

# Kalitsal Merkezi Retina Dejenerasyonları

## Inherited Central Retinal Degenerations

Rıza Köksal ÖZGÜL<sup>1</sup>, Ay ÖĞÜŞ<sup>2</sup>

### ÖZ

Kalitsal merkezi retina dejenerasyonları retinanın merkezini (makülayı) etkileyen kısmen ya da tamamen körlükle sonuçlanan kompleks hastalıklardır. Kon-rod dejenerasyonu (CRD), kon dejenerasyonu (CD), maküler distrofi (MD), Stargardt (STGD), Best's vitelliform maküler distrofi, pattern distrofi, Sorsby's fundus distrofisi, dominant drusen, merkezi areolar koroidal distrofi (CACD) ve makülayı etkileyen diğer kalitsal dejeneratif hastalıklar bu gruba girmektedir. Maküler dejenerasyonlar genelde bilateraldir. Klinik olarak maküлада sarımsı birikintiler, atrofik ya da pigmentli bölgeler ve gittikçe kaybolan merkezi görüş ile tanımlanır. Merkezi retina dejenerasyonlarına neden olan genlerin önemli bir bölümü fotoreseptörlere özgüdür. Genel olarak maküler dejenerasyonların kalitsal formları (Stargardt, Best ve diğer nadir maküler dejenerasyonlardan olan Sorby's Fundus Dystrophy, North Caroline Macular Dystrophy) genç bireylerde görülürken, yaşlı bireylerde yaş bağılı maküler dejenerasyonlar (YBMD) olarak ortaya çıkar. Yaşlanmaya bağılı doğal sürecin etkilerinden vücudun diğer doku ve organları gibi gözümüz de etkilenmektedir. Hayat kalitesindeki artış ve tıp alanında yaşanan gelişmelere paralel olarak insanın yaşam süresi uzamakta ve özellikle gelişmiş toplumlarda yaşlı nüfus tüm popülasyonun önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Artan yaşlı nüfusla birlikte maküler dejenerasyonlardan etkilenen birey sayısının çoğalması bu konuda yapılan araştırmaları hızlandırmıştır.

Bu derlemede merkezi retinal dejenerasyona neden olan hastalıklarla ilgili genler kalıtım biçimlerine göre sınıflandırılmış ve moleküler düzeydeki son araştırmalar özetlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kalitsal retinal dejenerasyonlar, maküla, moleküler genetik, retina, Stargardt disease, AMD (Yaşa Bağılı Maküla Dejenerasyonu).

### ABSTRACT

Inherited central retinal degenerations are complex diseases which affect central retina (macula) causing partial to complete blindness. This group of diseases include cone-rod degeneration (CRD), cone degeneration (CD), macular dystrophy (MD), Stargardt disease (STGD), Best vitelliform macular dystrophy, pattern dystrophy, Sorsby's fundus dystrophy, dominant drusen, central areolar choroidal dystrophy (CACD) and other type of retinal degenerative diseases affecting central retina. Macular degenerations are generally bilateral. Clinically, the disease is characterized by yellowish deposits, atrophic and pigmentary changes in the macula and progressive loss of central vision. Major disease causing genes for retinal degenerations are photoreceptor specific. Cone photoreceptors are dense in the macula, especially in fovea. While the hereditary forms of macular degenerations generally affect young people, age related macular degenerations (AMD) affect elder individuals. Like the other tissues and organs our eyes also suffer from natural process of aging. Due to increase in the number of old people in society, growing number of individuals are affected with macular degenerations and this situation promote the research for this issue.

In this review, the disease causing genes for central retinal degenerations are classified by their genetic inheritance pattern and recent molecular findings are outlined.

**Key Words:** Inherited retinal degenerations, macula, molecular genetics, retina, Stargardt disease, AMD (Age Related Macular Degeneration)

Ret-Vit 2006;14:83-88

Geliş Tarihi : 14/07/2004

Kabul Tarihi : 09/05/2006

Received : July 14, 2004

Accepted: May 09, 2006

- 1- Hacettepe Üniversitesi, Çocuk Sağlığı Enstitüsü, Ankara, Uzm. Dr.
- 2- Hacettepe Üniversitesi, Moleküler Biyoloji A.D., Ankara, Prof. Dr.

- 1- M.D., Hacettepe University Faculty of Pediatrics ÖZGÜL RK.,
  - 2- M.D. Professor, Hacettepe University Faculty of Science Molecular Biology Section, Beytepe-Ankara / TURKEY ÖĞÜŞ A., bioarzu@hacettepe.edu.tr
- Correspondence:** M.D. Professor Ay ÖĞÜŞ  
Hacettepe University Faculty of Science Molecular Biology Section,  
Beytepe-Ankara / TURKEY

## GİRİŞ

Kalıtsal merkezi retina dejenerasyonları retinanın merkezini (makülayı) etkileyen kısmen ya da tamamen körlükle sonuçlanan kompleks hastalıklardır. Kon-rod dejenerasyonu (CRD), kon dejenerasyonu (CD), maküler distrofi (MD), Stargardt (STGD), Best's vitelliform maküler distrofi, pattern distrofi, Sorsby's fundus distrofisi, dominant drusen, merkezi areolar koroidal distrofi (CACD) ve makülayı etkileyen diğer kalıtsal dejeneratif hastalıklar bu gruba girmektedir. Genelde bilateral olan maküler dejenerasyonlar klinik olarak makülada sarımsı birikintiler, atrofik ya da pigmentli bölgeler ve gittikçe kaybolan merkezi görüş ile karakterize edilir. Merkezi retina dejenerasyonlarına neden olan genlerin önemli bir bölümü fotoreseptörlere özgüdür. Makülada özellikle foveada kon fotoreseptörler yoğun olarak yer alır. Genel olarak maküler dejenerasyonların kalıtsal formları (Stargardt, Best ve diğer nadir maküler dejenerasyonlardan olan Sorby's Fundus Dystrophy, North Caroline Macular Dystrophy) genç bireylerde görülürken, yaşlı bireylerde ise yaşa bağlı maküler dejenerasyonlar (AMD) olarak ortaya çıkar. Yaşlanmaya bağlı doğal sürecin etkilerinden vücudun diğer doku ve organları gibi gözümüz de etkilenmektedir. Hayat kalitesindeki artış ve tıp alanında yaşanan gelişmelere paralel olarak insanın yaşam süresi uzamakta ve özellikle gelişmiş toplumlarda yaşlı nüfus tüm popülasyonun önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Artan yaşlı nüfusla birlikte maküler dejenerasyonlardan etkilenen birey sayısının çoğalması bu konuda yapılan araştırmaları hızlandırmıştır.

### Otozomal Dominant Kon/Kon-Rod Dejenerasyonları ve Maküler Dejenerasyonlar

Otozomal dominant kon/kon-rod dejenerasyonları (adCD, adCRD) ile yapılan genetik çalışmalar sonucunda dokuz lokus haritalanmıştır. Bu lokuslarda yapılan klonlama çalışmaları ile AIPL1, CRX, GUCA1A, GUCY2D, RIMS1, SEMA4A, UNC119 genleri bulunmuştur.<sup>1-7</sup> COD4, RCD1 lokuslarında yer alan genler ise henüz klonlanmamıştır.

#### Aşağıda bu genlerle ilgili bilgiler özetlenmiştir;

##### AIPL1

AIPL1 geni (Arylhydrocarbon-interacting receptor protein-like<sup>1</sup>, 17p13.2) rod fotoreseptörlerin iç segmentlerinde, nükleus ve fotoreseptör sinaptik bölgeleri ile dış pleksiform tabakada ifade edilmektedir.<sup>5</sup> Konlarda ifade edilmediği için özellikle rodların fonksiyonunda önemli olduğu düşünülmektedir. Bu gen juvenil tip retinitis pigmentosa (RP), adCRD ve LCA'dan (Leber Congenital Amaurosis) sorumludur. LCA mutasyonlarının %7'si bu gende bulunmuştur.

##### CRX

Fotoreseptör hücrelerinde çeşitli genlerin transkripsiyonunu düzenleyen CRX proteini (Cone rod homeobox, 19q13.32) fotoreseptör farklılaşmasında rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür. CRX mutasyonları periferik retina dejenerasyonlarından olan adRP hastalığından sorumlu olmasının yanı sıra, LCA ve merkezi retina dejenerasyonlarından adCRD'ye de neden olmaktadır.<sup>1</sup>

##### GUCA1A

GUCA1A geni (Guanylate cyclase-activator 1A, 6p21.1) fotoreseptörlerin dış segmentlerinde ifade edilen GCAP1 proteinini (Guanylate cyclase activating protein 1) kodlar. GUCA1A geninde oluşan mutasyonlar adCD ve adCRD'ye neden olur.<sup>3</sup> Kalsiyum bağlayan bu protein fotoreseptörlerde cGMP sentezini hızlandırır. Araştırmalar kalsiyumun hücrede bu molekül tarafından bağlanamamasının cGMP üretimini değiştirerek cGMP katyon kanallarının açılıp kapanmasında düzensizlik meydana getirdiğini göstermektedir. Bunun sonucunda fototransdüksiyon mekanizmasında meydana gelen bozukluk fotoreseptör dejenerasyonu ile sonuçlanmaktadır.<sup>3</sup>

##### GUCY2D

GUCY2D geni (Guanylate cyclase 2D) kromozomun 17p13.1 bandında haritalanmıştır. Memelilerde 3'5' cGMP molekülü, fototransdüksiyonu düzenleyen hücre içi ikincil haberci olarak görev yapar. Hücre içi cGMP derişimi fotoreseptörlerde cGMP'yi hidrolize eden fosfodiesteraz enzimi ve bu molekülü sentezleyen guanilil siklaz enzim aktiviteleri tarafından düzenlenir. GUCY2D genindeki mutasyonlar adCD, adCRD ve LCA'ya (%10-20 oranında) neden olur. adCD ve adCRD'li hastalarda yapılan mutasyon tarama çalışmalarında bu gendeki mutasyonların oranı %7 olarak bulunmuştur.<sup>6</sup>

##### RIMS1

RIMS1 geni (RAB3A-interacting molecule 1; RIM1, Regulating synaptic membrane exocytosis 1, 6q13) RAS gen ailesinin bir üyesidir.<sup>2</sup> Bu gende oluşan mutasyonlar adCRD'ye neden olur. RIMS1 beyin ve retinada fotoreseptörlerin pre-sinaptik ve sinaps bölgelerinde ifade edilir. Sinaptik vezikül proteini olan RIMS1 sinaptik vezikül ekzositozunu düzenler. RIM1'in hücrede salgılama işleminin farklı basamaklarında çeşitli bağlayıcı faktörlerle ilişkili olan bir yönetici iskelet protein olduğu düşünülmektedir.<sup>2</sup>

##### SEMA4A

Semaforinler hücre ve çevresel iletişimde önemli rolleri olan büyük bir transmembran protein ailesidir. Sema bu protein ailesinde korunmuş olan motife verilen isimdir. SEMA4A (Semaphorin 4A, 1q22) geninde meydana gelen mutasyonların adRP ve adCRD'ye neden olduğu gösterilmiştir.<sup>8</sup>

##### UNC119

UNC119 (Human retinal gene 4, HRG4, 17q11.2) retinada fotoreseptörlerin farklılaşmaya başlamasıyla birlikte rod ve konlarda ribon sinapslarda ifade edilir.<sup>4</sup> Bu gende hastalığın geç başladığı kon-rod dejenerasyonlu bir hastada mutasyon gösterilmiştir. Bu mutasyon farede de bulunarak UNC119'un sinaptik bir protein sentezlettiği kanıtlanmıştır. Bu mutasyon sonucunda fotoreseptörlerdeki sinapslardan alınan sinyallerde farklılık ortaya çıkarak bunun retina dejenerasyonu yolunu açtığı düşünülmektedir.<sup>4</sup>

Otozomal dominant maküler dejenerasyonlar için dokuz gen (ARMD1, C1QTNF5, EFEMP1, ELOVL4, FSCN2, GUCA1B, RDS, TIMP3, VMD2) tanımlanmıştır. Ayrıca henüz genleri aydınlatılmamış sekiz lokus (BCMAD, BSMD, MCDR1, MCDR2, MCDR3, MCDR4, MDDC, STGD4) bulunmuştur.<sup>7</sup> Bulunan bu genler;

### ARMD1

Genomda ARMD1 lokusunda hemisentin 1 (hemiscentin 1, fibulin 6, 1q31.1) geni klonlanmıştır. Yapılan mutasyon taramalarında adMD'ye neden olduğu düşünülen ve genin çok korunan bir dizisinde meydana gelen Gln5345Arg mutasyonu rapor edilmiştir.<sup>9</sup>

### C1QTNF5

C1QTNF5 (C1q and tumor necrosis-related protein 5, 11q23.3) geninde geç ortaya çıkan (40-50 yaş) adMD ve dominant geçiş gözlenen LAZ (long anterior zonules) vakalarında S163R mutasyonu bildirilmiştir. Genin ürünü RPE ve silli epitelde ifade edilmektedir.<sup>10</sup>

### FSCN2

FSCN2 geni (Fascin, 17q25) mutasyonlarının adRP ve adMD'ye neden olduğu gösterilmiştir. Fascin, f-aktinlerin hücre uzantıları içinde düzenli olarak demetler halinde çapraz bağlanmasını sağlar. Meydana gelen düzenli aktin mikofilamentlerinin fotoreseptör disk morfogenezini desteklediği ileri sürülmektedir.<sup>11</sup>

### GUCA1B

GUCA1B (Guanylate Cyclase Activator 1B, 6p21.1) guanilat siklaz aktivatör proteinler kalsiyum bağlayarak guanilat siklazları aktive ederler. Fototransdüsyon şelasinin yenilenme basamağında anahtar rolü olan proteinlerdir. Bu gendeki mutasyonların adRP ve adMD'ye neden olduğu gösterilmiştir.<sup>12</sup>

### EFEMP1

ML (Malattia Leventinese) ve DHRD (Doyle honeycomb retina dystrophy) dominant geçiş gösteren ve retina pigment epitelinde "drusen" olarak adlandırılan sarı-beyaz birikimlerin bulunmasıyla karakterize edilen retina dejeneratif hastalıklardır. AMD ile fenotipik olarak yakın benzerlik gösteren önemli bir hastalık grubudur. Pozisyonel klonlama ve aday gen yaklaşımı kullanılarak EFEMP1 (EGF-containing fibrillin-like extracellular matrix protein 1, 2p16.1) klonlanarak ML ve DHRD hastalarında yaygın olarak R345W mutasyonu bulunmuştur.<sup>13,14</sup>

### ELOVL4

ELOVL4 (Elongation of very long chain fatty acids like 4, 6q14.1) retinada sadece fotoreseptörlerde ifade edilen bir genidir. Stargardt benzeri maküler distrofi (Stargardt-like macular dystrophy, STGD3) ve adMD'ye neden olur.<sup>15</sup> Klinik olarak görme keskinliğinde azalma, maküler atrofi ve fundusta çok fazla leke oluşumu ile karakterize edilir. STGD3 ve adMD ailelerinin hepsinde aynı tip beş bazlık bir delesyon saptanmıştır.<sup>15</sup> Tüm hastalar aynı tip mutasyona sahip olmasına rağmen sonuçta bu iki farklı tipte maküler dejenerasyon ortaya çıkmaktadır. ELOVL4 mutasyonları kalıtsal maküler dejenerasyonların patogenezinde yağ asitlerinin biyosentezinin etkili olduğunu göstermiştir.

### Periferin/RDS

Periferin/RDS genindeki mutasyonlar adRP'nin yanında bazı tip maküler dejenerasyonlara da neden olmaktadır. Periferin/RDS rod ile kon dış segmentlerinde bulunan yaygın bir transmembran proteindir. RDS'nin kon fotoreseptörleri tarafından da ifade ediliyor oluşu bu geni maküler dejenerasyonlar için aday haline getirmiştir.<sup>16</sup> Periferik retina dejenerasyonlarında mutasyon

gösterilen periferin/RDS geninde daha sonra yapılan çalışmalarla ağır seyreden dominant MD, adCRD, CACD, pattern distrofi, kelebek şekilli maküler distrofi gibi fenotip olarak farklı pek çok maküler dejeneratif hastalıktan sorumlu 80'in üzerinde mutasyon saptanmıştır.<sup>17,18</sup> AVMD (Adult vitelliform macular dystrophy) hastalarında da bu gende mutasyon rapor edilmiştir.<sup>19</sup> AVMD'ye neden olan RDS mutasyonlarının sıklığı araştırıldığında bu oran %18 olarak bulunmuştur. RDS geni farklı tipteki maküler dejenerasyonlara neden olan önemli bir genidir.

### TIMP3

TIMP3 geni (Tissue inhibitor of metalloproteinases-3, 22q12.3) mutasyonları SFD'ye (Sorsby's fundus dystrophy) neden olur.<sup>20</sup> SFD hastalarında anormal subretinal birikimlerle birlikte "Bruch's" membranında büyük ölçüde incelme, submaküler neovasküler skara bağlı yada coğrafik maküler atrofi kaynaklı merkezi görüş kaybı mevcuttur. Retinada ekstraselüler matriks (ECM) pek çok yapısal ve fonksiyonel rolü olan kompleks bir protein ve proteoglikan ağından oluşur. ECM sürekli olarak yeniden yapılandırılır. Bu yapılandırma işleminde matriks metalloproteazları (kollajenaz, jelatinaz v.b) rol alır. Matriks metalloproteaz aktivitesini pek çok farklı faktör belirler. Bu faktörler arasında önemli bir kısmını, TIMP3 geninin de yer aldığı bir grup endoproteaz olan metalloproteaz doku inhibitörleri (TIMP) oluşturur. TIMP3 RPE'de ifade edilen iki domeynli, damar oluşumunu inhibe eden bir glikoprotein kodlar.<sup>20</sup>

### VMD2

VMD2 geninin (Vitelliform macular dystrophy type 2, 11q12.3) ürünü olan proteinin retinadaki fonksiyonu henüz aydınlatılmamıştır. Bu proteinin RPE'de daha fazla sentezlendiği gözlenmiştir.<sup>21,22</sup> Bu hastalarda görme kaybından önce maküla bölgesinde lipid benzeri bir madde birikir. VMD2 genindeki mutasyonlar "Best" hastalığının juvenil ve erişkin formlarına (Best disease, juvenile-onset vitelliform macular dystrophy; adult vitelliform macular dystrophy) neden olmaktadır. Bu gende "Best" maküler distrofi dışında diğer tipte maküler dejenerasyonlu hastalarda yapılan mutasyon tarama çalışmalarında AMD hastalarının %1'inde mutasyon bulunurken, başka bir çalışmada ise bu hasta grubunda hiçbir mutasyon gösterilememiştir. Dolayısıyla VMD2 geni AMD gelişiminde rol oynayan bir genetik faktör olmayıp, Best hastalığı için 90'in üzerinde mutasyon rapor edilen birinci derecede sorumlu bir genidir.<sup>21,23</sup>

### Otozomal Resesif Kon/Kon-Rod Dejenerasyonları ve Maküler Dejenerasyonlar

Otozomal resesif kon/kon-rod dejenerasyonlarına neden olan iki lokus (CORD8, CORD9) ve üç gen (ABCA4, CNGB3, RDH5) haritalanmıştır.<sup>7,24</sup> Otozomal resesif maküler dejenerasyonlara neden olduğu bildirilen tek gen ABCA4 genidir. Bu gen dışında haritalanmış her hangi bir lokus bulunmamaktadır.

### ABCA4 Geni ve Stargardt Hastalığı

Stargardt hastalığı (STGD) maküler dejenerasyonlar grubu içerisinde yer alan otozomal resesif geçişli en yaygın kalıtsal merkezi retina dejenerasyonudur (1:10.000). Hastalarda bilateral görme kaybı, retina pigment epitelinde lipofuskin benzeri maddelerin birikimi ve makü-

ler retina pigment epitelinin zamanla ilerleyen atrofisi söz konusudur.<sup>25</sup> Stargardt hastalığından sorumlu olan ABCA4 (ATP-binding cassette, sub-family A (ABC1), member 4) geni kromozomun 1p22.1 bandında yerleşim göstermektedir. Bu genin ürünü ABC süper ailesine mensup retina için özgül bir proteindir. ABC süper ailesine mensup genlerin ürünleri transmembran proteinler olup, membranlardan çeşitli substratların enerji bağımlı geçişlerinde fonksiyon görürler.<sup>26</sup> ABCA4 geninin klonlanması araştırmacılara bu gende çeşitli retina hastalıkları için mutasyon tarama yapma şansını vermiştir. Yapılan mutasyon taramaları sonucunda ABCA4 geninin otozomal resesif Stargardt hastalığının tümünden sorumlu olduğu gösterilmiştir.<sup>27,28</sup> Daha sonra bu genin arCRD ve arRP'den de sorumlu olan gen olduğu bulunmuştur.<sup>29</sup> Bu fenotiplere neden olan mutasyonların oranı Stargardt hastalığına oranla son derece düşüktür. ABCA4 geni arRP ve arCRD'lerden ikinci derecede sorumludur. AMD gelişiminde ABCA4'deki mutasyonların önemli fonksiyonlara sahip olduğunu, bu gende bulunan çeşitli polimorfizm ve bazı heterozigot allellerin AMD gelişimi için yatkınlık oluşturduğunu bildiren araştırmalar bulunmaktadır.<sup>27,28</sup> Türk hastaların da dahil olduğu farklı toplumlarda yapılan mutasyon tarama çalışmalarında bu gende yaklaşık dört yüz kırk mutasyon ve iki yüzün üzerinde polimorfizm saptanmıştır.<sup>7,30,31</sup>

#### RDH5

RDH5 geni (Retinol dehydrogenase 5, 12q13.2) kromozomun bandında yer alır.<sup>24</sup> Bu gendeki mutasyonlar otozomal resesif "fundus albipunctatus" ve arCD'ye neden olur.<sup>32</sup> Genin ürünü RPE'de sentezlenen mikrozomal bir enzimdir. Biyokimyasal olarak 11-cis retinolün 11-cis retinale çevrilmesinden sorumludur.

#### CNGB3

CNGB3 (Cone cyclic nucleotide-gated cation channel beta 3, 8q21.3) genindeki mutasyonlar akromotopsi vakalarının yaklaşık %50'si gibi büyük bir oranından sorumludur.<sup>33</sup> Juvenil maküler dejenerasyon gösteren vakalarda da mutasyonlar bulunmuştur. Özellikle kon dejenerasyonu gözlenen vakalarda araştırılması gereken aday genlerdendir.<sup>34</sup>

#### X-Geçişli Kon/Kon-Rod Dejenerasyonları ve Maküler Dejenerasyonlar

X-geçişli kon ya da kon-rod dejenerasyonlarına (XLCD, XLCRD) neden olan COD2, COD4 lokusları ve RPGR geni bulunmuştur.<sup>35-37</sup>

#### Yaşa Bağlı Maküla Dejenerasyonu (Age Related Macular Degeneration)

Bu hastalık grubunun kalıtım tipi tam olarak aydınlatılamasa bile bazı allellerin AMD gelişiminde etkili olduğu veya hastalık için yatkınlık meydana getirdiği rapor edilmiştir. ABCA4, ARMD1, C2, CFB, CFH, FBLN5, LOC387715, TLR4 genleri AMD'den sorumlu genlere örnektir. Bu genlerdeki farklı polimorfizm ve mutasyonların AMD ile ilişkisi gösterilmiştir. Fakat yapılan geniş ölçekli populasyon taramalarında AMD gelişiminde çok fazla etnik, çevresel ve genetik faktörün etkili olduğu görülmektedir.<sup>7,9,27</sup>

#### TARTIŞMA

Son yıllarda yapılan moleküler analizler sonucunda klinik ve genetik olarak heterojen olan kalıtsal retina dejenerasyonlarıyla ilgili çok sayıda gen tanımlanmıştır. Retina dejenerasyonlarına neden olan otozomal dominant, otozomal resesif ve X-geçiş gösteren genlerin bir kısmı birbiri ile çakışmakta, klonlanan pek çok gen ise birden fazla farklı fenotipe yol açabilmektedir. Aynı tip kalıtıma ve benzer fenotipe sahip göz hastalıklarında bile kendi içerisinde büyük bir heterojenite vardır. Bu nedenle retina dejenerasyonlarının ERG düzeyinde ayırıcı tanısı çok önemlidir. Periferik retina dejenerasyonu olan hastalarda zamanla rod fotoreseptörlerle beraber konlarda da dejenerasyon başlamaktadır. Körlüğe yakın aşamada ise retinanın neredeyse tüm fotoreseptörlerinde gözlenen geniş çaplı dejenerasyon sonucu ayırıcı klinik tanı koymak mümkün olmamaktadır. Bu nedenle hastalığın erken döneminde tanı konulmuş, klinik olarak homojen bir hasta grubunun seçilmesi araştırmacılara mutasyon taramalarında ve özellikle genotip-fenotip ilişkisi kurulmasında büyük yarar sağlar. Kalıtım tipine göre sınıflandırma yapılması da moleküler analizler için hangi genlerin öncelikli inceleneceğine dair yol gösterir. Otozomal dominant, otozomal resesif ve X-geçişli genler ve hastalarda görülen kalıtım tipleri karşılaştırılarak öncelikli olarak incelenmesi gereken aday genler seçilir. Bu nedenle kalıtsal hastalıklarda aile çalışmaları ve soyağacı incelemesi son derece önemlidir. Kalıtım tipinin belirlenemediği simpleks vakalarda mutasyon taranacak aday genin seçimi için sadece hastanın klinik bulgularından yola çıkılmaktadır. Bazı durumlarda hastanın sahip olduğu fenotipe neden olan genlerin hepsinin araştırılması gerekmektedir. Aile bilgileri toplanarak kalıtım tipinin belirlendiği ailelerle çalışma yapıldığında ise pek çok kriter bir arada kullanılarak mutasyon taraması yapılması gerekli olan gen yelpazesi büyük ölçüde daraltılmaktadır. Örneğin bir simpleks RP vakasında en azından arRP, adRP ve X-geçişli genler incelenecek olursa, bu durumda otuz altı genin mutasyon açısından değerlendirilmesi gerekir. Kalıtım tipi belirlenebilirse ailenin X-geçiş göstermesi durumunda bu sayı iki genle, otozomal dominant geçiş gözlenmesi durumunda on beş, otozomal resesif kalıtım tipinde ise on dokuz genle sınırlanır.

Mutasyon taraması için bilinen pek çok yöntem vardır. Mutasyon taraması için direkt DNA dizi analizinin kullanılması hem maliyeti çok yüksek hem de uzun süreli bir yöntemdir. Populasyon taramaları için bu yöntem birinci tercih nedeni değildir. Geniş ölçekli mutasyon taramalarında özellikle genomik yapısı büyük genler için bir ön tarama yöntemi olan ve bilinmeyen mutasyonların taramasında kullanılan SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism), HA (Heteroduplex Analysis) ve dHPLC (Denaturing High Pressure Liquid Chromatography) gibi yöntemler tercih edilmektedir. Bu yöntemler kullanılarak bir ön taramadan geçirilen hastaların incelenen DNA dizilerinde bir fark gözlemlendiğinde DNA dizi analizi yapılarak meydana gelen baz değişiklikleri saptanmaktadır. Mutasyon ön taramalarında kullanılan bu teknikler hızlı, kolay, ucuz yöntemlerdir ve bilinmeyen mutasyonları saptama oranı değişen laboratuvar ve teknik koşullara bağlı olarak %70-99 arasında değişmektedir. Hasta sa-

yısının fazla olması, incelenen genin uzun bir genomik DNA dizisine sahip olması, bulunan farklı mutasyon ve polimorfizmlerin her seferinde kontrol grubunda yeniden çalışılması gerektiği için bir ön tarama yöntemi olarak bu yöntemler tercih edilir.<sup>38</sup>

Moleküler biyoloji alanında son yıllarda geliştirilen en yeni teknolojilerden birisi DNA çipleridir. DNA çipleri belirli uzunlukta, DNA dizilerine özgül ve farklı genler için tanımlayıcı özelliği olan kısa DNA dizilerinin (oligonükleotidler) robotlar aracılığı ile pozisyonu belli olacak şekilde katı bir yüzey (cam vb) üzerine yerleştirilmesiyle üretilir. Bu oligonükleotidler ile incelenecek DNA hibridizasyona tabi tutularak özgül sinyaller bilgisayar aracılığıyla değerlendirilir. DNA çipleri bugün DNA dizi analizi yapılarak (Resequencing, yeniden dizileme) mutasyon taramalarında, SNP (Single nucleotide polymorphism) analizlerinin geniş ölçekli kullanımlarında yer almaktadır. Örneğin LCA 'dan sorumlu olan altı LCA geninin yer aldığı bir çip ile 50 ekzonlu büyük bir gen olan ABCA4'e ait DNA çipleri yapılmış ve hastalarda moleküler analizler için kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmalarda kullanılan DNA çipleri %99 verimlilikle çalışmış ve özgüllüğü teyit edilerek çok etkin ve hızlı bir teknoloji olduğu kanıtlanmıştır. Şu an rutin kullanım için pahalı olmasına karşın özellikle çok fazla sayıda genin sorumlu olduğu retina dejenerasyonları için çok verimli şekilde çalışacağı görülmektedir.<sup>39-40</sup>

Retina dejenerasyonlarında genotip-fenotip ilişkisinin kurulması son derece zordur. Genin hangi pozisyonundaki, hangi tip mutasyonun, ne tip bir retina dejenerasyonuna yol açtığını öğrenmek genotip-fenotip ilişkisinin kurulmasında son derece önemlidir. Bu açıdan fonksiyonel analizler büyük öneme sahiptir. Tüm bu hastalıklar için iyi bir genotip-fenotip ilişkisinin kurulması, hastalıkların sınıflandırılması ve moleküler patolojisinin aydınlatılması açısından kaçınılmazdır.

Retinada ifade edilen ve retina dejenerasyonuna neden olan tanımlanmış tüm genleri mutasyona uğrama sıklığı açısından incelediğimizde mutasyon bulma şansının çok düşük olduğunu görüyoruz. Rodopsin geni bu konuda bir ayrıcalık gösterir. adRP vakalarının yaklaşık %20-30'unda bu gende mutasyon bulunmaktadır. Diğer otozomal dominant, otozomal resesif ve X-geçiş gösteren genlerin hemen hemen hepsinde mutasyon bulma şansı %1-10 olup, pek çoğu için ise tüm hastaların %1-2 gibi çok düşük bir yüzdesinde mutasyon bulunmaktadır. Bugün retina dejenerasyonuna neden olan 166 lokusda yer alan genlerden 116'sı tanımlanmıştır. Mutasyon oranı, seçici seleksiyon ve kurucu etkisi gibi genetik faktörlerle değişik popülasyonlarda görülen mutasyon oranı ve tipi farklı olabilir. Mutasyon taraması yapılmayan genlerde mutasyonlar olabileceği gibi henüz haritalanmamış olan lokuslarda bulunacak yeni aday genlerde de mutasyonların bulunması beklenir. Klonlanan genlerin sayısının bu kadar yüksek olması bulunacak yeni genlerin çok fazla sayıda vakadan sorumlu olmayacağını göstermektedir. Kalıtsal hastalıklarda yapılan bu çalışmalar ve kompleks genetik yapı sayesinde hastalıkların moleküler mekanizması anlaşılmasına çalışılırken pek çok genin normal hücre fonksiyonlarında birbirleri ile olan etkileşimleri ve hücredeki görevleri hakkında yeni ipuçları elde edilmektedir.

Kalıtsal retina dejenerasyonlarına neden olan genler ile protein ürünlerinin bulunması bu hastalıklar için ileride yapılacak tedavi yaklaşımlarını da kolaylaştıracaktır. Bugün halen hastalığın tedavisi için ya da ilerlemesini engellemeye yönelik etkili bir klinik protokol yoktur. Etkin ve yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi hastalığın moleküler mekanizmalarının anlaşılmasına bağlıdır.

Retina dejenerasyonlarına neden olan genlerin tanımlanmaya başlaması yoğunlukla son on yıl içerisinde yapılan çalışmaları kapsamaktadır. Bu kadar kısa bir süre içerisinde çok sayıda genin bulunması gelecekte yapılacak çalışmalar için umut vermektedir. İnsan genom projesinin tamamlanması ve proteinlerin fonksiyonlarını ve birbirleriyle olan etkileşimlerini inceleyen proteomik alanındaki gelişmeler bu çalışmalara ivme kazandırmaktadır. Moleküler düzeydeki retina çalışmaları pek çok temel hücresel işlevin aydınlatılmasına yön vermiştir. Bugün genombilim alanında yapılan çalışmalar yurt dışında büyük ilerlemeler kaydetmiş, bu hastalıklara neden olan genlerin mutasyon profilleri konusunda geniş bir mutasyon veri tabanı oluşturulmuştur. Günümüzde retina konusunda yapılan çalışmalar genom çalışmalarından elde edilen verilerin fonksiyonel analizlerde kullanılmasına ya da doğrudan moleküler mekanizmaların anlaşılmasına yöneliktir. Normal ve hasta retinadaki moleküler düzeydeki farklılıkların anlaşılması hastalığın patolojisini aydınlatmada temel etken olacaktır. Bugün bu konuda özellikle tedaviye yönelik olarak geniş ölçekli projeler yürütülmektedir.

Ülkemizde özellikle oftalmik genetik konusunda uzmanlaşmış bir araştırma grubu olmamakla birlikte bu konuda yapılan diğer temel bilimsel çalışmalar da yurt dışına kıyasla yok denecek kadar azdır. Türkiye'de grubumuzca yürütülen projelerle ilk kez kalıtsal retina dejenerasyonlarının moleküler profilinin aydınlatılmasına yönelik bir araştırma başlatılmıştır. Yapılan çalışma ileride pek çok araştırma için bir ön hazırlık olmasının yanında klinik ve moleküler genetik işbirliğinin de geliştirilmesini hedeflemiştir. Klinik ve moleküler genetik işbirliği kalıtsal göz hastalıklarının çalışılması için bir ön koşuldur. Retina dejenerasyonlarını da içine alan tüm kalıtsal göz hastalıkları için ülkemizde çözülmesi gereken pek çok sorun ve yapılması gereken yeni araştırmalar bulunmaktadır. Genomik alanda yapılacak çalışmalardan elde edilen ivme ve altyapı olanakları ile ileride bu konuda daha üst düzeyde araştırmaların planlanması ve uygulanması kolaylaşacaktır. İleride yapacağımız araştırmalar da bu amaca yönelik olacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Freund CL, Gregory-Evans CY, Furukawa T, et al.: Cone-rod dystrophy due to mutations in a novel photoreceptor-specific homeobox gene (CRX) essential for maintenance of the photoreceptor, *Cell*. 1997;91:543-553.
2. Kessel RE, Gregory-Evans K, Gregory-Evans CY et al.: Localization of a gene (CORD7) for a dominant cone-rod dystrophy to chromosome 6q, *Am J Hum Genet*. 1998;63:274-279.
3. Payne AM, Downes SM, Bessant DA, et al.: A mutation in guanylate cyclase activator 1A (GUCA1A) in an autosomal dominant cone dystrophy pedigree mapping to a new locus on chromosome 6p21.1, *Hum Mol Genet*. 1998;7:273-277.
4. Kobayashi A, Higashide T, Hamasaki D, et al.: HRG4 (UNC119) mutation found in cone-rod dystrophy causes retinal degeneration in a transgenic model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:3268-3277.
5. Sohocki MM, Bowne SJ, Sullivan LS, et al.: Mutations in a new photoreceptor-pineal gene on 17p cause Leber congenital amaurosis, *Nat Genet*. 2000;24:79-83.
6. Payne AM, Morris AG, Downes SM., et al.: Clustering and frequency of mutations in the retinal guanylate cyclase (GUCY2D) gene in patients with dominant cone-rod dystrophies, *J Med Genet*. 2001;38:611-614.
7. RetNet, <http://www.sph.uth.tmc.edu/RetNet>.
8. Abid A, Ismail M, Mehdi SQ, et al.: Identification of novel mutations in the SEMA4A gene associated with retinal degenerative diseases, *J Med Genet*. 2006;43:378-381.
9. Schultz DW, Klein ML, Humpert AJ, et al.: 2003, Analysis of the ARMD1 locus: evidence that a mutation in hemicentin-1 is associated with age-related macular degeneration in a large family. *Hum Mol Genet*. 15:12:3315-3323.
10. Ayyagari R, Mandal MN, Karoukis AJ, et al.: Late-onset macular degeneration and long anterior lens zonules result from a CTRP5 gene mutation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46:3363-3371.
11. Wada Y, Abe T, Itabashi T, et al.: Autosomal dominant macular degeneration associated with 208delG mutation in the FSCN2 gene. *Arch Ophthalmol*. 2003;121:1613-1620.
12. Sato M, Nakazawa M, Usui T, et al.: Mutations in the gene coding for guanylate cyclase-activating protein 2 (GUCA1B gene) in patients with autosomal dominant retinal dystrophies. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2005;243:235-242.
13. Heon, E., Piguat, B., Munier, F., et al.: Linkage of autosomal dominant radial drusen (malattia leventinese) to chromosome 2p16-21, *Arch. Ophthalmol*. 1996;114:193-198.
14. Stone, E. M., Lotery A. J., Munier, F. L, et al.: A single EFEMP1 mutation associated with both Malattia Leventinese and Doyne honeycomb retinal dystrophy, *Nat Genet*. 1999;22:199-202.
15. Zhang, K., Kniazeva, M., Han, M., et al.: A 5-bp deletion in ELOVL4 is associated with two related forms of autosomal dominant macular dystrophy., *Nat Genet*. 2001;27:89-93.
16. Goldberg, A.F., Moritz, O.L., Molday, R.S.: Heterologous expression of photoreceptor peripherin/rds and Rom-1 in COS-1 cells: assembly, interactions, and localization of multisubunit complexes, *Biochemistry*. 1995;34:14213-14219.
17. Kajiwara K, Berson EL, Dryja TP, et al.: Screen for mutations in the entire coding sequence of the human RDS/peripherin gene in patients with hereditary retinal degenerations, *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1993;34:1149.
18. Farber DB, Danciger M.: Identification of genes causing photoreceptor degenerations leading to blindness, *Current Opinion in Neurobiology*. 1997;7:666-673.
19. Felbor U, Schilling H, Weber BH.: Adult vitelliform macular dystrophy is frequently associated with mutations in the peripherin/RDS gene, *Hum Mutat*. 1997;10:301-309.
20. Weber BHF, Vogt G, Pruet RC, et al.: Mutations in the tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP3) in patients with Sorsby's fundus dystrophy, *Nat Genet*. 1994;8:352-356.
21. Seddon JM, Afshari MA, Sharma S, et al.: Assessment of mutations in the Best macular dystrophy (VMD2) gene in patients with adult-onset foveomacular vitelliform dystrophy, age-related maculopathy, and bull's-eye maculopathy, *Ophthalmology*. 2001;108:2060-2067.
22. Marchant D, Gogat K, Dureau P, et al.: Use of denaturing HPLC and automated sequencing to screen the VMD2 gene for mutations associated with Best's vitelliform macular dystrophy, *Ophthalmic Genet*. 2002;23:167-174.
23. Kramer F, White K, Pauleikhoff D, et al.: Mutations in the VMD2 gene are associated with juvenile-onset vitelliform macular dystrophy (Best disease) and adult vitelliform macular dystrophy but not age-related macular degeneration., *Eur J Hum Genet*. 2000;8:286-292.
24. Simon A, Lagercrantz J, Bajalica-Lagercrantz S, et al.: Primary structure of human 11-cis retinol dehydrogenase and organization and chromosomal localization of the corresponding gene, *Genomics*. 1996;36:424-430.
25. Hadden OB, Gass JDM.: Fundus flavimaculatus and Stargardt's disease, *Am J Ophthalmol*. 1976;82:527-539.
26. Molday LL, Rabin AR, Molday RS.: ABCR expression in foveal cone photoreceptors and its role in stargardt maculardystrophy *Am J Ophthalmol*. 2000;130:689.
27. Allikmets R, Shroyer NF, Singh N, et al.: Mutation of the Stargardt disease gene (ABCR) in age-related macular degeneration, *Science*. 1997;277:1805-1807.
28. Allikmets R, Singh N, Sun H, et al.: A photoreceptor cell-specific ATP-binding transporter gene (ABCR) is mutated in recessive Stargardt macular dystrophy, *Nat Genet*. 1997;15:236-246.
29. Cremers FPM, Pol DJR van de, Driek M van, et al.: Autosomal recessive retinitis pigmentosa and cone-rod dystrophy caused by splice site mutations in the Stargardt's disease gene ABCR, *Hum Mol Genet*. 1998;7:355-362.
30. Özgül RK, Durukan H, Turan A.: Molecular analysis of the ABCA4 gene in Turkish patients with Stargardt disease and retinitis pigmentosa. *Hum Mutat*. 2004;23:523.
31. Webster AR, Heon E, Lotery AJ, et al.: An analysis of allelic variation in the ABCA4 gene, *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:1179-1189.
32. Nakamura M, Hotta Y, Tanikawa A, et al.: A high association with cone dystrophy in fundus albipunctatus caused by mutations of the RDH5 gene, *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:3925-3932.
33. Kohl S, Varsanyi B, Antunes GA.: CNGB3 mutations account for 50% of all cases with autosomal recessive achromatopsia. *Eur J Hum Genet*. 2005;13:302-308.
34. Nishiguchi KM, Sandberg MA, Gorji N, et al.: Cone cGMP-gated channel mutations and clinical findings in patients with achromatopsia, macular degeneration, and other hereditary cone diseases, *Hum Mutat*. 2005;25:248-258.
35. Bhattacharya SS, Wright AF, Clayton JF, et al.: Close genetic linkage between X-linked retinitis pigmentosa and a restriction fragment length polymorphism identified by recombinant DNA probe, L1.28, *Nature*. 1984;309:253-255.
36. Bergen AA, Pinckers AJ.: Localization of a novel X-linked progressive cone dystrophy gene to Xq27: evidence for genetic heterogeneity, *Am J Hum Genet*. 1997;60:1468-1473.
37. Jalkanen R, Demirci FY, Tynnismaa H.: A new genetic locus for X linked progressive cone-rod dystrophy, *J Med Genet*. 2003;40:418-423.
38. Özgül RK.: Kalıtsal Retina Dejenerasyonlarının Moleküler Genetiği, HÜFBE, Doktora Tezi, Ankara, 2003;121.
39. Yzer S, Leroy BP, De Baere E, et al.: Microarray-based mutation detection and phenotypic characterization of patients with Leber congenital amaurosis, *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2006;47:1167-1176.
40. Klevering BJ, Yzer S, Rohrschneider K, et al.: Microarray-based mutation analysis of the ABCA4 (ABCR) gene in autosomal recessive cone-rod dystrophy and retinitis pigmentosa, *Eur J Hum Genet*. 2004;12:1024-1032.