



Oftalmolojide Genetik I – Temel Kavramlar

Genetics in Ophthalmology I - Basic Concepts

Canan Aslı Utine, Gülen Eda Utine*

Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

*Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Klinik Genetik Ünitesi, Ankara, Türkiye

Özet

Geçtiğimiz yüzyılın ikinci yarısında genlerin kromozomlar üzerinde taşındığının gösterilmesinden ve nükleik asitin çift sarmal yapısının açığa çıkartılmasından sonra, genetik biliminin klinikte kullanımı açısından önemli gelişmeler olmuştur. Yaklaşık üç milyar baz çifti ve otuz bin genden oluşan insan genomundaki genetik bilgi “santral dogma” mekanizmasıyla eksprese edilir ve proteinlerle fonksiyonelleşir. İnsan genomunun homeobox genler ile doku farklılaşmasını yönlendirebilme özelliği vardır. DNA hasarı çeşitli tamir mekanizmaları ile tamir edilebilir. Ancak tamir mekanizmalarındaki aksamalar insan genomunda biyolojik olarak anlamlı değişikliklerle (yani mutasyonlar ile) sonuçlanabilir. Genetik hastalıklar mutant allellerin özelliklerine bağlı olarak belirli kalıtım özellikleri gösterebilir. Genetik danışma ve risk tayini analizleri ile bir ailede bir genetik hastalığın görülmesi riski ve ilişkili problemlerin en aza indirgenmesi sağlanabilir. Son yıllarda gerçekleşen teknolojik ilerlemeler sonucunda günümüzde kromozom ve gen analizleri, prenatal ve preimplantasyon genetik tanı yapılabilen ve gen terapileri alanlarında önemli gelişmeler olmaktadır. Bu nedenle oftalmologların klinik genetik uzmanları ile birlikte çalışmaları pek çok hasta, aile bireyleri ve gelecek nesiller için büyük önem taşımaktadır. Bu yazıda oftalmologların genetik göz hastalıklarını anlayış ve yorumlamalarını kolaylaştırmak ve genetik alanındaki yeni gelişmeleri takip edebilmelerini kolaylaştırmak için, genetik biliminin ve oküler gelişimde genetik düzenlemenin temel kavramlarını derlemeyi amaçladık. (*Turk J Ophthalmol* 2012; 370-7)

Anahtar Kelimeler: Genetik, insan genomu, mutasyon, genetik testler

Summary

After it was shown in the latter half of the last century that the genes are located on the chromosomes and the nucleic acid has a double-helical configuration, there have been significant developments in the clinical use of genetic science. The genetic information encoded in the human genome, which consists of approximately three billion base pairs and thirty thousand genes, is expressed by the “central dogma” mechanism and is functionalized by the proteins. The human genome has the ability of guiding tissue differentiation via the homeobox genes. DNA damage can be repaired by various repair mechanisms. However, malfunctioning in these repair mechanisms may result in biologically significant changes in the human genome (i.e., mutations). Genetic diseases display specific inheritance patterns depending on certain characteristics of the mutant allele. As a result of recent technological advances, chromosome and DNA analyses, as well as prenatal and preimplantation genetic diagnoses are currently available, and significant developments do occur in the field of gene therapies. For this reason, collaboration of ophthalmologists and clinical geneticists carries utmost importance for many patients, members of their families and future generations. Herein, we aimed to review the basic concepts of genetics and the genetic regulation of ocular development in order to ease the understanding and interpretation of genetic eye diseases and help ophthalmologists follow the new developments in the field of ophthalmic genetics. (*Turk J Ophthalmol* 2012; 42: 370-7)

Key Words: Genetics, human genome, mutation, genetic tests

Giriş

Genetik Biliminin Kısa Tarihçesi

Genetik biliminin tarihte ilk defa Gregor Mendel'in (1865) “faktörler” adını verdiği genleri keşfetmesiyle başladığı

kabul edilir. Mendel, kalıtılan özelliklerin belli “faktörler” üzerinde taşınması ve bunların kuşaktan kuşağa aktarılması üzerine kurulu temel kalıtım ilkelerini ortaya koydu. Yıllar sonra Wilhelm Johannsen (1909) Mendel'in “faktör”lerine “gen” adını verdi. Thomas Hunt Morgan (1911) genlerin

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Canan Aslı Utine, Yeditepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göz Hastalıkları Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
Tel.: +90 212 211 40 00/6523 Gsm: +90 533 558 76 35 E-posta: cananutine@gmail.com

Geliş Tarihi/Received: 11.11.2011 **Kabul Tarihi/Accepted:** 22.03.2012

kromozomlar üzerinde taşındığını göstererek 1933 Nobel Fizyoloji - Tıp ödülünü kazandı. Rosalind Franklin adında 19 yaşındaki bir kız öğrenci ve Maurice Wilkins (1939) X-ışını difraksiyon çalışmaları ile nükleik asitin çift sarmal şeklindeki ilk taslağını yaptılar. Bunu takiben James Watson ve Francis Crick (1953) çift sarmal DNA yapısını ortaya koyarak 1962 Nobel Fizyoloji-Tıp ödülünü kazandılar. Genetik bilimindeki önemli tarihsel olaylar Tablo 1'de verilmiştir.

İnsan Genomunun Yapısı

İnsan DNA'sı hücre çekirdeğinde kromozomlar halinde paketlenmiştir. Yaklaşık üç milyar baz çiftinden oluşan insan genomu 23'ü anneden, 23'ü babadan gelen toplam 46 kromozom halinde bulunur. Her kromozom 50-250 milyon baz çiftinden oluşan bir tek DNA molekülünü kapsar. İnsan vücudundaki hücrelerin çoğu (gamet hücreleri ve kırmızı kan hücreleri hariç) 22 çift otozomal kromozom ve bir çift cinsiyet kromozomundan oluşan bu genomu içerir. Genler kromozomlar üzerinde lineer olarak dizilmişlerdir. Genomda yaklaşık 30.000 gen mevcuttur ve bu kodlayıcı DNA bölgeleri insan genomunun sadece %2'sini oluşturur. İnsan genomunun %99.9'u tüm insanlarda tamamen aynıdır. Genomun %50'den fazlası ise tekrar dizilerinden oluşur.¹

Kromozom yapısı **kromatin** adı verilen genetik materyalden oluşur.² Hücre döngüsünün interfaz bölümünde kondanse halde bulunan kromatin yapısına **heterokromatin**, paketlenmemiş halde bulunan kromatin yapısına ise **ökromatin** adı verilir. İnterfazda kromatinin paketlenmemiş hali, **transkripsiyona** (protein sentezi için RNA kodlanması) ve **replikasyona** (hücre bölünmesi için DNA'nın kendi kendini kopyalaması) izin verir.³ İnterfazda replike olmuş mitotik kromozomun iki eş zincirine **kromatidler**, kromatidlerin birleşme noktasına **sentromer** adı verilir.⁴ Uzun kromatid kolu q, kısa kromatid kolu p olarak adlandırılır. Helezonlar ve ilmekler halinde çeşitli proteinlere tutturularak paketlenen kromozom yapısı incelendiğinde DNA'nın ilk önce **nükleozom** yumakları halinde paklendiği görülür.² Nükleozomlar **histon** proteinleri (H1, H2A, H2B, H3, H4) ve etraflarına sarılmış DNA'dan oluşur. Nükleozom yapısı dışında ise kromatin **non-histon** proteinler aracılığıyla ilmekler ve helezonlar halinde paketlenir. Nükleozomlardan histon proteinleri uzaklaştırılırsa geriye DNA'nın çift sarmal yapısı kalır.⁵

Watson-Crick modeli ile açıklanan çift sarmal DNA yapısı genetik bilginin saklanması ve ekspresyonuna, replikasyona ve kuşaktan kuşağa aktarılması yoluyla kalıtıma izin verir. Bu modele göre DNA azotlu bir baz, deoksiriboz ve fosfat içeren nükleotidlerin lineer diziliminden oluşan zincirin birbiri etrafına sarılmış iki kopyasından oluşur (Şekil 1).⁶ Azotlu bazlar pürin (adenin ve guanin) veya primidin (timin ve

sitozin) yapısındadır. Çift sarmalda karşılıklı gelen nükleotidler bir baz çifti oluşturur ve her zaman bir pürin bazı bir primidin bazı ile eşleşir.⁷ Adenin daima timinle ve guanin daima sitozinle eşleştiği için çift sarmalın iki zinciri birbirine karşılık gelir (komplementer) ve birbirine sarılma / ayrılma (annealing/disosiasyon) özelliği gösterir. Çift sarmalın iki zincirinden genellikle sadece biri mRNA'dan protein sentezlenmesinde gerekli kodu taşır, bu zincire kodlayan (sense), diğerine ise kodlamayan (anti-sense) denir.

Gen yapısı 5' translasyona uğramayan bölge (5' untranslated region; 5' UTR), açık okuma çerçevesi (open reading frame; ORF) ve bir 3' translasyona uğramayan bölge (3' untranslated region; 3' UTR) içerir (Şekil 2).⁸ İnsan genomunda sürekli eksprese olan genlerin yanı sıra hücre hayatının sadece belli döneminde (örneğin embriyoda veya hastalık dönemlerinde) eksprese olan genler vardır. 5' UTR bölgesinde bulunan promoter kısmı gelişimsel ve dokuya özel kontrol altındadır ve geni çalışır duruma getiren bölgedir. Yine 5' UTR bölgesindeki düzenleyici bölgenin geni aktive etmek, düzenlemek ve transkripsiyonu belirlemek gibi görevleri vardır. Başlama kodonunu takiben bir veya birkaç ORF gelir. ORF eksonlar ve intronlardan oluşur. En sondaki 3' UTR

Tablo 1. Genetik biliminin önemli tarihsel olayları

1866	G. Mendel: "faktörler"
1909	W. Johannsen: Mendel'in faktörlerine "gen" adını verdi.
1910	T. Hunt Morgan: "Genler, kromozomlar üzerinde taşınır" (1934 Nobel Ödülü)
1939	R. Franklin: Nükleik asitin ilk çift sarmal taslağı
1944	O. Avery: Genler (proteinlerden değil) DNAdan yapılırlar
1948	B. McClintock: "zıplayan genler": transpozonlar
1952	A. Hershey ve M. Chase: "Genler, DNA'dan yapılmıştır"
1953	J.D. Watson ve F. Crick: DNA yapısı (çift sarmal) (1962 Nobel Ödülü)
1957	E. Volkin ve L. Astrachan: "RNA protein yapımına dahildir"
1961	F. Jacob ve S. Brenner: "RNA protein yapımında mesajcıdır" (1965 Nobel Ödülü)
1961	M. Nirenberg: "Kodonlar aminoasitleri kodlar"
1970	H. Smith: Restriksiyon enzimleri
1973	S. Cohen ve H. Boyer: Gen klonlanması, ilk rekombinant DNA oluşturulması
1977	F. Sanger, W. Gilbert ve A. Maxam: DNA dizilendirilmesi
1977	P. Sharp ve R. Roberts: İntronlar (1993 Nobel Ödülü)
1981	F. Constantini ve E. Lacy: İlk "transgenik" memeli
1983	K. Mullis: DNA kopyalama cihazı, polimeraz zincir reaksiyonu
1986	L. Hood: İlk otomatik DNA "dizilendirme" makinesi
1990 - 2003	İnsan Genom Projesi
1998	AZ. Fire ve CC. Mello: RNA interferansı – gen sessizleştirilmesi (2006 Nobel Ödülü)
2006	E. Balckburn, C. Greider, J. Szostak: Telomerler ve telomerez enzimi ile kromozom korunması (2009 Nobel Ödülü)

bölgesinin de düzenleyici rolü vardır. Örneğin miyotonik distrofi hastalığında mutasyon miyotonin geninin 3' UTR bölgesindedir.

İnsan genomunun %97'si **kodlamayan DNA**'dan ("Junk DNA") oluşur.⁹ Satellit, minisatellit, mikrosatellit, *short interspersed elements* (SINE) ve *long interspersed elements* (LINE) adı verilen elemanlar içeren bu DNA'nın muhtemel görevleri diğer dizilerin transkripsiyonunu direkt olarak etkilemek, genomun tamiri veya düzenlenmesinde ve telomer oluşumunda rol almaktır.¹⁰

Telomerler kromozomların uç kısımlarında bulunan TTAGGG (AATCCC) dizisinin 500-5,000 tekrarından oluşan bölümlerdir. Kromozomları degradasyondan, yeniden düzenlenmelerden, uç uca füzyondan ve segment kaybından korur. DNA duplikasyonu sırasında terminal baz çiftlerinin delesyonu gibi "end-replikasyon" problemlerini önler. Telomer uzunluğu yaşla birlikte azalır, ilerleyici telomer kaybı hücre yaşlanması ile ilişkilidir. Bazı kanser türlerinin etiolojisinde de telomeraz enziminin aktivasyonunun rolü vardır.¹¹

Toplam 16,5 kb uzunluğundaki **mitokondriyal genom**, toplam DNA'nın %0,3'ünü, insan genomunun %0,0005'ini oluşturur. Ekstranükleer, sitoplazmik yerleşimli, küçük, çift zincirli dairesel DNA'dan oluşan bu genomdaki genetik kod diğer genomdan bazı farklılıklar gösterir. Fertilizasyon sırasında spermden ovuma sadece nükleer DNA aktarılır, dolayısıyla mitokondriyal genom kalıtımı tamamen maternaldir. Mitokondriyal genom üzerindeki 37 gen, mitokondriyal solunum zincirinin bazı proteinlerini, bazı ATP sentetaz peptidlerini ve bazı tRNA'larla rRNA'ları kodlar. Bu genomda intron yoktur, tamamı bir ORF'den oluşur. DNA polimeraz- γ ile replike olur. Histone veya tamir enzimleri olmaması ve mitokondri içinde yüksek oksijen konsantrasyonu olması nedeniyle mitokondriyal mutasyon hızı nükleer DNA'ya göre 10-20 kat daha fazladır.¹²

İnsan Genomunun İşlevi: Hücre Döngüsü, Santral Dogma ve Gen Ekspresyonu

Hücre döngüsü hücrenin işlev gördüğü, büyüdüğü, farklılaştığı G0 fazını, DNA replikasyonu yaptığı G1, S ve G2 fazlarını ve mitoz bölünme yaptığı M fazını içerir. DNA replikasyonu her hücre döngüsünde S fazı içinde (her bir baz çiftinde sadece on milyarda bir mutasyon hızı ile) şaşırtıcı doğrulukta gerçekleşmektedir.¹² *Replikasyon orijini* adı verilen noktalarda oluşan prereplikasyon kompleksleri replikasyonu başlatır.¹³ Bu kompleksler *orijin tanıma komplekslerini* (ORC), replikasyonun doğru zamanda başlamasına izin veren ve mitoz tamamlanana kadar prereplikasyon kompleksinin tekrar oluşmasını önleyen siklin-bağımlı kinazları (CDC6, CDC7 ve DFB4) ve MCM proteinlerini içerir. Replikasyon için DNA sarmalı helikaz enzimi ile açılır. 5'-3' zinciri DNA polimeraz 3 enzimi ile, 3'-5' zinciri ise RNA primaz, DNA polimeraz 3, DNA polimeraz

1 ve oluşan Okazaki fragmanlarını birleştiren DNA ligaz ile replike olur.¹⁴ Replikasyonu takiben hücre, profaz, prometafaz, metafaz, anafaz ve telofaz safhalarından oluşan **mitoz bölünmeyle**, aynı genetik materyali içeren iki yavru hücreye bölünür.¹⁵ **Mayoz bölünmede** ise bir diploid nükleusun birbirini takip eden 2 nükleer bölünmesi sonucu dört haploid nükleus oluşur.¹⁵ Mayoz bölünmenin mitoz bölünmeden bazı farkları vardır: Homolog kromozomlar arası sinapslar oluşarak "crossing-over" yani genetik madde değiş-tokuşu oluşur ve bu nedenle oluşan dört yavru hücrenin genetik materyali birbirinden farklıdır. Ayrıca ikinci mayoz bölünmeden önce DNA replikasyonu olan S fazı bulunmaz ve homolog kromozomların birbirinden ayrılmasından sonra yeni bir replikasyon fazı olmadığı için de diploid sayı haploide iner.

Santral dogma Francis Crick tarafından ortaya atılmış bir işlev mekanizmasıdır.¹⁵ Genetik bilginin DNA'dan RNA'ya ve RNA'dan proteine doğru aktarılmasını sağlar. Hiçbir zaman ters yönde bilgi akışı olmaz. Genetik bilginin ekspresyonu, transkripsiyonu ve translasyonu süreçlerini içerir. DNA'dan RNA polimeraz enzimi ile RNA sentezlenmesi işlevi olan **transkripsiyon**, genin 5' UTR bölgesinde çok iyi korunmuş DNA dizileri olan "TATA-box" bölgesi ve çeşitli "transkripsiyon faktörleri" ile düzenlenir.² Bu faktörlerden TATA-box bağlayıcı protein (TBP) de evrim sırasında çok iyi korunmuştur. Genin promoter bölgesine bağlanır, DNA'da 70° eğilmeye neden olur ve diğer proteinlerin bağlanması için gerekli bölgeleri açığa çıkarır.¹⁶ Böylece TATA-boxdan yaklaşık 25 baz çifti sonraki DNA dizisinin 5' ucunda transkripsiyonun başlamasını yönetir.¹⁶ Diğer bir transkripsiyon faktörü olan TFIID ise, RNA polimerazın promoter bölgesine yerleşmesinde ve nükleotid ekzisyonu DNA tamiri mekanizmasında rol alır.¹⁷

Tek zincirli bir nükleik asit dizisi olan **RNA**, DNA'dan farklı olarak riboz şekeri ve timin yerine urasil bazı içerir. Transkripsiyon sırasında oluşan heteronükleer RNA (hnRNA) RNA işlenmesi sürecinden geçerek "mesajcı RNA"yı (mRNA) oluşturur. Bir aminoasidi şifreleyen ve üç nükleotidden oluşan mRNA birimine kodon adı verilir. mRNA'nın okunması ile ribozomlarda protein sentezlenmesine translasyon adı verilir. Bu süreçte mRNA ile birlikte "transfer RNA" (tRNA) ve "ribozomal RNA" (rRNA) rol alır. Genlerin ekspresyonu DNA veya RNA'ya bağlanan "intron tarafından kodlanmış RNA"lar gibi çeşitli RNA'larla da düzenlenebilir.¹⁸

Gen ekspresyonu sonucu oluşan proteinlerin hücre içindeki görevleri yapısal, düzenleyici veya enzimatik olabilir. Aminoasit polimerleri olan proteinlerin primer yapısını aminoasit dizisi, sekonder yapısını dizinin konformasyonu ile α -heliks ve β -tabakası yapıları, tersiyer yapısını fibröz ve globüler yapı veya protein motiflerinin oluşması, kuartern yapıyı ise homodimer veya heterodimerlerden meydana gelen alt birimler oluşturur.¹⁹ Proteinler birleşerek multiprotein komplekslerini oluşturabilirler.

İnsan Genomunun İşlevi: Özel Mekanizmalar

1. Genleri Kontrol Eden Genler

Homeobox genleri “*master genler*” olarak da bilinirler. “Benzer” anlamına gelen “*homoi*os” kelimesi ile “korunmuş dizi” anlamına gelen “*box*” kelimelerinden oluşturulmuş bir terimdir. Bu genler evrim sırasında korunmuş 180 baz çifti içerir ve kodladığı 60 aminoasit bir DNA bağlayıcı birim, yani “*homeodomain*” oluşturur. Bu birim subordinate genlerdeki belli DNA dizilerinin tanınması ve ekspresyonlarının kontrolü ile gelişim esnasında gen ekspresyonunu düzenler. Uzaysal ve zamansal olarak sıralı bir gen ekspresyonu, yani transkripsiyon olmasını sağlar. Çeşitli büyüme faktörleri ve retinoik asit tarafından aktive edilirler.²⁰ Bu genlerin işlevlerinin bilinmesi, oküler gelişimde genetik düzenlemenin ve bazı konjenital göz hastalıklarının oluşum mekanizmalarının anlaşılması için önem taşır.

2. DNA Hasarı

Ultraviyole ışık, kimyasallar ve spontan deaminasyon mekanizması **DNA hasarına** yol açar. DNA hasarı insan kanserlerinin yaklaşık %80-90’ından sorumludur.¹⁰ Anti-onkogenler olarak da bilinen tümör baskılayıcı genler genom koruyucusu olarak görev yaparlar. Bunlar arasında p53 geni ve *ATM* geni en iyi bilinenlerdendir. *p53 proteini* DNA hasarı olduğunda *TFIIF* proteinine bağlanarak DNA replikasyonunu inhibe eder ve DNA tamirinin gerçekleşmesine fırsat tanır.²¹ Fazla miktarda DNA hasarı olduğunda ise *BAX* geni stimülasyonu ile apoptozisi uyarır. p53 proteini eksikliğinde Li Fraumeni sendromu ortaya çıkmaktadır.²² *ATM* geni ise p53 proteinini fosfatlayarak ve stabilize ederek hücreyi radyasyon hasarından haberdar eder.²³ *ATM* mutasyonunda gözde interpalpebral bulbar konjunktivada telanjiektazi oluşumu, okülomotor anormallikler ve timus hipoplazisi nedeniyle sık pulmoner enfeksiyonlar ile kendini gösteren ve başta meme, akciğer, pankreas ve mide olmak üzere vücutta kanser riskinin üç kat artmış olduğu “ataksi telanjiektazi” hastalığı ortaya çıkar.^{24,25} Hücre içinde DNA tamiri başlıca iki mekanizma ile yapılmaktadır.¹⁰ *Eksizyon tamiri* geniş DNA lezyonlarını tamir edebilen tek sistemdir. Ancak hangi zincirin mutant olduğunu ayırt edemez; bu nedenle sağlıklı zinciri mutant zincire uyduracak şekilde de değiştirebilir. Bu tamir mekanizmasının hasarı “kseroderma pigmentozum” hastalığı ile birliktedir. Mismatch tamiri ise, yüzbinde bir nükleotidde olan tek baz çifti mutasyonlarını tamir eder. Bu mekanizma mutant zinciri ayırt edebilmektedir.²⁶

3. X-Kromozomu İnaktivasyonu (Lyonizasyon)

1961 yılında Mary Lyon tarafından keşfedilmiştir.²⁷ Fertilizasyondan 6-11 gün sonra blastokist evresinden gastrula evresine geçişte meydana gelir ve birden fazla X kromozomu içeren her bir hücrede sadece bir X kromozomu rasgele olarak aktif bırakılarak diğerleri inaktive edilir.²⁷ X kromozomu

üzerindeki “X inaktivasyon merkezi” (XIC) hücredeki X kromozomlarını sayar ve inaktivasyon işlemini başlatır. İnaktif X kromozomunda eksprese edilen tek gen XIC bölgesinde yer alan “X inaktivasyona özel transkript geni”dir (*XIST*). Aktif kalan X kromozomundaki *XIST* ise metillenmiştir ve eksprese edilmez.²⁸ *XIST* ürünleri X kromozomuna bağlanarak inaktif hale getirerek bukkal yaymada “Barr cisimciği”, lökositlerde %5 oranında görülen “drumstick” görünümünü oluşturur.² X inaktivasyonu hücrelerde rasgele gerçekleşir. Aktif kromozom hücresel seviyede baskın olacağı için, X’e bağlı bir hastalık için heterozigot bir dişi de rasgele inaktivasyonla iki klonal hücre popülasyonu (mozaik fenotip) oluşur. Üç renkli yamalı kedilerin (“calico cat”) daima dişi olmasının sebebi beyaz rengin otozomal kromozomlardan, siyah ve sarı renklerin rasgele X-inaktivasyonu ile sadece aktif durumdaki X kromozomundan eksprese edilmesidir. X-inaktivasyonu rasgele gerçekleştiğinden, sağlıklı kadınlarda inaktive edilmiş paternal:maternal X kromozomu oranı 50:50’dir. Bazen çeşitli nedenlerle X inaktivasyonu rasgele olmayan şekilde gerçekleşir (*skewing*); paternal veya maternal X kromozomu daha büyük oranda inaktive olur. “*Skewed*” inaktivasyon X’e bağlı hastalık taşıyan monozigotik ikizlerde görüldüğünde fenotipte belirgin diskordansa neden olabilir. X kromozomu üzerinde bulunan koroideremi ile ilişkili gen dahil pek çok gen inaktivasyondan kaçabilir. Bu durumda heterozigot kadınlarda da hastalık fenotipi görülebilir.²⁹

Mutasyon ve Polimorfizm

Kodlanan proteinin fonksiyonunda biyolojik olarak anlamlı değişikliklerle sonuçlanan genomik değişikliklere **mutasyon** denir.¹² Bu etki gen ürününün üretilmemesi, protein fonksiyonunun yetersiz olması veya işlevi baskılayan dominant negatif etki olabilir.² Kromozomdaki nükleotid dizisindeki **nokta mutasyonlar** sonuçtaki polipeptid ürününde yanlış bir aminoasit bulunması ile sonuçlanan “missense mutasyon”lar veya polipeptid sentezinin etkilenen aminoasitte prematür olarak bitmesi ile sonuçlanan “nonsense mutasyon”lar şeklinde olabilir.¹⁰

Tek nükleotid mutasyonu ile oluşan kodon değişikliği aynı aminoasidi kodlayabilir veya aminoasit dizisinde tolere edilebilir bir değişiklik yaratabilir (“*sessiz mutasyon*”). Kalıtılan zararsız DNA değişiklikleri kişiler arası varyasyonları oluşturur. Yüzde birden daha sık frekansta görülen DNA varyasyonlarına “*polimorfizm*” adı verilir.¹⁰ **Polimorfik DNA dizileri** DNA dizisi içerisinde bir proteinin ekspresyonunda veya içeriğinde değişiklik yaratmayan değişikliklerdir.³⁰ Bunlar genetik belirteçler olarak kullanılabilir.

İnsan genomunda on milyondan fazla **tek nükleotid polimorfizmi** (*single nucleotide polymorphism*; SNP) bulunmaktadır. Bunlar hem genlerde, hem de kodlanmayan bölgelerde olabilir. Herhangi bir multifaktöriyel hastalığı

geliştirip geliştirmememizde, çevresel faktörlere veya ilaçlara verdiğimiz genetik cevaplarda (örn., idiyosenkratik reaksiyon) önemli olabilirler. Bilinen hastalıkların yarısından fazlasının, “missense” veya “nonsense” mutasyonlara neden olan yerdeğiştirme (replacement) polimorfizmleri nedeniyle gerçekleştiği düşünülmektedir.³¹ Ayrıca kardiyovasküler hastalık, diyabetes mellitus, osteoporoz gibi karmaşık hastalıklarla ilişkili olabilirler, ya da bu hastalıkların oluşumuyla ilgili genetik bağlantı kurulmasında araştırmacılara yardımcı olabilirler. Bir kromozom üzerindeki tek nükleotid polimorfizmi kümeleri rekombinasyon olmadığında bloklar halinde kalıtılır (*linkage equilibrium*), rekombinasyona uğradıklarında hastalıkla assosiasyon kurulmasına olanak tanıyabilirler (*linkage disequilibrium*).² Bu nedenlerle insan genomundaki tek nükleotid polimorfizmleri haritalandırılmaya çalışılmaktadır.

Klinik Genetik Biliminde Temel Kavramlar

1. Genetik Danışmada Kullanılan Terimler

Genetik hastalıklar kromozomların, genomun veya genlerin yapısal/işlevsel bozukluklarından kaynaklanan, konjenital olarak görülebilen veya sonradan ortaya çıkabilen, kalıtılan veya de novo olarak gerçekleşen hastalıklardır. **Hereditör (kalıtsal)** özellikler kişinin kendi genomik kompozisyonundan kaynaklanan ve kuşaktan kuşağa aktarılabilecek özellikleri tanımlar. Ailesel özellikler ise ailede birden fazla bireyde bulunan tüm durumları kapsar, çevresel veya genetik olabilir. **Konjenital** durumlar doğumda varolan özelliklerdir, hereditör veya çevresel, ailesel veya sporadik olabilir.¹²

Son yıllarda moleküler genetik yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde pek çok hastalığın erken tanı ve tedavisi mümkün hale gelmektedir.³² Bu nedenle oftalmologların klinik genetik biliminin temel kavramlarını bilmeleri ve gerekli durumlarda genetik danışmanlık yapabilmeleri hastanın kendisi, ailenin diğer bireyleri ve gelecek nesiller için büyük önem taşımaktadır.

Bir çift kromozom üzerinde belli bir lokustaki bir genin alternatif formlarına **allel** denir.² Bir çift allelin her iki üyesi de aynı ise birey o allel için homozigot, farklı ise **heterozigottur**. **Çift heterozigosite** iki ayrı lokus için heterozigot olma durumudur.

Genetik heterojenite belli bir fenotipin farklı genetik durumlar tarafından ortaya çıkması halinde gerçekleşir. Birçok genin mutasyonu birbirinden bağımsız olarak aynı fenotipi üretebiliyorsa **lokus heterojenitesinden**, bir gendeki farklı mutasyonlar farklı klinik durumlara yol açıyorsa **allelilik heterojeniteden** söz edilir. **Klinik heterojenite** ise bir gendeki belli bir mutasyonun farklı fenotiplere neden olabilmesidir. **Değişkenlik** aynı mutant alleli taşıyan kişilerin fenotipleri arasındaki bu kalitatif ve kantitatif farklardır. Bunlar her insanın genetik zeminindeki intrinsik farklar ve genetik olmayan çevresel faktörler nedeniyle fenotipin modifikasyonundan

kaynaklanır. **Penetrans** belli bir genotipin belli bir fenotipe hangi sıklıkta yol açtığını ifade eder. **Ekspressivite** etkilenen kişilerdeki genetik özelliklerin açığa çıkmasının değişik şekil ve düzeylerini ifade eder. **Değişken ekspressivite** belirli bir genotipteki bireylerdeki fenotipik bulguların değişik özelliklerde olabilmesidir. **Eksik penetrans** ve değişken ekspressivite otozomal dominant kalıtımın özellikleridir. **Pleitropizm** bir tek mutant genin eksprese edildiği farklı dokuların veya sistemlerin etkilenmesi sonucu değişik fenotipik anormallikler ortaya çıkmasıdır. **Poligenik/oligogenik fenotip** hiçbiri tek başına belirleyici olmayan birden fazla genetik özellik sonucu ortaya çıkar. Bir fenotipin **multifaktöriyel** olması ise birden fazla genetik ve çevresel etkenin birlikte etkisi sonucu ortaya çıktığı anlamına gelir.

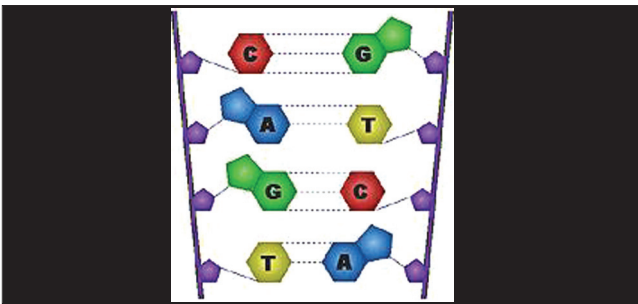
Genetik ve hereditör olduğu bilinen bir hastalık, bazen ailede sadece bir kişide görülür (Ör., retinitis pigmentosa). Bu kişide **simpleks** prezentasyondan söz edilir.² Bu nedenle bir hastalığın sporadik olarak görülmesi, hastalığın genetik geçişli olmadığı anlamına gelmez. Simpleks prezentasyonun sebepleri küçük soyağacı, düşük ekspressivite, yeni (de novo) genetik mutasyon veya eksik alınmış öykü olabilir. Bu nedenler kontrol edildikten sonra bu özellik sporadik kabul edilir. **Proband** hastalığı veya hastalık hakkında şüpheleri nedeniyle doktora gelen/getirilen kişidir; **konsultand** ise genetik danışmanlık isteyen kişidir.¹²

Genetik danışma bir ailede bir genetik hastalığın görülmesiyle veya görülmesi riskiyle ilişkili insan problemleriyle ilgilenen bir iletişim işlemidir.³ Tıbbi tanı koymanın amaçları arasında soyağacı analiziyle kalıtım şeklinin ortaya konması, risk tahmini yapılarak risk altındaki bireylerin saptanması, asemptomatik aile bireylerinde taşıyıcılığın veya hastalığın araştırılması ve ailenin risk algılayışı, hedefleri, etik ve dini değerleri bakımından uygun hareket yolunu seçmesine yardımcı olunmasıdır. **Risk tayini** gelecek nesillerde hastalığın tekrar ortaya çıkma riskini belirlemeye yardımcı olur, hastalığın aile içinde tekrarlamasını önleme olanağı sunar. Risk tahmini ile belirlenen asemptomatik hastalarda tanı konması hastalığın yönetiminde çok yararlı olabilir (örn., primer açık açılı glokom).

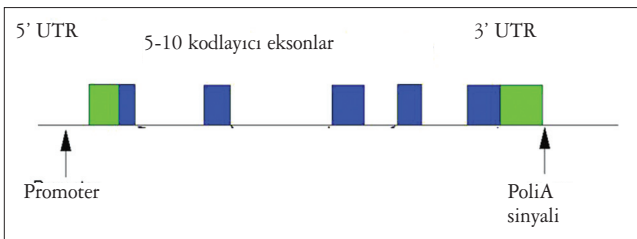
Genetik hastalıkları uzmanlarının değerlendirmesi öykü almak, fizik muayene yapmak ve soyağacını çizmek üzerine kuruludur. Göz doktorunun oftalmolojik sorunu mümkün olduğunca etraflı tarif etmesi ve kesin bir şekilde tanımlaması genetik doktoru için son derece önemlidir. Bundan sonra aile öyküsü -aşağıda verilen örnekleri de içerecek şekilde- her türlü olası durumu kapsayacak şekilde derinleştirilmeli, multisistemik veya sendromik hastalıkları kapsayacak şekilde ayrıntılı öykü alınmalı ve fizik muayene yapılmalıdır. İncelenen konjenital anomali birden fazla sistemi ilgilendiriyorsa ve belli bir tek gen hastalığı ile doğrudan ilişki kurulamıyorsa karyotip analizi yapılır. Anomaliler belli bir tek gen hastalığı ile uyumlu ise veya izole bir anomali için

sorumlu olabilecek bir gen tahmin edilebiliyorsa mutasyon analizi yapılır; gen bilinmiyorsa veya şüphelenilen gende mutasyon analizi negatif sonuç verdiyse, mikrodizin analizi gibi genomik tarama yöntemleri ile veya bağlantı (linkage) analizi ile aday gen araştırması yapılabilir.¹⁰

Oftalmolojik muayenede aile öyküsü alınırken üzerinde durulması gereken özel noktalar vardır. İncelenen hastalığa uygun olacak şekilde, ailede kör olan veya gözünü kaybeden, gözleri titreyen, zayıf görme nedeniyle sürücü ehliyeti alamayan, gece yıldızları görmede zorlanan veya karanlık sinemada koltuğunu bulmakta zorlanan, genç yaşta glokom veya kataraktı olan, kalın gözlük takan kimse olup olmadığı sorulmalıdır. Akriba evliliği olup olmadığı, olmadığı belirtiliyorsa annenin ve babanın aynı köyden olup olmadığı sorulmalıdır. Ailede herhangi bir kimsede erken yaşta kanser gelişimi öyküsü retinoblastoma hastalığını; mental retardasyon hikayesi homosistinüri veya kromozom hastalıklarını; erken yaşta ölüm, ortopedik sorunlar, kalp ve akciğer hastalıkları, kolay yaralanma veya organ perforasyonu öyküsü Marfan sendromu veya Ehler Danlos sendromu gibi bağ dokusu hastalıklarını; erken artrit, sağırılık, yarık damak varlığı Stickler sendromunu; doğumda fazla el veya ayak parmağı olması Bardet Biedl sendromunu düşündürebilir. Ailede herkesten çok daha fazla uzun boylu kimse olması homosistinüri, Marfan sendromu; kısa boylu kimse olması ise Weil Marchesani gibi hastalıkları, herkesten daha açık renkli kişi olması ise homosistinüri veya albinizm hastalığını düşündürmelidir. Ailede tekrarlayan düşük öyküsü olması kromozom anomalileri için bir gösterge olabilir. Fetusun cinsiyeti, anomalileri olup olmadığı ve düşük nedeninin bilinip bilinmediği sorulmalıdır.



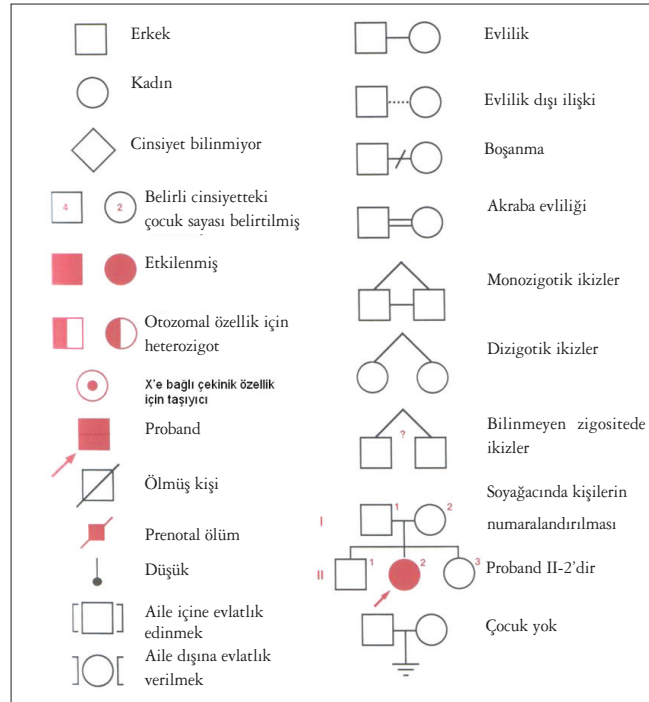
Şekil 1. Watson-Crick modeline göre insan DNA yapısı



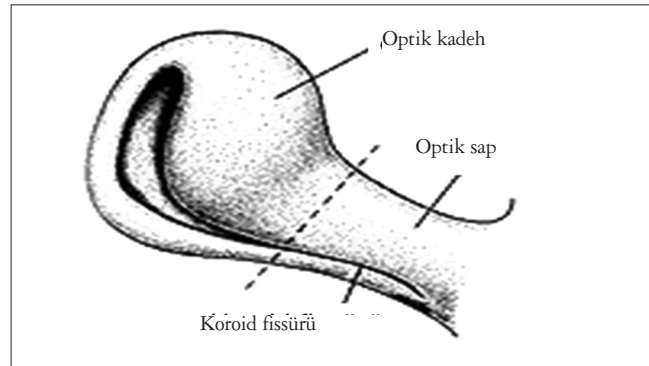
Şekil 2. İnsan genomunda gen yapısı

Soyağacı çizimi kalıtım şeklinin belirlenmesi ve risk altındaki bireylerin belirlenmesi için yapılır. Soyağacı çiziminde kullanılan özel semboller Şekil 3'te gösterilmiştir. Kalıtım şekilleri Mendel tipi veya Mendel dışı tipler olarak iki grupta incelenmektedir.

Mutant allel için heterozigot olmak hastalığın ortaya çıkması için yeterli olduğunda dominant özelliklerden söz edilir. Mutant allelin tek başına kalıtılması hastalığın ortaya çıkması için yeterli olduğundan **otozomal dominant kalıtım** her iki cinsiyetten bireylerin etkilendiği dikey kalıtım şeması oluşturur: her nesilde etkilenmiş en az bir kişi vardır ve her hastanın etkilenmiş bir ebeveyni vardır. Etkilenmiş bir ebeveynin her bir çocuğunun genetik özelliği kalıtma riski %50'dir. Penetrans eksikliği durumu dışında fenotip olarak normal ebeveynler fenotipi çocuklarına kalıtmazlar. Erkek ve



Şekil 3. Soyağacı çiziminde kullanılan özel semboller



Şekil 4. Embryoda oküler gelişimde optik kadeh ve koroid fissürü

dışilerin fenotipi çocuklarına kalıtma olasılığı her iki cinsiyetten çocuklar için eşittir.^{12,34}

Otozomal resesif kalıtımda ise mutant allel için heterozigot olmak hastalığın ortaya çıkması için yeterli değildir, hastalığın ortaya çıkması için bireyin mutant allel için homozigot olması gereklidir. Tipik olarak probandin her iki cinsiyetten kardeşlerinde fenotip görülür. Kardeşlerinde görülüp ebeveyn ve çocuklarında fenotip görülmediği için bu duruma yatay kalıtım denir. Probandın her bir kardeşi için hastalık riski %25'tir. Otozomal kalıtım nedeniyle kadın ve erkeklerin etkilenme riski eşittir. Hastalığın toplumdaki taşıyıcılığı yüksek olabilir, değilse ebeveynin akraba olması olasılığı yüksektir.¹²

X'e bağlı dominant kalıtımda etkilenmiş erkek bireyler tüm kız çocuklarına genetik özelliği geçirirken erkek çocuklarına geçirmezler. Etkilenmiş kadınlar ise genetik özelliği %50 oranında her iki cinsiyetten çocuklarına aktarırlar. Tüm X kromozomlarının üçte ikisi kadınlarda olduğu için, hastalık erkekler için letal değil ise, kadın ve erkeklerde görülme oranı 2:1'dir. Kadınlarda fenotip rastgele X-inaktivasyonu nedeniyle genellikle daha hafiftir.¹²

X'e bağlı resesif kalıtım özelliği gösteren hastalıklar ise erkeklerde, kadınlardan daha sık görülür. Genetik özellik hasta erkeklerden tüm kız çocuklarına taşıyıcılık şeklinde geçer. Bu kızların hastalığı erkek çocuklarına aktarma riski %50'dir, kız çocuklarının yarısı ise taşıyıcı olacaktır. Heterozigot kadınlar genelde hastalıktan etkilenmemiştir, fakat rastgele X-inaktivasyonu mekanizması nedeniyle değişken şiddette ekspresyon olabilir.¹²

Mitokondriyal kalıtım tamamen maternal bir kalıtım şeklidir. Etkilenmiş kadınların tüm çocuklarında genetik özellik görülür. Fakat sadece kız çocuklar genetik özelliği kendi çocuklarına taşıyacaktır; erkeklerden kendi çocuklarına kalıtım mümkün değildir.¹² Bundan ayrı olarak, mitokondrinin yapısal ve işlevsel proteinlerinin çok büyük bir kısmı nükleer genomdan kodlandığı için mitokondri işlevindeki bozulmadan köken alan birçok hastalık otozomal resesif kalıtım özelliği gösterebilir.

2. Oküler Gelişimde Genetik Düzenleme

Klasik germ tabakası teorisine göre kornea epiteli, retina ve uvea dokuları ektodermden, diğer oküler yapılar ise mezodermden oluşur.²⁰ Gestasyonun yirmi ikinci gününde ön beyin her iki tarafında oluşan optik oluklar büyür ve optik kesecikleri oluşturur. Bu kesecikler gelişir ve yüzey ektodermi ile temasa geçerler. Burada kristalin lens oluşumunu uyarırlar. Optik kesecik daha sonra invajine olur ve çift duvarlı optik kadeh oluşur. Bu duvarlar daha sonra birleşir. İnvajinasyonun inferior yüzeyi *koroid fissürü* oluşturur. Bu fissürden hyaloid arter girer. Yedinci haftada fissür birleşir (Şekil 4).

Yüzey ektoderminde, optik kesecikle temas halindeyken hücreler uzar ve lens plakodu oluşur. Bu plakodun invajine olmasıyla lens keseciği oluşur. Beşinci haftada lens keseciği yüzey ektodermine temasını kaybeder ve tekrar optik kadeh ağzına gelir. Lens keseciğinin arka duvarındaki hücreler

anteriora doğru uzar ve lumeni dolduran uzun lifler oluşturur. Yedinci hafta sonunda primer lens lifleri, keseciğin anterior duvarına ulaşır. *Sekonder lens lifleri* ise merkeze doğru sürekli olarak eklenmeye devam eder.

Göz gelişimine katkısı olan üç tip eleman vardır: nöral krest hücreleri, büyüme faktörleri ve *homeobox* genleri.²⁰ Diensefalondan göç eden **nöral krest hücreleri** bir frontonazal kitle oluştururlar; anterior ortabeyinden göç edenler ise optik keseciklerin etrafına yerleşirler. **Büyüme faktörleri** embriyonik gelişim sırasında sinerjistik etkileşim gösterirler. *Fibroblast büyüme faktörü* (FGF) posterior mezoderm ve kaudal bölge dokularının gelişimi, nöroektodermal hücrelerin optik kadeh iç çeperine dizilmesi ve lens epitel hücrelerinin lens liflerine farklılaşması ile ilişkilidir. Tümör büyüme faktörü-beta (TGF- β), baş bölgesinin gelişimi, ekstraselüler matriks sentezi ve degradasyonu ve kranial nöral krest hücrelerinin migrasyon ve gelişim paternlerine katkıda bulunur. *İnsulin benzeri büyüme faktörü-I* (IGF-I) ise ekvator önündeki lens epitel hücre farklılaşması ve mitotik aktivitesinde rol oynar.³⁵

Oftalmik gelişimde önemli olan iki **homeobox** gen ailesi, *PAX* ve *HOX* gen aileleridir. *PAX* ("paired box") genleri, dokuya özel transkripsiyon faktörleri ailesidir. Bu genlerden *PAX6*, gözde dokuya özgü genlerin ekspresyonundan sorumludur.²⁰ Lensin gelişeceği bölgede eksprese edilir. Retina progenitör hücrelerinin diferansiyasyonu ve lens epitel hücrelerinde zeta kristalin geninin ekspresyonundan sorumludur. *PAX6* geni oküler gelişimde farklı zamanlarda ve farklı dozlarda hem epitelyal, hem de mezankimal hücreleri etkiler. Uygun morfogenez için gerekli olacak şekilde farklı kökenli dokuların etkileşimini senkronize eden bir transkripsiyon faktörü olarak çalışır. İki tane DNA bağlayıcı birimi ve bir tane transaktivasyon birimi vardır. Downstream genlerin rasgele aktivasyonu değişken ekspresivitede bir fenotipik anomali yelpazesine neden olur. *PAX6* mutasyonunda aniridi ve Peters' anomalisi oluşabilir.^{36,37} *PAX2* geninin mutasyonu ise optik sinir kolobomu oluşması ile ilişkilidir. *HOX* gen ailesi ise dokuların doğru sırayla ve doğru zamanda farklılaşmasından sorumludur, kornea epitelinin oluşacağı bölgede, retinanın farklılaşacağı yerde ve siliyer cisimde eksprese edilen *homeobox* genleri bilinmektedir.³⁸

Kaynaklar

1. Elgar G, Vavouri T. Tuning in to the signals: noncoding sequence conservation in vertebrate genomes. Trends Genet. 2008;24:2344-52.
2. Chalam KV, Ambati BK, Beaver HA, et al. Part III. Introduction. In: Skuta GL, Cantor LB, Weiss JS, eds. American Academy of Ophthalmology Basic and Clinical Science Course Section 2, Fundamentals and Principles of Ophthalmology. San Francisco, CA, American Academy of Ophthalmology. 2010:147-63.
3. Dame RT. The role of nucleotid-associated proteins in the organization and compaction of bacterial chromatin. Mol Microbiol. 2005;56:585-70.
4. Pluta AF, Mackay AM, Ainsztein ANM, Goldberg IG, Earnshaw WC. The centromere: hub of chromosomal activities. Science. 1995;270:1591-4.
5. Grunstein M. Histones as regulators of genes. Sci Am. 1992;267:68-74B.
6. Rosenthal N. DNA and the genetic code. N Engl J Med. 1994;331:39-41.
7. Watson JD, Crick FH. Genetical implications of the structure of deoxyribonucleic acid. Nature. 1953;171:964-7.

8. Rosenthal N. Regulation of gene expression. *N Engl J Med.* 1994;331:931-3.
9. Ohno S. So much "junk" DNA in our genome. *Brookhaven Symp Biol.* 1972;23:366-70.
10. Chalam KV, Ambati BK, Beaver HA, et al. Part III. Chapter 5. Molecular Genetics. In: Skuta GL, Cantor LB, Weiss JS, eds. *American Academy of Ophthalmology Basic and Clinical Science Course Section 2, Fundamentals and Principles of Ophthalmology.* San Francisco, CA, American Academy of Ophthalmology. 2010:165-89.
11. Greider CW, Blackburn EH. Telomeres, telomerase and cancer. *Sci Am.* 1996;274:92-7.
12. Chalam KV, Ambati BK, Beaver HA, et al. Part III. Chapter 6. Clinical Genetics. In: Skuta GL, Cantor LB, Weiss JS, eds. *Basic and Clinical Science Course Section 2, Fundamentals and Principles of Ophthalmology.* San Francisco, CA, American Academy of Ophthalmology. 2010:191-232.
13. Mott ML, Berger JM. DNA replication initiation: mechanisms and regulation in bacteria. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5:343-54.
14. McCulloch SD, Kunkel TA. The fidelity of DNA synthesis by eukaryotic replicative and translesion synthesis polymerases. *Cell Res.* 2008;18:148-61.
15. Wiggs JL. Principles of molecular genetics. In: Wiggs JL, ed. *Molecular genetics of ocular disease (1st ed).* New York: Wiley-Liss, Inc.; 1995:1-30.
16. Smale T, Kadonaga T. The RNA polymerase II core promoter. *Annu Rev Biochem.* 2003;72:449-79.
17. Lee TI, Young RA. Transcription of eukaryotic protein-coding genes. *Annu Rev Genet.* 2000;34:77-137.
18. Villa T, Ceradini F, Presutti C, Bozzoni I. Processing of the intron-encoded U18 small nucleolar RNA in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* relies on both exo- and endonucleolytic activities. *Mol Cell Biol.* 1998;18:3376-83.
19. Pauling L, Corey RB, Branson HR. The structure of proteins; two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1951;37:205-11.
20. Chalam KV, Ambati BK, Beaver HA, et al. Part III. Chapter 4. Ocular Development. In: Skuta GL, Cantor LB, Weiss JS, eds. *American Academy of Ophthalmology Basic and Clinical Science Course Section 2, Fundamentals and Principles of Ophthalmology.* San Francisco, CA, American Academy of Ophthalmology. 2010:111-44.
21. Levine AJ. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell.* 1997;88:323-31.
22. Lane DP. Cancer. p53, guardian of the genome. *Nature.* 1992;262:15-6.
23. Canman CE, Lim DS, Cimprich KA, et al. Activation of the ATM kinase by ionizing radiation and phosphorylation of p53. *Science.* 1998;281:1677-9.
24. Boder E, Sedgwick RP. Ataxia-telangiectasia; a familial syndrome of progressive cerebellar ataxia, oculocutaneous telangiectasia and frequent pulmonary infection. *Pediatrics.* 1958;21:526-54.
25. Canman CE, Lim DS. The role of ATM in DNA damage responses and cancer. *Oncogene.* 1998;17:3301-8.
26. Fuss JO, Cooper PK. DNA repair: Dynamic defenders against cancer and aging. *PLoS Biol.* 2006;4:e203.
27. Lyon MF. The William Allan Memorial Award Address: X-chromosome inactivation and the location and expression of X-linked genes. *Am J Hum Genet.* 1988;42:8-16.
28. Hoki Y, Kimura N, Kanbayashi M, et al. A proximal conserved repeat in the Xist gene is essential as a genomic element for X-inactivation in Mouse. *Development.* 2009;136:139-46.
29. Belmont JW. Genetic control of X inactivation and processes leading to X-inactivation skewing. *Am J Hum Genet.* 1996;58:1101-8.
30. Housman D. Human DNA polymorphism. *N Engl J Med.* 1995;332:318-20.
31. Stenson PD, Mort M, Ball EV, et al. The Human Gene Mutation Database: 2008 update. *Genome Med.* 2009;1:13.
32. Şener EC, Çalışkan S. Oftalmoloji ve moleküler genetik. *MN-Oftalmoloji Dergisi.* 1998;5:103-6.
33. No authors. Genetic Counseling. *Am J Hum Genet.* 1975;27:240-2.
34. Schmickel RD. The genetic basis of ophthalmological disease. *Surv Ophthalmol.* 1980;25:37-46.
35. Tripathi BJ, Tripathi RC, Livingston AM, Borisuth NS. The role of growth factors in the embryogenesis and differentiation of the eye. *Am J Anat.* 1991;192:442-71.
36. Glaser T, Walton DS, Cai J, Epstein JA, Jepeal L, Maas RL. PAX6 mutations in aniridia. In: Wiggs JL, ed. *Molecular genetics of ocular disease (1st ed).* New York: Wiley-Liss, Inc.;1995:51-82.
37. Hanson IM, Fletcher JM, Jordan T, et al. Mutations in the PAX6 locus are found in heterogeneous anterior segment malformations including Peters' anomaly. *Nat Genet.* 1994;6:168-73.
38. Matsuo T. The genes involved in the morphogenesis of the eye. *Jpn J Ophthalmol.* 1993;37:215-51.