

НАСЛЕДНЕ АНОМАЛИЈЕ КОЛОРНОГ ВИДА: ОД ДАЛТОНА ДО МОЛЕКУЛАРНЕ ГЕНЕТИКЕ

Драгана ЦВЕТКОВИЋ¹, Добросав ЦВЕТКОВИЋ²

¹Биолошки факултет, Универзитет у Београду, Београд;

²Институт за очне болести „Проф. др Ђорђе Нешић”, Клинички центар Србије, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Последњих година остварен је огроман напредак у разумевању молекулске основе поремећаја, као и нормалне варијабилности колорног вида. Резултати молекуларногенетичких истраживања омогућили су објашњење клиничких запажања – разноврсности аномалија по типу и тежини, разлика у учесталости, велике индивидуалне варијабилности у резултатима тестова и слично, те чак омогућили да се утврди права природа колорне аномалије Џона Далтона 150 година после његове смрти. Наследне аномалије колорног вида најчешће настају као резултат промена у генима који кодирају опсине чепића. Ови гени се налазе на хромозомима 7 (*S* или „плави” ген) и *X* (*L* или „црвени” и *M* или „зелени” ген). *L* и *M* гени се налазе на *q* краку хромозома *X*, један иза другог, у низу који садржи од два примерка гена до шест примерака гена (најчешће три). Први је *L*, а за њим следе један или више *M* гена. Само прва два гена у низу се експримирају и утичу на фенотип колорног вида. Висок ниво хомологије (96%) између *L* и *M* гена олакшава неједнаку размену, чије последице могу бити губитак гена, односно формирање хибридних гена (који садрже и *L* и *M* сегменте), што лежи у основи већине протан и деутан поремећаја. На тежину поремећаја утиче разлика у спектралној осетљивости опсина, које кодирају прва два гена у низу. *S* монохромазија настаје услед делеције регулационог региона низа или мутација које деактивирају *L* и *M* гене. Најактуелнија истраживања у овој области везана су за молекулску основу потпуне ахроматопсије, ретког поремећаја који се заснива на губитку функције свих чепића. Потпуна ахроматопсија није резултат мутација опсинских гена, већ других гена, који кодирају неке протеине специфичне за чепиће, као што су протеини канала и трансдуцин.

Кључне речи: колорни вид; молекуларна генетика аномалија колорног вида; опсински гени

УВОД

Од првих описа урођених аномалија колорног вида било је очигледно да се оне појављују у породицама и да су наследне. Хударт (*Huddart*) [1] је 1777. описао породицу у којој, од шесторо деце, три сина нису разликовала боје, док су преостала два сина и ћерка имали нормалан колорни вид. Овакви поремећаји убрзо су добили популарно име – далтонизам, по познатом хемичару Џону Далтону, који такође није разликовао црвену и зелену боју, као ни његов брат. Далтон (*Dalton*) [2] је 1798. године у раду под насловом „Необичне чињенице у вези са виђењем боја” описао своје проблеме са препознавањем боја и претпоставио да му је стакласто тело можда обојено плави-часто, па селективно апсорбује светлост већих таласних дужина – то је био први покушај да се научно објасни овај феномен.

Типичан начин наслеђивања ових поремећаја запажен је још у 19. веку [3, 4], а почетком 20. века Вилсон (*Wilson*) [5] је одредио да је у питању *X*-везано рецесивно наслеђивање. Тај догађај, лоцирање гена одговорног за разликовање црвене и зелене боје на *X* хромозом, често се наводи као прапочетак мапирања хуманог генома [6]. Касније је утврђено да је реч о два различита генска локуса на *X* хромозому који су одговорни за различите типове колорних аномалија. На то су указала изучавања колорног вида код жена које су биле двоструки хетерозиготи – иако су носиле алеле за оба типа колорних поремећаја, нормално су разликовале боје.

У прво време нису постојали ни тестови за испитивање колорног вида. Међутим, развој саобраћаја и прве несреће узроковане нераспознавањем сигнал-

них боја наметнули су потребу да се они уведу. Тестирање колорног вида се развијало од првих рудиментних техника у 19. веку, преко низа тестова који се сада рутински примењују у клиничкој пракси (псеудоизохроматске таблице, аномалоскоп, колорне плочице) [7-10], до најсавременијих компјутеризованих тестова [11]. Интересовање за проблем колорног вида довело је до акумулације сазнања о перцепцији боја, о различитим типовима аномалија колорног вида, установљена је њихова класификација према тежини и према осовини нераспознавања боја (црвено-зелено, односно плаво-жуто). Огроман напредак остварен је последњих година у разумевању молекулске основе поремећаја, као и нормалне варијабилности колорног вида. Резултати најновијих истраживања омогућили су објашњење клиничких запажања – разноврсности аномалија по типу и тежини, разлика у учесталости, велике индивидуалне варијабилности у резултатима тестова и слично.

ОПСИНСКИ ГЕНИ

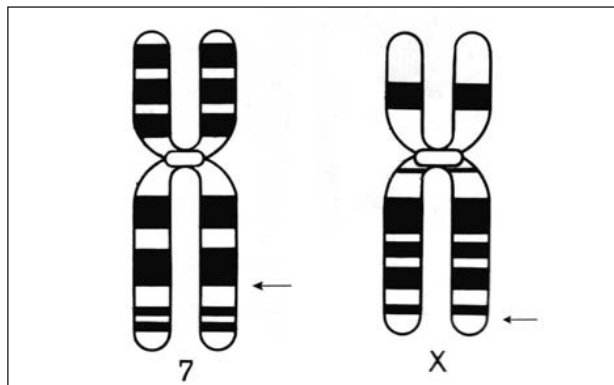
Видни пигменти састоје се од апопротеина опсина који је везан за *11-cis* ретинал. Опсини су древна класа молекула; појавили су се рано у еволуцији као кључни елемент механизма за конверзију светлости у електричне сигнале у биолошким системима. Разлике у апсорпционим спектрима пигмената последица су разлика у примарној структури опсина. Код човека постоје четири видна пигмента: родопсин и три пигмента чепића. Ове опсине кодирају четири гена означена као: *OPN1SW* (раније *BCP* – *blue cone pigment*), *OPN1MW* (раније *GCP* – *green cone*

pigment), *OPN1LW* (раније *RCP* – red cone pigment) и *RHO* (rhodopsin) гени. У литератури се, међутим, за гене који кодирају опсине чепаћа често користе и ознаке: *S* (short wave-sensitive), *M* (middle wave-sensitive) и *L* (long wave-sensitive) или, сликовито, „плави”, „зелени” и „црвени” ген. Колорни вид човека заснива се на различитој спектралној осетљивости фотопигментата који се налазе у свакој од три класе чепаћа.

Локација опсинских гена одређена је 1986. године [12]. Гени који кодирају *S* пигмент и родопсин налазе се на аутозомима, *S* ген на хромозому 7 (7q31.3-7q32), а ген за родопсин на хромозому 3 (3q21.3-3q24). За разлику од њих, *L* и *M* гени се налазе на *X* хромозому (*Xq28*) (Слика 1), један иза другог, у низу који може да садржи и до шест примерака гена. Први члан низа је *L* ген, а за њим следи једна или више копија *M* гена. Гени који кодирају опсине имају сложену, модуларну структуру – састављени су од егзона и интрона (тј. од низова нуклеотида који садрже информацију за синтезу полипептида и низова који ту информацију не садрже). Какве ће пигменте кодирати опсински гени зависи од редоследа нуклеотида у њиховим егзонима. *S* ген се састоји од пет егзона и четири интрона, док *M* и *L* гени имају по шест егзона и пет интрона (Слика 2).

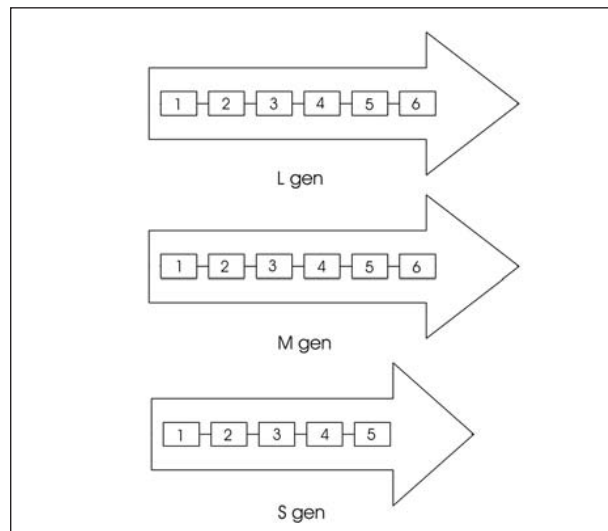
Молекуларногенетичке анализе различитих опсинских гена, односно пигментата које кодирају указале су на ниво њихове сличности [12]. *S* ген је 75% идентичан са геном за родопсин. *M* и *L* гени показују 43±1% идентичности са *S* геном, а 41±1% идентичности са геном за родопсин. Међусобно, *M* и *L* гени показују висок ниво хомологије – идентични су 96% ако се пореде само егзони, односно 98% ако се у обзир узимају и некодирајуће секвенце. Малобројне разлике између ова два гена јављају се у егзонима 2-5; егзони 1 и 6 су идентичног састава. *M* и *L* опсин се разликују у укупно 15 аминокиселина, али само три замене (на позицијама 180, 277 и 285) битно доприносе разликама у спектралној осетљивости између ова два пигмента.

Код таквих гена често долази до неједнаке рекомбинације приликом формирања гамета (размена делова хомологих хромозома, што укључује и размену између два *X* хромозома, реципрочна је, али понекад



СЛИКА 1. Локација гена који кодирају опсине чепаћа: *S* („плави”) ген налази се на дугом краку хромозома 7, а *L* и *M* гени („црвени” и „зелени”) на дугом краку *X* хромозома.

FIGURE 1. Location of cone opsin genes: *S* („blue”) gene resides on the long arm of chromosome 7, *L* and *M* („red” and „green”) genes on the long arm of *X* chromosome.



СЛИКА 2. Структура *L*, *M* и *S* опсинских гена (правоугаоници означавају егзоне, а линије између њих интроне).

FIGURE 2. Representation of the structure of *L*, *M*, and *S* opsin genes (rectangles represent exons, intervening lines introns).

ипак долази до одступања). Висок степен хомологије између *L* и *M* гена олакшава овај процес [12, 13]. Неједнака размена се може одиграти на интергенском или интрагенском нивоу, тј. између гена у низу или унутар гена, а последице су губитак једног или више гена, односно формирање хибридних гена.

На основу сличности опсинских гена може се реконструисати њихова еволуција, проценити када и како су настали различити опсински гени. У великој мери је разјашњено порекло трихроматског вида код човека и његова адаптивна улога. Првобитно је постојао само један ген за опсин чепаћа, који је кодирао пигмент са максимумом апсорпције од око 555 nm. Затим је дошло до његове дупликације и дивергенције у погледу структуре. Тако се појавио и други ген за опсине чепаћа, који је кодирао пигмент са $\lambda_{max} < 500$ nm (*S* ген); то је омогућило дихроматски вид. Трећи ген је настао релативно скоро, пре око 35 милиона година, као резултат дупликације предачког гена на *X* хромозому код неких линија примата. Овај, у еволуционим размерама скорашњи, догађај разлог је велике сличности *L* и *M* гена. Сматра се да је постојање засебних *M* и *L* гена донело значајну адаптивну предност везану за исхрану – трихроматски вид је приматима који су га поседовали знатно олакшао разликовање лишћа и зрелог воћа [6].

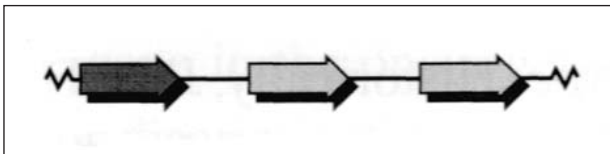
Индивидуалне разлике у перцепцији боја нису везане само за аномалије колорног вида. Ни све особе са нормалним колорним видом не виде обојене објекте на исти начин. Разлог томе је полиморфизам опсинских гена (тј. присуство бар две алелске варијанте, од којих се ређа јавља с учесталошћу већом од 1%), који привлачи све више пажње у савременим истраживањима [14]. *S* ген скоро да и не варира у људским популацијама (мономорфан је). Насупрот њему, *M* и *L* гени су полиморфни, тј. постоје у различитим варијантама. Најзначајнији полиморфизам заснива се на промени у кодону 180, која за последицу има замену серина (*Ser*) аланином (*Ala*) на одговарајућем месту у опсину. Последица ове замене је мали помак у апсорпцији.

Тај полиморфизам постоји и код *L* и код *M* гена. У просеку, код *L* гена варијанта са серином на позицији 180 јавља се с учесталошћу од 56,3%, а варијанта са аланином с учесталошћу од 43,7%. Код *M* гена варијанта са серином је знатно ређа, око 6%, а преовлађује варијанта са аланином на позицији 180 – 94% [15-17]. Досадашње студије су показале да постоје међу-популационе разлике у учесталостима; на пример, варијанта са серином заступљена је са чак 80% код Африканаца и 84% код Јапанаца [18]. Различите алелске варијанте објашњавају fine разлике између особа са нормалним колорним видом – на пример, они који имају серин на месту 180 осетљивији су на црвено (λ_{max} је померен ка већим таласним дужинама).

M и *L* гени имају и различите хибридне варијанте. Хибридни гени су резултат спајања делова различитих гена. Настају када током мејозе дође до прекида унутар гена и размене делова, односно одговарајућих нуклеотидних секвенци. Хибридни гени садрже један број егзона из *L* гена, а други из *M* гена. Они који почињу *L* егзоном обележавају се као *L-M* (или „црвено-зелени“) хибридни гени, док се они који почињу *M* егзоном означавају као *M-L* („зелено-црвени“) гени. Хибридни гени кодирају различите пигменте, који, према осетљивости спектра, могу бити слични *M* или слични *L* пигментима, што зависи од њиховог састава, односно од порекла егзона. Међутим, разлике између *L* и *M* гена ограничене су на егзоне 2-5, док су егзони 1 и 6 идентични. Из тога следи да, у зависности од места прекида и спајања, неки хибридни гени *de facto* кодирају нехибридне пигменте.

Низ опсинских гена на *X* хромозому може бити различите дужине и најчешће садржи више од два гена [12]. Показало се да око 25% испитаних низова садржи два гена, 50% – три, 20% – четири, а 5% – пет или више гена [13, 19, 20]. Први у низу је *L* ген, иза којег следе један *M* ген или више њих (Слика 3). Неки аутори износе и другачије процене укупног броја гена у низу, као и броја *L* гена [21], али то је углавном последица коришћења различитих техника (показало се да поједине технике прецењују број гена у низу).

Експресију ових гена контролишу промотори и *LCR* (промотор је регулациони део ДНК који се налази узводно од гена и утиче на његову транскрипцију). Сваки ген има промотор, а на почетку сваког низа гена налази се генетички елемент назван *LCR* (*locus control region*), који је неопходан за експресију оба типа гена – и *L* и *M*. С обзиром на различит број гена у низу, питање је који гени се заиста експримирају у фоторецепторима. Да ли се експримирају сви или само поједини? Анализе редоследа гена код осо-



СЛИКА 3. Типичан низ опсинских гена на *X* хромозому: први у низу је *L* ген (означен тамном бојом), а за њим следе један *M* ген или више њих.

FIGURE 3. Typical opsin gene array on *X* chromosome: a single *L* gene (dark grey) is followed by one or more *M* genes.

ба са нормалним и аномалним колорним видом показале су да се, у свим низовима са три или више гена, експримирају само прва два [19, 22, 23], што се објашњава близином контролног региона (*LCR*).

МОЛЕКУЛАРНА ГЕНЕТИКА АНОМАЛИЈА КОЛОРНОГ ВИДА

Наследне аномалије колорног вида најчешће настају као резултат промена у генима који кодирају опсине чепића. При томе, може доћи до: губитка гена (услед неједнаке интергенске рекомбинације), губитка функције гена (као последица мутација) или промене функције гена (као последица мутација или интрагенске рекомбинације, односно настанка хибридних гена). На нивоу фенотипа колорног вида, резултати ових промена су: аномална трихромазија (када један од пигмената чепића има промењену осетљивост спектра), дихромазија (када је један од пигмената чепића нефункционалан) и монохромазија (када су два или сва три пигмента чепића нефункционална).

Промене једног од пигмената – *L*, *M* или *S* – доводе до поремећаја колорног вида који се означавају као протан, деутан и тритан дефекти. Називи потичу од грчких речи *protos* – први, *deuteros* – други, *tritros* – трећи, са суфиксом аномалија када је реч о девијантној функцији пигмената, односно анопија када је реч о изостанку функције. Неке наследне промене имају за последицу губитак функције два пигмента чепића. Таква оштећења означена су као монохромазије чепића и могу бити: *S* монохромазије (када је функционалан само *S* опсин), односно *M* монохромазије и *L* монохромазије. Губитак функције сва три типа чепића доводи до потпуне ахроматопсије или монохромазије штапића; настаје као последица мутације, не гена за опсине, већ оних који кодирају друге компоненте неопходне за функционисање чепића.

Протан и деутан дефекти

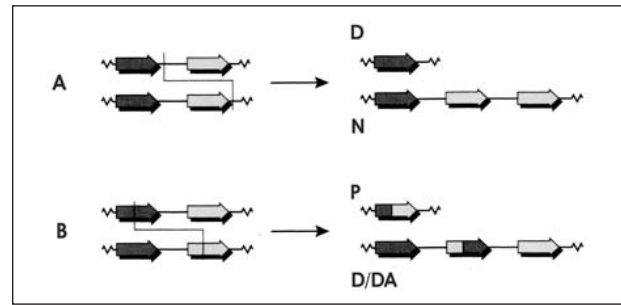
Најчешћи облици наследних поремећаја колорног вида су протан и деутан дефекти, познати и као колорне аномалије у осовини црвено-зелено, који настају услед губитка или промене функције *L*, односно *M* пигмента. Губитак функције једног од пигмената доводи до смањења трихроматског вида на дихроматски, при чему протанопа нису „слепи за црвено“, нити деутеранопа „слепи за зелено“; може се рећи да су и једни и други „слепи за црвено и зелено“. Класично тумачење било је да ови поремећаји настају услед потпуног губитка једног од пигмената, док су остали пигменти непромењени [24]. Међутим, сада се зна да ситуација није тако једноставна, већ да постоји знатна варијабилност и на генотипском и на фенотипском нивоу. Неки протанопа и деутеранопа заиста имају само један *X*-везани опсински ген, идентичан нормалном *L* или *M* гену. Код других није тако: на пример, неки протанопа имају само један ген, али хибридни. Код особа које имају већи број гена у низу, битно је на којој се позицији налазе хи-

бридни или мутирани гени. Сама тежина аномалије колорног вида је у корелацији с разликом у λ_{max} између варијанти пигмента које кодирају прва два гена у низу [25]. Ситуацију додатно компликује нормални полиморфизам ових гена (посебно поменути полиморфизам на позицији 180), који доприноси индивидуалним разликама при тестирању.

Савремени методи су омогућили да се утврди и права природа колорне аномалије Џона Далтона. Испитивање извршено непосредно после његове смрти 1844. године побило је његову хипотезу, али је остало довољно сачуваног ткива да омогући молекуларногенетичку анализу 150 година касније [26]. Анализа фрагмената опсинских гена доказала је да је у узорку присутна само секвенца типична за *L* ген; недостатак *M* гена указује на то да је Далтон, у ствари, био деутераноп, а не протаноп, како се раније мислило.

Учесталост протан и деутан дефеката значајно варира у људским популацијама. Највећа учесталост је код Европљана, а најмања код староседелца Аустралије, јужнопацифичких острва и северноамеричких Индијанаца. Разлике се објашњавају смањеним селекционим притиском на ову особину у индустријализованим друштвима у односу на ловачко-сакупљачке заједнице. Код народа европског порекла протан и деутан дефекти се јављају код око 8% мушкараца; код жена је та учесталост знатно мања (0,4%), јер се код њих ова особина испољава само у хомозиготном стању. Анализа узорка од скоро 80.000 особа [6] показала је следеће: код мушкараца је учесталост протан дефеката била 2,09% (протаномалије 1,08%, протанопије 1,01%), а деутан дефеката 5,9% (деутераномалије 4,63%, деутеранопије 1,27%). Код жена је заступљеност протан дефеката била 0,05% (0,03% и 0,02%), а деутан дефеката 0,37% (0,36% и 0,01%). У складу с тим су и налази истраживања која су обављена код нас [7, 9]: у узорку од 1.500 мушкараца, њих 7,6% имало је урођене протопо ремећаје и деутеропоремећаје, у поређењу са 0,4% жена (2 од 500). Деутеропоремећаја је било знатно више него протопо ремећаја (73,5% према 26,5%), а лаке деутераномалије су биле најчешће. Наведени резултати показују да протанопија и деутеранопија имају сличну учесталост, док је деутераномалија знатно чешћа од протаномалије. Укупно, деутан дефекти су око три пута чешћи од протан дефеката. Објашњење лежи у структури низа опсинских гена на *X* хромозому, као и у чињеници да већина низова има више чланова, што представља предиспозицију за неједнаку рекомбинацију и настанак хибридних гена.

Промене опсинских гена које доводе до овакве дихромазије могу бити изазване тачкастим мутацијама, делецијама или неједнаком разменом. Тачкасте мутације (замене једног нуклеотида другим) могу се догодити у кодирајућим секвенцама *L* или *M* гена, што за последицу има промену структуре и дестабилизацију опсинског молекула [27], или у промоторском региону, када не долази до експресије одговарајућег гена. Једна од најновијих студија [28] је показала да је то чест случај: у узорку од 247 деутеранопа и деутераномала, код чак 15% је забележен нормалан генотип у погледу структуре низа, односно уобичајене, нехибридне *L* и *M* гене, што значи да је њихова колорна дефицијенција резултат мутација. Углав-



СЛИКА 4. Последице интергенске и интрагенске рекомбинације. (А) Неједнака рекомбинација између гена доводи до промене броја гена у низу; када остане само један *L* ген, последица је деутеранопија. (Б) Неједнака интрагенска рекомбинација доводи до појаве хибридних гена; последице по колорни вид зависе од састава хибридног гена и његове позиције у низу (стрелице представљају појединачне гене; *P* – протанопија, *D* – деутеранопија, *DA* – деутераномалија, *N* – нормалан колорни вид). Модификовано према [6].

FIGURE 4. Consequences of inter- and intragenic recombination. (A) Unequal intergenic recombination changes number of genes in the array; when the array is reduced to a single *L* gene, the result is deuteranopia. (B) Unequal intragenic recombination results in hybrid genes; colour vision phenotype depends on the structure of hybrid gene and its position in the array (each gene is represented by an arrow; *P* – protanopia, *D* – deuteranopia, *DA* – deuteranomaly, *N* – normal colour vision). Modified according to [6].

ном је реч о нуклеотидним заменама у самом гену или промоторском региону; код чак 86% носилаца мутација утврђена је идентична замена у промоторском региону *M* гена.

Дихромазија се ипак чешће јавља као последица неједнаке рекомбинације, која може довести до различитих исхода (Слика 4). Рецимо, у једном низу може остати само један ген, и то *L* (у другом низу ће се онда наћи *M* ген више). Мушкарац који наследи такав низ од своје мајке биће „класичан” деутераноп са само једним геном (тзв. *single-gene deuteranop*). Такви случајеви чине мање од 50% свих деутеранопа [17]; већина иза нормалног *L* гена има хибридни или мутирани *M* ген. Хибридни гени се налазе у различитим комбинацијама са нормалним генима, а један од могућих исхода је да хибридни ген остане једини члан низа. То је случај код мање од 50% свих протанопа [17]; већина протанопа иза хибридног гена има један нормалан *M* ген или више њих.

Да ли ће доћи до анопије или аномалије зависи од места размене. Састав хибридног *L-M* гена одређује да ли ће се он „понашати” као *M* или само као *M*-сличан (ако кодира аномални пигмент чији се λ_{max} донекле разликује). Исто важи и за хибридни *M-L* ген: од његовог састава зависи да ли ће хибридни пигмент бити исти као нормални *L* (последица је деутеранопија) или промењене осетљивости спектра (настаје деутераномалија).

Аномалије показују значајну индивидуалну варијабилност; различите су тежине, од врло благих до екстремних. Особе са благим аномалијама могу бити и несвесне тога, док оне с екстремним имају проблеме с разликовањем боја сличне дихроматима. Велика варијабилност аномалних трихромата може се објаснити постојањем различитих типова хибридних гена (који се мање или више разликују од нормалних *L* и *M* гена), комбинованих с једном од алел-

ских варијанти нормалног гена. Један од најважнијих фактора који утичу на тежину аномалије је λ_{max} аномалног пигмента – уколико је већа разлика спектралних осетљивости нормалног и аномалног пигмента, хроматска дискриминација ће бити боља.

Критична за појаву аномалије је позиција хибридног гена у низу [29, 30]. Само прва два гена у низу одређују фенотип у погледу колорног вида [6, 25], што објашњава различите аномалије у осовини црвено-зелено, као и појаву да неке особе имају нормалан колорни вид иако поседују и хибридне гене. Утврђено је да 4-8% мушкараца са нормалним колорним видом има, поред *L* и *M* гена, и хибридне гене, који очигледно не утичу на разликовање боја [13, 31]. Мушкарци који имају три гена – *L*, *M* и хибридни *M-L* – имаће или деутан дефекат или нормални колорни вид, у зависности од тога да ли се хибридни ген налази на другој или трећој позицији [23]. Ако се нађе даље од друге позиције, хибридни ген се не експримира или бар не у мери довољној да наруши трихроматски вид. Сматра се да је разлог удаљеност од контролног региона (*LCR*), који је неопходан за транскрипцију.

Код жена је ситуација још сложенија. Пошто оне имају два *X* хромозома, наведени облици дихромазије или аномалне трихромазије испољавају се само када се нађу у хомозиготном стању. Међутим, код жена које су хетерозиготи, као последица деактивације једног од *X* хромозома, ретинални мозаик чепића састоји се од мешавине нормалних и измењених сегмената. Ако деактивација није равномерна и случајна, ако се чешће деактивира „нормални“ *X* хромозом, и код хетерозигота може доћи до испољавања извесног недостатка у колорном виду. Савремена истраживања молекулске основе ових поремећаја показала су да су могуће и сложене комбинације. На пример, описана је жена са благим обликом протаномалије која је хетерозигот са два различита хибридна гена [32].

Тритан дефекти

Наследни тритан дефекти настају услед губитка или поремећаја функције *S* опсина, односно услед промена у *S* гену. Промене *S* опсина утичу на способност разликовања боја у љубичастом, плавом и плавозеленом делу спектра. Начин наслеђивања је аутозомно доминантан са непотпуном пенетрабилношћу. *S* ген се, за разлику од *L* и *M* гена, налази на хромозому 7 и није члан низа; нема суседних гена са високим степеном хомологије, па неједнака размена овде нема значајну улогу. Урођени тритан дефекти су ретки (од 1:13.000 до 1:65.000) [33, 34] и није их лако открити. У вези с тим постоји низ проблема: теже дијагностиковање, мање очигледне сметње, непотпуна пенетрабилност, као и чињеница да су стечена оштећења колорног вида најчешће тритан типа [35, 36].

Тританопија показује непотпуно испољавање. Различита пенетрабилност и експресивност, као и велика унутарпородична варијабилност у резултатима тестова описани су још раније у низу радова [37, 38]. У вези с тим поставља се и питање како разликовати тританомалију од непотпуно испољене тританопије. Неки аутори зато сматрају да тританомалија и не постоји

као одвојен ентитет [6]. До сада је код тританопа идентификовано више тачкастих мутација које за последицу имају замену аминокиселина на одговарајућим местима у *S* опсину [39, 40], а замене су такве да озбиљно нарушавају структуру и стабилност пигмента.

Монохромазије

S монохромазија

S монохромазија је врло редак поремећај до којег долази услед губитка функције *L* и *M* пигмента, а повезан је са знатно смањеном оштрином вида. Од фоторецептора функционишу само *S* чепићи и штапићи. Особе с овим поремећајем обично се сматрају потпуно слепим за боје, али постоји могућност да имају изванредан резидуални дихроматски вид, базиран на интеракцији *S* чепића и штапића у мезопским условима. Посебни тестови дизајнирани су да открију монохромате, као и да разликују *S* монохромазију од монохромазије штапића [6].

Генетички узрок *S* монохромазије су промене у низу опсинских гена на *X* хромозому [41, 42]. То могу бити делеције заједничког контролног региона или мутације које деактивирају појединачне гене. Хетерогеност генотипова је велика, што указује на то да постоји више различитих мутационих путева који доводе до губитка функције и *L* и *M* опсина [25] у једном или у два корака. У првом случају, делеције различите величине захватају контролни регион (*LCR*) на почетку низа и тиме спречавају експресију гена у низу. Двостепене промене одигравају се на различите начине: на пример, може доћи до тачкасте мутације у низу који је претходно сведен на само један ген [43]. *S* монохромазија се наслеђује као *X*-везана рецесивна особина, чија се учесталост процењује на 1:100.000, мада тачне бројке нису познате [6]. Сви до сада описани субјекти су мушкарци, што је и очекивано, с обзиром на то да је поремећај врло редак.

L монохромазија и *M* монохромазија

L монохромазија и *M* монохромазија се називају још и „потпуна ахроматопсија с нормалном оштрином вида“. Описан је врло мали број особа с овим поремећајем, а ниједан случај није прихваћен као потпуно аутентичан [6]. Овакви поремећаји су екстремно ретки (процењује се око 1:10.000.000), а могу бити, делимично или потпуно, и последица постречепторског оштећења.

Ахроматопсија

Потпуна ахроматопсија (или монохромазија штапића) настаје услед губитка функције свих чепића (када је функција чепића делимично очувана, реч је о непотпуној ахроматопсији). То је врло редак поремећај; наслеђује се аутозомно рецесивно. Одликују га потпуно неразликовање боја, фотофобија, врло

смањена оштрина вида. С обзиром на класификацију поремећаја, преовлађује став да урођене ахроматопсије треба сврстати у синдроме дисфункције чепања [44] и да их не треба мешати са прогресивним дистрофијама чепања, јер нису прогресивне и не воде слепилу. Процене учесталости су малобројне, али већина сматра да су око 1:50.000 [6]. С обзиром на начин наслеђивања, не изненађује податак о честом консангвинитету родитеља. Изузетак у погледу учесталости је атол Пингелап у западном Пацифику, где је та бројка 4-10% и који је постао познат као „острво слепих за боје”. Овако висока учесталост иначе ретког наследног обољења објашњава се еволуционим ефектом [46-48], последицом тога што се крајем 18. века становништво острва свело на свега двадесетак особа, од којих је једна била носилац мутације.

Иако је испољавање овог поремећаја једнако губитку сва три типа опсинских гена, узроци су другачији [49-53]. Молекуларногенетичке анализе повезале су ахроматопсију са мутацијама гена који кодирају елементе специфичне за чепање – α и β субјединице протеина канала (*CNGA3* и *CNGB3*, гени на хромозомима 2 и 8), као и α субјединицу трансдуцина (*GNAT2*, ген на хромозому 1). Тренутно најактуелнија истраживања у области молекуларне основе аномалија колорног вида везана су управо за ову проблематику [25, 44, 54-58].

ЗАКЉУЧАК

Огроман напредак у познавању молекуларне основе различитих поремећаја и обољења остварен је последњих година, а највеће достигнуће је упознавање структуре генома човека. „Пројекат хуманог генома”, међународни подухват који је трајао 13 година, привукао је изузетну пажњу фебруара 2001. године, када је објављено да је позната структура нашег генома у првој, грубој верзији [59, 60]. Процена укупног броја гена код човека недавно је смањена са првобитних 35.000 на 20.000-25.000. Ова истраживања већ су дала многе значајне резултате, а нови резултати, посебно у погледу очувања здравља и продужетка живота, тек се очекују. Молекуларногенетичке анализе омогућиле су да се 150 година после Далтонове смрти утврди да он није био протаноп већ деутераноп – што отвара нове могућности и подручја примене. Иако још не постоји начин лечења урођених аномалија колорног вида, савремена истраживања у области молекуларне генетике колорног вида убрзано дају одговоре и на преостала нерешена питања.

ЛИТЕРАТУРА

- Huddart J. An account of persons who could not distinguish colours. *Philos Trans R Soc Lond* 1777; 67:260-5.
- Dalton J. Extraordinary facts relating to the vision of colours, with observation. *Mem Literary Philos Soc Manchester* 1798; 5:28-45.
- Earle P. On the inability to distinguish colours. *Am J Med Sci* 1845; 9:346-54.
- Horner JF. Die Erblichkeit des Daltonismus. In: *Amtlicher Bericht über die Verwaltung des Medizinalwesens des Kantons Zurich vom Jahr 1876*; p.208-11.
- Wilson EB. The sex chromosomes. *Arch Mikrosk Anat Enwick-*

- lungsmech 1911; 77:249-71.
- Sharpe LT, Stockman A, Jägle H, Nathans J. Opsin genes, cone photopigments, color vision and color blindness. In: Gegenfurtner KR, Sharpe LT, editors. *Color Vision: From Genes to Perception*. London: Cambridge University Press; 1999. p.3-51.
- Cvetković D. Komparativna primena različitih metoda za dijagnozu kongenitalnih anomalija kolornog vida. *Acta Ophthalmol Jug* 1966; 4:217-30.
- Cvetković D. Klasifikacija i kliničko ispitivanje kolornih anomalija. *Acta Ophthalmol Jug* 1978; 16:194-7.
- Cvetković D. Predlog za jedinstven stav u određivanju viđenja boja u industriji i saobraćaju. *Acta Ophthalmol Jug* 1977; 10:163-74.
- Melamud A, Hagstrom S, Traboulsi E. Color vision testing. *Ophthalmic Genet* 2004; 25(3):159-87.
- Miyahara E, Pokorny J, Smith VC, et al. Computerized color-vision test based upon postreceptor channel sensitivities. *Vis Neurosci* 2004; 21:465-9.
- Nathans J, Thomas D, Hogness DS. Molecular genetics of human color vision: the genes encoding blue, green, and red pigments. *Science* 1986; 232:193-202.
- Drummond-Borg M, Deeb SS, Motulsky AG. Molecular patterns of X chromosome-linked color vision genes among 134 men of European ancestry. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:983-7.
- Verrelli BC, Tishkoff SA. Signatures of selection and gene conversion associated with human color vision variation. *Am J Hum Genet* 2004; 75(3):363-75.
- Winderickx J, Lindsey DT, Sanocki E, Teller DY, Motulsky AG, Deeb SS. Polymorphism in red photopigment underlies variation in colour matching. *Nature* 1992b; 356:431-3.
- Winderickx J, Battisti L, Hibiya Y, Motulsky AG, Deeb SS. Haplotype diversity in the human red and green opsin genes: evidence for frequent sequence exchange in exon 3. *Hum Molec Genet* 1993; 2:1413-21.
- Sharpe LT, Stockman A, Jägle H, et al. Red, green and red-green hybrid pigments in the human retina: correlations between deduced protein sequences and psychophysically-measured spectral sensitivities. *J Neurosci* 1998; 18:10053-69.
- Deeb SS, Motulsky AG. Disorders of color vision. In: Traboulsi IE, editor. *Genetic Diseases of the Eye*. London: Oxford University Press; 1998. p.303-25.
- Nathans J. The evolution and physiology of human color vision: insights from molecular genetic studies of visual pigments. *Neuron* 1999; 24:299-312.
- Wolf S, Sharpe LT, Schmidt H, et al. Direct visual resolution of gene copy number in the human photopigment gene array. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40:1585-9.
- Neitz M, Neitz J. Numbers and ratios of visual pigment genes for normal red-green color vision. *Science* 1995; 267:1013-6.
- Winderickx J, Battisti L, Motulsky AG, Deeb SS. Selective expression of human X chromosome-linked green opsin genes. *Proc Natl Acad Sci* 1992a; 89:9710-4.
- Hayashi T, Motulsky AG, Deeb SS. Position of a "green-red" hybrid gene in the visual pigment array determines colour-vision phenotype. *Nature Genet* 1999; 22:90-3.
- König A, Dieterici C. Die Grundemphindungen und ihre Intensitäts-Vertheilung im Spektrum. Berlin: Sitzungsberichte Akademie der Wissenschaften; 1886. p.805-29.
- Deeb SS. Molecular genetics of color-vision deficiencies. *Vis Neurosci* 2004; 21:191-6.
- Hunt DM, Dulai KS, Bowmaker JK, Mollon JD. The chemistry of John Dalton's color blindness. *Science* 1995; 267:984-8.
- Winderickx J, Sanocki E, Lindsey DT, Teller DY, Motulsky AG, Deeb SS. Defective colour vision associated with a missense mutation in the human green visual pigment gene. *Nature Genet* 1992c; 1:251-6.
- Ueyama H, Li YH, Fu GL, et al. An A-71C substitution in a green gene at the second position in the red/green visual-pigment gene array is associated with deutan color-vision deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(6):3357-62.
- Yamaguchi T, Motulsky AG, Deeb SS. Visual pigment gene structure and expression in human retinae. *Hum Molec Genet* 1997; 6:981-90.
- Balding SD, Sjöberg SA, Neitz M, Neitz J. Pigment gene expression in protan color vision defects. *Vis Res* 1998; 38:3359-64.
- Deeb SS, Lindsey DT, Hibiya Y, et al. Genotype-phenotype relationships in human red/green color-vision defects: molecular and psychophysical studies. *Am J Hum Genet* 1992; 51:687-700.

32. Hayashi T, Omoto S, Kubo A, Nishio Y, Kitahara K. A protanoma-
lous female whose genotype of red/green visual pigment genes was
determined by molecular analysis of her family members. *Nippon
Ganka Gakkai Zasshi* 2004; 108:489-95.
33. Wright W D. The characteristics of tritanopia. *J Ophthal Soc Am*
1952; 42:509-21.
34. Kalmus H. The familial distribution of congenital tritanopia with
some remarks on some similar conditions. *Ann Hum Genet* 1955;
20:39-56.
35. Cvetković D. Kolorni vid kod glaukoma. *Acta Ophthalmol Jug*
1967; 5:258-83.
36. Cvetković D. Simpleks glaukom. In: Cvetković D, Kantić Đ, Hen-
tova-Senčanić P. Glaukom. Beograd: Zavod za udžbenike i nastav-
na sredstva; 1996. p.177-97.
37. Neuhann T, Kalmus H, Jaeger W. Ophthalmological findings in the
tritans. *Mod Problems Ophthal* 1976; 17:135-42.
38. Went LN, Pronk N. The genetics of tritan disturbances. *Hum Gen-
et* 1985; 69:255-62.
39. Weitz CJ, Miyake Y, Shinzato K, et al. Human tritanopia associated
with two amino acid substitutions in the blue-sensitive opsin. *Am
J Hum Genet* 1992a; 50:498-507.
40. Weitz CJ, Went LN, Nathans J. Human tritanopia associated with a
third amino acid substitution in the blue-sensitive visual pigment.
(Letter) *Am J Hum Genet* 1992b; 51:444-6.
41. Nathans J, Davenport CM, Maumenee IH, et al. Molecular genet-
ics of human blue cone monochromacy. *Science* 1989; 245:831-8.
42. Nathans J, Maumenee IH, Zrenner E, et al. Genetic heterogeneity
among blue-cone monochromats. *Am J Hum Genet* 1993;
53:987-1000.
43. Crognale MA, Fry M, Highsmith J, et al. Characterization of a nov-
el form of X-linked incomplete achromatopsia. *Vis Neurosci* 2004;
21:197-203.
44. Michaelides M, Hunt DM, Moore AT. The cone dysfunction syn-
dromes. *Br J Ophthalmol* 2004a; 88:291-7.
45. Brody JA, Hussels I, Brink E, Torres J. Hereditary blindness among
Pingelapese people of Eastern Caroline Islands. *Lancet* 1970;
1:1253-7.
46. Carr RE, Morton NE, Siegel IM. Pingelap eye disease. *Lancet* 1970;
2:667 [letter].
47. Carr RE, Morton NE, Siegel IM. Achromatopsia in Pingelap Island-
ers. Study of a genetic isolate. *Am J Ophthalmol* 1971; 72:746-56.
48. Cvetković D. Efekat veličine osnivačke populacije na genetičku
varijabilnost kvantitativnih osobina kod *Acanthoscelides obtectus*
[doktorska disertacija]. Beogradu: Biološki fakultet Univerziteta u
Beogradu; 1991.
49. Arbour NC, Zlotogora J, Knowlton RG, et al. Homozygosity map-
ping of achromatopsia to chromosome 2 using DNA pooling. *Hum
Molec Genet* 1997; 6:689-94.
50. Kohl S, Marx T, Giddings I, et al. Total colourblindness is caused
by mutations in the gene encoding the alpha-subunit of the cone
photoreceptor cGMP-gated cation channel. *Nature Genet* 1998;
19:257-9.
51. Wissinger B, Jagle H, Kohl S, et al. Human rod monochromacy:
linkage analysis and mapping of a cone photoreceptor expressed
candidate gene on chromosome 2q11. *Genomics* 1998; 51:325-31.
52. Milunsky A, Huang X-L, Milunsky J, DeStefano A, Baldwin CT. A
locus for autosomal recessive achromatopsia on human chromo-
some 8q. *Clin Genet* 1999; 56:82-5.
53. Winick JD, Blundell ML, Galke BL, Salam AA, Leal SM, Karayior-
gou M. Homozygosity mapping of the achromatopsia locus in the
Pingelapese. *Am J Hum Genet* 1999; 64:1679-85.
54. Aligianis IA, Forshew T, Johnson S, et al. Mapping of a novel locus
for achromatopsia (ACHM4) to 1p and identification of a germline
mutation in the alpha subunit of cone transducin (GNAT2). *J Med
Genet* 2002; 39:656-60.
55. Michaelides M, Aligianis IA, Ainsworth JR, et al. Progressive cone
dystrophy associated with mutation in CNGB3. *Invest Ophthal-
mol Vis Sci* 2004b; 45:1975-82.
56. Pina AL, Baumert U, Loyer M, Koenekoop RK. A three base pair
deletion encoding the amino acid (lysine-270) in the alpha-cone
transducin gene. *Mol Vis* 2004; 10:265-71.
57. Rosenberg T, Baumann B, Kohl S, Zrenner E, Jorgensen AL, Wiss-
inger B. Variant phenotypes of incomplete achromatopsia in two
cousins with GNAT2 gene mutations. *Invest Ophthalmol Vis Sci*
2004; 45:4256-62.
58. Trankner D, Jagle H, Kohl S, et al. Molecular basis of an inherited
form of incomplete achromatopsia. *J Neurosci* 2004; 24:138-47.
59. Lander ES, et al. Initial sequencing and analysis of the human
genome. *Nature* 2001 (February 15); 409:860-921.
60. Craig Venter, et al. The sequence of the human genome. *Science*
2001 (February 16); 291:1304-51.

INHERITED COLOUR VISION DEFICIENCIES – FROM DALTON TO MOLECULAR GENETICS

Dragana CVETKOVIĆ¹, Dobrosav CVETKOVIĆ²

¹Faculty of Biology, Belgrade; ²Institute for Eye Diseases "Prof. Dr. Đorđe Nešić", Clinical Centre of Serbia, Belgrade

ABSTRACT

In recent years, great advances have been made in our understanding of the molecular basis of colour vision defects, as well as of the patterns of genetic variation in individuals with normal colour vision. Molecular genetic analyses have explained the diversity of types and degrees of severity in colour vision anomalies, their frequencies, pronounced individual variations in test results, etc. New techniques have even enabled the determination of John Dalton's real colour vision defect, 150 years after his death. Inherited colour vision deficiencies most often result from the mutations of genes that encode cone opsins. Cone opsin genes are linked to chromosomes 7 (the S or "blue" gene) and X (the L or "red" gene and the M or "green" gene). The L and M genes are located on the q arm of the X chromosome in a head-to-tail array, composed of 2 to 6 (typically 3) genes – a single L is followed by one or more M genes. Only the first two genes of the array are expressed and contribute to the colour vision phenotype. The high degree of homology (96%) between the L and M genes predisposes them to unequal recombination, leading to gene deletion or the formation of hybrid genes (comprising portions of both the L and M genes), explaining the majority of the com-

mon red-green colour vision deficiencies. The severity of any deficiency is influenced by the difference in spectral sensitivity between the opsins encoded by the first two genes of the array. A rare defect, S monochromacy, is caused either by the deletion of the regulatory region of the array or by mutations that inactivate the L and M genes. Most recent research concerns the molecular basis of complete achromatopsia, a rare disorder that involves the complete loss of all cone function. This is not caused by mutations in opsin genes, but in other genes that encode cone-specific proteins, e.g. channel proteins and transducin.

Key words: colour vision; molecular genetics; colour vision deficiencies; opsin genes

Dragana CVETKOVIĆ
Biološki fakultet
Univerzitet u Beogradu
Studentski trg 16, 11000 Beograd
Tel.: 011 187 266
E-mail: dragana@bf.bio.bg.ac.yu

* Рукопис је достављен Уредништву 28. 12. 2004. године.