

X Kromozomuna Bağlı Retinitis Pigmentoza'nın Moleküler Temelleri: RPGR ve RP2 Mutasyonları

The Basis of the Molecular Pathology in X-Linked Retinitis Pigmentosa: RPGR and RP2 Mutations

Ceren ACAR¹, Cihan ÖNER², Ay ÖĞÜŞ²

ÖZ

Retinitis pigmentosa (RP) fotoreseptör dejenerasyonu ile karakterize edilen retinal distrofilerin heterojen bir grubudur. RP, gece körlüğüne, periferik görme alanının ilerleyen kaybına ve daha ileri aşamalarda merkezi görüşün ortadan kalkmasına neden olur. Hastalık otozomal dominant, otozomal resesif, X'e bağlı veya digenik (iki gene bağlı) olarak kalıtılır. X'e bağlı RP (XLRP) ilerleyen retina dejenerasyonlarının en önemli formlarından biridir. XLRP için bu güne kadar 5 gen bölgesi (genetik lokus) haritalanmıştır: RP2, RP3, RP6, RP23, RP24. Bunlardan RP3, vakaların %70-90'ına, RP2 ise %10-20'sine neden olmaktadır. RPGR genindeki mutasyonlar, XLRP'nin RP3 alt tipi ile bağlantılıdır. RPGR'de ekzon 1-14 arasında mutasyonlar tanımlanmış olmakla birlikte, Avrupa ve Kuzey Amerika'daki XLRP vakalarının %50-60'ına ORF15 mutasyonları neden olmaktadır. ORF15 mutasyonlarına ayrıca ailelerinde başka hasta görülmeyen tek erkek (simplex male) hastalarda da rastlanılmıştır. Bu çalışma, XLRP ve bu hastalığın patolojisinden sorumlu olan RPGR ve RP2 genlerinin moleküler analizlerinin tanıtımını kapsamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Retinitis pigmentosa, XLRP, RPGR, RP2, retina, moleküler analiz, retinal dejenerasyonlar.

ABSTRACT

Retinitis pigmentosa (RP) is a heterogeneous group of retinal dystrophies that is characterized by photoreceptor degeneration. RP causes night blindness, a gradual loss of peripheral visual fields and eventual loss of central vision. The disease can be inherited in autosomal dominant, autosomal recessive, X-linked and digenic modes. X-linked retinitis pigmentosa (XLRP) is one of the severe forms of progressive retinal degeneration. Five loci have been mapped for XLRP ; RP2, RP3, RP6, RP23 and RP24. Among these, RP3 accounts for 70%-90% and RP2 accounts for 10%-20% of genetically identifiable disease. Mutations in the RPGR gene are associated with RP3 subtype of XLRP. Mutations in RPGR have been identified in exons 1-14; however, ORF15 is the hot spot for mutations accounting for 50-60% of XLRP in Europe and North America. ORF15 mutations have also been detected in simplex RP males. Here we describe XLRP and the molecular analysis of RPGR and RP2 genes responsible for the disease condition.

Key Words: Retinitis pigmentosa, XLRP, RPGR, RP2, retina, molecular analysis, retinal degenerations.

Ret-Vit 2006;14:79-81

Geliş Tarihi : 14/07/2004

Kabul Tarihi : 07/09/2004

Received : July 14, 2004

Accepted: September 07, 2004

- 1- Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji A.D., Arş.Gör.
- 2- Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji A.D., Prof.Dr.

- 1- M.D. Hacettepe University Faculty of Science Molecular Biology Section, Beytepe, Ankara/TURKEY
ACAR C., ceren@hacettepe.edu.tr
- 2- M.D. Professor, Hacettepe University Faculty of Science Molecular Biology Section, Beytepe, Ankara/TURKEY
ÖNER C., coner@hacettepe.edu.tr
ÖĞÜŞ A., bioarzu@hacettepe.edu.tr

Correspondence: M.D. Ceren ACAR
Hacettepe University Faculty of Science Molecular Biology Section, Beytepe, Ankara/TURKEY

1- XLRP'NİN KLİNİĞİ

Retinitis pigmentoza (RP) kalıtsal göz bozuklukları arasında en sık rastlanılanıdır. Akraba evliliklerinin yaygın olduğu ülke ve bölgelerde daha sık olarak görülmektedir. RP'nin genel popülasyondaki sıklığı 4000'de 1 olarak belirlenmiştir¹. RP, sporadik olgular dışında çok heterojen bir kalıtım modeli sergiler; otozomal dominant, otozomal resesif, X'e bağlı ya da digenik (iki gene bağlı) olarak kalıtılır. X'e bağlı kalıtım gösteren RP (XLRP), erken yaşta ortaya çıkması ve hızlı ilerlemesi ile en şiddetli RP tipidir ve RP olgularının %10-20'sinden sorumludur.

İnsan X kromozomu, büyük çoğunluğunu kalıtsal retinal hastalıkların oluşturduğu çok sayıda kalıtsal göz hastalığına ev sahipliği yapmaktadır. Bu hastalıklar arasında retinitis pigmentoza (RP), konjenital durağan gece körlüğü (CSNB) ve ilerleyen koni distrofisi (COD) bulunmaktadır². XLRP, retinitis pigmentozanın en şiddetli formudur ve erkek hastalarda hayatın ilk 20 yılında gece körlüğü ve görme alanındaki daralma ile ortaya çıkar, ilerleyen aşamalarda şiddetli görme kaybı görülür. 30'lu, 40'lı yaşlarda tam körlük görülür. Taşıyıcı kadınlar hastalığın çeşitli klinik belirtilerini orta yaşlarda gösterirler. Hastalık dejeneratiftir ve gece körlüğü ve pigmenter retinopati ile sonuçlanan periferik fotoreseptör kaybına bağlı görsel alanın daralması ile karakterize edilir. Görme alanının kaybedilmesi hastalığın ileriki evrelerinde oluşur.

Retinitis pigmentozanın belirgin özelliği, çubuklar çoğunlukta olmak üzere fotoreseptör hücrelerinin ve pigment epitelinin atrofisidir. Histopatolojik olarak periferik retinadan başlar. Çubukların ve ileri evrelerde de konilerin dış segmentlerinde ilk önce kısalma görülür ve daha sonra da bu hücreler yok olmaya başlar. Pigment epitelinde atrofi vardır. Melanin pigmentleri retinaya girmiştir ve özellikle damar duvarları çevresinde kümelenmişlerdir.

Çubuk hücrelerinin tahribatına bağlı olarak hastaların ilk yakınması düşük ışıқта görme azalması ve karanlığa uyumun bozulmasıdır. Makula sağlam kaldığı sürece merkezi görme ve renkli görme normaldir. Görme alanında başlangıçta ekvatorunda skotomlar oluşur ve bunlar birleşerek çember şeklinde skotom oluştururlar. Daha sonra bu skotom periferik ve merkeze doğru ilerleyerek görme alanında daralma meydana getirir. Bu evrede hastaların merkezi görmeleri sağlam bile olsa çevrelerini göremezler³.

2- XLRP'NİN GENETİĞİ

Bağlantı analizleri ile X kromozomunda 5 ayrı RP lokusu tanımlanmıştır; RP2, RP3, RP6, RP23 ve RP24^{4,5}. Bunların yanı sıra bağlantılı iki hastalık için de lokus bulunmaktadır. Bunlar; Konjenital Kalıcı Gece Körlüğü (CSNB) ve Koni-Çubuk Distrofisidir (COD1, COD2) (4). XLRP ailelerinin büyük çoğunluğu RP2 ve RP3'e bağlantılı göstermektedir. XLRP vakalarının %70-75'inin RP3, %11-25'nin de RP2 lokuslarına bağlantılı olduğu bilinmektedir¹. İlk olarak Xp11'de bir RP geninin (RP2) lokusuna genetik bağlantısı gösterildikten sonra diğer 4 XLRP lokusu tanımlanmıştır. RP2 geninin klonlanması ve mutasyon analizleri RP2 lokusunun, XLRP vakalarının %10-25'ine karşılık geldiğini doğrulamıştır. Diğer iki XLRP lokusuna

iki soy ağacında bağlantı gösterilmiştir. Bu lokuslar: Xp 22'deki RP23 ve Xq 26-27'deki RP24'tür^{6,7}.

RP2 geni 5 ekzondan oluşur ve 350 amino asitlik, kofaktör C benzeri domeynler içeren bir protein sentezler. Kofaktör C, nükleozit difosfat kinaz ailesinin bir üyesidir. Farklı XLRP hastalarının %7-18'inde mutasyona uğramıştır. Proteinin N ucundaki mutasyonlar plazma zarına hedeflenmeyi bozar⁸.

RPGR (Retinitis Pigmentoza GTPaz Regulator) geni 19 ekzondan oluşur ve 815 amino asitlik bir proteini kodlar. Daha önceleri bu genin XLRPli hastaların sadece %11-26'sında mutasyona uğradığı ve mutasyonların RCC1'e (kromatin kondensasyon regülatörü) homolog olan domeyni kodlayan ekzon 1 ile 15 arasında olduğu saptanmıştır. ORF15 olarak tanımlanan bu yeni RPGR ekzonu önemli oranda retinada ifade olmaktadır. İngiliz ve İrlanda kökenli XLRP'li ailelerin %60'ında, Kuzey Amerika kökenli ailelerin %18-30'unda, Avrupalı XLRP popülasyonunun %32'sinde ve RP'li sporadik erkeklerin %15'inde ORF15 ekzonu mutasyona uğramıştır. ORF15'teki mutasyonlar X'e bağlı dominant RP hastalarında ve X'e bağlı koni-çubuk distrofili erkeklerde de tanımlanmıştır^{1,9,10}.

A. RPGR Geninin İfadesi

RPGR genindeki mutasyonlar körlüğe neden olan kalıtsal fotoreseptör dejenerasyonunun bir tipi olan X'e bağlı RP'ye neden olur. RPGR'nin in vivo fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır. RPGR, fotoreseptörlerde RPGR ile etkileşen proteine (RPGRIP) bağlanarak birleştirici siliyumda (connecting cilium) yoğunlaşmıştır. Bu yapı, farklı protein içeriğindeki iki hücresel kompartmanı birleştirir. RPGR'si olmayan farelerde koni fotoreseptörlerinde opsin ektopik yerleşim gösterir ve erken sinapslar yapar. Sonuç olarak koni ve çubuk fotoreseptörleri dejenerer olur.

Daha önceki çalışmalar RPGR'nin 19 ekzon içeren bir transkriptinin varlığını tanımlamışlardır. Bu transkript birçok dokuda ifade olmaktadır. RCC1 homoloji domeyni kodlayan dizi ekzon 1 ile 11 arasında yer almaktadır. Geri kalan dizi bilinen başka bir motifi içermemektedir. Bilinen bu transkripte ek olarak intron 15'te sonlanan bir RPGR transkripti de bulunmuştur. Bu alternatif terminal ekzon ORF15 olarak anılmakta ve ekzon 15'i ve intron 15'in bir kısmını içermektedir. XLRP'li hastalarda ORF15 bölgesinde hastalığa neden olan çok sayıda mutasyon bulunmuştur. Ekzon 16'dan 19'a kadar olan bölgede mutasyon bulunmaması ORF15 transkriptinin fonksiyonel olarak belirgin RPGR izoformu olduğunu düşündürmektedir.

ORF14/15 ekzonundaki sıplays heterojenliği, bu ekzondaki genomik DNA dizisinin değişkenliğinin tahmin edilemeyecek şekillerde sıplays olayını etkileyebileceğini ve bozuk ürün oluşumuna neden olabileceğini düşündürmektedir. Bu olasılık bu bölgedeki hastalık yapıcı mutasyonlar değerlendirilirken akılda tutulmalıdır.

B. RPGR Mutasyonları

RPGR mutasyonu taşıyan vakaların çoğunda tipik koni-çubuk distrofisi, sağırılık ve solunum sillerinde anormallikler gözlenmiştir. RP3 hastalarında mutasyonlar ekzon 1-14 ve ORF15 bölgelerinde bulunmuştur. Bu da insanda normal retinal fonksiyon için bu transkriptin ge-

rekliliğini gösterir.

ORF15 ekzonu en azından İngiliz popülasyonunda mutasyonlar için sıcak nokta olarak görülmektedir ve 47 XLRP'li hastada bulunan mutasyonların %80'i bu bölgededir (9). 1995 yılında Atmaca ve ark. tarafından yapılmış bir çalışmada 42 RP'li aileden sadece bir tanesinin XLRP olduğu bulunmuştur¹¹. Türk popülasyonunda RP'li hastalarla grubumuz tarafından yapılan ORF15 mutasyon taramasında, bizim hasta grubumuzda hiçbir dizi değişikliğine rastlanmamıştır. (yayınlanmamış bilgi). Birçok RPGR mutasyonu tek aileye özgüdür ve bu durum fenotip-genotip korelasyonlarını göstermeyi güçleştirir.

Retinaya Özgü Fenotip

RPGR'nin ifadesi ile ilgili bulgular, retinaya özgü bir transkriptin ifadesi ve/veya retinaya özgü bir yolun varlığını düşündürmektedir.

RPGRIP1, RCC1 domeyni ile etkileşime girdiğinden insanlarda bilinen tüm sıplays varyantları ile potansiyel olarak etkileşir. RPGR/RPGRIP1 kompleksinin retinaya özgü fonksiyonuyla ilgili bilgiler, klinik olarak RP ile bağlantılı şiddetli bir retinal distrofi olan Leber Congenital Amaurosis'li (LCA) hastaların %6'sında RPGRIP1 rese-sif mutasyonlarının bulunmasıyla ortaya çıkarılmıştır⁹.

RPGR mutasyonlarının klinik spektrumu

XLRP'deki mutasyonlara ek olarak şiddetli koni-çubuk distrofisi olan bir ailede ORF15'te bir mutasyon bulunmuştur. Zito ve ark. RPGR mutasyonu ile bağlantılı erkeklerde şiddetli retinitis pigmentosa ile birlikte sağırılık ve göğüs, sinus ve burun enfeksiyonları rapor etmiştir. Aynı gendeki farklı mutasyonların hem RP hem de diğer retinal bozukluklara yol açtığı diğer örnekler Rho, PDE6B, ABCA4, RDS ve CRX genleridir. Bu bilgiler RPGR mutasyonlarının beklenilenden daha geniş etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir⁹.

C. XLRP'de Genotip-Fenotip Korelasyonu

Bağlantı analizlerine göre tanımlanmış RP3 ve RP2 hastalarında görme fonksiyonunu karşılaştıran birçok çalışma yapılmıştır. Bununla birlikte Sharon ve ark., RPGR ve RP2 mutasyonları tanımlanmış hastaların görme fonksiyonlarını karşılaştırmış ve retinal dejenerasyonun şiddetinde bir farklılık bulmuştur. RPGR mutasyonu taşıyan hastaların görme alanları daha küçüktür ve daha şiddetle indirgenmiş tüm alan elektoretinogram (ERG) amplitütleri vardır¹².

Mutasyonların birçoğu tek ailede bulunmuş olduğundan, fenotipin aileler arası varyasyonunu saptamak çok zordur. Hemizigotlarda küçük aile içi varyasyonlar dikkati çekmektedir. Mutasyonların çoğu şiddetli XLRP ile bağlantılıyken (G52X, G60V, 354-355 ins2, ekzon 8-10 delesyonu) bazıları hafif bir klinik göstermektedir (IVS7+5 G@A, IVS10 +3A@G, IVS13-8 A@G). Taşıyıcılarda hastalığın aile içi varyasyonu en azından X inaktivasyonunun bir sonucu olarak oldukça geniştir. Periferik pigment değişikliklerindeki asimetri ve ERG amplitütlerindeki farklılık yaygındır. Hafif RP vakalarında, genelde koni ve çubuk fonksiyonunun eşit kaybını gösteren ERG cevabı görülür¹.

SONUÇ

Bu derlemede, retinal dejenerasyonların ağır bir formu olan XLRP'den sorumlu bulunan genler, hastalığa neden olan moleküler mekanizmalar özetlenmiştir. Hastalığın klinik ve genetik olarak heterojen olduğu görülmektedir ve ilgili genlerin tümü henüz aydınlanmış değildir. RP2 ve RPGR gibi tanımlanan genlerin ise protein ürünlerinin biyokimyasal fonksiyonları kesin olarak tanımlanmamıştır. Bu proteinlerin ortak özelliği hücre içi trafikten sorumlu proteinlere benzemeleridir. Bazı durumlarda fenotip-genotip ilişkisi saptanmıştır. Hastalıkların moleküler patolojisinin aydınlatılmasında farklı popülasyonlarda mutasyon spektrumlarının çıkarılmasının katkısı büyüktür. Moleküler veriler gene-bağlı tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından da önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Bader I, Brandau O, Achatz H, et al.: X-Linked Retinitis Pigmentosa :RPGR Mutations in Most Families with Definite X Linkage and Clustering of Mutations in a Short Sequence Stretch of Exon ORF15. IOVS 2003;44:1458-1463.
2. Yang Z, Peachey NS, Moshfeghi DM, et al.: Mutations in the RPGR Gene Causes X-Linked Cone Dystrophy. Hum. Mol. Genet. 2002;11:605-611.
3. Bengisu Ü: Göz Hastalıkları 4. baskı .Ankara, Palme Yayıncılık 1998;192.
4. Breuer DK, Yashar BM, Filipova E, et al.: A comprehensive mutation analysis of RP2 and RPGR in a North American Cohort of Families with X-Linked Retinitis Pigmentosa. Am. J. Hum. Genet. 2002;70:1545-1554.
5. Breuer, D.K., Musarella, M., Swaroop, A.: Verification and fine mapping of the X-linked retinitis pigmentosa locus RP6. IOVS. 2000;41:191.
6. Hardcastle AJ, Thiselton DL, Zito L, et al.: Evidence for a new Locus for X-linked retinitis Pigmentosa (RP23). IOVS. 2000;41;2080-2086.
7. Gieser, L., Fujita, R., Göring, et al.: A novel locus (RP24) for X-linked retinitis pigmentosa maps to Xq26-q27. Am. J. Hum. Genet., 1998;63:1439-1447.
8. Chapple PJ, Hardcastle AJ, Grayson C, et al.: Mutations in the BN-terminus of the X-Linked Retinitis Pigmentosa Protein RP2 Interfere with the Normal Targeting of the Protein to the Plasma Membrane. Hum. Mol. Genet. 2000;9:1919-1926.
9. Vervoort R, Wright AF.: Mutations of RPGR in X-Linked retinitis Pigmentosa (RP3). Hum. Mutat. 2002;19:486-500.
10. Vervoort R, Lennon A, Bird AC, et al.: Mutational Hot Spot within a New RPGR Exon in X-Linked Retinitis Pigmentosa. Nature Genetics 2000.
11. Atmaca LS, Sayli BS, Akarsu N, ve ark.: Genetic features of retinitis pigmentosa in Turkey. Doc Ophthalmol 1995;89:387-392.
12. Sharon D., Sandberg M A, Rabe V W, et al.: "RP2 and RPGR Mutations and Clinical Correlations in Patients with X-Linked Retinitis Pigmentosa" Am. J. Hum. Genet. 2003;73:1131-1146.