

Telomer disfonksiyonu sonucu görülen hastalıklar

Z. Günnur Dikmen¹, İlgen Mender², Pakize Doğan³

¹Yrd. Doç. Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

²Yüksek Lisans Öğrencisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

³Prof. Dr., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

ÖZET

Telomer dinamiği, hem yaşlanma hem de kanser etyopatogenezinin anlaşılmasında önemlidir. Telomerler, kromozomal uçların DNA kırığı gibi algılanmasını önleyen koruyucu yapılardır ancak replikasyon sonu problemi nedeniyle her hücre bölünmesinde bir miktar kısalarak replikatif yaşlanmaya yol açar. Telomerik dizileri sentezleyen telomeraz, başlıca iki komponentten oluşmaktadır: Telomerik DNA sentezinde kalıp olarak kullanılan RNA komponenti (hTR/hTERC) ve kromozomal uçlara telomerik tekrarları ekleyen katalitik komponent (hTERT). Telomeraz aktivitesi, hücrelerin sonsuz proliferasyonları ve tümörögenез için gereklidir. Bununla birlikte, son yıllarda diskleratozis kongenita, idiyopatik pulmoner fibrozis ve kemik iliği yetmezliği sendromlarında, telomerazın komponenti olan TERT ve TERC genlerindeki heterozigot mutasyonlar tanımlanmıştır. Kısa telomerlerle karakterize olan bu hastalıklarda, telomerik kısalık hastalığın erken başlaması ve ciddiyeti ile korelasyon göstermektedir. Kısa ve disfonksiyonel telomerleri hedef alan tedavi stratejileri, kalıtsal erken yaşlanma sendromları ve yaşa bağlı hastalıklarda umut verici olabilir.

Anahtar Kelimeler: Telomer, telomer disfonksiyonu, telomeraz.

ABSTRACT

Diseases related with dysfunctional telomers

Telomere dynamics are a critical component of both aging and cancer. Telomeres prevent the ends of linear chromosomes from appearing as DNA doublestrand breaks but shorten with each cell division due to end replication problem resulting in replicative senescence. The synthesis of telomere sequences is achieved by telomerase, which is composed of two essential components: the RNA component (hTR or hTERC) that serves as a template for telomeric DNA synthesis; and the catalytic protein component (hTERT) that adds the telomeric repeats onto the chromosomal ends. Telomerase activity is essential for unlimited cellular proliferation and tumorigenesis. Additionally, in recent years, heterozygous mutations of the genes encoding TERT and TERC have been described for patients with dyskeratosis congenita, bone marrow failure and idiopathic pulmonary fibrosis. All these diseases are characterised with short telomeres, the shorter telomeres are associated with earlier onset and disease severity. Targeting short or dysfunctional telomeres in inherited premature aging syndromes and age-related diseases may be promising for therapeutic potential.

Key Words: Telomere, telomeric dysfunction, telomerase.

Telomerler, kromozomların ucunda yer alan DNA/protein yapısında özelleşmiş koruyucu yapılarıdır [1]. Yapılan çalışmalar, bu koruyucu telomerik yapıların kaybının, genomik instabiliteye neden olarak belli kanserlere ve yaşla ilişkili rahatsızlıklara yol açtığını ortaya koymaktadır [2,3].

Telomerlerin 3' ucunda guaninden zengin tek zincirli uç, kendi üzerinde katlanarak kement benzeri t-loop yapısı oluşturur [4]. T-loop yapısıyla birlikte telomerik uçlara bağlanan proteinler de kromozomal uçları koruyarak, bu uçların DNA hasarı olarak algılanmasını engeller [5]. T-loop yapısının oluşturulmasında ve stabilitesinde rol alan 6 telomer spesifik protein "Shelterin" kompleksini meydana getirir, bu proteinlerden TRF1, TRF2 ve POT1 direkt TTAGGG tekrarlarına tutunur, birbirlerine TIN2, TPP1 ve Rap1 proteinleri ile bağlanırlar [6]. TRF1, TRF2 ve Tin2 ise telomerazın tutunmasını bloke ederek telomerik kısalmaya neden olduklarından, telomerlerin negatif regülatörleri olarak kabul edilmektedir. POT1 ve TTP1, telomerlerin pozitif regülatörleridir [7].

Belli bir kısalığın altındaki telomerlerde t-loop konformasyonu değişir. Telomer bozukluğu sonucunda kromozomal uçlarda füzyonlar oluşabilir ve/veya bu uçlar çift zincir kırıkları gibi algılanabilir ve DNA tamir mekanizmaları devreye girer. DNA hasarını gösteren 53BP1, γ H2AX, BRCA1 ve Mre11 komplekslerinin de telomerik uçlara lokalize olması bu görüşü desteklemektedir [8].

Telomeraz, replikatif yaşlanma ve kanser

Somatik hücreler nedeniyle karşıt zincirin tam kopyalanamaması sonucu her replikasyonda 50-200 bp telomerik DNA kaybederler, sonuçta kısalan disfonksiyonel telomerler hasarlı DNA olarak algılanır ve "replikatif yaşlanma" olarak bilinen kalıcı büyüme duraklaması izlenir. Ancak hücre siklusunu kontrol altında tutan proteinlerin (p53/p21 ve pRB/p16) inaktive olduğu durumlarda, hücreler yaşlanma aşamasını atlayarak proliferasyona devam ederler ki, bu da genomik instabiliteye ve hücre ölümüne yol açar. Az sayıdaki hücre (10^5 - 10^7), telomeraz reaktivasyonu ile telomerik uzunluklarını korumayı başarıp bu kriz periyodunu aşabilir [9]. Telomeraz, ters transkriptaz aktivite gösteren katalitik alt ünite (hTERT) ve RNA alt ünitesi (hTR) içeren ribonükleoprotein yapıda bir kompleksir [10,11]. hTR, telomerik DNA sentezi için kalıp görevi görürken hTERT telomerik tekrarları (TTAGGG) kromozomal uçlara ekler [12]. Somatik hücrelerin çoğunda, embriyonik dönemde hTERT'in transkripsiyonu represe olduğundan,

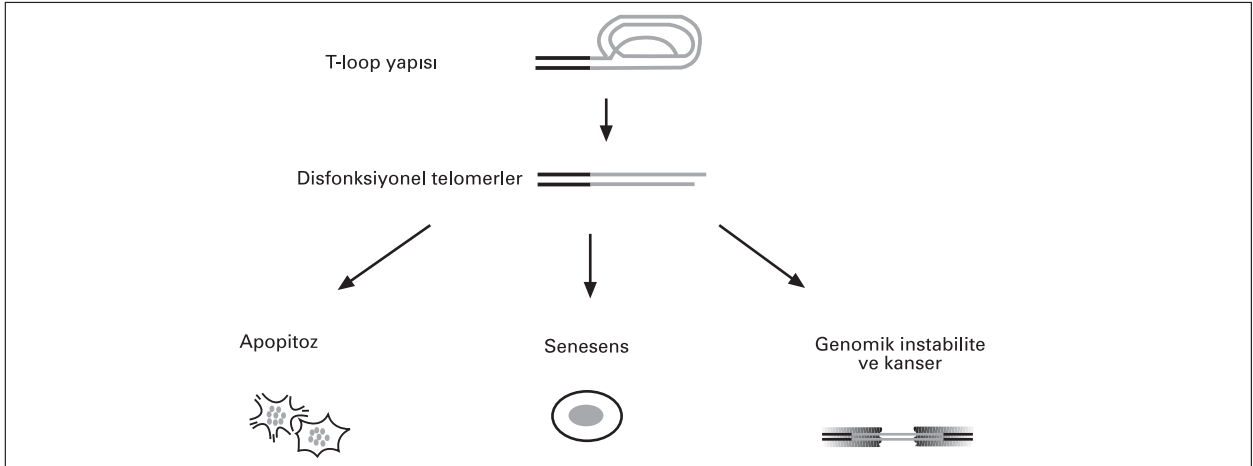
telomeraz aktivitesi izlenmemekte ancak tümörlerin %90'ında yüksek düzeyde telomeraz aktivitesi saptanmaktadır [13]. Tümör gelişimi sürecinde, telomeraz aktivitesindeki artışta farklı mekanizmaların rol oynadığı düşünülmektedir; ancak somatik hücrelerde inaktif durumdaki enzimin reaktif olarak aktif forma mı geçtiği yoksa kök hücre ya da öncü hücrelerdeki enzimin aktivitesine belirgin artış sonucu yüksek bir düzeye mi ulaştığı henüz kesin olarak bilinmemektedir [14]. Tümörlerin geri kalan %10'luk kısmında ise telomerik uzunluklar alternatif yollarla (ALT: alternative lengthening of telomeres) korunmaktadır [15].

Telomer disfonksiyonu

Telomer disfonksiyonu, telomer homeostazının bozulmasıdır. Replikatif yaşlanmaya bağlı izlenen telomerik kısalma, t-loop yapısı ve/veya telomerik proteinlerin harabiyeti veya regülasyonundaki bozukluk, telomerik disfonksiyona yol açmaktadır. Yaşlanmanın, genetik ve çevresel faktörlerinde telomer disfonksiyonuna neden olduğu yeni yeni anlaşılmaktadır. Hücreler disfonksiyonel telomerlere cevap olarak yaşlanmaya veya apoptozise gidebilir ya da genomik instabilite gelişir (Şekil 1) [16].

Telomerlerin kritik bir kısalığa ulaşması yaşlanmayı başlatan faktörlerden birisidir. Telomerik kısalma sonucunda hücre bölünmesinin kısıtlanması, premalign hücrelerin çoğalmasını ve tümörögenезis için gerekli ilave mutasyonların kazanılmasını engeller. Bu nedenle, telomerik kısalma, tümörden koruyucu bir mekanizma olarak kabul edilmektedir [17]. Kök hücrelerle yapılan çalışmalar da DNA hasarını takiben aktive olan hücre siklusu kontrol noktalarının hücreleri apoptozise ve yaşlanmaya yönlendirdiğini, bu kontrol mekanizmalarının inaktivasyonunun genomik instabiliteye yol açarak tümör oluşumunu tetiklediğini desteklemektedir [18].

Genomik instabilite, kanser gelişiminde en erken izlenen neoplastik değişimlerden birisidir [19]. Telomerik disfonksiyon hipotezi, kromozomal uçlar telomerik yapılar ile korunmadığında telomerlerin kısalacağını, telomerik füzyonların oluştuğunu ve bunun da genomik instabiliteye yol açtığını ileri sürmektedir (Şekil 1). Sonuç olarak genomik bütünlük kaybı, hücre büyümesini kontrol altında tutan hTERT gibi birtakım genlerin regülasyonunda bozukluğa yol açmakta ve sonuçta tümör oluşumuna neden olmaktadır [20,21]. Ancak genomik instabilitenin tek nedeni telomer disfonksiyonu değildir; DNA tamir mekanizmalarındaki hatalar, kontrol noktalarındaki defektler, kromozomal segregasyon



Şekil 1. Telomer disfonksiyonu yaşlanmaya, apoptoza ve genomik instabiliteye neden olmaktadır (16 no'lu kaynaktan modifiye edilmiştir).

defektleri ve viral infeksiyonlar, genomik instabiliteye yol açan diğer faktörlerdir [22].

Kanser gibi yaşlanma ile ortaya çıkan hastalıklarda risk faktörü kabul edilen çevresel faktörlerin, kısa telomerlerle korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir. Beyaz kan hücrelerinin telomer uzunluklarında saptanan azalmanın, oksidatif hasar veya strese yanıt olarak hücre yaşam döngüsündeki azalmayı yansıttığı düşünülmektedir. Kronik strese maruz kalan kadınların daha kısa telomerlere ve düşük telomerase aktivitesine sahip oldukları saptanmıştır [23]. İnsan immünyetmezlik virüsü (HIV) infeksiyonunun da CD8⁺ T lenfositlerindeki telomerase aktivitesini azalttığı ve telomerlerde kısalma ya yol açtığı bildirilmektedir [24]. Sisplatin tedavisi alan yaşlı hastaların da telomer uzunluklarında kısalma olduğu rapor edilmektedir [25]. Ayrıca sigara içimi, telomerik kısalma ya yol açarak telomerik disfonksiyona yol açabilmektedir. Valdes ve arkadaşları kadınlarda sigara içimi ile beyaz kan hücrelerindeki telomer kısalması arasında doz bağımlı bir ilişki olduğunu ve sigara içiminin yaşlanmayı hızlandığını ileri sürmektedir [26].

Telomerase telomerik uçları korumaktan başka fonksiyonları var mıdır?

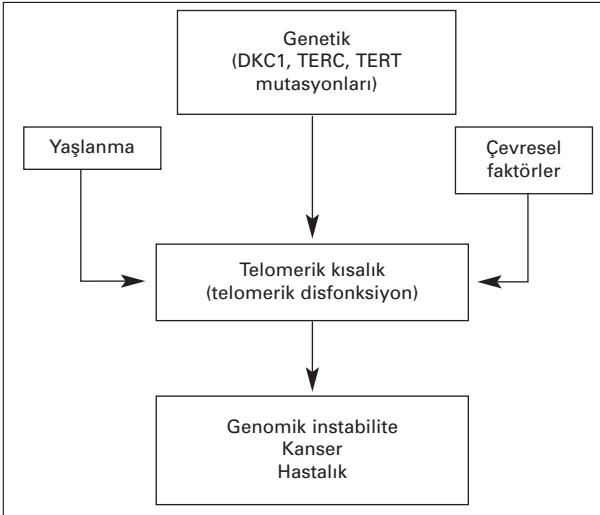
Son yıllarda yapılan araştırmalar, telomerase telomer devamlılığını sağlamaktan başka apoptoz regülasyonunda, DNA tamirinde, kök hücre fonksiyonunda rolü olduğunu ortaya koymaktadır [27]. Ayrıca, yapılan mikroarray analizler, telomerase hücre siklusu, metabolizma, diferansiyasyon ve sinyal iletiminde görevli genlerin ekspresyonunu regüle ettiğini göstermektedir [28,29].

Son yıllardaki araştırmalar, telomerik kısalma ile karakterize olan diskleratozis kongenita (DKC), kemik iliği

yetmezliği sendromları ve idiyopatik pulmoner fibrozis (İPF)'in, telomerase alt ünitelerini kodlayan genlerdeki mutasyonlar sonucu ortaya çıktığını göstermiştir [30] (Şekil 2). DKC, X'e bağlı veya otozomal dominant geçiş gösteren, cilt pigmentasyonu, tırnak bozuklukları ve ağızda lökoplaki ile karakterize bir erken yaşlanma sendromudur. Ortalama görülme yaşı 16 olup, görülme sıklığı 1/1,000,000'dür [31]. DKC klinik bulguları, dokuların proliferatif kapasitelerindeki bozulma ile ilişkilidir; yenilenmeye ihtiyaç duyan cilt, oral mukoza ve kemik iliği DKC'de en çok etkilenen dokulardır. En sık ölüm sebebi ise kemik iliği yetmezliği, akciğer hastalıkları ve kanserdir [32].

DKC'nin X'e bağlı geçiş gösteren formunda, hTR/hTERT ile birlikte bulunan ve nükleoler bir protein olan diskerini kodlayan *DKC1* geninde mutasyon saptanmıştır. Bu hastaların hücrelerinde telomerler kısadır ve hTR düzeyi düşüktür [33,34]. DKC'nin daha nadir görülen otozomal dominant geçişli formunda ise, hTR'yi kodlayan *TERC* veya hTERT'i kodlayan *TERT* geninde mutasyon mevcuttur. DKC'de genellikle "missense" (yanlış anlamlı) mutasyonlara rastlanmaktadır. Hastalığın her iki formu da telomerik kısalma ile karakterize olup, daha kısa telomerli hastalarda klinik tablo daha ağır seyretmektedir [35,36].

DKC'li olguların %80'inde genellikle aplastik anemi şeklinde kemik iliği yetmezliği görülmektedir. Bu nedenle DKC, kalıtsal kemik iliği yetmezliği sendromlarından birisi sayılabilir [37]. Ayrıca aplastik anemi, miyelodisplastik sendrom, paroksizmal nokturnal hemoglobinüri ve esansiyel trombositoz gibi kemik iliği yetmezliği sendromlarında da *TERC* ve *TERT* genlerinde çeşitli mutasyonlar ve bu hastaların lökositlerinde telomerik kısalık saptanmıştır [30].



Şekil 2. Telomerik fonksiyon bozukluğuna yol açarak hastalığa veya kansere neden olan faktörler (30 no'lu kaynaktan alınmıştır).

İPF, skar dokusu oluşumu ve akciğer fonksiyon testlerinde bozulma ile karakterize ilerleyici bir akciğer hastalığıdır. Genellikle 50 yaşın üzerindeki erişkinleri etkiler. Spontan remisyon göstermeyen, tedavisi olmayan öldürücü bir hastalıktır [38]. Olguların yaklaşık %0.5-2.2'si aileseldir, bunların da %20'sinde otozomal dominant geçiş saptanmıştır [39]. Ailesel İPF'de, genellikle *TERT* geninde nükleotid delesyonu, "missense" ve "splice site" (kesim bölge) mutasyonlarına rastlanmaktadır [30]. Akciğerler, yenilenmek için telomeraz ekspresyen eden kök hücrelere ihtiyaç duyduğundan, telomeraz eksikliği fibrozise yol açmaktadır. Pulmoner fibrozisli hayvan modellerinde, akciğer epitelyum hücre hasarında telomeraz ekspresyonunda artış izlenmesi, telomerazın bu hastalıktaki koruyucu rolünü ortaya koymaktadır [40].

Tablo 1'de DKC, İPF ve kemik iliği yetmezliği sendromlarının klinik özellikleri ile izlenen mutasyonlar verilmektedir. *TERC* mutasyonları genelde DKC veya kemik iliği yetmezliğinde izlenirken, *TERT* mutasyonları genelde İPF ve kemik iliği yetmezliğinde izlenmektedir. Telomerik kısalık her 3 hastalıkta ortak bir bulgu olup, hastaların fibroblastlarının, lenfoblastlarının ve lökositlerinin telomerleri belirgin şekilde kısadır. Telomerik kısalık erken başlangıç ve hastalığın ciddiyeti ile korelasyon göstermektedir. Aynı genlerdeki mutasyonların farklı klinik tablolara yol açması, genotip farklılığına, yaşa ve çevresel faktörlere bağlanmaktadır [30].

DKC, kemik iliği yetmezliği sendromları ve İPF, telomerlerin uzatılmasıyla tedavi edilebilir mi?

Telomer kökenli replikatif yaşlanmaya bağlı görülen hastalıkların tedavisinde, *in vitro* şartlarda üretilmiş hücre ve dokuların kullanılabilmesi için geliştirilmektedir. Bunu test edebilmenin en iyi yöntemi, kişiden izole edilen kısa telomerli hematopoietik hücrelerin izole edilmesi, *in vitro* ortamda büyütülmesi, adenoviral hTERT ile transfekte edilmesi ve telomerlerin belli bir uzunluğa eriştikten sonra tekrar hastaya verilmesidir. Bu yaklaşımın en büyük avantajı, hastanın kendi hücreleri kullanıldığı için rejeksiyon olmaması ve kemik iliği hücrelerinin ablasyonuna gerek kalmamasıdır [30,41]. Sonuç olarak, telomeraz ve telomerik uzunlukların regülasyonu, hem kanser hem de yaşa bağlı izlenen hastalıkların tedavisinde önemli bir hedef olarak karşımıza çıkmaktadır.

Tablo 1. Diskeratozis kongenita (DKC), kemik iliği yetmezliği sendromları ve idiyopatik pulmoner fibroziste görülen klinik bulgular ve mutasyonlar*

	DKC	Kemik iliği yetmezliği	İdiyopatik pulmoner fibrozis
Kalıtım	X-res, OD, OR	OD, OR, sporadik	OD, sporadik
Başlangıç yaşı	10-30	Tüm yaşlar	> 40
Cilt anomalileri	+	-	-
Kemik iliği yetmezliği	+	+	Anemi
Somatik anomaliler	+	Nadir	Osteoporoz
Kanser	+	+	?
Kromozomal instabilite	+	+	?
Kısa telomerler	(+)	(+)	(+)
Gen mutasyonu	DKC1, TERC, TERT	TERC, TERT	TERC, TERT

* 30 no'lu kaynaktan alınmıştır.

OD: Otozomal dominant, OR: Otozomal resesif.

Kaynaklar

1. Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. *Cell* 2001; 10:661-73.
2. Cheung AL, Deng W. Telomere dysfunction, genome instability and cancer. *Front Biosci* 2008; 13:2075-90.
3. Murnane JP, Sabatier L. Chromosome rearrangements resulting from telomere dysfunction and their role in cancer. *Bioessay* 2004; 26:1164-74.
4. Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, et al. Mammalian telomeres end in a large duplex loop. *Cell* 1999; 97:503-14.
5. De Lange T. Protection of mammalian telomeres. *Oncogene* 2002; 21:532-40.
6. De Lange T. Shelterin: the protein complex that shapes and safeguards human telomeres. *Genes Dev* 2005; 19: 2100-10.
7. Smogorzewska A, De Lange T. Regulation of telomerase by telomeric proteins. *Annu Rev Biochem* 2004; 73:177-208.
8. Ferreira MG, Miller KM, Cooper JP. Indecent exposure: when telomeres become uncapped. *Molecular Cell* 2004; 16:7-18.
9. Stewart SA, Weinberg RA. Telomeres: cancer to human aging. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2006; 22:531-57.
10. Greider CW, Blackburn EH. Identification of a specific telomere terminal transferase activity in tetrahymena extracts. *Cell* 1985; 43:405-13.
11. Greider CW, Blackburn EH. Tracking telomerase. *Cell* 2004; 116:83-6.
12. Cong YS, Wright WE, Shay JW. Human telomerase and its regulation. *Microbiol Mol Biol Rev* 2002; 66:407-425.
13. Blackburn EH. Telomere states and cell fates. *Nature* 2000; 408:53-6.
14. Armanios M, Greider CW. Telomerase and cancer stem cells. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2005; 70:205-8.
15. Muntoni A, Reddel RR. The first molecular details of ALT in human tumor cells. *Hum Mol Genet* 2005; 14:191-6.
16. Gilley D, Tanaka H, Herbert BS. Telomere dysfunction in aging and cancer. *The International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 2005; 37:1000-13.
17. Campisi J. Cellular senescence as a tumor-suppressor mechanism. *Trends in Cell Biology* 2001; 11:27-31.
18. Pelicci PG. Do tumor-suppressive mechanisms contribute to organism aging by inducing stem cell senescence? *J Clin Invest* 2004; 113:4-7.
19. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000; 100:57-70.
20. DePinho RA. The age of cancer. *Nature* 2000; 408:248-54.
21. Artandi SE, DePinho RA. Mice without telomerase: what can they teach us about human cancer? *Nature Medicine* 2000; 6:852-5.
22. Gilley D, Herbert BS, Huda N, Tanaka H, Reed T. Factors impacting human telomere homeostasis and age-related disease. *Mechanisms of Ageing and Development* 2008; 129:27-34.
23. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:17312-5.
24. Dagarag M, Evazyan T, Rao N, Effros RB. Genetic manipulation of telomerase in HIV-specific CD8+ T cells: enhanced antiviral functions accompany the increased proliferative potential and telomere length stabilization. *J Immunol* 2004; 173:6303-11.
25. Unryn BM, Hao D, Gluck S, Riabowol KT. Acceleration of telomere loss by chemotherapy is greater in older patients with locally advanced head and neck cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12:6345-50.
26. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet* 2005; 366:662-4.
27. Cong Y, Shay JW. Actions of human telomerase beyond telomeres. *Cell Research* 2008; 18:725-32.
28. Perrault SD, Hornsby PT, Betts DH. Global gene expression response to telomerase in bovine adrenocortical cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 335:925-36.
29. Santos JH, Meyer JN, Van Houten B. Mitochondrial localization of telomerase as determinant for hydrogen peroxide-induced mitochondrial DNA damage and apoptosis. *Hum Mol Genet* 2006; 15:1757-68.
30. Garcia CK, Wright WE, Shay JW. Human diseases of telomerase dysfunction: insights into tissue aging. *Nucleic Acids Research* 2007; 35:7406-16.
31. Drachtman RA, Alter BP. Dyskeratosis congenita. *Dermatol Clin* 1995; 13:33-9.
32. Dokal I. Dyskeratosis congenita in all its forms. *Br J Haematol* 2000; 110:768-79.
33. Heiss NS, Knight SW, Vulliamy TJ, et al. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutations in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet* 1998; 19:32-8.
34. Wong JM, Collins K. Telomerase RNA level limits telomere maintenance in X-linked dyskeratosis congenita. *Genes Dev* 2006; 20:2848-58.
35. Vulliamy T, Marrone A, Goldman F, et al. The RNA component of telomerase is mutated in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Nature* 2001; 413:432-5.
36. Armanios M, Chen JL, Chang YP, et al. Haploinsufficiency of telomerase reverse transcriptase leads to anticipation in autosomal dominant dyskeratosis congenita. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:15960-4.
37. Dokal I, Vulliamy T. Dyskeratosis congenita: its link to telomerase and aplastic anaemia. *Blood Rev* 2003; 17:217-25.
38. Gross TJ, Hunninghake GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001; 345:517-25.
39. Marshall RP, Puddicombe A, Cookson WO, Laurent GJ. Adult familial cryptogenic fibrosing alveolitis in the United Kingdom. *Thorax* 2000; 55:143-6.
40. Driscoll B, Buckley S, Bui KC, Anderson KD, Warburton D. Telomerase in alveolar epithelial development and repair. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279:1191-8.
41. Shay JW, Wright WE. Hallmarks of telomeres in ageing research. *J Pathol* 2007; 211:114-23.