES	68	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CT
418	PEG	80	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
419	PES	65	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
420	Kontrol	70	K	P	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
421	PES	70	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
422	PES	69	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
423	PES	70	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
424	PEG	76	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
425	PES	66	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
427	PES	63	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CT
428	PES	56	E	P	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
430	Kontrol	56	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
431	PES	70	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
432	PES	73	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CT
434	PES	69	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
435	PES	68	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
436	PES	71	E	N	P	P	N	N	CC	GG	CC	CC
437	PES	69	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
438	PES	70	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
439	PES	71	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CT
440	Kontrol	79	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	TT
441	PEG	63	E	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
442	PEG	69	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
443	PES	67	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
444	PES	76	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
445	PES	69	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
446	PES	77	K	P	P	P	P	N	CT	AA	CT	CT



Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
447	PES	77	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
448	PEG	79	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
449	Kontrol	80	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
450	PES	79	E	N	N	N	P	N	TT	AA	CT	CT
451	Kontrol	79	K	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
452	Kontrol	68	E	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
453	PES	78	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
454	PEG	59	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC
455	PEG	69	K	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT
456	Kontrol	76	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
457	PES	70	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
458	PES	69	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
459	PES	69	K	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
460	PES	70	E	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
461	PEG	66	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
462	PES	63	K	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
463	PES	56	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
464	PES	76	K	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
465	PES	63	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
467	PES	68	E	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
468	Kontrol	78	E	N	P	N	N	N	TT	AA	CT	CT
469	PES	70	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
470	PES	65	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
471	Kontrol	66	E	N	N	P	P	N	TT	AA	TT	TT
472	PES	66	E	N	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT
473	PES	66	K	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
474	PES	69	K	P	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
476	PES	78	E	P	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
477	Kontrol	79	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
478	PES	70	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
479	PEG	69	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
480	PES	69	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
482	PEG	80	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
483	PEG	63	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
484	PES	70	K	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
485	PES	66	K	N	P	P	P	N	CC	AG	CC	CC
486	PES	70	K	P	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
487	PEG	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
488	PES	76	K	P	N	N	N	P	CT	AA	CT	CT
489	PES	72	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
490	PEG	79	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
492	PEG	73	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
494	PES	68	E	N	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT
495	PES	70	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
496	PES	69	E	N	N	N	P	N	CC	GG	CC	CC
497	PES	73	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
498	PEG	68	E	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
499	Kontrol	71	K	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
500	Kontrol	71	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
501	PES	63	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
502	PEG	60	E	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
503	PES	68	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
504	PES	63	E	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT
506	PEG	59	E	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
508	Kontrol	66	E	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
510	PEG	66	E	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
511	Kontrol	68	E	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
512	PES	78	E	P	N	N	P	N	CC	AA	CC	CC
514	PES	77	K	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
515	PES	71	K	P	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
518	PEG	70	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
519	PEG	63	K	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
520	PES	68	K	N	P	N	P	N	CC	GG	CC	CC
521	PEG	73	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
522	PES	68	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
523	Kontrol	68	K	P	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
524	Kontrol	66	K	N	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
525	Kontrol	68	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC
527	PEG	68	K	P	P	N	N	N	CC	GG	CC	CC
528	PES	78	E	P	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
529	PES	71	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
530	PES	66	E	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
531	PES	68	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
532	PES	66	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
533	PES	69	E	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
534	PES	63	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
535	PES	68	K	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
536	PES	73	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
538	Kontrol	68	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
539	PEG	70	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
540	PES	66	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
541	PES	65	K	P	P	P	N	p	CT	AA	CT	CT
542	PES	63	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
543	PES	63	K	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
544	PES	68	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
545	Kontrol	94	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
546	PEG	69	E	N	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT
547	Kontrol	69	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
548	PEG	66	K	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
549	Kontrol	66	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
550	PES	63	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	TT
552	PES	70	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
553	PES	75	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
554	Kontrol	70	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
555	PES	68	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	TT
556	Kontrol	70	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
557	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
558	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
559	PES	69	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
560	PEG	68	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
561	PEG	89	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
563	PES	70	K	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
564	PEG	73	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
565	PES	68	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
566	PES	70	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
567	PES	60	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
568	PES	61	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
569	PES	80	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
570	PES	58	K	N	P	N	P	N	TT	AA	TT	TT
571	PES	69	E	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
572	PEG	71	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
573	PES	60	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
574	PES	69	K	P	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT
575	PES	66	E	N	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
576	PES	56	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
577	Kontrol	59	K	P	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
578	PEG	63	K	P	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
579	Kontrol	66	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
580	PES	63	K	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
581	Kontrol	68	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
582	PES	58	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
583	PES	68	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
584	PES	69	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
585	PES	76	K	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
586	PES	80	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC
587	PES	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
588	PES	63	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
589	PES	65	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
590	PES	68	K	P	P	P	P	N	CC	AG	CC	CC
591	PES	68	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
592	PES	60	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
593	PEG	70	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
594	PEG	70	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
595	PEG	66	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
596	Kontrol	65	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
597	Kontrol	75	K	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
598	Kontrol	66	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
599	Kontrol	68	K	P	P	P	N	N	CC	GG	CC	CC
600	Kontrol	60	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
601	Kontrol	59	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
602	Kontrol	70	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
603	PEG	58	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
604	PEG	68	K	N	P	P	P	N	CC	AA	CC	CC
605	Kontrol	72	K	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
606	PEG	59	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
607	Kontrol	66	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
608	Kontrol	69	E	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
609	PES	63	E	N	P	P	P	N	CC	AA	CC	CC

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
610	PES	63	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
611	PES	68	E	P	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
612	PES	62	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
613	PES	78	K	N	P	N	P	N	CC	AG	CC	CC
614	PEG	72	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
615	PES	75	E	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
616	Kontrol	66	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
617	PEG	75	E	N	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT
618	PES	70	E	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
619	PES	61	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
621	Kontrol	71	K	N	P	N	N	N	CC	GG	CC	CC
622	Kontrol	76	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
623	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
624	PEG	72	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
625	PES	66	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
626	Kontrol	81	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
627	PES	75	K	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
628	Kontrol	75	K	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
629	PEG	63	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
630	PEG	77	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
631	PES	85	K	N	P	N	P	N	TT	AA	TT	TT
632	PEG	73	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
633	PEG	83	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
634	PEG	84	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
635	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
636	Kontrol	66	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
637	Kontrol	55	E	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
638	PEG	58	K	P	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
639	PEG	76	K	P	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT
641	Kontrol	66	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
642	Kontrol	61	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
643	Kontrol	55	E	P	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
644	PEG	68	K	N	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
645	PEG	68	E	N	N	P	P	N	CC	AG	CC	CC
646	Kontrol	61	E	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	CT
647	PEG	81	E	P	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC
648	Kontrol	63	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
649	PEG	62	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
650	Kontrol	73	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
651	PEG	66	K	P	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC
652	Kontrol	70	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT
653	Kontrol	68	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
654	PEG	81	E	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
655	Kontrol	78	E	N	P	N	P	N	TT	AA	TT	CT
656	Kontrol	65	K	P	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC
657	Kontrol	61	K	N	N	N	P	N	CC	AA	CC	CC
658	Kontrol	71	K	P	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
659	Kontrol	73	E	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC
660	Kontrol	51	K	N	N	P	P	N	TT	AA	TT	TT
661	Kontrol	56	K	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT
662	Kontrol	65	K	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
663	Kontrol	66	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT
664	Kontrol	59	K	P	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
665	Kontrol	54	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
666	Kontrol	71	K	P	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC
667	Kontrol	61	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC
668	Kontrol	63	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT
669	Kontrol	74	K	P	N	P	N	P	CC	AA	CC	CC
670	Kontrol	63	K	N	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT
671	Kontrol	68	K	N	N	P	N	P	CC	AA	CC	CC
672	Kontrol	58	E	N	P	N	P	P	CC	AG	CC	CC
673	Kontrol	68	K	P	P	N	N	P	CC	AA	CC	CC
674	Kontrol	78	E	P	N	P	N	P	TT	AA	TT	TT
675	PEG	66	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
677	Kontrol	71	E	N	N	P	P	P	CT	AG	CT	CT
678	PEG	78	K	N	N	N	N	P	CT	AA	CT	CT
679	PEG	70	E	P	P	N	N	P	CC	AA	CC	CC
680	Kontrol	66	E	P	N	N	P	P	TT	AA	TT	TT
681	Kontrol	77	E	N	P	P	N	P	CC	AA	CC	CC
682	Kontrol	73	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
683	Kontrol	63	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
684	Kontrol	67	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT
685	PEG	65	E	N	P	N	N	P	CC	AA	CC	CC
686	Kontrol	69	E	P	N	N	P	P	TT	AA	TT	TT

Tablo Ek.1 (devamı): 213 PEG hastası, 214 PES hastası ve 215 kontrol bireyinden oluşan tüm çalışma grubunun demografik bilgileri ve clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T
687	PEG	57	K	N	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT
688	PEG	71	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
689	PEG	76	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
690	Kontrol	63	K	N	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT
691	Kontrol	67	E	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT
692	PEG	61	E	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT
693	PEG	63	K	P	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT
694	PEG	68	K	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT
695	Kontrol	78	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
696	PES	68	E	P	N	N	N	P	TT	AA	TT	TT
697	PEG	68	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
698	PEG	52	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC
699	PEG	78	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
700	PEG	78	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
701	PEG	72	K	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC
702	PEG	61	E	N	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT
703	PEG	78	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT
704	PEG	58	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT
705	Kontrol	68	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC
706	PEG	58	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT
707	PEG	80	E	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT
708	PEG	73	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
709	PEG	78	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC
710	PEG	74	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC

Tablo Ek.2: Tüm çalışma grubunda aköz humor örnekleri de bulunan 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Aköz humor clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Aköz humor total protein konsantrasyonu (µg/mL)	Aköz humor total protein içindeki clusterin oranı (%)
43	Kontrol	65	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.604	159.44	0.379
121	Kontrol	80	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	1.661	218.00	0.762
158	PEG	73	K	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	1.212	267.00	0.454
159	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.250	100.80	0.248
167	PEG	71	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	1.499	555.60	0.270
188	PEG	81	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	0.404	430.60	0.094
202	PES	83	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.116	208.60	0.056
209	PEG	87	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	0.230	247.05	0.093
210	PEG	71	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	0.659	229.00	0.288
212	PES	75	E	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	0.304	148.88	0.204
215	Kontrol	76	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.734	472.40	0.155
229	Kontrol	54	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	0.394	139.38	0.283
230	PES	81	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.229	133.18	0.172
235	Kontrol	78	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.020	86.50	0.023
237	Kontrol	79	K	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC	0.473	124.58	0.380
238	PES	66	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	0.459	153.38	0.299
239	Kontrol	74	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	0.160	191.28	0.084
241	PEG	91	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	1.387	552.60	0.251
242	Kontrol	64	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	0.237	80.30	0.295
243	PEG	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	0.171	209.60	0.082
245	PES	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	0.134	216.80	0.062
246	Kontrol	76	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	0.229	173.30	0.132
247	Kontrol	83	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	0.043	149.22	0.028
254	PES	81	E	N	P	P	P	N	CT	AG	CT	CT	0.043	143.52	0.030
259	Kontrol	78	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	0.030	116.02	0.026
260	Kontrol	72	E	N	N	P	P	N	CC	AG	CC	CC	0.152	280.80	0.054
268	Kontrol	84	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.172	181.00	0.095
270	Kontrol	85	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.117	257.00	0.045
295	Kontrol	78	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	0.127	175.40	0.073
296	PEG	84	E	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC	0.886	590.40	0.150
318	PEG	64	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	0.318	274.40	0.116
319	Kontrol	82	K	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC	0.188	247.20	0.076
352	Kontrol	74	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.089	144.30	0.062
386	PES	85	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.116	530.40	0.022



Tablo Ek.2 (devamı): Tüm çalışma grubunda aköz humor örnekleri de bulunan 12 PEG hastası, 17 PES hastası ve 22 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Aköz humor clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Aköz humor total protein konsantrasyonu (µg/mL)	Aköz humor total protein içindeki clusterin oranı (%)
407	PEG	63	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	0.628	435.00	0.144
418	PEG	80	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC	0.281	350.00	0.080
443	PES	67	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.009	90.58	0.010
457	PES	70	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	0.112	78.42	0.142
465	PES	63	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	1.287	726.50	0.177
545	Kontrol	94	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.495	164.90	0.300
580	PES	63	K	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.006	171.50	0.003
582	PES	58	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.163	141.30	0.115
583	PES	68	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	0.651	370.10	0.176
584	PES	69	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	0.198	603.80	0.033
586	PES	80	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	0.138	109.20	0.126
601	Kontrol	59	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.105	186.70	0.056
613	PES	78	K	N	P	N	P	N	CC	AG	CC	CC	0.605	282.20	0.214
623	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC	0.157	178.90	0.088
626	Kontrol	81	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	1.067	405.40	0.263
631	PES	85	K	N	P	N	P	N	TT	AA	TT	TT	0.290	140.33	0.207
633	PEG	83	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	0.610	175.80	0.347

Tablo Ek.3: Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
12	PES	77	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	19.57	14.27	0.137
20	PES	82	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	12.81	16.82	0.076
41	PEG	83	E	P	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT	50.22	43.46	0.116
42	PEG	83	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	17.93	25.66	0.070
43	Kontrol	65	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	20.07	18.17	0.110
49	PEG	79	E	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	18.22	16.00	0.114
60	PEG	77	E	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC	18.30	11.73	0.156
86	PEG	81	E	P	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT	11.29	9.85	0.115
100	PES	71	K	N	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC	9.03	8.81	0.103
101	PEG	73	E	N	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT	33.20	42.96	0.077
105	PEG	73	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	9.20	8.87	0.104
120	PEG	85	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	11.23	16.41	0.068
148	PEG	73	E	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC	7.47	8.60	0.087
158	PEG	73	K	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	12.44	14.65	0.085
159	Kontrol	66	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	9.95	8.79	0.113
165	PEG	89	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	12.65	15.60	0.081
166	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	7.51	11.63	0.065
167	PEG	71	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	5.17	8.62	0.060
171	PEG	74	E	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT	10.76	14.21	0.076
192	Kontrol	66	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	10.92	11.30	0.097
199	PES	63	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	8.11	10.58	0.077
200	PEG	87	K	P	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC	14.25	33.95	0.042
201	PEG	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	8.77	19.80	0.044
203	PES	88	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	18.01	20.02	0.090
204	PEG	85	E	N	N	P	P	N	CC	AA	CC	CC	16.08	17.90	0.090
205	PEG	65	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	12.92	14.38	0.090
206	PEG	70	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	1.25	10.63	0.012
207	PEG	67	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	34.00	26.47	0.128
208	PEG	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	14.33	34.42	0.042
209	PEG	87	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	34.27	46.31	0.074

Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
210	PEG	71	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	8.71	16.17	0.054
211	PEG	81	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	2.52	18.30	0.014
212	PES	75	E	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	9.38	10.61	0.088
213	PEG	55	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	3.39	10.70	0.032
214	PEG	69	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	7.26	21.12	0.034
216	PEG	77	E	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC	39.62	24.22	0.164
219	PES	81	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	5.33	8.08	0.066
220	PEG	70	K	P	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT	16.21	30.67	0.053
228	PES	78	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	14.19	15.66	0.091
231	PES	86	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	20.21	17.45	0.116
232	PEG	75	E	P	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT	4.77	18.31	0.026
234	Kontrol	52	K	P	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	18.66	16.57	0.113
235	Kontrol	78	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	20.95	25.20	0.083
236	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	10.96	16.51	0.066
237	Kontrol	79	K	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC	8.77	15.21	0.058
239	Kontrol	74	K	P	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	15.32	15.65	0.098
240	Kontrol	73	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	12.03	15.85	0.076
242	Kontrol	64	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	6.16	14.43	0.043
243	PEG	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	5.71	16.96	0.034
245	PES	84	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	7.29	9.81	0.074
246	Kontrol	76	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	12.68	18.01	0.070
247	Kontrol	83	K	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	14.25	25.04	0.057
252	PEG	64	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	TT	1.91	18.06	0.011
253	PEG	95	E	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	3.40	17.69	0.019
254	PES	81	E	N	P	P	P	N	CT	AG	CT	CT	3.94	9.55	0.041
255	Kontrol	54	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	7.74	7.73	0.100
256	PES	63	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	9.59	12.98	0.074
257	Kontrol	82	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	10.53	11.39	0.092
258	PEG	61	E	N	P	N	P	N	CC	AG	CC	CC	19.19	23.01	0.083
259	Kontrol	78	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	3.71	19.37	0.019
260	Kontrol	72	E	N	N	P	P	N	CC	AG	CC	CC	5.09	24.48	0.021

Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
262	Kontrol	53	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	4.80	17.56	0.027
263	Kontrol	71	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	3.02	21.28	0.014
264	Kontrol	76	E	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	41.29	55.01	0.075
265	PEG	65	E	P	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT	4.14	27.23	0.015
266	PES	72	K	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	8.14	15.62	0.052
268	Kontrol	84	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.77	9.34	0.008
269	PEG	75	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	3.12	26.06	0.012
270	Kontrol	85	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	10.13	24.07	0.042
271	PEG	78	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	7.94	25.34	0.031
273	Kontrol	56	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC	7.18	29.54	0.024
274	Kontrol	83	K	P	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC	1.14	10.77	0.011
276	Kontrol	83	E	P	P	P	N	N	CC	AG	CC	CT	1.59	9.96	0.016
277	PEG	79	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	0.72	12.47	0.006
278	PEG	84	E	N	P	P	N	N	CC	GG	CC	CC	3.62	17.79	0.020
279	PES	72	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	7.37	11.75	0.063
280	PEG	82	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	2.14	11.91	0.018
281	PEG	74	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	2.73	15.62	0.017
292	PEG	93	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	4.98	16.79	0.030
295	Kontrol	78	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	2.83	25.97	0.011
296	PEG	84	E	N	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC	0.89	14.77	0.006
313	PES	76	K	N	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT	9.59	18.93	0.051
318	PEG	64	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	2.62	24.52	0.011
326	PEG	70	E	P	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	8.99	39.69	0.023
330	PES	72	K	N	P	N	N	N	CC	GG	CC	CC	11.29	19.97	0.057
331	PES	73	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	6.01	11.20	0.054
335	PES	75	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC	5.55	33.19	0.017
340	Kontrol	62	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	TT	12.52	45.36	0.028
345	PES	68	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CT	4.26	19.15	0.022
352	Kontrol	74	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	2.53	20.05	0.013
360	PES	66	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC	9.88	24.19	0.041
364	Kontrol	70	K	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	22.22	17.44	0.127

Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
371	PEG	77	E	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC	16.11	20.85	0.077
376	PES	70	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	4.67	18.05	0.026
392	PES	63	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	12.50	14.49	0.086
404	PES	68	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	14.04	19.43	0.072
407	PEG	63	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	18.67	16.01	0.117
414	PEG	66	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	30.36	25.88	0.117
417	PES	68	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CT	11.77	21.25	0.055
418	PEG	80	K	N	P	P	N	N	CC	AG	CC	CC	1.02	14.69	0.007
421	PES	70	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	5.59	16.11	0.035
424	PEG	76	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	13.68	16.06	0.085
425	PES	66	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	16.32	58.41	0.028
428	PES	56	E	P	N	N	N	N	CC	GG	CC	CC	8.64	14.77	0.058
431	PES	70	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	9.14	14.68	0.062
432	PES	73	K	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CT	3.80	10.06	0.038
434	PES	69	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	3.80	9.67	0.039
435	PES	68	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	24.38	24.09	0.101
436	PES	71	E	N	P	P	N	N	CC	GG	CC	CC	15.58	16.08	0.097
437	PES	69	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC	14.09	16.63	0.085
438	PES	70	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	6.67	10.46	0.064
441	PEG	63	E	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	22.10	30.06	0.074
442	PEG	69	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	16.30	29.42	0.055
443	PES	67	E	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	10.33	12.82	0.081
444	PES	76	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	6.19	8.33	0.074
446	PES	77	K	P	P	P	P	N	CT	AA	CT	CT	6.05	12.17	0.050
449	Kontrol	80	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	21.14	19.73	0.107
450	PES	79	E	N	N	N	P	N	TT	AA	CT	CT	4.63	10.45	0.044
453	PES	78	K	N	P	P	N	N	CC	AA	CC	CC	22.52	32.33	0.070
455	PEG	69	K	N	N	P	P	N	CT	AA	CT	CT	4.54	10.15	0.045
457	PES	70	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	14.18	17.44	0.081
458	PES	69	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT	7.27	11.31	0.064
463	PES	56	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	13.78	36.67	0.038

Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs11136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
464	PES	76	K	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	14.41	25.56	0.056
465	PES	63	K	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	16.16	41.64	0.039
469	PES	70	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	18.33	26.01	0.070
470	PES	65	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	5.82	14.25	0.041
474	PES	69	K	P	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT	5.99	10.30	0.058
477	Kontrol	79	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	7.52	22.71	0.033
478	PES	70	K	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	9.36	14.60	0.064
479	PEG	69	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	5.36	29.63	0.018
484	PES	70	K	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	14.21	25.16	0.056
489	PES	72	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	5.48	9.02	0.061
559	PES	69	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	3.62	12.36	0.029
561	PEG	89	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC	5.10	8.34	0.061
564	PEG	73	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	1.22	9.29	0.013
565	PES	68	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC	0.88	8.23	0.011
566	PES	70	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	2.13	24.55	0.009
567	PES	60	E	N	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC	2.99	14.64	0.020
568	PES	61	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	1.11	9.56	0.012
569	PES	80	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	1.91	12.98	0.015
570	PES	58	K	N	P	N	P	N	TT	AA	TT	TT	2.42	11.65	0.021
571	PES	69	E	P	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	0.82	13.51	0.006
572	PEG	71	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	3.15	12.55	0.025
573	PES	60	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	2.91	18.15	0.016
574	PES	69	K	P	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT	1.43	9.93	0.014
575	PES	66	E	N	P	N	N	N	CT	AG	CT	CT	7.05	16.69	0.042
576	PES	56	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	0.65	9.77	0.007
577	Kontrol	59	K	P	P	N	N	N	CC	AG	CC	CC	0.42	8.52	0.005
578	PEG	63	K	P	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	0.48	21.28	0.002
581	Kontrol	68	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	1.37	13.41	0.010
582	PES	58	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	3.63	28.66	0.013
583	PES	68	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	2.64	26.32	0.010
584	PES	69	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	1.07	12.63	0.008

Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
586	PES	80	K	N	N	P	N	N	CC	AG	CC	CC	2.91	10.18	0.029
587	PES	70	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	1.61	10.88	0.015
588	PES	63	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	1.40	7.72	0.018
589	PES	65	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	0.46	9.45	0.005
590	PES	68	K	P	P	P	P	N	CC	AG	CC	CC	0.79	8.18	0.010
591	PES	68	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	0.94	7.14	0.013
592	PES	60	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	2.51	14.05	0.018
595	PEG	66	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	2.61	13.45	0.019
596	Kontrol	65	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	0.21	8.04	0.003
597	Kontrol	75	K	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT	3.30	14.53	0.023
600	Kontrol	60	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	6.10	13.24	0.046
603	PEG	58	K	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	1.82	16.75	0.011
606	PEG	59	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	0.53	10.90	0.005
607	Kontrol	66	K	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	11.84	55.71	0.021
609	PES	63	E	N	P	P	P	N	CC	AA	CC	CC	0.34	6.44	0.005
610	PES	63	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	13.36	12.19	0.110
612	PES	62	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	6.78	14.64	0.046
613	PES	78	K	N	P	N	P	N	CC	AG	CC	CC	1.19	9.66	0.012
615	PES	75	E	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	3.28	7.63	0.043
618	PES	70	E	N	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	3.61	7.58	0.048
619	PES	61	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	7.55	10.49	0.072
622	Kontrol	76	K	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	0.63	6.36	0.010
623	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC	0.70	10.70	0.007
624	PEG	72	E	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT	0.57	18.77	0.003
627	PES	75	K	P	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	3.59	16.75	0.021
628	Kontrol	75	K	P	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	3.22	13.45	0.024
629	PEG	63	E	N	N	P	N	N	CT	AG	CT	CT	4.52	16.80	0.027
630	PEG	77	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT	2.34	10.49	0.022
632	PEG	73	E	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	3.27	11.52	0.028
633	PEG	83	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	18.94	21.28	0.089
634	PEG	84	E	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	2.81	9.27	0.030

Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
635	Kontrol	68	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	8.10	11.38	0.071
636	Kontrol	66	E	N	N	N	N	N	TT	AA	TT	TT	6.18	9.36	0.066
637	Kontrol	55	E	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT	7.85	15.88	0.049
638	PEG	58	K	P	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC	10.53	19.69	0.053
639	PEG	76	K	P	P	P	N	N	CT	AG	CT	CT	7.63	9.57	0.080
641	Kontrol	66	E	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	25.77	21.02	0.123
642	Kontrol	61	E	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	7.30	10.43	0.070
643	Kontrol	55	E	P	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	6.52	11.14	0.059
646	Kontrol	61	E	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	CT	7.67	27.31	0.028
647	PEG	81	E	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC	4.50	14.27	0.032
648	Kontrol	63	K	P	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	3.31	10.39	0.032
650	Kontrol	73	E	P	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	12.90	22.70	0.057
651	PEG	66	K	N	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	8.07	13.54	0.060
652	Kontrol	70	E	N	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	1.62	11.85	0.014
653	Kontrol	68	K	N	N	N	N	N	CT	AA	CT	CT	1.33	6.80	0.019
654	PEG	81	E	N	N	P	N	N	CT	AA	CT	CT	7.55	15.48	0.049
655	Kontrol	78	E	N	P	N	P	N	TT	AA	TT	CT	3.82	7.94	0.048
656	Kontrol	65	K	P	N	P	N	N	CC	GG	CC	CC	5.65	6.17	0.092
657	Kontrol	61	K	N	N	N	P	N	CC	AA	CC	CC	4.75	6.97	0.068
658	Kontrol	71	K	P	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT	10.72	13.46	0.080
659	Kontrol	73	E	N	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC	13.47	13.17	0.102
660	Kontrol	51	K	N	N	P	P	N	TT	AA	TT	TT	5.94	5.91	0.101
661	Kontrol	56	K	N	P	P	N	N	CT	AA	CT	CT	6.23	9.76	0.064
662	Kontrol	65	K	P	P	N	N	N	CC	AA	CC	CC	4.10	33.87	0.012
663	Kontrol	66	K	N	N	N	P	N	CT	AA	CT	CT	7.13	29.06	0.025
664	Kontrol	59	K	P	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT	4.97	8.96	0.056
665	Kontrol	54	E	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	10.17	14.97	0.068
666	Kontrol	71	K	P	N	N	P	N	CC	AG	CC	CC	5.84	7.97	0.073
667	Kontrol	61	E	N	N	N	N	N	CC	AG	CC	CC	5.66	7.85	0.072
668	Kontrol	63	E	P	P	N	N	N	TT	AA	TT	TT	3.97	9.52	0.042
669	Kontrol	74	K	P	N	P	N	P	CC	AA	CC	CC	4.83	4.91	0.098



Tablo Ek.3 (devamı): Tüm çalışma grubunda gözyaşı örnekleri de bulunan 80 PEG hastası, 81 PES hastası ve 80 kontrol bireyinden oluşan popülasyonun demografik bilgileri, clusterin genetik polimorfizmleri genotipleri, clusterin ve total protein konsantrasyonları ile total protein içindeki clusterin oranı. E: Erkek; K: Kadın; P: Pozitif; N: Negatif.

No	PEG/PES/Kontrol	Yaş	Cinsiyet	Diyabet	Kalp hastalığı	Hipertansiyon	Sigara	İnme	Clusterin rs1136000 C/T	Clusterin rs3087554 A/G	Clusterin rs1532278 C/T	Clusterin rs2279590 C/T	Gözyaşı clusterin konsantrasyonu (µg/mL)	Gözyaşı total protein konsantrasyonu (mg/mL)	Gözyaşı total protein içindeki clusterin oranı (%)
670	Kontrol	63	K	N	P	N	P	N	CT	AA	CT	CT	8.04	23.19	0.035
671	Kontrol	68	K	N	N	P	N	P	CC	AA	CC	CC	2.55	13.66	0.019
672	Kontrol	58	E	N	P	N	P	P	CC	AG	CC	CC	5.59	8.46	0.066
673	Kontrol	68	K	P	P	N	N	P	CC	AA	CC	CC	5.27	11.64	0.045
675	PEG	66	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	5.74	11.89	0.048
677	Kontrol	71	E	N	N	P	P	P	CT	AG	CT	CT	13.97	11.23	0.124
678	PEG	78	K	N	N	N	N	P	CT	AA	CT	CT	4.30	15.95	0.027
679	PEG	70	E	P	P	N	N	P	CC	AA	CC	CC	8.78	15.72	0.056
680	Kontrol	66	E	P	N	N	P	P	TT	AA	TT	TT	8.33	11.23	0.074
681	Kontrol	77	E	N	P	P	N	P	CC	AA	CC	CC	6.86	40.43	0.017
682	Kontrol	73	K	P	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	5.13	18.45	0.028
683	Kontrol	63	E	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	3.09	8.96	0.035
684	Kontrol	67	K	N	N	N	N	N	CT	AG	CT	CT	8.29	10.35	0.080
685	PEG	65	E	N	P	N	N	P	CC	AA	CC	CC	1.72	8.37	0.021
686	Kontrol	69	E	P	N	N	P	P	TT	AA	TT	TT	0.64	10.82	0.006
687	PEG	57	K	N	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT	18.67	41.79	0.045
688	PEG	71	E	P	N	P	N	N	CC	AA	CC	CC	6.86	20.93	0.033
689	PEG	76	E	N	N	N	N	N	CC	AA	CC	CC	4.04	15.65	0.026
690	Kontrol	63	K	N	N	P	P	N	CT	AG	CT	CT	5.23	35.86	0.015
691	Kontrol	67	E	N	P	P	N	N	TT	AA	TT	TT	2.69	12.26	0.022
692	PEG	61	E	P	P	N	N	N	CT	AA	CT	CT	2.23	16.87	0.013
693	PEG	63	K	P	N	N	P	N	CT	AG	CT	CT	8.75	13.22	0.066
694	PEG	68	K	N	N	N	P	N	TT	AA	TT	TT	5.64	14.26	0.040
695	Kontrol	78	K	N	N	P	N	N	TT	AA	TT	TT	3.42	9.47	0.036
696	PES	68	E	P	N	N	N	P	TT	AA	TT	TT	10.34	10.69	0.097



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Sinem DEMİRKAYA BUDAK  
**Uyruğu** : T.C.  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 10.01.1990 / Silivri  
**E-posta** : sinemdemirkaya1@gmail.com  
**Telefon** : +90 536 951 1745

### ÖĞRENİM DURUMU

**Yüksek Lisans** : 2018, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği (Tam Burslu)  
**Lisans** : 2015, Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik

**YABANCI DİL:** İngilizce

### MESLEKİ DENEYİM

2013- Institute of Systematic Botany and Mycology, University of Munich (LMU München), Münih, ALMANYA – Stajyer

### TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR

#### **Bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler:**

- **Demirkaya S**, Özge G, Mumcuoglu T, Can Demirdögen B. Evaluation of rs11136000 single nucleotide polymorphism of clusterin gene in pseudoexfoliation syndrome risk. The 41st FEBS Congress. 3-8 Eylül 2016 (Poster). The FEBS Journal 283 (Suppl. 1), 2016; pp 375. DOI: 10.1111/febs.13808. P-08.02.5-006 (Kongre iptal edildiğinden sunum yapılamamıştır ancak bildiri FEBS Journal’da yayınlanmıştır).
- **Demirkaya S**, Can Demirdögen B, Özge G, Mumcuoğlu T. Clusterin rs11136000 polimorfizmi ile psödoeksfoliasyon sendromu ve glokomu arasındaki ilişkinin incelenmesi. TBD Biyokimya Günleri. 2-5 Kasım 2016. Sivas, Türkiye (Sözlü bildiri). Turkish Journal of Biochemistry. 2016; vol 41(S3), S036.

- **Demirkaya S**, Can Demirdöğen B, Özge G, Mumcuoğlu T. Clusterin polimorfizmleri ile psödoeksfoliasyon sendromu arasındaki ilişkinin incelenmesi. II. Türkiye in vitro Diyagnostik-Biyobelirteçler Sempozyumu. 10-12 Mayıs 2017. İzmir, Türkiye (Sözlü bildiri). Turkish Journal of Biochemistry. 2017; vol 42(S2), S-12.
- **Budak D**, Can Demirdöğen B, Özge G, Mumcuoğlu T. Evaluation of the effect of clusterin rs2279590 single nucleotide polymorphism in pseudoexfoliation syndrome risk and on clusterin protein level in aqueous humor. The 42nd FEBS Congress. 10-14 Eylül 2017. Kudüs, İsrail (Poster). The FEBS Journal. 2017; vol. 284 (S1) 104–392, DOI: 10.1111/febs.14174, P.1.5-054.

## **DİĞER YAYINLAR**

### **Bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler:**

- **Göksoy E**, **Demirkaya S**, Oflaz S, Özge G, Mumcuoğlu T, Can Demirdöğen B. Analysis of the relationship between PON1 (paraoxonase1) 192Q/R (rs662) polymorphism with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliative glaucoma. Erciyes Medical Genetics Days 2017. 11-13 Mayıs 2017. Kayseri, Türkiye (Poster). Erciyes Medical Journal. 2017; vol 39, Issue 2, PP13.
- **Can Demirdöğen B**, Yakar G, Göksoy E, **Demirkaya S**, Koçan C, Özge G, Mumcuoğlu T. Relationship between paraoxonase 1 (PON1) promoter (-107T/C) and coding region polymorphisms (192Q/R and 55L/M) and Pseudoexfoliation syndrome. The 42nd FEBS Congress. 10-14 Eylül 2017. Kudüs, İsrail (Poster). The FEBS Journal. 2017; vol. 284 (S1) 104–392, DOI: 10.1111/febs.14174, P.1.5-073.