

**PRİMER AÇIK-AÇILI GLOKOMDA MYOSİLİN.MT1 PROMOTOR
VARYANTININ TÜRK POPULASYONUNDA SAPTANMASI VE
HASTALIĞIN SEYRİ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF THE ASSOCIATION OF THE MYOC.MT1
PROMOTER VARIANT WITH THE DEVELOPMENT AND
PROGRESSION OF POAG IN TURKISH POPULATION**

SERKAN ORCAN

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

2006

Primer Açık-Açılı Glokomda Myosilin-Mt1 Promotor Varyantının Türk Populasyonunda Saptanması ve Hastalığın Seyri ile İlişkisinin Araştırılması

Serkan Orcan

ÖZ

Glokom, çağımızda, körlüğe neden olan hastalıklar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Primer Açık Açılı Glokom (POAG), glokomun en sık rastlanan tipi olarak öne çıkmaktadır ve oldukça sinsi ilerleyen bu hastalık tedavi edilmediği takdirde kalıcı görme kaybı ve körlüğe neden olmaktadır. Son yıllardaki çalışmalarla hastalığın oluşumunda rol oynayan genetik faktörler hakkındaki bilgiler arttıkça, bu hastalığın oldukça karmaşık ve bir çok genetik-çevresel faktörün etkileşimi ile ortaya çıktığı düşünülmeye başlamıştır.

Bu tez çalışmasında hastalığın ortaya çıkması ve seyrini etkilediği düşünülen ancak ulaşılan çelişkili veriler sonucunda henüz etkisi hakkında bir fikir birliğine varılamamış olan MYOC.mt1 promotor varyantının, Türk populasyonundaki POAG hastası ve sağlıklı bireylerde incelenerek bu konuda süren tartışmaya katkıda bulunmak ve bu varyantın populasyondaki sıklığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya, aralarında akrabalık bağı bulunmayan 88 POAG hastası birey ve 123 sağlıklı birey kontrol olarak dahil edilerek periferik kan örnekleri toplanmıştır.

Çalışmada genotip saptanması için, Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP) yöntemi uygulanmış, bu çerçevede PCR tekniği ile çoğaltılan ilgili DNA bölgesi, uygun bir restriksiyon enzimi (AlwNI) ile kesilerek oluşan kesim ürünleri agaroz jel elektroforezi ile incelenmiştir.

Elde edilen bulgulara göre, Türk populasyonunda MYOC.mt1 varyantının POAG ile doğrudan herhangi bir ilişkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar sözcükler: MYOC, TIGR, mt1, POAG, Glokom

Danışman: Prof.Dr. Ay ÖĞÜŞ, Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı

Investigation Of The Association Of The MYOC.Mt1 Promoter Variant With The Development And Progression Of POAG In Turkish Population

Serkan Orcan

ABSTRACT

Glaucoma is one of the leading causes of irreversible vision loss and blindness in the modern world. POAG is the most common type of glaucoma, and due to its virtually asymptomatic development and progression, POAG leads to irreversible vision loss and even blindness if untreated. As our understanding of the genetic factors behind the disease increase rapidly, it is suggested that POAG is a complex disease with many genetic and environmental factors associated with each other.

In this research, our aim was to contribute to the debate about the MYOC.mt1 variant and its association with POAG development and progression, since there is conflicting data present in current literature.

For this purpose, 88 POAG patients and 123 healthy subjects with no relationship were included as control group in this study.

For genotyping, we used the PCR-RFLP method, which included the amplification of the interested DNA region and cleavage with a restriction enzyme (AlwNI). We applied agarose gel electrophoresis and staining to visualize the results of the reaction.

Our data obtained in this study suggests no direct association of MYOC.Mt1 promoter variant with POAG progression and development in Turkish population.

Keywords: MYOC, TIGR, mt1, POAG, Glaucoma

Advisor: Prof.Dr. Ay ÖĞÜŞ, Hacettepe University, Department of Biology, Molecular Biology Section.

Bu tez çalışması, Hacettepe Üniversitesi güdümlü proje No: 026046 tarafından desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bilim uzmanlığı eğitimim boyunca karşılaştığım tüm güçlükleri aşmamda yardımlarını esirgemeyerek, gerek teorik, gerekse pratik olarak deneyimlerini paylaşan ve bu tez çalışmasının gerçekleşmesi için her türlü desteği veren danışman hocam Sayın. Prof. Dr. Ay Ögüş'e;

Çalışmanın gerçekleşmesi için gereken hastaların sağlanmasında ve klinik değerlendirmelerde yardımlarını esirgemeyen Sayın. Dr. Banu Bozkurt ve Sayın. Prof. Dr. Murat İrkeç'e;

İstatistik değerlendirmelerde yardımcı olan Sayın Dr. Umut Arslan'a;

Laboratuvar çalışmalarında ve deneylerde yardımcı olan Sayın Dr. Rıza Köksal Özgül ve Sayın Dr. Şefayet Bagiyeva'ya;

Bu tez çalışmasında yardımını hiç bir zaman esirgemeyen, her türlü konuda deneyimlerinden yararlandığım Hocalarım, Sayın Prof. Dr. Cihan Öner ve Sayın Prof. Dr. Erol Aksöz'e;

Ayrıca diğer konularda ve özellikle laboratuvarında yardımlarını esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma;

Son olarak, ismini yazamadığım ve bu çalışmanın gerçekleşmesinde yardımı dokunan herkese;

İçten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİ	3
2.1. Glokom	3
2.1.1. Primer Akut Kapalı Açılı Glokom	4
2.1.2. Primer Konjenital Glokom.....	6
2.1.3. Primer Açık Açılı Glokom	6
2.1.4. POAG Kalıtımı.....	8
3. MATERYAL METOD	17
3.1. Kan Örneklerinin Toplanması	17
3.2. Kandan Genomik DNA İzolasyonu	17
3.3. İzole Edilmiş Olan Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektforezi İle Kontrolü	18
3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	19
3.4.1. PCR'da kullanılan primerler.....	19
3.4.2. PCR karışımı	20
3.4.3. PCR programı	20
3.5. RFLP (Restriksiyon Parça Boyu Polimorfizmi) Analizi	21
3.6. İstatistiksel Analiz	21
4. BULGULAR	22
4.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektforezi ile Kontrol Edilmesi	22
4.2. PCR Ürünlerinin ALWNI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi	23
4.3. Elde Edilen Sonuçların İstatistiksel Analizi.....	25
5. TARTIŞMA	28
KAYNAKÇA	33

EKLER

Ek.1: MYOC Geninin Gen Kartı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Gözün yapısı (http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/goz/saglikprof/dersler/anatomi.htm). ...	4
Şekil 2.2 Normal görme ve glokomatöz görme kaybı (http://www.glaucoma.org.au/whatis.htm).	4
Şekil 2.3 Akut kapalı açılı glokomun oluşumu (BMJ 2004;328;97-99).....	5
Şekil 2.4 Kapalı açılı glokomlu göz (BMJ 2004;328;97-99).	5
Şekil 2.5 Aköz Humör dolaşımı ve olası engellenme noktaları (BMJ 2004;328;97-99).	7
Şekil 2.6 Glokomda optik diskte meydana gelen değişimler (BMJ 2004;328;97-99).	8
Şekil 2.7 İnsan myosilin proteininin şematik çizimi (Tamm, 2002).....	11
Şekil 2.8 MYOC geninin şeması, polimorfizmler, mutasyonlar ve MYOC.mt1 varyantının yerleşimi (Cohen, 2004).	11
Şekil 4.1 PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.	23
Şekil 4.2 PCR ürününün AlwNI enzimi ile kesimi.....	24
Şekil 4.3 Kesim ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.....	24

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 POAG'den sorumlu lokuslar ve tanımlanan genler.....	9
Çizelge 4.1 Çalışmaya dahil edilen hasta bireylerin ve kontrol grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyetlerine göre dağılımı.....	22
Çizelge 4.2 Mt1 varyantı oranları.....	25
Çizelge 4.3 Hastaların tanı ve çalışmaya dahil edildikleri anki yaş ortalamaları ve mt1 ilişkisi.....	26
Çizelge 4.4 Mt1 varyantı taşıyan ve taşımayan hastalarda cinsiyete göre IOP değerleri.....	26
Çizelge 4.5 Mt1 varyantı- C/D oranı ilişkisi.....	26
Çizelge 4.6 Mt1 varyantı ve aile öyküsü, kullanılan ilaç sayısı ve trabekülotomi arasındaki ilişki.....	27
Çizelge 4.7 MYOC.mt1 Genotiplerinin hastalığın değişik aşamalarındaki dağılımı.....	27

SİMGELER ve KISALTMALAR

ANOVA:	Varyans analizi
APOE :	Apolipoprotein E
bç :	Baz çifti
C/D :	Kap/Disk oranı
DNA :	Deoksiribonükleik asit
dNTP :	Deoksinükleotittrifosfat
EDTA :	Etilen diamin tetra asetik asit
ER :	Endoplazmik retikulum
GRE :	“Glucocorticoid Response Element”
HUGO :	İnsan genom organizasyonu
IOP :	Göz içi basınç
kb :	Kilo baz
kDa :	Kilo dalton
nt :	Nükleotit
NTG :	Normal Tansiyonlu Glokom
PCR :	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
pI :	İzoelektrik nokta
RFLP :	Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi
SDS :	Sodyum dodesil sülfat
SNP :	Tek Nükleotit Polimorfizmi
TBE :	Tris-Borik asit-EDTA
TE :	Tris-EDTA
TIGR :	“Trabecular meshwork Inducible Glucocorticoid Response Protein”
TM :	Trabeküler ağ

1. GİRİŞ

Günümüzde, özellikle İnsan Genom projesinin sonuçlanmasından sonra, moleküler genetik alanındaki hızlı gelişme sayesinde birçok hastalığın nedenlerinin ortaya çıkarılmasında ve tedavisinde önemli gelişmeler yaşanmaktadır. Birçok hastalığın genetik temelleri yavaş yavaş ortaya çıkarılmaktadır. Özellikle, erken tanının tedavideki büyük önemi göz önünde bulunduğunda, bir hastalığın oluşumunun çok erken dönemlerinde, henüz hiçbir belirti olmadan saptanmasının ya da alınacak önlemlerle insanların hastalığa yakalanmadan tedavisini mümkün kılabilecek moleküler tanı yöntemlerinin geliştiriliyor olması heyecan vericidir.

Diğer hastalıklarda olduğu gibi, göz hastalıklarında da artık çağdaş yaklaşım hastalık ortaya çıkmadan tanı koymak ve kişiye özgün doğru tedaviyle bireyin hastalıktan en az düzeyde etkilenmesini sağlamaktır. Bu çerçevede göz hastalıklarının genetik temelleri tüm dünyadaki yoğun moleküler genetik çalışmalarla araştırılmaktadır.

Glokom, Dünyada görme kaybı ve körlüğe neden olan hastalıkların başında gelmektedir. Glokomun birçok farklı çevresel ve genetik faktörün etkileşimiyle ortaya çıkan bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Glokomun farklı tipleri vardır ancak en sık rastlanılan tipi, Primer Açık Açılı Glokom'dur (POAG). Hastalık sinsi bir şekilde belirti göstermeden ortaya çıkar ve ilerler, bu nedenle hastalığa genetik olarak yatkın bireylerin belirlenmesi erken tanı ve tedavi açısından çok önemlidir. Son yıllarda yapılan moleküler genetik çalışmalar glokomdan sorumlu olabilecek genlerin saptanmasına yönelmiş ve hastalığın oluşumunda pay sahibi olan genetik mutasyonlardan bir kısmı saptanmıştır.

Bu güne kadar yapılan çalışmalar sonucunda POAG'nin oluşmasında rolü olan 7 lokus saptanmıştır. Bu lokuslar GLC1A, GLC1B, GLC1C, GLC1D, GLC1E, GLC1F ve GLC1G olarak adlandırılmıştır. Yakın zamanda GLC1A lokusunda MYOC geni, GLC1E lokusunda OPTN geni ve son olarak GLC1G lokusunda WDR36 geni (bağışıklık sisteminde T-hücrelerinin aktivasyonunda rol almaktadır) tanımlanmıştır (Stoilova et al., 1996; Stone et al., 1997; Wirtz et al., 1997; Sarfarazi et al., 1998;

Trifan et al., 1998; Wirtz et al., 1999; Samples et al., 2004; Baird et al., 2005; Monemi et al., 2005).

MYOC geni, 1.kromozomda, 1q24.3 bölgesinde yer alır ve bu gendeki mutasyonların glokoma neden olabildiği gösterilmiştir (Stone et al., 1997). Son yıllarda yapılan bir çalışmada ise genin promotor bölgesinde, -1000 pozisyonundaki tek nükleotit polimorfizmi (SNP) bulunmuş ve MYOC.mt1 olarak adlandırılmıştır. MYOC.mt1 varyantının, hastalığın fenotipi ve seyrinde rolünün olduğu, tedavide alınan sonuçları etkileyebildiği öne sürülmüştür. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılmış ve bu konuda henüz bir fikir birliğine varılamamıştır (Colomb et al., 2001; Alward et al., 2002; Copin et al., 2002; Polansky et al., 2003; Fan et al., 2004).

MYOC.mt1 varyantının varlığının hastalığın seyrini ve tedaviye cevabı etkilediğinin öne sürülmesiyle bazı hastalarda neden tedaviye cevap alınamadığının aydınlatılması konusunda bir umut ışığı ortaya çıkmıştır, hatta bu varyant için ticari bir test piyasaya sürülmüştür. Ancak daha sonra yapılan çalışmalarda çelişkili sonuçlara ulaşılması nedeniyle bu konu henüz açıklık kazanmamıştır.

Bu tez çalışmasında, Türk populasyonunda Mt1 varyantının sıklığı ve hastalığın fenotipiyle ve seyriyle ilişkisi araştırılmıştır. Genotip saptanması için PCR-RFLP yöntemi kullanılmış, bu yöntem çerçevesinde, hasta ve sağlıklı bireylerden alınan kan örneklerinden izole edilen DNA önce PCR yöntemi ile çoğaltılmış, sonra da uygun bir restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesilerek oluşan fragmentler agaroz jel üzerinde görüntülenerek genotipleme yapılmıştır. Çalışma, bu konuda Türk hastalarla yapılan ilk çalışma özelliğinde olup literatürdeki POAG ve MYOC.mt1 varyantının ilişkisi üzerine var olan tartışmaya katkı sağlamak amacıyla yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİ

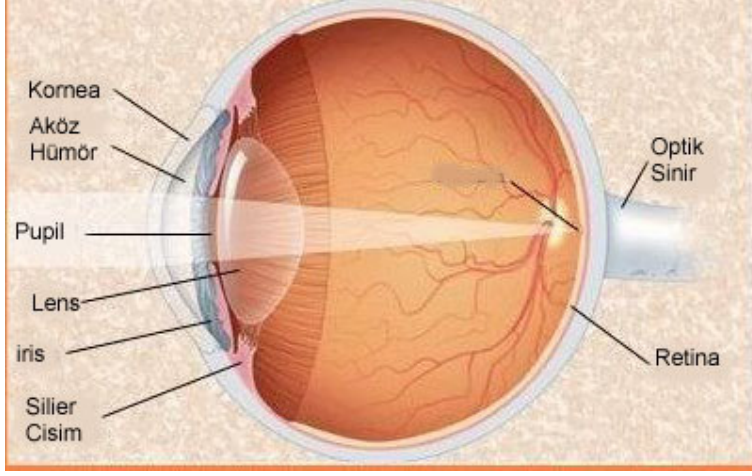
2.1. Glokom

Glokom, karmaşık genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak gelişen, ve optik nöropatiden oluşan heterojen bir hastalık grubunun genel adıdır. Özellikle orta yaşın üstündeki bireylerde gelişen bu hastalıkta başlangıçta çoğu zaman hasta tarafından fark edilebilen hiç bir belirtinin görülmemesi nedeniyle oldukça sinsi bir şekilde ilerleyen hastalık, giderek artan bir görme kaybına neden olmakta ve doğru tedavi uygulanmazsa körlükle sonuçlanabilmektedir. 2010 yılında dünya çapında yaklaşık olarak 60.5 milyon glokom hastası olacağı tahmin edilmektedir. (Quigley and Broman, 2006).

Glokomda, görme kaybına optik sinirin geri dönüşümsüz bir şekilde zarar görmesi neden olmaktadır. Bunun dışında optik sinir başının anormal görüntüsü, görme alanındaki karakteristik kayıp ve optik sinirdeki hasarın ağrısız ve kronik olarak ilerlemesi hastalığın karakteristik özellikleridir (Quigley, 1993).

Glokom, anatomik olarak ve ortaya çıktığı yaşa göre sınıflandırılır. Genel olarak 3 büyük grupta sınıflandırma yapılmaktadır.

- 1- Primer Akut Kapalı Açılı Glokom
- 2- Primer Konjenital Glokom
- 3- Primer Açık Açılı Glokom



Şekil 2.1 Gözün yapısı (<http://www.gata.edu.tr/cerrahibilimler/goz/saglikprof/dersler/anatomi.htm>).



Normal göz



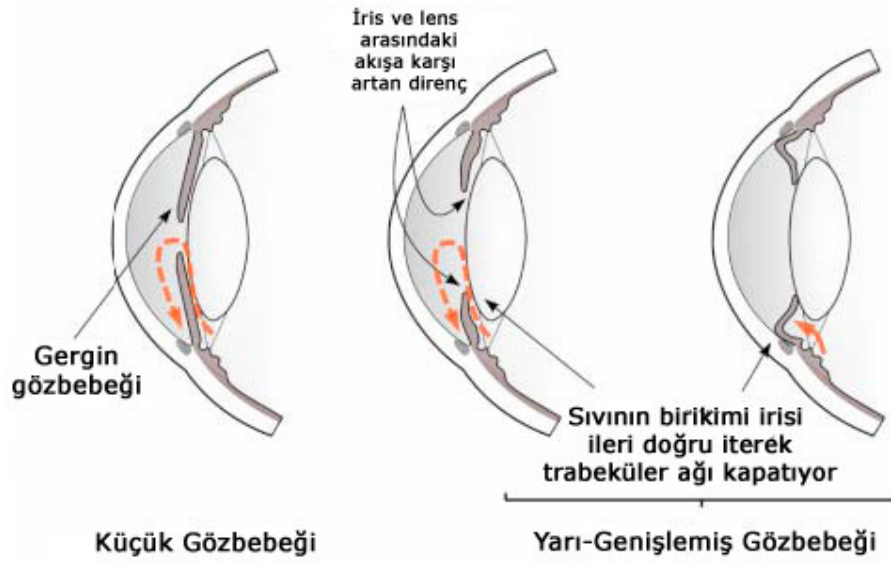
Glokomlu göz

Şekil 2.2 Normal görme ve glokomatöz görme kaybı (<http://www.glaucoma.org.au/whatis.htm>).

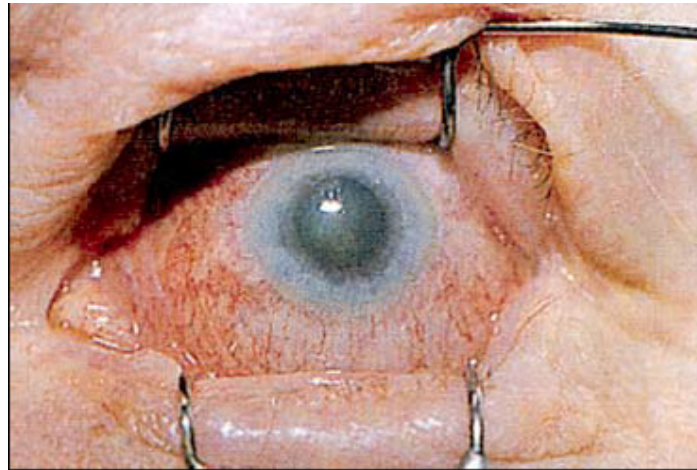
2.1.1. Primer Akut Kapalı Açılı Glokom

Lensin apozisyonu nedeniyle kornea ve iris arasındaki açının kapanması sonucu gözdeki sıvı dolaşımının engellenerek göz içi basıncın artmasıyla ortaya çıkan bir durumdur. Göz içi basıncın artmasıyla optik sinirin hasar görmesi sonucu tedavi edilmezse ciddi görme kaybına ve körlüğe neden olabilir. Göz içi basıncın anında müdahale ile hızla düşürülmesi gerekir, yoksa bir kaç saat içinde bile kalıcı görme

kaybına yol açabilir. Çoğu zaman ataklar karanlıkta veya stresli durumlarda meydana gelir. Bunun nedeni bu gibi durumlarda göz bebeğinin büyüyerek açının tamamen kapanmasına yol açmasıdır.



Şekil 2.3 Akut kapalı açılı glokomun oluşumu (BMJ 2004;328;97-99).



Şekil 2.4 Kapalı açılı glokomlu göz (BMJ 2004;328;97-99).

2.1.2. Primer Konjenital Glokom

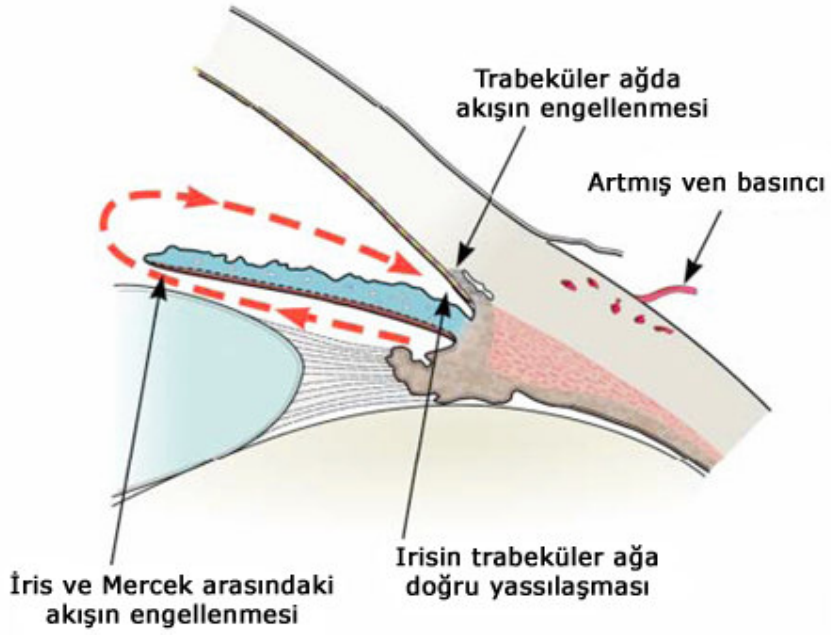
Ender görülen bir genetik bozukluktur ve genellikle doğumda ya da doğumu izleyen 1. yıl içerisinde ortaya çıkar. Ancak bazı durumlarda 3. yıla kadar ortaya çıktığı görülmüştür (Dickens and Hosskins, 1996). Uygun tedavi uygulanmadığı takdirde optik sinir hasarı ve görme kaybına yol açmaktadır. Hastanın, gelişimsel bir anomali nedeniyle gözdeki aköz hümör sıvısının dolaşımının engellenmesine bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (Kupfer and Kaiser-Kupfer, 1979).

2.1.3. Primer Açık Açılı Glokom

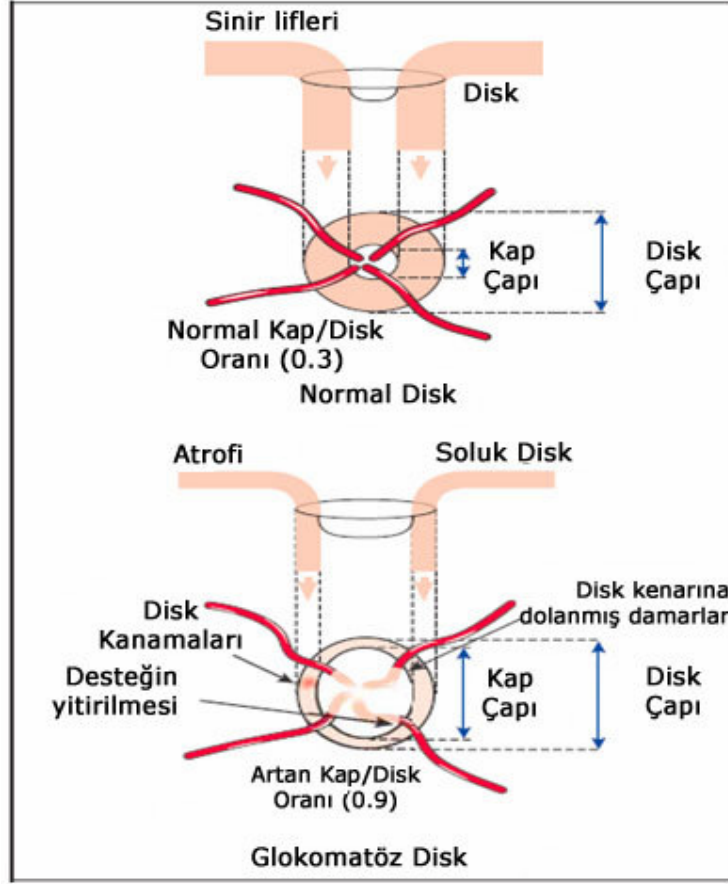
Primer açık açılı glokom (POAG), glokomun en sık rastlanan tipi olup, dünya çapında yaklaşık 37 milyon kişide görülmektedir (Ray, 2003). Hastalığın başlangıcında belirti görülmemesi nedeniyle, ancak hasta geri dönülmez görme kaybına uğradıktan sonra fark edilebilmektedir. POAG çoğunlukla yaşlı bireylerde görülmekte ve yaşla birlikte görülme sıklığı da artmakla birlikte ortayaş ve öncesinde de ortaya çıkabilmektedir. Temel olarak ortaya çıktığı yaşa göre yetişkin ve juvenil olarak iki formu bulunmaktadır. Hastalığın Afrika kökenlilerde daha sık görüldüğü ve belirtilerinin daha şiddetli olup tedaviye daha az cevap verdiği yolunda bulgular vardır (Wilensky et al., 1978; Martin et al., 1985; Sommer et al., 1991; Tielsch et al., 1991; Wormald et al., 1994; Buhrmann et al., 2000).

POAG için bilinen en büyük risk faktörü göz içi basıncın (IOP) artmasıdır (>21mmHg) (Anderson, 1989). Gözün ön bölümünde bulunan aköz hümör adlı sıvı sürekli bir sirkülasyona sahiptir ve bir taraftan üretilerek bir taraftan da trabeküler ağ tarafından gözden uzaklaştırılır. Bu sayede sabit bir basınç oluşturan sıvı gözün şeklinin korunmasında önemli rol oynar. Ancak bu sıvının gözden uzaklaştırılmasında oluşan bazı aksaklıklar sonucu sıvı üretildiği hızla boşaltılmadığından, göz içi basınç artar ve bu da optik sinir hücrelerinin ölümüyle sonuçlanarak optik sinirde hasara ve kalıcı görme kaybına yol açabilir. Günümüzde glokom tedavisinde uygulanan en önemli yöntem göz içi basıncın düşürülmesidir. IOP'si yüksek olan her bireyde glokom gelişirse de bu kişilerin yüksek risk altında olduğu bilinmektedir ve mutlaka periyodik olarak kontrol edilmeleri gerekmektedir.

Bazı olgularda, göz içi basınç normal değerler içerisinde olduğu halde optik sinirde hasar oluşmaktadır. Bu durum Normal Tansiyonlu Glokom (NTG) olarak adlandırılmaktadır. NTG'ye yol açan nedenler hakkında henüz yeterli bir bilgimiz bulunmamaktadır. Bilinmeyen bir nedenle, optik sinir normal göz içi basıncında bile hasar görebilmektedir. NTG hakkında araştırmalar devam etmektedir.



Şekil 2.5 Aköz Humör dolaşımı ve olası engellenme noktaları (BMJ 2004;328;97-99).



Şekil 2.6 Glomda optik diskte meydana gelen değişimler (BMJ 2004;328;97-99).

2.1.4. POAG Kalıtımı

Bu güne kadar yapılan araştırmalarda, POAG'nin siyah ırkta beyazlara oranla 5 kat daha sık görüldüğü ve hastaların birinci dereceden yakınlarında riskin 8 kat kadar daha fazla olabildiği gösterilmiştir (Tielsch et al., 1991; Johnson et al., 1996). Bu sonuçlar hastalığın genetik temellerinin araştırılması yolundaki çalışmaların yoğunlaşmasına yol açmıştır.

Yapılan genetik bağlantı çalışmaları sonucunda, hastalığın otozomal kalıtım gösterdiği ancak eksik penetransa sahip olduğu yolunda bulgular elde edilmiştir (Sarfazı, 1997). Hastalığın yetişkinlerde görülen tipinin Mendel kalıtımına uygun olmayan bir şekilde kalıtım gösterdiği; juvenil tipin ise otozomal dominant bir kalıtıma sahip olduğu savunulmaktadır (Wiggs et al., 1998).

POAG'nin patofizyolojisinde genetik faktörlerin rol aldığı açık olsa da bu rol ve hastalığın kalıtımı henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Hastalığın karmaşık ve çok faktörlü bir etiyojiye sahip olduğu düşünülmektedir. Bu modelde, bir çok farklı genin ve çevresel faktörün etkileşimiyle POAG'nin patolojisinin belirlendiği öne sürülmektedir (Newell, 1986).

Bu güne kadar yapılan çalışmalar sonucunda POAG'nin oluşmasında rolü olan 7 lokus saptanmıştır. Bu lokuslar GLC1A, GLC1B, GLC1C, GLC1D, GLC1E, GLC1F ve GLC1G olarak adlandırılmıştır. Yakın zamanda GLC1A lokusunda MYOC geni ve GLC1E lokusunda OPTN geni, son olarak ise GLC1G lokusunda WDR36 geni tanımlanmıştır (Stoilova et al., 1996; Stone et al., 1997; Wirtz et al., 1997; Sarfarazi et al., 1998; Trifan et al., 1998; Wirtz et al., 1999; Samples et al., 2004; Baird et al., 2005; Monemi et al., 2005).

Çizelge 2.1 POAG'den sorumlu lokuslar ve tanımlanan genler.

Lokus	Lokasyon	Gen	GenBank no	Kaynak
GLC1A	1q21-31	MYOC	NM_000261	Stone,1997
GLC1B	2cen-q13	-	-	Stoilova,1996
GLC1C	3q21-24	-	-	Wirtz, 1997
GLC1D	8p23	-	-	Trifan, 1998
GLC1E	10p15-14	OPTN	NM_021980	Rezaie, 2002
GLC1F	7q35-q36	-	-	Wirtz, 1999
GLC1G	5q22.1	WDR36	NM_139281	Monemi,2005

2.1.4.1. OPTN geni

GLC1E lokusunda saptanan OPTN genindeki bazı mutasyonların (E50K, R545Q, c691-692insAG ve M98K) POAG'ye neden olabileceği, özellikle NTG olgularının %16.7'sine bu gendeki mutasyonların neden olduğu rapor edilmiştir (Rezaie et al., 2002; Sarfarazi et al., 1998). Ancak, daha sonra yayınlanan bir çok araştırmada hasta ve kontrol gruplarında benzer mutasyon dağılımlarına rastlanmıştır (Aung et al., 2003; Baird et al., 2004; Leung et al., 2003; Tang et al., 2003; Toda et al., 2004; Wiggs et al., 2003). Yapılan çalışmalardan sadece bir tanesinde M98K mutasyonunun POAG ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Willoughby et al., 2003). Ayrıca, son zamanlarda, H486R mutasyonunun da Juvenil tip POAG ve NTG'ye

neden olabileceğini gösteren çalışmalar da rapor edilmiştir (Willoughby et al., 2004; Leung et al., 2003).

Bu güne kadar yapılan çalışmalardan sonra, OPTN geninin glokomda bir rolünün olduğu düşünülmekle beraber, bu rol her allel için kesinlik kazanmamıştır. Bu konudaki başka bir varsayım da, OPTN mutasyonlarının ancak bireydeki genetik yapının uygun olması durumunda glokoma yol açabildiği yolundadır ve bu sayede neden mutasyonların sağlıklı bireylerde de görüldüğü açıklanmaktadır (Libby et al., 2005).

2.1.4.2. Miyosilin proteini ve MYOC geni

Miyosilin, 1997 yılında, Polansky ve arkadaşları tarafından, glukokortikoidlerin insan trabeküler ağ hücrelerinde uzun dönemli etkileri tarafından indüklenen proteinlerin araştırılması sırasında bulunmuştur ve bu özelliğinden dolayı TIGR (trabecular meshwork inducible glucocorticoid response protein) olarak adlandırılmıştır (Polansky et al., 1997). Aynı yıl, Kubota ve arkadaşları (1997) da aynı diziyeye sahip bir cDNA'yı insan retina kütüphanesinden klonlamış ve bu genin kodladığı proteini insan ve domuz retinasında incelemiştir. Proteine myosilin adı verilmiştir. İnsan Genom Organizasyonu (HUGO) genom bilgibankası isimlendirme komitesi 1998'de gene ve genin ürünü olan proteine aynı adı vermiştir. Gen sembolü MYOC olarak belirlenmiştir. Bazı kaynaklarda TIGR ya da TIGR/MYOC olarak da karşılaşılmaktadır.

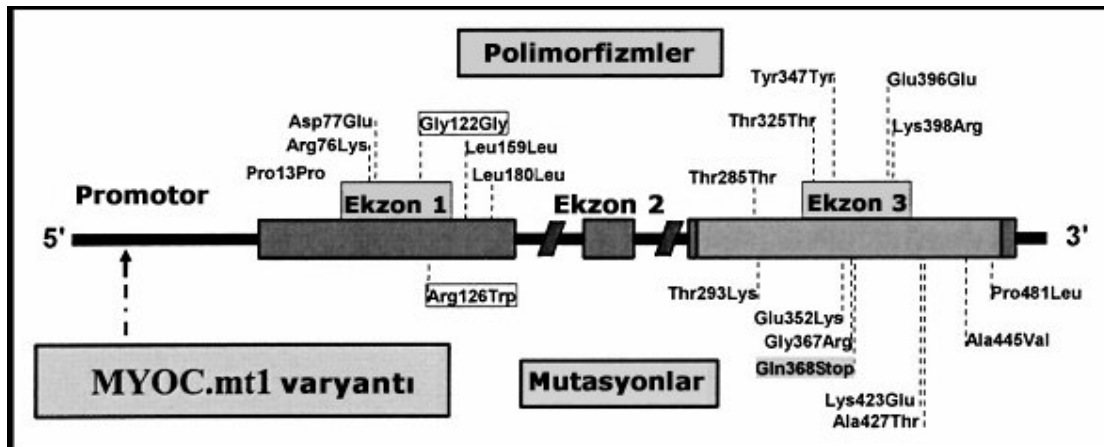
Myosilin 504 amino asitten oluşan ve yaklaşık molekül ağırlığı 55-57kDa civarında olan bir proteindir. İsoelektrik noktası (pI) yaklaşık olarak 5,2'dir (Kubota et al., 1997; Ortego et al., 1997). Myosilin farklı molekül ağırlığına sahip formlarının varlığı translasyonel ve post-translasyonel işlemlerden geçmesiyle açıklanmaktadır ve bunda esas olan tek transkript olması rol oynamıştır (Kubota et al., 1997; Adam et al., 1997; Ortego et al., 1997; Nguyen et al., 1998; Tamm et al., 1999). Myosilin glikozile ve glikozile olmayan 2 formu bilinmektedir. Glikozile form 66kDa, glikozile olmayan form ise 55kDa ağırlığındadır. Protein hücre içinde ve dışında yerleşim gösterir (Polansky et al., 1997; Nguyen et al., 1998).

Myosinin iki önemli işlevsel bölgesi olduğu anlaşılmıştır. N-ucunda Myosin benzeri bir domeyn ve C-ucunda ise olfaktomedin benzeri bir işlevsel bölge yer almaktadır. Proteinde ayrıca 76.-116. amino asitler arasında “lösin zipper” motifi, olası bir çok glikozilasyon ve fosforilasyon bölgesi bulunmaktadır. Ayrıca 32 amino asitten oluşan sinyal dizisine sahiptir (Johnson, 2000). Stres durumunda gözde yüksek miktarlarda üretildiği yolundaki verilere dayanılarak aynı zamanda bir moleküler şaperon gibi davranarak koruyucu bir rolü de olabileceği öne sürülmüştür (Johnson, 2000).



Şekil 2.7 İnsan myosilin proteininin şematik çizimi (Tamm, 2002)

İnsanda, MYOC geni, 1. kromozomda 1q24.3 bölgesinde yer almaktadır ve yaklaşık olarak 17kb büyüklüğündedir. Genin 3 ekzonu bulunmaktadır ve transkripti 2.3 kb dır. Olfaktomedin domeyni neredeyse tamamen 3. ekzon tarafından kodlanmaktadır. Rekombinant myosinin ve salgılanan myosilin moleküllerinin 120-200kDa ağırlığında dimer ve multimerler oluşturduğu saptanmıştır.



Şekil 2.8 MYOC geninin şeması, polimorfizmler, mutasyonlar ve MYOC.mt1 varyantının yerleşimi (Cohen, 2004).

Maymun, fare, rat, ve inekte myosilin geni karakterize edilmiştir (Fingert et al., 1998; Tomarev et al., 1998; Takahashi et al., 1998; Abderrahim et al., 1998; Taniguchi et al., 2000; Ahmed et al., 2001; Fingert et al., 2001). İnsan ve maymun genleri %97 oranında benzer proteinleri kodlamaktadır (Fingert et al., 2001). İncelenen tüm türlerde, "lösin zipper" motifinin ve olfaktomedin işlevsel bölgesinin korunmuş olduğu saptanmıştır. DNA dizilerinin de büyük oranda korunmuş olduğu, özellikle olfaktomedin domeyninde bu oranın çok yüksek olduğu bulunmuştur ki aynı zamanda bu domeyn, insanda glokoma neden olan MYOC mutasyonlarının en sık görüldüğü bölgedir.

2.1.4.3. MYOC geninin ifade edildiği dokular ve yerleşimi

İnsan gözündeki neredeyse tüm oküler dokularda ifade edilmektedir. Trabeküler ağ (TM), silier cisim, sklera, koroid, kornea, iris, optik sinir başı başlıca ifade edildiği yerlerdir (Adam et al., 1997; Ortego et al., 1997; Tamm et al., 1999). Farklı oranlarda ifade olmakla birlikte en çok TM, sklera ve iriste ifade edilir. Ayrıca, göz dışında, iskelet kası, kalp, timüs, prostat, testis, ince barsak, kolon, mide, tiroid, kemik iliği gibi dokularda da sentezlenmektedir (Ortego et al., 1997; Nguyen et al., 1998; Fingert et al., 1998; Adam et al., 1997).

Myosilin, gözde, özellikle trabeküler ağ, kornea, optik sinir, iris, retina ve vitröz hümörde bulunmaktadır. Ayrıca aköz hümörde önemli oranda ve kompleks oluşturmuş bir şekilde bulunmaktadır. Optik sinir aksonlarının myelin kılıfında da bulunmaktadır (Karali et al., 2000).

Myosilin ve fibronektin arasında etkileşimin olduğu ve bu etkileşimin özellikle fibronektinin hücre iskeletinin düzenlenmesi, sinyal iletimi ve fagositozda rol alan bölgeleriyle gerçekleştiği gösterilmiştir. Myosilin ve fibronektin arasındaki bu etkileşimlerin hücre dışı matriksin oluşumunda rol aldığı bu sayede de trabeküler sıvı akışının düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Aköz humor içinde önemli bir bileşen olduğu ve hem glikozile hem de glikozile olmayan formunun bulunduğu saptanmıştır. Myosilin burada monomer değil

kompleks yapmış olarak bulunmaktadır (Russell et al., 2001; Fautsch and Johnson, 2001).

Myosilin temelde hücre dışına salgılanan bir protein olsa da bazı araştırmacılar hücre içinde de önemli rolünün olabileceğini öne sürmektedir (Tamm, 2002). Myosilin mitokondri, aktin/myosin motor sisteminde ve hücre iskeletinde saptanmasıyla, hücre içinde de rolü olduğu yolundaki öneriler destek bulmaktadır (Stamer et al., 1998; Clark et al., 2001; O'Brien et al., 1999).

2.1.4.4. Myosilin ve glokom ilişkisi

Yıllardır yapılan çalışmalar sonucu juvenil tip POAG'li ailelerde %8'den %36'ya ulaşan oranlarda hastalığa neden olan MYOC mutasyonları bulunmuştur (Adam et al., 1997; Kee and Ahn, 1997; Stoilova et al., 1997; Suziki et al., 1997; Angius et al., 1998; Brezin et al., 1998; Mansergh et al., 1998; Michels-Rautenstrauss et al., 1998; Richards et al., 1998; Wiggs et al., 1998; Allingham et al., 1998; Stoilova et al., 1998; Kennan et al., 1998; Mardin et al., 1999; Lam et al., 2000; Shimizu et al., 2000). Ayrıca yaklaşık olarak yetişkin tip POAG hastalarının yaklaşık %3'ünde MYOC mutasyonları saptanmıştır (Stone et al., 1997; Alward et al., 1998). Saptanan bu mutasyonların yaklaşık olarak %90'ı olfaktomedin domeynini kapsayan 3. ekzonda yer almaktadır. Ayrıca MYOC mutasyonları pigmenter glokom, eksfoliatif glokom, NTG, glokomsuz eksfoliasyon sendromu gibi durumlarda da görülmektedir (Alward et al., 2002). Bu bulguların ışığında MYOC mutasyonlarının genel bir etkiyle gözü glokomatöz hasara daha yatkın hale getirdiği öne sürülmektedir (Tamm, 2002).

MYOC genindeki mutasyonlar, POAG hastalarının %2-%5'inde görülmektedir (Stone et al., 1997; Wiggs et al., 1998; Alward et al., 1998; Fingert et al., 1999; Michels et al., 2002; Chakrabarti et al., 2005). Juvenil POAG'de bu gendeki mutasyon sıklığı daha da artmaktadır (Stone et al., 1997; Stoilova et al., 1998; Shimizu et al., 2000). Son zamanlarda, 3p21-22 bölgesinde bulunan Q386STOP mutasyonu yeni bir otozomal dominant lokus olarak rapor edilmiştir (Baird et al., 2005).

En sık görülen MYOC mutasyonu olan Gln368Stop, hastaların %1.6 sında ve Japon popülasyonu dışında incelenen tüm popülasyonlarda saptanmıştır (Fingert et al., 1999). Bu mutasyon, proteinde, olfaktomedin domeyninin yaklaşık olarak yarısının eksik olarak bulunmasına yol açmaktadır. Gln368Stop mutasyonunu taşıyan hastalarda IOP'nin normal ya da düşük düzeyde bir artışa sahip olduğu ve ilaç tedavisiyle rahatlıkla kontrol edilebildiği görülmüştür (Allingham et al., 1998; Mardin et al., 1999; Angius et al., 2000). Bu mutasyona sahip hastalarda hastalığın, aynı domeynde görülen diğer mutasyonları taşıyan hastalara göre oldukça geç ortaya çıktığı (yaklaşık 30 yıl) görülmektedir (Allingham et al., 1998). Buna neden olarak, sentezi yarıda kalmış proteinlerin ER deki kontrol mekanizmaları tarafından çok daha kolay tanınarak hızla parçalanması, diğer myosilin formlarının ise bu kontrol mekanizmalarından kaçabilmesinin daha kolay olabildiği öne sürülmektedir (Tamm, 2002). Bu şekilde sentezlenen mutant proteinlerin, normal homolog üzerinden sentezlenen proteine bağlanarak ya da onunla rekabet ederek (dominant-negatif etki), ya da, diğer hücresel proteinlerle anormal etkileşimlerde bulunarak fonksiyon kazanımının POAG'ye neden olabileceği düşünülmektedir (Allingham et al., 1998).

Myosilin mutasyonu taşıyan juvenil POAG hastalarının çoğunda, diğer hastalara oranla, IOP'nin çok daha yüksek olduğu ve hastalığın daha şiddetli seyrettiği görülmüştür. Bu bulgulardan yola çıkılarak mutant myosilinin bir şekilde TM'den aköz hümör akışına engel olduğu düşünülmektedir (Nguyen et al., 1998). Ancak, normal myosilinin aköz hümör akışındaki rolü kesinlik kazanmamıştır. (Myoc -/-) genotipteki farelerle (Myoc geni yok edilmiş mutant fareler) yapılan çalışmada göz ile ilgili herhangi bir anormallik gözlenememiştir ve normal myosilinin aköz hümör akışında önemli bir rolü olmadığı yolunda önemli bir kanıt olarak değerlendirilmektedir (Kim et al., 2001). Diğer yandan, insan ve diğer primatlarla fare ve diğer kemirgenlerin okuler açıdan oldukça benzer yapılara sahip olsalarda özellikle aköz humor akışında görevli dokular açısından önemli farklılıklar olduğu da göz önüne alınarak insanda bu durumun daha farklı olabileceği unutulmamalıdır.

Glokomlu hastalarda ve deneysel olarak glokomun indüklendiği maymunların gözleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, optik sinirlerde myosilin mRNAsının

miktarının azaldığı rapor edilmiştir (Ricard et al., 2001). Bu bulgular da myosilin glokom oluşumu ve hastalığın seyrinde, optik sinir üzerinden de etkisini gösterebileceğini düşündürmektedir.

Myosilin promotörü

İnsan ve farede MYOC geninin promotörü 1997 de tanımlanmış ve dizi analizi yapılmıştır (Adam et al., 1997; Polansky et al., 1997). Bu çalışmalar sonucunda MYOC promotöründe tipik bir TATA-kutusu ve transkripsiyon faktörleri için çok sayıda olası DNA bağlanma dizisi ile birçok GRE (Glucocorticoid Response Element) içerdiği görülmüştür. Özellikle nt-77 ile nt-106 pozisyonları arasında, transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için korunmuş bir bölgenin olduğu görülmüştür. Bu bölgenin delesyonunda, promotör aktivitesinde önemli bir azalma olduğu gözlenmiştir.

MYOC mt1 promotör varyantı

Colomb ve arkadaşları (2001) 2001 yılında yayınladıkları çalışmayla MYOC promotöründe, MYOC.mt1 olarak adlandırdıkları, nt-1000 pozisyonunda bir C>G tek nükleotit polimorfizmi (SNP) saptadıklarını duyurmuşlardır. Bu çalışmada, mt1 varyantının dağılımında hastalar ve kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığını ancak hasta bireylerde hastalığın daha şiddetli bir fenotipe sahip olduğunu ileri sürmüşlerdir. Mt1 varyantı taşıyan hastalarda, IOP'nin, taşımayanlara göre daha yüksek seyrettiği ve tedaviye direnç gösterdiğini ayrıca her iki etkinin de kadınlarda daha fazla olduğu belirtilmiştir.

Bu çalışmanın yayınlanmasıyla birlikte mt1 varyantı ve POAG fenotipine etkileri üzerine henüz sonuca bağlanamamış bir tartışma başlamıştır. Daha sonra yapılan bir çalışmada MYOC mt.1 varyantının APOE (-491T) varyantıyla etkileşim gösterdiği ve yüksek IOP ve IOP düşürücü tedaviye direnç meydana getirdiği gösterilmiştir (Copin et al., 2002). Polansky ve arkadaşları mt1 varyantının POAG'li hastalarda hastalığın seyrini etkilediğini ve mt1 taşıyan hastalarda hastalığın daha şiddetli ve hızlı seyrettiğini göstermişlerdir. Bu çalışmaların yanında son zamanlarda mt1 varyantının hastalığın fenotipini etkilemediği yolunda sonuçlara

ulaşan çalışmalar yayınlanmıştır (Alward et al., 2002; Fan et al., 2004). Bütün bu zıt bulgular, mt1 varyantı ve POAG fenotipine etkileri konusundaki tartışmayı şiddetlendirmiş ancak henüz bir sonuca ulaşılamamıştır.

3. MATERYAL METOD

3.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Çalışmaya, Hacettepe Üniversitesi Göz Kliniği'ne başvurmuş olan 88 POAG hastası ve 123 sağlıklı birey dahil edildi. Tüm bireyler detaylı bir oftalmik muayeneden geçirildi. POAG grubunu, 40 yaş üzeri, kırma kusuru 5 dioptri ve altında, göz içi basınç ölçümü 21mmHg ve üzeri, optik sinir başında, sinir lifi tabakasında ve görme alanında glokomatöz kaybı olan hastalar oluşturdu. Kontrol grubu için ise, yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı bireyler seçildi. Çalışmaya dahil edilen bireylerin birbiriyle akrabalık bağı yoktur.

Bireylerden alınan periferik kan örnekleri, antikoagulant olarak EDTA içeren tüplere alındı ve daha sonra bu örneklerden genomik DNA izolasyonu yapıldı.

3.2. Kandan Genomik DNA İzolasyonu

Kandan genomik DNA'nın elde edilmesi için, Yen (1992) yöntemi modifiye edilerek kullanıldı.

- 1- EDTA'lı tüpte bulunan kandan 400µl örnek, 1.5ml'lik ependorf tüpüne aktarıldı.
- 2- Alınan örneğe 1ml. TE tamponu eklendi.

TE Tamponu

10mM Tris

1mM EDTA

pH:7.6

- 3- 13000rpm'de 1' santrifüj uygulandı.
- 4- Üstte kalan süpernatant atıldı ve pelet tüp içerisinde bırakıldı.
- 5- Yukarıdaki işlem 3 kere tekrarlandı.
- 6- Pelette toplanmış olan akyuvar tabakası üzerine lizis tamponu eklendi ve son hacim 500µl olacak şekilde TE tamponu eklendi.

Lizis Tamponu

1M NaCl	90µl
%10'luk SDS	80µl
10mg/ml Proteinaz K	10µl

7- Örnekler, 37°C'de gecelik inkübasyona bırakıldı.

8- Tüplere eşit hacimde fenol ve kloroform eklendi.

9- Tüpler iyice karıştırıldı ve 4000rpm'de 2' santrifüj edildi. Bu işlem ile inkübasyondan sonra oluşan hücresel atıkların çökerek DNA'dan uzaklaşması sağlandı.

10- Süpernatant temiz bir tübe aktarıldı.

11- %100'lük etil alkol eklenerek tüpler dikkatlice çalkalandı ve DNA'nın çökmesi sağlandı.

12- %100'lük etil alkol uzaklaştırıldı ve %70'lik etil alkol eklendi.

13- %70'lik etil alkol uzaklaştırıldı ve alkolün tamamen uçması için 5-10' kadar bekletildi.

14- 200-300µl steril distile su eklenerek DNA'nın çözünmesi sağlandı.

3.3. İzole Edilmiş Olan Genomik DNA'nın Agaroz Jel Elektroforezi İle Kontrolü

Periferik kan örneklerinden izole edilmiş olan genomik DNA agaroz jel elektroforezi uygulanarak kontrol edildi. Bunun için 2µl'lik DNA örneği alınarak 1µl 6x yükleme çözeltisi eklendi ve örnekler %1'lik agaroz jele yüklendi. 90V'luk potansiyel farkı ile 30' yürütülen örnekler etidiyum bromür ile boyandı ve 300nm dalga boyunda UV lambası altında incelendi. Yürütme tamponu olarak 1xTBE tamponu kullanıldı.

6x Yükleme Çözeltisi

%0,25 brom fenol mavisi

%40 (w/v) sükröz çözeltisi

10xTBE tamponu

1mM Borik Asit

20mM EDTA

1mM TRIS

pH=8.2

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Polimeraz zincir reaksiyonu, genomik DNA üzerinde çalışılacak olan bir gen ya da DNA bölgesinin, uygun özgül primerler kullanılarak in-vitro olarak çoğaltılması için kullanılan bir yöntemdir (Saiki et al., 1998). Günümüzde moleküler genetik çalışmalarda yoğun olarak kullanılmakta olan temel bir yöntem durumundadır.

PCR, temel olarak 3 basamaktan oluşur.

1- Çoğaltılacak olan DNA bölgesini taşıyan çift sarmallı DNA molekülü yüksek sıcaklıkta sarmallar arasındaki hidrojen bağlarının yıkılmasıyla tek sarmal bir yapıya geçer (Denatürasyon)

2- Çoğaltılması istenen bölgeye özgül olan ve primer olarak adlandırılan oligonükleotidler, DNA üzerinde komplementer oldukları bölgelere bağlanır (Annealing)

3- Primerlerin uzatılması (Extension):

PCR reaksiyon karışımında bulunan dNTP, MgCl₂ ve Taq polimeraz enzim tamponu bileşenleri kullanan Taq polimeraz enzimi, 70-75°C aralığındaki bir sıcaklıkta, kalıp DNA'ya bağlanmış olan primerleri uzatır. Yeni oluşan sarmal daha sonraki reaksiyonlarda kalıp olarak kullanılır ve bir çok kere tekrarlanan bu işlemler sonucunda istenen DNA bölgesi çok yüksek miktarlarda çoğaltılmış olur.

3.4.1. PCR'da kullanılan primerler

Polimeraz zincir reaksiyonunda

5'-CCA TTG CGA ATA GAG CCA TAA-3' (direkt)

5'-TGG TGA AAT CTG GGG AAC TC-3' (revers)

primerleri kullanılmış ve MYOC.mt1 varyantını kapsayan 309bç boyutunda bir PCR ürünü elde edilmiştir.

3.4.2. PCR karışımı

Polimeraz zincir reaksiyonu için hazırlanan reaksiyon karışımı bir tüpte son hacim 15µl olacak şekilde hazırlandı.

10x Reaksiyon Tamponu	1.5µl
25mM MgCl ₂	0.9µl
10mM dNTP	1.5µl
100pmol/µl Primer direkt	0.3µl
100pmol/µl Primer revers	0.3µl
Taq Polimeraz	0.05µl
dH ₂ O	8.95µl
Genomik DNA	1.5µl
Toplam hacim	15µl

3.4.3. PCR programı

95°C 3'	
94°C 30"	} 32 döngü
58°C 30"	
72°C 30"	
72°C 3'	

Elde edilen 309bç boyutundaki PCR ürünleri %1'lik Agaroz jelde 1xTBE tamponu ile yürütülerek kontrol edildi.

3.5. RFLP (Restriksiyon Parça Boyu Polimorfizmi) Analizi

Restriksiyon enzimleri, DNA'yı özgül tanıma dizilerinden kesmekte olup, bu özellikleri nedeniyle moleküler genetik çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. DNA'nın bu enzimlerle kesilmesi ya da kesilmemesi sonucunda oluşan farklı uzunluktaki DNA fragmentlerinin incelenmesiyle analizine, RFLP analizi adı verilmektedir.

Çalışmamızda MYOC.mt1 promotor varyantının tesbiti için AlwNI restriksiyon enzimi kullanıldı. Ticari firmanın önerdiği koşullarda kesim reaksiyonu gerçekleştirildi.

Kesim reaksiyon karışımı:

10x AlwNI tamponu	1.5µl
dH ₂ O	5.7µl
AlwNI	0.3µl
PCR ürünü	7.5µl
Toplam hacim	15µl

37°C gecelik inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon sonunda, örnekler 6x durdurma tamponu eklenerek reaksiyon durduruldu ve örnekler %2'lik Agaroz jelde görüntülenerek incelendi.

3.6. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler SPSS 11.5 for Windows paket programı yardımıyla Ki-kare, regresyon analizi, Student's t-testi, Mann-Whitney U-testi, tek yönlü ANOVA ve Tukey HSD testleri uygulanarak değerlendirildi. İstatistiksel açıdan anlamlı p değeri olarak $p < 0.05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

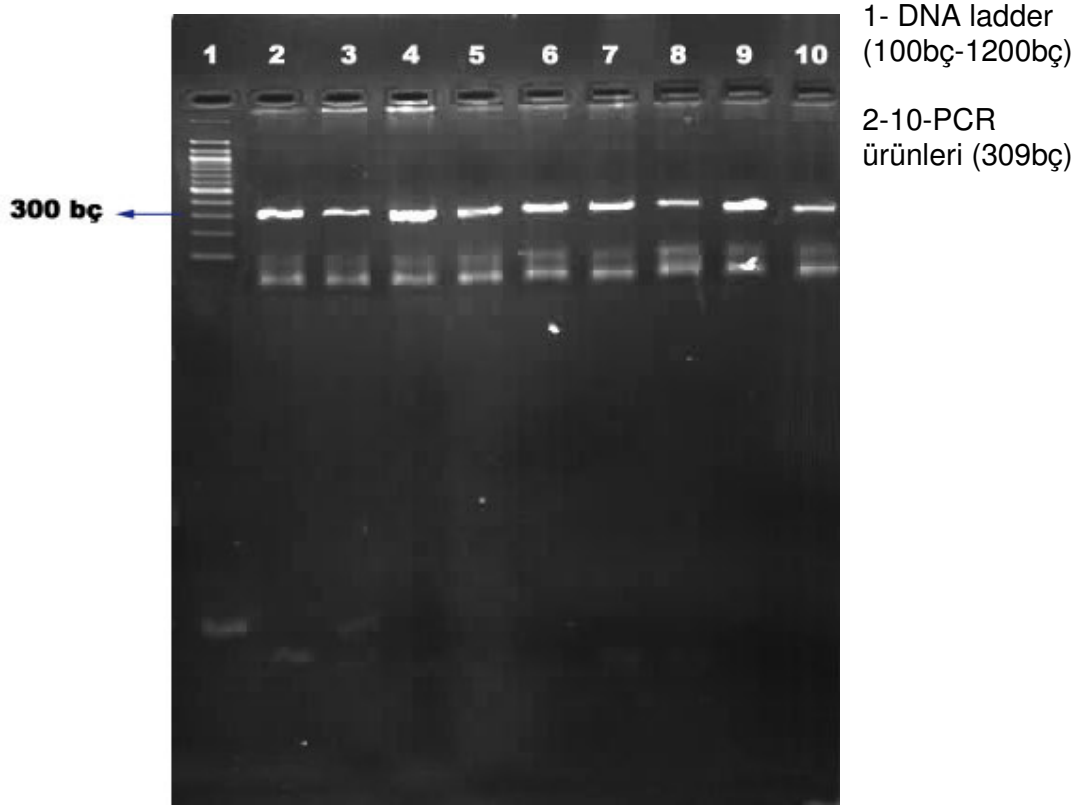
Çalışma kapsamına alınan POAG grubunda 56 kadın 32 erkek hasta yer aldı. Bu hastaların yaş ortalaması 62.66 ± 10.32 olarak hesaplandı. Kontrol grubu olarak ise yaş ortalaması 61.67 ± 10.12 olan 67 kadın ve 56 erkek alındı. Gruplar arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığı araştırıldı ve fark olmadığı saptandı ($p=0.487$, $p=0.183$). Hastalar en azından 2 yıllık takipten sonra çalışmaya dahil edildi. Hastaların takip süresi, medyan değeri 8 yıl olmak üzere en az 2 yıl en uzun ise 29 yıl olarak gerçekleşti. En yüksek IOP değerleri 21 ve 37mmHg aralığında ölçüldü.

Çizelge 4.1 Çalışmaya dahil edilen hasta bireylerin ve kontrol grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyetlerine göre dağılımı.

	Yaş	Kadın	Erkek	Toplam
POAG	62.66 ± 10.32	56	32	88
Kontrol	61.67 ± 10.12	67	56	123

4.1. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezi ile Kontrol Edilmesi

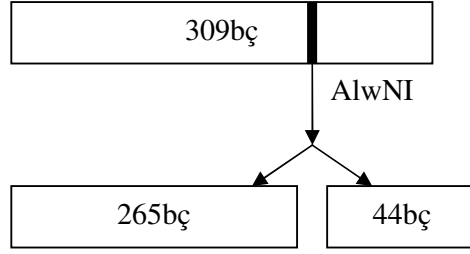
MYOC.mt1 promotor varyantının saptanması için seçilen PCR-RFLP yöntemi çerçevesinde önce genin promotorunda yer alan ve MYOC.mt1 varyantını içinde bulunduran 309 bç'lik DNA bölgesi PCR uygulanarak çoğaltıldı. Elde edilen PCR ürünleri, %1'lik agaroz jel üzerinde görüntülenerek 100bç'lik DNA ladder ile karşılaştırılarak kontrol edildi ve jelde oluşan bantlar incelendi. Sonuçta reaksiyonun istenildiği gibi gerçekleştiği gözlemlendi.



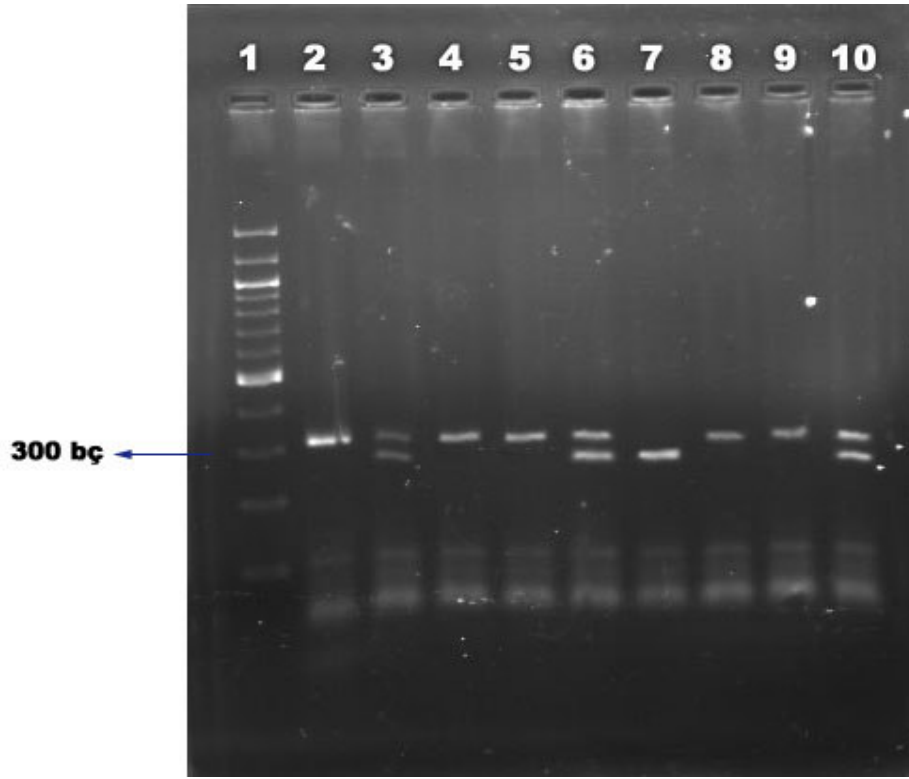
Şekil 4.1 PCR ürünlerinin agaroz jelde görüntülenmesi.

4.2. PCR Ürünlerinin ALWNI Restriksiyon Enzimi ile Kesimi

Elde edilmiş olan PCR ürünleri, AlwNI restriksiyon enzimi ile kesilerek genotip saptaması yapıldı. 309bç'lik ürünler, kesildiğinde 265bç ve 44bç'lik 2 ayrı fragment haline gelmektedirler (Şekil 4-2). Kesilmiş olan örnekler agaroz jel elektroforezi yöntemiyle görsel olarak incelendi. Sonuçta, MYOC.mt1 varyantını taşımayan örneklerde kesim gerçekleşmediğinden, bu örneklerde 309bç'lik tek bir DNA bandı gözlenirken MYOC.mt1 varyantını heterozigot olarak taşıyan örneklerde 309bç ve 265bç olmak üzere iki, homozigot olarak taşıyan örneklerde ise 265bç'lik bir bant olduğu görüldü. Kesim reaksiyonunun gerçekleştiği örneklerdeki 44bç'lik DNA parçası ise, çok küçük olduğundan, kullandığımız agaroz jel elektroforezi yönteminde bant olarak gözlenememiştir. Ancak, 265bç'lik bandın gözlenmesi kesim reaksiyonunun sonucunun yorumlanması için yeterli olmaktadır.



Şekil 4.2 PCR ürününün AlwNI enzimi ile kesimi.



Şekil 4.3 Kesim ürünlerinin agaroz jel görüntüsü.

- 1-DNA ladder (100bç-1200bç)
- 2- Kesilmemiş örnek
- 3- Mt1 (-/+) (C/G)
- 4- Mt1 (-) (C/C)
- 5- Mt1 (-) (C/C)
- 6- Mt1 (-/+) (C/G)
- 7- Mt1 (+/+) (G/G)
- 8- Mt1 (-) (C/C)
- 9- Mt1 (-) (C/C)
- 10- Mt1 (-/+) (C/G)

4.3. Elde Edilen Sonuçların İstatistiksel Analizi

Çalışmaya dahil edilen bireylerde MYOC.mt1 varyantının varlığı PCR-RFLP yöntemiyle araştırıldı. Sonuçta POAG grubu hastalarda 64 (%72.7) bireyde MYOC.mt1 varyantına rastlanmazken, 21 (%23.9) bireyin heterozigot, 3 (%3.4) bireyin ise homozigot olarak MYOC.mt1 varyantını taşıdığı görüldü. Kontrol grubunda ise 3 (%2.4) bireyin homozigot, 18 (%14.6) bireyin heterozigot olarak MYOC.mt1 varyantını taşıdığı, 102 (%82.9) bireyde ise bu varyantın bulunmadığı saptandı. POAG grubu ve kontrol grubu arasında MYOC.mt1 varyantının varlığı yönünden istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=0.204$).

Çizelge 4.2 Mt1 varyantı oranları.

MYOC.mt1 Genotipi	POAG	Kontrol
CC	64 (%72.7)	102 (%82.9)
CG	21 (%23.9)	18 (%14.6)
GG	3 (%3.4)	3 (%2.4)

CC- MYOC.mt1 varyantını taşımayan.

CG- MYOC.mt1 varyantı için heterozigot.

GG- MYOC.mt1 varyantı için homozigot.

POAG grubu ve kontrol grubundaki allel frekansları incelendiğinde G alleli kontrol grubunda %9.8 POAG grubunda ise %15.3 olarak hesaplandı. Frekanslar arasında bir fark olsa da istatistiksel olarak bu farkın anlam taşımadığı görüldü ($p=0.083$). Diğer taraftan, cinsiyet göz önüne alındığında da, hem POAG hastalarında, hem de kontrol grubu bireylerde, genotip frekanslarının cinsiyete bağlı olarak değişmediği saptandı ($p=0.676$, $p=0.902$).

Yapılan genotip tayininden sonra, MYOC.mt1 varyantının, hastalığın klinik bulgularına bir etkisinin olup olmadığı POAG grubu bireylerin klinik verileri incelenerek araştırıldı.

Hastaların POAG tanısı anındaki yaşları ve çalışmaya dahil edildikleri andaki yaşları MYOC.mt1 varyantı açısından değerlendirildiğinde, mt1 (+) olduğu saptanan 24 hastanın POAG tanısı konulduğu andaki yaş ortalaması ve standart sapması 51.58 ± 9.47 , mt1 varyantını taşımayan 64 hastada ise 53.94 ± 9.73 olarak

hesaplandı ve mt1 varyantının bu açıdan bir etkisi olmadığı sonucuna varıldı (p=0.313). Hastaların çalışmaya dahil edilme yaşları değerlendirildiğinde ise mt (+) bireylerin yaş ortalaması 61.96±10.88, mt (-) bireylerinki ise 62.92±10.17 olarak hesaplandı ve bu kriter üzerinde MYOC.mt1 varyantının etkisi olmadığı görüldü (p=0.699).

Çizelge 4.3 Hastaların tanı ve çalışmaya dahil edildikleri anki yaş ortalamaları ve mt1 ilişkisi.

	Mt1 (+) (24 kişi)	Mt (-) (64 kişi)	P değeri
Hastaların POAG tanısı konulduğundaki yaşları	51.58± 9.47	53.94±9.73	0.313
Hastaların çalışmaya dahil edildikleri yaşları	61.96±10.88	62.92±10.17	0.699

Hastaların ölçülen ortalama IOP değerleri karşılaştırıldığında, Mt1 varyantını taşıyan bireylerin ortalama IOP değeri 27.29±3.9, taşımayanlarda ise 26.14±3.4 olarak hesaplandı ve MYOC.mt1 varyantının bu hastalarda ölçülen IOP değerlerine bir etkisinin olmadığı görüldü (p=0.182). Ayrıca erkek ve kadın hastalar kendi içlerinde ayrı ayrı da değerlendirildi ve aynı sonuca ulaşıldı (p=0.213, p=0.455).

Çizelge 4.4 Mt1 varyantı taşıyan ve taşımayan hastalarda cinsiyete göre IOP değerleri.

	Mt1 (+)	Mt1 (-)	P değeri
Ortalama IOP değeri (mmHg)	27.29±3.9	26.14±3.4	0.182
Erkeklerde	27±3.18	25.84±3.13	0.213
Kadınlarda	28±5.5	26.62±3.82	0.455

Hastaların gözlerindeki C/D oranları da incelendi. Mt1 (+) hastalarda C/D oranı ortalama 0.58±0.21 olarak hesaplanırken, Mt1 (-) hastalarda bu oran 0.54 ± 0.21 olarak bulundu ve Mt1 varyantının C/D oranı üzerinde de bir etkisi olmadığı görüldü (p=0.524).

Çizelge 4.5 Mt1 varyantı- C/D oranı ilişkisi.

	Mt1 (+)	Mt1 (-)	P değeri
Ortalama C/D oranları (medyan)	0.58±0.21 (0.6)	0.54±0.21 (0.5)	0.524

Ayrıca hastalardaki aile hikayesi, kullanılan ilaçlar ve trabekülotomi açısından MYOC.mt1 varyantının bir etkisi olup olmadığı da araştırıldı. Mt1 varyantını taşıyan 24 hastanın 5'inde (%20.8), mt1 varyantını taşımayan 64 hastanın 14'ünde (%22.2) aile öyküsü olduğu saptandı. Mt1 taşıyan hastaların ortalama kullandıkları ilaç sayısı 1.9 ± 0.8 , bu varyanta sahip olmayanlarda ise bu sayı 1.7 ± 0.8 olarak bulundu. Mt1 varyantı taşıyan hastalar arasından 2 kişiye (%8.3), mt1 (-) hastalardan ise 8 kişiye (%12.5) trabekülotomi uygulandığı saptanmıştır. Yapılan istatistik değerlendirme sonucunda MYOC.mt1 varyantının varlığı ile aile öyküsü, kullanılan ortalama ilaç sayısı ve trabekülotomi uygulaması arasında bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.6 Mt1 varyantı ve aile öyküsü, kullanılan ilaç sayısı ve trabekülotomi arasındaki ilişki.

	Mt1 (+)	Mt1 (-)	P değeri
Aile öyküsü (sayı ve yüzde)	5 (%20.8)	14 (%22.2)	0.889
Ortalama ilaç sayısı	1.9 ± 0.8	1.7 ± 0.8	0.375
Trabekülotomi	2 (%8.3)	8 (%12.5)	0.721

Son olarak hastaların içinde buldukları POAG safhası ile MYOC.mt1 varyantı arasında bir ilişki olup olmadığı araştırıldı. Yapılan değerlendirme sonucu 39 hasta erken, 26 hasta orta ve 23 hasta da geç glokom safhasında olarak belirlendi. Geç safhadaki hastaların yaş ortalamalarının 67.30 ± 8.63 , orta safhadakilerin 61.46 ± 11.18 , ve erken glokom grubundakilerin yaş ortalaması ise 60.72 ± 10.02 olarak hesaplandı. Sonuçta geç safha glokom hastalarının yaş ortalamasının erken ve orta safhadakilere göre daha yüksek olduğu görüldü ($p=0.038$, $p=0.111$).

Çizelge 4.7 MYOC.mt1 Genotiplerinin hastalığın değişik aşamalarındaki dağılımı.

Genotip	Erken Glokom	İlımlı Glokom	Şiddetli Glokom
C/C (normal)	27 (%69.2)	20 (%76.9)	17 (%73.9)
C/G (heterozigot)	11 (%28.2)	5 (%19.2)	5 (%21.7)
G/G (homozigot)	1 (%2.6)	1 (%3.8)	1 (%4.3)
Toplam birey sayısı	39	26	23

5. TARTIŞMA

Günümüzde, özellikle İnsan Genom Projesi'nin ardından, bir çok hastalığın genetik temellerinin aydınlatılmasında önemli adımlar atılmaktadır. Bu konuda yapılan, moleküler genetik çalışmalar, hem hastalığın moleküler patolojisinin anlaşılmasında hem de erken tanı ve tedavide önem kazanmaktadır.

Ortalama insan ömrünün uzatılmasıyla beraber, ilerleyen yaşlarda bir çok çevresel ve genetik faktörün etkileşimiyle ortaya çıkan karmaşık yapıli hastalıkların erken teşhis ve tedavisi daha fazla önem kazanmıştır. Bu tür hastalıklarda çağdaş yaklaşım, hastalık henüz ortaya çıkmadan bireyin risk grubunda olup olmadığının belirlenerek hastalığın engellenmesi; ortaya çıktıktan sonra ise bireye özgü tedavi yöntemlerinin uygulanmasıdır.

Özellikle karmaşık ve bir çok faktörün rol oynadığı hastalıklarda, farklı polimorfizmler taşıyan hastalardaki klinik karşılaştırma ve ilişkilendirme yöntemi günümüzde giderek önem kazanmaktadır. Genin protein kodlayan ya da promotor bölgelerindeki belirli polimorfizmleri taşıyan bireylerde, hastalığa yatkınlık, hastalık ortaya çıktığında ise hastalığın gelişiminde ve tedaviye cevapta farklılıklar olabileceği düşünülmektedir. Bu polimorfizmlerin ve etkilerinin araştırılması, gerek hastalığın moleküler patolojisi, gerek teşhis ve tedavisinde önemli yararlar sağlayabilir.

POAG hastalarında Colomb ve arkadaşlarının (2001) MYOC geninin promotor bölgesinde saptadıkları ve MYOC.mt1 olarak adlandırdıkları tek nükleotit polimorfizminin (SNP), özellikle kadınlarda, hastalığın daha şiddetli görülmesine neden olduğu ve bu varyantı taşıyan hastaların tedaviye iyi cevap vermediğini öne sürmesiyle birlikte bir çok araştırmacının dikkatleri bu konuya yoğunlaşmıştır. Kısa sürede teşhis ve tedaviye yardımcı olacağı düşüncesiyle, bu SNPnin saptanmasına yönelik genetik bir test geliştirilmiş ve ticari olarak piyasaya sürülmüştür. Polansky ve arkadaşları (2003) yayınladıkları bir çalışmada, MYOC.mt1 varyantının zamana bağıli olarak hastalığın seyrini hızlandırdığını ve bu varyantı taşıyan hastalarda hastalığın daha hızlı ilerlediğini göstermişlerdir.

MYOC.mt1 varyantının POAG fenotipi üzerindeki etkilerini gösteren bu çalışmalara karşılık diğer bazı araştırmacılar da farklı sonuçlara ulaştıkları bir takım makaleler yayınlamışlardır. Alward ve arkadaşlarının (2002) yanı sıra, Fan ve arkadaşları (2004) da MYOC.mt1 varyantının POAGnin gelişimi ve seyri üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını savunmuşlardır. Bu konuda yapılan çelişkili yayınlar sonucunda, MYOC.mt1 varyantı ve POAG'ye etkisi üzerine giderek alevlenen bir tartışma başlamıştır. Biz de, bu tartışmaya katkıda bulunmak amacıyla Türk POAG hastalarında MYOC.mt1 tek nükleotid polimorfizminin olası etkisinin araştırılmasını uygun bularak bu tez çalışmasını hazırladık.

Çalışmamızda, POAG hastalarında ve kontrol grubunu oluşturan bireylerdeki MYOC.mt1 varyantını taşıma ve allel sıklıkları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık görülmediğinden, biz de diğer bazı araştırmacılar gibi (Colomb et al., 2001; Alward et al., 2002; Copin et al., 2002; Polansky et al., 2003; Fan et al., 2004), MYOC.mt1 varyantının, tek başına, POAG için bir risk faktörü olmadığı sonucuna ulaşmış bulunuyoruz.

Çalışmanın bir diğer amacı da Türk Populasyonu ve POAG hastalarında MYOC.mt1 polimorfizminin sıklığı hakkında bilgi edinmektir. Bu konudaki bulgularımız da diğer araştırmacıların ulaştıklarına paralellik göstermektedir ve MYOC.mt1 varyantının görülme sıklığının Türk populasyonunda da diğer çalışılmış populasyonlardakine benzer olduğunu göstermektedir (POAG grubunda %27.3, kontrol grubunda %17.1). Bu güne kadar yapılan çalışmalarda, sadece Fan ve arkadaşları (2004), Çin populasyonunda farklı bir sonuca ulaşılmıştır. Fan ve arkadaşları, hem POAG hastalarında (%39,15) hem de kontrol grubunda (%36,20) MYOC.mt1 polimorfizmini daha yüksek oranlarda saptamıştır.

Elde ettiğimiz bulgulara göre, MYOC.mt1 polimorfizminde (G) allelini taşıyan POAG hastalarının glokom fenotipi ve seyri açısından, (C) allelini taşıyan hastalarla herhangi bir farkı görülmedi. Ulaştığımız bu sonuçlar, Alward ve arkadaşları (2002) ile Fan ve arkadaşlarının (2004) bulguları ile örtüşmektedir. Ancak, Colomb ve arkadaşlarının (2001) çalışmasında MYOC.mt1 promotor polimorfizmini taşıyan hastalarda, çalışmaya dahil edildikleri andaki IOP

değerlerinin daha yüksek olduğu ve bu polimorfizmin glokom tedavisine dirence neden olabileceği savunulmuştur. Bu çalışmada, çalışmaya dahil olunan andaki IOP değerlerini ve tanı ile çalışmanın başlaması arasında geçen zamanda IOP değerlerindeki değişimi hastalık fenotipi ve tedaviye verilen cevap açısından geçerli parametreler olarak kabul edilmedi. Bunun nedeni ise hastaların aynı protokol ve ilaçlarla tedavi edilmiş olmamalarıdır. Diğer taraftan, Polansky ve arkadaşları MYOC.mt1 varyantını taşıyan hastalarda tedaviye direnç açısından bir farklılık bulamamışlardır (Polansky et al., 2003). Bu açıdan, MYOC.mt1 promotor varyantının tedaviye direnç konusunda bir etkisinin olduğunu öne sürebilmek için değerlendirme sırasında, tedavide kullanılan ilaçlar mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

Colomb ve arkadaşları (2001) ile diğer araştırmacıların çalışmalarında elde edilen bulguların çelişmesi, hasta gruplarının farklı kriterlere göre seçilmelerinden kaynaklandığı düşünülebilir. Colomb ve arkadaşlarının (2001), çalışmalarında kullandıkları hasta grubu, diğer çalışmalardakinden daha genç olarak görülmektedir (ortalama 45 yaş).

Colomb ve arkadaşlarının (2001) yayınında, MYOC.mt1 polimorfizminin IOP ve görüş alanı üzerindeki etkisi, özellikle kadınlarda daha çok göze çarpmaktadır. Bu nedenle, çalışmamızda, mt1 varyantı ve cinsiyetin birlikte klinik parametreler üzerine bir etkisinin olup olmadığı da araştırıldı. Cinsiyetin tek başına ya da mt1 varyantı ile birlikte, hastalığın fenotipi ve seyri üzerinde bir etkisinin olmadığı sonucuna ulaşıldı ki, bu sonuçlar Alward ve arkadaşlarının (2002) bulgularıyla paralellik göstermektedir.

Polansky ve arkadaşlarının (2003) çalışmasında, POAG hastaları yaklaşık olarak 15 yıl takip edilmiş ve hastalığın zamana bağlı olarak ilerleyişi araştırılmıştır. Mt1 varyantını taşıyan hastalarda optik disk ve görüş alanındaki hasarların daha hızlı ilerlediği gösterilmiştir. Bu çalışmada ise, 5 yılı aşkın bir süre takip edilen mt1 taşıyıcısı hasta sayısı yeterli olmadığından zamana bağlı bir değerlendirme yapılmamıştır.

Çalışmamızda, mt1 varyantının POAG gelişimi ve seyri üzerine herhangi bir etkisi saptanmamış olsa da, göz önüne alınması gereken başka bir nokta da, bu varyantın tek başına değil, başka SNPlar ile etkileşime girerek hastalık üzerinde etki gösterme olasılığıdır. Bu konuda yapılmış bir çalışmada, APOE (-491T) polimorfizminin, MYOC.mt1 polimorfizmi ile etkileşime girdiği ve her iki varyantı birlikte taşıyan hastalarda IOPnin taşımayanlara oranla daha yüksek olduğu ve IOP düşürücü ajanlara karşı direnç meydana getirdiği yolunda bulgulara ulaşılmıştır (Copin et al., 2002). Çalışmada, her iki varyantı beraber taşıyan hastaların sayısı istatistiksel açıdan güvenilir bir analiz için yeterli olmasa da, bu dikkat çekici bir bulgudur. Bu konunun üzerine eğilmesi ve bu SNPlerin etkileşimleri ile etkileri beraber araştırılmalıdır. Bu güne kadar MYOC.mt1 varyantının promotör aktivitesi ve gen ifadesi üzerine etkisi konusunda elimizde henüz bir veri bulunmamaktadır. Mt1 varyantının ve POAG üzerine etkisi konusundaki tartışmanın netleşmesi açısından bu konuda yapılacak çalışmalara gereksinim olduğu açıkça görülmektedir.

POAG'de görülen nörodejenerasyonun apoptotik yoldan gerçekleştiğini göz önüne aldığımızda, apoptozun kontrol mekanizmalarında rol alan genlerin POAG progresyonu üzerine etkisinin ortaya çıkması şaşırtıcı olmayacaktır. Daha önce yapılan çalışmalarda, (TNF- α)-308 polimorfizminin glokom fenotipine etki ettiği, TNF- α ve Optineurin etkileşiminin glokom riski ve fenotipine etki ettiği gösterilmiştir (Funayama et al., 2004; İrkeç et al., 2005)

Bu tez çalışması, Türk POAG hastaları üzerinde MYOC polimorfizmleri konusunda yapılan ilk genetik çalışma olma özelliğindedir. Elde ettiğimiz veriler, MYOC.mt1 varyantının tek başına hastalığın oluşması için bir risk faktörü olmadığını ve çalıştığımız POAG hastalarında hastalığın fenotipi ve seyrini etkilemediğini göstermektedir. Bu ve daha önce yapılmış olan çalışmalarda POAG hastaları ve kontrol grubu bireylerde, MYOC.mt1 varyantının görülme sıklığı açısından istatistiksel bir fark olmadığı görüldüğünden bu polimorfizmin hastalık için bir risk faktörü olmadığı düşünülmektedir. Bu nedenle, MYOC.mt1 polimorfizmi için yapılacak genetik taramaların POAG riski taşıyan bireylerin önceden saptanmasında bir yararının olmayacağını söyleyebiliriz. Ancak, mt1 varyantını taşıyan POAG hastalarının glokom seyri açısından dikkatle izlenmesi yerinde

olacaktır. POAG ve MYOC.mt1 polimorfizmi arasındaki ilişki konusunda süren tartışmanın noktalanması için değişik populasyonlarda, çok sayıda bireyle çalışılması ve en önemlisi, işlevsel analiz yöntemi ile bu polimorfizmin promotor aktivitesi ve gen ifadesi üzerindeki etkisinin açığa çıkarılması gerekmektedir.

Ayrıca, son yıllarda yapılan çalışmalarda, özellikle Alzheimer gibi nörodejenaratif hastalıklarda glokom oranının da önemli ölçüde arttığı yolunda sonuçlara ulaşılmıştır (Bayer et al., 2002; Bayer et al., 2002). Bu sonuçların ışığında, bu hastalıkta rolü olan SNPler ve apoptoz kontrol mekanizmalarında rol oynayan genlerdeki polimorfizmler MYOC.mt1 varyantıyla beraber değerlendirilerek POAG üzerine etkilerinin aynı hasta grubunda araştırılması yerinde olacaktır.

KAYNAKÇA

- Abderrahim, H., Jaramillo-Babb, V.L., Zhou, Z., Vollrath, D., 1998, Characterization of the murine TIGR/myocilin gene. *Mamm. Genome* 9, 673–675.
- Adam, M.F., Belmouden, A., Binisti, P., Brlezin, A.P., Valtot, F., Blechetoille, A., Dascotte, J.-C., Copin, B., Gomez, L., Chaventre, A., Bach, J.-F., Garchon, H.-J., 1997, Recurrent mutations in a single exon encoding the evolutionarily conserved olfactomedin homology domain of TIGR in familial open-angle glaucoma. *Hum. Mol. Genet.* 12, 2091–2097.
- Ahmed, F., Torrado, M., Johnson, E., Morrison, J., Tomarev, S.I., 2001, Changes in mRNA levels of the Myoc/Tigr gene in the rat eye after experimental elevation of intraocular pressure or optic nerve transection. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 3165–3172.
- Allingham, R.R., Wiggs, J.L., De La Paz, M.A., Vollrath, D., Tallett, D.A., Broomer, B., Jones, K.H., Del Bono, E.A., Kern, J., Patterson, K., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., 1998, Gln368STOP myocilin mutation in families with late-onset primary open-angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 39, 2288–2295.
- Alward, W.L., Fingert, J.H., Coote, M.A., Johnson, A.T., Lerner, S.F., Junqua, D., Durcan, F.J., McCartney, P.J., Mackey, D.A., Sheffield, V.C., Stone, E.M., 1998, Clinical features associated with mutations in the chromosome 1 open-angle glaucoma gene. *N. Engl. J. Med.* 338, 1022–1027.
- Alward, W.L., Kwon, Y.H., Khanna, C.L., Johnson, A.T., Hayreh, S.S., Zimmerman, M.B., Narkiewicz, J., Andorf, J.L., Moore, P.A., Fingert, J.H., Sheffield, V.C., Stone, E.M., 2002, Variations in the myocilin gene in patients with open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 120:1189-97.

- Anderson, D.R., 1989, Glaucoma: the damage caused by pressure. XLVI Edward Jackson memorial lecture. *Am J Ophthalmol* 108:485-95.
- Angius, A., De Gioia, E., Loi, A., Fossaello, M., Sole, G., Orzalesi, N., Grignolo, F., Cao, P., Pirastu, M., 1998, A novel mutation in the GLC1A gene causes juvenile open-angle glaucoma in 4 families from the Italian region of Puglia. *Arch. Ophthalmol.* 116, 793–797.
- Angius, A., Spinelli, P., Ghilotti, G., Casu, G., Sole, G., Loi, A., Totaro, A., Zelante, L., Gasparini, P., Orzalesi, N., Pirastu, M., Bonomi, L., 2000, Myocilin Gln368stop mutation and advanced age as risk factors for late-onset primary open-angle glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 118, 674–679.
- Aung, T., Ebenezer N.D., Brice, G, Child, A.H., Prescott, Q, Lehman, O.J., Hitchings, R.A., Bhattacharya, S.S., 2003, Prevalence of optineurin sequence variants in adult primary open angle glaucoma: implications for diagnostic testing. *J. Med. Genet.* 40:e101.
- Baird, P.N., Richardson, A.J., Craig, J.E., Mackey, D.A., Rochtchina, E, Mitchell, P., 2004, Analysis of optineurin (OPTN) gene mutations in subjects with and without glaucoma: the Blue Mountains Eye Study. *Clin. Experiment. Ophthalmol.* 32:518–22
- Baird, P.N., Foote, S.J., Mackey, D.A., Craig, J, Speed, T.P., Bureau, A., 2005, Evidence for a novel glaucoma locus at chromosome 3p21-22. *Hum Genet* 117:249-57.
- Bayer, A.U., Ferrari, F, Erb, C., 2002, High occurrence rate of glaucoma among patients with Alzheimer's disease. *Eur Neurol.* 47 (3):165-8.
- Bayer, A.U., Keller, O.N., Ferrari, F, Maag, K.P., 2002, Association of glaucoma with neurodegenerative diseases with apoptotic cell death:

Alzheimer's disease and Parkinson's disease. *Am J Ophthalmol.* 133 (1):135-7.

Brezin, A.P., Adam, M.F., Belmouden, A., Lureau, M.A., Chaventre, A., Copin, B., Gomez, L., De Dinechin, S.D., Berkani, M., Valtot, F., Rouland, J.F., Dascotte, J.C., Bach, J.F., Garchon, H.J., 1998, Founder effect in GLC1A-linked familial open-angle glaucoma in northern France. *Am. J. Med. Genet.* 76, 438–445.

Buhrmann, R.R., Quigley, H.A., Baron, Y, West, S.K., Oliva, M.S., Mmbaga, B.B., 2000, Prevalence of glaucoma in a rural East African population. *Invest Ophthalmol Vis. Sci.* 41:40–8.

Chakrabarti, S, Kaur, K, Komatireddy, S, Acharya, M, Devi, K.R., Mukhopadhyay, A, Mandal, A.K., Hasnain, S.E., Chandrasekhar, G, Thomas, R, Ray, K., 2005, Gln48His is the prevalent myocilin mutation in primary open angle and primary congenital glaucoma phenotypes in India. *Mol Vis* 11:111-3

Clark, A.F., Kawase, K., English-Wright, S., Lane, D., Steely, H.T., Yamamoto, T., Kitazawa, Y., Kwon, Y.H., Fingert, J.H., Swiderski, R.E., Mullins, R.F., Hageman, G.S., Alward, W.L., Sheffield, V.C., Stone, E.M., 2001, Expression of the glaucoma gene myocilin (MYOC) in the human optic nerve head. *FASEB J.* 15, 1251–1253.

Cohen, C.S., Allingham, R.R., 2004, The dawn of genetic testing for glaucoma. *Curr Opin Ophthalmol.* 15 (2):75-9

Colomb, E, Nguyen, T.D., Bechetoille, A, Dascotte, J.C., Valtot, F, Brezin, A.P., Berkani, M, Copin, B, Gomez, L, Polansky, J.R., Garchon, H.J., 2001, Association of a single nucleotide polymorphism in the TIGR/MYOCILIN gene promoter with the severity of primary open-angle glaucoma. *Clinical Genet.* 60:220-5.

- Copin, B, Brezin, A.P., Valtot, F., Dascotte, J.C., Bechetoille, A., Garchon, H.J., 2002, Apolipoprotein E-promoter single-nucleotide polymorphisms affect the phenotype of primary open-angle glaucoma and demonstrate interaction with the myocilin gene. *Am J Hum Genet* 70:1575-81.
- Dickens, C.J, Hoskins, H.D.J., 1996, Epidemiology and pathophysiology of congenital glaucoma. *The Glaucomas*. Mosby, St. Louis, pp 729–738
- Fan, B.J., Leung, Y.F., Pang, C.P., Fan, D.S., Wang, D.Y., Tong, W.C., Tam, P.O., Chua, J.K., Lau, T.C., Lam, D.S., 2004, Polymorphisms in the myocilin promoter unrelated to the risk and severity of primary openangle glaucoma. *J Glaucoma* 13:377-84.
- Fautsch, M.P, Johnson, D.H., 2001, Characterization of myocilin–myocilin interactions. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 2324–2331.
- Fingert, J.H, Ying, L., Swiderski, R., Nystuen, A.M., Arbour, N.C., Alward, W.L.M., Sheffield, V.C., Stone, E.M., 1998, Characterization and comparison of the human and mouse GLC1A glaucoma genes. *Genome Res.* 8, 377–384.
- Fingert, J.H, Heon, E, Liebmann, J.M., Yamamoto, T, Craig, J.E., Rait, J, Kawase, K, Hoh, S.T., Buys, Y.M., Dickinson, J, Hockey, R.R., Williams-Lyn, D, Trope, G, Kitazawa, Y, Ritch, R, Mackey, D.A., Alward, W.L., Sheffield, V.C., Stone, E.M., 1999, Analysis of myocilin mutations in 1703 glaucoma patients from five different populations. *Hum Mol Genet* 8:899-905.
- Fingert, J.H, Clark, A.F., Craig, J.E., Alward, W.L., Snibson, G.R., McLaughlin, M., Tuttle, L., Mackey, D.A., Sheffield, V.C., Stone, E.M., 2001, Evaluation of the myocilin (MYOC) glaucoma gene in monkey and

human steroid-induced ocular hypertension. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 145–152.

Funayama, T, Ishikawa, K., Ohtake, Y., Tanino, T., Kurosaka, D., Kimura, I., Suzuki, K., Ideta, H., Nakamoto, K., Yasuda, N., Fujimaki, T., Murakami, A., Asaoka, R., Hotta, Y., Tanihara, H., Kanamoto, T., Mishima, H., Fukuchi, T., Abe, H., Iwata, T., Shimada, N., Kudoh, J., Shimizu, N., Mashima, Y., 2004, Variants in optineurin gene and their association with tumor necrosis factor-alpha polymorphisms in Japanese patients with glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 45:4359-67.

Irkec, M.T., Bozkurt, B., Mesci, L., Bulur, B., Ersoy, F., Sanal, O., Orhan, M., Arslan, U., Tezcan, I., 2005, TNF-alpha and IL-10 Gene Polymorphisms in Turkish Glaucoma Patients. *ARVO Annual Meeting; Fort Lauderdale (FL)*

Johnson, A.T., Alward, W.L.M, Sheffield, V.C., Stone, E.M., 1996, *Genetics and Glaucoma, The Glaucomas, Vol. 1.* St. Louis, Mosby Year Book, Inc., pp 39–54

Johnson, D.H., 2000, Myocilin and glaucoma: A TIGR by the tail? *Arch Ophthalmol* 118: 974–978,

Karali, A., Russell, P., Stefani, F.H., Tamm, E.R., 2000, Localization of myocilin/trabecular meshwork inducible glucocorticoid response protein in the human eye. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 729–740

Kee, C., Ahn, B.H., 1997, TIGR gene in primary open-angle glaucoma and steroid-induced glaucoma. *Korean J. Ophthalmol.* 11, 75–78

Kennan, A.M., Mansergh, F.C., Fingert, J.H., Clark, T., Ayuso, C., Kenna, P.F., Humphries, P., Farrar, G.J., 1998, A novel Asp380Ala mutation in the GLC1A/myocilin gene in a family with juvenile onset primary open angle glaucoma. *J. Med. Genet.* 35, 957–960.

- Kim, B.S., Savinova, O.V., Reedy, M.V., Martin, J., Lun, Y., Gan, L., Smith, R.S., Tomarev, S.I., John, S.W., Johnson, R.L., 2001, Targeted disruption of the myocilin gene (*Myoc*) suggests that human glaucoma-causing mutations are gain of function. *Mol. Cell Biol.* 21, 7707–7713
- Kubota, R., Noda, S., Wang, Y., Minoshima, S., Asakawa, S., Kudoh, J., Mashima, Y., Oguchi, Y., Shimizu, N., 1997, A novel myosinlike protein (myocilin) expressed in the connecting cilium of the photoreceptor: molecular cloning, tissue expression and chromosomal mapping. *Genomics* 41, 360–369.
- Kupfer C, Kaiser-Kupfer M.I., 1979, Observations on the development of the anterior chamber angle with reference to the pathogenesis of congenital glaucomas. *Am J Ophthalmol* 88: 424–426.
- Lam, D.S., Leung, Y.F., Chua, J.K., Baum, L., Fan, D.S., Choy, K.W., Pang, C.P., 2000, Truncations in the TIGR gene in individuals with and without primary open-angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 1386–1391.
- Leung, Y.F., Fan, B.J., Lam, D.S., Lee, W.S., Tam, P.O., Chua, John K.H., Tham Clement, C-Y., Lai, Jimmy S.M., Fan, Dorothy S.P., Pang, C.P., 2003, Different optineurin mutation pattern in primary open-angle glaucoma. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 44:3880–84
- Libby, Richard T., Douglas, B., Gould, Michael G. Anderson, Simon W.M. John, 2005, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 6:15–44
- Mansergh, F.C., Kenna, P.F., Ayuso, C., Kiang, A.S., Humphries, P., Farrrrar, G.J., 1998, Novel mutations in the TIGR gene in early and late onset open angle glaucoma. *Hum. Mutat.* 11, 244–251

- Mardin, C.Y., Velten, I., Ozbey, S., Rautenstrauss, B., Michels-Rautenstrauss, K., 1999, A GLC1A gene Gln368Stop mutation in a patient with normal-tension open-angle glaucoma. *J. Glaucoma.* 8, 154–156
- Martin, M.J., Sommer, A, Gold, E.B., Diamond, E.L., 1985, Race and primary open-angle glaucoma. *Am J Ophthalmol* 99:383–7.
- Michels-Rautenstrauss, K.G., Mardin, C.Y., Budde, W.M., Liehr, T., Polansky, J., Nguyen, T., Timmerman, V., Van Broeckhoven, C., Naumann, G.O.H., Pfeiffer, R.A., Rautenstrauss, B.W., 1998, Juvenile open angle glaucoma: fine mapping of the TIGR gene to 1q24.3-q25.2 and mutation analysis. *Hum. Genet.* 102, 103–106.
- Michels-Rautenstrauss K., Mardin C., Wakili N., Junemann A.M., Villalobos L., Mejia C., Soley G.C., Azofeifa J., Ozbey S., Naumann G.O., Reis A., Rautenstrauss B., 2002, Novel mutations in the MYOC/GLC1A gene in a large group of glaucoma patients. *Hum Mutat* 20:479-80
- Monemi, S., Spaeth, G., DaSilva, A., Popinchalk, S., Ilitchev, E., Liebmann, J., Ritch, R., Héon, E., Crick, R.P., Child, A., Sarfarazi, M., 2005, Identification of a novel adult-onset primary open-angle glaucoma (POAG) gene on 5q22.1. *Hum Mol Genet.* 14 (6):725-33.
- Newell, F.W., 1986, *Ophthalmology: principles and concepts.* St Louis, C.V. Mosby Company.
- Nguyen, T.D., Chen, P., Huang, W.D., Chen, H., Johnson, D., Polansky, J.R., 1998, Gene structure and properties of TIGR, an olfactomedin-related glycoprotein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells. *J. Biol. Chem.* 273, 6341–6350
- O'Brien, T.E., Metheney, C.D., Polansky, J.R., 1999, Immunofluorescence method for quantifying the trabecular meshwork glucocorticoid response (TIGR) protein in trabecular meshwork and Schlemm's canal cells. *Curr. Eye Res.* 19, 517–524

- Ortego, J., Escribano, J., Coca-Prados, M., 1997, Cloning and characterization of subtracted cDNAs from human ciliary body library encoding TIGR, a protein involved in juvenile open angle glaucoma with homology to myosin and olfactomedin. *FEBS Lett.* 413, 349–353
- Polansky, J.R., Fauss, D.J., Chen, P., Chen, H., Lutjen-Drecoll, E., Johnson, D., Kurtz, R.M., Ma, Z.-D., Bloom, E., Nguyen, T.D., 1997, Cellular pharmacology and molecular biology of the trabecular meshwork inducible glucocorticoid response (TIGR) gene product. *Ophthalmologica* 211, 126–139.
- Polansky, J.R., Juster, R.P., Spaeth, G.L., 2003, Association of the myocilin mt.1 promoter variant with the worsening of glaucomatous disease over time. *Clin Genet* 64:18-27.
- Quigley, H.A., 1993, Open-angle glaucoma. *N Engl J Med* 328:1097-106.
- Quigley, H.A. and Broman, A.T., 2006, The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. *British Journal of Ophthalmology* 90:262-267.
- Ray, Kunal, Arijit Mukhopadhyay and Moulinath Acharya, 2003, Recent advances in molecular genetics of glaucoma *Molecular and Cellular Biochemistry* 253: 223–231.
- Rezaie, T., Child, A., Hitchings, R., Brice, G., Miller, L., Coca-Prados, M., Héon, E., Krupin, T., Ritch, R., Kreutzer, D., Crick, R.P., Sarfarazi, M., 2002, Adult-onset primary open-angle glaucoma caused by mutations in optineurin. *Science* 295:1077–79.
- Ricard, C.S., Agapova, O.A., Salvador-Silva, M., Kaufman, P.L., Hernandez, M.R., 2001, Expression of myocilin/TIGR in normal and glaucomatous primate optic nerves. *Exp. Eye Res.* 73, 433–447.

- Richards, J.E., Ritch, R., Lichter, P.R., Rozsa, F.W., Stringham, H.M., Caronia, R.M., Johnson, D., Abundo, G.P., Willcockson, J., Downs, C.A., Thompson, D.A., Musarella, M.A., Gupta, N., Othman, M.I., Torrez, D.M., Herman, S.B., Wong, D.J., Higashi, M., Boehnke, M., 1998, Novel trabecular meshwork inducible glucocorticoid response mutation in an eight-generation juvenileonset primary open-angle glaucoma pedigree. *Ophthalmology* 105, 1698–1707.
- Russell, P., Tamm, E.R., Grehn, F.J., Picht, G., Johnson, M., 2001, The presence and properties of myocilin in the aqueous humor. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 42, 983–986.
- Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B. and Erlich, H.A., 1988, Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase, *Science* 239, 487-491.
- Samples, J.R., Kitsos, G., Economou-Petersen, E., Steinkamp, P., Sykes, R., Rust, K., Patzer, C., Grigoriadou, M., Aperis, G., Psilas, K., Petersen, M.B., Wirtz, M.K., 2004, Refining the primary open-angle glaucoma GLC1C region on chromosome 3 by haplotype analysis. *Clin Genet* 65:40-4.
- Sarfarazi, M., 1997, Recent advances in molecular genetics of glaucomas. *Hum Mol Genet* 6: 1667–1677.
- Sarfarazi, M, Child, A., Stoilova, D., Brice, G., Desai, T., Trifan, O.C., Poinosawmy, D., Crick, R.P., 1998, Localization of the fourth locus (GLC1E) for adult-onset primary open-angle glaucoma to the 10p15-p14 region. *Am J Hum Genet* 62:641-52.
- Shimizu, S., Lichter, P.R., Johnson, A.T., Zhou, Z., Higashi, M., Gottfredsdottir, M., Othman, M., Moroi, S.E., Rozsa, F.W., Schertzer, R.M., Clarke, M.S., Schwartz, A.L., Downs, C.A., Vollrath, D., Richards, J.E., 2000, Age-

dependent prevalence of mutations at the GLC1A locus in primary open-angle glaucoma. *Am. J. Ophthalmol.* 130, 165–177.

Sommer, A, Tielsch, JM, Katz, J, Quigley, H.A., Gottsch, J.D., Javitt, J.C., Martone, J.F., Royall, R.M., Witt, K.A., Ezrine, S., 1999, Racial differences in the cause-specific prevalence of blindness in east Baltimore. *N Engl J Med* 325:1412–7.

Stamer, W.D., Roberts, B.C., Howell, D.N., Epstein, D.L., 1998, Isolation, culture, and characterization of endothelial cells from Schlemm's canal. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 39, 1804–1812.

Stoilova, D., Child, A., Trifan, O.C., Crick, R.P., Coakes, R.L., Sarfarazi, M., 1996, Localization of a locus (GLC1B) for adult-onset primary open angle glaucoma to the 2cen-q13 region. *Genomics* 36:142-50.

Stoilova, D., Child, A., Brice, G., Crick, R.P., Fleck, B.W., Sarfarazi, M., 1997, Identification of a new “TIGR” mutation in a family with juvenile-onset primary open angle glaucoma. *Ophthalmic. Genet.* 18, 109–118.

Stoilova, D., Child, A., Brice, G., Desai, T., Barsoum-Homsy, M., Ozdemir, N., Chevrette, L., Adam, M.F., Garchon, H.J., Pitts, C.R., Sarfarazi, M., 1998, Novel TIGR/MYOC mutations in families with juvenile onset primary open angle glaucoma. *J. Med. Genet.* 35, 989–92.

Stone, E.M., Fingert, J.H., Alward, W.L., Nguyen, T.D., Polansky, J.R., Sunden, S.L., Nishimura D, Clark, A.F., Nystuen, A, Nichols, B.E., Mackey, D.A., Ritch, R, Kalenak, J.W., Craven, E.R., Sheffield, V.C., 1997, Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma. *Science* 275:668-70.

- Suzuki, Y., Shirato, S., Taniguchi, F., Ohara, K., Nishimaki, K., Ohta, S., 1997, Mutations in the TIGR gene in familial primary openangle glaucoma in Japan. *Am. J. Hum. Genet.* 61, 1202–1204.
- Takahashi, H., Noda, S., Imamura, Y., Nagasawa, A., Kubota, R., Mashima, Y., Kudoh, J., Oguchi, Y., Shimizu, N., 1998, Mouse myocilin (Myoc) gene expression in ocular tissues. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 248, 104–109.
- Tamm, E., Russell, P., Epstein, D.L., Johnson, D.H., Piatigorsky, J., 1999, Modulation of myocilin/TIGR expression in human trabecular meshwork. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 40, 2577–2582.
- Tamm, Ernst R., 2002, Myocilin and glaucoma: facts and ideas *Progress in Retinal and Eye Research* 21 395–428.
- Tang, S., Toda, Y., Kashiwagi, K., Mabuchi F., Iijima H., Tsukahara, S., Yamagata, Z., 2003, The association between Japanese primary open-angle glaucoma and normal tension glaucoma patients and the optineurin gene. *Hum.Genet.* 113:276–79.
- Taniguchi, F., Suzuki, Y., Kurihara, H., Kurihara, Y., Kasai, H., Shirato, S., Araie, M., 2000, Molecular cloning of the bovine MYOC and induction of its expression in trabecular meshwork cells. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 41, 2070–2075.
- Tielsch, J.M., Sommer, A., Katz, J., Royall, R.M., Quigley, H.A., Javitt, J., 1991, Racial variations in the prevalence of primary open-angle glaucoma. The Baltimore Eye Survey. *JAMA* 266:369–74.
- Toda, Y., Tang, S., Kashiwagi, K., Mabuchi, F., Iijima, H., Tsukahara, S., Yamagata, Z., 2004, Mutations in the optineurin gene in Japanese patients with primary open-angle glaucoma and normal tension glaucoma. *Am. J. Med.Genet.* 125A:1–4

- Tomarev, S.I., Tamm, E.R., Chang, B., 1998, Characterization of the mouse *myoc/tigr* gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 245, 887–893.
- Trifan, O.C., Traboulsi, E.I., Stoilova, D., Alozie, I., Nguyen, R., Raja, S., Sarfarazi, M., 1998, A third locus (GLC1D) for adult-onset primary open-angle glaucoma maps to the 8q23 region. *Am J Ophthalmol* 126:17-28.
- Wiggs, J.L., Allingham, R.R., Vollrath, D., Jones, K.H., De La Paz, M, Kern, J., Patterson, K., Babb, V.L., Del Bono, E.A., Broomer, B.W., Pericak-Vance M.A., Haines, J.L., 1998, Prevalence of mutations in TIGR/Myocilin in patients with adult and juvenile primary open-angle glaucoma (letter). *Am J Hum Genet* 63: 1549–1552,
- Wiggs, J.L., Auguste, J., Allingham, R.R., Flor, J.D., Pericak-Vance, M.A., Rogers, K., Larocque, K.R., Graham, F.L., Broomer, B., Del Bono, E., Haines, J.L., Hauser, M., 2003, Lack of Association of mutations in optineurin with disease in patients with adult-onset primary open-angle glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* 121:1181–83
- Wilensky, J.T., Gandhi, N., Pan, T., 1978, Racial influences in openangle glaucoma. *Ann Ophthalmol* 10:1398–1402.
- Willoughby, C.E., Chan, L.L., Herd, S., Billingsley, G., Noordeh, N., Levin, A.V., Buys, Y., Trope, G., Sarfarazi, M., Héon, E., 2004, Defining the pathogenicity of optineurin in juvenile open-angle glaucoma. *Invest.Ophthalmol. Vis. Sci.* 45:3122–30.
- Wirtz, M.K., Samples, J.R., Kramer, P.L., Rust, K., Topinka, J.R., Yount, J., Koler, R.D., Acott, T.S., 1997, Mapping a gene for adult-onset primary open-angle glaucoma to chromosome 3q. *Am J Hum Genet* 60:296-304.

Wirtz, M.K., Samples, J.R., Rust, K., Lie, J., Nordling, L., Schilling, K., Acott, T.S., Kramer, P.L., 1999, GLC1F, a new primary open-angle glaucoma locus, maps to 7q35-q36. *Arch Ophthalmol* 117:237-41.

Wormald, R.P., Basauri, E., Wright, L.A., Evans, J.R., 1994, The African Caribbean Eye Survey: risk factors for glaucoma in a sample of African Caribbean people living in London. *Eye* 8:315–20.

Yen, M.Y., Yen, T.C., Pong, C.Y., Liu, J.H., Wei, Y.H., 1992, Mitochondrial DNA mutaiton in Leber's hereditary optic neuropathy. *Invest. Ophthalmol Vis Sci.* 33, 2561-2566.



an
academic
web site of the



In
association
with



This service is provided free to academic non-profit institutions. ALL other users require a Commercial License from [XenneX, Inc.](#) Unauthorized usage of this service is in breach of the terms and conditions of this web site, and may cause the user to incur fees for usage.

GeneCard for protein-coding *MYOC*
GC01M168336

myocilin, trabecular meshwork inducible glucocorticoid response

Symbol approved by the [HUGO Gene Nomenclature Committee \(HGNC\) database](#)

(Previous symbol: **GLC1A**)

Aliases

GLC1A^{2,3,5,6}
GPOA^{2,6}
JOAG^{2,6}
JOAG1^{1,2}
TIGR^{1,2,3,5,6}
myocilin²

Descriptions

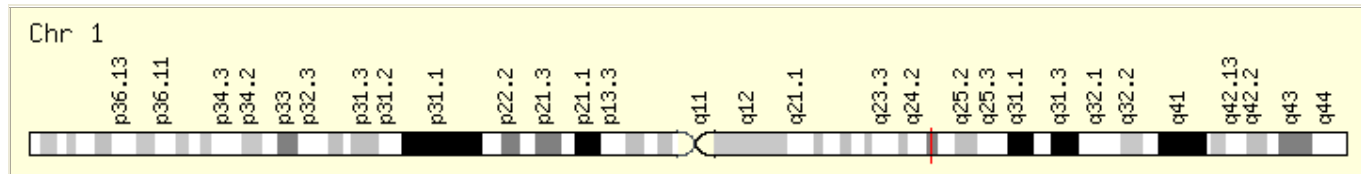
Myocilin precursor³
Trabecular meshwork-induced glucocorticoid response protein³
glaucoma 1, open angle⁵
myocilin, trabecular meshwork inducible glucocorticoid response^{1,5}

Previous GC identifiers: GC01M169168 GC01M167233 GC01M168185 GC01M168843

Chromosome: **1**

Entrez Gene cytogenetic band: [1q23-q24](#) Ensembl cytogenetic band: [1q24.3](#)

Gene in genomic location: bands according to Ensembl, locations according to [GeneLoc](#) (and/or [Entrez Gene](#) and/or [Ensembl](#) if different)



[GeneLoc gene densities for chromosome 1](#)

[GeneLoc location for GC01M168336:](#)

Start: 168,336,216 bp from *pter*

End: 168,353,468 bp from *pter*

Size: 17,252 bases

Orientation: minus strand

RefSeq genomic assemblies:

[NC_000001.8](#) [NT_004487.17](#) [NT_086598.1](#)

UniProt/Swiss-Prot: [MYOC HUMAN, Q99972](#) ([See protein sequence](#))

- **Size:** 504 amino acids; 56972 Da
- **Subunit:** Homodimer. Interacts with OLFM3.
- **Subcellular location:** Located preferentially in the ciliary rootlet and basal body of the connecting cilium of photoreceptor cells, and in the rough endoplasmic reticulum. Also secreted.

Post-translational modifications:

- Glycosylated.¹
- Search [PhosphoSite](#)² for phosphorylation sites.

REFSEQ proteins: [NP_000252.1](#)

ENSEMBL proteins:

[ENSP00000037502](#) [ENSP000000350381](#)

3 Gene Ontology (GO) cellular component terms:

[GO:0005783](#) endoplasmic reticulum
[GO:0005929](#) cilium
[GO:0016020](#) membrane

Antibodies for MYOC:



[Search Cell Signaling Technology for Antibodies and Assays.](#)



Search for antibodies at [Abcam and the World's Antibody Gateway](#) (free search engine of over 150 antibody companies).

2 InterPro domains/families:

[IPR003112](#) Olfac_like
[IPR003924](#) Latrphl_receptor

ProtoNet protein and cluster: [Q99972](#)

1 Blocks protein family: [IPB003112](#) Olfactomedin-like

UniProt/Swiss-Prot: [MYOC_HUMAN,Q99972](#)

- **Similarity:** Contains 1 olfactomedin-like domain.

UniProt/Swiss-Prot: [MYOC_HUMAN,Q99972](#)

- **Function:** May participate in the obstruction of fluid outflow in the trabecular meshwork.

Genatlas biochemistry entry for MYOC:

myocilin, cytoskeleton protein with multiple post-translational forms, cellular (55kDa) and secreted 55/66kDa, expressed in ciliated cells of cochlea and involved in the morphogenesis of ciliary body, a major organizing center of the ciliated epithelium, also expressed in iris, sclera, neural retina, heart, skeletal muscle, olfactory neuroepithelium (homolog of frog neuronal olfactomedin related protein)

1 MGI mutant phenotype (inferred from 2 alleles) for [Myoc](#)

2 Gene Ontology (GO) molecular function terms

[GO:0005198](#) structural molecule activity

[GO:0016524](#) latrotoxin receptor activity

2 Gene Ontology (GO) biological process terms (links to tree view):

[GO:0007601](#) visual perception

[GO:0009653](#) morphogenesis

10/21 bioalma chemical compound relationships

Compound	Score	Articles	PubMed IDs for Articles with Shared Sentences (# sentences)
gluco-corticoid	103.06	2	10878948 (1), 9361308 (1)
glucocorticoid	65.74	54	11726619 (3), 10459044 (2), 10550794 (2), 12618402 (2) (<i>see all 51</i>)
latrotoxin	57.14	2	
dexamethasone	28.01	22	10892845 (2), 16043859 (2), 10990486 (1), 11053284 (1) (<i>see all 14</i>)
leucine	25.46	15	11773029 (1), 12118081 (1), 12219254 (1), 12714629 (1) (<i>see all 9</i>)
latanoprost	13.62	2	
hyaluronic acid	9.06	3	14578398 (1), 9497363 (1)
nucleotide	8.48	16	12126543 (2), 14767915 (2), 11595024 (1), 16409756 (1) (<i>see all 7</i>)
asparagine	8.39	3	9556305 (1), 9754180 (1)
polyacrylamide	8.26	5	11431441 (1)

REFSEQ mRNAs:

[NM_000261.1](#)

Additional cDNA sequence:

[AF001620.1](#) [AK097310.1](#) [BC029261.1](#) [D88214.1](#) [U85257.1](#)

4 DOTS entries:

[DT.111574](#) [DT.70102306](#) [DT.95158302](#) [DT.97823994](#)

24/95 AceView cDNA sequences (see all 95):

[AF001620](#) [AI971049](#) [AW292263](#) [AW772701](#) [BC029261](#) [BF063281](#) [BF725009](#) [BF726094](#)
[BI821411](#) [BM707284](#) [BM709269](#) [BP342027](#) [BP343359](#) [BU727147](#) [CA391298](#) [CA391750](#)
[CD678994](#) [CD679214](#) [CD679237](#) [NM_000261](#) [CA395272](#) [CA395551](#) [CD676728](#) [CD676838](#)

GeneTide highest scoring ESTs for MYOC:

[AF001620](#) [AK097310](#) [BC029261](#) [BF725009](#) [BF726094](#) [BI818249](#) [BI821411](#) [BX483934](#) [CA391298](#) [CA391750](#)

Unigene Cluster for MYOC:

Myocilin, trabecular meshwork inducible glucocorticoid response

[Hs.436037](#)

Unigene Representative Sequence: [BC029261](#)

Orthologs from 5 species

Organism	Gene	Locus	Description	Human Similarity	NCBI accessions
dog (Canis familiaris)	MYOC ¹	--	myocilin	84.55(n) 83.4(a)	490344 XM_547465.2 XP_547465.2
chimpanzee (Pan troglodytes)	MYOC ¹	--	myocilin	95.06(n) 94.44(a)	457511 XM_513995.1 XP_513995.1
rat (Rattus norvegicus)	Myoc ¹	--	myocilin	81.56(n) 81.36(a)	81523 XM_579496.1 XP_579496.1
mouse (Mus musculus)	Myoc ^{1,4}	1 (83.60 cM) ⁴	myocilin ^{1,4}	82.99(n) ¹ 82.04(a) ¹	17926 ¹ NM_010865.2 ¹ NP_034995.2 ¹ AB013592 ⁴ AF039869 ⁴
African clawed frog (Xenopus laevis)	XI.23015 ^{1~}	--	Xenopus laevis transcribed sequence with weak similarity	75.83(n)	BJ031036.1

No similarity-to-human data found for MYOC in HomoloGene for: *Sus scrofa, Bos taurus, Gallus gallus, Danio rerio, Drosophila melanogaster, Caenorhabditis elegans, Saccharomyces cerevisiae, Silurana tropicalis, Oncorhynchus mykiss, Anopheles gambiae, Arabidopsis thaliana, Chlamydomonas reinhardtii, Glycine max, Hordeum vulgare, Lycopersicon esculentum, Magnaporthe grisea, Oryza sativa, Saccharum officinarum, Pinus taeda, Zea mays, Triticum aestivum, Vitis vinifera, Neurospora crassa, Schizosaccharomyces pombe, Ciona intestinalis, Dictyostelium discoideum, Eremothecium gossypii, Kluyveromyces lactis, Medicago truncatula, Plasmodium falciparum, Schistosoma mansoni, Sorghum bicolor, Toxoplasma gondii*

10/109 NCBI SNPs are shown

AB	Genomic Data				Transcription Data				Allele Frequencies				
	SNP ID	Valid	Chr 1 pos	Sequence	Recs	AA Chg	Type	More	Recs	Allele freq	Pop	Total sample	More
	rs2032555 ^{1,2}	C,F,O,A,H	168339359(+)	ATAAAAGACCAC/TGTGGGCACAA	1	--	int		0	--	--	--	--
	rs235877 ^{1,2}	C,F,O,A,H	168345962(-)	CAGTCATACCA/GCCTATGGacg	1	--	int		0	--	--	--	--
	rs235869 ^{1,2}	C,F,O,A	168342616(-)	CTGTGTAGGCG/TCTCCGGCCTC	1	--	int		0	--	--	--	--
	rs235917 ^{1,2}	C,F,A,H	168352236(-)	TTTTAAGTCAC/TCAGACAAATT	1	--	int		0	--	--	--	--
	rs235874 ^{1,2}	C,F,O,A	168345173(-)	CGGTAAGTTGC/TTAAATTAAAT	1	--	int		0	--	--	--	--
	rs2236875 ^{1,2}	C,F,O,A	168346340(+)	TGGAGTTCACG/TTCTATCTATA	1	--	int		0	--	--	--	--
	rs235919 ^{1,2}	C,F,O,A	168352439(-)	GATTGTTATTC/TGTACCTTTTG	1	--	int		0	--	--	--	--

rs6425364 ^{1,2}	C,F,A,H	168349365(+)	AACAAAGCAGG/TCCCTTCTCTTG	1	--	int		0	--	--	--	--
rs183532 ^{1,2}	C,F,O,A	168341138(-)	CATGTAGCACAA/GCCATGATCAC	1	--	int		0	--	--	--	--
rs235878 ^{1,2}	C,F,O,A	168346789(-)	CTGGCCTTGCA/CGTCATCCTGG	1	--	int		0	--	--	--	--
rs235871 ^{1,2}	C,F,O,A	168343599(-)	TCAATAGGTGC/TCCAATGATG	1	--	int		0	--	--	--	--

All NCBI SNPs in [MYOC](#)

OMIM: [601652](#)

search databases for these OMIM-named disorders:

[Glaucoma 1A, primary open angle, juvenile-onset](#)

UniProt/Swiss-Prot: [MYOC HUMAN, Q99972](#)

- Disease:** Defects in MYOC are a cause of adult-onset primary open angle glaucoma (POAG) [MIM:137760]; also called hereditary adult glaucoma or chronic open angle glaucoma (COAG). POAG is a highly prevalent cause of irreversible blindness. It is characterized by cupping of the optic disk and alteration of the visual field. Elevation of intraocular pressure is often present and is a major risk factor. The disease is painless and often diagnosed at a late stage, when visual field defects are severe.
- Disease:** Defects in MYOC are a cause of juvenile-onset primary open angle glaucoma (JOAG) [MIM:137750]; also called open angle glaucoma 1 A (GLC1A) or hereditary juvenile glaucoma.

10/27 bioalma disease relationships

Disease	Score	Articles	PubMed IDs for Articles with Shared Sentences (# sentences)
glaucoma, primary open angle, juvenile-onset	1107.40	46	8684791 (9), 8882876 (6), 9548973 (6), 9222961 (6)
glaucoma open-angle	401.82	112	8684791 (5), 12504739 (3), 9535666 (3), 9639450 (3)
primary open angle glaucoma	383.67	58	10878948 (3), 10340788 (2), 12447164 (2), 15547491 (2)
glaucoma syndrome	281.53	167	15456875 (8), 11152659 (5), 8684791 (5), 12697062 (5)
glaucoma, primary open angle, adult-onset	189.36	3	10878949 (1), 15069026 (1)
ocular hypertension	109.16	23	11133859 (3), 11431441 (2), 9222961 (2), 11815346 (2)
intraocular pressure disorder	102.63	55	11152659 (2), 11006234 (1), 11803488 (1), 11992263 (1)

aqueous humor disorders	101.20	28	16384965 (6), 11152659 (4), 11527946 (4), 15235575 (4)
corticosteroid-induced glaucoma	95.41	2	15194423 (1)
hydrophthalmos	79.34	9	9300658 (2), 10180507 (1), 10878949 (1), 11774072 (1)

--

10/141 PubMed articles:

the following papers are cited by 4 GeneCards sources:

- [A novel myosin-like protein \(myocilin\) expressed in the connecting cilium of the photoreceptor: molecular cloning, tissue expression, and chromosomal mapping.](#) Kubota R. ... Shimizu N. (1997)

the following papers are cited by 3 GeneCards sources:

- [Optimedin: a novel olfactomedin-related protein that interacts with myocilin.](#) Torrado M. ... Tomarev S.I. (2002)
- [Gene structure and properties of TIGR, an olfactomedin-related glycoprotein cloned from glucocorticoid-induced trabecular meshwork cells.](#) Nguyen T.D. ... Polansky J.R. (1998)
- [Characterization and comparison of the human and mouse GLC1A glaucoma genes.](#) Fingert J.H. ... Stone E.M. (1998)
- [Identification of a gene that causes primary open angle glaucoma.](#) Stone E.M. ... Sheffield V.C. (1997)
- [Recurrent mutations in a single exon encoding the evolutionarily conserved olfactomedin-homology domain of TIGR in familial open-angle glaucoma.](#) Adam M.F. ... Garchon H.-J. (1997)

the following papers are cited by 2 GeneCards sources:

- [Novel myocilin mutation in a chinese family with juvenile-onset open- angle glaucoma.](#) Fan B.J. ... Pang C.P. (2006)
- [Extracellular trafficking of myocilin in human trabecular meshwork cells.](#) Hardy K.M. ... Stamer W.D. (2005)
- [Myocilin binding to Hep II domain of fibronectin inhibits cell spreading andincorporation of paxillin into focal adhesions.](#) Peters D.M. ... Peterson J.A. (2005)
- [Myocilin mutations causing glaucoma inhibit the intracellular endoproteolyticcleavage of myocilin between amino acids Arg226 and Ile227.](#) Aroca-Aguilar J.D. ... Escribano J. (2005)

[GeneCards Homepage](#) - Last full update: 10 Mar 2006

Developed at the [Crown Human Genome Center](#) & [Weizmann Institute of Science](#)
 Copyright © 1996-2006, Weizmann Institute of Science. All Rights Reserved.
 server2.xennexinc.com

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :Serkan ORCAN

Doğum Yeri :Balıkesir/Burhaniye

Doğum Yılı :1979

Medeni Hali :Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Ortaokul-Lise 1990–1997: Ankara Atatürk Anadolu Lisesi.

Lisans 1997–2002: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü.