

Genomun Yaşlanması: Yaşam ve Ölümde DNA'nın İkili Rolü (Yaşlanmada DNA Tamiri ve Genom Stabilitesi)

Genomic Aging: Double Roles of DNA on Life and Death

(Genom Stability and DNA Repairing Aging)

Dr. Kayahan FIŞKIN,^a
Dr. Erdal ÖZLÜ^a

^aBiyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji AD, Akdeniz Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, ANTALYA

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Kayahan FIŞKIN
Akdeniz Üniversitesi,
Fen Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji AD,
ANTALYA

ÖZET DNA tamir aktiviteleri yaşlanmaya mı yoksa ölmeye mi katkıda bulunuyor? DNA tamir ve programlı hücre ölüm (apoptozis) mekanizmaları belki de ölümsüzlüğe gidişi engellemek için evrimleşmiştir. Bir tarafta insanlığın hayali olan ölümsüzlük diğer tarafta en büyük korkusu olan yaşlanma ve ölüm. Doğa bu üç bilinmeyenli denklemi çok uzun zaman önce çözmüştür. “Ölümsüzlüğe yönelmeden mümkün olduğu kadar uzun yaşamak ve en sonunda ölmek”. Ölümsüzlük insan düşüncesinin aksine doğa ve evrim için bir kaostur. Evrim mekanizmaları bu kaosu ortadan kaldırmak için geliştirmiştir. Evrimsel mekanizmalardan belki de en önemlileri DNA tamir mekanizmalarıdır. DNA tamir mekanizmaları evrimin ilk zamanlarında ortaya çıkmış ve tüm canlılarda görevini yapmaktadır. Hücre ne kadar karmaşık ise tamir mekanizmaları da o oranda gelişmiştir. Canlılığın ve türün devamı için genomun stabil olması ve gelecek nesillere hatasız bir şekilde aktarılması gerekmektedir. Hücre DNA'nın yapısal sağlamlığını korumak için birçok etkenle mücadele etmek zorundadır ve en tehlikeli olanları da Reaktif Oksijen Türevleri (ROS) ile iyonize radyasyondur. DNA tamir mekanizmalarının bu etkenlerle uzun süre mücadelesinin bedeli hücrenin yada karmaşık canlının yaşlanmasıdır. Yaşlanarak hayatta kalmak, daha uzun süre yaşamanın, kanserleşmeden yada ölümsüzleşmeden ölmenin makul bir yoludur. Bu derlemede günümüzde bilinen DNA tamir mekanizmaları, bu mekanizmalar ile yaşlanma, kanser gibi hastalıklar arasındaki ilişki ve oksidatif hasara yol açan başlıca etkenlere değinilecektir.

Anahtar Kelimeler: Yaşlanma; reaktif oksijen türevleri; apoptozis

ABSTRACT Do the DNA repair activities contribute aging or death? Probably, DNA repair mechanisms and programmed cell death namely, apoptosis have been evaluated to prevention of going to immortality. First of all, human being dream is immortality. On the other hand, the biggest fear of human being is aging and death. Actually, the nature solved this equation with three unknowns long time ago. “Long survival as possible as without tend immortality and to die finally.” The immortality is a chaos for evaluation and nature on the contrary of the opinion of human being. The mechanisms of evolution has been improved for eliminating this chaos. The most important evolution mechanisms are DNA repair mechanisms. Probably, DNA repair mechanism has been arisen early on evolution and functioned on all living things. The complex cell has complex repair mechanisms. For the continuing of species, genome must be stabil and correctly transferred to next generation. The cell must struggle with many factors for the protection of DNA structure stability. The most important of these factors are Reactive oxygen species (ROS) and ionized radiation. The coast of this struggle is aging of the cell and organism. To survival by aging is the moderate way of death for being alive longer and not to be cancer or immortal. In this review, the mechanisms which are known at the present day; DNA repair mechanisms and relations between these mechanisms and relations between these mechanisms and aging, cancer disease and factors caused oxidative damage will be mentioned.

Key Words: Aging; reactive oxygen species; apoptosis

Turkiye Klinikleri J Med Sci 2008;28(Suppl):S16-S20

DNA TAMİR MEKANİZMALARI

A) BAZ KESİP-ÇIKARMA ONARIMI (BER)

Yaşam süresince hasar görmüş yada çeşitli nedenlerle DNA yapısına katılan ve yapıda bulunmaması gereken modifiye bazların (DNA içinde urasil varlığı gibi) şeker ünitesine bağlandıkları yerden koparılıp doğru bazın buraya eklenmesi temeline dayanır. Bu süreç içerisinde modifiye bazlar *DNA glikozilazlar* tarafından baz şeker ünitesinden koparılır. Koparılan bazın yerine karşı DNA zincirinde yer alan baz ile eşleşen (G=C gibi) bir baz getirilir. DNA tek zincir kırıklarının (Single-strand break) onarımı da bu mekanizma ile gerçekleşmektedir.¹

B) NÜKLEOTİD KESİP-ÇIKARMA ONARIMI (NER)

Bu mekanizma DNA'nın replikasyonunu ve transkripsiyonunu engelleyebilecek kadar büyük olan DNA hasarlarının onarımında görev alır. *UVR* (ultraviolet repair) gen ürünlerinin görev aldığı bir yoldur.²

C) HATA-OKUMA ONARIMI (PROOFREADING)

DNA polimeraz, DNA polimerizasyon süreci sırasında eğer yapıya hatalı bir nükleotid yerleşmiş ise, hatayı tanıma ve hatalı nükleotidi keserek değiştirme ve de onu geri döndürme potansiyeline sahiptir.³

D) YANLIŞ EŞLEŞME ONARIMI (MISMATCH)

Diğer DNA lezyonlarında olduğu gibi, değişiklik ve yanlış eşleşme tanınır, doğru nükleotid yanlış olanın yerine konulmaktadır. Bu mekanizmada diğer onarım sistemlerinden farklı olarak onarım sistemi, hangi zincirin doğru (kalıp zincir) ve hangisinin yanlış (yeni sentezlenmiş zincir) olduğunu ayırt etmelidir. Bu ayırımı *adenin metilaz* enzimi ile gerçekleştirilir.⁴

Enzim, DNA çift zincirindeki
5'...GATC...3'
3'...CTAG...5'

dizisini substrat olarak tanıyıp ve bu dizideki adeninleri metiller. Daha sonraki replikasyon döngüsünü takiben, yeni sentezlenmiş zincir bir süre metillenmemiş olarak kalır. Onarım enzimi bu sürede yanlış eşleşmiş zinciri tanıyıp ve bağlanır.³

E) ÇİFT ZİNCİR KIRIĞI ONARIM MEKANİZMASI (DSB)

Diğer DNA onarım mekanizmaları belirli bir zincir içindeki hasarla ilgili işlev görmektedir. Oysa iyonize radyasyona maruz kalmış bir hücre DNA'sında çift zincir kırıkları gerçekleşmektedir. Bu tür olgularda DNA onarımının özelleşmiş bir formu olan DNA çift-zincir kırık onarım yolu aktive olur.⁵

Çift Zincir Kırık Onarımı İki Yoldan Gerçekleşir:

Homolog Rekombinasyonel Onarım Yolu:

Her iki zincir kırıldığından, onarım için gereken ve komplementer zincir olarak kullanılacak olan hasarsız atasal zincir homolog kromozomdan sağlanır. Bu olay RAD52 adlı bir kompleksin varlığında gerçekleşir.

Non-Rekombinasyonel Onarım Yolu:

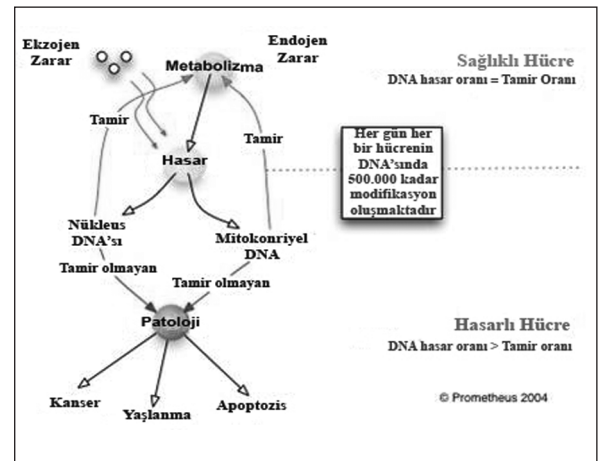
Onarım sırasında DNA'nın homolog bölgesine ihtiyaç duyulmaz. Kırılan zincirleri uç uca getiren birtakım proteinler ile DNA'nın iki ucu birleştirilir.⁶

Görüldüğü gibi, hücrelerde çeşitli DNA hasarlarını onarabilen birçok tamir mekanizması evrimleşmiştir. Ancak, tamir mekanizmalarının işlevselliğinin aksaması, herhangi bir neden yüzünden hata ile sonuçlanan tamir işlevlerinin gerçekleşmesi, hücrenin hızlı yaşlanmasına, ölmesine ya da onkolojik karakterler kazanmasına yol açabilmektedir.

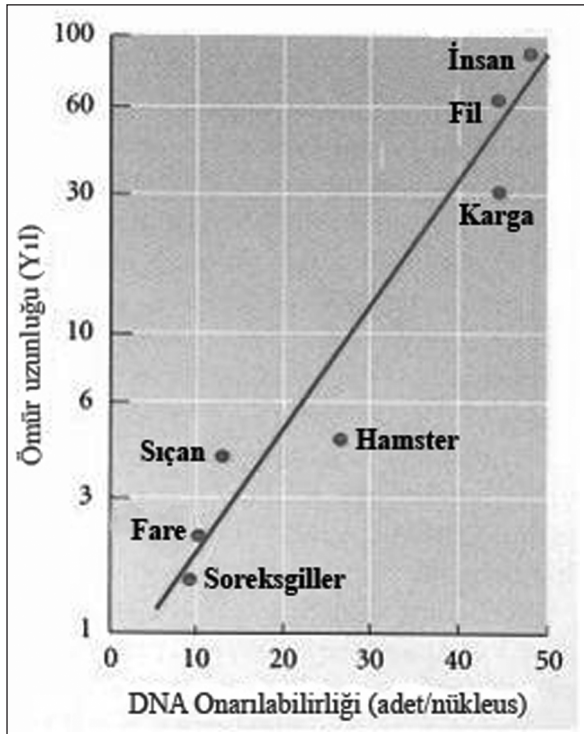
DNA TAMİR MEKANİZMALARI, YAŞLANMA VE KANSER ARASINDAKİ İLİŞKİ

DNA tamir mekanizmalarında deneysel olarak genetik defektler oluşturulan deney hayvanları ile yapılan çalışmalar sonucunda yaşam süresi azalırken, kanser gibi hastalıkların arttığı gözlenmiştir. Bu durum DNA tamir mekanizmaları, yaşlanma ve kanser arasında güçlü bir ilişkinin olduğunu önermektedir (Şekil 1).⁷

DNA tamir mekanizmalarınız ne kadar güçlüyse o kadar uzun yaşarsınız! Bir başka deyişle, sizin gelecekteki DNA hasar tamir işlevleri ile ilgili her enziminizin yeteneği, annenizin ve babanızın birbirlerini seçtiği gün belirlenmektedir. Hastalıklara olan yatkınlıklarınız da böyle belirlenmektedir. Uzun ömürlü canlı türleri en



ŞEKİL 1: DNA tamir mekanizmaları, yaşlanma ve kanser arasındaki ilişki.



ŞEKİL 2: Ömür uzunluğu- DNA tamir mekanizması arasındaki ilişki.⁸

etkin DNA tamir mekanizmasına sahip olanlardır (Şekil 2).⁸

DDNA'DA OKSİDATİF HASAR YAPAN BAŞLICA ETKENLER

İyonize radyasyon, yüksek oksijen konsantrasyonu ve hücrede oluşan Reaktif Oksijen Türevleri (ROS), oto oksidasyona uğrayan kimyasallar (dopamin, L-DOPA, adrenalın ve noradrenalin, ksantin oksidaz ve TNF- α) DNA'da oksidatif hasara yol açan başlıca etkenlerdir.^[9] Özellikle ROS, hücre ve doku hasarına ve de organ yetmezliklerine yol açmaktadır (Şekil 3).

Ancak, DNA'da oksidatif hasar oluşumu iki hipotez ile açıklanmıştır:

1.Fenton kimyası hipotezi'ne göre OH \cdot radikalleri DNA'ya saldırarak hasar oluşturur.

Reaktivitesi çok yüksek olan OH \cdot radikalinin hücre içinde diffüze olarak nükleusa geçme olasılığı oldukça azdır. Olası mekanizma, membranlardan kolayca geçebilen hidrojen peroksid'in (H₂O₂) nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları ile burada hidroksi radikallerini (OH \cdot) oluşturmalarıdır.

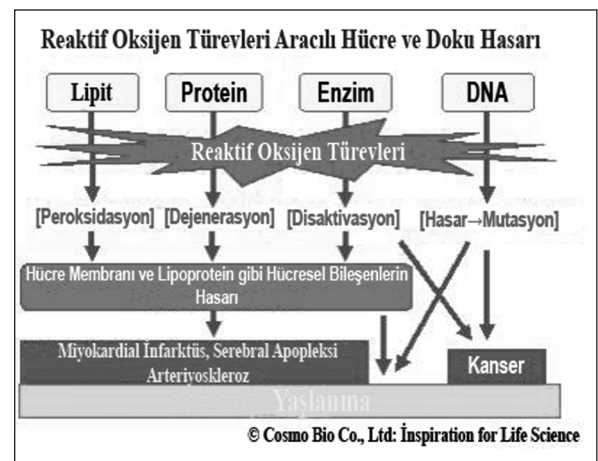
DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içerdiğinden, çeşitli kationları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe^{1+/2+} ve Cu^{1+/2+} iyonları negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı bulunabildikleri gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan demirli ve bakırlı proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedir. Aktif metal iyonlarının bağlanması DNA molekülünü H₂O₂'in hedefi haline getirmektedir. Hidrojen peroksit ile DNA'ya bağlı metal iyonlarının reaksiyonu sonucu oluşan OH \cdot radikalleri, OH \cdot radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmamaktadır. Bazı radikal temizleyicilerinin oluşturdukları radikaller de DNA'ya zarar verebilmektedir.

Doku kültürü ortamında Fe³⁺ ve Cu²⁺ iyonlarının konsantrasyonunun artırılması ile oksidatif DNA baz hasarının arttığı ve H₂O₂'e maruz bırakılan hücrelerde bakır ve/veya demir şelatörlerinin (desferoksiamin) kullanılmasının DNA'daki oksidatif hasarı önlediği gösterilmiştir.

2.Nükleaz aktivasyonu hipotezi'ne göre oksidatif stres, sitozolik Ca²⁺ iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olarak nükleustaki Ca²⁺ bağımlı endonükleazları aktive etmekte ve DNA'nın fragmantasyonuna neden olmaktadır. Nükleaz aktivasyonu DNA bazlarında kimyasal değişikliklere neden olmamaktadır. Ca²⁺ şelatörlerinin kullanımı ile DNA hasarının engellenileceğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır.¹⁰

In vivo her iki hipotezin de birlikte geçerli olduğu kabul edilmektedir.

DNA onarım enzimleri ve DNA polimeraz'ın oksidatif stres altında hasara uğramaları, doğru replikasyon



ŞEKİL 3: Hücre ve dokularda reaktif oksijen türevleri (ROS) aracılı hasar oluşum mekanizmaları.

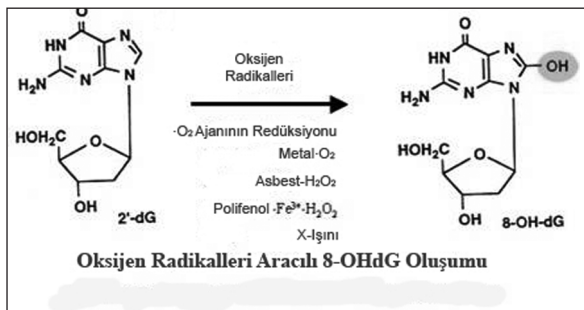
ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Bu durumda bu enzimlerin onarımı tamamlanıncaya kadar hücreler bölünmelerini genelde durdurarak kendilerini korumaktadırlar. DNA'daki oksidatif hasar tolere edilemeyecek düzeye ulaştığında hücre ölümü (apoptozis) gerçekleşmektedir.

DNA'da zincir kırıklarının oluşumundan sonra DNA onarım mekanizmasının bir komponenti olan *NAD*⁺ bağımlı poli ADP-riboz polimeraz enzimi (PARP) aktive olmakta ve DNA hasarı belirli bir düzeyi aştığında ise aşırı *NAD*⁺ ve ATP tüketimi sonucunda hücre ölümüne gitmektedir. Hücrenin "*NAD*⁺-bağımlı programlı ölümü" olarak adlandırılan bu olayın, yaygın hasarlı DNA'ya sahip hücrelerde, malign potansiyelli somatik mutantların oluşumunu engellemeye yönelik bir 'intihar yanıtı' olduğu düşünülmektedir.¹¹ Günümüzde 100 kadar oksidatif DNA baz hasarı tanımlanmıştır.¹² Ancak en sık karşılaşılan ve oksidatif DNA hasarını tespit etmekte biomarker olarak kullanılan 8-hidroksi deoksi guanin (8-OH-dGua) oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 4).¹³

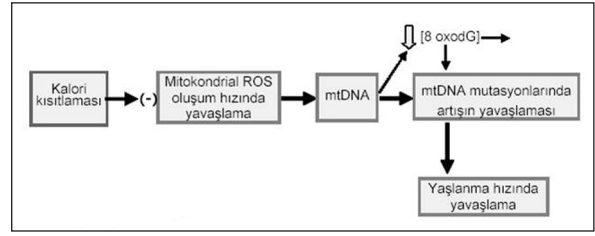
Kalori Kısıtlaması ROS oluşumunu azaltmaktadır (Şekil 5). Dolayısı ile mitokondri ve nükleus DNA'sında hasar çok az olmaktadır. Böylece, deneysel olarak yaşlanma yavaşlatılabilmektedir.¹⁴

SONUÇ

Yaşama başlarken tayin edilen, embriyonel dönemde tüm hücre doku ve organlarımızın genel karakterini oluşturan çekirdek ve mitokondri DNA'larımız yazılımımızı kapsamaktadır. Bu yazılım atasal yazılımı içerdiğinden atasal yazılımın hatasızlığı, oluşturulacak RNA'ların ve bu RNA'lar üzerinden okunacak proteinlerin doğruluğuna, işlevsel ya da yapısal dayanıklılıklarına neden olacaktır. Bir bireyin iç ya da dış faktörlerin etkisi so-



ŞEKİL 4: Reaktif Oksijen Türevleri (ROS) aracılığı ile 8-OHdG oluşumu.¹³



ŞEKİL 4: Kalori kısıtlamasının yaşlanma üzerine etkisi.⁹

nucu, etkiye en çok maruz kalan hücre, doku ve organlarında istenmeyen derecede gitmezlikler ortaya çıkabilir. Hatta bu gitmezlikler doku, organ bozukluk veya yetmezliği ile de sonuçlanabilir. Yukarıda bahsedilen DNA bozukluklarının onarım mekanizmaları ve bu mekanizmalarla ilgili enzim sistemleri ne kadar sağlıklı ve güçlü bir şekilde işlerse o hücre, doku, organ ya da bu organ sistemlerini taşıyan canlı birey DNA hasarını o derece telafi edebilir, hatalar ortadan kalkar ve ömrü uzar. Anlatılanlardan da anlaşıldığı gibi yaşlanmaya paralel olarak bazı işlevsel birimler zayıflamakta, kaybedilmektedir. Yaşlanma süreci durdurulamaz, ancak işlevselliği azalan biyokimyasal birimler öncelikle hücrenin kendisi tarafından, kendi sistemlerinin arayışı ile güçlendirilmeye çalışılmakta, bu deneyim sonucu hücrenin geleceği tayin edilmektedir. Hücre ya apoptoze gitmekte ya da kanserleşebilmektedir. Bu durum bir birey için düşünülürse, saptanan her iki yol da ölüme gidiştir. DNA hasarı sonrası bu hasarın ortadan kaldırılması için verilen çabalar önümüze iki gerçeği koymaktadır. Apoptozis kaçınılmazdır ve bir organizma için yenilenmenin en önemli yoludur. Hücrenin kalsiyum metabolizmasındaki istenmeyen bir bozukluk bu işlevi hızlandırmaktadır. Yaşlanan hücrelerde metabolik bozukluklar da kaçınılmazdır. Bazı metabolik bozukluklar ve DNA kontrol genlerindeki değişimler hücreyi kanserleştirebilmekte, güçsüz bir immün sisteme sahip olan bireyi de kanser hastası yapabilmektedir. Sonuç yine ölümdür. Ancak, bedensel düzeyde sağlıklı bir yaşlanma ve uzun bir ömür için ulusal ya da evrensel boyutlarda bazı yaptırımlar gereklidir. Yiyecek üretimi, saklama ve pazarlama koşulları, giyecek üretimi, çevre eğitimi ile birlikte korunum ve kullanım yasaları, yaşam olanaklarını sağlayan ulusal politikaları iyileştirmek, toplumsal ya da kişisel streslerden arınmak için gerekli şartları hazırlamak sağlıklı bir yaşlanmayı ve ömür uzunluğunu da beraberinde getirecektir.

KAYNAKLAR

1. Lou Z, Chen J. Cellular senescence and DNA repair. *Exp Cell Res* 2006;312:2641-6.
2. Ura K, Hayes JJ. Nucleotide excision repair and chromatin remodeling. *Eur J Biochem* 2002;269:2288-93.
3. Klug WS, Cummings MR. Gen Mutasyonu, DNA Onarımı ve Yer Değiştirebilen Elementler. In: Öner C, ed. *Genetik Kavramlar*. 6 th ed. Ankara: Palme Yayıncılık; 2002.p. 480-1.
4. Evans E, Alani E. Roles for mismatch repair factors in regulating genetic recombination. *Mol Cell Biol* 2000;20:7839-44.
5. Jackson SP. Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis* 2002;23: 687-96.
6. Cromie GA, Connelly JC, Leach DR. Recombination at double-strand breaks and DNA ends: conserved mechanisms from phage to humans. *Mol Cell* 2001;8:1163-74.
7. de Boer J, Andressoo JO, de Wit J, Huijmans J, Beems RB, van Steeg H, et al. Premature aging in mice deficient in DNA repair and transcription. *Science* 2002;296:1276-9.
8. Hart RW, Setlow RB. Correlation Between Deoxyribonucleic Acid Excision-Repair and Life-Span in a Number of Mammalian Species. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1974;71: 2169-73.
9. Burçak G, Andican G. Oxidative DNA damage and aging. *Cerrahpaşa J Med* 2004; 35: 159-69.
10. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991;281:9-19.
11. Simbulan-Rosenthal CM, Rosenthal DS, Iyer S, Boulares H, Smulson ME. Involvement of PARP and poly(ADP-ribosyl)ation in the early stages of apoptosis and DNA replication. *Mol Cell Biochem* 1999;193:137-48.
12. Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res* 1992;275:331-42.
13. Kasai H. Formation of 8-hydroxyguanine in DNA by oxygen radicals. *Environmental Mutagen Research Communications* 1995; 16: 263-74.
14. Barja G. Endogenous oxidative stress: relationship to aging, longevity and caloric restriction. *Ageing Res Rev* 2002;1:397-411.