

Derleme

Kalıtsal Retinopatilerde Retina Pigment Epiteli'nin Önemi ve Tünelin Sonundaki Işık: Retinitis Pigmentosa / Leber Congenital Amaurosis'in Genetiği

Nuray Altıntaş

Özet

Kalıtsal retina dejenerasyonlarının moleküler patolojisi ayrıntılı olarak incelenen güncel araştırma konuları arasındadır. Bu konuda yapılan araştırmalar sonucunda retina dejenerasyonlarına neden olan çok sayıda gen bulunmasına rağmen bu hastalıkların çoğunun moleküler patolojisi henüz aydınlatılamamıştır. Kalıtsal retina dejenerasyonlarının moleküler temelini aydınlatılabilmesi için tüm bu genlerin ve protein ürünlerinin hücredeki fonksiyonlarının anlaşılması gereklidir. Hastalık otozomal dominant, otozomal resesif, X'e bağlı veya digenik (iki gene bağlı) olarak kalıtılır. Bu derlemede Retina Pigment Epiteli, kalıtsal retina dejenerasyonlarına neden olan genler ve bu gruptaki hastalıklardan Retinitis pigmentosa ve Leber congenital amaurosis moleküler genetik bakış açısıyla ve son gelişmelerle özetlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Retina pigment epiteli (RPE), moleküler genetik, retina, retinitis pigmentosa (RP), kalıtsal retina dejenerasyonları

Görme gözden başlayıp, beyinde görme korteksine kadar uzanan olaylar topluluğudur. İnsan gözü üç embriyonik tabakadan meydana gelen farklı dokuları içeren karmaşık bir organdır. Görme yeteneği, ışık ile beynin embriyolojik uzantısı olarak kabul edilen nöral retinanın etkileşimi sonucu oluşan bilginin optik sinir aracılığı ile beyne (görme korteksine) gönderilmesini içeren karmaşık bir durumdur (3, 6). Göz, kompleks ve iyi gelişmiş ışığa duyarlı (fotosensitif) bir organdır. Yaklaşık 24 mm çapında olup, kafatası içinde koruyucu kemik olan orbitalar içine yerleşmiştir. Her göz, küresel şekli koruyan dayanıklı fibröz bir yapıdan, görüntüyü odaklayan bir mercekle sisteminden ve görüntüyü toplayan ve merkezi sinir sistemi ileten fotosensitif hücrelerden oluşur. Gözün

tabakaları sırası ile (Şekil 1); dış tabaka (tunica fibrosa): sklera ve kornea, orta tabaka (tunica vasculosa): koroid, corpus ciliare, iris, iç tabaka (tunica nervosa): retina'dır.

Retina gözün arka tabakasını kaplayan kompleks çok katmanlı bir sinir yapısıdır. Bruch membranı (BM), koroid ve altındaki destekleyici kat olarak sklera ile nöral retina ve retina pigment epitelinden (RPE) oluşur. RPE fotoreseptör hücreleri ile koryokapillaris tabakası arasında yer alan ve birçok açıdan özelleşmiş epitel hücreleridir. Nöral retina, fotoreseptör hücreler dahil olmak üzere birçok farklı hücre tiplerini içerir ve birden çok fonksiyona sahiptir. Işık retina tarafından yansıtıldığında, farklı retinal hücre tipleri nörokimyasal ve optik sinir ile beyine gönderilen elektrik sinyalleri ışığı dönüştürmek üzere birlikte çalışır. Birinci ve bu sistemde en önemli bileşenlerinden biri olan fototransdüksiyon kaskadı, fotoreseptör hücrelerinin ışık duyarlılığını sürdüren bir biyokimyasal sistemdir. Fototransdüksiyon kaskadında rol oynayan proteinler hem RPE de hem de fotoreseptörlerde bulunur. Bu proteinleri şifreleyen genler RPE ve fotoreseptör hücrelerinde yüksek seviyelerde ifade edilir. Retina boyunca gelen ve giden moleküller ve elektrolitlerin hassas bir homeostazı vardır. Kısmen RPE ve fotoreseptörlerde mevcut ifade edilen genler ve proteinler tarafından

Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
Yazışma Adresi: Yrd. Doç. Dr. Nuray Altıntaş
Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Manisa, TÜRKİYE
Tel: 0 236 2331920 - 437
Faks: 0 236 2331466
E-mail: naltintas35@gmail.com
Makalenin Geliş Tarihi: 04.10.2012
Makalenin Kabul Tarihi: 13.12.2012

düzenlenirler. Bu homeostaz örneğın, RPE de ifade edilen genlerden birinde bir mutasyon ya da

fotoreseptörlerde görsel bir fonksiyon üzerinde zararlı etkileri sonucu kolayca bozulur (1, 4, 9).

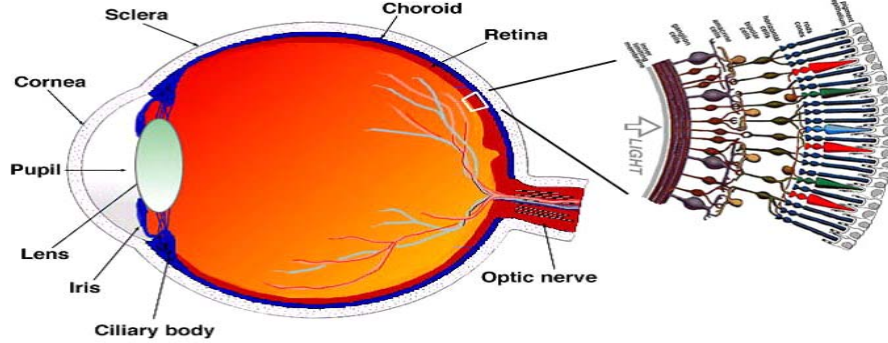


Fig. 1.1. A drawing of a section through the human eye with a schematic enlargement of the retina.

Şekil 1. Gözün anatomik yapısı (3).

Rpe Yapısı

a) RPE'nin hücresel yapısı ve kan-retina bariyeri: RPE; Histolojik kesitlerde arka kutupta heksagonal, perifere doğru gidildikçe daha az pigmentli ve tek katlı kübik hücre tabakası olarak görülür. Hücreler zonula okludens tipi sıkı bağlantılarla birbirlerine bağlanırlar. Su ve iyonların serbest geçişine karşı bariyer görevi görürler. Şekil ve büyüklükleri retinanın farklı bölgelerinde değişkenlik gösteren RPE hücreleri, makular bölgede daha küçük (kabaca 10-14 µm çapında) iken perifer retinada daha geniş ve düz bir görünüm alırlar (yaklaşık 60 µm çapında). Retina boyunca fotoreseptör hücre yoğunluğu değişse de her bir RPE hücresi başına düşen fotoreseptör hücre sayısı sabit olarak kalır (her bir RPE hücresi için yaklaşık 45 fotoreseptör hücresi). Bu fizyolojik ilişkiden dolayı her RPE hücresi, üzerindeki fotoreseptör hücresinin metabolik olarak desteklenmesinden sorumludur. Histolojik kesitlerde RPE hücresinin fotoreseptör hücrelere bakan apikal bölgesinde fotoreseptör dış segmentlerine ulaşan mikrovilluslar içerdiği görülür. Melanin pigmenti ise hücrelerin apikal sonlanmalarında bulunur. RPE hücreleri içinde melanin pigmenti birikimi gestasyonun altıncı haftasında başlar. Vücutta melaninin ilk olarak sentezlenmeye başladığı yer; RPE 'dir.

b) RPE pigmentleri: RPE'ne ismini veren; melanozom adlı sitoplazmik granüllerde bulunan melanin pigmentidir. Melanin pigmenti yaşla birlikte lizozomlarla birleşerek yıkılabilir, bu nedenle yaşlı insanlarda fundus tipik olarak daha az pigmente olarak görülür. Melanin pigmentinin gözdeki rolü tartışmalıdır. Melanin pigmenti

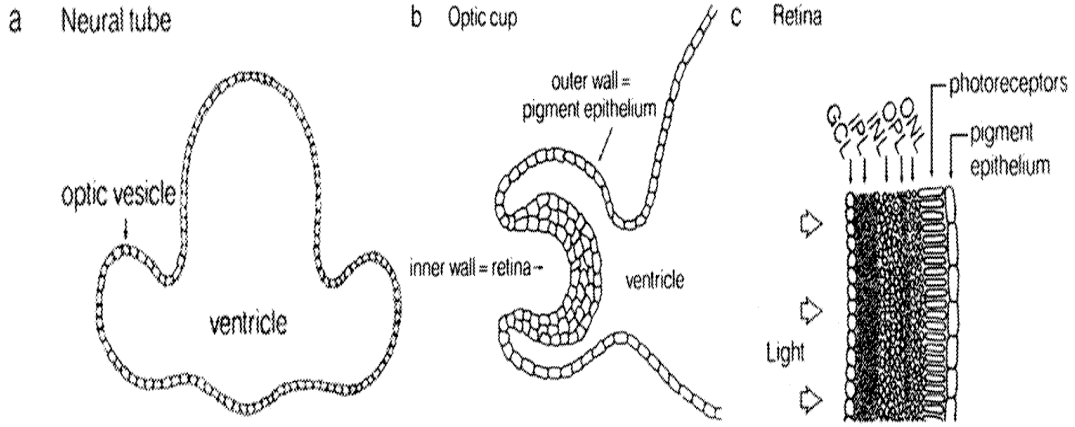
dağılan ışığı absorbe eder ve göz içinde minimal olarak dağılmasını sağlar, bunun birtakım teorik optik faydaları vardır. Melanin pigmenti ayrıca serbest radikalleri stabilize eder ve toksinleri bağlar. Diğer major RPE pigmenti lipofuksindir. RPE içinde yaşla birlikte yavaş yavaş birikir. Lipofuksinin; RPE tarafından sindirilen, ışık veya oksidasyon nedeniyle hasarlanmış dış segmente ait membran lipidlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Yaşlanmayla birlikte gelişen madde birikimi sürdükçe RPE tabakasının epitelı yıkılabilir ve drusen gelişimi, RPE atrofisi, koroidal neovaskularizasyon oluşabilir.

c) RPE' de sentez ve metabolizma: RPE hücreleri oksidatif metabolizma ile çalışan mitokondrilerle paketlenmiştir. RPE hücreleri ayrıca lipid membranlara hasar veren serbest radikallerin oluşumunu minimize eden süperoksid dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimleri içerir (10).

Retina Pigment Epiteli Anatomi ve Fizyolojisi

RPE'nin embriyolojisi

Embriyolojik olarak retina, embriyonik ön beynin bir cebi olan optik vezikülden gelişir. Optik çukurun dış katmanı, tek katlı retina pigment epitel tabakasını oluştururken; iç katman, nörosensöriyel retinaya differansiye olur. Matür retinanın bu çift katmanlı nöroepitelyal yapısı orjinal optik çukurun tepeye olan düzenlenmesini yansıtır; ayrıca kavite duvarını ve glikozaminoglikan ve kollajenle dolu olan vitreus boşluğunu da oluşturur (Şekil 2).



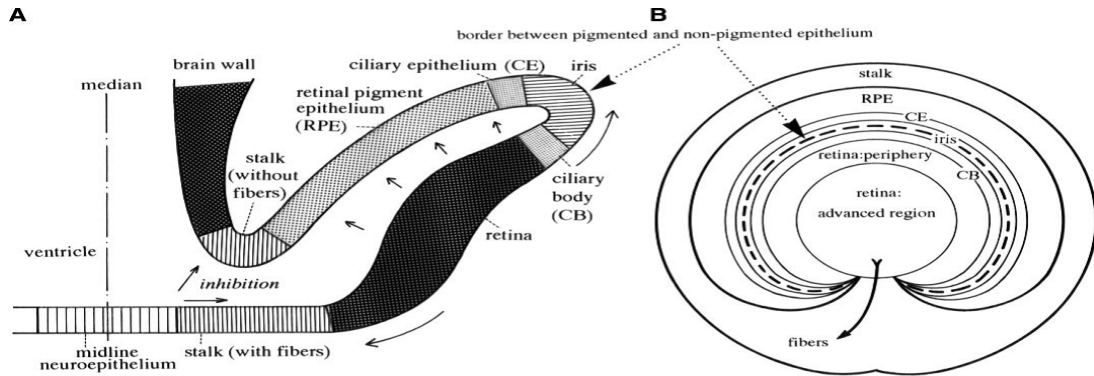
Şekil 2. Retina'nın gelişimi (10).

Retina epitelyal tabakalarının birbirleriyle olan ilişkisi, önden arkaya doğru değişir. Ora serrata'nın önünde iris ve siliyer cismin pigmente ve nonpigmente epiteli apekslerinden intersellüler bağlantılarla birleşir ve nöral retinanın eksternal limitan tabakası ve retina pigment epitelinin (RPE) bağlantı kuşağı ile devam eder. Pigmente epitel, ora serrata'da RPE olarak devam eder ve bazal membranı, Bruch membranını oluşturur. Siliyer cisim ve pars plana'nın nonpigmente epiteli ise arkada nöral retina olarak devam eder, bazal membranı ise internal limitan membranı oluşturur. Epitel tabakalarının bileşimi subretinal boşluğun ön çıkmasını oluşturur. Ora serrata önündeki tepeye gelecek şekilde yerleşim arkaya doğru RPE ile karşılıklı yerleşen bazen RPE ile temas eden Müller hücreleriyle devam eder. Burada teması devam ettiren apikal bileşimler değil (bir interreseptör var olsa bile) vitreus basıncı ve RPE'nin emme kuvvetleridir. Müllerian glia, nöral retinanın temel yapısal hücresidir ve ora serrata'dan optik sinir başına kadar retinada yerleşmiş durumdadır. Optik sinir

başında, internal limitan membranı Elschnig Bazal Membranı olarak devam eder ve Kuhnt'un Glial Menisküsü tarafından desteklenir. Eksternal limitan membranı ise subretinal boşluğun arka çıkmasını oluşturmak üzere RPE apeksleriyle birleşir (10).

Hem RPE hem de fotoresptörler gelişim için birbirleri üzerinde son derece bağımlıdır. Embriyonik RPE, fotoresptörlerin gelişmesi için gerekli faktörleri salgılar ve fotoresptörlerin gelişmesi RPE gelişimine katkıda bulunur. Sonuç olarak, RPE'nin kaybı durumunda, fotoresptörler ve hatta retinanın tamamı normal olarak gelişemez.

Retina diensefalunun nöroektoderminden gelişir. Gebeliğin dördüncü haftasında bir kat ileride optik çukuru oluşturan nöro-epitelinde oluşturulur. Altıncı haftada optik çukuru içerisine koyulur. Nöroepitelyal hücrelerinin iki katmanı birbirleriyle karşı karşıya olduğu anda sonradan interfotoreseptör matriksten (IPM) oluşan lümenin bir kalıntısı ile ayrılır (Şekil 3; A-B). Neuroepitheliumun katmanlarının biri, RPE haline gelebilmektedir (1, 4).



Şekil 3. RPE ve Retinanın gelişimi (4).

RPE; OTX2, MITF, CRBP, CRABP, IRBP ve RPE65 dahil olmak üzere ifade edilen genlerin etkisi altında gelişir. Retinanın sinir hücre parçaları sonuçta fotoseptör hücreleri içinde farklılaşır. Nöral kaynaklı mezenşimi hangi koroid oluşturacaksa o optik çukur etrafında yatırılır. Koroidal damar paraokular mezenşimde var olan kan damarlarından anjiyogenez aracılığıyla oluşturulur. İlkel retina, bazal membran parçacık tarafından taarruz altında olan bir RPE hücre tabakası, bir dış nükleer bölgesi ve bir hücreli marjinal bölge olarak farklılaşmaya devam eder. BM, RPE bazal membran ve koroidal endotelinin bazal membran arasında oluşturulur. RPE bazal membran daha sonra BM ye dahil olur. BM gelişimi BM de mevcut olan ve hücre dışı matris bileşenlerinin birçoğunu sentezleme yeteneğine sahip olan RPE'nin bir bölgesinde başlar. RPE bazolateral polarite ve RPE hücreleri arasındaki sıkı kavşakların oluşumu için bir apikal oluşturulması ile kutuplaşmış bir yapıya ayırır. RPE hücreleri arasındaki sıkı kavşaklar RPE hücre katmanı arasından maddelerin serbest ulaşımını önler. Bu nedenle, RPE daha sonra RPE yi seçici olarak geçen iyonlar ve glukoz gibi maddelerin geçmesine izin vermek üzere taşıyıcıları ekspres eder. RPE hücreleri aynı zamanda fotoreseptör hücrelerinin, kendi farklılaşması yoluyla, mikrovillusların etkileşimini sağlar. Öte yandan RPE hücreleri ve çubuk fotoreseptörlerin bir yandan konik fotoreseptörlerin arasındaki ilişkileri benzersiz kıldığı ve birçok yolla RPE hücreleri ile bunların gelişen fotoseptör hücreleri arasında yakın bir iletişim kurduğu kanıtlanmaktadır (1, 4).

RPE 'nin fonksiyonel özellikleri

RPE göz gelişimi, fonksiyonu, bakım ve hastalıkta önemli bir rol oynayan bir tek hücre tabakasıdır. Olgunlaşmış RPE'de gerçekleşen bir kısım işlemler şu şekilde özetlenebilir: Işık emilimi, besin taşınımı ve iyon geçişi. Subretinal boşlukta iyon dengesinin düzenlenmesi, görsel döngü katılımı, fotoreseptör atık ürünlerin fagositozu ve büyüme faktörlerinin salgılanması. RPE sınırlı bir kan akımı nedeniyle oksidatif fagositoz ve fotoreseptör dış segmentlerinin yıkımı ile retina üzerine düşen ışığın yol açtığı hasara karşı nöral retinanın korunması için esastır. RPE içinde melanin ışığı emer ve böylece saçılmayı azaltarak görüş kalitesini artırır. Bu, aynı zamanda retinada fotokimyasal oksidatif stresi azaltmak için yardımcı olur. Son olarak, RPE, RPE retinasını oksidatif stresten koruyan antioksidanları yüksek konsantrasyonlarda (örneğin süperoksit dismutaz için, katalaz, lutein ve zeaksantin) içerir. RPE göz ve dolaşım arasındaki maddenin kontrolsüz ulaşımının

önlenmesi için dış kan-retina bariyeri oluşturur. RPE aktif fazla su ve klorür iyonları gibi subretinal alandan uzaktaki sodyum ve potasyum iyonlarının doğru bir şekilde taşınmasını sağlar. Ayrıca çubuk dış segment zarları laktik asit ve kolesterol gibi fotoreseptör atık ürünleri ortadan kaldırır. Buna ek olarak RPE, dolaşımdan glikoz gibi besinleri alarak RPE fotoreseptörleri besler. RPE aynı zamanda subretinal boşlukta iyon denge düzenlemede rol oynamaktadır. Fotoreseptörlerin ışık tarafından uyarıldığı durumda, sodyum hücre içine girer ve potasyum dışarı çıkar. Subretinal alanı içinde sodyum ve potasyum konsantrasyonunda yapılan değişiklikler RPE tarafından düzeltilmiştir. Ayrıca RPE fotoreseptör hücrelerinden retinal geri dönüşüm gösterir ki bu görsel döngünün devamı için gereklidir. Işık stimülasyonu fotoreseptör içindeki tüm-trans-retinal'in 11-cis-retinal'e dönüşmesine neden olur ve bu hafif bir elektrik sinyaline dönüştürülmesi için gereklidir. Işıkla uyarılması 11-cis-retinale neden olan fotoreseptördeki tüm-trans-retinalin dönüştürülmesi ve bir elektrik sinyaline dönüştürebilecek ışık için gereklidir. RPE; FGF, TGF- β , IGFR, CNTF, PDGF ve PEDF gibi büyüme faktörlerinin çok sayıda salgılanması komşu dokuların yapı ve hücreli farklılaşmanın korunmasını sağlar ve RPE fonksiyonları, fotoreseptörler için fiziksel bir destek sağlar. Son olarak, metabolik olarak oldukça aktif fotoreseptör sağlar ve ışık etkisi altında dış segment zarlarını yeniler. Dış segmentleri oksitlenmiş ve hasarlı fotoreseptörler ile dolu bu membranlar, bozulmuş veya RPE tarafından geri kazanılmış olarak fagosite edilir (1, 4).

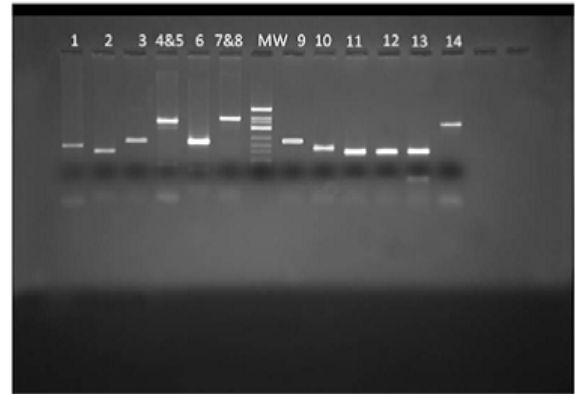
Retinal Hastalıkların Genetiği

Kompleks ve monogenik kalıtsal hastalıklar içerisinde göz hastalıkları önemli bir grubu oluşturur. Kalıtsal göz hastalıklarının önemli bir bölümünü oluşturan retina dejenerasyonları, Retinitis Pigmentosa'dan (RP) maküler dejenerasyonlara (MD) uzanan geniş bir spektrum çizer. Kalıtsal retina dejenerasyonlarının moleküler patolojisi ayrıntılı olarak incelenen güncel araştırma konuları arasındadır. OMIM'de (Online Mendelian Inheritance in Man) retina dejenerasyonlarıyla ilgili çok sayıda hastalık listelenmiştir. Günümüzde ileri moleküler genetik yöntemler kullanılarak, retina hastalıklarına neden olan genlerin klonlanmasında ve fonksiyonlarının aydınlatılmasında büyük ilerlemeler sağlanmıştır. Bu konuda yapılan araştırmalar sonucunda retina dejenerasyonlarına neden olan çok sayıda gen bulunmasına rağmen bu hastalıkların çoğunun moleküler patolojisi

henüz aydınlatılamamıştır. Bugüne kadar çeşitli tipte retina dejenerasyonlarına neden olan lokus ve bu lokuslarda yer alan genler tanımlanmıştır. Bu genlerde saptanan farklı mutasyonlarla genetik heterojenite giderek artmaktadır. Kalıtsal retina dejenerasyonlarında araştırılması gereken gen sayısının çok fazla olması çalışmaları son derece zorlaştırmaktadır. Kalıtsal retina dejenerasyonlarının moleküler temelini aydınlatılabilmesi için tüm bu genlerin ve protein ürünlerinin hücredeki fonksiyonlarının anlaşılması gereklidir. Genetik çalışmalarla bu hastalıklara neden olan genlerin allel frekanslarının ve mutasyon profillerinin belirlenmesi bu hastalıklardan etkilenen ailelere genetik danışmanlık verilmesi için gereklidir (6).

RPE'nin açıklanan normal işlevindeki bir bozulma örneğinin; RPE proteinleri kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucunda retinanın arızalanmasına ve retina dejenerasyonuna yol açabilmektedir¹. Kalıtsal merkezi retina dejenerasyonları retinanın merkezini etkileyen kısmen ya da tamamen körlükle sonuçlanan kompleks hastalıklardır (6). Genetik hastalık veya sendrom olarak tanımlanan hastalıkların çoğunda dismorfik göz yapısı veya bu hastalığın bir komponenti olarak göz hastalıkları vardır. Genetik bir hastalıkta çoğu zaman erken yaşlarda katarakt, retinitis pigmentosa, glokom, retinoblastoma tanımlanabilmektedir. Yalnız başına bir hastalık tablosu şeklinde de karşımıza çıkabilir. Bu olguların önemli bir kısmında ise heredite önemli bir faktördür. Herediter tip göz hastalıklarında genellikle pozitif aile öyküsü, erken yaşlarda görülen göz problemleri dikkat çekmektedir. Genetikte iki vuruş hipotezi ilk kez herediter retinoblastoma olgularında açıklanmıştır. Bu hipotezde herediter retinoblastoma olgularında retinoblastoma (Rb) geninde bir alel aileden mutant olarak aktarılmakta, diğer alelde ise hızla ortaya çıkan mutasyona bağlı erken yaşta ortaya çıkan genellikle her iki gözün de tutulduğu tümörler oluşmaktadır. Her genetik hastalıkta olduğu gibi pozitif aile öyküsü de tanıya yaklaşıttır. Hastalıktan sorumlu Rb genine ait mutasyonların tanımlanması hastalık tanısını kesinleştirir. Göz hastalıklarının çoğu pek çok genin etkilendiği (multigenik), birçok faktörün olaya karıştığı (multifaktöriyel) hastalık grubundadır. Bu hastalıklarda genetik tanı günümüz yöntemleri ile kolay değildir. Bu grup içinde yer alan retinal distrofiler dünyada her yıl 1,5 milyon kişinin kör olmasına neden olmaktadır. Retinal dejenerasyonda rolü olan retinitis pigmentosa önceleri gece körlüğü ile karakterize, daha sonra körlüğe kadar giden komplikasyonların ortaya

çıktığı bir hastalıktır. Olgularda aile ağacı incelemesi (“pedigree”) ile otozomal dominant, otozomal resesif ve X kromozomu ile kalıtım (X-Linked) formları tanımlanmaktadır. Retinitis pigmentosa’da da 185 farklı genetik lokus suçlanmaktadır. Hüresel bazda retinada fotosensitif hücrelerde nasıl başladığı tam da belli olmayan programlı hücre ölümü (apoptoz) suçlanmaktadır. Olgularda apoptoz öncesinde hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun arttığı gözlenmektedir. Bunun sonunda hidrojen peroksid, süperoksid dismutaz gibi reaktif oksijen moleküllerinin arttığı ortaya konmuştur. Hücre içi harabiyeti artıran bu moleküllerin ortama çıkmasına bağlı olarak hücre endoplazmik retikulum üzerinden apoptozu tetikleyen “glucose-regulated protein-78 (GRP78/BiP)”, “caspase-12”, “phospho-eukaryotic initiation factor 2 alpha (eIF2 alpha)”, ve “phospho-pancreatic ER kinase (PERK)” stres proteinlerini sentezler. RPE65, 11-cis-retinal kromofor görme pigmenti sentezi için gerekli olan A vitamini metabolizmasında önemli bir rol oynar. RPE65 Geni 533 aminoasit içeren, 61-kD proteini kodlayan 20 kb kapsayan 14 ekzon içerir (Şekil 4) (1,8,11).



Şekil 4. RPE65 genine ait 14 ekzonun %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü (11).

Retina pigment epitelinin sahip olduğu pek çok fonksiyonun iyi bilinmesi, RPE ile ilişkili olabilen çok sayıda retinal hastalığın anlaşılması, açıklanması ve doğru tedavisi açısından önemlidir (9). RPE65 deki mutasyonlar Leber'in Konjenital Amaroza (LCA) yanı sıra, otozomal resesif geçişli Retinitis Pigmentoza (RP) olarak bilinen çocukluk çağı körlük hastalığına neden olur. RPE65 geninin deki mutasyonların frekansları farklı toplumlarda oldukça değişir. Bugüne kadar, RPE65 geninde birden fazla missense mutasyon kalıtsal retinal distrofisi olan hastalarda tespit edilmiştir ve hastalığın şiddeti geniş bir konjenital körlük LCA ile yetişkin başlangıçlı

retinitis pigmentosa için, RPE65 mutasyonları ile ilişkili bulunmuştur. RPE65, retinal pigment epitelindeki bol miktarda membran ilişkili proteindir ve bu karakteristik membran ilişkisi izomerohidrolaz aktivitesi için gereklidir (1, 4).

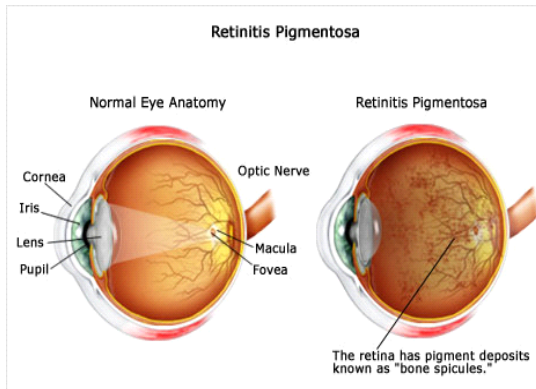
Retinitis pigmentosa

Retinitis pigmentosa, hastalarının büyük kısmında bizzat fotoreseptörlerdeki birçok genin mutasyonunun sebep olduğu kalıtsal bir fotoreseptör distrofidir. Hastalığın klasik tipinde primer olarak rod hücrelerinde başlayan fonksiyon kaybı ve dejenerasyonu, kon ve RPE hücrelerindeki kayıp izler. Görülme sıklığı farklı çalışmalarda 1/3000-4000 olarak bildirilen hastalığın dünyada 1,5-2 milyon, 1-4 ülkemizde 15-20 bin kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir. RP de 3 temel kalıtım şekli tanımlanmıştır. Hastaların %15-20' sinden otozomal dominant (ODRP), %20-25' inden otozomal resesif (ORRP) ve %10-15' inden X'e bağlı geçiş (XBRP) sorumlu iken aile hikayesinin olmadığı simpleks ya da izole grup hastaların %40-55' ini oluşturmaktadır. Her bir kalıtım şekli için de farklı genler tanımlanmıştır. RP'nin farklı formları altında yatan genetik lokus; 1, 3, 4, 6, 7, 8, 11, 14, 16, 19 ve X kromozomunu kapsayan bir grup kromozomda yerleşir. Hastalığın sadece OD formunda rod hücrelerinin rodopsin proteinin etkileyen 100' ün üzerinde mutasyon tanımlanmıştır. Diğer mutasyonlar ise fotokimyasal enerjiyi nöronal elektrik enerjisine çeviren bir enzim sistemi olan c-GMP fosfodiesterazın β subuniti ve ışık enerjisinin kimyasal enerjiye ilk dönüşümünden sorumlu rod dış segmentlerinin yapısal organizasyonu kontrol eden protein olan periferin de meydana gelir (12, 13, 14).

RP hastaları için başlangıç yaşı erken çocukluktan erişkin olarak daha ileri yaşlara kadar değişir. RP gece körlüğü, görme alanında ilerleyen daralma, soluk optik diskler, dar retina damar, retinadaki pigment değişiklikleri (Şekil

5), tünel içinden görüş (Resim 1), düşük elektroretinogram (ERG) ile karakterizedir (1, 2).

Retinitis pigmentosa (RP) retinada pigment oluşumu ve ilerleyen görme kaybıyla sonuçlanan birçok sendrom ile birlikte bulunabilen ve ilerleyici görme kaybıyla seyreden kalıtsal bir hastalık olduğundan erken tanısı önemlidir. Otozomal dominant formu ise daha çok erişkinlerde oluşmaktadır. X'e bağlı resesif formu da tanımlanmıştır (16). Türkiye'de geçmiş yıllarda Retinitis pigmentosa hastalığının genetik özelliklerini ortaya çıkarmak için çalışma yapılmıştır. Kalıtım tiplerini otozomal dominant (%8.1), otozomal resesif (%56.8), sporadik (%32.4) ve X'e bağlı resesif (%2.7) dağılım gösterdiği bildirilmektedir. Gelecekte otozomal resesif geçişli geniş ailelerde gen anormalliklerinin tanımlanmasının bağlantı analizleri ile kanıtlanabileceği de belirtilmiştir. Halen tedavisi bulunmayan bu hastalığın tanısı, iyi bir anamnez ve oftalmolojik muayene ile konulabilmektedir. En sık görülen formu otozomal resesif geçişlidir ve bu formda başlangıç yaşı hastalığın ilerleyişine göre değişmektedir. Genelde genç yetişkinlerin hastalığı olan RP, infantil dönemden 30-50'li yaşlara kadar her dönemde görülebilmektedir. Retinitis pigmentosa'nın belirgin özelliği, çubuklar çoğunlukta olmak üzere fotoreseptör hücrelerinin ve pigment epitelinin atrofisidir. Histopatolojik olarak periferik retinadan başlar. Çubukların ve ileri evrelerde de konilerin dış segmentlerinde ilk önce kısalma görülür ve daha sonra da bu hücreler yok olmaya başlar. Pigment epitelinde atrofi vardır. Melanin pigmentleri retinaya girmiştir ve özellikle damar duvarları çevresinde kümelenirler. Çubuk hücrelerinin tahribatına bağlı olarak hastaların ilk yakınması düşük ışıkta görme azalması ve karanlığa uyumun bozulmasıdır. Makula sağlam kaldığı sürece merkezi görme ve renkli görme normaldir.



Şekil 5. (7).



Resim 1. (15).

Görme alanında başlangıçta ekvator da skotomlar oluşur ve bunlar birleşerek çember şeklinde skotom oluştururlar. Daha sonra bu skotom perifer ve merkeze doğru ilerleyerek görme alanında daralma meydana getirir. Bu evrede hastaların merkezi görmeleri sağlam bile olsa çevrelerini göremezler (1, 6, 16, 17, 18, 19, 20).

Retinitis pigmentosa'da 185 farklı genetik lokus suçlanmaktadır. Hücre bazda retina da fotosensitif hücrelerde nasıl başladığı tam da belli olmayan programlı hücre ölümü (apoptoz) suçlanmaktadır. Olgularda apoptoz öncesinde hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun arttığı gözlenmektedir. Bunun sonunda hidrojen peroksit, süperoksit dismutaz gibi reaktif oksijen moleküllerinin arttığı ortaya konmuştur. Hücre içi harabiyeti artıran bu moleküllerin ortama çıkmasına bağlı olarak hücre endoplazmik retikulum üzerinden apoptozu tetikleyen "glucose-regulated protein-78 (GRP78/BiP)", "caspase-12", "phospho-eukaryotic initiation factor 2 alpha (eIF2 alpha)", ve "phospho-pancreatic ER kinase (PERK)" stres proteinlerini sentezler (8).

Leber congenital amaurosis

Leber'in konjenital amarozu (LCA) dünya çapında 35,000'de 1 yaygınlık gösteren otozomal resesif retina distrofidir (1). Günümüzde 80'den fazla LCA ilişkili RPE65 mutasyonu tespit edilmiştir. LCA, 17 gendeki mutasyon ile ilişkilidir. Araştırmalar tarafından bağlantı analizi yöntemleri de dahil olmak üzere, aday genler keşfedilmiştir (2). LC şiddetli görme bozukluğu yaşamın ilk yılında ortaya çıkar (21). LCA konjenital nistagmus, pupiller tepkisinde azalma ile karakterizedir. Ancak başlangıçta fundus görüntüsü normal olabilir, daha sonra pigment değişiklikleri retina da hastalık sürecinde meydana gelmektedir. ERG her zaman ciddi azalır. RP ve yukarıda açıklanan LCA fenotipleri arasındaki farklılıklara rağmen, önemli bir örtüşme de vardır. "Erken başlangıçlı şiddetli rod-koni distrofi" veya "erken başlangıçlı retina dejenerasyonu" içeren sayısız ara fenotipleri vardır. Net bir klinik tanı her zaman kolay belirlenememektedir ve karşılaştırılan tanı kriterleri sık sık göz hekimleri arasında tartışmalıdır (1, 2).

Retinal dejenerasyonda mutasyon tespiti

Otuz farklı retina fenotipi için toplamda, birçoğu örtüşen özellikler gösteren yaklaşık 150 retinal hastalık genleri tespit edilmiştir. Retina fenotiplerinin karmaşık doğası ile birlikte genetik heterojenite, hastalıklara yol açan mutasyonların belirlenmesini etkin şekilde önlemektedir. Nedensel bir mutasyonun tanımlanması, genetik

danışmanlık ve aile planlaması, gelecek (gen hedefli) tedavi için hastalığın klinik seyir tahminleri, klinik tanı ve kalıtım modeli doğrulanması için önemlidir. RPE ve fotoreseptörlerin gen ifadelerindeki mutasyonların neden olduğu birçok farklı fenotip tarif edilmiştir. Retina hastalıkları ile ilişkili genlerin büyük bir çoğunluğunun RPE veya fotoreseptörlerde yüksek seviyede ifade edilir olduğunu göstermektedir. 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 sağlayacaktır. Kalıtım tipine göre sınıflandırma yapılması da moleküler analizler için hangi genlerin öncelikli inceleneceğine dair yol göstericidir. Otozomal dominant, otozomal resesif ve X geçişli genler ve hastalarda görülen kalıtım tipleri karşılaştırılarak öncelikli olarak incelenmesi gereken aday genler seçilmelidir. Çünkü 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. 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 (1,6).

Gen Tedavisi Uygulamaları

RP nin moleküler temelindeki mevcut bilgiler, nonsendromik RP den sorumlu olan fotoreseptör spesifik genlerdeki mutasyonların tanımlanması ve insanlardakine benzer retinal dejenerasyon geliştiren hayvan modellerinin mevcudiyeti araştırmacıları gen tedavisi çalışmalarına yönlendirmiştir. Çalışmalarda fotoreseptörleri kurtarmak için farklı tip gen tedavisi yaklaşımları kullanılmaktadır. Bunlar 4 ana başlık altında incelenebilir.

1. Fotoreseptör apoptozisini engellemek için kullanılan anti-apoptotik gen tedavisi
2. Birçok farklı tipteki RP modeli için kullanılan nörotropin/growth faktör gen tedavisi
3. Dominant mutant proteinlerin toksik etkilerini bloke etmek için kullanılan ribozom gen tedavisi
4. Eksik genin yerine konulması için kullanılan gen yenileme tedavisidir.

Ancak temel strateji, OR ve X'e bağlı formlarda eksik genin yerine konulması, OD formlarda ise mutant proteinin ekspresyonunu bloke edilmesi şeklindedir (12).

Son 30 yılda geliştirilen Rekombinant DNA teknolojisi ile iki farklı kaynaktan alınan DNA'ların birleştirilmesi mümkün olmuştur. Burada aktarılması istenen belli bir DNA bölgesi (örneğin insan *Rb* geni) onu hücreye taşıyacak uygun bir taşıyıcı vektöre (bir DNA virüsü) aktarılır. Bu yolla gen tedavi protokolleri oluşturulmuş ve deneysel bazda uygulama alanı bulmuştur. Burada aktarılmak istenen geni istenilen hücrelere götürmesi gereken en uygun viral vektörün yapılması başarı için en önemli parametredir. Leber'in konjenital amorozisi retinal distrofiler içinde erken dönemde yer alan gruptandır ve görme kaybı, nistagmus, retinal disfonksiyon bulguları ile karakterizedir. Günümüzde bu hastalıkla ilgili 15 farklı gen ortaya konmuştur. Hastalıklarda genetik tanı ve buna bağlı gen tedavileri esastır. Leber'in konjenital amorozis olgularında "in vivo" deneylerde adenovirüslerden oluşturulan gen tedavi yöntemleri başarı ile uygulanmaktadır. Retinal dejenerasyon olgularında da benzer klinik uygulamalarda başarılı sonuçlar alınmaktadır. Bu konuda 2008 yılında üç farklı klinik çalışma yayınlanmıştır. Her üç çalışmada da vektör olarak adenovirüsler kullanılmış ve elde edilen başarılı sonuçlar sunulmuştur. Her üç çalışmada da

vektöre bağlı bir yan etkinin ortaya konmaması bu tür çalışmaların başarısını gösteren önemli parametrelerdir. Çalışma yapılan birçok olguda da görme alanı düzelmiştir. Halen süren çalışmalarda bu sonuçları daha iyiye taşıyacak vektör dizaynları üzerinde durulmaktadır. Gelinen noktada toplumda görülme sıklığı fazla olan hastalıklarda ileri tanı ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinin yolu moleküler biyoloji ve genetik bilgilerimizin artmasına bağlıdır. Bu yolla elde edilecek bilgiler göz hastalıklarında uygulama alanına girebilecek ileri tanı ve tedavi protokollerinin bulunmasını sağlayacaktır. Bu nedenle özellikle kök hücre tedavisi ve gen tedavisi yöntemleri umut vaat etmektedir (8).

The importance of retinal pigment epithelium in hereditary retinopathies and the light at the end of the tunnel: The genetic of retinitis pigmentosa/leber congenital amaurosis

Abstract

The molecular pathology of the inherited retinal degenerations is one of the important research topics recently. As a result of research performed in this area, a high number of genes were found to be responsible for retinal degenerations, however the molecular pathology of most of these diseases are still unknown. All the genes and the functions of their protein products in the cell should be understood for the elucidation of the molecular basis of inherited retinal degenerations. The disease can be inherited in autosomal dominant, autosomal recessive, X linked and digenic modes. In this review, Retina Pigment Epithelia, retinal degeneration causative genes and Retinitis pigmentosa and Leber congenital amaurosis from diseases in this group are outlined recent advances and from molecular genetic point of view.

Key words: Retina pigment epithelia (RPE), molecular genetics, retina, retinitis pigmentosa (RP), inherited retinal degenerations

Kaynaklar

1. Booij JC. Function and pathology of the human retinal pigment epithelium. Thesis. 2010 <http://dare.uva.nl/document/176177>.
2. Xu F, Dong Q, Liu L, Li H, Liang X, Jiang R, et al. Novel RPE65 mutations associated with Leber congenital amaurosis in Chinese patients. *Mol Vis* 2012; 18:744-750.
3. Kahraman D. Retinitis pigmentosa'lı hastalarda bazı enflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerinin değişimi. Uzmanlık Tezi.

- İstanbul Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya Bölümü, 2008.
4. Strauss O. The Retinal Pigment Epithelium in Visual Function. *Physiol Rev* 2005; 85(3):845-881.
 5. Hamel C. Retinitis pigmentosa. *Orphanet J Rare Dis* 2006; 1:40.
 6. Özgül RK, Ögüş A. Kalıtısal Merkezi Retina Dejenerasyonları. *Ret-Vit* 2006; 14(2):83-88.
 7. <http://furiouspurpose.me>
 8. Güran Ş. Moleküler Biyoloji ve Genetikteki Gelişmelerin Işığında Göz Hastalıklarında İleri Tanı ve Tedavi. *Gülhane Tıp Dergisi* 2011; 53 (1):74-76.
 9. İnan ÜÜ, Öztaşan N. Retina Pigment Epitel Fizyolojisi. *Retina-Vitreus* 2011; 19(1):6-15.
 10. med.ege.edu.tr/Image/gozdoc/makulerodem_berna_yuce.doc
 11. Venkata AR, Konduru R, Sekhar C, Pokala S, Debashish D, Ramesh N. RPE 65 gene mutation: A rare event in Lebers Congenital Amaurosis patients in Indian subcontinent. *Res J Biotech* 2012; 7(2):18-21.
 12. Erdinç AM, Gürel G. Retinitis Pigmentoza'da Geliştirilmekte Olan Tedavi Seçenekleri. *Ret-Vit* 2004; 12:65-75.
 13. Chang S, Vaccarella L, Olatunji S, Cebulla C, Christoforidis J. Diagnostic challenges in retinitis pigmentosa: genotypic multiplicity and phenotypic variability. *Curr Genomics* 2011; 12(4):267-275.
 14. Pozo GM, Borrego S, Barraga'n I, Pieras IJ, Santoyo J, Matamala N, et al. Mutation Screening of Multiple Genes in Spanish Patients with Autosomal Recessive Retinitis Pigmentosa by Targeted Resequencing. *PLoS ONE* | www.plosone.org. December 2011 | Volume 6 | Issue 12 | e27894.
 15. <http://www.istanbulretina.com>
 16. Eren E. Çocukluk Çağında Retinitis Pigmentosa. Bir Olgu Sunumu. *Güncel Pediatri* 2008; 6:43-46.
 17. Atmaca LS, Sayli BS, Akarsu N, Gündüz K. Genetic features of retinitis pigmentosa in Turkey. *Doc Ophthalmol* 1995; 89(4):387-392.
 18. Daiger SP, Bowne SJ, Sullivan LS. Perspective on genes and mutations causing retinitis pigmentosa. *Arch Ophthalmol* 2007; 125(2):151-158.
 19. Ohguro H, Maeda T, Yanagihashi S, Miyakawa Y, Maruyama I, Nakazawa M. Molecular pathology of retinitis pigmentosa. *Nihon Ganka Gakkai Zasshi* 2002; 106(8):461-473.
 20. Acar C, Öner C, Ögüş A. X Kromozomuna Bağlı Retinitis Pigmentoza'nın Moleküler Temelleri: RPGR ve RP2 Mutasyonları. *Ret-Vit* 2006; 14:79-81.
 21. Cao H, Molday RS, Hu J. Gene therapy: light is finally in the tunnel. *Protein Cell* 2011; 2(12):973-989.