

İNSANDA MİTOKONDRIAL KALITIMIN ÖZELLİKLERİ

Dr. Sennur DEMİREL*

* S.Ü.T.F.Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tüm memeli hücreleri en azından iki farklı genetik sistem içermektedir. Bunlardan birincisi sayısal, fonksiyonel ve patolojik olarak çok önemli olan nükleer genler, ikincisi sitoplazmada yer alan ve her bir mitokondride 2-10 adet sirküler, çift-sarmallı DNA molekülü olarak bulunan mitokondrial genlerdir. 16.569 nükleotid çifti (nç) uzunluğunda olan ve total hücre DNA'sının yaklaşık %1'ini oluşturan insan mitokondrial DNA (mtDNA)'sının dizi analizi tam olarak yapılmıştır (1).

MtDNA'da genetik kod nükleer DNA (nDNA)'dan biraz farklıdır ve çok az kodlanmayan dizi bulunmaktadır (1,2). MtDNA 2 ribozomal RNA (12S rRNA, 16S rRNA), 22 transfer RNA (tRNA) ile elektron taşıma sistemi ve oksidatif fosforilasyon sistemi için gerekli olan 67 polipeptidin 13'ünü kodlamaktadır (1,3,4).

MtDNA'nın replikasyonu nDNA'dan bağımsız olarak gerçekleşmekte ve her bir insan hücresi yüzlerce mitokondri ve binlerce sirküler mtDNA içermektedir. Otozomal nükleus genleri her hücrede iki kopya ile sınırlıdır ve Mendel yasaları uyarınca her iki ebeveynden eşit olarak kalıtılır; mtDNA genlerinin ise sitoplazmada binlerce kopyaları mevcuttur ve sadece anneden kalıtılmaktadır (3,5,6,7,8).

Mitokondriler endosimbiyotik orijinleri, sitoplazmik lokalizasyonları, hücre içindeki yüksek sayıları ve bölünen hücelere rastgele dağılımları ile eşsiz bir genetik yapı oluşturmaktadırlar (3). Normal

ve mutant mtDNA'ların yavru hücrelerde olduğu kadar kardeşler arasında ve hatta tek yumurta ikizlerinde gözlenen biyokimyasal defektlerde değişken fenotipler sergilemeleri, kalımları ile ilgili tahminleri zorlaştırmaktadır. Bir hücrede mutant ve normal mtDNA'ların birlikte bulunması heteroplazma, %99.9'unun aynı tip mtDNA'lardan oluşması ise homoplazma olarak adlandırılmıştır (6,9). Çoğunlukla mtDNA mutasyonları dokuların biyoenerji kapasitesini azalttığından % 100 mutant mtDNA ile homoplazma letal olmaktadır (6). Heteroplazmik durumda ise mutant mtDNA'nın çocuklara geçirilme oranının geniş bir çeşitlilik gösterdiği saptanmıştır. Larsson ve arkadaşlarının (7) bir çalışmasında, kas hücrelerinde % 30 oranında nokta mutasyonu bulunduran heteroplazmik bir annenin mutant DNA'larını %0-%73 arasında bir seviyede çocuklarına geçirdiği bildirilmiştir.

Son yıllarda gerçekleştirilen dizi analizi çalışmaları ile çocukların çoğunun annelerinden kalıtılan mtDNA bakımından homoplazmik oldukları gösterilmiştir (6). Belki de bir mutasyon sonucu oluşan tek bir mutant mtDNA veya çok az sayıda anneden kalıtılan mutant mtDNA çoğalarak sonuçta etkili hale gelebilmektedir (10). Bu değişimlere, mtDNA'da mutasyon oranının nDNA'dan 10 kez daha hızlı olması olarak sağlamaktadır (3,5,6). MtDNA'nın nDNA'dan diğer bir farkı da hemen hemen daima oosit sitoplazması ile maternal kalıtılmasıdır (3,6,7). MtDNA'nın restriksiyon enzimi uzunluk polimorfizm (RFLP) analizleri ile yapılan aile çalışmaları, mtDNA'nın anneden bütün ço-

cuklarına ve kız çocuklar yoluyla da bir sonraki jenerasyona aktarıldığını; erkeklerin kendi mtDNA'larını aktaramadıklarını göstermiştir (11,12,13).

Mitokondrial Hastalıklar ve Kalıtımı

Son yıllarda mtDNA'yı tanımlamak üzere gerçekleştirilen çalışmalar ile mtDNA'nın farklı delesyonları, duplikasyonları ve nokta mutasyonları belirlenmiştir (13,14). İnsanda progresif eksternal oftalmopleji (PEO), Kearns-Sayre sendromu (KSS) ve Pearson sendromu olarak bilinen üç hastalıkta mtDNA'da büyük delesyonlar saptanmıştır (1,14,15). Bu hastalıklarda mtDNA delesyonlarının heteroplazmik olduğu, her bir hastalık için spesifik bir mutant mtDNA popülasyonunun bulunduğu, bunların oranının hastadan hastaya değişebileceği ve ciddi etkilenmiş dokularda total mtDNA'nın % 80'ine ulaştığı Southern Blotting tekniği ile gösterilmiştir (14). Ayrıca bu hastaların üçte birinde 4977 nç uzunluğunda (ATP az 8 ve ND5 genleri arasında) yaygın delesyon olarak adlandırılan, mtDNA delesyonunun bulunduğu ve bu delesyonun maternal kalıtılmaktan ziyade sporadik ortaya çıktığı gösterilmiştir (16). Tüm bu bulgular, oogenesisiz veya embriyogenezisin erken döneminde ortaya çıkan tek bir mtDNA delesyonunun klonal yayılımını sürdürdürebildiğini düşündürmektedir (16,17).

KSS ve PEO sendromlarında yüksek seviyede bulunan yaygın delesyonların normal yaşlanma sonucuna bağlı olarak da çok az miktarda birikebileceği, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile gösterilmiştir (18,19). Daha sonra bu konuda yapılan çalışmalar delesyonlu mtDNA'ların normal yaşlanma süresi boyunca logaritmik olarak arttığını ve bu artışın iskelet kaslarında beklenenden çok daha fazla olduğunu ortaya koymuştur (14). Normal insan hayatı boyunca delesyonlu mtDNA'ların logaritmik artışının keşfedilmesi ilginç bir soruyu akla getirmektedir: Delesyonlu mtDNA'lar her bir jenerasyonda yeniden ortaya çıkıyorsa, var olanlar yenidoğanlarda nasıl sıfırlanmaktadır? Bunun açıklaması en azından 3 nedene dayandırılabilir:

1) Delesyonlu mtDNA'lar somatik dokularda ortaya çıkarak birikebilir, fakat üreme hücrelerine ulaşamayabilir; 2) Delesyonlu mtDNA'lar oosit veya ovumda ortaya çıkabilir, ancak bilinmeyen bir mekanizma ile eliminasyona uğrayabilir; 3) Delesyonlu mtDNA nadiren oogenesis boyunca ortaya çıkabilir veya önceden var olup ovuma dahil olmasına rağmen embriyo oluşturmayabilir (14). Mitokondrial DNA'nın geçişini açıklamak için yapılan çalışmalar normal insan oositinde 100.000'in üzerinde mtDNA olduğunu ortaya koymuştur (6,14). Oogenesisin doğumdan önce başladığı ancak puberteye kadar tamamlanmadığı bilinmektedir. Yenidoğan dışı bir bebeğin ovaryumlarında 2 milyon primer oositin bulunduğu tahmin edilmekte ve bunların yaklaşık 400'ünün sekonder oosit haline gelerek ovulasyona çıkabildiği bilinmektedir. Mutant mtDNA taşıyan bir oosit gelişmesi boyunca canlı kalabilir, klonal gelişimini sürdürebilir ve embriyoyu oluşturabilirse ancak o zaman patojenik bir faktör haline gelebilecektir (20). İnsan orijinleri ve hastalıkları açısından her bir mtDNA mutasyonunun önemi, genomun neresinde ve hayatın hangi döneminde oluştuğuna bağlıdır (3).

Çeşitli dejeneratif hastalıklar ile ilgili olarak mtDNA'nın tRNA ve rRNA genlerinde, 30'a yakın nokta mutasyonu belirlenmiştir. Bunlardan en iyi tanımlanmış olanlardan birisi genç erişkinlerde körlük oluşturan Leber'in herediter optik nöropatisidir (LHON). LHON'la ilgili 19 mutasyon tanımlanmış olup, 11778. nç'de G→A yönünde oluşan bir transisyonun çok sık görüldüğü vurgulanmıştır (1,3).

Myoklonik epilepsi ve ragged red fibers (MERRF) sendromunda çoğunlukla mitokondrial lizin tRNA geninin 8344. nç'de A→G yönünde bir transisyon tesbit edilmiş olup, mutant mtDNA'nın heteroplazmik hücrelerde %2-%27 oranında değiştiği saptanmıştır (1,21).

MtDNA'nın 3243. nç'de G→A transisyonu mitokondrial miyopati, ensefalopati, laktik asidoz ve inne benzeri ataklar ile seyreden mitokondrial ensefalomiyopatiler (MELAS) ile tüm tip II diabetes

mellitus olgularının %1-%3'ünden sorumlu bulunmuştur. Ayrıca miyopati ve diabetes mellitus bulguları olan bir hastada mtDNA'nın 14709. nç'de T→C yönünde bir transisyon, bazılarında ise mtDNA'da tandem duplikasyonlar olduğu bildirilmiştir (1,3,13,21).

Son yıllarda saptanan mtDNA mutasyonlarından biri de sensorinöral işitme kaybına (SNHL) neden olmaktadır. MELAS'a ve aminoglikozid antibiyotiklerle oluşan sağırlığa benzeyen bu durumun 2343.nç'de A→G yönünde bir mutasyona bağlı olduğu PCR tekniği ile belirlenmiştir (22).

Maternal kalıtılanan retinitis pigmentosa (RP), demans, ataksi ve proksimal nörojenik kas atrofi tanımlanan bir ailenin dört ferdinde, mtDNA'nın 8993.nç'de bir nokta mutasyonu belirlenmiş, bulguların ciddiyeti ile kan ve kas hücrelerinde bulunan mutant mtDNA miktarı arasında bağlantı olduğu vurgulanmıştır (1).

Bazı hastalıklarda, somatik mtDNA mutasyonlarının birikmesi ile klinik semptomların başladığı kaydedilmiştir (3). Örnek olarak, başlama yaşı geç olan Alzheimer hastalığında kortikal somatik mutasyonların oranı kontroller ile karşılaştırıldığında; 15 kat daha fazla bulunmuş ve yaşlanma ile mtDNA somatik mutasyon oranında artma olduğu gösterilmiştir. Benzer bulgular Huntington hastalığında da gözlenmiş, hastalarda bulunan mtDNA delesyonlarının, aynı yaştaki kontrollere göre 5-11 kat artmış olduğu açıklanmıştır (3).

Konu edilen olguların çoğunda mtDNA mutasyonları ile hastalıkların patogenezi arasında tam bir ilişki kurulamamış; ancak mitokondrial ve nükleer genler arasındaki etkileşimin oksidatif fosforilasyon yapan enzim kompleksini etkileyerek yüksek enerji ihtiyacı olan doku veya organ fonk-

siyonlarının azalmasına, semptomların belirmesine ve organ yaşlanmasının önemli bir faktör haline gelmesine yol açtığı düşünülmüştür (14,23).

Genellikle ciddi zararlı mutasyonlar çeşitli hastalıklara sebep olarak doğal seleksiyona uğrarken, nötr veya sağlığa az zararlı mtDNA mutasyonları heteroplazmik olarak günümüze kadar ulaşmışlardır (3). İki kişi arasındaki mtDNA nükleotid dizi farklılıklarının sayısı, paylaştıkları ortak maternal ata ve zamanla orantılıdır (24). Bu nedenle mtDNA polimorfizmleri insan ırk gruplarının olası filogenetiği ve coğrafik dağılımı konusunda önemli çalışmalara kaynak oluşturmaktadır (25,26,27).

Sonuç olarak; MtDNA mutasyonlarının insan evolusyonunda, dejeneratif hastalıklarda ve yaşlanma olgusunda önemli rol oynadığı anlaşılmıştır. Nötr veya sağlığa az zararlı mtDNA nokta mutasyonları kadınların yaşam tarihi boyunca birikerek, insanların çeşitliliğindeki artışa ve dejeneratif hastalıklara yatkınlığına katkıda bulunmuştur. Tekrarlayarak ortaya çıkan delesyon, yenidoğanlaşma ve nokta mutasyonları körlük, sensorinöral işitme kaybı, kas hastalıkları, demans, inme, kalp hastalıkları, böbrek yetmezliği ve diabet gibi geniş spektrumlu dejeneratif hastalıklara yol açmaktadır. Bu mutasyonlar genellikle heteroplazmiktir ve hastalığın ciddiliğine uygun oranda populasyondan seleksiyonla uzaklaştırılmaktadır. Postmitotik dokularda hayat boyu biriken somatik mtDNA mutasyonları dokuların biyoenerji kapasitesini azaltarak, maternal geçişli hastalıkların ortaya çıkıp ilerlemesine sebep olur ve yaşlanma sürecine katkıda bulunurlar. Bu nedenlerle mitokondrial genetik çalışmalarının, insan klinik genetiği ile ilgili şaşırtıcı olaylara önemli açıklamalar sağlayabileceği kanısındayız.

KAYNAKLAR

1. Harding AE. Neurological disease and mitochondrial genes. Elsevier science Publishers Ltd. TINS 1991; Vol 14. 4: 132-138.
2. Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K, Watson JD. Molecular biology of the cell. Second Edition. New-York ve London. Garland Publishing Inc. 1989; 342-355.

3. Wallace CD. Mitochondrial DNA variation in human evolution, degenerative disease and aging. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 201-223.
4. Anderson S, Bankier AT, Barrell BG, de Bruijn MHL, Coulson AR, Drouin J, Eperon IC. Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 1981; 290: 457-465.
5. Bendall KE, Sykes BC. Length heteroplasmy in the first hypervariable segment of the human mtDNA control region. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 248-256.
6. Poulton J. Transmission of mtDNA: Cracks in the bottleneck. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 224-226.
7. Larsson NG, Tulinus MH, Holme E, Oldford A, Andersen O, Wahlstrom J, Aasly J. Segregation and manifestations of the mtDNA tRNA(Lys) A→G (8344) mutation of myoclonus epilepsy and ragged-red fibers (MERRF) syndrome. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 1201-1212.
8. Howell N, Halvorson S, Kubacka I, McCullough DA, Bindoff LA, Turnbull DM. Mitochondrial gene segregation in mammals: is the bottleneck always narrow? *Hum Genet* 1992; 90: 117-120.
9. Hoelzel AR, Lopez JV, Dover GA, O'Brien SJ. Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. *J Mol Evol* 1994; 39: 191-199.
10. Laipis P, Hauswirth W, O'Brian T, Michaels G. Unequal partitioning of bovine mitochondrial genotypes among siblings. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 8107-8110.
11. Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV, Trounce I, Polak MA, Koontz DA, Wallace DC. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with a 10.4-kb mitochondrial DNA deletion. *Nat. Genet* 1992; 1: 11-15.
12. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980; 77: 6715-6719.
13. Wallace DC. Diseases of the mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem* 1992; 61: 1175-1212.
14. Chen X, Prosser R, Simonetti S, Sadlock J, Jagiello G, and Schon EA. Rearranged mitochondrial genomes are present in Human oocytes. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 239-247.
15. Rotig A, Cormier V, Koll F, Mize CE, Saudubray M, Vermerman A, Pearson HA. Site-specific deletions of the mitochondrial genome in the Pearson marrow-pancreas syndrome. *Genomics* 1991; 10: 502-504.
16. Mita S, Rizzuto R, Moraes CT, Shanske S, Arnaudo E, Fabrizi GM, DiMauro S. Recombination via flanking direct repeats is a major cause of large, scale deletions of human mitochondrial DNA. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 561-567.
17. Schon EA, Rizzuto R, Moraes CT, Nakase H, Zeviani M, DiMauro S. A direct repeat is a hotspot for large-scale deletion of human mitochondrial DNA. *Science* 1989; 244: 346-349.
18. Simonetti S, Chen X, DiMauro S, Schon EA. Accumulation of deletion in human mitochondrial DNA during normal aging: analysis by quantitative PCR. *Biochim Biophys Acta* 1992; 1180: 113-122.
19. Cortopassi GA, Arnheim N. Detection of a specific mitochondrial DNA deletion in tissues of older humans. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 6927-6933.
20. Linnane AW, Zhang C, Baumer A, Nagley P. Mitochondrial DNA mutation and the ageing process: bioenergy and pharmacological intervention. *Mutat Res* 1992; 275: 195-208.
21. Hoa H, Bonilla E, Manfredi G, DiMauro S, Moraes CT. Segregation patterns of a novel mutation in the mitochondrial tRNA glutamic acid gene associated with myopathy and diabetes mellitus. *Am J Hum Genet* 1995; 56: 1017-1025.
22. Oshima T, Ueda N, Ikeda K, Abe K, Takasaka T. Bilateral Sensorineural hearing loss associated with the point mutation in mitochondrial genome. *Laryngoscope* 1996; 106: 43-48.
23. Moraes CT, Ciacci F, Bonilla E, Jansen C, Hirano M, Rao N. Two novel pathogenic mitochondrial DNA mutations affecting organelle number and protein synthesis. *J Clin Invest* 1993; 92: 2906-2915.
24. Blanc H, Chen KH, Amore MA, Wallace DC. Amino acid change associated with the major polymorphic Hinc II site of Oriental and Caucasian mitochondrial DNAs. *Am J Hum Genet* 1983; 35: 167-176.
25. Melton T, Peterson R, Redd AJ, Saha N, Safro ASM, Martinson J, Stoneking M. Polynesian genetic affinities with Southeast Asian populations as identified by mtDNA analysis. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 403-414.
26. Bailliet G, Rothhammer I, Carnese FR, Bravi CM, Bianchi NO. Founder mitochondrial haplotypes in Amerindian populations. *Am J Hum Genet* 1994; 55: 27-33.
27. Ballinger SW, Schurr TG, Torroni A, Gan YY, Hodge JA, Hassan K, Chen KH. Southeast Asian mitochondrial DNA analysis reveals genetic continuity of ancient mongoloid migrations. *Genetics* 1992; 130: 139-152.