Yaşlanma ve Yaşlanmayla İlişkili Hastalıklardaki Epigenetik Değişiklikler

Epigenetic Alterations in Aging and Aging-Associated Diseases: Review

Sezgin GÜNEŞ,[a,b]
Bayram BAYRAMOV[a]

[a]Tıbbi Biyoloji AD,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
[b]Disiplinlerarası Moleküler Tıp AD,
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Samsun

Geliş Tarihi/*Received:* 26.04.2016
Kabul Tarihi/*Accepted:* 16.08.2016

Yazışma Adresi/*Correspondence:*
Sezgin GÜNEŞ
Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji AD, Samsun,
TÜRKİYE/TURKEY
sgunes@omu.edu.tr

ÖZET Yaşlanma, çok sayıda endojen ve ekzojen faktörlerin etkileşimi sonucunda ortaya çıkan tüm hücre, doku, organ ve sistemleri kapsayan kompleks ve geriye dönüşümü olmayan fizyolojik bir süreçtir. Yaşlanma, hem rastgele oluşan hem de çevresel faktörlerce uyarılan epigenetik değişimlerin sonucunda ortaya çıkmaktadır. Son veriler epigenetik modifikasyonlar ve yaşlanma arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Bazı genlerdeki metilasyon artışı ile genomun tekrar bölgelerindeki metilasyon seviyesindeki azalışı, histon kuyruklarındaki çeşitli modifikasyonlar, kromatin yeniden şekillenmesi ve kodlamayan kısa RNA'lar gibi çeşitli epigenetik modifikasyonlar hem fizyolojik yaşlanma sürecinde ve hem de kanser, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, kardiyovasküler hastalıklar ve demans gibi yaşlanma ile ilişkili hastalıklarda rol alabilmektedir. Epigenetik modifikasyonların bir bölümü yaşlanma ve yaşlanma ile ilişkili hastalıklarda doğrudan rol alabileceği gibi çevresel faktörlerin indüklemesi sonucunda ya da bir kuşaklar arasındaki aktarılmaya bağlı olarak etki edebilir. Ayrıca, kodlamayan kısa RNA'ların kromatin yapısına olan katkısı ve gen ifadesinin düzenlenmesindeki olası rolleri yaşlanmada bir diğer önemli çalışma alanı haline gelmektedir. Bu bakımdan, epigenetik düzenlenme mekanizmaları yaşlanmayı anlamada gelecek vaat eden bir araştırma alanı olarak görülmektedir. Yaşlanmanın, hangi epigenetik mekanizmalar aracılığı ile belirlendiğinin anlaşılması, yaşlanma ile ilişkili hastalıklarda koruyucu stratejilerin geliştirilmesi açısından son derece önemlidir. Bu derlemede, hücresel yaşlanma ve yaşlanma ilişkili fenotiplere katkı sağlayan epigenetik düzenlenme mekanizmalarını değerlendirmeyi amaçladık.

Anahtar Kelimeler: Yaşlanma; epigenezis, genetik; rna, okunmayan

ABSTRACT Aging is a complex physiological process comprising irreversible changes as a result of numerous of endogenous and exogenous factors at the level of all cells, tissues, organs and systems. Ageing is result of epigenetic alterations induced by both stochastic and environmental factors. Recent data have suggested an association between epigenetic modifications and aging. A variety of epigenetic modifications, including DNA methylation increase in specific genes and global hypomethylation of repeat elements, histone tail modifications, chromatin rearrangements and short non-coding RNAs may have a role in physiological aging and associated with ageing associated diseases including cancer, Alzheimer disease, Parkinson disease, cardiovascular diseases and dementia. Some of the epigenetic modifications may have a direct throughput on aging or aging-associated diseases; however the function of others may depend on the effect environmental factors or if they transmitted from one generation to the next. In addition, the contribution of non-coding RNAs to chromatin structure and its potential role in regulation gene expression is another promising area of research. In this regard, epigenetics has emerged as one of the promising research areas in understanding aging. Understanding the mechanisms by which epigenetics can influence the aging will be essential for the development of preventative strategies ageing associated diseases. We aimed to review some epigenetic regulation pathways that contribute to cellular senescence and ageing associated phenotypes.

Key Words: Aging; epigenesis, genetic; rna, untranslated

doi: 10.5336/medsci.2016-51843

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Turkiye Klinikleri J Med Sci 2016;36(3):162-70

Yaşlanma zamanla tüm ökaryotik organizmalarda meydana gelen, genetik ve çevresel faktörlere dayanan kaçınılmaz fizyolojik değişimlerdir.[1] Hücre ve organ yapılarının dejenerasyonu, kısalmış ve fonksiyonel olmayan telomerler, DNA'nın oksidatif hasarı, somatik mutasyonların birikimi, gen ifadesindeki değişiklikler, hücre yaşlanması ve apoptozis yaşlanmada gözlenen değişimler arasındadır.[2,3] Bu değişimler somatik hücrelerin yanı sıra gamet hücrelerini de etkilemektedir.[4]

Yirminci yüzyılın ilk yarısında tanımlanan epigenetik, DNA nükleotid diziliminde değişiklik olmadan gen ifadesini kontrol eden ve aynı zamanda bir sonraki kuşaklara aktarılabilen değişikliklerdir.[5,6] Epigenetik, embriyonik gelişim ve hücre farklılaşması gibi farklı biyolojik mekanizmalarda rol oynamaktadır.[7] Ayrıca, yapılan çalışmalar yaşlanma sırasında, genomik kararsızlığa neden olan ve gen ifadesini kontrol eden epigenetik değişimlerin önemini vurgulamaktadır.[2]

Yaşlanma, genomda meydana gelen genetik ve epigenetik değişikliklerin bir sonucudur.[8] Yaşlanmanın önde gelen nedenleri arasında kısalmış ve fonksiyonel olmayan telomerler, oksidatif DNA hasarı, somatik mutasyonların birikmesi, translokasyonlar, hücre yaşlanması ve apoptozis yer almaktadır.[3] Son zamanlarda yapılan çalışmalarda yaşlanma ve yaşlanmayla ilişkili hastalıklarda epigenetiğin önemli role sahip olduğu vurgulanmıştır.[9] Genetik ve epigenetik değişiklikler nörolojik hastalıklar, kalp-damar hastalıkları, otoimmün hastalıklar, kanser ve yaşlanma ile yakından ilişkilidir.[8]

Yaşlanma sırasında gen ifadesini önemli ölçüde etkileyen epigenetik mekanizmalar arasında, DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve kodlamayan RNA'lar yer almaktadır.[10]

Model organizmalarla (maya, solucan, sinek vb) yapılan çalışmalar epigenetik faktörler ve yaşlanma arasındaki bağlantıyla ilgili belirli ipuçları sağlamıştır. Ancak, memelilerde epigenetiğin hangi mekanizma ile yaşlanmayı uyardığı ve aynı zamanda yaşa bağlı olarak meydana gelen hastalıklardaki rolü tam olarak tanımlanmamıştır. Bu derlemede, epigenetik değişimlerin yaşlanma üzerindeki rolünü inceleyen çalışmalardan elde edilen sonuçları özetlemeyi amaçladık.

İKİZ ÇALIŞMALARI

İkizlerin dahil edildiği çalışmalar yaşlanmaya bağlı epigenetik değişiklikleri incelemek için iyi bir model oluşturmaktadır.[2] Monozigotik (MZ) ikizler aynı genetik yapıya sahip olmaları ve hemen hemen aynı çevreyi paylaşarak büyümeleri nedeniyle genetik çalışmalar için özel ilgi alanı olmuştur. Son yüzyılda genetik ve çevresel faktörlerin insan hastalıklarına, yaşam süresine ve yaşlanmaya olan katkısı ikiz çalışmalarıyla ortaya konmuştur.[11] MZ ikizler benzer genetik yapıya sahip olmalarına rağmen, multifaktöriyel hastalıklar gibi toplumda yaygın görülen hastalıklar ve pek çok özellik için fenotipik farklılıklar göstermektedir. MZ ikizler farklı kanser tipleri (%0-16), tip 1 diyabet (%61), tip 2 diyabet (%41), otizm (%58-60), şizofreni (%58) gibi hastalıklar için fenotipik farklılık sergiler.[7] MZ ikizler arasındaki fenotipik farklılıkların epigenetik faktörlerin etkisiyle ortaya çıktığı öne sürülmektedir.[12] Wong ve ark.nın yaptığı çalışmada MZ ikizler arasındaki epigenetik farklılıkların erken çocukluk döneminde oluştuğu ve genomda kalıcı epigenetik değişimlere neden olduğu belirtilmiştir.[13] MZ ve DZ ikizlerin beyinlerinde yapılan postmortem çalışmalar epigenetik değişikliklerin dokuya özgü olduğunu göstermiştir.[14]

AGOUTİ FARELERİ

Çevresel faktörlerin, fenotip üzerinde güçlü bir etkiye sahip olduğu hayvan modelleriyle yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.[15] Farelerde, maternal diyet uygulamakla metil düzeyinin değiştirilmesinin doğacak yavrularda gen ifadesini etkilediği gösterilmiştir. Agouti geni taşıyan fareler sarı kürklüdür ve obezite, kanser ve diyabet gibi hastalıklara duyarlıdırlar. Agouti aleli, kıl foliküllerindeki renk pigmentlerin üretiminin düzenlenmesinden sorumludur. Metil grupları açısından zengin besinlerle (folik asit, vitamin B-12, kolin, betain gibi) beslenen agouti gebe farelerin yavrularında agouti geni metillenir.[16] Dolayısıyla, agouti geninde CpG adacıkları metillenerek gen susturulur ve bu fare-

lerin kürk rengi sarıdan kahverengiye değişir. Sonuçta, kahverengi kürklü bu yavrular obezite eğilimi göstermezler ve sağlıklıdırlar.[17]

DNA METİLASYON DEĞİŞİMLERİ VE YAŞLANMA

DNA metilasyonu en iyi tanımlanan epigenetik modifikasyon olup hücre ve organizmanın yaşlanmasında önemli bir role sahiptir.[3,18] DNA metilasyonu, genomun CpG adacıklarındaki sitozinin beşinci karbonuna metil grubunun aktarılmasıyla oluşan biyokimyasal bir modifikasyondur.[16,19] CpG adacıkları %60-90 oranda tüm memeli genomunda metillenmiştir. Metillenmemiş CpG adacıkları özellikle zorunlu yaşam ve dokuya-özgü genler ile tümör baskılayıcı genlerin promotor bölgelerinde bulunmaktadır.[20,21] Memeli genlerinin promotor bölgelerinin yaklaşık %40'ı CpG adacıkları içermektedir.[9] Promotor bölgelerinde yer alan CpG dinükleotidleri genellikle gelişim sırasında ve normal doku tiplerinde metillenmemiştir.[22,23] Promotor bölgelerinin metillenmesi transkripsiyonu baskılayarak gen ifadesini düzenlemektedir.[17,24] Genomun metillenmiş CpG bölgeleri çoğunlukla transpozonlar olarak adlandırılan ve yer değiştirebilen DNA tekrar dizilerinde yer almaktadır. Potansiyel aktif transpozon elemanları metillendiği zaman transkripsiyonu başlatamaz. Bunun aksine, metillenmemiş transpozonlar potansiyel olarak transkripsiyonu başlatabilmektedir.[25]

Normal hücrelerde DNA metilasyonu onkogenlerin baskılanması, hücre proliferasyonuyla ilişkili genlerin ifadesinin kontrolü, hücre farklılaşması, genomik damgalama, X-kromozomunun inaktivasyonu, transpozonların ve tekrarlayan dizilerin susturularak kromozomal bütünlüğünün korunmasından sorumludur.[26]

DNA metil transferazlar (DNMTs: DNMT1, DNMT2, DNMT3a, DNMT3b, DNMT3L) tarafından gerçekleştirilen DNA metilasyonu için metil donörü olarak S-adenozil-L metiyonin (SAM) kullanılmaktadır.[9,27] Bakım metiltransferazı olarak tanımlanan DNMT1 hem damgalanmaya uğramış hem de uğramamış hücrelerde bulunur ve DNA replikasyonu sırasında yeni replike olunan DNA sarmallarına metil grubu ekleyerek işaretlemektedir.[3,28] DNMT2'nin rolü tam olarak bilinmemekle birlikte DNA metilasyonunda düzenleyici role sahip olduğu düşünülmektedir.[27] *De novo* metiltransferazlar adı verilen DNMT3a, DNMT3b ve DNMT3L embriyonik kök hücrelerinde yüksek derecede ifade edilir, imprinting işleminde DNA metilasyonundan sorumludur.[28, 29]

DNA metilasyonu gelişim ve farklılaşma, genomik imprinting, X kromozomunun inaktivasyonu, genomu transpozonlardan koruma gibi farklı biyolojik fonksiyonlara aracılık etmektedir.[19,28,30]

DNA metilasyon düzeyinin yaşlanmaya bağlı olarak değişimi çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Yaşlanma ve DNA metilasyonu arasındaki ilişki ilk kez somon balığında yapılan çalışmalarda öne sürülmüştür.[31] Somon balığında yaşlanmayla birlikte global DNA metilasyon düzeyinde azalma bildirilmiştir. Bunu takiben fare, hamster, inek ve insanlarda yapılan araştırmalarda, yaşlanma sırasında özellikle tekrarlayan dizilerde global DNA metilasyon düzeyinde azalma olduğu gösterilmiştir.[32] Yaşlanmada DNMT ifadesindeki değişiklikler ise DNMT3a ve DNMT3b ifadesindeki artma, DNMT1 ifadesindeki azalma şeklindedir. *De novo* metiltransferazların ifadesindeki artış normal hücrelerde metillenmemiş CpG adacıklarının hipermetilasyonuna neden olmaktadır.[3,33] Bakım metiltransferazı olan DNMT1 ifadesinin azalması yaşlı hücrelerde global DNA hipometilasyonuna neden olmaktadır.[5] Yaşlanma esnasında global DNA'da hipometilasyon gözlenirken, bazı gen ve/veya genlerde hipermetilasyon gözlenebilmektedir (Tablo 1).[5,34]

Son zamanlarda, fare modellerinde yapılan bir çalısma, farelerin kurşuna (Pb) maruz bırakıldıklarında Alzheimer ile ilişkili bazı genlerin ifadesinin arttığını, bazılarının ise azaldığını göstermiştir. İfadesi artan genlerin DNA hipometilasyonu ile ilişkili olabileceği ancak azalan genlerin ifadesinin histon modifikasyonlarına (H3K9Ac, H3K4me2, H3K27me3) bağlı olabileceği öngörülmüştür.[35]

DNA hipometilasyonu çoğunlukla yer değiştirebilen Alu, LINE gibi tekrarlanan DNA dizilerinde belirlenmiştir. Retrotranspozon adı verilen yer değiştirebilen DNA tekrar dizileri gen düzen-

TABLO 1: Yaşlanma sürecinde hipermetilasyona uğradığı belirlenen genler.

	Genler	Kaynaklar
Tümör baskılayıcı genler	COX7A1, LOX, RUNX3, TIG1, p16INK4A, RASSF1, DUSP22, N33, p14ARF	[17, 66], [19], [5], [68]
Büyüme ve gelişimden sorumlu genler	IGF2, c-fos	
Hücre-hücre bağlantı genleri	CDH1	
Metabolizmadan sorumlu genler	ELOVL2, SLC38A4, SLC22A18, MGC3207, ECRG4, ATP13A4, AGPAT2, LEP	
DNA onarım genleri	MLH1	
Sinyal iletimi kontrol genleri	FZD1, FZD7	

lenmesi ve genom stabilitesinde önemli role sahiptir. Yaşlanma sırasında gözlenen genom düzeyindeki DNA hipometilasyonu, retrotranspozon aktivitesinin artmasına ve genomik kararsızlığa neden olmaktadır.[36]

DNA metilasyon düzeyi yaşlanma sırasında, özellikle kanser, ateroskleroz ve kardiyovasküler hastalıklar gibi yaşa bağlı hastalıklarda önemli ölçüde değişmektedir.[37] Kanser gelişiminde oluşan kodlayan ve kodlamayan bölgelerin global hipometilasyonu ve tekrar eden DNA dizilerinin demetilasyonu, kromozomal kararsızlık ve mutasyonların artmasına, imprinting kaybına, retrotranspozonların aktivitesinin artmasına ve proto-onkogenlerin aktivasyonuna neden olmaktadır.[38]

HİSTON MODİFİKASYONLARI VE YAŞLANMA

Histon proteinleri histon 1 (H1), histon 2A (H2A), histon 2B (H2B), histon 3 (H3) ve histon 4 (H4) olarak tanımlanmıştır. Histon proteinleri, DNA paketlenmesini ve transkripsiyonel aktiviteyi düzenlemektedir.[4,39] Histon proteinlerinin (H2A, H2B, H3 ve H4) oluşturduğu oktamer, DNA ipliği (yaklaşık 147 bp uzunlukta) tarafından iki kez sarılarak nukleozumu meydana getirmektedir. Nukleozom bir kromatin ünitesidir ve bu nukleozomlar bağlayıcı histon H1 proteiniyle birbirine bağlanmaktadır.[19,21]

Histon proteinlerinin hepsi N-terminal ve C-terminal kuyruklara sahiptir ve post-translasyonel histon modifikasyonları bu kuyruklarda oluşan değişikliklerdir.[22] Bu modifikasyonlar, lizin aminoasitlerinin asetilasyonu, ubikitinasyonu, sumolasyonu ve ADP ribozilasyonu; lizin ve arjinin amino asitlerinin metilasyonu; serin ve treonin amino asitlerinin fosforilasyonunu içermektedir.[39] En sık görülen modifikasyonlar, H3 ve H4 histon proteinlerinin amino terminalinde bulunan lizin amino asitlerinin metilasyonu ve asetilasyonunu içerir.[40]

HİSTON METİLASYONU VE YAŞLANMA

Histon metilasyonu, histon metiltransferaz (HMT) enzimleri tarafından S-adenozil metiyoninden metil gruplarının lizin (K) ve arjinin (R) amino asitlerine aktarılmasıyla oluşmaktadır.[3] H3 proteininin 4, 9, 27, 36, 79 lizinleri ve H4'ün 20. lizini sıklıkla metillenebilmektedir. Lizin metilasyonu transkripsiyonu hem aktive edip, hem de baskılayabilmektedir; örneğin H3 proteinin 9. lizini (H3K9) ve 27. lizini (H3K27) aynı zamanda H4 proteinin 20. lizini (H4K20) metillendiğinde transkripsiyon baskılanmaktadır. H3 proteinin 4. lizinin trimetilasyonu (H3K4me3), H3 proteinin 36. lizinin trimetilasyonu (H3K36me3) ve H3 proteinin 79. lizinin metilasyonu (H3K79) ise transkripsiyonel aktivasyonla ilişkilidir.[8,41,42] Histonlardaki arjinin metilasyonu ise genellikle, transkripsiyon aktivasyonu ile ilişkilidir.[3] Histon metilasyonu transkripsiyon, DNA replikasyonu, DNA onarımı, heterokromatin oluşumu, X kromozomun inaktivasyonu, genomik imprinting gibi çeşitli hücresel fonksiyonlar ile ilişkilidir.[3,43]

İn vivo ve *in vitro* yapılan çalışmalar yaşlanma sırasında H4K20 trimetilasyon düzeyinin arttığını ve aynı zamanda H3K9 ve H3K27 trimetilasyonun azaldığını ortaya koymuştur.[19,44] Ayrıca, farelerde yapılan bir çalışmada H4K20 metilasyonunun fare dokularında yaşlanmayla birlikte arttığını göstermiştir. Çalışma kapsamında, kütle spektrometrik yöntemiyle farklı yaş grubu farelerin, çeşitli organlarında H4 metilasyon durumu incelenmiştir. Özellikle, fare böbrek ve karaciğer hücrelerinde

H4K20 dimetilasyonu yüksek bulunurken, monometil türevi ise daha düşük seviyelerde bulunmuştur. Bununla birlikte H4K20me3 lizinlerin trimetilasyon düzeyinin yaşlı farelerde önemli derecede arttığı gözlenmiştir.[45] Wang ve ark.nın yine fareler üzerinde yaptığı çalışmada fare beyninde yaşlanmaya bağlı olarak H3K27 trimetilasyonunun (H3K27me3) ve H3K79 ise mono- ve dimetilasyonunun (H3K79me1/me2) artışı gözlenirken, H4K20 monometilasyonu (H4K20me1) ve H3K36 trimetilasyon düzeyi (H3K36me3) azalma göstermiştir.[46] Parkinson hastalarında, beynin en son etkilenen bölümlerinden biri olan primer motor korteksteki histon asetilasyon değişimleri postmortem olarak araştırılmıştır. Araştırmanın sonuçları H3 (H3K14 ve H3K18) asetilasyonunda artış olduğunu göstermiştir.[47]

Diğer yandan insanda yapılan çalışmalar farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Hutchinson-Gilford Progeriya Sendromu (HGPS) nadir görülen erken yaşlanma hastalığıdır ve saç dökülmesi, büyüme geriliği, aşırı lipodistrofi, cilt kırışıklıkları, osteoporoz ve ateroskleroz de dahil olmak üzere yaşlanma fenotipinin hızlı ilerlemesi ile karakterizedir.[48,49] HGPS hastalarından alınan ve sonrasında kültüre edilen fibroblast hücrelerde, H4 proteinlerin 20. lizin amino asitlerin (H4K20me3) trimetilasyonunda artış, H3 9. lizin trimetilasyonu (H3K9 me3) ve fare beyin hücrelerinin aksine H3 27. lizin trimetilasyonunda (H3K27me3) azalma göstermişlerdir.[50,51]

HİSTON ASETİLASYONU VE YAŞLANMA

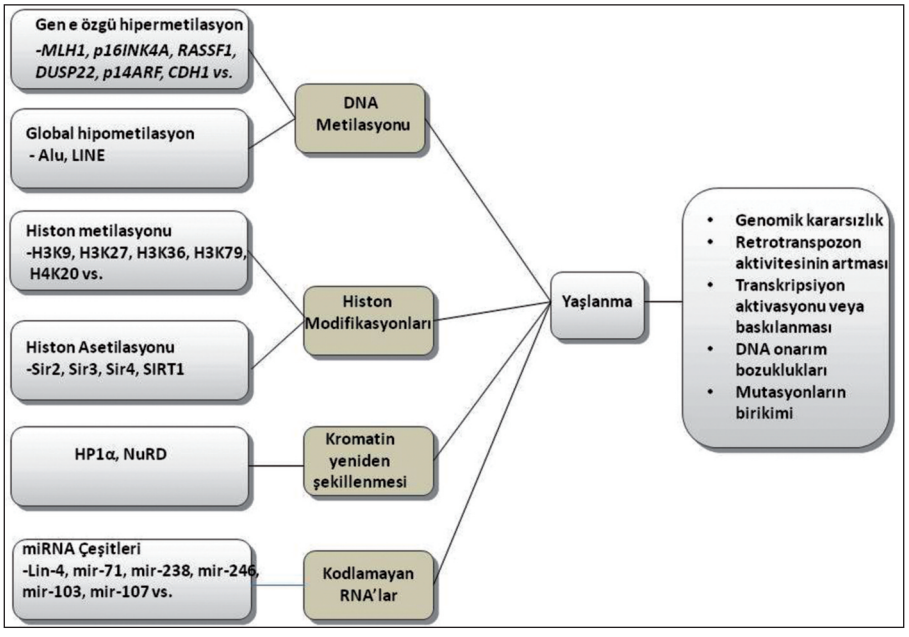
Histon proteinlerin N-terminal kısımlarında yer alan lizin kalıntılarının asetilasyonu DNA ve histonlar arasındaki etkileşimin zayıflaması ile sonuçlanmaktadır.[52] Histon asetiltransferaz (HAT) ve histon deasetilaz (HDAC) enzimleri lizinlere asetil gruplarının aktarılması veya uzaklaştırılması yoluyla transkripsiyonu düzenler. Histon asetilasyonu transkripsiyon aktivasyonu ve DNA onarımıyla, deasetilasyon ise transkripsiyon baskılanması, kromatin yeniden kondenzasyonuyla ilişkilidir.[8]

Epigenetik değişimler ve yaşlanma arasındaki bağlantı mayalarda bulunan Sir2 (silent information regulator 2) ve memelilerde bulunan Sirtuin proteinleriyle yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. Her iki protein HDAC enzimleri üyesi olup histon deasetilasyonunda rol almaktadır.[3,8] Sir2 proteini, farklı organizmalarda yaşam süresini kontrol etmedeki rolünden dolayı önem kazanmaktadır. Sir2 mayalarda H3 ve H4 deasetilasyonu kromatin susturulmasına neden olur.[3] Kennedy ve ark. mayalarla yaptıkları diğer çalışmada Sir2, Sir3 ve Sir4 proteinleriyle yaşlanma arasında önemli ilişki olduğunu bulmuştur.[53] Buna ek olarak, Sir2 aktivitesinin artmasının mayalarda, *Caenorhabditis elegans* ve *Drosophila melanogaster* üzerinde yaşlanma karşıtı etkisi olduğu bildirilmiştir.[8]

Memelilerde, mayalarda bulunan Sir2 proteininin 7 ortoloğu bulunmaktadır (Sirtuin, SIRT 1-7). Özellikle SIRT1 ve SIRT2 proteinleri yaşlanma biyolojisinin ilgi alanları arasında yer almaktadır. Farelerde yaşlanmaya bağlı olarak SIRT1 düzeyi özellikle mitotik aktivitesi düşük olan timus ve testis dokularında azalma göstermektedir. İnsanda SIRT1 heterokromatin oluşumunda da rol alır. SIRT1 tarafından H4K16 ve H3K9'un deasetilasyonu, transkripsiyonu in vitro olarak baskılar. SIRT1 aynı zamanda doğrudan H1b proteiniyle etkileşime geçerek, H1K26 deasetilizasyonu yapabilmektedir. SIRT1'in bu aktivitesi, DNA ile H1 etkileşimini değiştirerek kromatin paketlenmesi üzerinde büyük bir etki yaratır.[3,8] Memelilerde SIRT ailesi aynı zamanda, gen ifadesinin düzenlenmesi, stres yanıtları, DNA onarımı, apoptozis, hücre döngüsü, genomik kararlılık ve insülin seviyesinin düzenlenmesinde görev yapmaktadır. SIRT1 proteini pek çok dokuda ifade edilmekte olup, yaşlanma sürecinde ve yaşlanmış hücrelerde baskılanmaktadır.[17]

KROMATİN YENİDEN ŞEKİLLENMESİ VE YAŞLANMA

Normal ve patolojik yaşlanan hücrelerde, DNA ve histon modifiye edici enzimler ile heterokromatin 1 α (HP1α) gibi kromozomal proteinler, polycomb grubu proteinler, NuRD kompleksi gibi kromatin şekillendirici faktörler (Şekil 1) global heterokromatin kaybına ve kromatinin yeniden düzenlenmesine etki eder.[6,44,54,55] Tüm epigenetik değişimler, yaşlanmada önemli rolü olduğu bilinen telomer kısalmasında da görev almaktadır.[55] HP1α'nın yaş-



ŞEKİL 1: Yaşlanma sürecinde rolü olan epigenetik mekanizmalar.

lanmadaki rolü *D. melanogester* üzerinde yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. HP1α'nın fonksiyon kaybı mutasyonları yaşam süresinin kısalmasıyla ilişkilendirilirken, aşırı gen ifadesi yaşam süresinin uzaması ve yaşlanmaya bağlı kas güçsüzlüğünü geciktirmesi ile ilişkilendirilmiştir.[56]

KODLAMAYAN RNA'LAR VE YAŞLANMA

Kodlamayan RNA'lar (non-coding RNA, ncRNAs) işlevsel RNA moleküllerindendir ve açık okuma çerçevesine sahip olmadıkları için translasyon geçirip proteine dönüşmezler. Tüm RNA'ların %95'ini içeren ncRNA'lar stres ve çevresel uyarıcılara yanıt olarak mRNA düzeyini düzenlemekle epigenetik etki yaratmaktadır. Kodlamayan RNA'ların mikro RNA (miRNA), küçük müdahaleci RNA'lar (small interfering RNA, siRNA), Piwi-etkileşim RNA (Piwi-interacting RNA, piRNA), uzun kodlanmayan RNA (Long non-coding RNA, lncRNA) gibi çeşitli türleri vardır.[57]

miRNA'lar normal büyüme ve gelişme, yaşlanma ve kanser olgularında genlerin düzenlenmesi için oldukça önemlidir.[16] Olgun miRNA 18-25 nükleotid (nt) uzunluğunda olup ilk olarak saç tokası yapısına sahip primer-miRNA (pri-miRNA) molekülünden transkribe edilir ve translasyon sonrası gen susturulmasında rol alır.[58,59] Pri-miRNA'lar bir RNA polimeraz III enzimi olan Drosha tarafından 70 nükleotid uzunluğunda öncül pre-miRNA molekülüne dönüşür. Daha sonra pre-miRNA'lar eksportin-5 proteiniyle sitoplazmaya taşınır ve diğer RNA polimeraz III enzimi Dicer tarafından kesilerek 22 nt uzunluklu çift sarmallı miRNA dubleksi oluşur. Dubleksin bir iplikçiği, genellikle olgun miRNA olarak seçilir ve daha sonra RNA- indüklenen susturma kompleksi (RISC-RNA induced silencing complex) adı verilen protein kompleksine aktarılır. Diğer iplikçik ise parçalanarak uzaklaştırılır. RISC kompleksi Argonuat proteinleri ile etkileşime girer ve onlar topluca hedef mRNA'ları susturmak için harekete geçerler.[60,61]

miRNA'lar ilk olarak *Caenorhabditis elegans*'da keşfedilmiştir. miRNA'ların yaşlanmadaki rolü *C. elegans* ve farelerde yapılan çalışmalarla belirtilmiş ve bu çalışmalar sonunda miRNA'ların gen düzenlenmesi ve baskılanmasında önemli olduğu görülmüştür.[62] İlk olarak *C. elegans*'da bulunan küçük kodlamayan miRNA *lin-4* larva aşamalarında geçiş için önemli olan bir gen düzenleyici olarak ifade edilmiştir.[63] Gelişim sırasında, *lin-4* transkripsiyon sonrası bir nükleer faktör olan LIN-14'ü hedefler ve böylece post-embriyonik hücre

bölünmesinin kontrolüne katkı sağlar.[64] *Lin-4* işlevinin kaybolmasıyla sonuçlanan mutasyon, yaşam süresinin kısalması ve hızlı yaşlanmayla sonuçlanmaktadır. Buna ek olarak son zamanlarda *C.elegans*'da karakterize edilen ve yaşam süresini düzenleyen miRNA'lar örneğin mir-71, mir-238 ve mir-246 mutasyonu yaşam süresinin kısalmasıyla ilişkiliyken, bu miRNA'ların aşırı ifadelenmesi yaşam süresinin artmasına olanak sağlar.[58]

miRNA'lar, posttranskripsiyonel gen ifadesini kontrol ederek normal fizyolojik gelişim ve hastalıkların patogenezinde rol alırlar.[10] Birikmiş genomik kararsızlık yaşlanma sürecinde önemli faktör olarak kabul edilir. Hücresel strese yanıt olarak indüklenen miRNA'lar DNA onarımında yer alan protein seviyelerinin azalmasına yol açar.[8] Crosby ve ark.nın yaptığı çalışmada hipoksik HeLa servikal karsinoma hücreleri ve meme kanseri hücrelerinde HIF-1α (hypoxia-inducible factor-1A) tarafından indüklenen ve artan miR-210 ve miR-373 düzeyinin, DNA onarımında yer alan proteinlerin seviyesini düşürdüğü anlaşılmıştır.[65] ncRNA'ların düzeyindeki bu artış yaşlanma sırasında kansere yatkınlığın olduğunu göstermektedir.[8]

miRNA'lar kemirgen ve insan beyninde göreceli olarak diğer organlara kıyasla daha yüksek bir seviyede ifade edilmektedir. Memelilerde yaşlanmayla ilişkili saptanan miRNA'ların sayısı hızla artmaktadır.[2] Son zamanlarda memelilerle yapılan çalışmalarda miRNA'ların, örneğin nörodejenerasyon, doku homeostazisi, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve metabolik hastalıklar gibi yaşa bağlı hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynadığı belirtilmiştir (Tablo 2).[3,64]

SONUÇ VE GELECEK PERSPEKTİFİ

İnsanın yaşam süresinin uzamasıyla birlikte yaşlanma ve yaşlanmayla ilişkili hastalıkları araştıran çalışmalar hız kazanmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, yaşlanma sürecinin ve fenotipik farklılıkların açıklanmasında DNA metilasyonu, histon proteinlerinin modifikasyonu, kromatin yeniden şekillenmesi ve kodlamayan RNA'lar gibi epigenetik değişimlerin önemli rolü olduğunu göstermektedir. Epigenetik, yaşlanma sürecindeki fenotipik farklılıkların açıklanmasında hiç şüphesiz ki önemli rol almaktadır, ancak yaşlanmayla birlikte hücrede biriken bu epigenetik değişimlerin organizmanın bir bütün olarak yaşlanma sürecini nasıl yönlendirdiği açıklanamamıştır. Bu nedenle genetik ve epigenetik değişimlerini yansıtabilecek ve yaşlanmanın fenotip üzerindeki değişikliklerini ölçebileceği uygun bir model organizmanın belirlenmesi yararlı olacaktır.[17]

CpG adacıklarındaki metilasyon seviyesinin, özellikle tümör baskılayıcı genlerin promotor bölgelerindeki metilasyonun yaşla birlikte arttığı bilinmektedir.[66] Öncelikle, mikroarray tabanlı teknolojiler ile genç ve yaşlı hücre örnekleri karşılaştırılarak genomun hangi bölgelerinde metilas-

TABLO 2: Yaşla ilişkilendirilen hastalıklar ve rol alan bazı miRNA'lar.

Hastalıklar	Hastalıklarla ilişkilendirilen miRNA çeşitleri	Kaynaklar
Alzheimer	miR-26b-3p, miR-28-3p, miR-30c-5p, miR-30d-5p, miR-148b-5p, miR-151a-3p, miR-186-5p, miR-425-5p, miR-550a-5p, miR-1468, miR-4781-3p, miR-5001-3p, and miR-6513- 3p seviyesinin artması, let-7a-5p, let-7e-5p, let-7f-5p, let-7g-5p, miR-15a-5p, miR-17-3p, miR-29b-3p, miR-98-5p, miR-144-5p, miR-148a-3p, miR-502-3p, miR-660-5p, miR-1294, and miR-3200-3p mir-103, mir-107 seviyesinin azalması	[69, 70]
Parkinson	mir-34b, mir-34c aberasyonu, miR-10b-5p	[71, 72]
Şizofreni	mir-132, miR-195, miR-212	[73]
Epilepsi	mir-34a, mir-194-5p, mir-301a-3p, mir-30b-5p, mir-342-5p, mir-4446-3p	[74, 75]
Miyokard İnfarktüsü	miR-17, mir-19, mir-92a, mir-126, mir-133a, mir-145, mir-155, mir-208a	[73]
Obezite	miR-17-5p, miR-34a, miR-99a, miR-100, miR-125b, miR-130b, miR-132, miR-134, miR-143, miR-145, miR-181a, miR-185, miR-197, miR-210, miR-221	[76, 77]
Diabetes Mellitus	miR-26, miR-27a, miR-130a, miR-148, miR-182, miR-192, miR-200a, miR-320, miR-337, miR-369-5p, mir-375, miR-379, miR-410, miR-532	[78, 79]

yon seviyesinin değiştiği belirlenmelidir. Daha sonra elde edilen sonuçların doğruluğu farklı teknikler kullanılarak farklı çalışma gruplarında değerlendirilmelidir. Ancak, epigenetik özellikler sadece yaşlanma ile değil aynı zamanda beslenme ve diğer çevresel faktörler tarafından da değişime uğratılabilmektedir.[67] Ayrıca, kısa kodlamayan RNA'ların kromatin yapısı ve epigenetik işaretler üzerinde önemli rolü olduğu bilinmektedir ve bu kodlamayan RNA'lar mRNA'nın işlevlerini doğrudan etkileyerek gen ifadesini ve dolayısıyla yaşlanan fenotipi etkilemektedir.

KAYNAKLAR

1. Park DC, Yeo SG. Aging. Korean J Audiol 2013;17(2):39-44.
2. Berdasco M, Esteller M. Hot topics in epigenetic mechanisms of aging: 2011. Aging Cell 2012;11(2):181-6.
3. Muñoz-Najar U, Sedivy JM. Epigenetic control of aging. Antioxidants Redox Signal 2011;14(2):241-59.
4. Gunes S, Hekim GN, Arslan MA, Asci R. Effects of aging on the male reproductive system. J Assist Reprod Genet 2016;33(4): 441-54.
5. Lillycrop KA, Hoile SP, Grenfell L, Burdge GC. DNA methylation, ageing and the influence of early life nutrition. Proc Nutr Soc 2014; 73(3):413-21.
6. Oberdoerffer P, Sinclair DA. The role of nuclear architecture in genomic instability and ageing. Nat Rev Mol Cell Biol 2007;8(9):692-702.
7. Castillo-Fernandez JE, Spector TD, Bell JT. Epigenetics of discordant monozygotic twins: implications for disease. Genome Med 2014;6(7):60.
8. Gonzalo S. Epigenetic alterations in aging. J Appl Physiol (1985) 2010;109(2):586-97.
9. Gravina S, Vijg J. Epigenetic factors in aging and longevity. Pflugers Arch 2010;459(2):247-58.
10. Moskalev AA, Aliper AM, Smit-McBride Z, Buzdin A, Zhavoronkov A. Genetics and epigenetics of aging and longevity. Cell Cycle 2014;13(7):1063-77.
11. Tan Q, Christiansen L, Thomassen M, Kruse TA, Christensen K. Twins for epigenetic studies of human aging and development. Ageing Res Rev 2013;12(1):182-7.
12. Fraga MF. Genetic and epigenetic regulation of aging. Curr Opin Immunol 2009;21(4):446-53.
13. Wong CC, Caspi A, Williams B, Craig IW, Houts R, Ambler A, et al. A longitudinal study of epigenetic variation in twins. Epigenetics 2010;5(6):516-26.
14. Oh G, Ebrahimi S, Wang SC, Cortese R, Kaminsky ZA, Gottesman, II, et al. Epigenetic assimilation in the aging human brain. Genome Biol 2016;17:76.
15. Murrell A, Hurd PJ, Wood IC. Epigenetic mechanisms in development and disease. Biochem Soc Trans 2013;41(3):697-9.
16. Huidobro C, Fernandez AF, Fraga MF. Aging epigenetics: causes and consequences. Mol Aspects Med 2013;34(4):765-81.
17. Calvanese V, Lara E, Kahn A, Fraga MF. The role of epigenetics in aging and age-related diseases. Ageing Res Rev 2009;8(4):268-76.
18. Yi SH, Xu LC, Mei K, Yang RZ, Huang DX. Isolation and identification of age-related DNA methylation markers for forensic age-prediction. Forensic Sci Int Genet 2014;11:117-25.
19. D'Aquila P, Rose G, Bellizzi D, Passarino G. Epigenetics and aging. Maturitas 2013;74(2): 130-6.
20. Johnson AA, Akman K, Calimport SR, Wuttke D, Stolzing A, de Magalhães JP. The role of DNA methylation in aging, rejuvenation, and age-related disease. Rejuvenation Res 2012;15(5):483-94.
21. Stefanska B, Karlic H, Varga F, Fabianowska-Majewska K, Haslberger A. Epigenetic mechanisms in anti-cancer actions of bioactive food components--the implications in cancer prevention. Br J Pharmacol 2012;167(2):279-97.
22. Kim JK, Samaranayake M, Pradhan S. Epigenetic mechanisms in mammals. Cell Mol Life Sci 2009;66(4):596-612.
23. Ben-Avraham D. Epigenetics of aging. Adv Exp Med Biol. 2015;847:179-91.
24. Winnefeld M, Lyko F. The aging epigenome: DNA methylation from the cradle to the grave. Genome Biol 2012;13(7):165.
25. Lu Q, Qiu X, Hu N, Wen H, Su Y, Richardson BC. Epigenetics, disease, and therapeutic interventions. Ageing Res Rev 2006;5(4):449-67.
26. Hermann A, Gowher H, Jeltsch A. Biochemistry and biology of mammalian DNA methyltransferases. Cell Mol Life Sci 2004;61(19-20): 2571-87.
27. Golbabapour S, Abdulla MA, Hajrezaei M. A concise review on epigenetic regulation: insight into molecular mechanisms. Int J Mol Sci 2011;12(12):8661-94.
28. Liyanage VR, Jarmasz JS, Murugeshan N, Del Bigio MR, Rastegar M, Davie JR. DNA modifications: function and applications in normal and disease States. Biology (Basel) 2014;3(4):670-723.
29. Miceli M, Bontempo P, Nebbioso A, Altucci L. Natural compounds in epigenetics: a current view. Food Chem Toxicol 2014;73:71-83.
30. Cencioni C, Spallotta F, Martelli F, Valente S, Mai A, Zeiher AM, et al. Oxidative stress and epigenetic regulation in ageing and age-related diseases. Int J Mol Sci 2013;14(9):17643-63.
31. Madrigano J, Baccarelli A, Mittleman MA, Sparrow D, Vokonas PS, Tarantini L, et al. Aging and epigenetics: longitudinal changes in gene-specific DNA methylation. Epigenetics 2012;7(1):63-70.
32. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. Genome Biol 2013. doi:10.1186/gb-2013-14-10-r115.
33. Xu X. DNA methylation and cognitive aging. Oncotarget 2015;6(16):13922-32.
34. McClay JL, Aberg KA, Clark SL, Nerella S, Kumar G, Xie LY, et al. A methylome-wide study of aging using massively parallel sequencing of the methyl-CpG-enriched genomic fraction from blood in over 700 subjects. Hum Mol Genet 2014;23(5):1175-85.
35. Eid A, Bihaqi SW, Renehan WE, Zawia NH. Developmental lead exposure and lifespan alterations in epigenetic regulators and their correspondence to biomarkers of Alzheimer's disease. Alzheimers Dement (Amst) 2016;2: 123-31.
36. Gentilini D, Mari D, Castaldi D, Remondini D, Ogliari G, Ostan R, et al. Role of epigenetics in human aging and longevity: genome-wide DNA methylation profile in centenarians and centenarians' offspring. Age (Dordr) 2013; 35(5):1961-73.
37. Lepeule J, Baccarelli A, Motta V, Cantone L, Litonjua AA, Sparrow D, et al Gene promoter methylation is associated with lung function in the elderly: the Normative Aging Study. Epigenetics 2012;7(3):261-9.

38. Kim YI. Nutritional epigenetics: impact of folate deficiency on DNA methylation and colon cancer susceptibility. J Nutr 2005;135(11): 2703-9.
39. Kanherkar RR, Bhatia-Dey N, Csoka AB. Epigenetics across the human lifespan. Front Cell Dev Biol 2014;2:49.
40. Bollati V, Baccarelli A. Environmental epigenetics. Heredity (Edinb) 2010;105(1):105-12.
41. Fong CY, Morison J, Dawson MA. Epigenetics in the hematologic malignancies. Haematologica 2014;99(12):1772-83.
42. Ellis L, Atadja PW, Johnstone RW. Epigenetics in cancer: targeting chromatin modifications. Mol Cancer Ther 2009;8(6):1409-20.
43. Zhang G, Pradhan S. Mammalian epigenetic mechanisms. IUBMB Life 2014;66(4):240-56.
44. Pegoraro G, Kubben N, Wickert U, Göhler H, Hoffmann K, Misteli T. Ageing-related chromatin defects through loss of the NURD complex. Nat Cell Biol 2009;11(10):1261-7.
45. Sarg B, Koutzamani E, Helliger W, Rundquist I, Lindner HH. Postsynthetic trimethylation of histone H4 at lysine 20 in mammalian tissues is associated with aging. J Biol Chem 2002;277(42):39195-201.
46. Wang CM, Tsai SN, Yew TW, Kwan YW, Ngai SM. Identification of histone methylation multiplicities patterns in the brain of senescence-accelerated prone mouse 8. Biogerontology 2010;11(1):87-102.
47. Gebremedhin KG, Rademacher DJ. Histone H3 acetylation in the postmortem Parkinson's disease primary motor cortex. Neurosci Lett 2016;627:121-5.
48. Heyn H, Moran S, Esteller M. Aberrant DNA methylation profiles in the premature aging disorders Hutchinson-Gilford Progeria and Werner syndrome. Epigenetics 2013;8(1):28-33.
49. McCord RP, Nazario-Toole A, Zhang H, Chines PS, Zhan Y, Erdos MR, et al. Correlated alterations in genome organization, histone methylation, and DNA-lamin A/C interactions in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Genome Res 2013;23(2):260-9.
50. Feser J, Tyler J. Chromatin structure as a mediator of aging. FEBS Lett 2011;585(13):2041-8.
51. McCauley BS, Dang W. Histone methylation and aging: lessons learned from model systems. Biochim Biophys Acta 2014;1839(12): 1454-62.
52. Tse C, Sera T, Wolffe AP, Hansen JC. Disruption of higher-order folding by core histone acetylation dramatically enhances transcription of nucleosomal arrays by RNA polymerase III. Mol Cell Biol 1998;18(8):4629-38.
53. Kennedy BK, Austriaco NR Jr, Zhang J, Guarente L. Mutation in the silencing gene SIR4 can delay aging in S. cerevisiae. Cell 1995; 80(3):485-96.
54. Pollina EA, Brunet A. Epigenetic regulation of aging stem cells. Oncogene 2011;30(28): 3105-26.
55. López-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. Cell 2013;153(6):1194-217.
56. Larson K, Yan SJ, Tsurumi A, Liu J, Zhou J, Gaur K, et al. Heterochromatin formation promotes longevity and represses ribosomal RNA synthesis. PLoS Genet 2012;8(1):e1002473.
57. Mensaert K, Denil S, Trooskens G, Van Criekinge W, Thas O, De Meyer T. Next-generation technologies and data analytical approaches for epigenomics. Environ Mol Mutagen 2014;55(3):155-70.
58. Jung HJ, Suh Y. MicroRNA in aging: from discovery to biology. Curr Genomics 2012; 13(7):548-57.
59. Kanwal R, Gupta S. Epigenetic modifications in cancer. Clin Genet 2012;81(4):303-11.
60. Abba M, Patil N, Allgayer H. MicroRNAs in the regulation of MMPs and metastasis. Cancers (Basel) 2014;6(2):625-45.
61. Tammen SA, Friso S, Choi SW. Epigenetics: the link between nature and nurture. Mol Aspects Med 2013;34(4):753-64.
62. Ben-Avraham D, Muzumdar RH, Atzmon G. Epigenetic genome-wide association methylation in aging and longevity. Epigenomics 2012;4(5):503-9.
63. Khee SG, Yusof YA, Makpol S. Expression of senescence-associated microRNAs and target genes in cellular aging and modulation by tocotrienol-rich fraction. Oxid Med Cell Longev 2014;2014:725929.
64. Dimmeler S, Nicotera P. MicroRNAs in age-related diseases. EMBO Mol Med 2013;5(2): 180-90.
65. Crosby ME, Kulshreshtha R, Ivan M, Glazer PM. MicroRNA regulation of DNA repair gene expression in hypoxic stress. Cancer Res 2009;69(3):1221-9.
66. Christensen BC, Houseman EA, Marsit CJ, Zheng S, Wrensch MR, Wiemels JL, et al. Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context. PLoS Genet 2009;5(8): e1000602.
67. Berdasco M, Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: how cellular identity goes awry. Dev Cell 2010;19(5):698-711.
68. Fraga MF, Esteller M. Epigenetics and aging: the targets and the marks. Trends Genet 2007;23(8):413-8.
69. Yao J, Hennessey T, Flynt A, Lai E, Beal MF, Lin MT. MicroRNA-related cofilin abnormality in Alzheimer's disease. PLoS One 2010;5(12):e15546.
70. Kumar S, Reddy PH. Are circulating microRNAs peripheral biomarkers for Alzheimer's disease? Biochim Biophys Acta 2016;1862(9): 1617-27.
71. Miñones-Moyano E, Porta S, Escaramís G, Rabionet R, Iraola S, Kagerbauer B, et al. MicroRNA profiling of Parkinson's disease brains identifies early downregulation of miR-34b/c which modulate mitochondrial function. Hum Mol Genet 2011;20(15):3067-78.
72. Hoss AG, Labadorf A, Beach TG, Latourelle JC, Myers RH. microRNA profiles in Parkinson's disease prefrontal cortex. Front Aging Neurosci 2016;8:36.
73. Srinivasan S, Selvan ST, Archunan G, Gulyas B, Padmanabhan P. MicroRNAs-the next generation therapeutic targets in human diseases. Theranostics 2013;3(12):930-42.
74. Sano T, Reynolds J, Jimenez-Mateos EM, Matsushima S, Taki W, Henshall DC. MicroRNA-34a upregulation during seizure-induced neuronal death. Cell Death Dis 2012;3:e287.
75. Wang J, Tan L, Tan L, Tian Y, Ma J, Tan C-C, et al. Circulating microRNAs are promising novel biomarkers for drug-resistant epilepsy. Sci Rep 2015;5:10201.
76. Ortega FJ, Mercader JM, Catalán V, Moreno-Navarrete JM, Pueyo N, Sabater M, et al. Targeting the circulating microRNA signature of obesity. Clin Chem 2013;59(5):781-92.
77. Klöting N, Berthold S, Kovacs P, Schön MR, Fasshauer M, Ruschke K, et al. MicroRNA expression in human omental and subcutaneous adipose tissue. PLoS One 2009;4(3):e4699.
78. Guay C, Roggli E, Nesca V, Jacovetti C, Regazzi R. Diabetes mellitus, a microRNA-related disease? Transl Res 2011;157(4):253-64.
79. Hennessy E, Clynes M, Jeppesen PB, O'Driscoll L. Identification of microRNAs with a role in glucose stimulated insulin secretion by expression profiling of MIN6 cells. Biochem Biophys Res Commun 2010;396(2):457-62.