



Psödoeksfoliyasyon Sendromu ve Psödoeksfoliyasyon Glokomu Bulunan Bir Türk Popülasyonunda *LOXL1*'in Üç Tek Nükleotid Polimorfizmi

Three Single Nucleotide Polymorphisms of *LOXL1* in a Turkish Population with Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma

Y Yetkin Yaz*, N Nilgün Yıldırım**, Y Yasemin Aydın Yaz***, O Oğuz Çilingir****, Z Zafer Yüksel****, F Fezan Mutlu*****

*Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye

**Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

***Eskişehir Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye

****Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

*****Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

Öz

Amaç: Türk toplumunda psödoeksfoliyasyon sendrom (XFS) ve psödoeksfoliyasyon glokom olgularında (XFG) *LOXL1* geninin üç tek nükleotid polimorfizmini (SNPs) (rs3825942, rs1048661 ve rs2165241) araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: XFS'li 48 ve XFG'li 58 olgu ile 171 kontrol olgusuna ait kan örneklerinden DNA elde edilerek, prob temelli bir genotipleme yöntemi olan RT-PCR ile *LOXL1* genine ait üç SNP (rs3825942, rs1048661 ve rs2165241) araştırıldı.

Bulgular: *LOXL1* geninde her üç SNP'nin XFS ve XFG ile anlamlı derecede ilişki saptandı (XFS için rs3825942 $p=3,54 \times 10^{-6}$ odds oranı [OR]= ∞ , rs1048661 $p=0,008$ OR=2,18 ve rs2165241 $p=8,69 \times 10^{-9}$ OR=4,30 XFG için rs3825942 $p=3,41 \times 10^{-7}$ OR= ∞ , rs1048661 $p=1,75 \times 10^{-5}$ OR=3,78 ve rs2165241 $p=3,85 \times 10^{-11}$ OR=4,90). Hiçbir SNP'de XFS ile XFG arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Psödoeksfoliyatif olguları sağlıklı kişilerden ayırt etmede rs3825942 SNP'yi daha değerli bulundu (SE=1,00). rs2165241'in homozigot TT genotipi 6 kat artmış XFS riski ($p=8,15 \times 10^{-8}$ OR=6,32) ve 7 kat artmış XFG riski ($p=1,45 \times 10^{-10}$ OR=7,95) ile ilişkililiydi. Her üç risk alleli içeren haplotip (GGT) XFS/XFG'da güçlü ilişki ve 7 kat artmış risk taşıyordu ($p=8,65 \times 10^{-14}$ OR=7,45). Erkeklerde rs2165241 SNP'yi 3 kat daha riskli olarak değerlendirildi ($p=6,78 \times 10^{-5}$ OR=3,202).

Sonuç: Türk popülasyonunda *LOXL1* polimorfizmi psödoeksfoliyasyon için artmış bir risk ile ilişkilidir. rs2165241'in T alleli, çalışma grubumuzda en önemli ayırt edici risk faktörü olarak bulunmuştur. Tüm SNP dağılımlarının Avrupalı ve Amerikalı toplumlar ile benzer olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Psödoeksfoliyasyon sendromu, psödoeksfoliyasyon glokomu, *LOXL1* geni

Abstract

Objectives: To investigate the three single nucleotide polymorphisms (SNPs) (rs3825942, rs1048661, and rs2165241) of the *LOXL1* gene in pseudoexfoliation syndrome (XFS) and pseudoexfoliation glaucoma (XFG) in the Turkish population.

Materials and Methods: DNA was obtained from blood samples of 48 XFS, 58 XFG, and 171 control subjects. Three *LOXL1* SNPs (rs3825942, rs1048661, rs2165241) were investigated with real time PCR, a probe-based genotyping method, and melting curve analysis.

Results: All three SNPs of *LOXL1* were significantly associated with XFS (rs3825942 $p=3.54 \times 10^{-6}$, odds ratio [OR]= ∞ ; rs1048661 $p=0.008$, OR=2.18; rs2165241 $p=8.69 \times 10^{-9}$, OR=4.30) and XFG (rs3825942 $p=3.41 \times 10^{-7}$, OR= ∞ ; rs1048661 $p=1.75 \times 10^{-5}$, OR=3.78; rs2165241 $p=3.85 \times 10^{-11}$ OR=4.90). No significant differences were observed between the XFS and XFG groups for any of the SNPs. The GG genotype of rs3825942 was more valuable for distinguishing pseudoexfoliative cases from healthy individuals. The homozygous TT genotype of rs2165241 was associated with 6-fold increased XFS risk ($p=8.15 \times 10^{-8}$, OR=6.32) and 7-fold increased XFG risk ($p=1.45 \times 10^{-10}$ OR=7.95). The GGT haplotype consisting of all three risk alleles was associated with a 7.45-fold higher risk

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Yetkin Yaz, Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi, Göz Hastalıkları Kliniği, Eskişehir, Türkiye

Tel.: +90 505 270 29 72 E-posta: yetkin yaz@gmail.com ORCID-ID: orcid.org/0000-0002-6425-7767

Geliş Tarihi/Received: 31.01.2018 **Kabul Tarihi/Accepted:** 09.04.2018

©Telif Hakkı 2018 Türk Oftalmoloji Derneği
Türk Oftalmoloji Dergisi, Galenos Yayınevi tarafından basılmıştır.

Abstract

of XFS/XFG ($p=8.65 \times 10^{-14}$, OR=7.45). Presence of T allele of rs2165241 conferred 3 times higher risk for men than women ($p=6.78 \times 10^{-5}$, OR=3.202). **Conclusion:** *LOXL1* SNPs are associated with increased risk for pseudoexfoliation in the Turkish population. T allele of rs2165241 was found to be the most important characterized risk factor for our cohort. All SNP distributions were similar to other European and American populations.

Keywords: Pseudoexfoliation syndrome, pseudoexfoliation glaucoma, *LOXL1* gene

Giriş

Psödoeksfoliyasyon glokomu (XFG) dünya çapında sekonder açık açılı glokomun teşhis edilebilen en sık nedenidir.¹ Psödoeksfoliyasyon, oküler ve ekstraoküler dokularda anormal fibriler ekstrasellüler materyalin ilerleyici birikimi ile karakterize, yaşa bağlı bir sistemik bozukluktur.^{1,2} Psödoeksfoliyasyon sendromu (XFS), irisin ön kenar yapıları veya ön lens kapsülü gibi ön segment yapılarının üzerinde psödoeksfoliyasyon materyalinin (PXM) görülmesi ile teşhis edilir. XFS, katarakt ve glokom riskinin artışı ve çok çeşitli intraoküler komplikasyonlara yatkınlık ile ilişkili bulunmuştur.^{1,2,3,4}

PXM yapısı ve kökeni bilinmemektedir. Yakın zamanda yapılan bir genom çapında ilişkilendirme çalışmasında, XFS geliştirmek için önemli bir genetik risk faktörü olarak elastojenez ve kolajen çapraz bağlanması için gerekli olan bir enzimi kodlayan *LOXL1* geni tanımlanmıştır.^{5,6} PFX ile üç adet tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ilişkilendirilmiştir: Bir intronik SNP, intron 1'de bulunan rs2165241 ve ekzon 1'de yer alan iki non-sinonim SNP, rs3825942 (G153D) ve rs1048661 (R141L).⁵ Bununla birlikte, her iki varyant için risk allelinin frekansı, farklı popülasyonlarda değişiklik göstermektedir. Bu çalışmalara dayanarak, *LOXL1* gerekli ancak PXM gelişimi için yeterli değildir.⁵ PXM, ekstrasellüler matriks ve bazal membran arasındaki ilişki nedeniyle PXM oluşumunda farklı genlerin rolü araştırılmıştır. Bu genler arasında elastik lif ve ekstrasellüler matriks metabolizmasıyla ilişkili MMP1, MMP3, FBN1, LTBP2, MFAP2, TGM2, TGF- β 1 ve CLU bulunmaktadır.^{7,8,9} Ayrıca, gen ifadesini etkileyen ve enzim aktivitesinin azalmasına yol açan *LOXL1* promoter haplotipleri XFS/XFG ile ilişkilidir.⁵

Bu çalışmanın amacı, Türk toplumunda *LOXL1* polimorfizmi ile XFG ve XFS ilişkisini belirlemek için *LOXL1* geninin varyant SNP'lerini (rs2165241, rs3825942 ve rs1048661) araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem**Çalışma Popülasyonu**

Çalışma popülasyonu, 58 XFG'li, 48 XFS'li hasta ve 171 sağlıklı yaş ve cinsiyet uyumlu kontrol olmak üzere toplam 277 kişiden oluşuyordu. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalardan bilgilendirilmiş onam alındı. Çalışma, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı ve Helsinki Bildirgesi'nin ilkelerine bağlı kalındı.

Çalışmaya dahil edilen tüm bireylerin sistemik hastalıklar (diyabet, hipertansiyon, tiroid ve romatizmal hastalıklar) ve ilaç kullanım öyküsü sorgulandı ve daha sonra refraksiyon, görme keskinliği, göz içi basıncı (GİB) (Goldmann aplanasyon tonometrisi), ön segmentin biyomikroskopik muayenesi ve fundus muayenesinden oluşan standart ayrıntılı oftalmik muayeneye yapıldı. XFG, ön lens kapsülü veya pupiller kenarda PXM varlığı, yüksek GİB (≥ 21 mmHg), glokomatöz optik disk değişiklikleri (dikey çukur disk oranı [C/D] $\geq 0,5$, C/D asimetrisi $\geq 0,2$), bilgisayarlı perimetrede karakteristik görme alanı kusurları (Zeiss Humphrey görme alanı analizörü beyazdan beyaza 30-2 eşik programı) olarak tanımlandı. Anterior lens kapsülü ve pupiller kenarda PXM olan ancak GİB, optik disk ve görme alanı bulguları normal sınırlarda olan hastalar XFS olarak tanımlandı. XFS/XFG klinik belirtiler olmayan bireyler kontrol grubuna dahil edildi. Grupların demografik ve klinik özellikleri Tablo 1'de sunulmuştur.

DNA Ekstraksiyonu ve Genotipleme

LOXL1 gen polimorfizmini araştırmak için antekübital bölgeden venöz kan örneği (5 mL) alındı. Örnekler NaEDTA tüplerine alındı ve -20 °C'de saklandı.

DNA ekstraksiyonu için Roche Magna Pure Compact robotik DNA izolasyon sistemi protokolü kullanıldı. Kan örnekleri doğrudan robotik DNA izolasyon sistemine konuldu. Örnek hacmi 200 μ L ve elüsyon hacmi 100 μ L olarak belirlendi ve kandan DNA izolasyonu protokolü seçildi. Robotik sistem proteinaz K, irrigasyon çözeltisi, DNA izolasyonu için manyetik parçacıklar, pipetleme için kartuş sistemi, pipet uçları için hazne

Tablo 1. Demografik ve klinik özellikler

		XFS (n=48)	XFG (n=58)	Kontrol (n=171)	p değeri
Yaş medyan (%25-%75)		68 (66,5-70)	69 (68-73,25)	67 (64-70)	0,060*
Cinsiyet	Erkek (n/%)	21 (0,44)	38 (0,66)	69 (0,41)	0,004**
	Kadın (n/%)	27 (0,56)	20 (0,34)	101 (0,59)	
GİB (mmHg) medyan (%25-%75)		14 (12,5-16)	14 (12-17)	14 (13-16)	0,314*
C/D oranı medyan (%25-%75)		0,1 (0-0,2)	0,6 (0,4-0,8)	0,2 (0,2-0,325)	0,0001*

*Kruskal-Wallis testi, **Pearson ki-kare testi, p değeri <0,05 kabul edildi

XFS: Psödoeksfoliyasyon sendromu, XFG: Psödoeksfoliyasyon glokomu, GİB: Göz içi basıncı C/D: Çukur/Disk oranı

ve örnek ve elüsyon tüpleri için raftan oluşmaktadır. Kartuş ve pipet ucu haznesini ayarlamak, örnekler ve elüsyon tüplerini robotik sisteme yerleştirmek haricinde tüm adımlar otomatik olarak gerçekleştirilmiştir. Prosedür her 8 örnek için yaklaşık 25 dakika sürdü. DNA örnekleri -20 °C'de saklandı.

İzole edilen DNA örneklerinin real-time PCR ile amplifikasyonu ve erime analizi: Araştırılacak olan SNP'leri kapsayan bölgelerin Roche LightCycler 480 Real Time PCR ile çoğaltılmasından sonra, SNP'lere özgü dizayn edilmiş hibrid prob kitleri kullanılarak real-time PCR cihazında melting curve analizi gerçekleştirilmiştir. Mutant tipler, SNP'lerin erime sıcaklık derecelerindeki farklar değerlendirilerek erime eğrisi analizi ile belirlenmiştir. Erime analizinde spesifik SNP bölgeleri için tasarlanmış olan 384 RXN Molbiol LightSNiP® kitleri, üretici firmanın önerdiği protokol ile kullanılmıştır.

Reaksiyonlar LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe ile hazırlandı, daha sonra plakalara konarak DNA eklendi. Real time PCR cihazında önerilen program kullanıldı.

Her allel için farklı sıcaklıklarda floresans açığa çıktı. Rs3825942 için 62,21°C'de tespit edilen sinyaller G alleli, 69,73 °C'de olanlar A alleli olarak değerlendirildi; rs1048661 için 54,42 °C'deki sinyaller G alleli olarak ve 65,82 °C'deki sinyal ise T alleli olarak değerlendirildi; rs2165241 için, 52,34 °C'de algılanan sinyaller C alleli olarak ve 59,30 °C'deki sinyaller ise T alleli olarak değerlendirildi.

İstatistiksel Analiz

İnsidans, her genotip için bir yüzde olarak hesaplandı. Hasta ve kontrol grubundaki allel ve genotip frekansları, ki-kare testi kullanılarak Hardy-Weinberg dengesi ile tahmin edilen değerler ile karşılaştırıldı. Gruplar arasında yaş, GİB ve C/D'nin karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Gruplar arasında farklılık gösteren değişkenler için Dunn'ın çoklu karşılaştırma testi kullanıldı. Sürekli değişkenler Shapiro Wilk testi kullanılarak değerlendirildi. Sürekli değişkenler medyan (%25-%75) olarak ifade edildi ve kategorik değişkenler frekans (yüzde) olarak gösterildi. Pearson ve Yates düzeltme ki-kare testleri gruplar arası allel ve genotip değişkenlerinin karşılaştırılması için yapıldı. Odds oranları (OD) ve %95 güven aralığı (CI) hesaplandı. $P < 0,05$ değeri istatistiksel olarak kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS 20.0 sürümü (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı.

Bulgular

Bu çalışmaya Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Glokom Bölümü'nde 40 yaşından büyük toplam 277 birey (58 XFG, 48 XFS, 171 kontrol) dahil edildi. XFS grubunda ortalama yaş 68 yıl (medyan 66,5-70 yıl), XFG grubunda 69 yıl (medyan 68-73,25 yıl) ve kontrol grubunda 67 yıl (medyan 64-70 yıl) idi.

Tüm SNP'lerin genotip dağılımları Hardy-Weinberg dengesine uydu. XFS ve XFG'de, her bir SNP'nin risk alleli ile güçlü bir ilişki (rs2165241T, rs1048661G ve rs3825942G) gözlemlendi (Tablo 2). Rs3825942'nin G alleli tüm XFS ve XFG hastalarında mevcuttu, dolayısıyla OR hesaplanamadı (sırasıyla, $OR = \infty$ $p = 3,54 \times 10^{-6}$, $OR = \infty$, $p = 3,41 \times 10^{-7}$).

Kontrol grubunda, rs3825942 için G alleli A allelinden daha yaygındı. Rs3825942 için, XFS ve XFG gruplarındaki tüm hastalar GG genotipine sahipti ve yine OR'ler hesaplanamadı ($OR = \infty$ $p = 1,57 \times 10^{-6}$, $OR = \infty$, $p = 1,45 \times 10^{-6}$). Tüm gruplarda rs1048661'in G alleli ve GG genotipi daha sık tespit edildi. Kontrol ile karşılaştırıldığında Rs1048661'in T allelinin XFS ($OR = 2,18$ %95 CI=1,21-3,91, $p = 0,008$) ve XFG ($OR = 3,78$ %95 CI=1,99-7,18, $p = 1,75 \times 10^{-5}$) hastalarında düşük düzeyde temsil edildiği bulundu. Rrs1048661'in TT genotipi XFS ($OR = 1,93$ %95 CI=0,98-3,77, $p = 0,076$) ve XFG ($OR = 3,71$ %95 CI=1,83-7,47, $p = 2,75 \times 10^{-4}$) hastalarında saptanmadı. Rs1048661'in TT genotipi, kontrol olgularında, XFS ve XFG hastaları ile karşılaştırıldığında daha sık tespit edildi. Bununla birlikte, kontrol olgularında rs1048661'in GG ve GT genotipinin, TT genotipine kıyasla aşırı temsil edildiği görüldü. Rs2165241 için, T alleleline C allelinden XFS ($OR = 4,30$ %95 CI=2,55-7,25 $p = 8,69 \times 10^{-9}$) ve XFG ($OR = 4,90$ %95 CI=2,98-8,06 $p = 3,85 \times 10^{-11}$) hastalarında daha sık rastlanırken kontrol grubunda C alleli daha yaygındı. Rs2165241'in genotip dağılımı, XFS ve XFG hastaları ve kontrol olgularında farklıydı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında rs2165241'in TT genotipi aşırı temsil edilirken CC genotipi XFS ($OR = 6,32$ %95 CI=3,16-12,64, $p = 8,15 \times 10^{-8}$) ve XFG ($OR = 7,95$ %95 CI=4,10-15,42, $p = 1,45 \times 10^{-10}$) hastalarında düşük düzeyde temsil edilmekteydi. CT genotipi, kontrol olgularında en sık görülen genotipti. Üç SNP için, rs2165241'in TT genotipi, kontrol grubuna (%19) kıyasla XFS (%58) ve XFG (%63) grubunda daha sık tespit edildi. Benzer şekilde, rs2165241'in homozigot TT genotipi, XFS için 6,32 kat (%95 CI=3,16-12,64) ve XFG için ise 7,95 kat (%95 CI=4,10-15,42) daha yüksek risk ile ilişkilidir.

Üç SNP'nin, rs3825942, rs1048661, rs2165241, psödoeksfoliasyon hastaları (XFS + XFG) ve kontroller üzerindeki kombine etkilerini belirlemek risk allellerinin haplotip analizi yapıldı (Tablo 3). Risk allellerinden oluşan haplotipler, her SNP için ($p = 8,65 \times 10^{-14}$) kontrol grubuna kıyasla psödoeksfoliasyon hastalarında fazla temsil edilmekteydi ve psödoeksfoliasyon riskinde 7,45 kat artış ile ilişkili (%95 CI=4,22-12,99) bulundu.

Önceki çalışmalara göre, kadınlar erkeklerle göre XFS'den daha sık etkilenmektedir, oysa XFG erkeklerde kadınlardan daha şiddetlidir.² Tüm psödoeksfoliasyon hastalarının (XFS+XFG) cinsiyete dayalı allel analizinde, rs2165341'in T alleli erkeklerin %75'inde ve kadınların %49'unda tespit edildi (Tablo 4). T alleli varlığı erkeklerde kadınlara göre 3,2 kat daha yüksek risk ile ilişkili bulunmuştur ($p = 6,78 \times 10^{-5}$, $x^2 = 15,871$, $OR = 3,202$ %95 CI=1,719-5,989).

Tartışma

İzlanda'da Thorleifsson ve ark.⁵ *LOXLI*'in XFS/XFG ile ilişkili üç polimorfizmini tanımladıktan sonra Beyaz, Asya ve Afrika ırkları üzerine pek çok çalışma yapılmıştır.^{10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,27,28,29,30,31,32} Çalışmamızda, Türk popülasyonunda *LOXLI*'in üç SNP'si (rs1048661, rs3825942, rs2165241) ile XFS/XFG arasındaki

ilişkiyi araştırdık. Elde ettiğimiz sonuçlar diğer çalışmalara benzer şekilde XFS ile anlamlı bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, coğrafi olarak Türkiye hem Asya hem de Avrupa'da yer

almaktadır ve çalışma popülasyonunda elde ettiğimiz sonuçlar Avrupalı nüfusta olduğu gibi Beyaz ırkta gözlemlenen sonuçlar ile benzerdir.

Tablo 2. LOXL1'in üç tek nükleotid polimorfizmi için allel ve genotip ilişkilendirme analizi

SNP	Kontrol (n=171)	XFS (n=48)				XFG (n=58)			
	n (%)	n (%)	χ^2	p değeri*	OR (%95 CI)	n (%)	χ^2	p değeri*	OR (%95 CI)
rs3825942									
Allel									
G	273 (0,79)	96 (1,00)	21,495	3,54x10 ⁻⁶	∞**	116 (1,00)	26,001	3,41x10 ⁻⁷	∞**
A	69 (0,21)	0 (0,00)				0 (0,00)			
Genotip									
GG	108 (0,63)	48 (1,00)	23,061	1,57x10 ⁻⁶	∞**	58 (1,00)	23,660	1,45x10 ⁻⁶	∞**
GA	57 (0,33)	0 (0,00)				0 (0,00)			
AA	6 (0,04)	0 (0,00)				0 (0,00)			
rs1048661									
Allel									
G	238 (0,69)	80 (0,83)	7,117	0,008	2,18 (1,21-3,91)	104 (0,89)	18,438	1,75x10 ⁻⁵	3,78 (1,99-7,18)
T	104 (0,31)	16 (0,17)				12 (0,11)			
Genotip									
GG	87 (0,51)	32 (0,67)	3,156	0,076	1,93 (0,98-3,77)	46 (0,79)	13,237	2,75x10 ⁻¹⁴	3,71 (1,83-7,47)
GT	64 (0,37)	26 (0,33)				12 (0,21)			
TT	20 (0,12)	0 (0,00)				0 (0,00)			
rs2165341									
Allel									
T	150 (0,44)	74 (0,77)	33,114	8,69x10 ⁻⁹	4,30 (2,55-7,25)	92 (0,75)	43,685	3,85x10 ⁻¹¹	4,90 (2,98-8,06)
C	192 (0,56)	22 (0,23)				24 (0,25)			
Genotip									
TT	31 (0,19)	28 (0,58)	28,771	8,15x10 ⁻⁸	6,32 (3,16-12,64)	37 (0,63)	41,100	1,45x10 ⁻¹⁰	7,95 (4,10-15,42)
CT	88 (0,51)	18 (0,38)				18 (0,31)			
CC	52 (0,30)	2 (0,04)				3 (0,05)			
*Pearson ki-kare testi, **OR sonsuz, p değeri <0,05 kabul edildi SNP: Tek nükleotid polimorfizmi, XFS: Psödoekfoliyasyon sendromu, XFG: Psödoekfoliyasyon glokomu, GIB: Göz içi basıncı C/D: Çukur/Disk oranı, CI: Güven aralığı, OR: Odds oranı									

Tablo 3. Hastalar ve kontrollerde rs3825942, rs1048661 ve rs2165341'nin risk allellerinin haplotip analizi

Haplotip	XFS/XFG (n=106)	Kontrol (n=171)			
	n (%)	n (%)	χ^2	p değeri*	OR (%95 CI)
rs3825942/rs1048661/rs2165341					
GGT	65 (0,61)	30 (0,17)	55,651	8,65x10 ⁻¹⁴	7,45 (4,22-12,99)
rs3825942/rs1048661					
GG	78 (0,74)	42 (0,25)	64,049	1,21x10 ⁻¹⁵	8,55 (4,91-14,90)
rs1048661/rs2165341					
GT	65 (0,61)	30 (0,17)	55,651	8,65x10 ⁻¹⁴	7,45 (4,22-12,99)
rs3825942/rs2165341					
GT	65 (0,61)	31 (0,18)	53,905	2,10x10 ⁻¹³	7,16 (4,12-12,43)
*Pearson ki-kare testi, p değeri <0,05 kabul edildi XFS: Psödoekfoliyasyon sendromu, XFG: Psödoekfoliyasyon glokomu, GIB: Göz içi basıncı, C/D: Çukur/Disk oranı, CI: Güven aralığı					

Tablo 4. Psödoeksfoliasyon grubunun cinsiyete dayalı allel ve genotip analizi

SNP	Erkek (n=59)	Kadın (n=47)			
	n (%)	n (%)	χ^2	p değeri*	OR (%95 CI)
rs3825942					
G	118 (1,00)	94 (1,00)	0,000	1,000	∞
A	0 (0,00)	0 (0,00)			
rs1048661					
G	106 (0,90)	78 (0,83)	1,587	0,208	1,812 (0,759-4,358)
T	12 (0,10)	16 (0,17)			
rs2165341					
T	89 (0,75)	46 (0,49)	15,871	6,78x10 ⁻⁵	3,202 (1,719-5,989)
C	29 (0,25)	48 (0,51)			
*Yates düzeltilmeli ki-kare testi, p değeri <0,05 kabul edildi SNP: Tek nükleotid polimorfizmi, OR: Odds oranı, CI: Güven aralığı					

Çalışmamızda, rs3825942'nin G alleli ve GG genotipi, rs1048661'in G alleli ve GG genotipi ile rs2165241'in T alleli ve TT genotipleri Beyaz ırkta olduğu gibi XFS/XFG ile ilişkili bulunmuştur.^{10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22} Bu çalışmada, rs3825942'nin G alleli ve GG genotipi tüm XFS ve XFG olgularında mevcuttu. Bir Afrika ve bir başka Türk çalışmasının sonuçlarına göre rs3825942'nin A alleli XFS için daha fazla risk taşımaktadır.^{11,32} Ancak bizim çalışmamızda ve Türkiye'den bir başka çalışmada, A alleli hiçbir XFS ve XFG olgusunda saptanmamış ve koruyucu olduğu ileri sürülmüştür.¹⁰ Benzer şekilde, Türkiye'den bir başka çalışmada, çalışma grubumuzdaki hastalarda görüldüğü gibi, rs1048661'in G alleli ve GG genotipi *LOXL1*'in ekzon 1'inde saptanmıştır.¹²

Avrupa ve Amerikan popülasyonlarında yapılan çalışmalar, rs1048661'in G alleli ve GG genotipinin ve rs2165241'in T alleli ve TT genotipinin XFS ile ilişkili olduğunu bildirmiş, ancak Asya popülasyonunda yapılan çalışmalar bu SNP'lerde risk allelleri ve genotipler için ilişkinin tersine olduğunu belirtmiştir.^{23,24,25,27,28,29,30,31} Bizim sonuçlarımız rs1048661 ve rs2165241'nin allelik ve genotipik dağılımları bakımından beyaz ırka benzer ancak Asya ırkından farklı görünmektedir.^{10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22} Türkiye'de yapılan bir başka çalışmada, rs2165241'in T alleli ve TT genotipinin bizim çalışmamızda olduğu gibi XFS/XFG ile ilişkili olduğu, ancak rs1048661'in G alleli ve GG genotipi ile anlamlı bir ilişki göstermediği bildirilmiştir.¹³ Bu nedenle, XFS patogenezi tek başına genetik faktörlerle açıklanamaz.

LOXL1 gen polimorfizminin XFG gelişimini öngörmede bir rolü olup olmadığını araştıran çeşitli çalışmalarda, XFS ve XFG ayırımında anlamlı ilişki bulunmamıştır.¹ Benzer şekilde bizim çalışmamızda XFS ve XFG grupları arasında *LOXL1* polimorfizmi açısından fark bulunmamıştır. Diğer yandan, yapılan son çalışmalarda, kadınlarda erkeklere göre daha sık XFS görüldüğü, ancak XFG'nin ise kadınlara göre erkeklerde daha şiddetli olduğu saptanmıştır.² Rs216341 SNP'deki T risk alleli ile XFS ve XFG hastasının cinsiyeti arasında güçlü bir

ilişki olduğu görüldü. T alleli taşıyan erkeklerde hastalık riski 3 kat yüksekti. Ancak, Japonya'dan yapılan bir çalışmada, bu üç SNP'den hiçbirinde cinsiyet ile ilişki olmadığı bildirilmiştir.²⁸

Bizim çalışmamızda, *LOXL1* SNP'lerinin (rs3825942 G, rs1048661 G ve rs2165341 T) üç risk allelinden oluşan haplotip (GGT), XFS/XFG riskinde 7,45 kat artış ile ilişkili bulundu. Amerikan popülasyonunda yapılan bir çalışmada riskteki artışın 3 kat olduğu bildirilmiştir.⁶ Polonya popülasyonunda yapılan bir çalışmada ise GGT haplotipi ile riskin 4 kat arttığı belirlenmiştir.²²

Sonuç

Bulgularımız, daha önce Türkiye'de yapılan ve iki non-sinonim SNP'nin, rs3825942 ve rs1048661, araştırıldığı çalışmanın sonuçlarına benzerdir, ancak bizim çalışmamızda ek olarak intronik SNP rs2165341'i de gözlemlenmiştir. Sonuçlarımız, XFS ve XFG ile üç *LOXL1* SNP arasında anlamlı bir ilişkinin varlığını desteklemektedir, ancak XFS ve XFG arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca, eksonik SNP'lerin (rs3825942, rs1048661) genotiplerinden farklı olarak, psödoeksfoliasyonda rs2165341'in TT genotipi daha sık saptanmıştır ve XFS ve XFG riski ile sırasıyla 6-kat ve 7-kat artışlarla ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, rs2165341'nin T alleli ile cinsiyet arasında bir ilişki olduğunu gözlemledik. T allelinin varlığı kadınlara göre erkeklerde 3 kat artmış risk ile ilişkili bulundu. Bildiğimiz kadarıyla, rs2165341 kohortumuzdaki önemli ve risk değiştirici bir faktördür. Sonuç olarak, *LOXL1* gen polimorfizminin XFS ve XFG patogeneze önemli bir etkisi vardır, fakat tek başına kesin mekanizmayı açıklamakta yetersizdir. Bu nedenle, daha ileri genetik ve epigenetik çalışmalara ihtiyaç vardır.

Etik

Etik Kurul Onayı: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (2010/76).

Hasta Onayı: Alınmıştır.

Hakem Değerlendirmesi: Editörler kurulu dışında olan kişiler tarafından değerlendirilmiştir.

Yazarlık Katkıları

Cerrahi ve Medikal Uygulama: Yetkin Yaz, Yasemin Aydın Yaz, Nilgün Yıldırım, Zafer Yüksel, Oğuz Çilingir, Konsept: Yetkin Yaz, Nilgün Yıldırım, Dizayn: Yetkin Yaz, Nilgün Yıldırım, Veri Toplama veya İşleme: Yetkin Yaz, Yasemin Aydın Yaz, Analiz veya Yorumlama: Yetkin Yaz, Nilgün Yıldırım, Fezan Mutlu, Literatür Arama: Yetkin Yaz, Yazan: Yetkin Yaz.

Çıkar Çatışması: Yazarlar tarafından çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek: Bu araştırma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (201111004) tarafından desteklenmiştir. Yazarların hiçbir fikri mülkiyet hakkı yoktur.

Kaynaklar

- Ritch R, Schlötzer-Schrehardt U. Exfoliation syndrome. *Surv Ophthalmol*. 2001;45:265-315.
- Schlötzer-Schrehardt U, Naumann GO. Ocular and systemic pseudoexfoliation syndrome. *Am J Ophthalmol*. 2006;141:921-937.
- Schlötzer-Schrehardt UM, Koca MR, Naumann GO, Volkholz H. Pseudoexfoliation syndrome. Ocular manifestation of a systemic disorder? *Arch Ophthalmol*. 1992;110:1752-1756.
- Ritch R. Exfoliation syndrome: The most common identifiable cause of open-angle glaucoma. *J Glaucoma*. 1994;3:176-178.
- Thorleifsson G, Magnusson KP, Sulem P, Walters GB, Gudbjartsson DE, Stefansson H, Jonsson T, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Stefansson G, Masson G, Hardarson GA, Petursson H, Arnarsson A, Motallabipour M, Wallerman O, Wadelius C, Gulcher JR, Thorsteinsdottir U, Kong A, Jonasson F, Stefansson K. Common sequence variants in the LOXL1 gene confer susceptibility to exfoliation glaucoma. *Science*. 2007;317:1397-1400.
- Fan BJ, Pasquale L, Grosskreutz CL, Rhee D, Chen T, DeAngelis MM, Kim I, del Bono E, Miller JW, Li T, Haines JL, Wiggs JL. DNA sequence variants in the LOXL1 gene are associated with pseudoexfoliation glaucoma in a U.S. clinic-based population with broad ethnic diversity. *BMC Med Genet*. 2008;9:5.
- Morrison JC, Green WR. Light microscopy of the exfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol Suppl*. 1988;66:5-27.
- Schlötzer-Schrehardt U. Genetics and genomics of pseudoexfoliation syndrome/glaucoma. *Middle East Afr J Ophthalmol*. 2011;18:30-36.
- Fingert JH, Alward WL, Kwon YH, Wang K, Streb LM, Sheffield VC, Stone EM. LOXL1 mutations are associated with exfoliation syndrome in patients from the Midwestern United States. *Am J Ophthalmol*. 2007;144:974-975.
- Kasim B, İrkeç M, Alikışoğlu M, Orhan M, Mocan MC, Aktaş D. Association of LOXL1 gene polymorphisms with exfoliation syndrome/glaucoma and primary open angle glaucoma in a Turkish population. *Mol Vis*. 2013;19:114-120.
- Asfuroglu M, Cavdarli B, Koz OG, A Yarangumeli A, Ozdemir EY. Association of Lysyl Oxidase-Like 1 Gene Polymorphism in Turkish Patients With Pseudoexfoliation Syndrome and Pseudoexfoliation Glaucoma. *J Glaucoma*. 2017;26:54-57.
- Yilmaz SG, Palamar M, Onay H, Ilim O, Aykut A, Ozkinay FF, Yagci A. LOXL1 gene analysis in Turkish patients with exfoliation glaucoma. *Int Ophthalmol*. 2016;36:629-635.
- Yaylacioğlu Tuncay F, Aktaş Z, Ergün MA, Ergün SG, Hasanreisioğlu M, Hasanreisioğlu B. Association of polymorphisms in APOE and LOXL1 with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma in a Turkish population. *Ophthalmic Genet*. 2017;38:95-97.
- Aragon-Martin JA, Ritch R, Liebmann J, O'Brien C, Blaaw K, Mercieca F, Spiteri A, Cobb CJ, Damji KF, Tarkkanen A, Rezaie T, Child AH, Sarfarazi M. Evaluation of LOXL1 gene polymorphisms in exfoliation syndrome and exfoliation glaucoma. *Mol Vis* 2008;14:533-541.
- Challa P, Schmidt S, Liu Y, Qin X, Vann RR, Gonzalez P, Allingham RR, Hauser MA. Analysis of LOXL1 polymorphisms in a United States population with pseudoexfoliation glaucoma. *Mol Vis*. 2008;14:146-149.
- Yang X, Zabriskie NA, Hau VS, Chen H, Tong Z, Gibbs D, Farhi P, Katz BJ, Luo L, Pearson E, Goldsmith J, Ma X, Kaminoh Y, Chen Y, Yu B, Zeng J, Zhang K, Yang Z. Genetic association of LOXL1 gene variants and exfoliation glaucoma in a Utah cohort. *Cell Cycle*. 2008;7:521-524.
- Hewitt AW, Sharma S, Burdon KP, Wang JJ, Baird PN, Dimasi DP, Mackey DA, Mitchell P, Craig JE. Ancestral LOXL1 variants are associated with pseudoexfoliation in Caucasian Australians but with markedly lower penetrance than in Nordic people. *Hum Mol Genet*. 2008;17:710-716.
- Mossböck G, Renner W, Faschinger C, Schmut O, Wedrich A, Weger M. Lysyl oxidase-like protein 1 (LOXL1) gene polymorphisms and exfoliation glaucoma in a Central European population. *Mol Vis*. 2008;14:857-861.
- Pasutto F, Krumbiegel M, Mardin CY, Paoli D, Lämmer R, Weber BH, Kruse FE, Schlötzer-Schrehardt U, Reis A. Association of LOXL1 common sequence variants in German and Italian patients with pseudoexfoliation syndrome and pseudoexfoliation glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:1459-1463.
- Lemmela S, Forsman E, Onkamo P, Nurmi H, Laivuori H, Kivelä T, Puska P, Heger M, Eriksson A, Forsius H, Järvelä I. Association of LOXL1 gene with Finnish exfoliation syndrome patients. *J Hum Genet*. 2009;54:289-297.
- Wolf C, Gramer E, Muller-Myhsok B, Pasutto F, Gramer G, Wissinger B, Weisschuh N. Lysyl Oxidase-like 1 gene polymorphisms in German patients with normal tension glaucoma, pigmentary glaucoma and exfoliation glaucoma. *J Glaucoma* 2009;19:136-141.
- Malukiewicz G, Lesiewska-Junk H, Linkowska K, Mielnik M, Grzybowski T, Sulima N. Analysis of LOXL1 single nucleotide polymorphisms in Polish population with pseudoexfoliation syndrome. *Acta Ophthalmol*. 2011;89:64-66.
- Fuse N, Miyazawa A, Nakazawa T, Mengkegale M, Otomo T, Nishida K. Evaluation of LOXL1 polymorphisms in eyes with exfoliation glaucoma in Japanese. *Mol Vis*. 2008;14:1338-1343.
- Hayashi H, Gotoh N, Ueda Y, Nakanishi H, Yoshimura N. Lysyl oxidase-like 1 polymorphisms and exfoliation syndrome in the Japanese population. *Am J Ophthalmol*. 2008;145:582-585.
- Mabuchi F, Sakurada Y, Kashiwagi K, Yamagata Z, Iijima H, Tsukahara S. Lysyl oxidase-like 1 gene polymorphisms in Japanese patients with primary open angle glaucoma and exfoliation syndrome. *Mol Vis*. 2008;14:1303-1308.
- Mori K, Imai K, Matsuda A, Ikeda Y, Naruse S, Hitara-Takeshita H, Nakano M, Taniguchi T, Omi N, Tashiro K, Kinoshita S. LOXL1 genetic polymorphisms are associated with exfoliation glaucoma in the Japanese population. *Mol Vis*. 2008;14:1037-1040.
- Tanito M, Minami M, Akahori M, Kaidzu S, Takai Y, Ohira A, Iwata T. LOXL1 variants in elderly Japanese with exfoliation syndrome/glaucoma, primary open-angle glaucoma, normal tension glaucoma, and cataract. *Mol Vis* 2008;14:1898-905.
- Ozaki M, Lee KY, Vithana EN, Yong VH, Thalamuthu A, Mizoguchi T, Venkatraman A, Aung T. Association of LOXL1 gene polymorphisms with pseudoexfoliation in the Japanese. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:3976-3980.
- Chen L, Jia L, Wang N, Tang G, Zhang C, Fan S, Liu W, Meng H, Zeng W, Liu N, Wang H, Jia H. Evaluation of LOXL1 polymorphisms in exfoliation syndrome in a Chinese population. *Mol Vis*. 2009;15:2349-2357.
- Lee KY, Ho SL, Thalamuthu A, Venkatraman A, Venkataraman D, Pek DC, Aung T, Vithana EN. Association of LOXL1 polymorphisms with pseudoexfoliation in the Chinese. *Mol Vis*. 2009;15:1120-1126.
- Sagong M, Gu BY, Cha SC. Association of lysyl oxidase-like 1 gene polymorphisms with exfoliation syndrome in Koreans. *Mol Vis*. 2011;17:2808-2817.
- Williams SE, Whigham BT, Liu Y, Carmichael TR, Qin X, Schmidt S, Ramsay M, Hauser MA, Allingham RR. Major LOXL1 risk allele is reversed in exfoliation glaucoma in a black South African population. *Mol Vis*. 2010;16:705-712.