

# Tuberoz Skleroz Hastalığının Moleküler Genetiği

## Molecular Genetics of Tuberous Sclerosis Disease

### ÖZ

Tuberoz skleroz beyin, kalp, deri, gözler, böbrek, akciğer ve karaciğer gibi birçok organda yaygın hamartomalar ile karakterize, otozomal dominant kalıtım gösteren bir çok sistemle ilişkili genetik rahatsızlıktır. Toplum tabanlı çalışmalarda bu hastalığın 10 yaş altı çocuklarda görülme sıklığının 1/12000 ile 1/14000 arasında değiştiğini göstermektedir. Doğum sıklığı ise 1/6000 dir. Bu sendromda etkilenen genler TSC1 ve TSC2 sırasıyla hamartin ve tuberin proteinlerini kodlarlar. Hamartin ve tuberin kompleksi, rapamisinin memelilerdeki hedefi olan ve hücre büyümesi ve çoğalmasını kontrol eden yolağı baskılar. Nöroşirürji pratiğinde beyin tümörleri içerisinde gördüğümüz beyin hamartomalarında içeren tuberoz skleroza neden olan moleküler anormalliklerin anlaşılması bu hastalığın tedavisinde yol alınmasına yol açacaktır.

**ANAHTAR SÖZCÜKLER:** Tuberoz skleroz, Hamartin, Tuberin, TSC1, TSC2

### ABSTRACT

Tuberous sclerosis is a genetic multisystem disorder characterised by widespread hamartomas in several organs, including the brain, heart, skin, eyes, kidney, lung, and liver. The affected genes are TSC1 and TSC2, encoding hamartin and tuberin respectively. The hamartin-tuberin complex inhibits the mammalian-target-of-rapamycin pathway, which controls cell growth and proliferation. Increasing understanding of the molecular abnormalities caused by tuberous sclerosis may enable improved management of this disease.

**KEY WORDS:** Tuberous sclerosis, Hamartin, Tuberin, TSC1, TSC2

Fatih BAYRAKLI<sup>1</sup>  
Tufan ÇANKAYA<sup>2</sup>  
Erdoğan AYAN<sup>3</sup>  
Şengül BAYRAKLI<sup>4</sup>  
Yaşar BAYRI<sup>5</sup>  
İlter GÜNEY<sup>6</sup>

- <sup>1</sup> Acıbadem Maslak Hastanesi, Nöroşirürji Kliniği, İstanbul, Türkiye
- <sup>2</sup> İstanbul Cerrahi Hastanesi, Genetik Kliniği, İstanbul, Türkiye
- <sup>3</sup> Haydarpaşa Numune Hastanesi, Nöroşirürji Kliniği, İstanbul, Türkiye
- <sup>4</sup> İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
- <sup>5</sup> Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroşirürji Anabilim Dalı, Samsun, Türkiye
- <sup>6</sup> Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Geliş Tarihi : 04.05.2009  
Kabul Tarihi : 06.07.2009

Yazışma adresi:  
Fatih BAYRAKLI  
E-posta: fbayrakli@hotmail.com

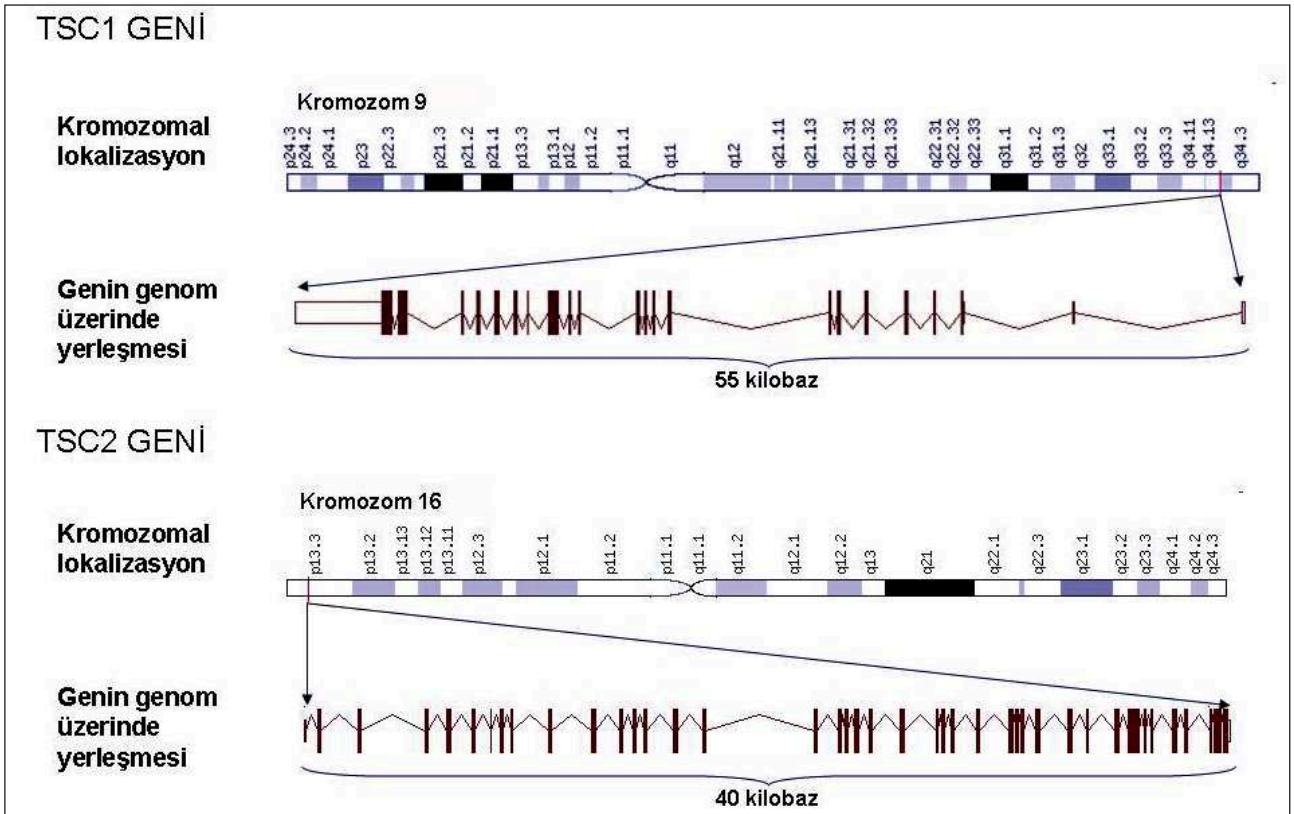
## GİRİŞ

Tuberoz sklerozis (TS) otozomal dominant kalıtım gösteren bir hastalık olup, hastaların 2/3'ü sporadik mutasyonlara sahiptir. Bu hastalıkla anormallik görülen genler TSC1 ve TSC2 olarak adlandırılırlar. Genlerin genom üzerindeki lokalizasyonları, birçok jenerasyonunda bu hastalığı taşıyan bireyleri olan aileler üzerinde yapılan bağlantı analizleri sonucunda bulunmuş olup, TSC1 geni kromozom 9q34 ve TSC2 geni kromozom 16p13.3'de bulunmaktadır. TSC1 geninin 23 ekzon barındırıp (ekzon: bir genin içinde proteinin kodlanmasına yarayan bölgeler), 8.6 kilobaz'lık (kilobaz: 1000 baz, baz: timin, adenin, guanin ve sitozinlerden herbiri) transkript kodlar (transkript: DNAdaki bilginin RNA olarak yazılmış hali). Bu genin DNA üzerindeki tüm uzunluğu yaklaşık 55 kilobazdır. TSC2 geni ise 41 ekzon içermekte olup, 5.5 kilobazlık transkript kodlar ve DNA üzerindeki tüm uzunluğu yaklaşık 40 kilobazdır (Şekil 1) (6, 10,16,26).

Bu genler üzerinde yapılan mutasyon (mutasyon: bir canlının DNA'sı yani genetik materyali üzerinde meydana gelen değişiklik) çalışmalarında TSC2 genine TSC1 genine oranla çok daha fazla delesyon

veya yeniden düzenleme olduğu görülmüştür. Bu delesyonların %2-3'ü TSC2 geninin yanında bulunan ve polikistik böbrek hastalığından sorumlu olan PKD1 geninide etkiler (18,24). Yine bu mutasyon çalışmalarında bu genlerin kodladığı protein içindeki tek amino asitin değişimine yolaçan mutasyonların (missense mutasyon) TSC2 geninde TSC1 geninden daha fazla görüldüğü bildirilmiştir ve bu mutasyonlar genellikle GTP az aktive eden protein (GAP) bağlayan bölgelerde kümelenir (21).

Günümüzde TS hastalarında bilinen bu iki gende mutasyon bulunma oranı rutin teknikler kullanılarak %85-90 oranındadır (18). Diğer %10-15 hastada bulunamamasının sebebi birkaç nedene bağlı olabilir: 1) Günümüzde mutasyon taramaları öncelikle bilinen genin ekzonlarında yapılmaktadır. Bugün artık bilinen şudur ki, bir gen sadece ekzonlardan ibaret değildir ve bu genin çalışmasının düzgün idare edilebilmesi için gende çalışmasını düzenleyen bölgeler bulunur (promoter, inducer, silencer bölgeler gibi). Bu bölgelerin insan genomunda (genom: Prokaryot ya da ökaryot organizmalardaki genetik materyalin hepsi) varolan her bir gen için teker teker belirlenmesi günümüz için halen ulaşılamamış bir hedeftir. Dolayısı ile TS'a

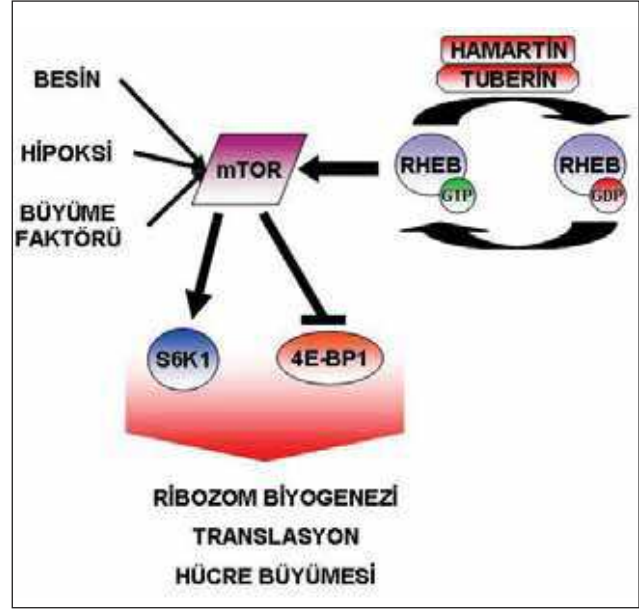


Şekil 1.

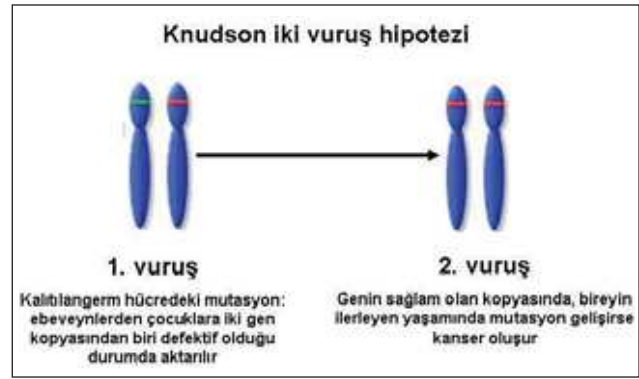
yol açan iki geninde ekzonları normal olmasına rağmen, bu bölgelerinde mutasyon olabilir, 2) Ekzonlarda mutasyon olmayan hastalarda yapılması gereken diğer bir işlem kopya sayısı analizi (Copy Number Variation Analyzis). Bu bize genin kopya sayısı hakkında bilgi verir. Genin tek kopyası normal ise dahi günümüzde kullandığımız dizileme analizi metodları normal sonuç verir. Halbuki TS hastalığı dominant (baskın) kalıtım gösterdiğinden dolayı genin tek kopyasının olmaması hastalığa neden olacaktır, 3) Bütüm bu tetkikler yapıldıktan sonra halen anomali bulunamamışsa daha keşfedilmemiş diğer bir gegnin bu hastalığa yol açtığı düşünülür. Bunun nasıl yapılması gerektiği makalemizin konusu değildir.

TS'a yol açan TSC1 ve TSC2 genlerinin keşfinden ve bu iki genin kodladığı hamartin ve tuberin proteinleri ortaya konduktan sonra bu gen ve proteinlerdeki bozuklukların TS hastalığına nasıl yol açtığı araştırılmıştır. Bu manada aydınlatılan rapamisininin memelilerdeki hedefi (mTOR) yolağıdır (11,13,25). Ras ailesinin bir G proteini olan beyinde zenginleşmiş Ras homoloğu (RHEB) mTOR'u uyarır. RHEB GTP'ye bağlı olduğunda aktif haldedir. Tuberin ve hamartinin birleşerek oluşturduğu hücre içi kompleks GTPaz'ı aktifleştirir ve GTPyi parçalar. Sonuç olarak mTOR'un uyarılması azalmış olur (2, 19, 22). Hipoksi, besinin varlığı ve büyüme faktörü uyarısı gibi sinyaller mTOR tarafından saptanır ve buda mTOR'un hücrede hücre siklusünün ilerlemesi, transkripsiyon ve translasyon kontrolü ve besin alımı gibi bir çok süreçte etkin olmasını sağlar (3, 9). mTOR S641 ve ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 4E bağlayıcı protein 1 (4E-BP1) proteinlerini fosforile eder. S641 ribozomal altünite proteini S6'yı aktive ederek ribozomun bir araya gelmesini sağlayan ve protein translasyonunu başlatan bir kinaz enzimidir. 4E-BP1 ökaryotik translasyon başlatıcı faktör 4E (eIF4E) aktivitesini baskılar ve 4E-BP1 mTOR tarafından fosforile edilince bu özelliğini kaybeder ve eIF4E serbest kalır (Şekil 2) (15). Tuberin ve hamartin beraber kompleks oluşturmadan birbirlerinden bağımsız olarak bazı proteinlerle etkileşime girerler, fakat bu etkileşimlerin biolojik rolleri henüz tariflenmemiştir (27).

Tümör gelişmesi için TSC1 ve TSC2 genlerinin iki kopyasında (iki allelinin de) birşekilde inaktif hale geçmesi gerekmektedir (Şekil 3). Heterozigotluk kaybı (Loss of heterozygosity: bir aleli zaten inaktif olan geninin ikinci alelinde normal fonksiyonunu



Şekil 2.



Şekil 3.

kaybetmesi) TS'da görülen renal anjiyomiyolipomlarda çok sık görülmesine rağmen, subependimal dev hücreli astrositomlarda azdır ve kortikal tuberlerde hiç görülmez (5,12). Haplo yetmezliği (Haploinsufficiency: bir genin tek fonksiyonel kopyaya sahip olması ve dolayısıyla yeterli gen ürünü üretilmemesi) TS'un bazı organlardaki patolojik etkilerini açıklamamızda yardımcı olabilir. Knudson teorisine göre genin sağlam kalan kopyasındaki bozukluk somatik bağımsız bir mutasyonla gerçekleşir. TSC1 ve TSC2 genlerindeki somatik ikinci vuruş mutasyonu heterozigotluk kaybı analizi ile ortaya konabilir ve ikinci vuruştaki kayıpla beraber kalıtsal olarak gelen birinci vuruş kaybı birleşerek TSC1 ve TSC2 genlerini fonksiyonlarının tamamen kaybedilmesine yol açar. Astrositom ve anjiyomiyolipomdaki heterozigotluk kayıplarının farklı belirteçlerle belirlenebilir olması,

ikinci vuruş mutasyonun orijininin farklı yerlerde olabileceğini göstermiştir (4). Bu duruma zıt olarak, TSC2 geninde varolan benzer somatik mutasyonlar sporadik lenfanjiyomyomatozis ve renal anjiyomyolipomasi olan hastaların anormal akciğer ve böbrek hücrelerinde tariflenmiştir. Bu fenomeni açıklamak için önerilen benign metastaz hipotezi TSC1 ve TSC2 mutasyonunu taşıyan benign hücrelerin renal anjiyomyolipomdan akciğere gittiğini savunmuştur (7,17). Bu hipotez in vitro ortamda TSC2 hasarlı düz kas hücrelerinin normal olanlardan daha fazla migrasyon özelliğine sahip olması ve TS ile ilişkili akciğer lenfanjiyoleimyomatozisi olan hastaların büyük ve potansiyel olarak metastazojenik renal anjiyomyolipomları olması bulgularıyla desteklenir. Hamartin ve tuberin proteinlerinin ezrin-radixin-moesin proteinleri ve küçük GTP bağlayıcı Rho proteinleriyle beraber fonksiyon gördükleri hücre adhezyonu ve migrasyonundaki rollerini anlamak bu benign metastaz görüşünü daha iyi kavramamıza yardım edecektir (1,20).

Benzer genotipik mutasyona sahip bireylerde farklı klinik fenotipler görülebilir. Aynı aile içinde dahi aynı genotipik hataya sahip bireyler arasında klinik belirtilerin şiddeti ve kapsamının farklı olması mutasyon ile gidişat arasında sıkı bir ilişki olmadığını gösterir (23). TSC2 mutasyonu olan bireyler TSC1 mutasyonu olan bireylere göre daha şiddetli klinik semptomlar gösterirler (8,14). Özellikle, daha sık ve şiddetli epilepsi, zeka geriliği, kortikal tuberler, renal anjiyomyolipomlar, retinal hamartomlar ve ileri derecede yüzdeki anjiyofibromlar sayılabilir (8).

Günümüzde TS tedavisi semptomatiktir. Bununla beraber mTOR yolağının TS ile ilişkili tümörlerde aktiflendiğinin bilinmesi yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için imkan sunmuştur.

#### KAYNAKLAR

- Astrinidis A, Cash TP, Hunter DS, Walker CL, Chernoff J, Henske EP: Tuberin, the tuberous sclerosis complex 2 tumor suppressor gene product, regulates Rho activation, cell adhesion and migration. *Oncogene* 21: 8470-8476, 2002
- Astrinidis A, Henske EP: Tuberous sclerosis complex: Linking growth and energy signaling pathways with human disease. *Oncogene* 24: 7475-7481, 2005
- Brugarolas J, Lei K, Hurley RL, Manning BD, Reiling JH, Hafen E, Witters LA, Ellisen LW, Kaelin WG, Jr.: Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes Dev* 18: 2893-2904, 2004
- Carbonara C, Longa L, Grosso E, Mazzucco G, Borrone C, Garre ML, Brisigotti M, Filippi G, Scabar A, Giannotti A, Falzoni P, Monga G, Garini G, Gabrielli M, Riegler P, Danesino C, Ruggieri M, Magro G, Migone N: Apparent preferential loss of heterozygosity at TSC2 over TSC1 chromosomal region in tuberous sclerosis hamartomas. *Genes Chromosomes Cancer* 15: 18-25, 1996
- Chan JA, Zhang H, Roberts PS, Jozwiak S, Wieslawa G, Lewin-Kowalik J, Kotulska K, Kwiatkowski DJ: Pathogenesis of tuberous sclerosis subependymal giant cell astrocytomas: Biallelic inactivation of TSC1 or TSC2 leads to mTOR activation. *J Neuropathol Exp Neurol* 63: 1236-1242, 2004
- Consortium ECTS: Identification and characterization of the tuberous sclerosis gene on chromosome 16. *Cell* 75: 1305-1315, 1993
- Crino PB, Nathanson KL, Henske EP: The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med* 355: 1345-1356, 2006
- Dabora SL, Jozwiak S, Franz DN, Roberts PS, Nieto A, Chung J, Choy YS, Reeve MP, Thiele E, Egelhoff JC, Kasprzyk-Obara J, Domanska-Pakiela D, Kwiatkowski DJ: Mutational analysis in a cohort of 224 tuberous sclerosis patients indicates increased severity of TSC2, compared with TSC1, disease in multiple organs. *Am J Hum Genet* 68: 64-80, 2001
- Ellisen LW: Growth control under stress: mTOR regulation through the REDD1-TSC pathway. *Cell Cycle* 4: 1500-1502, 2005
- Fryer AE, Chalmers A, Connor JM, Fraser I, Povey S, Yates AD, Yates JR, Osborne JP: Evidence that the gene for tuberous sclerosis is on chromosome 9. *Lancet* 1: 659-661, 1987
- Gao X, Zhang Y, Arrazola P, Hino O, Kobayashi T, Yeung RS, Ru B, Pan D: Tsc tumour suppressor proteins antagonize amino-acid-TOR signalling. *Nat Cell Biol* 4: 699-704, 2002
- Henske EP, Wessner LL, Golden J, Scheithauer BW, Vortmeyer AO, Zhuang Z, Klein-Szanto AJ, Kwiatkowski DJ, Yeung RS: Loss of tuberin in both subependymal giant cell astrocytomas and angiomyolipomas supports a two-hit model for the pathogenesis of tuberous sclerosis tumors. *Am J Pathol* 151: 1639-1647, 1997
- Inoki K, Li Y, Zhu T, Wu J, Guan KL: TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. *Nat Cell Biol* 4: 648-657, 2002
- Jones AC, Shyamsundar MM, Thomas MW, Maynard J, Idziaszczyk S, Tomkins S, Sampson JR, Cheadle JP: Comprehensive mutation analysis of TSC1 and TSC2-and phenotypic correlations in 150 families with tuberous sclerosis. *Am J Hum Genet* 64: 1305-1315, 1999
- Jozwiak J, Jozwiak S, Grzela T, Lazarczyk M: Positive and negative regulation of TSC2 activity and its effects on downstream effectors of the mTOR pathway. *Neuromolecular Med* 7: 287-296, 2005
- Kandt RS, Haines JL, Smith M, Northrup H, Gardner RJ, Short MP, Dumars K, Roach ES, Steingold S, Wall S, et al.: Linkage of an important gene locus for tuberous sclerosis to a chromosome 16 marker for polycystic kidney disease. *Nat Genet* 2: 37-41, 1992
- Karbowiczek M, Astrinidis A, Balsara BR, Testa JR, Lium JH, Colby TV, McCormack FX, Henske EP: Recurrent lymphangiomyomatosis after transplantation: genetic analyses reveal a metastatic mechanism. *Am J Respir Crit Care Med* 167: 976-982, 2003

18. Kozłowski P, Roberts P, Dabora S, Franz D, Bissler J, Northrup H, Au KS, Lazarus R, Domanska-Pakiela D, Kotulska K, Jozwiak S, Kwiatkowski DJ: Identification of 54 large deletions/duplications in TSC1 and TSC2 using MLPA, and genotype-phenotype correlations. *Hum Genet* 121: 389-400, 2007
19. Kwiatkowski DJ, Manning BD: Tuberos sclerosis: A GAP at the crossroads of multiple signaling pathways. *Hum Mol Genet* 14 Spec No. 2: R251-258, 2005
20. Lamb RF, Roy C, Diefenbach TJ, Vinters HV, Johnson MW, Jay DG, Hall A: The TSC1 tumour suppressor hamartin regulates cell adhesion through ERM proteins and the GTPase Rho. *Nat Cell Biol* 2: 281-287, 2000
21. Maheshwar MM, Cheadle JP, Jones AC, Myring J, Fryer AE, Harris PC, Sampson JR: The GAP-related domain of tuberlin, the product of the TSC2 gene, is a target for missense mutations in tuberous sclerosis. *Hum Mol Genet* 6: 1991-1996, 1997
22. Marcotte L, Crino PB: The neurobiology of the tuberous sclerosis complex. *Neuromolecular Med* 8: 531-546, 2006
23. Rok P, Kasprzyk-Obara J, Domanska-Pakiela D, Jozwiak S: Clinical symptoms of tuberous sclerosis complex in patients with an identical TSC2 mutation. *Med Sci Monit* 11: CR230-234, 2005
24. Sampson JR, Maheshwar MM, Aspinwall R, Thompson P, Cheadle JP, Ravine D, Roy S, Haan E, Bernstein J, Harris PC: Renal cystic disease in tuberous sclerosis: Role of the polycystic kidney disease 1 gene. *Am J Hum Genet* 61: 843-851, 1997
25. Tee AR, Fingar DC, Manning BD, Kwiatkowski DJ, Cantley LC, Blenis J: Tuberos sclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proc Natl Acad Sci US A* 99: 13571-13576, 2002
26. van Slegtenhorst M, de Hoogt R, Hermans C, Nellist M, Janssen B, Verhoef S, Lindhout D, van den Ouweland A, Halley D, Young J, Burley M, Jeremiah S, Woodward K, Nahmias J, Fox M, Ekong R, Osborne J, Wolfe J, Povey S, Snell RG, Cheadle JP, Jones AC, Tachataki M, Ravine D, Sampson JR, Reeve MP, Richardson P, Wilmer F, Munro C, Hawkins TL, Sepp T, Ali JB, Ward S, Green AJ, Yates JR, Kwiatkowska J, Henske EP, Short MP, Haines JH, Jozwiak S, Kwiatkowski DJ: Identification of the tuberous sclerosis gene TSC1 on chromosome 9q34. *Science* 277: 805-808, 1997
27. Yates JR: Tuberos sclerosis. *Eur J Hum Genet* 14: 1065-1073, 2006