
	<p style="text-align: center;">ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ</p>	
---	--	---

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



«ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΣΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ»

ΑΘΑΝΑΣΙΑΔΟΥ ΔΕΣΠΟΙΝΑ
MSc Human Genetics

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ (επιβλέπουσα)
Επίκουρη Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ (μέλος)
Επίκουρη Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας
ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ (μέλος)
Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

ΛΑΡΙΣΑ, 2018

	<p style="text-align: center;">ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ</p>	
---	--	---

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

«EPIGENETIC REGYLATION OF AGEING»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ:

Με τον όρο επιγενετική, εννούμε το σύνολο των μηχανισμών που επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση και συμβάλλουν : α) στη εγκαθίδρυση, β) στη διατήρηση και γ) στη δυναμική διαφοροποίηση των ιδιοτήτων που έχει το κάθε κύτταρο σε φυσιολογικές και παθολογικές καταστάσεις. Σχετικά με την ρύθμιση των γονιδίων μέσω επιγενετικών μηχανισμών ,τα τελευταία χρόνια, έχει μελετηθεί διεξοδικά και έχει συμβάλει τόσο στην κατανόηση της λειτουργίας του γονιδιώματος όσο και στην εμβάθυνση της αιτιολογίας πολύπλοκων ασθενειών.¹

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί που ελέγχουν όλες αυτές τις δραστηριότητες του κυττάρου, όπως τις μεταγραφές γονιδίων που κωδικοποιούνται από πρωτεΐνες συστημάτων μεθυλίωσης DNA και τροποποίησης ιστονών, έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν miRNAs η οποία ελέγχεται με τη μεθυλίωση κυτοσίνης και τη τροποποίηση ιστόνης, επηρεάζουν και πολλά άλλα χαρακτηριστικά τα οποία βρίσκονται στο γονιδίωμα με αποτέλεσμα να υπόκεινται και σε επιγενετικό έλεγχο.

Αυτό που χαρακτηρίζει τους επιγενετικούς μηχανισμούς είναι ότι οδηγούν σε κληρονομίσιμες αλλαγές χωρίς να περιλαμβάνουν μεταβολές στην αλληλουχία των βάσεων του DNA. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί αυτοί εμπεριέχουν τη μεθυλίωση του DNA, τη μετα-μεταγραφική τροποποίηση των ιστονών. Επίσης, με την επιγενετική ρύθμιση σχετίζονται και τα μη-κωδικοποιά μόρια RNA (non-coding RNAs) καθώς και η τοποθέτηση των νουκλεοσωμάτων, αν και αυτά θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως διαμεσολαβητές των επιγενετικών μηχανισμών.^{2,3}

Από την άλλη πλευρά, η γήρανση, είναι ένα φαινόμενο το οποίο ακολουθείται από πολλαπλές αιτίες όπως τις γενετικές βλάβες τόσο στο πυρηνικό όσο και στο μιτοχονδριακό DNA, σημειακές αλλαγές, , οξειδωτικές βλάβες σε μακρομόρια και κυτταρικές δομές, , διαταραχές ανοσίας και ομοιόσταση, επιγενετικές ανωμαλίες οι οποίες συμπεριλαμβάνουν τροποποιήσεις σε επίπεδο ιστονών, τροποποιήσεις στη μεθυλίωση του DNA κ.α.

Επομένως, όλες αυτές οι μεταβολές, στην έκφραση του γονιδιώματος, στη κυτταρική γήρανση, στη φθορά των τελομερών, στις επιγενετικές αλλοιώσεις, στη μιτοχονδριακή λειτουργία, στην ενδοκυτταρική επικοινωνία, συνδέουν άμεσα την γήρανση με την επιγενετική ρύθμιση.⁴

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ : Επιγενετική ρύθμιση, επιγενετικοί μηχανισμοί, μεθυλίωση DNA, ιστόνες, microRNAs έκφραση, κυτταρική γήρανση, επιγενετική και σύνδρομα πρόγερησης, γήρανση και ασθένειες.

KEY WORDS: Epigenetic regulation, epigenetic mechanisms, DNA methylation, histones, microRNAs expression, cell aging, epigenetics and precursor syndromes, aging and diseases.

SUMMARY:

With the term epigenetic, we enumerate all the mechanisms that affect gene expression and contribute to: a) establishment, b) maintenance, and c) dynamic differentiation of the

properties of each cell in normal and pathological conditions. Regarding the regulation of genes through epigenetic mechanisms, in recent years, it has been extensively studied and contributed both to understanding the function of the genome and to deepening the etiology of complex diseases.

The epigenetic mechanisms that control all these cell activities, such as transcription of genes encoded by DNA methylation and histone modification proteins, expression of miRNAs-encoded genes which is controlled by cytosine methylation and histone modification affects many other features found in the genome, with the result that they are subjected to epigenetic control as well.

What characterizes epigenetic mechanisms is that they lead to inherited changes without involving changes in the DNA base sequence. These epigenetic mechanisms involve methylation of DNA, post-transcriptional modification of histones. In addition, non-coding RNAs (non-coding RNAs) as well as the placement of nucleosomes are related to epigenetic regulation, although they could be described as epithelial mediators.

On the other hand, aging is a phenomenon that is followed by multiple causes such as genetic damage in both nuclear and mitochondrial DNA, point changes, oxidative damage to macromolecules and cellular structures, immune and homeostasis disorders, epigenetic abnormalities including histone modifications, modifications to DNA methylation, and so on.

Therefore, all these changes, genomic expression, cellular aging, telomere damage, epigenetic lesions, mitochondrial function, intracellular communication, directly bind aging to epigenetic regulation.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

.....σελ. 8-10

ΤΙ ΕΙΝΑΙ Η ΓΗΡΑΝΣΗσελ. 11-13

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1. ΠΩΣ ΣΥΝΔΕΕΤΑΙ Η ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΓΗΡΑΝΣΗ

.....σελ. 14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΤΗΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

2.1 Ανάγκη Επιγενετικών Μηχανισμών..... σελ. 15-16

2.2 Αξία της Επιγενετικής..... σελ. 16-18

2.3. Βασικές έννοιες της Επιγενετικής σελ. 18-19

2.4. Μιτωτική Κληρονομικότητα Επιγενετικών Σημάνσεων..... σελ. 19-21

2.5. Ομοζυγωτικά Δίδυμα..... σελ. 21-22

2.6. Ορίζοντας την Επιγενετική..... σελ. 22-23

2.7. Επιγενετική και Ανάπτυξη..... σελ. 23-24

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΟΡΓΑΝΩΣΗ DNA

3.1. Δομή Νουκλεοσώματος σελ. 24-26

3.2. Δομή Χρωματίνης σελ. 27-29

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

4. ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ DNA

4.1 Μοτίβο Μεθυλίωσης CpG	σελ. 30-31
4.2 Μόρια που Μεθυλιώνουν το DNA.	σελ. 31-32
4.3 Επιρροή της Μεθυλίωσης του DNA στην Μεταγραφή	σελ. 32-33
4.4 Μεθυλίωση και Μειωμένη Μεταγραφική Ενεργότητα.	σελ. 33-34

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΙΣΤΟΝΩΝ	σελ.37-40
5.1 Μετα-μεταφραστική Τροποποίηση των Ιστονών.	σελ. 40-41
5.2 Κώδικας Ιστονών	σελ. 42
5.3 Ακετυλίωση Ιστονών	σελ. 42
5.4 Μεθυλίωση Ιστονών	σελ. 43-45

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΚΩΔΙΚΑ RNAs

6.1 Επιγενετικά Σύμπλοκα Χρωματίνης.	σελ. 45
6.2 Μη Κωδικά Μόρια RNAs.	σελ. 45

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

7.1. Γονιδιωματικό Εντύπωμα	σελ. 45-55
-----------------------------------	------------

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

8.1. κυτταρική γήρανση	σελ. 55-56
8.2. γήρανση και μακροβιοτητα	σελ. 56-62
8.3. πρωιμη κυτταρική γήρανση και οξειδωτικό στρες	σελ. 63-64
8.4.. Κυτταρική γήρανση και επιγενετική ρύθμιση	σελ. 64-66
8.5. Γονιδιακή αστάθεια	σελ. 67
8.6. Επαναφορά επιγενετικών αλλαγών και θεραπείες κατά της γήρανσης	σελ. 67-68
8.7. Επιγενετική και Σύνδρομα πρόωρης γήρανσης ή προγήριας	σελ. 68-76
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	σελ. 77-78
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	σελ. 79-86

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΤΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

Οι γενετικές και επιγενετικές πληροφορίες που κληρονομούνται στην εξέλιξη και στο ιστορικό ζωής σε κάθε άτομο είναι απαραίτητες για να προσδιορίσουν την έκφραση των γονιδίων και παράλληλα συμβάλλουν σε πολλές φυσιολογικές εξόδους. Το γεγονός αυτό αποδεικνύεται μέσω πολλών μελετών οι οποίες έχουν ως στόχο τη διαμόρφωση των μεταγραφών για την παροχή οδών ή γονιδίων στόχων που θα μπορούσαν να προκαλέσουν κάποιο συγκεκριμένο φαινότυπο.

Έτσι, οι προσπάθειες που έχουν γίνει για την ξεδίπλωση της δομής της χρωματίνης καθώς και των λειτουργιών της, παρουσιάζουν τον τρόπο με τον οποίο η σηματοδότηση στη χρωματίνη, συμπεριλαμβανομένων των περιβαλλοντικών επιδράσεων, διαμορφώνει τα πρότυπα έκφρασης γονιδίων.

Με δεδομένο αυτό, η προσπάθεια να εντοπιστούν οι μοριακοί μηχανισμοί και οι οδοί που οδηγούν την υγιή γήρανση έχουν παρακινήσει τους ερευνητές να διερευνήσουν τα αιτιώδη γονίδια. Οι προσπάθειες για την προαγωγή μεταβολών στην γονιδιακή έκφραση και στους υποκείμενους μηχανισμούς που βασίζονται σε χρωματίνη έδωσαν ως εκ τούτου τεράστια ποσότητα πληροφοριών. 4

Η γήρανση είναι μια συνέχεια φυσιολογικών διεργασιών, οι οποίες κατά τη διάρκεια ζωής ενός οργανισμού συμβάλλουν στη φυσική κατάσταση που είναι απαραίτητη για την επιβίωση των ατόμων. Στην πραγματικότητα, η γήρανση, η οποία εξασφαλίζει επίσης την απομάκρυνση των ανίκανων ατόμων, συμβάλλει στην πλήρη καταλληλότητα του είδους

Η γήρανση αυξάνει επίσης τον κίνδυνο ασθενειών όπως ο διαβήτης, η παχυσαρκία, ο καρκίνος και ο νευροεκφυλισμός.⁴

Η Επιγενετική είναι ο κλάδος που ασχολείται με τη μελέτη των αναστρέψιμων κληρονομήσιμων αλλαγών στη λειτουργία των γονιδίων, που εμφανίζονται χωρίς κάποια αλλαγή στην αλληλουχία του πυρηνικού DNA. Πιο συγκεκριμένα είναι η διαδικασία της επίδρασης στη δράση ενός γονιδίου χωρίς να αλλάζει το ίδιο το DNA του γονιδίου.⁵

Η επιγενετική είναι ένα ακόμα σύστημα κληρονομικό πέραν της γενετικής . Μέχρι τώρα η γενετική , με βάση τον Μέντελ , έλεγε ότι οι πληροφορίες περνούν από τη μία γενιά στην άλλη από το ένα κύτταρο στο άλλο , και ότι αλλαγές μπορεί να συμβούν στον φαινότυπο ενός οργανισμού μόνο αν αλλάξει ο γενότυπος , δηλαδή τα γονίδια . Με τις κλασικές μεταλλάξεις αλλάζουν τα γονίδια και έτσι διαφοροποιείται ο ένας οργανισμός από τον άλλο.

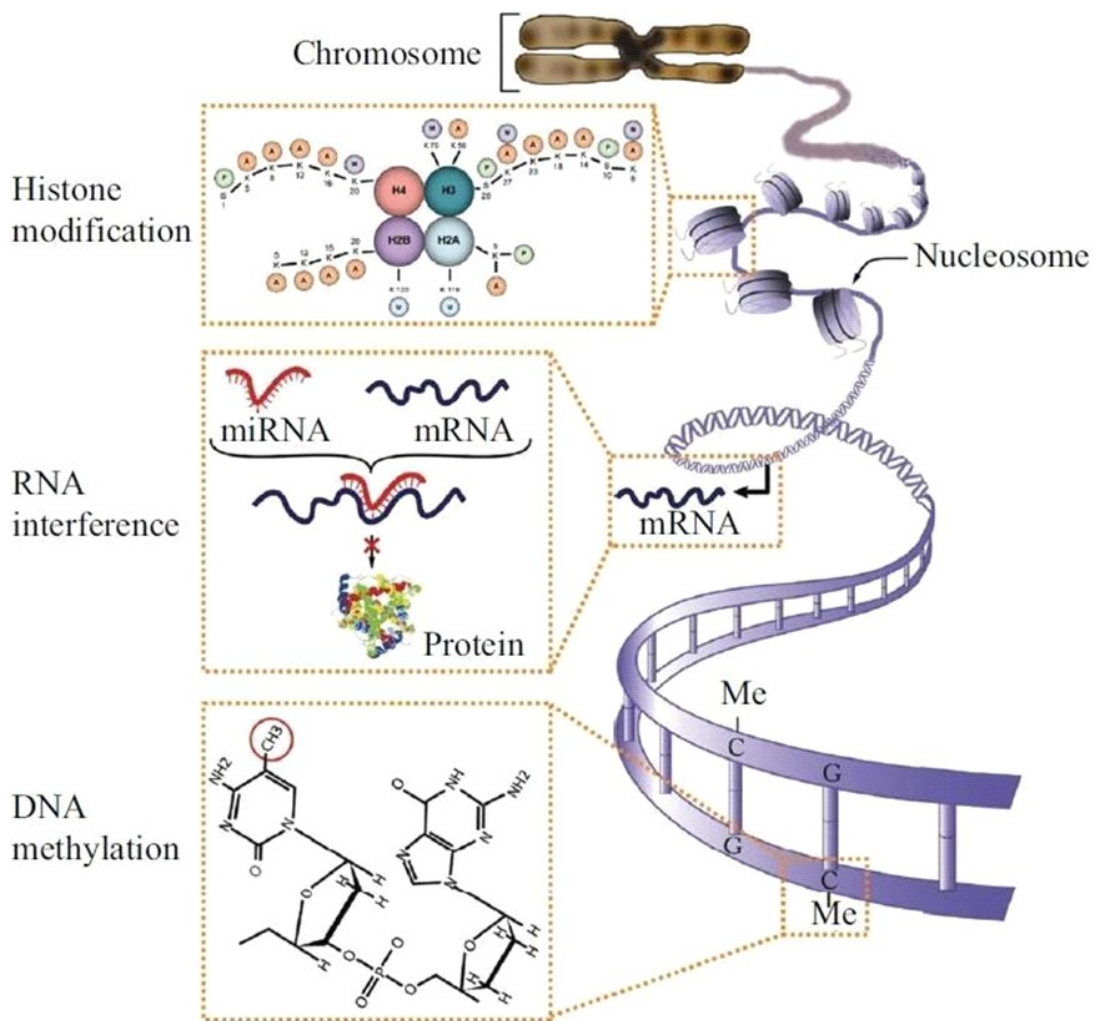
Ακόμη, υπάρχουν πληροφορίες κληρονομήσιμες που μπορούν να μεταφερθούν από ένα κύτταρο στο επόμενο θυγατρικό ή από τη μία γενιά στην άλλη, δημιουργώντας παραλλαγές που περιλαμβάνουν μόνο επιγενετικές αλλαγές στο DNA.

Τα κύτταρα μας με βάση τους επιγενετικούς μηχανισμούς (οι οποίοι θα αναλυθούν παρακάτω) που περιλαμβάνει η επιγενετική, επιλέγουν μόνο την γενετική πληροφορία που πρέπει να χρησιμοποιήσουν.

Ως γνωστόν κάθε κύτταρο μας διαθέτει όλη τη γενετική πληροφορία για τη δημιουργία ενός οργανισμού, παρ'όλα αυτά, χρησιμοποιεί μόνο ένα μέρος της.

Οι επιγενετικές διαμορφώσεις είναι ανατρέψιμες και δυνητικά κληρονομούνται μέσω των μειωτικών και μιτωτικών διαδικασιών .

Οι μηχανισμοί οι οποίοι συμπεριλαμβάνονται στην επιγενετική ρύθμιση είναι η μεθυλίωση, ακετυλίωση και τροποποίηση στο DNA και σε ιστόνες, καθώς και η συμμετοχή των microRNAs.⁶



Εικόνα 1η

Μεθυλίωση του DNA, τροποποίηση ιστονών, microRNAs έκφραση.

(<http://docplayer.gr/72885424-Epigenetiki-methyliosi-toy-dna.html>)

Οι μηχανισμοί αυτοί της επιγενετικής ρύθμισης συνεργάζονται για την έκφραση γονιδίων που χρειάζονται για τη λειτουργία του κυττάρου.

Οι διαδικασίες αυτές συμβαίνουν κατά την κυτταρική διαίρεση, μπορούν να κληρονομηθούν, είναι αναστρέψιμες και συμβάλλουν στον φαινότυπο κατά τη μορφογένεση.

Η επιγενετική ρύθμιση είναι ένα αποτέλεσμα πολλών ακόμη παραγόντων που παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ζωή ενός ανθρώπου.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η διατροφή, το στρες, η άσκηση, ο τρόπος ζωής, η κληρονομικότητα συμβάλλουν στην αλλαγή των γονιδίων μέσω της επιγενετικής.⁶



Εικόνα 2η

(<http://assistingnature.blogspot.com/2017/08/can-epigenetics-explain-inexplicable-in.html?m=0>)

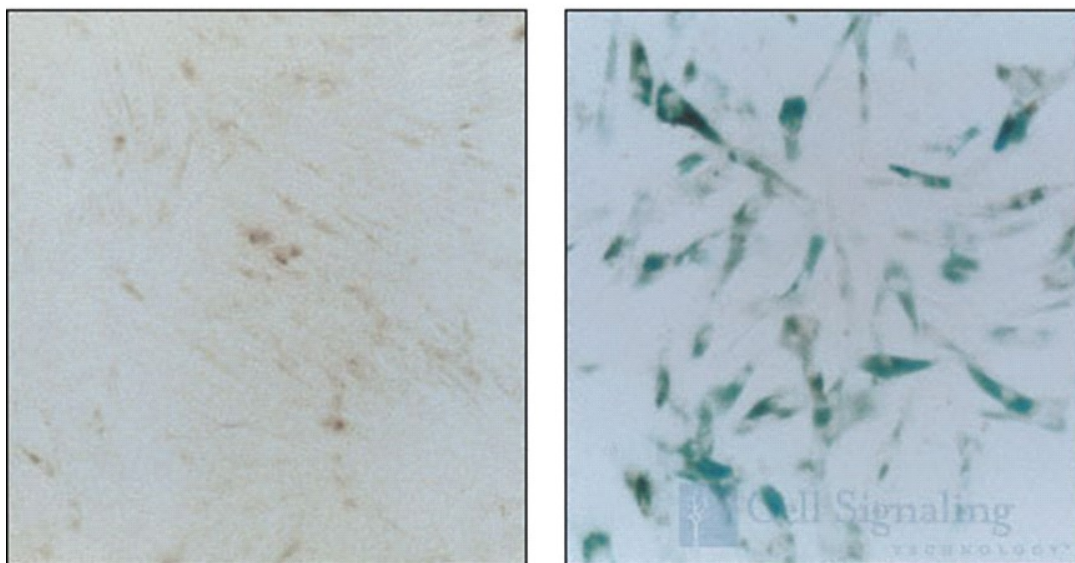
ΤΙ ΕΙΝΑΙ Η ΓΗΡΑΝΣΗ

Η γήρανση είναι ένα φαινόμενο κατά το οποίο δρουν πολλοί παράγοντες. Χαρακτηρίζεται από την επιδείνωση, δηλαδή την απώλεια της φυσιολογικής ακεραιότητας που έχει ως αποτέλεσμα την εξασθένηση της λειτουργίας του οργανισμού, που είναι ο βασικός της παράγοντας κινδύνου σε παθολογικές καταστάσεις όπως είναι ο καρκίνος, οι καρδιαγγειακές διαταραχές κ.α.

Έρευνες που έχουν γίνει δείχνουν ότι ο ρυθμός της γήρανσης ελέγχεται από κάποιους παράγοντες όπως είναι οι μεταγραφικές αλλοιώσεις, οι γενετικές οδοί και οι βιοχημικές διεργασίες (απώλεια πρωτεόστασης, φθορά τελομερών, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, κυτταρική γήρανση, γονιδιωματική αστάθεια). Ένας ακόμη παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει την γήρανση, βάση ερευνών, ανεξάρτητα από την δράση της τελομεράσης, είναι και η μη-τελομερική βλάβη του DNA και η απο-καταστολή της θέσης INK4 / ARF, όπου και στις δύο περιπτώσεις προωθείται η κυτταρική γήρανση.

Επιπλέον, η κυτταρική γήρανση χαρακτηρίζεται από μη αντιστρεπτή αναστολή του κυτταρικού κύκλου, αντοχή στην απόπτωση και από μεταβολές σε προϋπάρχουσες, λόγω διαφοροποίησης, κυτταρικές λειτουργίες. Ο φαινότυπός της επάγεται με κάποια σήματα όπως η έκφραση ογκογονιδίων, η παρουσία μιτογόνων σημάτων, οι μεταβολές στη δομή της χρωματίνης καθώς και μείωση του μήκους των τελομερών, βλάβες στο DNA και υπερέκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Ακόμη μια από τις πλέον ανινχεύσιμες μεταβολές που χαρακτηρίζει τα γηρασμένα κύτταρα είναι η θετική χρώση για SA-β-γαλακτοσιδάση σε pH 6.0. Παρ' όλα αυτά μελέτες έχουν αναδείξει ότι τα γηρασμένα κύτταρα δεν εμφανίζονται μόνο σε ηλικιωμένους οργανισμούς αλλά και σε πιο νεαρούς οργανισμούς.

Επίσης, με την πάροδο του χρόνου και όσο ο άνθρωπος μεγαλώνει, ο οργανισμός παρουσιάζει φθορές καθώς και μείωση της ικανότητας της επισκευής αυτών. Ακόμα και η ικανότητα του οργανισμού να αντιστέκεται σε διάφορες λοιμώξεις και μικρόβια είναι και αυτή μειωμένη λόγω της φθοράς του χρόνου^{6,7,8}



Εικόνα 3η

Τα «γηρασμένα» κύτταρα εμφανίζουν ενεργότητα της

β-γαλακτοσιδάσης. (Hernandez-Segura, Nehme, & Demaria, 2018)

Το φαινόμενο της γήρανσης, τόσο σε οργανικό όσο και σε κυτταρικό επίπεδο, συμμετέχει στην ανάπτυξη και εξέλιξη της παθολογίας πολλών χρόνιων ασθενειών. Έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες για την εξέταση κύριων και χρόνιων ασθενειών, οι οποίες είναι ο καρκίνος, ο διαβήτης και ο HIV / AIDS, αρθρίτιδα, οστεοπόρωση, ήπια γνωστική εξασθένηση που συσχετίζονται άμεσα με την γήρανση.

Η γήρανση, εδώ και χρόνια αναγνωρίζεται ως ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για τις περισσότερες χρόνιες παθήσεις που επηρεάζουν τον ηλικιωμένο πληθυσμό.

Σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει διαπιστωθεί ότι, σε επιδημιολογικό επίπεδο, η πρόωμη έκθεση σε σοβαρές ασθένειες ή και στις θεραπείες τους οδηγεί σε επιτάχυνση της γήρανσης, όπως καθορίζεται από έναν αυξημένο και πρόωρο κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών και συνθηκών που σχετίζονται με αυξημένη ηλικία.

Πιο συγκεκριμένα, με την βλάβη των τελομερών ή την ανικανότητα να αποκατασταθεί το μήκος των τελομερών μετά την κυτταρική διαίρεση, μπορεί να πραγματοποιηθεί άμεσα η γήρανση των κυττάρων στον άνθρωπο. Από την άλλη, πλευρά στα χαμηλότερα ήδη, τα

τελομερή μπορεί να είναι μια πολύ λιγότερο σημαντική οδός προς τη γήρανση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελούν τα τρωκτικά, τα οποία ξεκινούν με μακρά τελομερή και έχουν πάρα πολύ μικρότερη διάρκεια ζωής από τον άνθρωπο. Σε αυτή την περίπτωση, η φθορά των τελομερών είναι σημαντική μόνο σε ακραία παραδείγματα (knockouts και σε επόμενες γενιές όταν τα τελομερή γίνονται πολύ σύντομα).

Τα τελομερή λοιπόν, στους ανθρώπινους οργανισμούς, χρησιμεύουν ως δείκτες και είναι εύκολο να μετρηθούν σε πληθυσμιακές μελέτες καθώς είναι προβλέψιμες για την πρώιμη εμφάνιση ασθενειών γήρανσης, όπως αποδεικνύουν πολλές μετα-αναλύσεις. Τα τελομερή με μικρό μέγεθος, έχουν σχέση με άλλες πτυχές της γήρανσης της βιολογίας, όπως και τα δυσλειτουργικά τελομερή βλάπτουν τα μιτοχόνδρια και οδηγούν σε συστηματική φλεγμονή.

Επίσης, κοινά χαρακτηριστικά της γήρανσης τόσο σε ανθρώπους όσο και σε ζωικά μοντέλα (συμπεριλαμβανομένων των μοντέλων έντονης γήρανσης, όπως η λοίμωξη από τον ιό HIV) , αποτελούν και η διάσπαση της λειτουργίας των φραγμών του εντέρου και τη δυσβουλία του μικροβιακού εντέρου.

Αποτελεί γεγονός ότι, στα πρώτα στάδια της λοίμωξης από ιό (για παράδειγμα HIV), , η λειτουργία του επιθηλιακού φραγμού του εντέρου επηρεάζεται από: 1) τη διάσπαση στενών συνδέσεων μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων, 2) την αυξημένη απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων, 3) και την απώλεια της ανοσίας του βλεννογόνου.

Τα ελαττώματα αυτά λοιπόν, επιτρέπουν τη πρόσβαση και μετακίνηση των μικροβιακών προϊόντων στη συστηματική κυκλοφορία και τη χρόνια φλεγμονώδη κατάσταση. Ακόμη, η δυσλειτουργία αυτή του επιθηλιακού φραγμού του εντέρου στον HIV, δημιουργούν αυξημένη θνησιμότητα ακόμη και μετά την καταστολή της ιικής αντιγραφής με ART, υποδηλώνοντας ότι αυτά τα ελαττώματα παίζουν ρόλο στην οδήγηση ασθενειών.

Τέλος, τα τελομερή είναι ένας προστατευτικός μηχανισμός που προωθεί την ακεραιότητα και σταθερότητα του DNA μας. Οι παράγοντες που ενεργοποιούν τη δράση της τελομεράσης είναι: το χαμηλό επίπεδο ομοκυστεΐνης και SOD.

Η φθορά τους λοιπόν, μπορεί να είναι ένας κεντρικός παράγοντας για την πρόκληση του γήρατος. Η μείωση του μήκους τους αναδεικνύεται ως προγνωστικός δείκτης για την ανάπτυξη της νόσου και την πορεία των νοσημάτων, συμπεριλαμβανομένων διαφόρων μορφών καρκίνου.^{7,8}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1. Πώς συνδέεται η επιγενετική ρύθμιση με την γήρανση.

Με βάση κάποια στοιχεία γνωρίζουμε ότι όλα τα επιγενετικά συστήματα συμβάλλουν στον έλεγχο της διάρκειας της ζωής σε διάφορους οργανισμούς, το επιγένωμα όπως και άλλα συστήματα κυττάρων υφίστανται σε βαθμιαία υποβάθμιση λόγω της γήρανσης, της βλάβης του γονιδιώματος, των παραγόντων στρες.^{9,10}

Οι επιγενετικές αλλαγές μπορούν είτε να είναι αυθόρμητες είτε να οδηγούνται από εξωτερικές ή εσωτερικές επιδράσεις. Η επιγενετική εξηγεί γιατί το πρότυπο γήρανσης είναι διαφορετικό μεταξύ δύο γενετικά πανομοιότυπων ατόμων, όπως είναι τα πανομοιότυπα δίδυμα¹¹

Ο κλάδος της επιγενετικής έχει μεγάλες προοπτικές για στόχευση με θεραπευτικές παρεμβάσεις, σε αντίθεση με τις γενετικές αλλαγές, οι οποίες σήμερα είναι τεχνικά μη αναστρέψιμες στους ανθρώπους. Κατά συνέπεια, η οριοθέτηση και η κατανόηση των επιγενετικών αλλαγών που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της γήρανσης είναι ένας σημαντικός τομέας συνεχούς μελέτης, ο οποίος μπορεί ενδεχομένως να οδηγήσει στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων για την καθυστέρηση της γήρανσης και των ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία.^{11,12}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΤΗΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

2.1. Ανάγκη Επιγενετικών μηχανισμών

Η σημασία του έργου του Waddington και του Hardon ήταν να συσχετίσουν τα γονίδια και την γονιδιακή δράση με την ανάπτυξη, μέσα σε ένα περιβάλλον στο οποίο οι περισσότεροι γενετιστές και αναπτυξιακοί βιολόγοι δεν επικοινωνούσαν μεταξύ τους. Με την πάροδο του χρόνου, ήταν ξεκάθαρο ότι υπήρχαν κάποια συγκεκριμένα θεμελιώδη χαρακτηριστικά της ανάπτυξης που έπρεπε να εξηγηθούν.

Για παράδειγμα, οι επιδράσεις ενός γονιδίου το οποίο ελέγχει το χρώμα των σπορών καλαμποκιού εξαφανίζονται μερικές φορές, μόνο για να επανεμφανιστεί σε μεταγενέστερες γενιές. Αργότερα στην ίδια δεκαετία κάτι παρόμοιο εμφανίστηκε στα ζώα, αυτή τη φορά με τη συμμετοχή των φυλετικών χρωμοσωμάτων. Στα θηλαστικά, τα αρσενικά έχουν ένα X και ένα Y χρωμόσωμα, ενώ τα θηλυκά έχουν δύο αντίγραφα του X. Για να αποφευχθεί η διπλή δόση γονιδίων χρωμοσώματος X στα θύλακα, ένα X χρωμόσωμα επιλέγεται τυχαία σε κάθε κύτταρο του εμβρύου και απενεργοποιείται. Η διαδικασία αυτή της αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος συμβαίνει νωρίς στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και μεταδίδεται σταθερά μέσω πολλαπλών κυτταρικών διαιρέσεων καθώς ο απόγονος μεγαλώνει. Μια λιγότερο προφανής εκδοχή της γονιδιακής αποσιώπησης, γνωστή και ως "Εντύπωμα", ανακαλύφθηκε μερικά χρόνια αργότερα. Τα γονίδια είναι παρόντα εις διπλούν σε κάθε κύτταρο του σώματος - ένα από κάθε ένα από τους δύο γονείς. Ορισμένα γονίδια, ωστόσο, συμπεριφέρονται διαφορετικά ανάλογα από ποίον γονέα προήλθαν.^{11,12,13}

Το πρώτο παράδειγμα που ανακαλύφθηκε ήταν εκείνο της μεθυλίωσης του DNA, το οποίο περιλαμβάνει μία μικρή χημική υποομάδα που ονομάζεται ομάδα μεθυλίου η οποία προστίθεται στο DNA. Η πρώτη πρόταση ότι η μεθυλίωση του DNA (ή η απομεθυλίωση) θα μπορούσε να κατέχει σημαντικό βιολογικό ρόλο έγινε από τους Griffith και Mahler οι οποίοι πρότειναν το 1969 ότι θα μπορούσε να παρέχει μια βάση για μια μακροπρόθεσμη μνήμη στον εγκέφαλο. Το 1975 δημοσιεύτηκαν δυο έγγραφα τα οποία περιέγραφαν ένα μοριακό μοντέλο της μεταγωγής των γονιδιακών δραστηριοτήτων καθώς επίσης και την

κληρονομικότητα της δραστηριότητας κάθε γονιδίου ή της αδράνειας του. Οι προτάσεις των Rigs, Holiday και του Pugh ήταν πολύ παρόμοιες αλλά ήταν τελείως ανεξάρτητες η μια από την άλλη. Η υπόθεση όμως ήταν ότι η μεθυλίωση του DNA θα μπορούσε να έχει ισχυρές επιδράσεις στην γονιδιακή έκφραση και επομένως οποιαδήποτε αλλαγή στη μεθυλίωση του DNA θα μπορούσε να εξηγήσει την ενεργοποίηση ή την απενεργοποίηση των γονιδίων κατά την διάρκεια της ανάπτυξης. Μια τρίτη δημοσίευση σχετικά με την μεθυλίωση του DNA εμφανίστηκε το 1975 από τους Sager και Kitchin η οποία πρότεινε ότι υπάρχουν κάποια ένζυμα στους ευκαριωτικούς οργανισμούς που περιορίζουν το μη τροποποιημένο DNA.

Η λέξη επιγενετική δεν χρησιμοποιήθηκε σε καμία δημοσίευση του 1975 σχετικά με την μεθυλίωση του DNA και την γονιδιακή έκφραση. Πιθανότατα επειδή είχε προηγουμένως χρησιμοποιηθεί σε αρκετά διαφορετικά περιεχόμενα και παρέμενε απροσδιόριστη.¹³

2.2. Αξία της επιγενετικής

Για να γίνουν αποδεκτές οι θεωρίες του Δαρβίνου έπρεπε να περάσουν χρόνια , και η γενική ιδέα της εξέλιξης του Δαρβίνου είχε να ανταγωνιστεί με διάφορες ιδέες του δέκατου ένατου αιώνα. Η πιο διαδεδομένη από όλες τις ανταγωνίστηκες υποθέσεις ήταν ίσως η θεωρία της κληρονομικότητας των επίκτητων χαρακτηριστικών, που δημοσιεύθηκε από τον Jean Baptiste Lamarck το 1801. Ο Lamarck πρότεινε ότι αν ένας οργανισμός αλλάξει το φαινότυπο του για να προσαρμοστεί στο περιβάλλον του, αυτές οι αλλαγές θα μπορούσαν να περάσουν και στους απογόνους του. Ο Δαρβίνος πρότεινε ότι αυτό δεν θα μπορούσε να συμβεί και ότι ο μόνος μηχανισμός με τον οποίο θα μπορούσε να συμβεί μια φαινοτυπική αλλαγή είναι να έχει προέλθει από κάποιες παραλλαγές που είχαν κάποιοι οργανισμοί που θα τους βοηθούσε στην επιβίωση και στην πιο επιτυχής παραγωγή απογόνων. Επειδή αυτά τα χρήσιμα χαρακτηριστικά προκύπτουν από τα γονίδια του γονέα, ο μόνος τρόπος οι απόγονοι να αποκτήσουν ένα τέτοιο πλεονέκτημα επιβίωσης είναι με τη λήψη αντιγράφων των επωφελή γονιδίων από τους γονείς τους. Τελικά, τα αποδεικτικά στοιχεία που προκύπτουν από τη μελέτη της γενετικής υποστήριξαν τον Δαρβίνο και η θεωρία Λαμάρκ απαξιώθηκε, οδηγώντας σε ένα κεντρικό δόγμα της βιολογίας του εικοστού αιώνα το οποίο υποστήριζε ότι ο μόνος τρόπος για να μεταδοθούν οποιαδήποτε χαρακτηριστικά είναι μέσω κληρονομικότητας των γονιδίων και ότι τα γονίδια δεν θα μπορούσαν να επηρεαστούν από τα γεγονότα του περιβάλλοντος. Αυτή η πεποίθηση αποδεικνύει αυτονόητη. Ωστόσο, ορισμένα από τα χειρότερα γεγονότα του εικοστού αιώνα, φανερώουν κάτι το αντίθετο.

Ο Ολλανδικός λοιμός διήρκησε από τις αρχές Νοεμβρίου του 1945 έως τα τέλη της άνοιξης του 1945. Εκείνο το διάστημα το ψύχος ήταν δριμύτατο στη Δυτική Ευρώπη, δημιουργώντας επιπλέον πρόβλημα σε μια ήπειρο που είχε ισοπεδωθεί ύστερα από τέσσερα χρόνια ανήλεους πολέμου. Το χειρότερο λοιπόν σημείο της Ευρώπης εκείνη την περίοδο ήταν η δυτική Ολλανδία, η οποία βρισκόταν ακόμη υπό γερμανική κατοχή. Ένα

γερμανικό εμπάργκο οδήγησε στην ολική έλλειψη τροφίμων για τον ολλανδικό πληθυσμό. Υπήρξαν ημέρες που ο πληθυσμός προσπαθούσε να επιβιώσει μόνο με το 30% της φυσιολογικής ημερήσιας πρόσληψης θερμίδων. Τον Μάιο του 1945, όταν αποκαταστάθηκαν οι προμήθειες τροφίμων, είχαν ήδη πεθάνει πάνω από 20.000 άνθρωποι. Οι τρομακτικές στερήσεις εκείνης της περιόδου δημιούργησαν παράλληλα ένα κομμάτι πληθυσμού που έχρηζε μιας προσεκτικής επιστημονικής μελέτης. Οι ολλανδοί επιζώντες συγκροτούσαν ένα σύνολο με σαφή, διακριτά χαρακτηριστικά, καθώς όλοι μαζί, την ίδια ακριβώς στιγμή, έζησαν την έναρξη και τη λήξη μίας μοναδικής περιόδου υποσιτισμού. Λόγω της εξαιρετικής υποδομής των υπηρεσιών υγειονομικής περίθαλψης και την προσεκτική τήρηση των ιατρικών ιστορικών στην Ολλανδία, οι επιδημιολόγοι είχαν την απίστευτη δυνατότητα να παρακολουθήσουν τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις εκείνου του λιμού. Και τα ευρήματά τους ήταν εντελώς αναπάντεχα. Ένας από τους πρώτους παράγοντες που μελετήθηκαν ήταν επίδραση του λιμού στο βάρος των νεογέννητων που είχαν αναπτυχθεί στη μήτρα, κατά τη διάρκεια αυτής της τρομερής περιόδου. Εάν μια μητέρα τρεφόταν καλά την περίοδο πριν και μετά τη σύλληψη και υποσιτίστηκε τους τελευταίους μήνες της εγκυμοσύνης της το νεογέννητο ήταν πιθανό να γεννηθεί μικρό. Εάν, αντίθετα, η μητέρα υποσιτίστηκε τους τρεις πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης της (επειδή η σύλληψη έγινε προς το τέλος αυτού του τρομερού επεισοδίου) και στη συνέχεια τρέφονταν φυσιολογικά, το πιθανότερο ήταν να βγει ένα μωρό με κανονικό βάρος. Στη δεύτερη περίπτωση, το έμβρυο «κάλυψε τη διαφορά» του σωματικού βάρους.^{12,13,14}

Ωστόσο είναι γνωστό ότι τα έμβρυα παίρνουν βάρος και αναπτύσσονται κυρίως κατά τους τελευταίους μήνες της εγκυμοσύνης. Αλλά οι επιδημιολόγοι που μελέτησαν την τύχη που είχαν αυτά τα μωρά τις επόμενες δεκαετίες καθώς μεγάλωναν, εντόπισαν κάποια εκπληκτικά στοιχεία. Τα μωρά που γεννήθηκαν μικρά, παρέμειναν μικρόσωμοι άνθρωποι σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους, με ποσοστά παχυσαρκίας χαμηλότερα από τον γενικό πληθυσμό. Για περισσότερα από σαράντα χρόνια αυτοί οι άνθρωποι είχαν πρόσβαση σε όσο φαγητό ήθελαν, όποτε το ήθελαν ωστόσο τα σώματά τους ποτέ δεν ξεπέρασαν εκείνη την αρχική περίοδο υποσιτισμού. Γιατί όμως; Πως αυτές οι εμπειρίες στην αρχή της ζωής τους επηρέασαν αυτούς τους ανθρώπους επί δεκαετίες; Γιατί δεν επανέκτησαν ένα φυσιολογικό βάρος, όταν το περιβάλλον τους επανήλθε σ' αυτό ονομάζουμε φυσιολογικό; Περιέργως, τα παιδιά των οποίων οι μητέρες υποσιτίστηκαν κατά τα πρώτα μόνο στάδια της εγκυμοσύνης, είχαν υψηλότερα ποσοστά παχυσαρκίας από το κανονικό. Πρόσφατες μελέτες, συμπεριλαμβανομένων κάποιων τεστ νοητικής δραστηριότητας, έδειξαν μάλιστα μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης και άλλων προβλημάτων υγείας. Ακόμα και αν τα έμβρυα είχαν γεννηθεί απολύτως υγιή, κάτι που συνέβη κατά την ανάπτυξή τους μέσα στη μήτρα, τους επηρέασε για τις επόμενες δεκαετίες. Και αυτό που έχει σημασία δεν ήταν μόνο το γεγονός ότι κάτι είχε συμβεί, ήταν το πότε είχε συμβεί αυτό το κάτι. Τα γεγονότα που συμβαίνουν κατά τους τρεις πρώτους μήνες της ανάπτυξης ενός εμβρύου, ένα στάδιο που το έμβρυο είναι πραγματικά μικροσκοπικό, ίσως επηρεάσουν έναν άνθρωπο για το υπόλοιπο της ζωής του.

Το πλέον περίεργο είναι ότι μερικά από αυτά τα αποτελέσματα φαίνεται να ακολουθούν και τους απογόνους αυτής της ομάδας, δηλαδή εγγόνια των γυναικών που υπέφεραν από τον λιμό, κατά τη διάρκεια των τριών πρώτων μηνών της εγκυμοσύνης τους. Με άλλα λόγια, κάτι που συνέβη σε μια έγκυο πέρασε στο παιδί του παιδιού της. Αυτό ακριβώς καλλιέργησε πραγματικά και αινιγματικά ερωτήματα σχετικά με το πώς οι επιπτώσεις αυτές περνούν επόμενες γενιές.

Στην καλύτερη περίπτωση, αν κατανοήσουμε τους μηχανισμούς που προκάλεσαν τα γεγονότα αυτά όπως στον Χειμώνα της Ολλανδικής πεινάς, θα υπήρχε μια προϊδέαση όσων αφορά εκείνων των απογόνων που έχουν επηρεαστεί με τη νόσο, με αυτόν τον τρόπο μπορεί να είμαστε σε θέση να αναπτύξουμε μεθόδους για την πρόληψη της συσσώρευσης επιβλαβών επιγενετικών αλλαγών και κατά συνέπεια να μειωθεί ο κίνδυνος της νόσου, ανεξάρτητα από τις περιβαλλοντικές επιδράσεις. Η επίδραση αυτού στην ανθρώπινη υγεία και ευεξία θα μπορούσε να είναι πράγματι εξαιρετική.^{13,15}

2.3. Κεντρικό ζήτημα: Έκφραση Συγκεκριμένων Γονιδίων

Ένα μεγάλο ερώτημα που απασχολούσε τους εμβρυολόγους αποτέλεσε η ικανότητα των κυττάρων να διαφοροποιούνται παρόλο που όλα προέρχονταν από ένα μόνο γονιμοποιημένο ωάριο και έχουν κατά συνέπεια το ίδιο γενετικό υλικό. Στο μεσαίωνα πίστευαν ότι στο εσωτερικό της κεφαλής του σπερματοζωαρίου υπήρχε ένας πλήρης διαμορφωμένος άνθρωπος που ονομαζόταν Homunculus και η μητέρα απλά μεγάλωνε αυτόν τον μικροσκοπικό άνθρωπο.

Ο όρος Επιγενετική, ο οποίος αρχικά επινοήθηκε για να περιγράψει πώς χρησιμοποιείται η γενετική πληροφορία κατά την ανάπτυξη ώστε να δημιουργηθεί ένας οργανισμός, κατέληξε να αναφέρεται σε πολλά διαφορετικά φαινόμενα τα οποία όμως θεωρούνταν εξαιρέσεις της κλασσικής γενετικής. Επιγενετική σημαίνει «πάνω από την γενετική» και αρχικά επινοήθηκε από τον Conrad Waddington για να περιγράψει την ύπαρξη επιπλέον κληρονομήσιμων μηχανισμών (πάνω, υπέρ) της κλασσικής γενετικής.^{14,16}

Είναι σύνηθες να αναφερθεί ότι η περιγραφή της επιγενετικής από τον Waddington (1942) αναφέρθηκε ως ο κλάδος της βιολογίας που μελετά τις συνήθεις αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και των προϊόντων τους, οι οποίες φέρουν τον φαινότυπο σε αυτό που είναι. Το κλειδί για την κατανόηση αυτών και άλλων ορισμών έγκειται στο πρόθεμα 'επί- το οποίο κυριολεκτικά σημαίνει "επάνω" εννοώντας από την αλληλουχία του DNA. Μια λιγότερο

τεχνική περιγραφή της επιγενετικής αναφέρεται στην διαδικασία και στους μηχανισμούς, που φυσικά βρίσκονται πάνω από το DNA και επηρεάζουν την δραστηριότητα του, χωρίς όμως να αλλάζουν το ίδιο το DNA.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους ελέγχονται τα γονίδια αποτελούν σήμερα το πιο ενεργό και συναρπαστικό τομέα της έρευνας. Πως ένας τύπος κύτταρων για παράδειγμα ινοβλάστων "γνωρίζει" ότι είναι διαφορετικό από έναν νευρώνα ή από ένα μυϊκό κύτταρο, δεδομένου ότι όλα αυτά τα κύτταρα έχουν ουσιαστικά την ίδια πληροφορία για την σύνθεση πρωτεϊνών που περιέχονται στο γονιδίωμα τους. Ο αρχικός έλεγχος προέρχεται από τους παράγοντες μεταγραφής (πρωτεΐνες οι οποίες προσκολλούνται σε μια έκταση του DNA δίπλα από την οποία βρίσκεται κάποιο γονίδιο, η περιοχή αυτή ονομάζεται και περιοχή ελέγχου του γονιδίου). Οι παράγοντες μεταγραφής αναλαμβάνουν την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων ενώ άλλα γονίδια παραμένουν σιωπηλά. Αυτό όμως δεν εξηγεί την ικανότητα του κυττάρου να "θυμάται" να παράγει μόνο κύτταρα του ίδιου τύπου όταν διαιρείται. Αυτή η διατήρηση της κυτταρικής ταυτότητας και λειτουργίας πιθανότατα πραγματοποιείται με την χρήση των λεγόμενων επιγενετικών μηχανισμών. Οι οποίοι συμπληρώνουν την δραστηριότητα των μεταγραφικών παραγόντων.^{15,12,16}

Πιο πρόσφατα καθώς αυξήθηκαν οι γνώσεις επί των υποκείμενων μηχανισμών το πεδίο πήρε μια πιο βιοχημική κλήση. Συνεχής πρόοδος σημειώνεται στον εντοπισμό των επιγενετικών τροποποιήσεων, δηλαδή των μοριακών σημάνσεων πάνω σε ένα χρωμόσωμα που επηρεάζουν την γονιδιακή λειτουργία και ενώ η μεθυλίωση του DNA παραμένει η πιο εκτεταμένα μελετημένη, η σημασία της τροποποίησης των ιστονών καθώς και η συμβολή του RNA έχουν γίνει όλο και πιο ξεκάθαρα. Η μεθυλίωση του DNA θεωρείται ως επιγενετικός μηχανισμός καθώς η παρουσία ή η απουσία της, δεν επηρεάζει τα συγκεκριμένα ζεύγη αζωτούχων βάσεων του DNA, αλλά έχουν σοβαρές επιπτώσεις στην γονιδιακή έκφραση.

Το καλύτερο παράδειγμα για αυτό αποτελεί η διαδικασία της κυτταρικής διαφοροποίησης. Μετά την γονιμοποίηση τα κύτταρα διαιρούνται και τα αδιαφοροποίητα βλαστοκύτταρα γίνονται διαφοροποιημένα (ειδικευμένα) σε συγκεκριμένες περιοχές. Τα βλαστοκύτταρα είναι γενικά μη μεθυλωμένα, μέσω της μεθυλίωσης του DNA, μερικά γονίδια ενεργοποιούνται ενώ άλλα αναστέλλονται ή απενεργοποιούνται. Ελέγχοντας ποιά γονίδια θα εκφραστούν ή θα κατασταλούν το κύτταρο υιοθετεί εξειδικευμένο φαινότυπο δίνοντας έτσι έναυσμα στην δημιουργία όλων των τύπων κυττάρων του σώματος, συμπεριλαμβανομένων, νευρώνων, μυϊκών κυττάρων, επιθήλιου, ενδοθηλίου των αιμοφόρων αγγείων και ούτω καθεξής με διαφορετικό πατρών μεθυλίωσης για κάθε τύπο κυττάρου.

Αυτό σημαίνει ότι ορισμένα ειδικευμένα γονίδια τα οποία καθορίζουν τον φαινότυπο των διαφοροποιημένων κυττάρων είναι μόνιμα ενεργοποιημένα και άλλα γονίδια τα οποία μπορεί να είναι ενεργά σε κάποια άλλου είδους κυττάρων να είναι μόνιμα απενεργοποιημένα.^{15,16,17}

2.4. Μιτωτική Κληρονομικότητα Επιγενετικών Σημάνσεων.

Καθώς περνούσε ο καιρός , έγινε φανερό ότι υπήρχαν ορισμένα θεμελιώδη χαρακτηριστικά της ανάπτυξης που έπρεπε να εξηγηθούν. Ένα ήταν το γεγονός αυτό της διαφοροποίησης των κύτταρων, όπου κύτταρα όπως: ινοβλάστες ή λεμφοκύτταρα διατηρούσαν σταθερό τον φαινότυπο τους μέσω της κυτταρικής διαίρεσης.

Αυτό σημαίνει ότι ορισμένα εξειδικευμένα γονίδια τα οποία καθορίζουν τον φαινότυπο των διαφοροποιημένων κυττάρων είναι μόνιμα ενεργοποιημένα. Ενώ άλλα γονίδια τα οποία μπορεί να είναι ενεργά σε κάποια άλλου είδους κυττάρου να είναι μόνιμα απενεργοποιημένα και κατά συνέπεια ότι αυτός ο έλεγχος είναι κληρονομήσιμος.

Παραδοσιακά η κληρονομικότητα αναφέρεται στην μετάδοση γονιδίων από γενεά σε γενεά, αλλά πλέον έγινε αντιληπτό ότι υπάρχει επίσης μιτωτική κληρονομικότητα στα σωματικά κύτταρα των ανώτερων οργανισμών. Φυσικά τέτοιου είδους κληρονομικότητας είχε μελετηθεί από καιρού σε ζύμες μυκήτων και στην συνέχεια σε καλλιιεργημένα κύτταρα θηλαστικών, σπανίως όμως είχε διευκρινιστεί ότι συνέβαινε εξίσου τακτικά και σε *in vivo* καταστάσεις στα κατά συνήθη σωματικά κύτταρα των ανώτερων οργανισμών με ειδικευμένο φαινότυπο.

Όταν το κύτταρο διαιρείται έχει την ανάγκη να αντιγράψει το γενετικό του υλικό. Ο επιγενετικός έλεγχος έχει κεντρικό ρολό σε αυτή τη διαδικασία. Ολόκληρος ο σκοπός του μιτωτικού κυτταρικού κύκλου είναι η παραγωγή νέων κυττάρων τα οποία ως επί το πλείστον περιέχουν το ίδιο DNA με το αρχικό μητρικό κύτταρο. Ωστόσο τα προγονικά κύτταρα και οι απόγονοι τους δεν υπόκεινται πάντα στον ίδιο έλεγχο γονιδιακής έκφρασης επειδή η κυτταρική διαίρεση συνοδεύεται μερικές φορές από διαφοροποίηση, ιδιαίτερα σε αρκετούς τύπους ενήλικων ή σε ειδικευμένα βλαστοκύτταρα των ιστών. Παρόλα αυτά ένα βασικό χαρακτηριστικό της κυτταρικής αντιγραφής (των τελικά διαφοροποιημένων κυτταρικών τύπων) είναι ότι ο φαινότυπος των θυγατρικών κυττάρων είναι σε γενικές γραμμές ταυτόσημος (ή τουλάχιστον πολύ παρόμοιος) με εκείνο του μητρικού κυττάρου. Αυτό συνεπάγεται την ύπαρξη μηχανισμών οι οποίοι διατηρούν την κληρονομικότητα των επιγενετικών πληροφοριών από την μία γενιά κυττάρων στην επόμενη.^{14,17,8,13}

Μόλις καθιερωθεί ο κυτταρικός φαινότυπος, το γονιδίωμα των σωματικών κυττάρων

παραμένει "κλειδωμένο" σε ένα λεγόμενο "ιστικά ειδικό" πρότυπο γονιδιακής έκφρασης το οποίο επαναλαμβάνεται από γενιά σε γενιά. Αυτή η κληρονομικότητα των επιγενετικών πληροφοριών στα σωματικά κύτταρα ονομάζεται "επιγενετικό κληρονομικό σύστημα".

Όταν το DNA πρέπει να αντιγραφεί για την κυτταρική διαίρεση, οι άμεσες τροποποιήσεις του DNA περνάνε μόνο στις δύο μητρικές έλικες και όλα τα νουκλεοσώματα αποσυναρμολογούνται. Ωστόσο το κύτταρο έχει έξυπνες μεθόδους για την ανασύσταση των ίδιων των σημάνσεων στα δύο θυγατρικά γονιδιώματα. Οι σημάνσεις αυτές ονομάζονται "επιγενετικές σημάνσεις" και όλο αυτό το σύστημα "επί -γονιδίωμα" επειδή κληρονομούνται δια μέσω της κυτταρικής διαίρεσης παρόλο που δεν είναι αποτυπωμένα στο DNA.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι τα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA αντιγράφονται όταν το DNA αντιγράφεται. Συνεπώς μεταφέρονται από το ένα μητρικό κύτταρο στα θυγατρικά καθώς διαιρείται. Αυτή η διαδικασία κληρονομικότητας από κύτταρο σε κύτταρο βοηθάει στην εξήγηση, γιατί η επιγενετική αποσιώπηση κάποιων γονιδίων είναι τόσο σταθερή με την πάροδο του χρόνου.^{15,18}

2.5. Ομοζυγωτικά Δίδυμα.

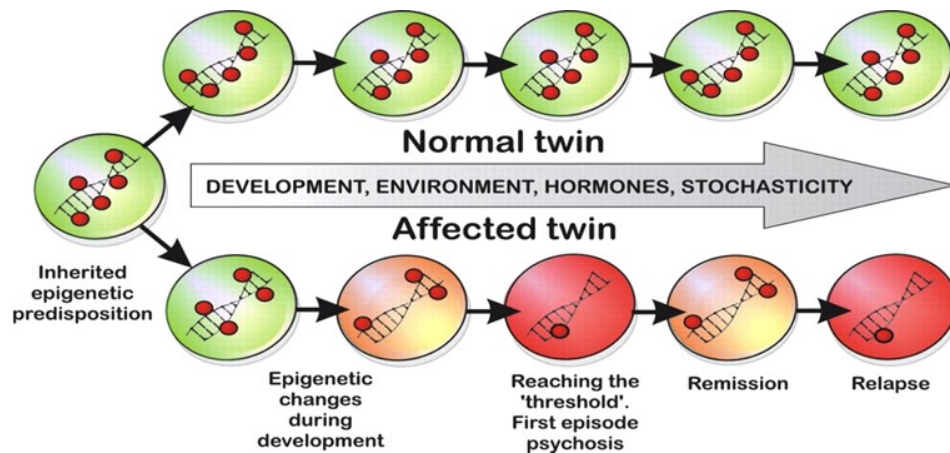
Όπως αναφέρθηκε, ακόμα και μετά την καθιέρωση του επιγενετικού προφίλ μπορεί να δημιουργηθεί μια επιγενετική παραλλαγή σε σημαντικό βαθμό κατά την διάρκεια των μιτωτικών διαιρέσεων των κυττάρων σε απουσία οποιουδήποτε συγκεκριμένου περιβαλλοντικού παράγοντα. Αυτή η μερική επιγενετική σταθερότητα και ο ρόλος της επιγενετικής ρύθμισης στην ενορχήστρωση των διαφόρων γονιδιωματικών δραστηριοτήτων κάνουν την επιγενετική ένα μοριακό μηχανισμό ο οποίος αποτελεί υποψήφιος παράγοντας για φαινοτυπική διακύμανση σε γενετικά πανομοιότυπους οργανισμούς.

Για τους βιολόγους και τους ψυχολόγους τα δίδυμα αποτελούν σημαντική πηγή διερεύνησης της αιτιολογίας διαφόρων νόσων. Καθώς και της κατανόησης του ρόλου των γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων στον καθορισμό του φαινοτύπου (Galton 19th century). Η σχετική συμβολή της φύσης εναντίον της ανατροφής μπορεί να εκτιμηθεί με σύγκριση του βαθμού των φαινοτυπικών ομοιοτήτων στα μονοζυγωτικά (MZ) έναντι των διζυγωτικών (ΔΖ) διδύμων.

Τα MZ δίδυμα προκύπτουν από το ίδιο ζυγωτό, ενώ τα ΔΖ δίδυμα από ένα ζεύγος χωρισμένων αυγών, που έχουν γονιμοποιηθεί από δύο διαφορετικά σπερματοζωάρια. Ως

αποτέλεσμα τα MZ δίδυμα έχουν την ίδια χρωμοσωμική αλληλουχία DNA, εκτός από πολύ μικρά σφάλματα αντιγραφής του DNA μέσα στο στάδιο των τεσσάρων - οκτώ κυττάρων του ζυγωτή. Τα MZ δίδυμα μοιράζονται όλο το πυρηνικό τους DNA ενώ τα ΔΖ δίδυμα μόνο το 50% των παραλλαγών στην αλληλουχία του DNA κατά μέσο όρο.^{8,13}

Από επιγενετικής πλευράς, οι φαινοτυπικές διαφορές στα MZ δίδυμα θα μπορούσαν να δημιουργηθούν εν μέρη από τις επιγενετικές διαφορές τους. Λόγω της μερικής σταθερότητας της επιγενετικής ρύθμισης, μπορεί να συσσωρευτεί ένας σημαντικός βαθμός επιγενετικής ανομοιότητας από τις εκατομμύρια μιτωτικές κυτταρικές διαιρέσεις σε γενετικά πανομοιότυπους οργανισμούς. Ωστόσο ενώ τα MZ δίδυμα φαίνονται πανομοιότυπα αυτό δεν ισχύει και για τις ασθένειες όπως για παράδειγμα σχιζοφρένεια. Στην περίπτωση της σχιζοφρένειας υπάρχουν ζευγάρια MZ δίδυμων τα οποία δεν μοιράζονται την νόσο. Παρά την ισογονιδιακή τους φύση και την έκθεση σε ένα προφανές παρόμοιο σύνολο περιβαλλοντικών παραγόντων κατά την ανάπτυξη.



Εικόνα 4^η Το Επιγενετικό μοντέλο των MZ δίδυμων, παρουσιάζει ασυμφωνία στην πολύπλοκη ασθένεια, π.χ. σχιζοφρένεια. Οι κόκκινοι κύκλοι αντιπροσωπεύουν μεθυλιωμένες κυτοσίνες. Από άποψη επιγενετικής, οι φαινοτυπικές διαφορές της νόσου σε MZ δίδυμα προκύπτουν από τις επιγενετικές διαφορές τους. Λόγω της μερικής σταθερότητα των επιγενετικών σημάτων, ένας σημαντικός βαθμός επιγενετικής ανομοιότητας μπορεί να συσσωρευτεί πάνω από τις εκατομμύρια μιτωτικές διαιρέσεις των κυττάρων των MZ -δίδυμων. Αν και το σχήμα δείχνει ότι η ασθένεια προκαλείται από γονιδιακή υπομεθυλίωση, σενάρια όπου παθολογική κατάσταση σχετίζεται με υπερμεθυλίωση γονιδίου είναι εξίσου δυνατή.

Αυτά και άλλα παραδείγματα καταδεικνύουν μια σημαντική συμβολή στην φαινοτυπική παραλλαγή από φαινομενικώς τυχαίων ή στοχαστικών γεγονότων. Ένα παράδειγμα στοχαστικού επιγενετικού συμβάντος αποτελεί η αποτυχία της DNA μεθυλοτρανσφεράσης να προσδιορίσει μια μετα-αντιγραφόμενη αλληλουχία DNA η οποία είναι

ημιμεθυλιωμένη, το οποίο θα οδηγούσε σε απώλεια της σήμανσης της μεθυλίωσης στην επόμενη αντιγραφή του DNA. ^{4,12,17}

2.6. Ορίζοντας την Επιγενετική

Η επιγενετική έχει ορισθεί ως η μελέτη των μιτωτικών και μειωτικών αλλαγών στη γονιδιακή λειτουργία η οποία δεν μπορεί να εξηγηθεί από τις αλλαγές στην αλληλουχία του DNA. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πρέπει να λαμβάνεται προσοχή όταν οι μειωτικές κληρονομήσιμες αλλαγές στον φαινότυπο περιγράφονται ως επιγενετικές διότι είναι σχεδόν αδύνατο να αποκλεισθούν πιθανές μεταλλάξεις είτε στο ίδιο το γονίδιο είτε αλλού στο γονιδίωμα που θα μπορούσε να συμβάλει άμεσα ή έμμεσα στον φαινότυπο.

Το σύνολο των χημικών σημάνσεων που τροποποιούν το DNA και των συναφών δομών του αποτελούν το επιγονιδίωμα. Και περιλαμβάνει την τροποποίηση της γενετικής έκφρασης ενός γονιδίου, η οποία αποτελεί ανεξάρτητη της αλληλουχίας του DNA. Το γονιδίωμα ορίζεται ως το πλήρες σύνολο των γενετικών πληροφοριών που περιέχονται μέσα στο DNA, οι οποίες διαμένουν μέσα στα κύτταρα κάθε οργανισμού. Αντιθέτως το επιγονιδίωμα περιλαμβάνει τις πολύπλοκες τροποποιήσεις που σχετίζονται με το γονιδιωματικό DNA και προσδίδει μια μοναδική κυτταρική και αναπτυξιακή ταυτότητα. Αυτό το δεύτερο στρώμα πληροφοριών που ονομάζεται επιγονιδίωμα ελέγχει την πρόσβαση στα γονίδια, επιτρέποντας κάθε τύπο κυττάρων να ενεργοποιεί τα δικά του ειδικά γονίδια αλλά και να μπλοκάρει τα υπόλοιπα. Ένα άτομο έχει ένα γονιδίωμα αλλά πολλά επιγονιδιώματα και το επιγονιδίωμα δεν εμπλέκεται μόνο στον καθορισμό των προσιτών γονιδίων σε κάθε κυτταρικό τύπο αλλά ελέγχει επίσης και πότε τα προσιτά γονίδια θα ενεργοποιηθούν.

Αυτό εισάγει την έννοια του επιγονότυπου. Ο επιγονότυπος έχει προταθεί ως το ακριβές μοτίβο της γονιδιακής δραστηριότητας ενός εξειδικευμένου κυτταρικού τύπου. Αυτά τα κύτταρα κατέχουν ένα "οικοκυριό" από πρωτεΐνες και ένζυμα που είναι απαραίτητα για την κανονική λειτουργία και τον μεταβολισμό τους. Επίσης κατέχουν και ειδικές πρωτεΐνες που διεξάγουν εξειδικευμένες λειτουργίες. Ο επιγονότυπος περιλαμβάνει τόσο όλα εκείνα τα απαραίτητα γονίδια που κωδικοποιούν μια πολυτελή λειτουργία των κυττάρων όσο και εκείνα τα γονίδια που παραμένουν σιωπηλά ή καταστέλλονται σε ένα συγκεκριμένο τύπο κυττάρου. ^{15,18,19}

Έτσι οι ινοβλάστες και τα λεμφοκύτταρα έχουν τον ίδιο γονότυπο που κληρονομήθηκε από το γονιμοποιημένο ωάριο αλλά έχουν πολύ διαφορετικούς επιγονότυπους.

2.7. Επιγενετική και Ανάπτυξη

Τα τελευταία χρόνια έχει γίνει ολοένα και πιο εμφανής, ότι η ανάπτυξη βρίσκεται υπό επιγενετικό έλεγχο. Μαζί με το γονιδίωμα, το επιγονιδίωμα καθοδηγεί το μοναδικό πρόγραμμα της γονιδιακής έκφρασης του κάθε κυτταρικού τύπου που καθορίζει την λειτουργία και την ταυτότητα ενός οργανισμού κατά την διάρκεια της ανάπτυξης ή της ασθένειας του.

Η επιγενετική αποτελεί μέρος και στην πραγματικότητα είναι απαραίτητη για την φυσιολογική ανάπτυξη, ειδικά κατά την διάρκεια της πρόωρης αναπτυξιακής περιόδου. Επίσης κατέχει κρίσιμο ρόλο στην διατήρηση της γονιδιακής σταθερότητας. Έτσι και αλλιώς ο όρος αρχικά χρησιμοποιήθηκε ως μέρος της περιγραφής μιας φυσιολογικής εμβρυικής ανάπτυξης. Όμως εκτός από το ρόλο της στην εμβρυική ανάπτυξη, η επιγενετική εμπλέκεται επίσης σε πολλές άλλες πτυχές της φυσιολογικής και μη φυσιολογικής ανάπτυξης σε όλη την διάρκεια ζωής κάθε οργανισμού. Η έννοια είχε επεκταθεί για να συμπεριλάβει τις επιγενετικές αλλαγές που σχετίζονται με τους προγεννητικά και μεταγεννητικά περιβαλλοντικούς και βιολογικούς παράγοντες. Οι αλλαγές αυτές που σχετίζονται με προγεννητικούς παράγοντες συμπεριλαμβάνουν: φτωχή μητρική διατροφή και κατάθλιψη, άγχος, μετατραυματικό στρες καπνίσματος, προωρότητα και νευροαναπτυξιακές διαταραχές. Μετά τον τοκετό οι επιγενετικές αλλαγές σχετίζονται με παράγοντες που περιλαμβάνουν περιβαλλοντικές αντιξοότητες: παιδική κακοποίηση, άγχος, ανατροφή των παιδιών και διαταραχές συμπεριφορά. ^{14,12,17,19}

Η υγεία της μητέρας μπορεί να προβλέψει την ανάπτυξη της παιδικής ηλικίας δηλαδή την έκβαση της υγείας καθώς και να αποτελέσει επίπτωση για κάποια ασθένεια. Επίσης πατρικοί παράγοντες μπορεί να προκαλέσουν επιγενετικές μεταβολές οι οποίοι κατατάσσονται στους περιβαλλοντικούς παράγοντες και είναι εξίσου σημαντικοί με τους μητρικούς ομόλογους τους, στην επιρροή των επιγενετικών αποτελεσμάτων στους απογόνους. Ορισμένες ανθρώπινες ασθένειες μπορούν να προκύψουν λόγω κληρονομής ενός συγκεκριμένου πατρικού μοτίβου γονιδιακής δραστηριότητας, που αποτελεί σε μεγάλο βαθμό ανεξάρτητη από την αλληλουχία του DNA.

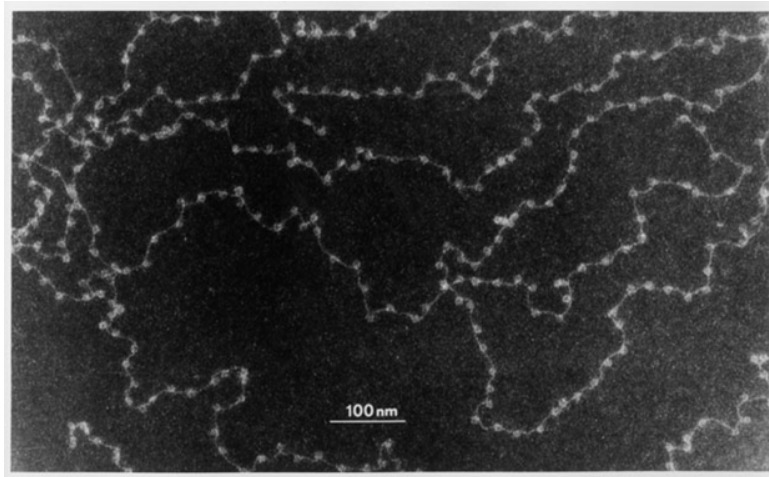
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ DNA

3.1. Δομή Νουκλεοσώματος

Στους περισσότερους πυρήνες των ευκαρυωτικών κυττάρων το μακρομόριο DNA εκτείνεται περίπου στα δυο μέτρα εάν απλωθεί, έτσι πρέπει να επιτευχθεί η κατάλληλη

οργάνωση του ώστε να χωρέσει σε ένα πυρήνα μεγέθους μικρομέτρων. Η κύρια στρατηγική που χρησιμοποιούν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί για να χωρέσει το DNA μέσα στο κύτταρο αποτελεί το τύλιγμα του DNA σε σφιχτές σφαίρες που ονομάζονται νουκλεοσώματα(μοιάζει σαν κομπολόι). Στην συνέχεια ακολουθεί ο σχηματισμός ακόμα πιο στενών πακεταρισμένων δομών μέσω της αναδίπλωσης των ίδιων των νουκλεοσωμάτων.^{18,19,20}



Εικόνα 5^η

Δομές που αποτελούνται από DNA τυλιγμένο γύρω από οκταμερές ιστονών που ονομάζεται νουκλεόσωμα και αποτελεί την θεμελιώδη μονάδα της χρωματίνης

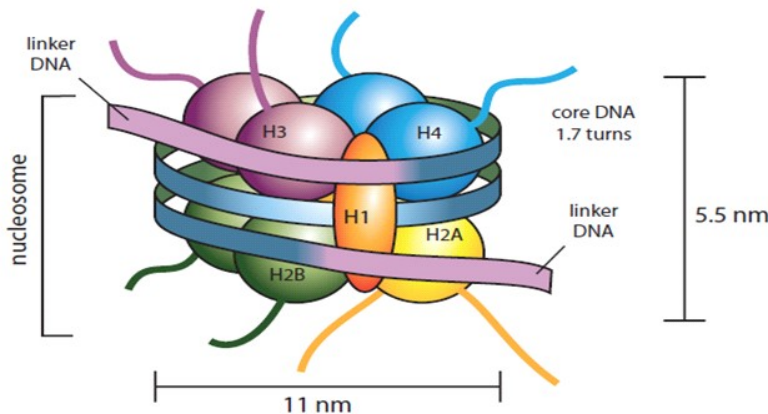
Έτσι μετά το κατάλληλο πακετάρισμα το DNA ελαττώνεται σε μέγεθος 10.000 φορές με την συμβολή των νουκλεοσωμάτων τα οποία αποτελούνται από DNA και ιστόνες η αλλιώς όπως ονομάζονται χρωμοσωμικές πρωτεΐνες.

Οι ιστόνες αποτελούν τα βασικά πρωτεϊνικά συστατικά των συμπλόκων χρωματίνης και παρέχουν την δομική ραχοκοκαλιά γύρω από την οποία το DNA αναδιπλώνεται σε τακτά διαστήματα προς την δημιουργία της χρωματίνης. Είναι απλές πρωτεΐνες και έχουν την δυνατότητα να προσδένονται σταθερά με την αρνητικά φορτισμένη έλικα του DNA διότι έχουν μεγάλη αναλογία θετικών φορτισμένων αμινοξέων(λυσίνη, αργινίνη). Επίσης είναι κυρίως συντηρημένα μόρια από εξελικτική άποψη, δηλαδή δεν έχουν μεγάλες διαφορές μεταξύ των διαφόρων οργανισμών.

Κάθε βασικό νουκλεόσωμα περιέχει περισσότερο από 146 ζ.β του DNA τυλιγμένα σε δυο υπερελικοειδής στροφές γύρω από ένα οκταμερές που περιέχει 2 μόρια το καθένα από τις τέσσερις βασικές ιστόνες (H2A, H2B, H3, H4). Το DNA περιορίζεται στην επιφάνεια μιας

θετικά φορτισμένης ράμπας η οποία είναι φτιαγμένη από τα C-τελικά άκρα των ιστονικών πτυχών που ορίζουν το πεδίο. Οι ιστόνες έχουν μακριές μοριακές ουρές που προεξέχουν και έχουν πολλές πιθανές τοποθεσίες για χημική μετατροπή. Δηλαδή τα αμινοξέα της N-τελικής ουράς μπορούν να υποβληθούν σε πολλές μεταφραστικές μετατροπές. Το τύλιγμα της διπλής έλικας σταθεροποιείται από τις N-τελικές ουρές των βασικών ιστονών που βρίσκονται έξω από το νουκλεοσωμικό DNA.^{14,6,19}

Μικρά τμήματα του DNA ονομάζονται συνδετικά τμήματα και εξυπηρετούν στην ένωση των νουκλεοσωμάτων μεταξύ τους, επίσης συσχετίζονται και με την συνδετική ιστόνη H1. Οι συνδετικοί ιστόνες αλληλεπιδρούν τόσο με τις βασικές ιστόνες όσο και με το συνδετικό DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων για να σταθεροποιηθεί το δίπλωμα της νουκλεοσωμικής παράταξης προς την δημιουργία των ινιδίων χρωματίνης.



Εικόνα 6η

Το σωματίδιο ενός νουκλεοσωμικού πυρήνα. Η δομή του οκταμερούς των ιστονών με τις αλληλουχίες των N-τελικών ουρών που φαίνονται να προεξέχουν.

Όπως το DNA έτσι και οι ιστόνες μπορεί να φέρουν ομάδες μεθυλίωσης οι οποίες προστίθενται σε αυτές. Επίσης μπορεί να φέρουν και άλλες χημικές ομάδες όπως : φωσφορικές ομάδες, ακετυλομάδες ακόμα και μικρές πρωτεΐνες όπως ουβικιτίνη. Ενώ η μεθυλίωση του DNA απενεργοποιεί τα γονίδια, η μεθυλίωση των ιστονών ενισχύει την γονιδιακή δραστηριότητα ή την απενεργοποίηση της ανάλογα σε πιο σημείο της ουράς προστίθεται η μεθυλομάδα. Από την άλλη πλευρά η ακετυλίωση των ιστονών σχεδόν πάντα ενεργοποιεί τα γονίδια.

Ορισμένες επιγενετικές μεταβολές προκαλούν το DNA να τυλιχτεί πιο σφιχτά συνεπώς να

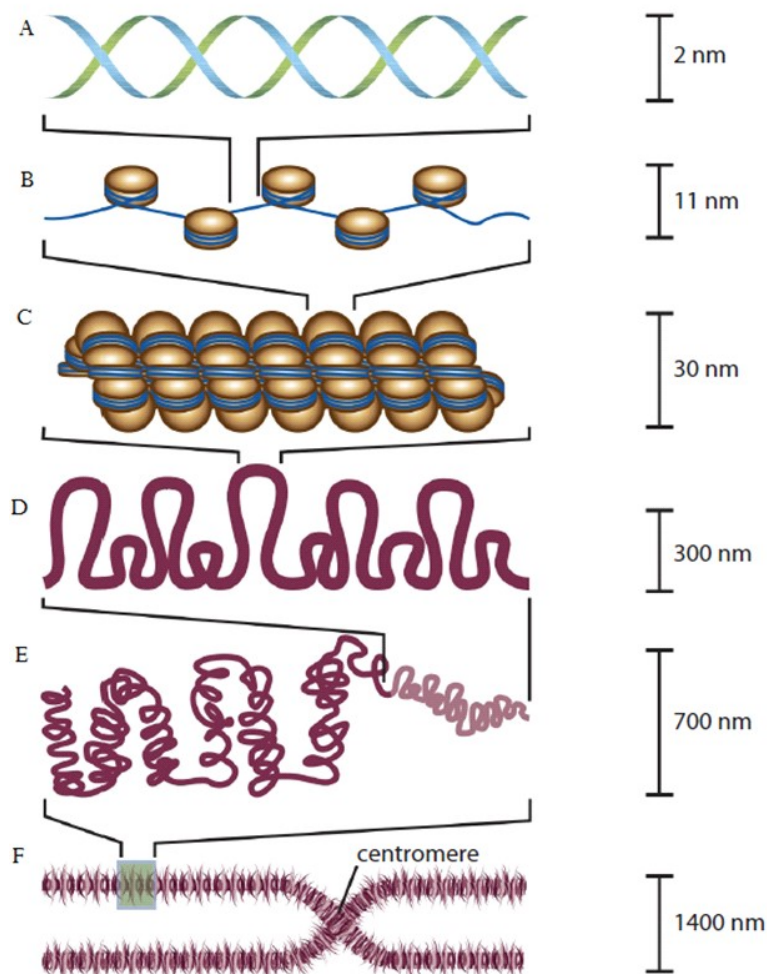
γίνεται πιο απρόσιτο, σταματώντας έτσι την προσκόλληση των ενζύμων, απενεργοποιώντας δηλαδή τα γονίδια. Αλλαγές οι οποίες ενεργοποιούν τα γονίδια προκαλούν το φυσικό άνοιγμα του DNA έτσι ώστε να είναι προσιτό στα κατασκευαστικά ένζυμα.

3.2 Δομή Χρωματίνης

Το δομικό στοιχείο της χρωματίνης είναι το νουκλεόσωμα. Και έχει την ίδια θεμελιώδη δομή σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα. Το νουκλεόσωμα παρέχει το πρώτο επίπεδο της οργάνωσης του DNA. Πακετάρει 67 nm του DNA σε ένα σώμα διαμέτρου 11 nm. Τα συστατικά του και η δομή του είναι χαρακτηριστικά. Μια γραμμική σειρά από νουκλεοσώματα σχηματίζουν μια δομή που αναφέρεται ως ίνα των 10 nm. Το δεύτερο επίπεδο οργάνωσης είναι η συσπείρωση της σειράς των νουκλεοσωμάτων σε μια ελικοειδή συστοιχία δημιουργώντας έτσι μια ίνα διαμέτρου περίπου 30 nm, που βρίσκεται στην χρωματίνη της μεσόφασης, καθώς και σε μιτωτικά χρωμοσώματα. Η μάζα της χρωματίνης περιέχει έως και την διπλασία ποσότητα πρωτεΐνης σε σχέση με το DNA.^{19,20,21}

Κατά πάσα πιθανότητα, η δομή των ινιδίων χρωματίνης διαφέρει ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου στο οποίο συμβαίνει η συμπύκνωση. Μόνο νουκλεόσωμα μήκους επαναλαμβανόμενων 197 ζ.β. μπορεί να αποτελέσει εν τέλη τη δομή της χρωματίνης των 30 nm, και τότε ακόμη μόνο με τη συνεργασία μιας συνδετικής ιστόνης. Αν και η δομή του πρώτου επιπέδου της αναδίπλωσης των νουκλεοσωμικών πυρήνων του DNA, είναι γνωστή σε ατομική ανάλυση, η δομή του δεύτερου επιπέδου αναδίπλωσης, σύμφωνα με την οποία μια σειρά από νουκλεοσώματα διπλώνονται σε μια ίνα διαμέτρου περίπου 30 nm, παραμένει απροσδιόριστη. Το τι συμβαίνει με τις ίνες χρωματίνης στο επόμενο στάδιο της συμπύκνωσης είναι ακόμα λιγότερο σαφές. Είναι ξεκάθαρο μόνο το γεγονός ότι απαιτείται θεμελιωδώς ένας μηχανισμός για τη συμπύκνωση της χρωματίνης περαιτέρω, επειδή ακόμη και στην κατάσταση των ινιδίων των 30 nm δεν είναι επαρκής για να συσκευάσουν όλο το μακρομόριο DNA στον πυρήνα ενός κυττάρου. Η τελική αναλογία

της οργάνωσης του DNA είναι και το τρίτο επίπεδο της οργάνωσης, το οποίο αποτελεί την περαιτέρω συμπίκνωση της ίδιας της ίνας των 30 nm. Η χαρακτηριστικά συνενωτική δομή του κάθε χρωμοσώματος είναι αποτέλεσμα της αναδίπλωσης μιας δεοξυριβονουκλεοπρωτεϊνικής ίνας. Η ίνα αυτή είναι οργανωμένη σε μία σειρά από θηλείες σε ένα πρωτεϊνούχο καλούπι.



Εικόνα 7^η

A. Μικρό τμήμα διπλής έλικας DNA. **B.** Δομή "κομπολογιού" χρωματίνης. **C.** Ινίδιο χρωματίνης των 30nm των πακεταρισμένων νουκλεοσωμάτων. **D.** Τμήμα χρωμοσώματος σε εκτεταμένη μορφή. **E.** Συμπυκνωμένο τμήμα χρωμοσώματος. **F.** Ολόκληρο μιτωτικό χρωμόσωμα.

Η συμπύκνωση της χρωματίνης είναι ευέλικτη και αλλάζει κατά τη διάρκεια του ευκαρυωτικού κυτταρικού κύκλου. Η χρωματίνη της μεσόφασης γίνεται ακόμα πιο σφιχτά πακεταρισμένη κατά τη στιγμή της διαίρεσης (μίτωσης ή μείωσης), όταν τα μεμονωμένα χρωμοσώματα γίνονται ορατά ως διακριτές οντότητες.

Η χρωματίνη εμφανίζει διάφορους βαθμούς συμπύκνωσης. Ορισμένες περιοχές εμφανίζουν πιο συμπαγή δομή και άλλες περιοχές είναι μερικώς ή λιγότερο πυκνές. Στις περιοχές χαμηλού βαθμού συμπύκνωσης της χρωματίνης, το DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων συνδέεται με μόρια ιστόνης. Τα περισσότερα γονίδια ενσωματώνονται στην χρωματίνη, αλλά η ευκολία με την οποία ο μεταγραφικός μηχανισμός του κυττάρου μπορεί να έχει πρόσβαση στις πληροφορίες που περιέχονται μέσα στο DNA καθορίζει και τον τύπο της παρούσης χρωματίνης. Η ισχυρά συμπυκνωμένη μορφή της χρωματίνης ονομάζεται ετεροχρωματίνη και η λιγότερο ισχυρά συμπυκνωμένη μορφή ονομάζεται εύχρωματίνη. Αυτοί οι τύποι είναι ορατοί με ειδικές χρώσεις DNA.

I. Ευχρωματίνη

Στις περισσότερες περιοχές, οι ίνες είναι πολύ λιγότερο συμπυκνωμένες από ότι στο μιτωτικό χρωμόσωμα. Αυτό το υλικό ονομάζεται ευχρωματίνη. Έχει μια σχετικά διεσπαρμένη εμφάνιση στον πυρήνα και καταλαμβάνει το μεγαλύτερο μέρος της πυρηνικής περιοχής. Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται για να καθορίσει τις ενεργά μεταγραφόμενες περιοχές του γονιδιώματος που χαρακτηρίζονται από εκτοπισμένα νουκλεοσώματα.

II. Ετεροχρωματίνη

Ορισμένες περιοχές της χρωματίνης είναι πολύ πυκνά συμπυκνωμένες με ίνες, εμφανίζοντας μια κατάσταση συγκρίσιμη με εκείνη του χρωμοσώματος κατά την μίτωση. Σε συγκεκριμένες περιπτώσεις μπορεί να είναι και ολόκληρο χρωμόσωμα, οι περιοχές αυτές παραμένουν συμπυκνωμένες κατά την διάρκεια όλου του κυτταρικού κύκλου. Αυτό το υλικό ονομάζεται ετεροχρωματίνη. Ο όρος αυτός της ετεροχρωματίνης αναφέρεται σε ανενεργές περιοχές του γονιδιώματος όπου τα νουκλεοσώματα είναι περισσότερο πακεταρισμένα, εμποδίζοντας την πρόσβαση των μεταγραφικών μηχανισμών στην χρωματίνη. Τη συναντάμε συνήθως στα κεντρομερίδια των χρωμοσωμάτων αλλά παρουσιάζεται και σε άλλες θέσεις, όπως στα τελομερή και σε άκρως επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες. Περνά διαμέσου του κυτταρικού κύκλου με σχετικά μικρή αλλαγή στο βαθμό της συμπύκνωσης.

Οι θέσεις και οι πυκνότητες των ετεροχρωματινικών περιοχών δεν είναι σταθερές. Κάποιες φαίνεται να είναι ετεροχρωματινικές σε όλους τους τύπους κυττάρων και σε όλα τα στάδια της διαφοροποίησης, οι περιοχές αυτές θεωρούνται ότι έχουν συστατική (constitutive)

ετεροχρωματίνη και αποτελούν την ετεροχρωματίνη που περιβάλλει συνήθως τα κεντρομερίδια, τα τελομερή και επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες όπως το δορυφορικό DNA. Οι άλλες χρωμοσωμικές περιοχές που μπορεί να είναι ετεροχρωματινικές σε μερικά κύτταρα και ευχρωματινικές σε άλλα περιέχουν προαιρετική(facultative) ετεροχρωματίνη.
20,21,22

Οι ίδιες ίνες αλλάζουν συνεχώς μεταξύ ευχρωματίνης και ετεροχρωματίνης, επειδή αυτές οι καταστάσεις αντιπροσωπεύουν διαφορετικούς βαθμούς συμπύκνωσης του γενετικού υλικού. Με τον ίδιο τρόπο, εξηγείται το γεγονός ότι υπάρχουν ευχρωματινικές περιοχές σε διαφορετικές καταστάσεις συμπύκνωσης κατά τη μεσόφαση και κατά τη διάρκεια της μίτωσης. Ως εκ τούτου, το γενετικό υλικό είναι οργανωμένο με τέτοιο τρόπο που να επιτρέπει εναλλακτικές καταστάσεις χρωματίνης να διατηρούνται δίπλα-δίπλα. Επιπλέον να επιτρέπει να συμβαίνουν κυκλικές μεταβολές στη συμπύκνωση της ευχρωματίνης μεταξύ της μεσόφασης και διαίρεσης.

Χρωματίνη, επιγενετικό τοπίο και γήρανση

Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι η χρωματίνη και η γήρανση δημιούργησαν μεγάλο ενδιαφέρον μεταξύ των ερευνητών, γεγονός που αντικατοπτρίζεται σε τεράστιο αριθμό εγγράφων και ανασκοπήσεων στον τομέα. Αρκετά άρθρα ανασκόπησης από άλλους και από εμάς αντανakλούν την κατάσταση του τομέα. Με αυτό τον τρόπο, περιορίσαμε να επαναλάβουμε κάποιες από τις λεπτομέρειες που έχουν ήδη περιγραφεί σε αυτές τις αναθεωρήσεις και ενθαρρύνουμε τους αναγνώστες να τις συμβουλευτούν. Ωστόσο, προσπαθήσαμε να δώσουμε μια προοπτική βασισμένη σε μερικές από τις πρόσφατες μελέτες και να συνδέσουμε αυτές τις αλλαγές χρωματίνης με τα λειτουργικά ή φυσιολογικά χαρακτηριστικά της χρωματίνης.²³

Συμπύκνωση χρωματίνης

Η κατάσταση της συμπύκνωσης χρωματίνης είναι μία από τις καλύτερες συσχετίσεις της αρχιτεκτονικής αλλαγής που σχετίζεται με τη γήρανση. Για παράδειγμα, οι συνολικές μεταβολές στην συμπύκνωση χρωματίνης έχουν μελετηθεί σε διάφορους ιστούς, συγκεκριμένα στο ήπαρ και τον εγκέφαλο σε ποντικούς και σε πρωτογενή κύτταρα σε καλλιέργεια. Οι δοκιμασίες κλασικής πέψης με νουκλεάσες αποκάλυψαν ότι φαίνεται να υπάρχει μια γενική τάση προς πιο συμπαγή χρωματίνη σε ηλικιωμένους ιστούς.^{23,24}

Τα in vitro μοντέλα γήρανσης που χρησιμοποιούν ειδικά ινοβλάστες του ανθρώπου έδειξαν επίσης ότι υπάρχει μια εξαρτώμενη από την ηλικία μείωση της ευαισθησίας σε νουκλεάσες. Εντούτοις, με ενδιαφέρον, η μείωση της προσβασιμότητας έχει παρατηρηθεί τόσο για το νουκλεοσωμικό όσο και για το νουκλεοσωμικό DNA, ανάλογα με τον ιστό ή τα κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν.²⁵

Παρόλο που ορισμένες από αυτές τις αλλαγές βρέθηκαν να είναι περισσότερο ή λιγότερο

έντονες σε συγκεκριμένους ιστούς ή κυτταρικούς τύπους, αυτές οι πρώτες μελέτες έδειξαν ότι η γήρανση ήταν πράγματι συνδυασμένη με ετεροχρωματοποίηση. Αυτά υπονοούσαν επίσης ότι οι αλλαγές που εξαρτώνται από την ηλικία θα μπορούσαν να προκληθούν από μεταβολές στη νουκλεοσωμική κατοχή και τις συνεισφορές που πραγματοποιούνται από πρωτεΐνες μη-ιστόνης.²⁵

Επίσης, το γεγονός ότι η χρωματίνη μπορεί να υποστεί συμπίεση κατά τη διάρκεια της γήρανσης, οι τοπικές αλλαγές των τόπων ή των περιοχών άρχισαν μόλις πρόσφατα να ξετυλίγονται. Επιπλέον, η ερμηνεία της χρωματίνης για να είναι πιο συμπαγής με βάση τη μειωμένη προσβασιμότητα σε νουκλεάσες είναι μάλλον πολύ απλή. Είναι πιθανό ότι μερικές από αυτές τις συνδεδεμένες με νουκλεοτίδια περιοχές εξακολουθούν να εμφανίζουν υψηλή δυναμική και είναι επιδεκτικές μετάβασης σε ανοικτή διαμόρφωση χρωματίνης υπό διαφορετικές φυσιολογικές συνθήκες, ακόμη και σε ηλικιωμένα κύτταρα ή ιστούς.^{24,25}

Σύνθεση Χρωματίνης

Είναι προφανές ότι οποιαδήποτε δομική αλλαγή στη χρωματίνη θα συσχετιστεί με τροποποιήσεις ιστόνης και HNA . Η αναγνώριση της μεθυλίωσης του DNA και των τροποποιήσεων της ιστόνης, οι οποίες ορίζουν ότι η χρωματίνη είναι ανοικτή ή κλειστή (ετερο- ή ευχρωματίνη), επέτρεψε στο πεδίο να διερευνήσει εάν μερικές από αυτές συσχετίστηκαν με σφαιρικές και / ή τοπικές αλλοιώσεις κατά τη διάρκεια της γήρανσης.

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι δεδομένης της πρόσφατης προόδου στον τομέα σε σχέση με τις νέες τροποποιήσεις και παράλληλα με τη διαφορική αποτύπωση των παραλλαγών της ιστόνης, η σημερινή μας κατανόηση είναι πιθανό να επεκταθεί πάρα πολύ στο μέλλον. Περαιτέρω, δεδομένου ότι ορισμένες από αυτές τις τροποποιήσεις επηρεάζονται άμεσα από μεταβολές του μεταβολισμού, θα είναι ενδιαφέρον να διερευνηθεί εάν οι διαιτητικές εισόδους μπορούν να κωδικοποιήσουν τις καταστάσεις χρωματίνης.^{25,26} Αυτό συμβαίνει επειδή οι διατροφικές διακυμάνσεις έχουν εδραιωθεί για να αλλάξουν την φυσική κατάσταση και επίσης να συμβάλουν στη μακροβιότητα των οργανισμών.²⁷

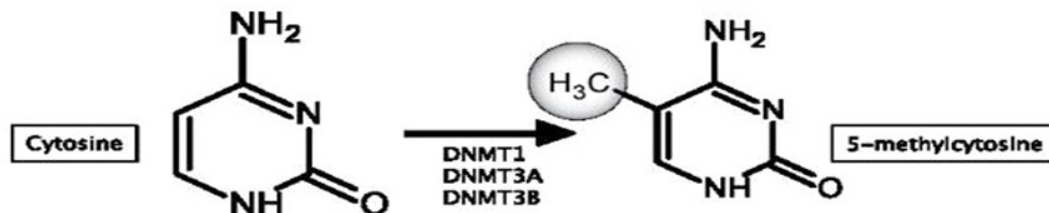
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

4. ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ DNA

4.1 Μοτίβο Μεθυλίωσης CpG

Το περισσότερο DNA στα ευκαρυωτικά κύτταρα αποτελείται από τέσσερις βάσεις την αδενίνη (A), κυτοσίνη (C), γουανίνη (G), και τη θυμίνη (T). Η μεθυλίωση του DNA ανακαλύφθηκε κατά τη χημική ανάλυση δεοξυριβονουκλεοτιδίων που απομονώθηκαν από διάφορους οργανισμούς. Σε πολλούς οργανισμούς κάποιο ποσοστό των καταλοίπων DNA είναι μεθυλωμένο. Στα βακτήρια μεθυλιώνεται τόσο η κυτοσίνη όσο και η αδενίνη, ενώ στα φυτά και στα ζώα μεθυλιώνονται μόνο οι κυτοσίνες. Μεθυλίωση σημαίνει η προσθήκη μας μεθυλομάδας σε ένα άλλο χημικό μόριο, στην περίπτωση μας στο DNA. Η μεθυλομάδα είναι πολύ μικρή. Αποτελείται από ένα άτομο άνθρακα και τρία άτομα υδρογόνου.



Εικόνα 8η Δείχνει πώς μοιάζει χημικά η μεθυλίωση του DNA. Η βάση που φαίνεται είναι η κυτοσίνη C. Είναι η μόνη από τις τέσσερις βάσεις του DNA στην οποία δύναται να γίνει μεθυλίωση, και να σχηματίσει την 5-μεθυλοκυτοσίνη. Μια μεθυλωμένη βάση C ακολουθούμενη από μια G λέγεται και CpG.

Η κατανομή της μεθυλίωσης του DNA στο ευκαρυωτικό γονιδίωμα δεν είναι ομοιόμορφη. Το μεγαλύτερο μέρος της μεθυλίωσης του DNA (80%) βρίσκεται στην κυτοσίνη των δινουκλεοτιδίων CpG, τα οποία κατανέμονται σε όλη την έκταση του γονιδιώματος, αλλά βρίσκονται επίσης συγκεντρωμένα και σε περιοχές γνωστές ως νησίδες CpG (CpGislands). Τα ζεύγη CpG τείνουν να συγκεντρώνονται στον υποκινητή, δηλαδή στην περιοχή του γονιδίου όπου αρχίζει η μεταγραφή του DNA σε RNA. Στα περισσότερα γονίδια, ο υποκινητής είναι εντός των περιοχών όπου υπάρχει υψηλή συγκέντρωση θέσεων

CpG δηλαδή στις νησίδες CpG. Αυτές οι περιοχές εμπίπτουν σε δύο κατηγορίες ανάλογα με τη συγκέντρωση των CpG δινουκλεοτιδίων που βρίσκονται στην περιοχή του υποκινητή των γονιδίων που μεταγράφονται κανονικά από την RNA πολυμεράση II. Πρώτον, οι υποκινητές με χαμηλές συγκεντρώσεις CpG(περίπου ένα CpG ανά 100 νουκλεοτίδια) και το δεύτερον, τα γονίδια τα οποία έχουν υψηλότερες από τις κανονικές συγκεντρώσεις δινουκλεοτιδίων CpG. Η μεθυλίωση των CpG νησίδων σε αυτή τη δεύτερη κατηγορία γονιδίων βρίσκεται γενικά σε χαμηλά επίπεδα είτε το γονίδιο είναι υπό ενεργή μεταγραφή είτε όχι, εξ ου και η αρχική πρόταση ότι νησίδες CpG δεν υπόκεινται στην μεθυλίωση. Σε αντίθεση, οι CpG-φτωχοί υποκινητές συχνά μεθυλιώνονται στο γονιδιώματα των γαμετών και των κυττάρων που βρίσκονται στα στάδια της πρώιμης ανάπτυξης.^{22,16,23}

Αυτή η μεθυλίωση CpG είναι μια επιγενετική τροποποίηση, η οποία είναι επίσης γνωστή ως επιγενετική σημάση. Αυτή η χημική ομάδα λοιπόν «κολλάει πάνω» στο DNA, χωρίς να αλλάζει ουσιαστικά τη γενετική αλληλουχία που υπάρχει από κάτω. Η C διακοσμείται, αντί να αλλάξει. Εννοώντας δηλαδή ότι η μεθυλιωμένη C μπορεί ακόμα να ζευγαρωθεί με την G και διαβάζεται ακόμα ως C από τους μηχανισμούς της αντιγραφής και της μεταγραφής.

4.2 Μόρια που Μεθυλιώνουν το DNA.

Αυτή αντίδραση μεθυλίωσης διεξάγεται στα κύτταρα μας όπως και στα κύτταρα των περισσότερων οργανισμών με ένα από τα εξής τρία ένζυμα, DNMT1,DNMT3A ή DNMT3B. DNMT σημαίνει μεθυλοτρανσφεράση DNA. Τα DNMT είναι παραδείγματα επιγενετικών «συγγραφέων»- ενζύμων που γράφουν τον επιγενετικό κώδικα. Τις περισσότερες φορές το μόνο θα που κάνουν τούτα τα ένζυμα είναι να προσθέσουν μεθυλομάδα σε μια βάση C ακολουθούμενη από μια G.

Δυο ειδή μεθυλοτρανσφεράσης (methyl- transferase) κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τη βασική τους λειτουργία. Πρώτον τη διατήρηση της μεθυλίωσης και δεύτερον την ικανότητα μεθυλίωσης De novo.¹⁵

Η De novo μεθυλίωση είναι η καθιέρωση της 5-μεθυλοκυτοσίνης σε γονιδιωματικές περιοχές όπου καμία δεν υπήρχε προηγουμένως. Είναι υπεύθυνη για την αύξηση της παγκόσμια μεθυλίωσης του DNA που εμφανίζεται νωρίς στην εμβρυϊκή ανάπτυξη. Αυτό το είδος της μεθυλίωσης παράγεται από την οικογένεια των ενζύμων DNMT3 συμπεριλαμβανομένων δύο ενεργών DNMTs (Dnmt3a και DNMT3B) και έναν ρυθμιστικό παράγοντα που ονομάζεται DNMT3-πρωτεΐνη (DNMT3L), η οποία, αν και δεν αποτελεί

DNA μεθυλοτρανσφεράση από μόνη της, είναι απαραίτητη για την δημιουργία μιας 5-μεθυλκυτοσίνη.

Τα μεθυλιωμένα νουκλεοτίδια δεν εισάγονται στο DNA κατά την αντιγραφή του. Αντίθετα, γίνεται χημική προσθήκη των μεθυλομάδων αργότερα, από τα ένζυμα που ονομάζονται μεθυλοτρανσφεράσες (methyltransferases). Μετά την αντιγραφή του DNA, οι κλώνοι του μορίου που λειτουργούν ως μήτρα εξακολουθούν να είναι σεσημασμένοι με μεθυλιωμένες βάσεις, ενώ οι νέο συντιθέμενοι κλώνοι δεν είναι μεθυλιωμένοι. Αυτή η ημιμεθυλιωμένη κατάσταση αλλάζει γρήγορα από μεθυλοτρανσφεράσες διατήρησης οι οποίες αναγνωρίζουν τις ημιμεθυλιωμένες θέσεις και μεθυλιώνουν τον απέναντι κλώνο, έτσι ώστε το δινοκλεοτίδιο -CpG να είναι πλήρως μεθυλιωμένο. Με αυτό τον τρόπο η μεθυλίωση των θέσεων CpG διατηρείται ως κληρονομούμενο γνώρισμα, δηλαδή λειτουργεί ως μέσο σήμανσης της αλληλουχίας του DNA προσδίδοντας ποιοτικά χαρακτηριστικά που δεν καθορίζονται από το ίδιο το γενετικό υλικό. Αυτή η διαδικασία επιτελείται από την εναλλακτική DNA DNMT1 μεθυλοτρανσφεράση.^{24,22,12}

4.3 Επιρροή της Μεθυλίωσης του DNA στην Μεταγραφή

Με ποιον τρόπο όμως επηρεάζει η μεθυλίωση του DNA την ενεργότητα των γονιδίων; Εμποδίζει άμεσα τη λειτουργία του μεταγραφικού μηχανισμού ή προάγει την πρόσδεση άλλων κατασταλτικών πρωτεϊνών; Έχουν προταθεί τρεις βασικοί μηχανισμοί.

Ένα μοντέλο βασίζεται στο γεγονός ότι το μεθυλιωμένο και μη μεθυλιωμένο DNA οδηγεί σε αρκετά διαφορετικές δομές χρωματίνης. Ένα βασικό χαρακτηριστικό της δομής της χρωματίνης σε περιοχές μη μεθυλιωμένων DNA είναι ότι υιοθετεί μια ανοιχτή, προσιτή διαμόρφωση που επιτρέπει πρωτεΐνες όπως οι μεταγραφικοί παράγοντες να έρθουν σε επαφή με το DNA. Σε αντίθεση, η μεθυλίωση του DNA έχει ως αποτέλεσμα μια δομή χρωματίνης που μπορεί να αποτρέψει τους παράγοντες μεταγραφής να έχουν πρόσβαση DNA.^{23,24}

Μια άλλη πιθανότητα είναι ότι η προσκόλληση ενός παράγοντα μεταγραφής στη

φυσιολογική θέση αναγνώρισης εντός των αλληλουχιών ελέγχου ενός γονιδίου μπορεί να αναστέλλεται ειδικώς από την παρουσία μεθυλιωμένου DNA σε εκείνο το χώρο. Όπως ο Sp1 (παράγοντας μεταγραφής με ένα ευρύ φάσμα προσκόλλησης σε τοποθεσίες σε όλο το γονιδίωμα), δεν είναι ευαίσθητος στην παρουσία 5-μεθυλοκυτοσίνη εντός θέσεις δέσμευσης του. Όμως οι επιστήμονες σύντομα ανακάλυψαν περιπτώσεις στις οποίες η πρόσδεση μεταγραφικών παραγόντων δεν επηρεαζόταν από τη μεθυλίωση του DNA. Συνέχισαν λοιπόν την αναζήτηση κατασταλτικών πρωτεϊνών.^{24,25}

Ένας τρίτος πιθανός μηχανισμός είναι η άμεση προσκόλληση ειδικών μεταγραφικών καταστολέων στο μεθυλιωμένο DNA. Δύο σύμπλοκα πρωτεΐνης έχουν εντοπιστεί που είναι καλοί υποψήφιοι για αυτό το είδος της καταστολής. Στο Εδιμβούργο, ο Adrian Bird κλωνοποίησε δύο διαφορετικές πρωτεΐνες που προσδένονται σε μεθυλιωμένα νουκλεοτίδια CpG (ονομάστηκαν MeCP1 και MeCP2, Methyl-CpG-binding proteins), τις οποίες απομόνωσε βάσει της ιδιότητας τους να προσδένονται σε μεθυλιωμένο DNA. Η MeCP1 χρειάζεται τουλάχιστον 12 μεθυλιωμένα κατάλοιπα κυτοσίνης για να προσδεθεί στο DNA, ενώ για την πρόσδεση της MeCP2 αρκεί και ένα μόνο μεθυλιωμένο ζεύγος CpG. In vivo, και οι δύο πρωτεΐνες εντοπίζονται σε έντονα μεθυλιωμένες περιοχές του γονιδιώματος του ποντικού.

4.4 Μεθυλίωση και Μειωμένη Μεταγραφική Ενεργότητα.

Στις αρχές της δεκαετίας του 1980 αποδείχθηκε ότι αν προσθέσεις DNA σε κύτταρα θηλαστικών η μεθυλίωση του επιπλέον DNA επηρεάζει το πόσο καλά μεταγράφεται σε RNA. Όσο πιο μεθυλιωμένο μάλιστα είναι το επιπλέον DNA, τόσο λιγότερη μεταγραφή συμβαίνει. Με άλλα λόγια, τα υψηλά επίπεδα μεθυλίωσης DNA συνδέθηκαν με γονίδια που είχαν απενεργοποιηθεί. Ωστόσο, δεν βρέθηκε πόσο σημαντικό ήταν για τα γονίδια που βρίσκονταν ήδη στους πυρήνες των κυττάρων πέραν εκείνων που προστέθηκαν στα κύτταρα. Με τη βοήθεια της τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA διαπιστώθηκε με άμεσο τρόπο ότι η μεθυλίωση του DNA συνδέεται πράγματι με μειωμένα επίπεδα μεταγραφικής ενεργότητας. Στα σχετικά πειράματα έγινε διαμόλυνση κυττάρων με ένα επιλέξιμο πλασμίδιο το οποίο ήταν είτε μεθυλιωμένο είτε μη μεθυλιωμένο. Μετά την επιλογή εμφανίστηκαν πολύ λιγότερες σταθερές κυτταρικές σειρές όταν για τη διαμόλυνση

είχε χρησιμοποιηθεί μεθυλιωμένο πλασμίδιο απ' ότι όταν χρησιμοποιήθηκε το ίδιο πλασμίδιο σε μη μεθυλιωμένη κατάσταση.

Η αδρανοποίηση του X χρωμοσώματος, η γονιδιακή αποτύπωση και η αλλαγή στη δομή της χρωματίνης, είναι μερικές από τις διαδικασίες που βασίζονται στη μεθυλίωση του DNA. Η μεθυλίωση του DNA είναι ειδική για κάθε γονίδιο.^{25,26,27}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΙΣΤΟΝΩΝ

Τροποποιήσεις

Οι τροποποιήσεις ιστονών έχουν επίσης εμπλακεί στον σχηματισμό εστιών ετεροχρωματίνης (SAHF) που σχετίζονται με τη γήρανση, οι οποίοι έχουν παρατηρηθεί σε κύτταρα γηράνσεως και περιγράφονται σε ένα επόμενο τμήμα. Δεδομένης της ποικιλομορφίας των τροποποιήσεων των ιστονών, δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι μερικές από αυτές έχουν μελετηθεί με βάση τον υποψήφιο και έχουν αναφερθεί στους ρόλους τους στη ρύθμιση της έκφρασης ενός υποσυνόλου γονιδίων κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Με βάση τις πολλαπλές μελέτες για την εξάλειψη των παγκόσμιων μεταβολών στις τροποποιήσεις των ιστονών, τα ευρήματα μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής: (α)

γενικά ευχρωματικά έναντι ετεροχρωματικών σημείων που ενδεχομένως εμπλέκονται στη διαμεσολάβηση αρχιτεκτονικής χρωματίνης, (β) συγκεκριμένα ενεργοποιητικά ή ανασταλτικά σημάδια τα οποία σχετίζονται κυρίως με άμεσες ανάντη περιοχές, (γ) απομακρυσμένες ρυθμιστικές περιοχές όπως σιγαστήρες ή ενισχυτές και (δ) σε επαναλαμβανόμενα και ρετροϊκά στοιχεία. Τα προεξέχοντα σήματα ευχρωματίνης όπως τα K4me3, K9Ac, K14Ac, K36me3 στο histone H3 και οι ακετυλίωσεις στα K5, K12 και K16 της ιστόνης H4 έχουν ευρέως αναλυθεί στο πλαίσιο της γήρανσης.²⁸

Πολλές μελέτες σε ιστούς και κυτταρικούς τύπους έχουν αναφέρει μια συνολική μείωση στο σήμα μεταγραφικής ενεργοποίησης H3K4me3, στις εγγύς περιοχές προαγωγού. Η κορυφή H3K4me3 στο TSS θεωρείται τώρα ως καλόπιστος χαρακτηρισμός της ενεργού μεταγραφής. Η ανάλυση ChIP-Seq σε νεαρά και παλιά αιματοποιητικά βλαστοκύτταρα έδειξε ότι, ενώ ορισμένες περιοχές είχαν μειωμένη H3K4me3, αυτές ήταν πολύ λιγότερες σε σύγκριση με το ποσοστό των γονιδίων, γεγονός που έδειξε κέρδος σχετιζόμενο με την ηλικία σε αυτό το σημάδι.^{28,29}

Είναι ενδιαφέρον ότι τόσο τα μειωμένα επίπεδα όσο και η εξάπλωση του H3K4me3 (μακριά από τα τυπικά νουκλεοσώματα +1 και -1) έχουν αναφερθεί ειδικά σε παλαιά βλαστοκύτταρα. Εκτός από τα ευρήματα από τον Sun και τους συναδέλφους σχετικά με την μεταγωγή του προαγωγού και την έκφραση των ισομορφών σε παλαιά HSCs, αυτή η εξάπλωση του K4me3 αυξάνει την πιθανότητα η TSS σε ηλικιωμένα κύτταρα να μεταβληθεί ή να καθοριστεί κακώς. Οι προσπάθειες για διερεύνηση της H3K4-me1 / me2 / me3 σε κυτταρικά μοντέλα γήρανσης προσέθεσαν ένα στρώμα πολυπλοκότητας σε σχέση με τις μεταβολές που εξαρτώνται από τη φάση του κυτταρικού κύκλου σε παγκόσμιο επίπεδο.^{29,30}

Παραμένει να δούμε αν αυτές οι αλλαγές βρίσκονται σε άλλους τύπους κυττάρων / ιστών και αν αυτά οδηγούν σε αύξηση του θορύβου σε σχέση τόσο με την αφθονία όσο και με το είδος των μεταγραφών που παράγονται κατά τη διάρκεια της γήρανσης.³¹ Οι περιορισμένοι αριθμοί μελετών που έχουν διερευνήσει τις αλλαγές στην ακετυλίωση της ιστόνης H3 λυσίνης-9, μια ανοικτή υπογραφή χρωματίνης, την απεικονίζουν να είναι πιο μεταβαλλόμενες μεταξύ των τύπων κυττάρων / ιστών κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Σε ηλικιωμένο ήπαρ αρουραίων παρατηρήθηκε συνολική μείωση του K9Ac, ενώ παρουσίασε συνολική αύξηση στους πυρήνες από παλαιούς εγκεφάλους ποντικών. Παρόλο που φαίνεται να υπάρχει πολύ μικρή συσσώρευση του K9Ac σε ινοβλάστες ανθρώπινης γήρανσης, οι μεταβολές ήταν επίσης εξαρτώμενες από τον κυτταρικό κύκλο. Ελλείψει ευρέων μελετών γονιδιώματος για τον προσδιορισμό των ειδικών θέσεων μεταβολών του H3K9Ac, προς το παρόν, υπάρχει μικρή αντιστοιχία μεταξύ της γήρανσης του οργανισμού και της αναπαραγωγικής γήρανσης. Σε όλα τα μοντέλα, άλλες ενεργοποιητικές τροποποιήσεις στην H3 εμφάνισαν μια γενική τάση προς μείωση κατά τη διάρκεια της γήρανσης.^{31,32}

Αντίθετα, τα ενεργοποιητικά σημάδια στην ιστόνη H4 όπως τα K5Ac και K16Ac φαίνεται να αυξάνονται με την ηλικία. Εκτός από τα σημάδια H4, η αποαμιδίωση και η N-τερματική ακετυλίωση της H1 παρουσίασαν επίσης σημαντική αύξηση με την ηλικία σε ποντικούς και ιστούς αρουραίων³³, παρόλο που αυτό φαίνεται να δείχνει μια μη κατευθυντική διαταραχή, αν αυτές οι αλλαγές συμβαίνουν σε ίδιες ή διαφορετικές θέσεις πρέπει να αντιμετωπιστούν. Ανεξάρτητα από αυτό, αυτό υποδεικνύει και πάλι τις απελευθερωμένες υπογραφές που μπορεί να συμβάλουν στην ανώμαλη ή θορυβώδη μεταγραφή.

Με τη γενική κατανόηση ότι η περιεκτικότητα σε ετεροχρωματίνες αυξάνεται κατά τη διάρκεια της γήρανσης, υπήρξε μια ιδιαίτερη προσπάθεια για να ξεπεραστεί η σημασία των καταπιεστικών τροποποιήσεων του ήχου από αυτή την άποψη. Το H3K27me3, ένα σήμα κατασταλτικής χρωματίνης που εξαρτάται από πολυομικροβλάστες, έδειξε σταθερή αύξηση κατά τη διάρκεια της γήρανσης, τόσο σε βλαστοκύτταρα όσο και σε διαφοροποιημένα κύτταρα^{33,34}. Η λεπτομερέστερη ανάλυση σε συγκεκριμένους τύπους στο γονιδίωμα αποκάλυψε ότι σε αντίθεση με τα νεότερα κύτταρα, η μεθυλίωση σε αυτό το κατάλοιπο τείνει να είναι λιγότερο εστιασμένη γύρω από τις εγγύς θέσεις του προαγωγού και να εξαπλώνεται στις ανάντη και κατάντη περιοχές (σε σχέση με το TSS)³⁵. Τα ετεροχρωματικά σήματα H3K9me3 και H4K20me3 έδειξαν συνολική μείωση των ινοβλαστών με υψηλότερο διπλασιασμό πληθυσμού επίπεδα (PDL). Είναι ενδιαφέρον ότι αυτό συσχετίστηκε με την ταυτόχρονη αύξηση των μονο- και / ή διμεθυλιώσεων³⁶. Αντίθετα, οι ηλικιωμένοι ιστοί όπως τα κεφάλια *Drosophila* και το συκώτι του αρουραίου δεν έδειξαν καμία εμφανή αλλαγή στα συνολικά επίπεδα K9me3³⁶. Ωστόσο, τα λιπαρά σωματίδια και οι παγκρεατικές νησίδες από ηλικιωμένα *Drosophila* και αρουραίους, αντίστοιχα, έδειξαν αυξημένη τριμεθυλίωση³⁷. Ο προσδιορισμός της H3K9me3 από τον ανοσο-φθορισμό στο σώμα λίπους της *Drosophila* έδειξε μια αυξημένη ένταση και διασκορπισμένη θέση αυτού του σημείου σε παλιές μύγες³⁸. Η ουβικιτίνη σε H2A, μια συν-υπογραφή του σήματος K27me3 που σχετίζεται με polycomb και στο H2B επίσης αυξήθηκε με την ηλικία και αυτό φάνηκε να είναι συνεπής μεταξύ των τύπων κυττάρου / ιστού^{38,39}.

Αν και αυτές οι παρατηρήσεις αυξάνουν τη δυνατότητα συνδυαστικών / αλληλοεξαρτώμενων σημάτων ιστόνης να ρυθμίζονται παρομοίως κατά τη διάρκεια της γήρανσης, αυτό απαιτεί περαιτέρω ολοκληρωμένη ανάλυση. Από κοινού, η υπεροχή των ανασταλτικών σημείων χρωματίνης είναι σύμφωνη με την αυξημένη συμπύκνωση χρωματίνης και την ετεροχρωματοποίηση σε ηλικιωμένα κύτταρα / ιστούς. Αυτή η έννοια υποστηρίζεται επίσης από την παρατήρηση ότι τόσο η H3K27me3 όσο και η H3K9me3 έδειξαν μια γενική τάση διασκορπισμένου εντοπισμού της χρωματίνης κατά τη διάρκεια της διαδικασίας γήρανσης.⁴⁰

Αν και ορισμένες από αυτές τις μελέτες υπογραμμίζουν την έλλειψη συσχέτισης όσον αφορά είτε την αύξηση είτε τη μείωση των κατασταλτικών τροποποιήσεων, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι η ανάλυση αυτών με βιοχημικές ή βιολογικές μέθοδοι

κυττάρων δεν παρέχει την απαιτούμενη ανάλυση. Ως εκ τούτου, μια διεξοδική ανάλυση βασισμένη σε υψηλή απόδοση θα παρέχει πληροφορίες σχετικά με περιοχές που εμφανίζουν κέρδος ή απώλεια ετεροχρωμικών σημάτων.

Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι τα σημάδια ετεροχρωματίνης όπως τα H3K9me3 και K27me3 συσχετίστηκαν έντονα με τα υπερ-aDMRs^{41,42}.

Ωστόσο, πολύ λίγες μελέτες έχουν συνδέσει αυτά μαζί σε φαινομενολογικό και μηχανιστικό επίπεδο κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Πρόσφατες αναφορές δείχνουν ότι τόσο οι τροποποιήσεις του DNA όσο και των ιστονών είναι εμφανώς ανόμοιες στα νεαρά και παλιά βλαστοκύτταρα. Οι τροποποιήσεις όπως τα H3K4me3, K9me3 και K27me3, που είναι κεντρικοί καθοριστικοί παράγοντες της γονιδιακής έκφρασης και της ακεραιότητας του γονιδιώματος, δείχνουν δραματικές μεταβολές κατά τη διάρκεια της γήρανσης, οι οποίες μαζί θα μπορούσαν να επηρεάσουν τα δυναμικά πολλαπλασιασμού και διαφοροποίησης. Εδώ και πάλι, ο συνδυασμός μεταγραφικών δεδομένων με αναλύσεις ChIP-seq για τροποποιήσεις ιστονών θα είναι ζωτικής σημασίας για την αποκάλυψη της σπουδαιότητας της δομής της χρωματίνης στην οδήγηση των μεταγραφικών μεταβολών που σχετίζονται με την ηλικία.⁴²

Συγγενείς ετεροχρωματίνες (SAHF)

Ο σχηματισμός πυκνών και συμπαγών φώκιας DNA, που ονομάζεται τώρα Senescence Associated Heterochromatin Foci (SAHFs), θεωρείται ως ένας από τους καλύτερα χαρακτηρισμένους συσχετισμούς των μη αναστρέψιμων μεταβολών της χρωματίνης κατά τη διάρκεια της γήρανσης. Ως εκ τούτου, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι αρκετά άρθρα ανασκόπησης, συμπεριλαμβανομένων των δικών μας⁴³ επεξεργάστηκαν την ταυτοποίηση και τη σύνθεση έναντι παραλλαγών ιστονών, τροποποιήσεων και πρωτεϊνών μη ιστονών⁴³. Υπό το πρίσμα αυτό, εξετάσαμε μόνο πιο πρόσφατες μελέτες και συγκεκριμένα επισημάνουμε πτυχές που παρέχουν καινοφανείς γνώσεις.

Τα SAHF έχουν παρατηρηθεί και περιγραφεί ως επί το πλείστον για in vitro μοντέλα γήρανσης και δεν υπάρχουν μελέτες για την παρουσία τους σε ηλικιωμένους ιστούς όσο γίνεται η έρευνα για τη γραμματεία. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι πολύ λίγες αναφορές μέχρι σήμερα έχουν προσπαθήσει να αντιμετωπίσουν τη λειτουργική συνάφεια, εάν υπάρχει, με τη διαμόρφωση αυτών των πυλώνων. Επιπλέον, δεν υπάρχει σαφής κατανόηση των περιοχών που συμβάλλουν στο σχηματισμό αυτών των εστιών, αν και η ίδια η ετεροχρωματοποίηση είναι ένα γενικό γεγονός κατά τη διάρκεια της γήρανσης.⁴³

Σε αντίθεση με την ευχρωματίνη, αρκετά ετεροχρωματίνη σχηματίζει μια πυκνή δομή, η οποία οδήγησε τους ερευνητές να διερευνήσουν τοπολογικά συνδεδεμένους τομείς (TADs) σε SAHFs. Μια πολύ πρόσφατη μελέτη κατέδειξε τις αρχιτεκτονικές αλλαγές στο γονιδίωμα κατά τη διάρκεια της κυτταρικής γήρανσης. Χωρίς εμφανή αλλαγή στις παγκόσμιες χρωμοσωμικές αλληλεπιδράσεις, αυτά τα αποτελέσματα αποκάλυψαν

εντυπωσιακές αλλαγές στην ισχύ των αλληλεπιδράσεων ενδο-TA \ddot{u} . Ενώ έβλεπαν μια απώλεια αλληλεπιδράσεων εντός των TADs, τα γερασμένα κύτταρα φαινόταν να έχουν διασυννοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των TAD. Οι τομείς, οι οποίοι έχασαν την οριακή δύναμη με τη γήρανση, εμπλουτίστηκαν σε τομείς H3K9me3 και Lamin Associated (LADs). Ενώ τα όρια TAD που έφτασαν σε ισχύ με την ηλικία, έδειξαν εμπλουτισμό στα σήματα H3K36me3. Πολύ ενδιαφέρον, η μελέτη έδειξε ότι ένα LAD που απομακρύνθηκε από την πυρηνική περιφέρεια κατά τη διάρκεια της γήρανσης ήταν πολύ κοντά στον τόπο CDKN2A, έκφραση από την οποία έχει τεκμηριωθεί ότι έχει τροποποιηθεί κατά τη διάρκεια της γήρανσης⁴⁴. Αυτά τα ευρήματα έχουν ορίσει ακόμη ένα άλλο στρώμα πολυπλοκότητας στους μηχανισμούς που μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολή της γονιδιακής έκφρασης και συνεπώς στην παθοφυσιολογία της γήρανσης.

5.1 Μετα-μεταφραστική Τροποποίηση των Ιστονών.

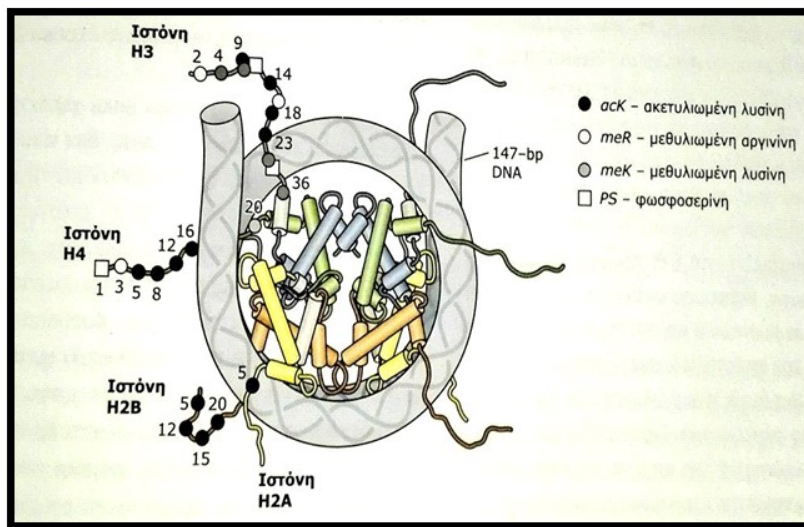
Τα νουκλεοσώματα είναι η θεμελιώδης μονάδα της χρωματίνης και αποτελούνται από περίπου 147 ζεύγη βάσεων DNA τυλιγμένο γύρω από ένα οκταμελή πυρήνα που αποτελείται από τις ιστόνες H2A, H2B, H3 και H4. Οι ερευνητές άρχισαν να αντιλαμβάνονται πως οι ιστόνες υπόκεινται σε πολλές διαφορετικές τροποποιήσεις. Κατά τη δεκαετία του 1960 έγιναν προσεκτικές βιοχημικές αναλύσεις, χάρη στις οποίες αποκαλύφθηκε ότι ορισμένες από τις ιστόνες που είχαν απομονωθεί από κύτταρα ήταν ομοιοπολικά τροποποιημένες με ακετυλομάδες και μεθυλομάδες. Οι N-τελικές ουρές των ιστονών, οι οποίες προεξέχουν έξω από τον πυρήνα του νουκλεοσώματος, υπόκεινται σε πολλά είδη μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (PTMs) και σε πολλές θέσεις. Η οποία με τη σειρά τους, βοηθούν στη ρύθμιση βιολογικών διεργασιών μέσω της αλλαγής της σταθερότητας του νουκλεοσώματος ή της λειτουργίας συμπλεγμάτων που σχετίζονται με την χρωματίνη. Έχουν ταυτοποιηθεί αρκετές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις της ουράς των ιστονών, συμπεριλαμβανομένων της: ακετυλίωσης, μεθυλίωσης, φωσφορυλίωσης, διφωσφορικής αδενοσίνης(ADP) ριβοζυλίωσης, ουβικιτινίωσης, και τις τροποποίησής της με SUMO.^{28,29}

Οι πιθανοί διαφορετικοί συνδυασμοί τροποποιήσεων είναι πολυάριθμοι. Μάλιστα, ορισμένα κατάλοιπα έχουν τη δυνατότητα να τροποποιηθούν με αρκετούς διαφορετικούς τρόπους.

Ενώ περίπου το 75% της μάζα του οκταμερούς της ιστόνης σχηματίζει την σφαιρική δομή πάνω στην οποία είναι τυλιγμένο το DNA, το υπόλοιπο 25% σχηματίζει μακριές N-τελικές ουρές πλούσιες σε υπολείμματα λυσίνης και αργινίνης. Συνολικά, οκτώ N-τελικές ουρές

προεξέχουν από την επιφάνεια του νουκλεοσωματικού πυρήνα, όπου είναι ελεύθερες να κάνουν πολλές διαμοριακές επαφές που εξαρτώνται από το πρότυπο των τροποποιήσεων στις οποίες έχουν υποβληθεί. Αν και πολλές από τις λειτουργίες του γονιδιώματος επηρεάζονται από την κατάσταση μεθυλίωσης του DNA, η σημασία της τροποποίησης των ιστονών για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης δεν μπορεί να υποτιμηθεί. Η κατανόηση των δομών των N-τελικών ουρών είναι κεντρικής σημασίας σε όλο το σύνολο των επιχειρήσεων του γονιδιώματος που ελέγχεται από την τροποποίηση των ιστονών. Ακόμη και σε πιο θεμελιώδες επίπεδο, μια πληθώρα διαφορετικών μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων συσχετίζονται με της περιοχές σίγησης ή μεταγραφικά ενεργής χρωματίνης.^{24,27,29}

Οι απλούστερες τροποποιήσεις των N-τερματικών ουρών των ιστονών είναι η ακετυλίωση και η μεθυλίωση των κατάλοιπων λυσίνης. Ο λόγος για την τοποθέτηση αυτών των δύο φαινομενικά αντίθετων τροποποιήσεων στο ίδιο τμήμα είναι ότι σε αντίθεση με τις άλλες, όπως η φωσφορυλίωση υπολειμμάτων σερίνης, αυτές οι δύο είναι συχνά εναλλασσόμενες και αντιπροσωπεύουν αντίθετα αποτελέσματα σχετικά με τη ρύθμιση του γονιδιώματος.



Εικόνα 9^η

Τροποποιήσεις ιστονών. Εικόνα του οκταμερούς που σχηματίζουν οι ιστόνες και των πολυάριθμων θέσεων των N-τελικών ουρών τους, που επιδέχονται διάφορες ομοιοπολικές τροποποιήσεις

5.2 Κώδικας Ιστονών

Η προσεκτική μελέτη των τροποποιήσεων των ιστονών που σχετίζονται με διάφορα γονίδια σε αρκετούς οργανισμούς οδήγησε στη διατύπωση της θεωρίας ότι υπάρχει ένας κώδικας ιστονών που διακρίνει τα ενεργά γονίδια από τα ανενεργά.

Ο όρος κώδικας ιστονών αρχικά επινοήθηκε για να περιγράψει το συνολικό πρότυπο των τροποποιήσεων των ιστονών, η οποίες μαζί υπαγορεύουν την αρχιτεκτονική της χρωματίνης και έτσι καθορίζεται αν ένα γονίδιο είναι προσβάσιμο ή απρόσιτο για τους μεταγραφικούς μηχανισμούς.^{30,32}

5.3 Ακετυλίωση Ιστονών

Η ιστονική τροποποίηση που εντοπίστηκε από τον Ντέιβιντ Αλντ ονομάστηκε ακετυλίωση. Ακετυλίωση καλείται η προσθήκη χημικών ομάδων, των ακετυλομαδών, σε αυτήν την περίπτωση σε ένα συγκεκριμένο αμινοξύ που ονομάζεται λυσίνη, στην κρεμαστή ουρά μιας ιστόνης. Αυτό το γεγονός καταλύεται από μια ομάδα ενζύμων που είναι γνωστά ως ακετυλτρανσφεράσες ιστόνης (HATs). Η δραστηριότητα των HAT επιτρέπει την πρόσληψη βρομοεπικρατειών που περιέχουν συνενεργοποιητές, οι οποίοι προσδένονται στις ακετυλιωμένες ιστόνες.^{31,33}

Αμέσως μετά την ανακάλυψη ότι οι υποκινητές των ανενεργών γονιδίων είναι μεθυλιωμένοι, παρατηρήθηκε επανειλημμένα ότι οι ενεργοί υποκινητές συνοδεύονται από αυξημένα επίπεδα ακετυλίωσης των ιστονών. Η ακετυλίωση επηρεάζει την δομή της χρωματίνης μειώνοντας την αλληλεπίδραση μεταξύ του αρνητικά φορτισμένου DNA και των θετικά φορτισμένων ιστονών, έτσι αποσταθεροποιεί το σχηματισμό των πιο εξαιρετικά συμπαγή δομών της χρωματίνης. Η ακετυλίωση των ιστονών είναι αναστρέψιμη και, ως εκ τούτου, δυναμική. Η απομάκρυνση των ομάδων ακετυλίου επιτρέπει την ισχυρότερη δέσμευση μεταξύ των ιστονών και του σκελετού του DNA. Έτσι συνδέονται με την μεταγραφική καταστολή. Η αποακετυλίωση διαμεσολαβείται από τις αποακετυλασές ιστόνης (HDACs). Οι ιστονικές τροποποιήσεις είναι διαφορετικές ως προς τη μεθυλίωση του DNA για ένα πολύ σημαντικό λόγο. Η μεθυλίωση του DNA είναι μια πολύ σταθερή επιγενετική τροποποίηση. Μόλις μια περιοχή DNA μεθυλωθεί, θα

παραμένει μεθυλιωμένη κάτω από τις περισσότερες συνθήκες. Παρότι η μεθυλίωση στο DNA μπορεί να αφαιρεθεί, η αφαίρεση αυτή συνήθως συμβαίνει κάτω από πολύ ειδικές συνθήκες και θεωρείται μάλλον σπάνια.

Αντιθέτως, οι περισσότερες ιστονικές τροποποιήσεις είναι πιο ελαστικές. Μια συγκεκριμένη τροποποίηση μπορεί να συμβεί σε μια ιστόνη σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο, να αφαιρεθεί και μετά να επανενεργοποιηθεί. Αυτό συμβαίνει ως αντίδραση σε διάφορα ερεθίσματα από το εξωτερικό του πυρήνα του κυττάρου.^{33,34,5}

5.4 Μεθυλίωση Ιστονών

Η μεθυλίωση των ιστονών συμβαίνει μόνο στις αργινίνες και στις λυσίνες. Οι αργινίνες μπορεί να είναι μονο- ή διμεθυλιωμένες ενώ λυσίνες μπορούν να είναι μονο-, δι- ή τριμεθυλιωμένες. Οι επιδράσεις της μεθυλίωσης των ιστονών επί της μεταγραφικής δραστηριότητας εξαρτώνται αυστηρά από το πιο συγκεκριμένο κατάλοιπο λυσίνης που τροποποιείται.

Χάρη στην ανάπτυξη και στο χαρακτηρισμό αντισωμάτων που αναγνώριζαν με ειδικό τρόπο κι άλλες τροποποιήσεις των ιστονών, διαπιστώθηκε ότι ορισμένα επιγενετικά φαινόμενα σχετίζονται με πολύ συγκεκριμένες τροποποιήσεις των ιστονών.

Ένα από τα σημαντικότερα γεγονότα μεταγραφικής ενεργοποίησης είναι η μεθυλίωση της λυσίνης 4 (K4) σε ιστόνη H3, η οποία μπορεί να είναι μονο- (K4me1), δι- (K4me2), ή τρι- (K4me3) μεθυλιωμένη. Σε γενικές γραμμές, οι ομάδες H3K4me3 είναι συγκεντρωμένες σε μεταγραφικές θέσεις εκκίνησης των ενεργά μεταγραφόμενων γονιδίων. Σε αντίθεση, η μεθυλίωση των ιστονών H3K9, H3K27 και H4K20 θεωρείται αποσιωπητική τροποποίηση καθώς ρυθμίζει αρνητικά τη μεταγραφή. Το ανενεργό χρωμόσωμα X στα θηλαστικά είναι εμπλουτισμένο με ιστόνη H3 μεθυλιωμένη στη λυσίνη 27.

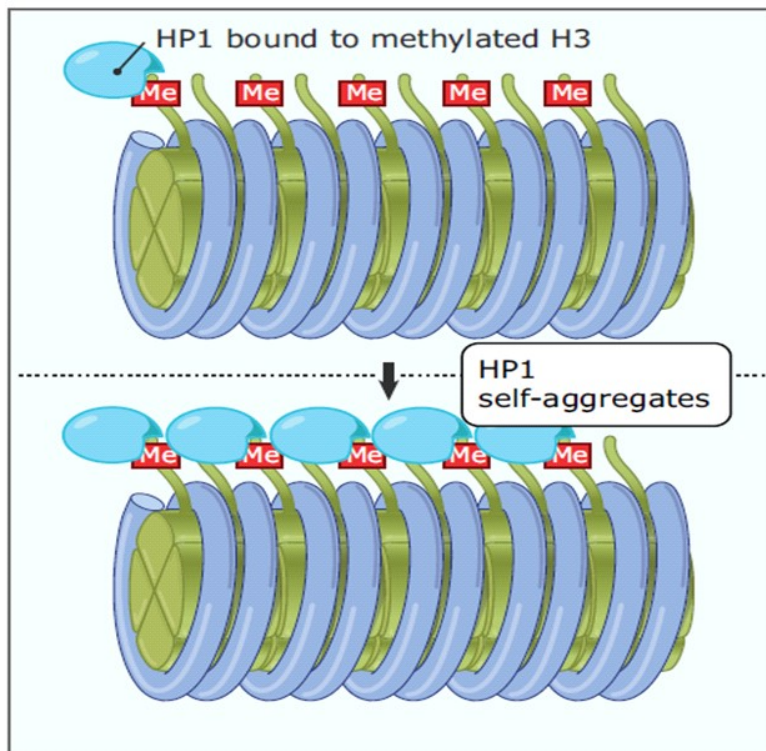
Τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για την μεθυλίωση των ιστονών ομαδοποιούνται σε τρεις διαφορετικές κατηγορίες. Η κατηγορία της λυσίνης-ειδικά SET επικρατειών περιέχουν μεθυλτρανσφεράσες ιστονών (HMT) που συμμετέχουν στη μεθυλίωση των λυσινών 4, 9, 27, και 36 της ιστόνης H3 και στη λυσίνη 20 της ιστόνης H4. Ενώ οι περισσότερες ομοιοπολικές τροποποιήσεις ιστονών είναι αναστρέψιμες, μέχρι πρόσφατα ήταν άγνωστο αν οι μεθυλο-ομάδες θα μπορούσαν να αφαιρεθούν ενεργά από τις ιστόνες. Η πρώτη απομεθυλάση ιστόνης που ανακαλύφθηκε ήταν LSD1, η οποία προκαλεί απομεθυλίωση κυρίως τις H3K4 αλλά θα μπορούσε επίσης να απομεθυλίώσει και την H3K9, όταν είναι παρόν σε ένα σύμπλοκο με τον υποδοχέα ανδρογόνων.^{35,36}

Πώς όμως γίνεται η μετάδοση της πληροφορίας από τις τροποποιήσεις των ουρών των ιστονών στο μηχανισμό της γονιδιακής έκφρασης;

Πολλοί από τους πρωτεϊνικούς αυτούς παράγοντες είχαν ήδη εντοπιστεί σε γενετικές και βιοχημικές σαρώσεις, που έγιναν με στόχο τον εντοπισμό τροποποιητών των επιγενετικών επιδράσεων αποσιώπησης, πολύ πριν προσδιοριστεί ότι προσδένονται σε τροποποιημένες ιστόνες. Για παράδειγμα στην *Drosophila* είχε αναγνωριστεί η πρωτεΐνη HP1 (HP1, heterochromatin protein 1), η οποία εντοπιζόταν σε ετεροχρωματινικές περιοχές του γονιδιώματος. Η πρωτεΐνη HP1 φέρει μία χρωμοεπικράτεια (chromodomain) μία αμινοξική αλληλουχία η οποία σύντομα εντοπίστηκε σε αρκετές ακόμα πρωτεΐνες που προσδένονται στη χρωματίνη. Όπως αποδείχθηκε, η χρωμοεπικράτεια προσδένεται σε μεθυλιωμένες ιστόνες. Η χρωμοεπικράτεια HP1 προσδένεται σε ιστόνες H3 μεθυλιωμένες στη λυσίνη 9, μεθυλίωση χαρακτηριστική, όπως έχουμε δει, των αποσιωπημένων γονιδίων.

Οι πρωτεΐνες της χρωματίνης ενισχύουν και μεγεθύνουν την πληροφορία που εμπεριέχεται, βάσει του Κώδικα των ιστονών, στις σεσημασμένες ουρές των ιστονών όπου προσδένονται. Η HP1 επιστρατεύει τη μεθυλοτρανφεράση των ιστονών, η οποία μεθυλιώνει την ιστόνη H3 στη λυσίνη 9. Έτσι, η μεθυλίωση της λυσίνης 9 της ιστόνης H3 έχει την τάση να επάγει την περαιτέρω μεθυλίωση της ιστόνης H3, καταστέλλοντας τη δυνατότητα μελλοντικής στρατολόγησης του μεταγραφικού μηχανισμού.^{32,36}

Τα στοιχεία δείχνουν ότι η μεθυλίωση του DNA και οι ιστονικές τροποποιήσεις συνδέονται στενά και παρουσιάζουν εκτενή επιγενετική "στιχομυθία", με τις πληροφορίες που απορρέουν από το DNA στις ιστόνες και από τις ιστόνες στο DNA. Δεδομένου ότι η μεθυλίωση του DNA μπορεί να καθοδηγήσει τις τροποποιήσεις των ιστονών και οι τροποποιήσεις των ιστονών μπορούν να επηρεάσουν την μεθυλίωση του DNA, είναι πιθανό ότι οι διαδικασίες αυτές λειτουργούν σε ένα αλληλοενισχύοντα επιγενετικό βρόχο που εξασφαλίζει τη συντήρηση μιας συμπίεσμένης κατάστασης της χρωματίνης.



Εικόνα 10^η

Η σύνδεση της HP1 σε μεθυλιωμένη ιστόνη H3 αποτελεί ένα έναυσμα για αποσιώπηση λόγω συνάθροισης περαιτέρω μορίων HP1 στη νουκλεοσωμική αλυσίδα.

6. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΩΜΑΤΙΝΗΣ ΚΑΙ ΜΗ ΚΩΔΙΚΑ RNAs

6.1 Επιγενετικά Σύμπλοκα Χρωματίνης.

Για να λάβει χώρα η ενεργή μεταγραφή, εκτός από τα γεγονότα της ακετυλίωσης που αποσυμπηκνώνουν τη χρωματίνη, είναι απαραίτητο να εκτοπιστούν τα νουκλεοσώματα για να είναι οι περιοχές των υποκινητών και ενισχυτών πιο προσβάσιμες στον μεταγραφικό μηχανισμό. Τα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης είναι υπεύθυνα για το

ξετύλιγμα του DNA από τους ιστόνες, έτσι ώστε η αρχιτεκτονική των νουκλεοσωμάτων να μπορεί να τροποποιηθεί και να μετακινηθεί σε γειτονικές περιοχές του γονιδιώματος, ανοίγοντας έτσι τους υποκινητές και τους ενισχυτές για να επιτραπεί η πρόσβαση στο μεταγραφικό μηχανισμό. Η γενική διαδικασία της επαγωγής αλλαγών στην δομή χρωματίνης ονομάζεται αναδιαμόρφωση χρωματίνης. Αυτή αποτελείται από μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την μετακίνηση ή τον εκτοπισμό των ιστόνων που εξαρτώνται από την δόση ενέργειας. Πολλές επαφές πρωτεΐνης-πρωτεΐνης και πρωτεΐνης-DNA πρέπει να διαταραχτούν για να απελευθερωθούν οι ιστόνες από τη χρωματίνη και αυτό δεν γίνεται δωρεάν. Πρέπει να παρέχεται ενέργεια για να διακόψουν οι επαφές αυτές. Η αναδιαμόρφωση της χρωματίνης περιλαμβάνει ATP-εξαρτώμενους παράγοντες νουκλεοσωμικής αναδιαμόρφωσης των οποίων η παγκόσμια λειτουργία είναι να ρυθμίζουν την πρόσβαση των παραγόντων μεταγραφής στο χρωμοσωμικό DNA. Αυτό επιτυγχάνεται με υδρόλυση του ATP σε μη ομοιοπολική αναδιάρθρωση, κινητοποίηση, ή εξαγωγή νουκλεοσωμάτων, προκαλώντας τα να αποσυναρμολογηθούν ή να διανεμηθούν εκ νέου σε θέσεις ως απόκριση προς τη σύνδεση πρωτεϊνών όπως για παράδειγμα οι παράγοντες μεταγραφής που ελέγχουν τη γονιδιακή δραστηριότητα. Η εικόνα 13 απεικονίζει την αρχή της δυναμικής αναδιαμόρφωσης από έναν παράγοντα που υδρολύει ATP. Όταν το οκταμερές ιστόνης απελευθερώνεται από DNA, άλλες πρωτεΐνες (στην περίπτωση αυτή μεταγραφικών παραγόντων και RNA πολυμεράση) μπορούν να δεσμευτούν.^{36,37}

Η καταλυτική υπομονάδα της αναδιαμόρφωσης ενζύμων αποτελείται μία διατηρημένη επικράτεια ATPάσης και μοναδικές συνοδευτικές επικράτειες, που χρησιμοποιούνται σε έναν απλοποιημένο διαχωρισμό σε τέσσερις διακριτές οικογένειες.

1. Οικογένεια SWI/SNF

Το σύμπλοκο SWI / SNF περιγράφηκε για πρώτη φορά σε *Saccharomyces cerevisiae*. Το 1984 οι γενετικές οθόνες αποκάλυψαν ότι οι μεταλλάξεις σε μη ζύμωσης σακχαρόζης (SNF) γονίδια που προκαλούσαν βλάβες στην έκφραση του γονιδίου SUC2, το οποίο απαιτείται για την ανάπτυξη σε σακχαρόζη και ραφινόζη ως πηγές άνθρακα. Τα μέλη της οικογένειας SWI/SNF ορίζονται με την παρουσία ενός N-τελικού άκρου που βρίσκεται στην HSA (ελικάση-Sant) επικράτειας, το οποίο είναι γνωστό για την πρόσληψη ακτίνης και ακτίνης συσχετιζόμενες πρωτεΐνες, και ένα C-τελικό άκρο όπου βρίσκεται μια βρώμοεπικράτεια, η οποία προτείνεται ότι συνδέεται με τις ακετυλιωμένες λυσίνες των ιστονών.

2. Οικογένεια ISWI

Μια δεύτερη οικογένεια πρωτεϊνών αναδιαμόρφωσης χρωματίνης είναι η απομίμηση των switch. Η (ISWI) οικογένεια, η οποία μπορεί να εξαρθρώσει νουκλεοσώματα αλλά έχει λιγότερη ικανότητα να επάγει δομικές αλλαγές στα ίδια τα νουκλεοσώματα. Η ISWI

(απομίμηση SWITCH) οικογένεια ATPασών έχουν ένα C-τερματικό με επικράτεια SANT δίπλα σε μία επικράτεια SLIDE (SANT-παρόμοια ISWI), που μαζί σχηματίζουν μια μονάδα αναγνώρισης νουκλεοσώματος που προσκολλάται με DNA και σε μη τροποποιημένες H4 ουρές.

3. Οικογένεια CDH

Η CHD (χρωμοεπικράτεια-ελικάσης-DNA σύνδεσης) οικογένεια ορίζεται από την παρουσία δύο χρωμοεπικρατειών, διατεταγμένα ένα όπισθεν του άλλου , στο N-τελικό άκρο της επικράτειας ATPάσης. Οι βιολογικές ιδιότητες των μελών της οικογένειας CHD είναι εξαιρετικά ετερογενής. Μερικά υπάρχουν ως μονομερή *in vivo*? άλλα είναι υπομονάδες πολυπρωτεϊνικών συμπλοκών, πολλά από τα οποία δεν έχουν ακόμη πλήρως χαρακτηριστεί. Το καλύτερα μελετημένο είναι το NURD (αναδιαμόρφωση νουκλεοσώματος και αποκετυλίωση) σύμπλοκο, που περιέχει Chd3 /Chd4, αποακετυλάσες ιστόνης (HDAC 1/2) και μέθυλο CpG- επικράτεια σύνδεσης (MBD) πρωτεΐνες.

Αυτό το σύμπλοκο κάνει πολλές επιγενετικές αναδιαρθρώσεις. Έχει ATP-εξαρτώμενη δραστηριότητα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης για να βοηθήσει το DNA να κάνει θηλιά μακριά από τα νουκλεοσώματα, και μπορεί επίσης να αφαιρέσει ακετυλομάδες από τις N-τερματικές ουρές των κάθε ιστονών.^{38,37,39}

4. Οικογένεια INO80

Το ιδιαίτερο χαρακτηριστικό των ένζυμων αναδιαμόρφωσης που ανήκουν στην INO80 (ινοσιτόλη που απαιτεί 80) οικογένεια είναι η διάσπαση τις ATP επικράτειας. Αυτή η μοναδική μονάδα διατηρεί την δραστηριότητα ATP, και λειτουργεί ως ένα ικρίωμα για τη σύνδεση με τις RuvB-όμοιες πρωτεΐνες, Rvb1 και Rvb2. Η RuvB είναι μια βακτηριακή ATP-εξαρτώμενη ελικάση που σχηματίζει ένα διπλό εξαμερούς γύρω από κόμβους Holliday για την προώθηση της μετανάστευσης τους κατά τη διάρκεια ομόλογου ανασυνδυασμού.

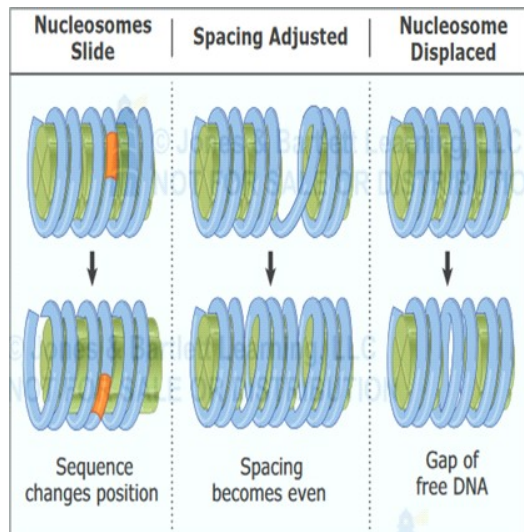
Η εικόνα 11 συνοψίζει διάφορες εναλλακτικές εκβάσεις της αναδιαμόρφωσης χρωματίνης:

Ø Οκταμερή ιστόνη μπορεί να ολισθαίνει κατά μήκος του DNA, αλλάζοντας τη σχέση μεταξύ των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών. Αυτό μπορεί να αλλάξει τόσο την περιστροφική και μεταφραστική θέση μιας συγκεκριμένης αλληλουχίας στη νουκλεοσωμική επιφάνεια.

Ø Η απόσταση μεταξύ οκταμερών ιστόνης μπορεί να αλλάξει, και πάλι αποτέλεσμα έχει σχέση με το γεγονός ότι οι θέσεις των επιμέρους αλληλουχιών μεταβάλλονται σε σχέση με το οκταμερούς των ιστονών.

Ø Η πιο εκτεταμένη αλλαγή είναι ότι ένα οκταμερές μπορεί να εκτοπιστεί εντελώς από το DNA για να δημιουργήσει ένα νουκλεοσωμικό- ελεύθερο κενό. Εναλλακτικά, ένα

ή και τα δύο διμερή H2A-H2B μπορούν να μετατοπίζονται, αφήνοντας ένα τετραμερές H32-H42 στο DNA.



Εικόνα 11^η

Τα Σύμπλοκα Αναδιαμόρφωσης μπορεί να προκαλέσουν τα νουκλεοσώματα να ολισθαίνουν κατά μήκος του DNA, μπορεί να εκτοπίσουν τα νουκλεοσώματα από το DNA, ή μπορεί να αναδιοργανώσουν την απόσταση μεταξύ νουκλεοσωμάτων.

6.2 Μη Κωδικά Μόρια RNAs.

Ο όρος μη-κωδικά RNA (ncRNA) χρησιμοποιείται συνήθως για τα RNA που δεν κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη, αλλά αυτό δεν σημαίνει ότι οι τα εν λόγω RNAs δεν περιέχουν πληροφορίες ούτε έχουν κάποια λειτουργία. Γενικά είχε υποτεθεί ότι οι περισσότερες γενετικές πληροφορίες παρέχονται από τις πρωτεΐνες, τα τελευταία στοιχεία δείχνουν ότι η πλειοψηφία των γονιδιωμάτων των θηλαστικών και άλλων πολύπλοκων οργανισμών στην πραγματικότητα μεταγράφεται σε ncRNAs, πολλά από τα οποία είναι εναλλακτικά συρραμμένα ή υποβάλλονται σε επεξεργασία και σχηματίζουν μικρότερα προϊόντα. Η

συμβατική άποψη της γονιδιακής ρύθμισης στη βιολογία έχει επικεντρωθεί γύρω από τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μέσω του κεντρικού δόγματος DNA/mRNA /πρωτεΐνης. Ωστόσο, κατά την τελευταία δεκαετία, τα στοιχεία από τις πολυάριθμες υψηλές απόδοσης γονιδιωματικές πλατφόρμες προτείνουν ότι η εξέλιξη των αναπτυξιακών διαδικασιών που ρυθμίζουν τη πολυπλοκότητα του οργανισμού οφείλεται κυρίως στην επέκταση του ρυθμιστικού δυναμικού των τμημάτων που περιέχουν τα μη κωδικεύοντα του γονιδιώματος.^{36,39}

Ένας σημαντικός ρόλος που έχει αναγνωριστεί μέχρι τώρα για τα ncRNAs είναι η συμμετοχή τους στην επιγενετική ρύθμιση των γονιδίων. Πράγματι, γίνεται ολοένα και πιο φανερό ότι οι περισσότεροι επιγενετικοί μηχανισμοί της γονιδιακής έκφρασης ελέγχεται από ncRNAs. Το ότι τα ncRNAs θα μπορούσαν να ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση προτάθηκε κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 1960. Ωστόσο, η σημασία τους στην γονιδιακή ρύθμιση δεν είχε εκτιμηθεί μέχρι την ανακάλυψη των miRNAs (MicroRNAs) και των siRNA (μικρά παρεμβαλλόμενα RNA), η οποία ανέφερε ότι ncRNAs είναι RNAs που είναι βιολογικά λειτουργικά, τόσο σε cis όσο και σε trans, ιδιαίτερα στα υψηλότερα ευκαρυωτικά, αντί απλώς να είναι οι ενδιάμεσοι αγγελιαφόροι μεταξύ DNA και πρωτεϊνών .

Μη κωδικοποιητικά RNAs που σχετίζονται με τη γήρανση

Με βάση τη συσσωρευμένη βιβλιογραφία κατά τη διάρκεια των τελευταίων δύο έως τριών δεκαετιών είναι πλέον προφανές ότι μη κωδικοποιητικά RNAs, που περιλαμβάνουν μακρά μη κωδικοποιητικά (lncRNAs), ρετροϊκά μεταγραφές και σύντομα μη κωδικοποιητικά RNAs όπως microRNAs, κυκλικά RNAs, snoRNAs , tRNAs και rRNA είναι τώρα γνωστό ότι ελέγχουν την έκφραση γονιδίων που μεταγράφονται από το κωδικοποιητικό τμήμα του γονιδιώματος. Είναι σημαντικό ότι τα ίδια τα ncRNAs έχουν αποδειχθεί ότι ρυθμίζονται τόσο από την άποψη της έκφρασής τους όσο και του κύκλου εργασιών τους σε βιολογικά πλαίσια και εξελικτικά ποικίλους οργανισμούς .Επομένως, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι τα ncRNAs έχουν επίσης συσχετιστεί με τη γήρανση.^{34,35}

Ο σκοπός των διαφόρων τύπων των μικρών μη-κωδικών RNAs (microRNA, μικρό παρεμβαλλόμενο RNA, και PIWI-αλληλεπιδρών RNA) είναι ευρέως γνωστό ,

αλλά τα μεγάλα μη-κωδικά RNAs (lncRNAs), γενικά αποδείχθηκαν να είναι μεγαλύτερα από 200 νουκλεοτίδια (nts) χωρίς καμία εμφανή προοπτική κωδικοποίησης είναι λιγότερο

κατανοητά και στη πλειοψηφία τους παραμένουν μη χαρακτηρισμένα.

1. Micro RNA και μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (siRNA)

Τα miRNAs και siRNAs είναι μικρά, περίπου 22 νουκλεοτίδια, μόρια RNA που προέρχονται είτε από μία φουρκέτα ή δίκλωνο πρόδρομο RNA. Μόλις τα αποσιωπημένα πρότυπα έκφρασης τα οποίων καθορίζονται από την μεθυλίωση του DNA καθιερωθούν, τα επιγενετικά πρότυπα κληρονομικότητας στερεοποιούνται περαιτέρω από μικρά μη-κωδικοποίησης RNAs (miRNAs) που εξασφαλίζουν τις περιφερειακή αποσίωπηση μέσω της υποβάθμισης των ανεπιθύμητων mRNA, εμποδίζοντας την ωρίμανση του mRNA ή μπλοκάροντας περιοχές υποκινητών που σχετίζονται με mRNA για να αποσιωπηθεί. Τα miRNAs καταστείλουν την μετάφραση μέσω μη-τέλειας αντιστοίχισης με το στόχο mRNAs, συνήθως περιλαμβάνουν μια αντιστοίχιση μόλις έξι έως οκτώ νουκλεοτίδια σε μήκος (56) ή (όπως συμβαίνει με τα siRNA) προκαλούν υποβάθμιση του στόχου RNA από το σύμπλεγμα RISC [επαγόμενο από RNA σύμπλοκο αποσίωπησης, risk RNA-induced silencing complex] στην περίπτωση της τέλειας συμπληρωματικότητας με το στόχο RNA το φαινόμενο γνωστό ως RNAi [συγκатаστολή και παρεμβολή RNA]. Εκτιμάται ότι περίπου το ένα τρίτο του ανθρώπινου γονιδιώματος που κωδικοποιούν πρωτεΐνες ελέγχονται από miRNAs. Επιπλέον, τα siRNAs που προέρχονται από επαναλήψεις συμμετάσχουν στην δημιουργία αποσιωπημένης χρωματίνης (ετεροχρωματίνης), αλλά και σε άλλες πτυχές της δυναμικής του χρωμοσώματος.^{35,39}

Μικρά μη κωδικοποιητικά RNAs στη Γήρανση

Μελέτες σε λευκοκύτταρα έδειξαν ότι η προοδευτική διαφορική έκφραση μικρών μη κωδικοποιητικών RNAs (miRs και snoRNAs) κατά τη διάρκεια της γήρανσης φαίνεται ότι συσχετίζεται καλά με τα διαφορετικά εκφρασμένα γονίδια κωδικοποίησης. Είναι ενδιαφέρον ότι αυτές οι αλλαγές στα ncRNAs είναι πιο έντονες γύρω από τη μέση διάρκεια ζωής. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης από τα microRNA είναι γνωστή και υπάρχουν αρκετές υποψήφιες μελέτες, οι οποίες έχουν αναδείξει τους ρόλους τους στη γήρανση). Λόγω των εξαιρετικά διαφορετικών φυσιολογικών συνθηκών και των γονιδίων και των μονοπατιών που έχουν αναλυθεί, είναι δύσκολο να σχολιάσουμε τη συνολική κατεύθυνση των αλλαγών miR που επηρεάζουν τη γήρανση από αυτές τις αναφορές.

Παρόλα αυτά, είναι σαφές ότι τα επίπεδα του miR δείχνουν δραστικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της γήρανσης και οι στόχοι τους ελέγχουν μερικές από αυτές τις μετρήσεις, με τρόπο feed-back.

Ωστόσο, μερικές μελέτες σε μη κωδικοποιητικά RNA, που αναλύθηκαν παραπάνω, έχουν επιχειρήσει να αποκαλύψουν τις παγκόσμιες μεταβολές στην έκφραση miR και όπως αναφέρθηκε, οι αλλαγές στα miRs και τα mRNAs δείχνουν αλληλογραφία. Ωστόσο, μερικές μελέτες σε μη κωδικοποιητικά RNA, που αναλύθηκαν παραπάνω, έχουν επιχειρήσει να αποκαλύψουν τις παγκόσμιες μεταβολές στην έκφραση miR και όπως αναφέρθηκε, οι αλλαγές

στα miRs και τα mRNAs δείχνουν αλληλογραφία.

Ένας από τους λόγους για την απορύθμιση των προφίλ microRNA στα γηράσκοντα άτομα έχει αποδοθεί σε ανώμαλα επίπεδα κυκλικώνRNAs (circRNA). Γνωστή για τη λειτουργία του σπρέι miR, έχουν αναφερθεί αυξημένα επίπεδα circRNA μεταξύ των ειδών. Για παράδειγμα, σε ποντίκια και μύγες η αφθονία των circRNAs αυξήθηκε στους νευρώνες, συγκεκριμένα στον φλοιό και στον ιππόκαμπο των ποντικών.³⁷

Παρόλο που αυτές οι μελέτες φαίνεται να υποδηλώνουν ότι αυτό θα μπορούσε να είναι ένα φαινόμενο ειδικά για τον ιστό, παραμένει να δούμε αν αυτό είναι πράγματι αληθές και αν υπάρχει και στους ανθρώπους. Η μείωση των επιπέδων ενός συγκεκριμένου circRNA, circPVT1 σε γηρασμό ανθρώπινων ινοβλαστών έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει την πολλαπλασιαστική ικανότητα των κυττάρων. Αυτό οφείλεται στην αυξημένη ρύθμιση του στόχου microRNA let-7, το οποίο ανταγωνίζεται πολλαπλασιαστικά γονίδια όπως IGF2BP1, KRAS και HMGA2.³⁷

Τα circRNAs έχουν επίσης πρόσφατα υποδηλωθεί στην γονιμότητα ή τη γονιμότητα. Παρατηρήθηκε ότι τα ωοκύτταρα που ανακτήθηκαν από τα κοκκώδη κύτταρα των γυναικών ηλικίας άνω των 38 ετών, τα οποία είχαν καταχωρηθεί για γονιμοποίηση in vitro, έδειξαν υψηλότερη έκφραση των circRNAs, η οποία αντιστρόφως συσχετίζεται με τον αριθμό των υγιή ζυγωτών που ελήφθησαν.

2. PiRNA

Η εξελικτικά συντηρημένη οικογένεια των πρωτεϊνών Argonaute / PIWI (AGO / PIWI, επίσης, γνωστή ως PAZ-PIWI επικράτεια ή PPD) είναι ζωτικής σημασίας για την βιογένεση και τη λειτουργία των μικρών μη κωδικών RNA (ncRNAs).

Οι πρωτεΐνες PIWI είναι κυρίως παρόντες στην βλαστική γραμμή και συγγενείς με μία νέα κατηγορία των μικρών RNAs γνωστή ως PIWI-αλληλεπιδρώντων RNAs (piRNAs). Δεκάδες χιλιάδες είδη PiRNA, συνήθως 24-32 νουκλεοτιδίων (nt) μήκους, έχουν βρεθεί σε θηλαστικά, zebrafish, και Drosophila. Τα περισσότερα piRNAs φαίνεται να δημιουργούνται από ένα μικρό αριθμό μακρών προδρόμων μονόκλωνων RNA που είναι συχνά κωδικοποιημένα με επαναλαμβανόμενες διαγονιδιακές αλληλουχίες στο γονιδίωμα. Οι PIWI πρωτεΐνες παίζουν κρίσιμους ρόλους κατά τη διάρκεια της βλαστικής σειράς της ανάπτυξης και της γαμετογένεσης πολλών ειδών μεταζώων, από την βλαστική καθόριση και βλαστικής σειράς βλαστικών κυττάρων(GSC) συντήρησης στην μείωση, σπερματογένεση, και τη σίγαση μεταθετών στοιχείων. Αυτές οι διαφορετικές λειτουργίες μπορεί να περιλαμβάνουν piRNAs και μπορεί να επιτευχθούν μέσω νέων μηχανισμών των επιγενετικών και μεταγραφικών ρυθμίσεων.

3. Μεγάλα μη κωδικά μόρια RNA (lncRNAs)

Τα πρώτα μεγάλα μη-κωδικά RNAs (lncRNA) ανακαλύφθηκαν στις αρχές της δεκαετίας του 1990. Τα lncRNA αντίγραφα κυμαίνονται από 200 (nts) σε μεγαλύτερα από 100.000 (nts) (και όπως τα αγγελιοφόρα RNA (mRNA), είναι συχνά συραμμένα, πολυαδενυλιωμένα, έχουν αρχή 5'-7-μεθυλογουανοσίνη και μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση II (Pol II). Ωστόσο, ένας σημαντικός αριθμός lncRNAs είναι ή όχι πολυαδενυλιωμένα. Ενώ η πλειοψηφία των lncRNAs φαίνεται να είναι μη κωδικά, κάποια σχετίζονται με τα ριβοσώματα και ένα υποσύνολο αυτών συνεπάγονται σε μικρά πεπτίδια. Συμπεριφέροντας ως μοριακά σφουγγάρια, ικρίσματα για σύμπλοκα πρωτεΐνης, και ως οδηγοί που κατευθύνουν τον εντοπισμό των πρωτεϊνικών συμπλόκων χωρίς εξειδίκευση δέσμευσης DNA, τα lncRNAs είναι σε θέση να επηρεάσουν τη γονιδιακή ρύθμιση σχεδόν σε κάθε βήμα της διαδικασίας αυτής. Μέσω των μηχανισμών αυτών, τα lncRNA είναι σε θέση να επηρεάσουν την μεταγραφική ρύθμιση, ωρίμανση και μεταφορά του mRNA, τη σταθερότητα του mRNA, τη γονιδιωματική οργάνωση και τη σύνθεση πρωτεϊνών. Χρησιμοποιώντας ως σφουγγάρια ή δολώματα, κάποια lncRNA παρεμβαίνουν σε μοριακά σήματα και σε miRNA στοχευόμενες προσπάθειες.^{37,38,39}

Τα lncRNAs μπορούν να καθοδηγήσουν αλλαγές στην έκφραση γονιδίων είτε σε cis (επί γειτονικών γονιδίων) ή σε trans (μακρινή τοποθεσία γονίδια) κατά τρόπο που δεν είναι εύκολο να προβλεφτούν με βάση την lncRNA αλληλουχία. Η Επigenετική ρύθμιση απαιτεί την κατεύθυνση των κατάλληλων ρυθμιστικών παραγόντων σε ειδικές θέσεις σε συγκεκριμένες χρονικές στιγμές. Ωστόσο, τα μέσα με τα οποία ένα σύμπλοκο χωρίς να έχει ικανότητες ειδικής αλληλουχίας δέσμευσης DNA (όπως το σύμπλεγμα καταστολέα Polycomb 2- PRC2), είναι σε θέση να δρά σε συγκεκριμένες θέσεις δεν είναι πλήρως κατανοητό. Ένας αναδυόμενος μηχανισμός περιλαμβάνει τα lncRNA τα οποία καθοδηγούν τα σύμπλοκα τροποποίησης της χρωματίνης συγκρότημα σε συγκεκριμένους στόχους.

Ίσως το καλύτερο χαρακτηριστικό παράδειγμα του ελέγχου από lncRNA είναι το XIST/TSIX μεσολάβηση αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X στα θηλαστικά, η οποία έχει πρόσφαταδειχθεί ότι διασταυρώνονται με την παρεμβολή RNA δηλαδή με το μονοπάτι (RNAi). Στους ανθρώπους, τα γονίδια HOX οργανώνονται σε τέσσερις ομάδες (Hoxa to HOXD) που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα (7p15, 17q21.2, 12q13, και 2q31). Κάθε ομάδα περιέχει 9-11 γονίδια που κωδικοποιούν ένα σχετικά μικρό μέλος γονιδιακών προϊόντων, αλλά αυτά κανονικά δεν εκφράζονται σε πολύ πρώιμα εμβρυϊκά στάδια επειδή υπάρχει μικρή ανάγκη για να σχεδιαστεί ένα σώμα, όταν όλα τα κύτταρα είναι σε μεγάλο βαθμό ίδια και δεν είναι ακόμη έτοιμα να συμβάλουν στο σχηματισμό δομών, όπως όργανα. Οι ομάδες γονιδίων HOX ρυθμίζονται εξελικτικά και διακοσμούνται τόσο από ενεργοποιητικές (H3K4me3) όσο και από κατασταλτικές

(H3K27me3) τροποποιήσεις χρωματίνης. Το HOTAIR είναι ένα lncRNA που μεταγράφεται από τον HOXC τόπο που διατηρεί τη καταστολή των γονιδίων HOXD πριν από την διαφοροποίηση. Το HOTAIR λειτουργώντας σαν ικρίωμα καθοδηγεί της ιστονικές τροποποιήσεις.^{31,39}

Έκφραση rDNA, ενεργειακή απόδοση και γήρανση

Η συμμετοχή του rDNA και του rRNA στη γήρανση παρατηρήθηκε για πρώτη φορά στη ζύμη, η οποία οδήγησε στην αναγνώριση του Sir2, του οποίου οι ορθολογικοί και παράλογοι τύποι είναι γνωστοί ως βασικοί καθοριστικοί παράγοντες της μακροβιότητας του οργανισμού).³⁹ Δεδομένου ότι υπάρχουν εξαιρετικές αναθεωρήσεις σχετικά με το ρόλο του Sirtuins και τους μηχανισμούς γήρανσης στη μαγιά, ενθαρρύνουμε τον αναγνώστη να τους αναφέρει. Παρόλα αυτά, αναδυόμενες μελέτες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που προέρχονται από μαγιά, δείχνουν σαφώς ότι η μεταγραφή ριβοσώματος έχει σημαντικό αντίκτυπο στη γήρανση, γεγονός που εν μέρει οφείλεται στο ενεργειακό κόστος διατήρησης και μεταγραφής των γονιδίων rRNA. Η διατήρηση της χρωματίνης πυρήνωσης και της δομής που επηρεάζει άμεσα την έκφραση rDNA έχει θεωρηθεί ως ένα βασικό κομμάτι στο παζλ που συνδέει το ενεργειακό κόστος της μεταγραφής με τη γήρανση.^{40,41}

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

7.1. Γονιδιωματικό εντύπωμα

Κάθε άτομο κληρονομεί δύο αντίγραφα/αλληλόμορφα κάθε γονιδίου-ένα από τη μητέρα και ένα από τον πατέρα του. Συνήθως και τα δύο αντίγραφα κάθε γονιδίου είναι ενεργά στα κύτταρα. Σε ορισμένες περιπτώσεις όμως, μόνο το ένα από τα δύο αντίγραφα είναι ενεργό: έτσι ορισμένα γονίδια είναι ενεργά μόνο όταν κληρονομούνται από τον πατέρα ενώ άλλα είναι ενεργά μόνο όταν κληρονομούνται από τη μητέρα. Αυτό το φαινόμενο είναι γνωστό ως γονιδιωματικό εντύπωμα.^{40,41,42}

Στα σωματικά κύτταρα των απογόνων, εκδηλώνεται μόνο το πατρικό ή μόνο το μητρικό αλληλόμορφο του εντυπωμένου γονιδίου. Αυτό συμβαίνει διότι κάποια από αυτά τα γονίδια εκφράζονται κατά την ωογένεση και άλλα κατά την σπερματογένεση. Το πρότυπο αυτό έκφρασης είναι ίδιο για όλα τα σωματικά κύτταρα και δεν υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στα θηλυκά και στα αρσενικά άτομα πέρα από κάποιες εξαιρέσεις. Το πρότυπο διατηρείται κατά την ανάπτυξη του οργανισμού και διαγράφεται μόνο στα κύτταρα τις βλαστικής σειράς.

Τα γονίδια που εκφράζονται είναι περίπου 100-200 και βρίσκονται κατά κύριο λόγο εντυπωμένα στα χρωμοσώματα 6, 7, 11, 14, 15, και 20. Από γονίδια αυτά που μπορεί να υπάρχουν και στις ίδιες περιοχές των χρωμοσωμάτων, Δύο μεγάλες συστάδες εντυπωμένων γονιδίων έχουν εντοπιστεί στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 11 (στην περιοχή 11p15) και στο μακρύ σκέλος του χρωμοσώματος 15 (στην περιοχή 15q11 με 15q13).^{43,44}

Για την απόδειξη του γονιδιωματικού εντυπώματος, είναι υπεύθυνη κυρίως η επιγενετική ρύθμιση καθώς τα διαφορετικά μοτίβα επιγενετικών τροποποιήσεων ανάμεσα στα μητρικά και πατρικά χρωμοσώματα είναι αυτά που επιτρέπουν την έκφραση ενός αλληλόμορφου και την αποσιώπηση του άλλου. Ο ρόλος, ουσιαστικά του γονιδιωματικού εντυπώματος είναι, η διαδικασία κατά την οποία η μητρική και πατρική βλαστική σειρά αποκτά διαφορετικό πρότυπο μεθυλίωσης του DNA και τροποποιημένων ιστονών σε συγκεκριμένες γονιδιακές περιοχές, έτσι ώστε το ένα αλληλόμορφο του εντυπωμένου γονιδίου να είναι ενεργό και το άλλο ανενεργό.

Οι περισσότερες πληροφορίες που υπάρχουν για την καλύτερη κατανόηση των επιπτώσεων του γονιδιωματικού εντυπώματος, προκύπτουν από σοβαρές γενετικές ανωμαλίες, για παράδειγμα, η απώλεια επι-μετάλλαξη εντυπώματος, πολλές από τις οποίες σχετίζονται με πολύπλοκα σύνδρομα (Prader-Willi, Angelman, Beckwith-Weidemann) καθώς και οι μονογονεϊκές δισωμίες, οι μεταθέσεις, οι μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας.

Τα γονίδια που έχουν σχέση με τις διαταραχές αυτές μας υποδεικνύουν ότι εντύπωμα είναι

εξαρτημένο από τη γονεϊκή προέλευση, με τον ανώμαλο φαινότυπο να εξαρτάται από το ποιον γονέα κληρονομήθηκε το αναμειγμένο αλληλόμορφο και όχι από την διπλοειδή φύση του γονοτύπου του ατόμου.^{45,46,47}

Για να μπορέσουμε να κατανοήσουμε τις επιπτώσεις της διαταραχής των εντυπωμένων γονιδίων στην εμβρυϊκή ανάπτυξη, θα αναφερθούμε σε συσχετιζόμενα σύνδρομα όπως Angelman (AS), Silver-Russell (SRS) και Beckwith-Wiedemann (BWS), Prader-Willi (PWS).

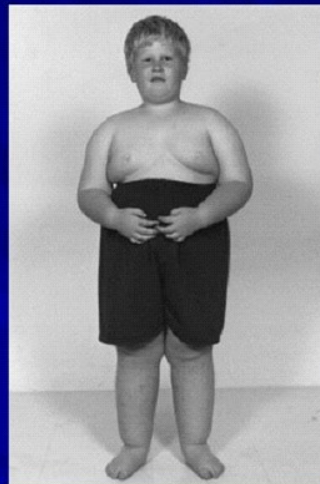
Σύνδρομο Prader-Willi

Τα παιδιά που έχουν προσβληθεί από το σύνδρομο Prader-Willi, ως νεογέννητα δεν αναπτύσσονται επαρκώς αλλά στη συνέχεια της ζωής τους γίνονται παχύσαρκα λόγω της υπερβολικής τροφής που λαμβάνουν. Επίσης, εμφανίζουν εμφανίζουν ιδεοψυχαναγκαστική διαταρχή και νευρικές κρίσεις. Η συχνότητα του συνδρόμου είναι 1 στις 20,000 γεννήσεις.

Το σύνδρομο αυτό είναι το αποτέλεσμα μιας έλλειψης της περιοχής 15q11 έως 15q13 στο χρωμόσωμα 15.

Prader-Willi syndrome

- 1 στις 15.000 γεννήσεις ζώντων
- Χρωμόσωμα 15
- Διαταραχές σίτισης, μυϊκή υποτονία, υπολειπόμενο βάρος ως βρέφη
- Υπερφαγία
- Εκσεσημασμένη παχυσαρκία
- Μικρά άκρα
- Υπογοναδισμός
- Ήπια νοητική καθυστέρηση
- Κοντό ανάστημα



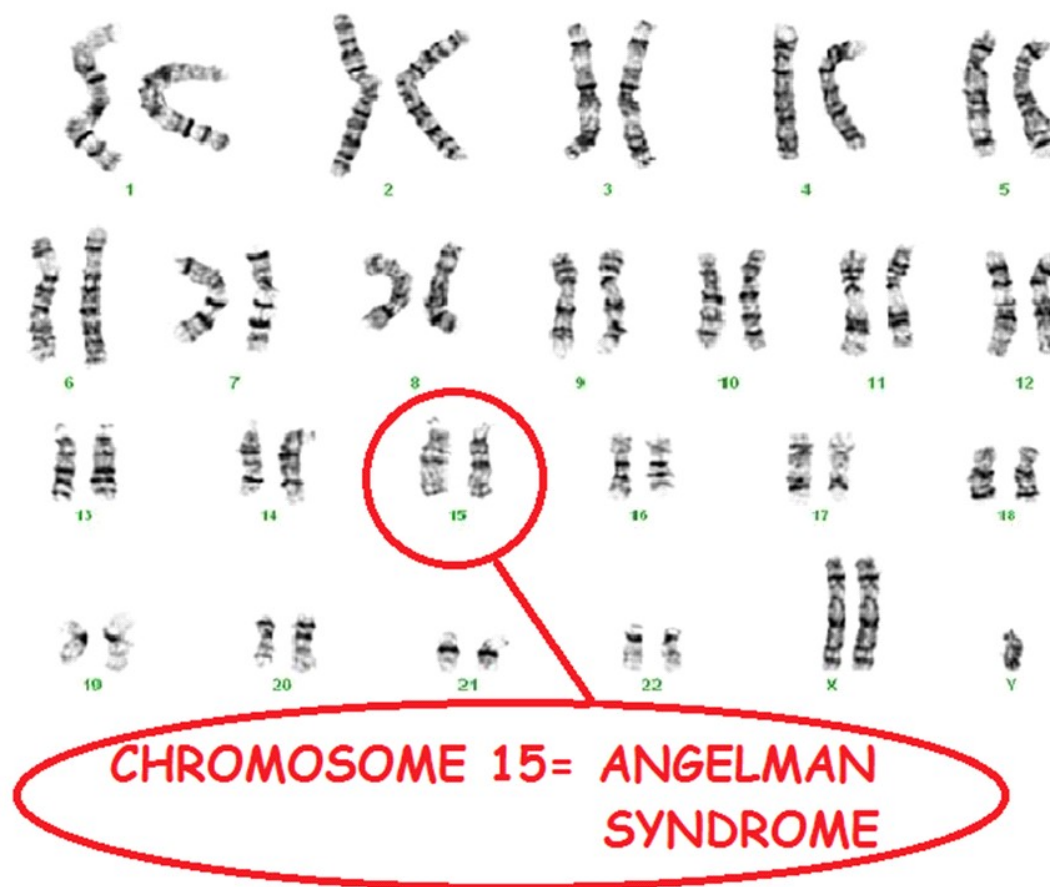
Εικόνα 12η

Σύνδρομο Prader-Willi και τα χαρακτηριστικά του.

(https://www.google.gr/search?q=%CF%83%CF%85%CE%BD%CE%B4%CF%81%CE%BF%CE%BC%CE%BF+prader+willi&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjb8JzypercAhVCC-wKHb2jCgEQ_AUICigB&biw=1584&bih=704#imgc=9DQK3580e3EbrM:)

Σύνδρομο Angelman

Τα παιδιά που έχουν σύνδρομο Angelman, εμφανίζουν μικροκεφαλία, υπερκινητικότητα, νοητική υστέρηση και ιδιαίτερα εύθυμη προσωπικότητα. Η συχνότητα είναι ~1 στις 15,000 γεννήσεις. Το σύνδρομο αυτό οφείλεται στο έλλειμμα της περιοχής 15q11 έως 15q13 του χρωμοσώματος 15.



Εικόνα 13η

Έλλειμμα της περιοχής 15q11 έως 15q13 του χρωμοσώματος 15.

<https://www.maxmag.gr/soma-igia/syndromo-charoumenis-marionetas-syndromo-angelman-as/>

Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου:

Σοβαρή νοητική υστέρηση, απουσία λόγου, ξεσπάσματα γέλιου με χτύπημα χεριών, μικροκεφαλία, μακροστομία, υποπλασία άνω γνάθου, προγναθισμός και νευρολογικά προβλήματα με βάδισμα σαν μαριονέτα, αταξία και επιληπτικές κρίσεις.

Disease	Symptom	Aetiology
ATR-X syndrome	Intellectual disabilities, α -thalassaemia	Mutations in <i>ATR</i> gene, hypomethylation of certain repeat and satellite sequences
Fragile X syndrome	Chromosome instability, intellectual disabilities	Expansion and methylation of CGG repeat in <i>FMR1</i> 5' UTR, promoter methylation
ICF syndrome	Chromosome instability, immunodeficiency	<i>DNMT3b</i> mutations, DNA hypomethylation
Angelman's syndrome	Intellectual disabilities	Deregulation of one or more imprinted genes at 15q11–13 (maternal)
Prader-Willi syndrome	Obesity, intellectual disabilities	Deregulation of one or more imprinted genes at 15q11–13 (paternal)
BWS	Organ overgrowth	Deregulation of one or more imprinted genes at 11p15.5 (e.g. <i>IGF2</i>)
Rett syndrome	Intellectual disabilities	<i>MeCP2</i> mutations
α -Thalassaemia (one case)	Anaemia	Methylation of $\alpha 2$ -globin CpG island, deletion of <i>HBA1</i> and <i>HBQ1</i>
Various cancers	Microsatellite instability	<i>De novo</i> methylation of <i>MLH1</i>
	Disruption of Rb, p53 pathway, uncontrolled proliferation	<i>De novo</i> methylation of various gene promoters
	Disruption of SWI-SNF chromatin remodelling complex	Mutations in <i>SNF5</i> , <i>BRG1</i> , <i>BRM</i>
	Overexpression of <i>IGF2</i> , silencing of <i>CDKN1C</i>	Loss of imprinting
Leukaemia	Disturbed haematopoiesis	Chromosomal translocations involving HATs and HMTs
Rubinstein-Taybi syndrome	Intellectual disabilities	Mutation in CREB-binding protein (histone acetylation)
Coffin-Lowry syndrome	Intellectual disabilities	Mutation in <i>Rsk-2</i> (histone phosphorylation)

Εικόνα 14η

Στην εικόνα αυτήν παρουσιάζονται οι περισσότερες επιγενετικές ασθένειες, τα αίτια και τα συμπτώματά τους.

Σύνδρομο ATR-X, FRAGILE, ICF, ANGELMAN, PRADER-WILLI, RETT, BWS, RUBINSTEIN-TAYBI, COFFIN-LOWRY

α -θαλασσαιμία, λευκαίμια, διάφοροι καρκίνοι

<https://slideplayer.gr/slide/4084545/>

Σύνδρομο Silver-Russell

Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου Silver-Russell (SRS) καθορίζονται από διαταραχή της ανάπτυξης, πριν και μετά τη γέννηση. Πιο συγκεκριμένα :

- τα μικρά παιδιά με αυτή την πάθηση έχουν χαμηλό βάρος γέννησης και συχνά δεν αναπτύσσονται ούτε παίρνουν βάρος με τον αναμενόμενο ρυθμό.
- έχουν ανορεξία
- χαμηλά επίπεδα σακχάρου στο αίμα (υπογλυκαιμία) ως αποτέλεσμα των δυσκολιών σίτισης.
- μικρό, τριγωνικό πρόσωπο με προεξέχον μέτωπο
- στενό πηγούνι και μικρό σαγόνι
- σωματική ασυμμετρία
- μαθησιακές δυσκολίες

Οι ενήλικες άνδρες με το σύνδρομο αυτό έχουν χαμηλό ανάστημα (περίπου 151 εκατοστά) ενώ ο μέσος όρος του ύψους των γυναικών που έχουν προσβληθεί από τη συγκεκριμένη νόσο είναι περίπου 140 εκατοστά. Τέλος, η συχνότητα με την οποία εμφανίζεται η συγκεκριμένη νόσος είναι άγνωστη, αλλά επηρεάζει περίπου 1 στα 75.000 έως 100.000 άτομα.^{48,49,50}



Εικόνα 15^η Σύνδρομο Silver-Russell. Χαρακτηριστική σωματική ασυμμετρία.

(https://www.google.com/search?q=%CF%83%CF%85%CE%BD%CE%B4%CF%81%CE%BF%CE%BC%CE%BF+silver+russel&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKewi5nbWggtTeAhWlzIUkHQ0VAb0Q_AUIEygB&biw=1600&bih=740#imgsrc=q01O8kpT-EhWpM:)

Σύνδρομο Beckwith-Wiedemann (BWS)

Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου Beckwith-Wiedemann (BWS) επηρεάζουν αρκετά μέρη του σώματος, πιο συγκεκριμένα, θεωρείται ένα σύνδρομο υπερανάπτυξης. Τα βρέφη παρουσιάζουν μακροσωμία και στην ηλικία της ανάπτυξης είναι ψηλά ενώ στην ηλικία των 8 ετών η ανάπτυξη επιβραδύνεται ραγδαία με αποτέλεσμα στην ενηλικίωση οι άνθρωποι αυτοί έχουν μειωμένο ύψος.

Επίσης, κάποια από τα παιδιά με αυτό το σύνδρομο εκδηλώνουν ασυμμετρία στα άκρα (ημιυπερπλασία) καθώς και μακρογλωσσία, η οποία μπορεί να επηρεάσει την αναπνοή,

την κατάποση και την ομιλία. Κάποια ακόμη χαρακτηριστικά είναι :

- μεγάλα κοιλιακά όργανα (οργανομεγαλία),
- ομφαλοκήλη
- ζάρες ή λάκκους στο δέρμα κοντά στα αυτιά
- χαμηλά επίπεδα σακχάρου στο αίμα (υπογλυκαιμία) στην παιδική ηλικία
- ανωμαλίες των νεφρών

κίνδυνο ανάπτυξης διαφόρων τύπων κακοήθων όγκων (ιδιαίτερα όγκο Wilms και ηπατοβλάστωμα).

Το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann εμφανίζεται με συχνότητα περίπου 1 στα 13.700 νεογνά σε όλο τον κόσμο.



Εικόνα 16^η Σύνδρομο

Beckwith-Wiedemann

https://int.search.tb.ask.com/search/AJimage.jhtml?&enc=0&n=7849a7d1&p2=%5EHJ%5Expu708%5ETTAB03%5Egr&pg=AJimage&pn=1&ptb=4E4F01A6-F52F-410B-B8B3-28C041C43E37&q=&searchfor=Beckwith-Wiedemann+syndrome&si=EAlaIQobChMI49GktbTj3QIVTJSyCh3jXgCyEAEYAiAAEgJY3vD_BwE&ss=sub&st=sb&tpr=sbt&imgs=1p&filter=on&imgDetail=true

Σε ποσοστό περίπου 20%, το σύνδρομο οφείλεται σε μονογονεϊκή δισωμία της 11p15 εντυπωμένης περιοχής του χρωμοσώματος 11, στην οποία παρουσιάζεται και το γονίδιο του ινσουλινόμορφου αυξητικού παράγοντα 2 (IGF2). Το γονίδιο αυτό βρίσκεται σε 2 ενεργά αντίγραφα αντί του ενός ενεργού (πατρικού) και ενός ανενεργού (μητρικού) αλληλομόρφου. Η πατρική δισωμία εκδηλώνεται κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και επηρεάζει κάποια από τα κύτταρα του σχηματιζόμενου εμβρύου με αποτέλεσμα να υπάρχει το φαινόμενο του μωσαϊκισμού, γεγονός που καθορίζει τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου αυτού.

Από την άλλη πλευρά, το μικρότερο αίτιο του συνδρόμου Beckwith-Wiedemann είναι οι μεταλλάξεις στο γονίδιο CDKN1C. Συγκεκριμένα, το γονίδιο αυτό κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη που έχει σχέση με το στάδιο της ανάπτυξης πριν τη γέννηση και οι μεταλλάξεις στο γονίδιο αυτό, όπως είναι φυσικό, οδηγούν την πρωτεΐνη αυτήν στο να περιορίσει την ανάπτυξη, γεγονός που οδηγεί σε ανωμαλίες υπεράναπτυξης. Ακόμη, σχετικά με τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες, στο συγκεκριμένο σύνδρομο, μόνο το 1% περίπου παρουσιάζουν τέτοια ανωμαλία, όπως μη φυσιολογική αντιγραφή (επανάληψη), ή απώλεια γενετικού υλικού στο χρωμόσωμα 11 και μετατόπιση.^{51,52,53}

Γενικότερα η μοριακή βάση και των δύο συνδρόμων SRS και BWS, παρουσιάζει μεγάλη πολυπλοκότητα καθώς εμπλέκονται δύο διαφορετικές χρωμοσωμικές περιοχές των χρωμοσωμάτων 7 και 11, και συγκεκριμένα η 7p11.2p13 και η 11p15. Το σύνδρομο Beckwith-Wiedemann καθορίζεται από υπερβολική ανάπτυξη στο τέλος της κύησης και την παιδική ηλικία, με αυξημένη πιθανότητα παιδικής ογκογένεσης, ενώ το σύνδρομο Silver-Russell παρουσιάζει χαρακτηριστικά υποανάπτυξης και ασυμμετρίας.

Σύνδρομο	Σχετιζόμενη γονιδιακή περιοχή	Βασικά χαρακτηριστικά	Αιτίες
Prader–Willi	15q11–13	Αμυγδαλωτά μάτια τριγωνικό στόμα, κοντό ανάστημα, βραχεία άκρα, υπογοναδισμός. Αναπτυξιακή καθυστέρηση, υπερφαγία και παχυσαρκία.	Πατρικά ελλείμματα της 15q11-13 ή μητρική, δισωμία της 15q11-13. Σπανιότερα διαταραχές στο πρότυπο μεθυλίωσης
Angelman	15q11–13	Αναπτυξιακή και νοητική υστέρηση, διαταραχή του λόγου, προβλήματα ισορροπίας, μικροκεφαλία. Αναίτια ξεσπάσματα γέλιου με κινήσεις χεριών.	Μητρικά ελλείμματα της 15q11-13 ή σπανίως πατρική δισωμία της 15q11-13. Σημειακές μεταλλάξεις στο μητρικό αλληλόμορφο του

			γονιδίου UBE3A (στο 11%). Σπάνια (1-3%) διαταραχές στο πρότυπο μεθυλίωσης.
Silver–Russell	11p15.5 και 7p11.2p13	Καθυστέρηση της ανάπτυξης, δυσμορφία προσώπου και σωματική ασυμμετρία, χαμηλό ύψος.	Αλλαγές στο πρότυπο μεθυλίωσης των γονιδίων H19 και IGF2 (χρωμόσωμα 11). Μητρική δισωμία χρωμοσώματος 7 (7-10% των περιπτώσεων)
Beckwith–Wiedemann	11p15.5 και 7p11.2p13	Σύνδρομο υπερανάπτυξης. Μακροσωμία, μακρογλωσσία, ημιυπερπλασία, οργανομεγαλία, ανάπτυξη κακοήθων όγκων στην παιδική ηλικία (10% των περιπτώσεων).	Πατρική δισωμία της 11p15 (περιοχή όπου εδράζει το γονίδιο IGF2) ή ανωμαλίες μεθυλίωσης στην περιοχή του γονιδίου <i>IGF2</i> . Σπανιότερα μεταλλάξεις στο γονίδιο <i>CDKN1C</i> .

Πίνακας 1: Ανωμαλίες εντυπώματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

8.1 Κυτταρική γήρανση

Η κυτταρική διαίρεση διακρίνεται στο στάδιο της μίτωσης (mitosis, πυρηνική διαίρεση), στο στάδιο της κυτταροκίνησης (cytokinesis, διαίρεση κυτταροπλάσματος). Λίγο πριν την φάση της μίτωσης, πραγματοποιείται η αύξηση των συστατικών που θα μοιραστούν στα

δύο κύτταρα, στο στάδιο του κυτταρικού κύκλου που ονομάζεται μεσόφαση.

Στην συνέχεια, πραγματοποιείται η διαδικασία της γήρανσης, μια διαδικασία η οποία αποτελείται από μια αργή μείωση των φυσιολογικών ρυθμών με προοδευτική απώλεια της λειτουργικότητας του οργανισμού, σε συνδυασμό με την μειωμένη γονιμότητα, αυξημένη ευπάθεια σχεδόν σε όλο το σύνολο των ασθενειών και τέλος τη σημαντική θνησιμότητα. Αξίζει να σημειωθεί ότι, ένα από τα μεταλύτερα επιτεύγματα του μοντέρνου πολιτισμού είναι η αύξηση του προσδόκιμου μέσου όρου ζωής από 20-30 έτη στον προϊστορικό άνθρωπο σε περίπου 80 έτη το

2000 ενώ προβλέπεται μια πιθανή αύξηση 15 ετών περίπου έως το 2050.

Η εξέλιξη αυτή έχει ως αποτέλεσμα, την σημαντική μείωση της ανθρώπινης θνησιμότητας στους πληθυσμούς των ανεπτυγμένων χωρών, που γίνονται όλο και περισσότερο πιο ηλικιωμένοι όπως για παράδειγμα στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής που στις αρχές του 20ου αιώνα μόλις το 4% του πληθυσμού ήταν πάνω από 65 ετών, ενώ σήμερα το ποσοστό αυτό έχει ανέλθει στο 13%.

Προσδόκιμο Επιβίωσης

Έτος	Διάρκεια Ζωής (Έτη)
100 μ.Χ.	22
Μεσαίωνας	33
1900	49
^c 1950	68
1990	75
2050	85

Εικόνα 17^η

Παρουσιάζεται ανά χρονολογίες το προσδόκιμο επιβίωσης (αύξηση διάρκειας ζωής).

<https://slideplayer.gr/slide/12305082/>

8.2. Γήρανση και Μακροβιότητα

Οι κλάδοι της έρευνας που σχετίζονται με την γήρανση είναι α) η βιογεροντολογία και β) η γηριατρική ιατρική που είναι η έρευνα για τις ασθένειες (καρκίνος, καρδιαγγειακές νόσοι, κτλ.). Το γήρας διαχωρίζεται σαφώς από τις διάφορες ασθένειες δεδομένου ότι,

α. Λαμβάνει χώρα σε όλα τα ζώα που φτάνουν ένα δεδομένο μέγεθος κατά την ενηλικίωση,

β. Λαμβάνει χώρα σε όλα τα μέλη ενός είδους μετά την αναπαραγωγική ηλικία και

γ. Παρατηρείται σε ζώα που διατηρούνται σε κατάσταση αιχμαλωσίας και τα οποία δεν έχουν αντιληφθεί το γήρας για χιλιάδες χρόνια.

Η γήρανση λοιπόν στον άνθρωπο, είναι το αποτέλεσμα της τεχνολογικής εξέλιξης στις βιοϊατρικές επιστήμες και στην πραγματικότητα αποτελεί μια τεχνητή κατάσταση αφού τα ζώα σε άγρια κατάσταση (όπως και ο άνθρωπος στο 99.9% της εξέλιξης του) δεν αντιμετωπίζουν το γήρας γιατί απλούστατα σχεδόν ποτέ δε φτάνουν σε ηλικία γήρατος. Το γήρας είναι μια στοχαστική διαδικασία που χαρακτηρίζεται από σημαντική ετερογένεια, διότι το γονιδίωμα έχει συγκεκριμένες οδηγίες για την ανάπτυξη, πράγμα το οποίο δεν συμβαίνει και με τη διαδικασία του γήρατος.

Έτσι λοιπόν η διαδικασία του γήρατος εξαρτάται τόσο από το γενετικό υπόβαθρο του ατόμου όσο και από τη συσσώρευση επιγενετικών αλληλεπιδράσεων κατά την ανάπτυξη που συμβαίνουν στο περιβάλλον του ενήλικα (γενετική αστάθεια και στρες).

ΘΕΩΡΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ

Η γήρανση δεν μπορεί να θεωρηθεί ως ένα γεγονός το οποίο είναι αναπόφευκτο διότι ο φαινότυπος της γήρανσης είναι φυλογενετικά διασπαρμένος καθώς υπάρχουν και περιπτώσεις ειδών όπου δεν παρατηρείται μείωση της γονιμότητας ή αύξηση θνησιμότητας λόγω γήρανσης.

Το πρώτο θεώρημα για την εξέλιξη της είναι ότι η γήρανση είναι προγραμματισμένη. Το φαινόμενο της γήρανσης αποτελείται από ένα τρόπο που μπορεί να μειώσει το πληθυσμό

και να επιταχύνει την εναλλαγή των γενεών βοηθώντας έτσι την προσαρμογή τους σε νέα περιβάλλοντα που αλλάζουν, ωστόσο, πολύ σπάνια οδηγεί στην θνησιμότητα στην φύση διότι, τα πιο πολλά άτομα πεθαίνουν (κρύο, πείνα, μολύνσεις) πολύ πριν γεράσουν.

Μια ακόμα θεωρία για την γήρανση αποτελεί και η διαδικασία της συσσώρευσης μεταλλαγών, όπου ένα μεταλλαγμένο γονίδιο που μειώνει την ικανότητα επιβίωσης ενός νεογνού θα υποστεί ισχυρή αρνητική επιλογή. Ενώ αντίστροφα, ένα γονίδιο με παρόμοια δράση η οποία εντοπίζεται σε ηλικία μεγαλύτερη των 90 ετών δεν θα

υποστεί επιλογή διότι οι φορείς του γονιδίου αυτού θα το έχουν ήδη κληρονομήσει στους απογόνους τους πριν η δράση του γίνει εμφανής.

Έτσι λοιπόν, στην διάρκεια της εξέλιξης, τα γονίδια που έχουν δράση σε

προχωρημένη ηλικία θα συσσωρεύονται και αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των ρυθμών της θνησιμότητας σε συνδυασμό με την αύξηση της ηλικίας. Τα γονίδια αυτά μπορεί και να ευνοούνται κατά την εξέλιξη αν τα αποτελέσματά τους είναι θετικά νωρίς στη ζωή ακόμη και αν έχουν αρνητικά αποτελέσματα σε μεγάλη ηλικία, ένας γενετικός μηχανισμός που ονομάζεται “ανταγωνιστικός πλειοτροπισμός”.

Συμπερασματικά λοιπόν, οι εξωτερικοί παράγοντες που μπορούν να προκαλέσουν τον θάνατο στη φύση υπάρχουν σε μεγάλη συχνότητα που η θνησιμότητα λόγω γήρατος να είναι πλέον μια σπάνια κατάσταση, πράγμα το οποίο σημαίνει πως η πιθανότητα να έχουν εξελιχθεί γονίδια ειδικά για την επαγωγή της γήρανσης είναι μάλλον μικρή.

Επίσης, βάση της συσσώρευσης των μεταλλαγών σε μεγαλύτερες ηλικίες είναι

δυνατόν να επιτρέπεται η συσσώρευση βλαβερών μεταλλαγών που δρουν σε

προχωρημένη ηλικία, καθώς και διάφορα πλειοτροπικά γονίδια που είναι ωφέλιμα για τον οργανισμό σε νεαρή ηλικία θα επιλεγούν εξελικτικά ακόμη και αν είναι βλαβερά σε μεγάλη ηλικία (θεωρία του πλειοτροπισμού).

Είναι φανερό ότι στην ανάπτυξη του φαινοτύπου της γήρανσης πιθανότατα εμπλέκονται αρκετά γονίδια από τα οποία κάποια χαρακτηρίζουν συγκεκριμένα άτομα ενώ άλλα χαρακτηρίζουν τον πληθυσμό γενικότερα. Πράγματι, πρόσφατη σύγκριση (με τη βοήθεια γονιδιακών μικροσυστοιχιών – gene microarrays) του προτύπου γονιδιακής έκφρασης νεαρών και γηρασμένων κυττάρων ή κυττάρων από σύνδρομα πρόωμης γήρανσης, έδειξε αλλαγή στα επίπεδα έκφρασης στο 1-2% των γονιδίων που μελετήθηκαν (σε επίπεδο ανθρώπινου γονιδιώματος περίπου 300–600 γονίδια).

Η γήρανση είναι μια διαδικασία που πραγματοποιείται σε όλα τα επίπεδα βιολογικής οργάνωσης και κατά αυτή την έννοια δεν είναι δυνατός ο διαχωρισμός μεταξύ κυτταρικών κυτταρικών μεταβολών και γήρανσης σε επίπεδο οργανισμού.

ΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΓΗΡΑΝΣΗ

🟢Επιβίωση ατόμων (θεμελιώδης αρχή εξέλιξης)

- 🟡Αναπαραγωγή & μεγάλωμα νεογνών

🟡Διαδικασία γήρανσης (ageing)

- 🔴Αργή μείωση φυσιολογικών ρυθμών
- 🔴Προοδευτική απώλεια λειτουργικότητας οργανισμού
- 🔴Μειωμένη γονιμότητα
- 🔴Αυξημένη ευπάθεια στη πλειονότητα των ασθενειών
- 🔴Σημαντική θνησιμότητα

🟢ΠΑΡΑΤΗΡΕΙΤΑΙ ΣΕ:

- 🟡Όλα τα ζώα κατά την ενηλικίωση που αποκτούν ορισμένο μέγεθος
- 🟡Όλα τα μέλη ενός είδους, μετά την αναπαραγωγική ηλικία
- 🟡Όλα τα ζώα σε κατάσταση αιχμαλωσίας
- 🟡Τεχνητή κατάσταση λόγω βιοϊατρικής επανάστασης: ποτέ δεν θα έφταναν σε ηλικία γήρατος

<https://slideplayer.gr/slide/12956976/>

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΠΟΥ ΕΜΠΛΕΚΟΝΤΑΙ ΣΤΗ ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΜΑΚΡΟΒΙΟΤΗΤΑΣ ΣΕ ΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟ

Υπάρχουν κάποιοι μοριακοί μηχανισμοί και γονίδια τα οποία ελέγχουν τη γήρανση και μπορούν να συνεισφέρουν στην επιτάχυνση ή επιβράδυνση αυτής. Πειραματικά μοντέλα μελέτης της γήρανσης αφορούν είτε την απομόνωση γονιδίων που σε επίπεδο οργανισμού μεταβάλλουν το χρονικό ορίζοντα εμφάνισης του φαινοτύπου της γήρανσης, είτε τη μελέτη της γήρανσης στο επίπεδο του κυττάρου (cellular senescence) και την απομόνωση των γονιδίων που εμπλέκονται στη διαδικασία αναστολής του κυτταρικού κύκλου, είτε λόγω μειωμένου μήκους τελομερών, είτε λόγω συσσώρευσης στρες.

1. Η ικανότητα απόκρισης στο οξειδωτικό στρες.

Η κατηγορία αυτή αποτελείται από τον αριθμό θερμίδων που προσλαμβάνονται στον οργανισμό, ο ρυθμός του μεταβολισμού, το γονίδιο *methuselah* στη *Drosophila* (υποδοχέας με δράση επαγωγέα γήρανσης) και το γονίδιο *p66* στον ποντικό (προσαρμοστής με δράση επαγωγέα γήρανσης).

2. Γονίδια που θεωρούνται ασπίδα απέναντι στον καρκίνο, αφού πρόσφαταδείχθηκε στον ποντικό ότι υπερέκφραση κάποιων τμημάτων της πρωτεΐνης *p53* επάγει πρόωμη γήρανση (μοριακή διασύνδεση καρκίνου και γήρανσης).

3. Ορμονικοί παράγοντες όπου περιλαμβάνονται:

A) Το γονίδιο *Klotho* στον ποντικό (εκκρινόμενη πρωτεΐνη με πιθανή δράση αντι-γηραντικής ορμόνης).

B) Ενδοκρινή ορμονικά σήματα που φαίνεται ότι συνδέονται με τη γήρανση αφού μεταλλαγές σε γονίδια που αναστέλλουν την ανάπτυξη του αδένου της υπόφυσης προκαλούν νανισμό και αύξηση της μακροβιότητας. Ένα τέτοιο γονίδιο στον ποντικό κωδικοποιεί για τη πρωτεΐνη *Prophet* (*PROP1*: επαγωγέας γήρανσης) που εκφράζεται ειδικά στην εμβρυϊκή υπόφυση και απαιτείται για την έκφραση ενός άλλου γονιδίου του *Pit-1* που είναι απαραίτητο για την ανάπτυξη της υπόφυσης.

Γ) Τα ποντίκια *Ames dwarf* (με μεταλλαγμένο *PROP1*) δεν έχουν αρκετές ορμόνες και ζουν περίπου 50% παραπάνω από τα φυσιολογικά αν και δεν είναι ξεκάθαρο γιατί συμβαίνει αυτό.

Έως και σήμερα ένα μονοπάτι μεταγωγής σήματος το οποίο άμεσα σχετίζεται με τον ορμονικό έλεγχο είναι ένα σύστημα ενδοκρινές που αποτελείται από τέσσερις ορμόνες και είναι πανομοιότυπο με το σύστημα της ινσουλίνης που είναι υπεύθυνο για τον έλεγχο της μακροβιότητας στο σκουλήκι *Caenorhabditis elegans*, γεγονός το οποίο αποδεικνύει ότι πιθανότατα η μακροβιότητα ελέγχεται ορμονικά στο *C. Elegans*. Για την ρύθμιση αυτήν είναι υπεύθυνοι δυο ιστοί που είναι αναγκαίοι για την επιβίωση στη φύση και αποτελούνται από

1) ένα σύστημα αισθητήριων νευρώνων που παρακολουθεί τις περιβαλλοντικές συνθήκες και

2) το αναπαραγωγικό σύστημα.

Οι μεταλλαγές που συμβαίνουν μπορούν να μειώσουν την ευαισθησία και την ικανότητα των αισθητήριων και να αυξήσουν την μακροβιότητα και 50%, ενώ η αφαίρεση των προγονικών κυττάρων του συστήματος αναπαραγωγής μπορεί να αποτελέσει την αύξηση της

μακροβιότητας του ατόμου ακόμη και μέχρι το 60%.

Τα δυο αυτά συστήματα σε συνδυασμό μπορούν να ρυθμίσουν την μακροβιότητα ενός οργανισμού μέσω ενός συγκεκριμένου μονοπατιού μεταγωγής σήματος του γονιδίου DAF-2 το οποίο κωδικοποιεί για ένα insulin/IGF-1 ομόλογο με δράση επαγωγέα γήρανσης. Επίσης, ένα περιβαλλοντικό σήμα όπως είναι για παράδειγμα η διαθεσιμότητα της τροφής ή η φερορμόνη, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την έκκριση από αισθητικά νεύρα ενός insulin/IGF-1-like DAF-2 προσδέτη. Διαφορετικά, η έκκριση του DAF-2 προσδέτη, μπορεί να ρυθμιστεί και από αισθητήριους νευρώνες από κάποια άλλα κύτταρα. Η μακροβιότητα λοιπόν μπορεί να επηρεαστεί από τα κύτταρα –στόχους τα οποία είτε επάγουν είτε καταστέλλουν των παραγωγή ενός σήματος .

Το DAF-2, φαίνεται επίσης ότι επηρεάζει τη μεταγωγή ενός σήματος στις γονάδες που σχετίζεται με τη ρύθμιση της μακροβιότητας αν και δεν είναι ξεκάθαρο ποια κύτταρα δρουν σε αυτό το σύστημα μεταγωγής σήματος. Μεταλλαγές που μειώνουν τα επίπεδα του DAF-2 έχουν σαν αποτέλεσμα το ζώο να παραμένει νεαρό και ενεργητικό για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα και να ζει το διπλάσιο διάστημα.

Επίσης, ένα εξαρτώμενο και συντηρημένο μονοπάτι μεταγωγής σήματος το PI(3)K/PDK1 ενεργοποιείται από το DAF-2. Οι μεταλλαγές των συστατικών του μονοπατιού αυτού έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της μακροβιότητας ενώ αντίθετα εάν συμβούν μεταλλαγές στο γονίδιο DAF-18, το οποίο είναι αρνητικός ρυθμιστής του μονοπατιού αυτού, μπορεί να μειωθεί η αύξηση της μακροβιότητας που προκαλείται λόγω των μεταλλαγών daf-2 και age-1. Το μονοπάτι μεταγωγής σήματος του DAF-2 ρυθμίζει επίσης την είσοδο σε μια εναλλακτική αναπτυξιακή φάση που ονομάζεται dauer, κατά την οποία σταματά η ανάπτυξη και το ζώο γίνεται ιδιαίτερα ανθεκτικό στο οξειδωτικό στρες.

Αυτή η κατάσταση δημιουργείται μόνο σε άτομα μικρής ηλικίας, σε νεαρά άτομα και μπορεί να προκληθεί για δυο λόγους , είτε λόγω συνωστισμού, κάτι ανάλογο της δημιουργίας σπορίων σε χαμηλότερους οργανισμούς , είτε λόγω σπανιότητας τροφής.

Θα πρέπει να σημειωθεί βέβαια ότι, παρότι είναι σαφές ότι το οξειδωτικό στρες επάγει γήρανση δεν θα πρέπει να είναι η μόνη αιτία εμφάνισης του φαινοτύπου, δεδομένου ότι ουσίες που μειώνουν τις βλάβες λόγω οξειδωτικού στρες δεν επάγουν μακροβιότητα σε κάποιες μεταλλαγές του *C. Elegans* (αν και σε αρκετές περιπτώσεις είναι δυνατή η επαγωγή μακροβιότητας με μη-γενετικές μεθόδους που αυξάνουν την αντοχή στο στρες).

4. Γονιδιακή σιγή.

Ένα γονίδιο που εμπλέκεται στη σίγαση της χρωματίνης (ως γονιδιακή σίγηση ορίζεται η διαδικασία όπου ολόκληρες περιοχές χρωμοσωμάτων που περιέχουν μεγάλο αριθμό γονιδίων

παραμένουν μεταγραφικά ανενεργές), είναι πολύ πιθανόν να αποτελέσει ένα σημαντικό ρυθμιστή του φαινοτύπου της γήρανσης και αυτό το συμπέρασμα προκύπτει από μελέτες οι οποίες έχουν γίνει στο μύκητα *Saccharomyces cerevisiae*. Έτσι, η γονιδιακή σιγή στο σακχαρομύκητα γίνεται μέσω ενός συμπλέγματος πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τη πληροφορία σιγής (γονίδια Sir), των τελομερών και των γονιδίων που ελέγχουν τον τύπο του ζευγαρώματος (mating-type).

Πιο ειδικά το γονίδιο Sir2 πραγματοποιεί δράση της απο-ακετυλάσης (deacetylase) ιστονών (η ενεργότητα αυτή είναι συντηρημένη από τα βακτήρια έως τα θηλαστικά) και δρα αυξάνοντας την γονιδιακή σιγή μέσω Sir2 η οποία εκτείνει τη διάρκεια της ζωής του σακχαρομύκητα. Ταυτόχρονα η απουσία της πρωτεΐνης Rpd3 (απο-ακετυλάση ιστονών) αυξάνει τη μακροβιότητα και αυξάνει τη σιγή του rDNA και η σιγασμένη χρωματίνη στις επαναλήψεις του rDNA δρα καταστέλλοντας τον ανασυνδυασμό που αλλιώς δημιουργεί εξτρα-χρωμοσωμικούς κύκλους rDNA (ERCs) που συσσωρεύονται στις διαιρέσεις γεγονός το οποίο αποτελεί μια αιτία γήρανσης.

Το γεγονός αυτό εξηγεί ότι η κανονική γήρανση προκαλείται από μια βαθμιαία συσσώρευση γονιδιακής σιγής και έτσι μια αυξανόμενη απότομη έκφραση των παραγόντων σιγής ίσως αναστέλλει αυτές τις αλλαγές. Επίσης, το γονίδιο SNF1 το οποίο κωδικοποιείται για μια κινάση, ενεργοποιεί τα γονίδια που είναι απαραίτητα για να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικές πηγές άνθρακα (εκτός από γλυκόζη) και φαίνεται ότι πιθανότατα εμπλέκεται στη διαδικασία της γήρανσης.

5. Ο αριθμός των απογόνων του ατόμου.

Είναι εξαιρετικά πιθανόν να υπάρχει συσχέτιση ανάμεσα στην αύξηση του αριθμού των απογόνων, της μειωμένης μακροβιότητας και του αναπαραγωγικού συστήματος.

6. Άγνωστα γονίδια μακροβιότητας

Είναι κάποια γονίδια που χαρτογραφήθηκαν με ανάλυση σύνδεσης σε οικογένειες με υπεραιωνόβια άτομα στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 4 (αναστολείς γήρανσης).

7. Σε κυτταρικό επίπεδο.

Ο συνδυασμός της μείωσης του μήκους των τελομερών (πάνω από ένα όριο), ο επαγωγέας της

αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της χρόνιας συσσώρευσης μικρών ποσοτήτων στρες ή ακόμη και η έκθεση σε οξύ στρες (επαγωγέας αναστολής κυτταρικού πολλαπλασιασμού).

8.3 Πρώιμη Κυτταρική Κυτταρική Γήρανση Γήρανση λόγω λόγω στρες

Μια αδιαμφισβήτη παρατήρηση που σχετίζεται με την ανάπτυξη του φαινοτύπου της γήρανσης είναι η θετική επίδραση των παραγόντων οξειδωσης όσον αφορά την επιτάχυνση του φαινομένου. Για παράδειγμα αναφέρουμε ότι η καλλιέργεια ανθρώπινων ινοβλαστών σε χαμηλή συγκέντρωση οξυγόνου επάγει αύξηση του αριθμού των PDs, ενώ η χορήγηση εξωγενούς H_2O_2 σε ανθρώπινα κύτταρα επάγει αναστολή αύξησης και φαινοτυπικές αλλαγές όμοιες με αυτές της ΑΚΓ. Πιθανολογείται επίσης ότι η επαγωγή του φαινοτύπου της γήρανσης λόγω υπερέκφρασης του γονιδίου Ras προκαλείται λόγω αύξησης των επιπέδων οξειδωσης. Είναι φανερό λοιπόν, ότι η διαβίωση σε ένα περιβάλλον πλούσιο σε οξυγόνο απαιτεί την εξέλιξη αποτελεσματικών κυτταρικών στρατηγικών για τον εντοπισμό και την αποτοξίνωση των μεταβολιτών του μοριακού οξυγόνου που είναι γνωστοί σαν ενεργές ελεύθερες ρίζες(ROS). Είναι επίσης σαφές ότι η παραγωγή οξειδωτικών μαζί με την ικανότητα των οργανισμών να αποκρίνονται στο οξειδωτικό στρες συνδέεται άμεσα με τη γήρανση και τη μακροβιότητα

Δίκτυο αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στη πρόκληση βλαβών και στη διαδικασία επιδιόρθωσης του πυρηνικού, του μιτοχονδριακού και του τελομερικού DNA, την ΑΚΓ, την απόπτωση και τη γήρανση. Τα κύρια στοιχεία είναι:

(i) η αποτελεσματικότητα αφαίρεσης βάσεων (και επιδιόρθωσης) του DNA αν και διαφορετική μεταξύ του πυρηνικού και του μιτοχονδριακού DNA σχετίζεται άμεσα με το ρυθμό γήρανσης.

(ii) Η ενεργότητα της πρωτεΐνης PARP-1 επηρεάζει το ρυθμό γήρατος όχι μόνο έσω διέγερσης της αφαίρεσης βάσεων του DNA αλλά και μέσω μείωσης της παραγωγής ROS

από τα μιτοχόνδρια εξαιτίας της κατανάλωσης NAD⁺ και μιας πιθανής (αν και προς το παρόν ανεξήγητης) συμμετοχής των μιτοχονδρίων στην διατήρηση των τελομερών.

(iii) Η βλάβη του μονόκλωνου τελομερούς είναι δυνατόν να επάγει ΑΚΓ όχι μόνο στους ανθρώπινους ινοβλάστες αλλά και σε άλλους τύπους κυττάρων .

(iv) Η ΑΚΓ συνοδεύεται από σημαντικές αλλαγές στο πρότυπο έκφρασης διαφόρων γονιδίων και αυτές με σειρά τους συνεισφέρουν σε μεταβολές λόγω γήρατος σε διάφορους ιστούς.

(v) Τα μιτοχόνδρια , τα οποία προκαλούν ενδογενές στρες μέσω της παραγωγής ROS διπλασιάζονται ανεξάρτητα από τη κυτταρική διαίρεση. Αν τα μιτοχόνδρια με βλάβες πολλαπλασιάζονται γρηγορότερα από τα ανέπαφα φυσιολογικά μιτοχόνδρια είναι δυνατόν να προκληθεί αύξηση του ρυθμού απώλειας κυττάρων (λόγω συσσώρευσης κατεστραμμένων μιτοχονδρίων εντός του κυττάρου).

8.4. Κυτταρική γήρανση και επιγενετική ρύθμιση

Η διαδικασία της γήρανσης είναι ένα φαινόμενο κατά το οποίο πραγματοποιούνται μεταβολές τόσο σε κυτταρικό όσο και σε μοριακό επίπεδο όπως είναι η μείωση του μήκους των τελομερών, μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων κ.α. Καθώς έχειδειχθεί ότι οι επιγενετικοί μηχανισμοί μεταβάλλονται κατά την διάρκεια της ζωής ενός ατόμου υποδηλώνεται ότι για την διαδικασία της γήρανσης οι επιγενετικές αλλαγές παίζουν σημαντικό ρόλο.

Ένας από τους επιγενετικούς μηχανισμούς που έχει μελετηθεί κατά τη γήρανση είναι η μεθυλίωση του DNA, σε δινουκλεοτίδια CpG (νησίδες CpG). Τα δινουκλεοτίδια αυτά, υπάρχουν πολύ συχνά κοντά σε γονίδια, σε υποκινητές γονιδίων και έχουν άμεση σχέση με τα επίπεδα της έκφρασης των γονιδίων.

Ακόμη μελέτες έχουν παρουσιάσει ότι τα συνολικά επίπεδα μεθυλίωσης του DNA τείνουν να παρουσιάζουν αύξηση στα πρώτα κυρίως χρόνια της ζωής ενώ αντίστροφα, μειώνονται

από την αρχή της ενηλικίωσης.

Σε πιο πρόσφατες μελέτες, με την εξέλιξη της τεχνολογίας (μικροσυστοιχίες, ανάλυση ακολουθίας επόμενης γενεάς), παρατηρήθηκαν μεταβολές στη μεθυλίωση του DNA με την ηλικία και εντοπίστηκαν ορισμένα ειδικά πρότυπα μεθυλίωσης για συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους που φαίνεται να σχετίζονται με την ηλικία. Ακόμη, έχει παρατηρηθεί ότι κάποιες θέσεις CpG, έχουν άμεση σχέση με την ηλικία, σε τέτοιο βαθμό που μοντέλα πρόβλεψης που χρησιμοποιούν έναν μικρό αριθμό αυτών των θέσεων μπορούν να προβλέψουν με ακρίβεια τη χρονολογική ηλικία του δότη. Αυτές οι ενδείξεις σε συνδυασμό, υποδηλώνουν την ύπαρξη δυο φαινομένων που συμβάλλουν στις μεταβολές της μεθυλίωσης του DNA, που σχετίζονται με την ηλικία : α) την επιγενετική μετατόπιση και β) το επιγενετικό ρολόι.

Η ανασκόπηση αυτή ασχολείται, τόσο με την υγιή γήρανση του ανθρώπου σε όλη τη διάρκεια της ζωής, με την μεθυλίωση του DNA, όσο και με τον συνδυασμό των αλληλεπιδράσεων ανάμεσα στο γένωμα, το περιβάλλον και το επιγένωμα, που επηρεάζουν τον ρυθμό της γήρανσης. ^(54,55,56)

Ακόμη, το φαινόμενο της κυτταρικής γήρανσης ορίστηκε αρχικά από τον Hayflick, ως <<μια σταθερή διακοπή του κυτταρικού κύκλου σε συνδυασμό με στερεοτυπικές φαινοτυπικές αλλαγές>>, και περιγράφηκε αρχικά σε ανθρώπινους ινοβλάστες σε in vitro καλλιέργεια (Hayflick and Moorhead, 1961). Στις μέρες μας η κυτταρική γήρανση ορίζεται ως μια διαδικασία η οποία προκαλείται από την μείωση του μήκους των τελομερών αλλά και από άλλες διαδικασίες και είναι ανεξάρτητες από τα τελομερή. Πιο συγκεκριμένα, η μη-τελομερική βλάβη στο DNA και η απο-καταστολή της θέσης INK4 / ARF, και οι δύο από τις οποίες εμφανίζονται προοδευτικά με την πάροδο του χρόνου, είναι επίσης ικανές να προκαλέσουν γήρανση. ^(57,58,59,60)

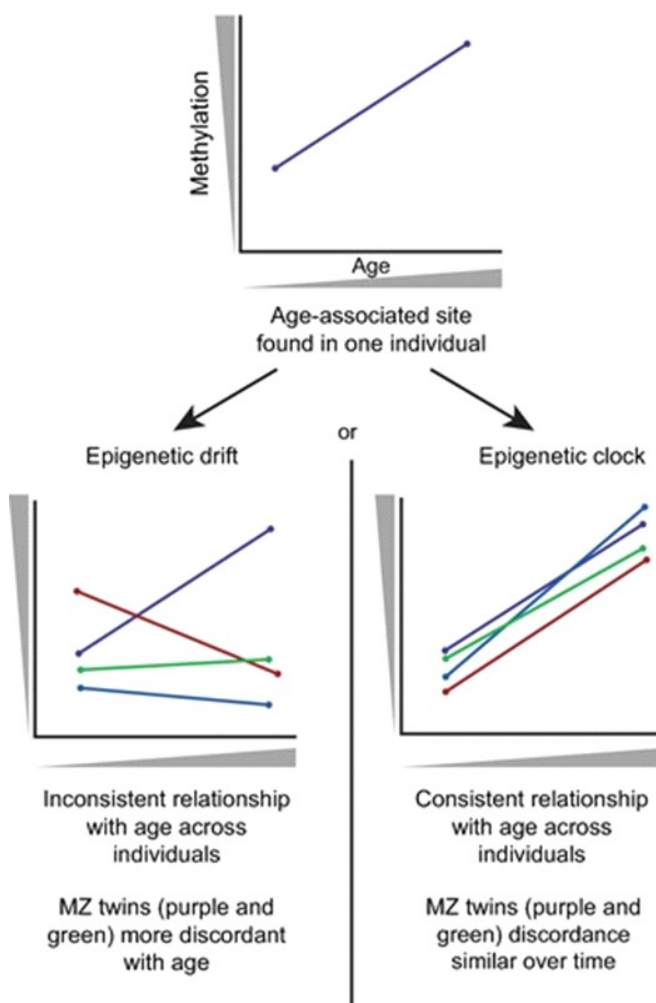
Σε έρευνες διαπιστώθηκε ότι, μια λεπτομερής και παράλληλη ποσοτικοποίηση της χρώσης sen-beta-gal, και της βλάβης του DNA στο ήπαρ παρήγαγαν συγκρίσιμα ποσοτικά δεδομένα, αποδίδοντας συνολικά 8% γήρανση σε νεαρά ποντίκια και 17% σε πολύ γηρασμένα ποντίκια. ^(61,62,63)

Με τα παραπάνω στοιχεία ως δεδομένα θεωρείται ότι, η κυτταρική γήρανση δεν είναι γενικευμένη ιδιότητα όλων των ιστών σε ηλικιωμένους οργανισμούς. Η συσσώρευση των γηρασμένων κυττάρων μπορεί να αντικατοπτρίζει είτε αύξηση στον ρυθμό δημιουργίας γηρασμένων κυττάρων ή και μείωση στον ρυθμό κάθαρσης αυτών ως συνέπεια μίας εξασθενημένης ανοσοαπόκρισης.

Παρ' όλα αυτά, ο κύριος σκοπός της διαδικασίας της γήρανσης είναι να αποτρέψει τον πολλαπλασιασμό κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη και να προκαλέσει την απομάκρυνσή τους από το ανοσοποιητικό σύστημα. Ως εκ τούτου, είναι πιθανό ότι η γήρανση είναι μια ωφέλιμη αντισταθμιστική απόκριση που συμβάλλει στην εκκαθάριση

των ιστών από χαλασμένα και δυνητικά καρκινογόνα κύτταρα.^{62,63,64}

Αυτό το κυτταρικό σημείο ελέγχου, ωστόσο, απαιτεί ένα αποτελεσματικό σύστημα αντικατάστασης κυττάρων που περιλαμβάνει την κάθαρση των γηρασμένων κυττάρων και την κινητοποίηση των προγονικών βλαστοκυττάρων για την αποκατάσταση των κυτταρικών αριθμών. Ωστόσο, στους οργανισμούς που είναι ηλικιωμένοι αυτές οι διαδικασίες παρατηρείται εξάντληση της αναγεννητικής ικανότητας των βλαστοκυττάρων με αποτέλεσμα τη συσσώρευση γηρασμένων κυττάρων που μπορεί να επιδεινώσουν τη βλάβη και να συμβάλουν στη γήρανση.^{64,65,66,67,68}



Εικόνα 18η

Σχηματική αναπαράσταση της επιγενετικής ολίσθησης έναντι του επιγενετικού ρολογιού.

Η βιολογική ηλικία ενός ανθρώπου μπορεί να εκτιμηθεί από τα επίπεδα «μεθυλίωσης» του DNA. Οι μεθυλομάδες δεν αλλάζουν την αλληλουχία των βάσεων του DNA,

λειτουργούν όμως ως «επιγενετικοί παράγοντες», δηλαδή ως χημικοί διακόπτες που ρυθμίζουν τη λειτουργία των γονιδίων, οι άνθρωποι των οποίων η πραγματική ηλικία είναι μικρότερη από τη βιολογική ηλικία, όπως αυτή μετράται από τα επίπεδα μεθυλίωσης, είναι πιθανότερο να πεθάνουν σε σχετικά μικρή ηλικία. Αντίστοιχα, τα άτομα των οποίων η βιολογική ηλικία είναι μικρότερη από την πραγματική είναι πιθανότερο να φτάσουν σε μεγάλη ηλικία.

Πιο συγκεκριμένα, εάν μια συγκεκριμένη τοποθεσία CpG σχετίζεται με την ηλικία (πάνω) μέσα σε ένα άτομο, μπορεί να υποβληθεί είτε σε επιγενετική μετακίνηση (αριστερά) είτε σε επιγενετικό ρολόι (δεξιά). Και τα δύο φαινόμενα έχουν διαφορετικά χαρακτηριστικά όταν εξετάζονται σε έναν πληθυσμό ή εντός ενός σετ διδύμων.^{69,70,71,72}

Αυξημένος μεταγραφικός θόρυβος

Επίσης, ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα της γήρανσης είναι η απώλεια του μεταγραφικού ελέγχου, που συχνά εκδηλώνεται είτε με τη μορφή έκφρασης εκτροπής γονιδίου είτε με αύξηση της ετερογένειας στους πληθυσμούς (σε κυτταρικά και οργανικά επίπεδα). Μελέτες σε διάφορα είδη έχουν δείξει ότι με την αύξηση της ηλικίας, η γονιδιακή έκφραση τείνει να γίνει πιο στοχαστική, όπως φαίνεται από το αυξημένο επίπεδο θορύβου στα μεταγραφικά προφίλ. Αυτή η μείωση του λόγου σήματος προς θόρυβο έχει προταθεί ως μία από τις κύριες αιτίες της γήρανσης και των ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία.⁷⁰

Υπάρχουν αναφορές που υποστηρίζουν ή υπέρ αυτής της υπόθεσης και οι περισσότερες από αυτές τις διαφορές μπορούν να αποδοθούν είτε σε συγκεκριμένες επιδράσεις ιστού είτε αυτές που προκύπτουν από πειραματικές προσεγγίσεις που δεν έχουν υψηλή ευαισθησία. Ωστόσο, η αναδυόμενη βιβλιογραφία φαίνεται να υποδεικνύει μια σημαντική συσχέτιση μεταξύ του μεταγραφικού θορύβου και της γήρανσης.⁷¹

Ένα από τα βασικά ζητήματα που παραμένουν να αντιμετωπιστούν εκτενώς είναι το να ορίσουμε περιόδους κατά τη διάρκεια της γήρανσης όταν ο θόρυβος γίνεται κυρίαρχος και αν αυτό προδικάζει τις φυσιολογικές ιδιότητες της γήρανσης. Από την άποψη αυτή, μια μελέτη πολλαπλών ειδών που δημοσιεύθηκε από τους Wang et al. (2011) υπογράμμισε τα χρονικά παράθυρα κατά τα οποία αρχίζει να εκδηλώνεται η θορυβώδης έκφραση γονιδίων.^{70,71}

Ενώ η απορυθμισμένη μεταγραφή φάνηκε να εμφανίζεται γύρω από το μέσο της ζωής (~ 30 ημέρες) στην *Drosophila*, στα τρωκτικά αυτό παρατηρήθηκε σε ηλικία 10-15 μηνών. Είναι ενδιαφέρον, παρόμοια με την εμφάνιση που σχετίζεται με το φύλο στην παγκόσμια μεταγραφική αλλαγή, που περιγράφηκε παραπάνω, η εμφάνιση του μεταγραφικού θορύβου φάνηκε επίσης να είναι σεξουαλικά διμορφική. Τα αρσενικά ποντίκια

αποδείχθηκαν πιο προδιάθετα για να εμφανίσουν αυτή τη συμπεριφορά, η οποία εμφανίστηκε ήδη από την ηλικία των 6 μηνών, στους ιστούς. Από την άλλη πλευρά, η θορυβώδης γονιδιακή έκφραση σε γυναίκες έδειξε μόλις 16 μήνες. Αυτό δείχνει μια πιθανή συμβολή της αρχιτεκτονικής χρωματίνης ή των επιγενετικών μηχανισμών, που μπορεί να οδηγήσουν σε αυξημένο θόρυβο στην έκφραση γονιδίων.

Επιπλέον, με την ηλικία, πολλά γονίδια στην ίδια λειτουργική ομάδα έχουν δειχθεί ότι αλλάζουν έκφραση σε αντίθετη κατεύθυνση, ένα φαινόμενο γνωστό ως μετατόπιση μεταγραφής, το οποίο έχει δειχθεί ότι συμβαίνει σε όλους τους ιστούς. Είναι ενδιαφέρον ότι τα παραδείγματα επέκτασης της διάρκειας ζωής όπως η εξασθένηση της σηματοδότησης της ινσουλίνης και ο περιορισμός των θερμίδων έχουν αποδειχθεί ότι καταστέλλουν τη μεταγραφική μετατόπιση ^{71,72}

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι πολλές από αυτές τις μελέτες δείχνουν ασύγχρονη από άποψη διαφορετικών οργάνων-συστημάτων ή ιστών, οι οποίες εμφανίζουν μεταγραφικό θόρυβο, τουλάχιστον στις ηλικίες που εξετάστηκαν. Αυτό εγείρει ένα εξαιρετικά σημαντικό ζήτημα ειδικά στο πλαίσιο της απελευθερωμένης μεταγραφής ως αιτιώδους μηχανισμού γήρανσης, η οποία έχει ως εξής: Η διαφορά εμφάνισης θορύβου σε διαφορετικούς ιστούς συμβάλλει στην ειδική γήρανση του ιστού και αν υπάρχει ένα οργανωτικό πλαίσιο, υπάρχει ιεραρχία για εξαρτώμενη από το όργανο μεταγραφή που προκαλεί γήρανση. ⁷²

8.5. Γονιδιακή αστάθεια

Η συσσώρευση των βλαβών στο γενετικό υλικό αποτελεί τον παρονομαστή της φυσιολογικής γήρανσης. Επίσης, η γήρανση μπορεί να προκύψει και ως συνέπεια κάποιων παθήσεων όπως είναι τα σύνδρομα προγήριας (σύνδρομο Werner και το σύνδρομο Bloom). Τα σύνδρομα αυτά με τη σειρά τους είναι συνέπειες της αυξημένης συσσώρευσης βλαβών στο DNA. Έτσι, η ύπαρξη των συνδρόμων αυτών ενισχύει την πεποίθηση ότι η γήρανση είναι το αποτέλεσμα πολλών παραγόντων και σφαλμάτων που προσβάλλουν την σταθερότητα του γενετικού υλικού.

Τέτοιοι παράγοντες μπορεί να είναι :

- εξωγενείς: φυσικοί, χημικοί, και βιολογικοί παράγοντες
- ενδογενείς: (σφάλματα αντιγραφής του DNA)
- αυθόρμητες υδρολυτικές αντιδράσεις και δράσεις των δραστικών ειδών οξυγόνου (reactive oxygen species, ROS).

Πιο αναλυτικά, οι γενετικές αλλοιώσεις που οφείλονται σε ενδογενείς ή εξωγενείς βλάβες μπορεί να είναι σημειακές μεταλλάξεις, μετατοπίσεις, χρωμοσωματικά κέρδη και απώλειες, μείωση του μήκους των τελομερών και σίγαση γονιδίων που προκαλείται από την ενσωμάτωση ιών ή τρانشποζονίων.

Παρ' όλα αυτά, οι οργανισμοί διαθέτουν ένα σύνθετο δίκτυο μηχανισμών επιδιόρθωσης DNA για να μπορούν να αντιμετωπίσουν τα περισσότερα σφάλματα που θα προκύψουν στο DNA. Τα συστήματα αυτά, περιλαμβάνουν τους μηχανισμούς γονιδιωματικής σταθερότητας (για το πυρηνικό DNA), μηχανισμούς που είναι υπεύθυνοι για την διατήρηση μήκους και της λειτουργίας των τελομερών και αυτών που εξασφαλίζουν την ακεραιότητα του μιτοχονδριακού DNA (mtDNA).

Εκτός από αυτές τις άμεσες αλλοιώσεις στο DNA, τα ελαττώματα στην πυρηνική αρχιτεκτονική, (γνωστά ως laminopathies) μπορούν να επίσης προκαλέσουν αστάθεια γονιδιώματος και να οδηγήσουν σε σύνδρομο πρόωρης γήρανσης.^{73,74,75,76}

8.6. Επαναφορά επιγενετικών αλλαγών και θεραπείες κατά της γήρανσης.

Σε αντίθεση με τις μεταλλάξεις του DNA, οι επιγενετικές μεταβολές μπορούν να είναι αναστρέψιμες, δημιουργώντας με αυτόν τον τρόπο κάποιες ευκαιρίες για θεραπείες ενάντια στη γήρανση.

Πιο συγκεκριμένα, σε ποντικούς δείχθηκε ότι η αποκατάσταση της φυσιολογικής ακετυλίωσης του H4 μέσω της χορήγησης αναστολέων της αποακετυλάσης ιστόνης αποφεύγει την εκδήλωση εξασθένησης της μνήμης που έχει άμεση σχέση με την ηλικία των ζώων, υποδεικνύοντας με αυτόν τον τρόπο ότι η αναστροφή των επιγενετικών αλλαγών μπορεί να έχει νευροπροστατευτικά αποτελέσματα. Επίσης, οι αναστολείς των ακετυλοτρανσφερασών της ιστόνης βελτιώνουν τον πρόωρο φαινότυπο γήρανσης και επεκτείνουν τη μακροζωία των ποντικών με σύνδρομο προγήριας. Επιπλέον, μια πρόσφατη μελέτη σε στελέχη *C. Elegans* με επέκταση του προσδόκιμου ζωής αναδεικνύει ότι ο χειρισμός ειδικών τροποποιήσεων της χρωματίνης στους γονείς μπορεί να προκαλέσει επιγενετική μνήμη της μακροζωίας στους απογόνους τους. Ακόμη η μακροζωία μπορεί να προωθηθεί και με τους ενεργοποιητές της αποακετυλάσης ιστόνης, με τρόπο παρόμοιο όπως με τους αναστολείς της ακετυλοτρανσφεράσης της ιστόνης. Τέλος, η ρεσβερατρόλη έχει μελετηθεί εκτενώς σε σχέση με τη γήρανση και μεταξύ των πολλαπλών μηχανισμών δράσης της είναι η ρύθμιση της δραστηριότητας της SIRT1.

Το Sirtuin 1 είναι μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών της sirtuin που ρυθμίζει την

επιγενετική σίγαση του γονιδίου και καταστέλλουν τον ανασυνδυασμό του cDNA. Μελέτες έχουν αποδείξει ότι οι ανθρώπινες σιρτουίνες μπορούν να λειτουργήσουν ως ενδοκυτταρικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες με δραστικότητα ριβοζυλοτρανσφεράσης.

Επίσης, το SIRT1 αποδείχθηκε ότι αποακετυλιώνει και επηρεάζει τη δραστικότητα και των δύο μελών του συμπλόκου PGC1-alpha / ERR-alpha, οι οποίοι αποτελούν βασικούς μεταβολικούς ρυθμιστικούς παράγοντες μεταγραφής.

Πιο συγκεκριμένα, στα θηλαστικά, έχει αποδειχθεί ότι το SIRT1 αποακετυλιώνει και επομένως απενεργοποιεί την πρωτεΐνη p53. Το SIRT1 διεγείρει επίσης την αυτοφαγία εμποδίζοντας την ακετυλίωση πρωτεϊνών (μέσω αποακετυλίωσης) που απαιτούνται για την αυτοφαγία, όπως αποδεικνύεται σε καλλιεργημένα κύτταρα και σε εμβρυϊκούς και νεογνικούς ιστούς. Αυτή η λειτουργία παρέχει μια σύνδεση μεταξύ της έκφρασης sirtuin και της κυτταρικής απόκρισης σε περιορισμένα θρεπτικά συστατικά λόγω του θερμιδικού περιορισμού.

Η γήρανση του ανθρώπου χαρακτηρίζεται από χρόνιο επίπεδο χαμηλής φλεγμονής και το NF-κΒ είναι ο κύριος ρυθμιστής της μεταγραφής των γονιδίων που σχετίζονται με τη φλεγμονή. Το SIRT1 αναστέλλει την γονιδιακή έκφραση που ρυθμίζεται από NF-κΒ με αποακετυλίωση της υπομονάδας RelA / p65 του NF-κΒ στην λυσίνη 310.

Τέλος, το SIRT1 παίζει κάποιο ρόλο στην ενεργοποίηση των T βοηθητικών 17 κυττάρων, τα οποία συμβάλλουν στην αυτοάνοση ασθένεια και οι προσπάθειες για την ενεργοποίηση του SIRT1 θεραπευτικά μπορεί να προκαλέσουν ή να επιδεινώσουν την αυτοάνοση ασθένεια.^{83,84}

8.7. Επιγενετική και Σύνδρομο πρόωρης γήρανσης ή προγήριας

Η αστάθεια του γενετικού υλικού των ατόμων και πιο συγκεκριμένα των παιδιών που πάσχουν από σύνδρομο γήρανσης, οφείλεται στον ανώμαλο πυρήνα των κυττάρων των ατόμων αυτών, γεγονός που οδηγεί στα συμπτώματα πρόωρης γήρανσης που παρατηρούνται.

Η δομή των πρωτεϊνών είναι ελαττωματική και η κυτταρική διαίρεση δεν ολοκληρώνεται με το σωστό τρόπο με αποτέλεσμα τον πρόωρο θάνατο των κυττάρων

καθώς και οι ιστοί δεν μπορούν να αναγεννηθούν με τη σωστή διαδικασία. Οι πιο συχνές ασθένειες που σχετίζονται με την προγηρία είναι ο καρκίνος, ο διαβήτης και η νόσος του Αλτσχάιμερ. Αναφορές που έχουν γίνει, συνδέουν τη διαδικασία γήρανσης με την επιδείνωση των κυτταρικών δεσμίδων του DNA, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μεθόδους πρόληψης και θεραπείας ασθενειών.^{85,86}

Ακόμη, μια συχνή ασθένεια που σχετίζεται με την προγηρία είναι το σύνδρομο Werner. Οι γενετικές μεταλλάξεις και η επιδείνωση των δεσμών του DNA (γνωστές ως ετεροχρωματίνη) οδηγούν τα άτομα που πάσχουν από αυτό το σύνδρομο σε πρόωρη γήρανση και σε θάνατο.

Παρόλα αυτά ο συνδυασμός της τεχνολογίας για τα βλαστικά κύτταρα και γονίδια, θα μπορούσε να οδηγήσει σε τρόπους καταπολέμησης της μείωσης των φυσιολογικών τιμών που σχετίζονται με την ηλικία προλαμβάνοντας ή ακόμα και αναστρέφοντας την βλάβη της ετεροχρωματίνης.^{87,88}

A. Σύνδρομο Werner

Το σύνδρομο Werner, κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο.

Οι άνθρωποι που προσβάλλονται από το Σύνδρομο Werner (WS) έμφανίζουν πολλά κλινικά συμπτώματα πρόωρης- επιταχυνόμενης γήρανσης. Το σύνδρομο Werner, προκαλείται από μεταλλάξεις στο γονίδιο WRN, που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 8p11-12. Το γονίδιο WRN κωδικοποιεί μια από τις πέντε ελικάσες RecQ στον άνθρωπο. Μεταλλάξεις, αντικαταστάσεις και ελλείμματα που μπορεί να συμβαίνουν στο γονίδιο WRN, οδηγούν στην αστάθεια του γονιδιώματος και αποτελούν το 90% περίπου των περιπτώσεων που διαγιγνώσκονται κλινικά με σύνδρομο Werner. Το υπόλοιπο 10% ανήκει στο άτυπο σύνδρομο Werner, που προκαλείται και από μεταλλάξεις στο γονίδιο LMNA.

Το σύνδρομο Werner (syn: progeria των ενηλίκων) είναι μια σπάνια αυτοσωματική υπολειπόμενη ασθένεια, ο γονιδιακός τόπος είναι 8p12-p11. Η διάρκεια ζωής μειώνεται. Οι πιο κοινές αιτίες θανάτου είναι το έμφραγμα του μυοκαρδίου, το εγκεφαλικό επεισόδιο του εγκεφάλου, οι κακοήθειες όγκοι.

Η αιτία της νόσου δεν είναι εγκατεστημένη, μπορεί να υπάρχουν διαταραχές στο μεταβολισμό του συνδετικού ιστού, όπως υποδεικνύεται από τη μείωση του πολλαπλασιασμού των ινοβλαστών, αύξηση της παραγωγής κολλαγόνου με μία μείωση

στη σύνθεση των γλυκοσαμινογλυκανών. Η αργή ανάπτυξη των ινοβλαστών μπορεί να εξηγηθεί από μεταβολές στη σύνθεση της ενδοκυτταρικής ουσίας.

Σε μοριακό επίπεδο η ανάλυση μπορεί να εντοπίσει τις περισσότερες μεταλλάξεις του γονιδίου WRN, με αλληλούχιση των εξονίων και αλληλούχιση των προϊόντων RT-PCR, σε συνδυασμό με την ανάλυση κατά Western που αποκαλύπτει την απουσία της φυσιολογικής πρωτεΐνης WRN.

Ακόμη, σε μια πολυπαραγοντική ανάλυση μοντέλου που πραγματοποιήθηκε αποκαλύφθηκε ότι η WS συνδέεται με αύξηση της ηλικίας μεθυσίωσης του DNA (κατά μέσο όρο 6,4 έτη, $p = 0,011$) ακόμη και μετά από προσαρμογή στη χρονολογική ηλικία, το φύλο και τον αριθμό των αιμοσφαιρίων.

Περαιτέρω, το WS μπορεί να συσχετιστεί με μια μείωση σε CD8 + T κύτταρα ($p = 0,025$) σύμφωνα με τις μετρήσεις των κυττάρων αίματος. Συνολικά, αυτή η μελέτη δείχνει ότι το WS έχει άμεση σχέση με μια αυξημένη επιγενετική ηλικία των κυττάρων του αίματος, η οποία είναι ανεξάρτητη από τις αλλαγές στη σύνθεση των κυττάρων του αίματος. Όμως, ο βαθμός στον οποίο αυτή η αλλοίωση είναι μια αιτία ή επίδραση της ασθένειας WS παραμένει άγνωστη.

Κλινικός φαινότυπος του WS:

Τα χαρακτηριστικά του φαινοτύπου του συνδρόμου αυτού είναι:

- 1)μεταβολές του δέρματος που μοιάζουν με σκληροδερμία,
- 2)διμερείς οφθαλμικοί καταρράκτες,
- 3)σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2,
- 4)οστεοπόρωση,
- 5)υπογοναδισμός και αθηροσκλήρωση.

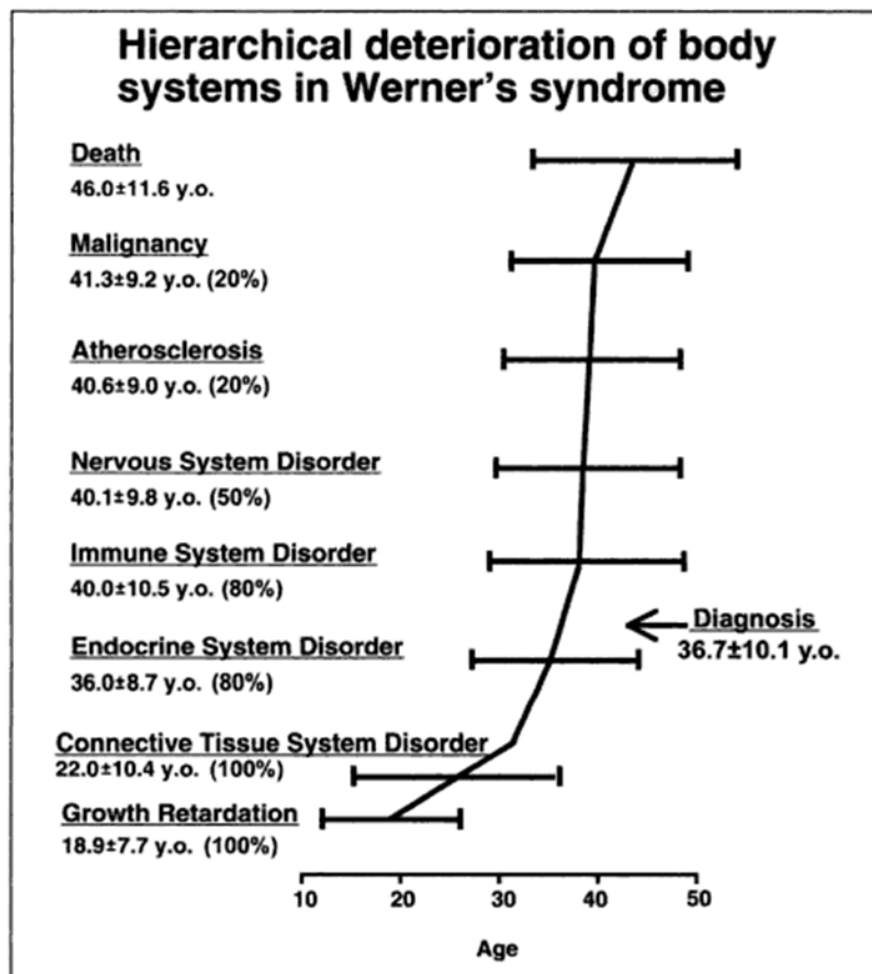


Εικόνα 19η

Ατόμο με Σύνδρομο Werner (WS) σε ηλικία 15 ετών και 48 ετών.

https://www.google.gr/search?q=%CF%83%CF%85%CE%BD%CE%B4%CF%81%CE%BF%CE%BC%CE%BF+werner&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=0ahUKEwil8sb5gOrcAhWLwAIHHXxwCssQ_AUICigB&biw=1584&bih=704#imgsrc=b6ddd5ED30Z9IM

Η μέση ηλικία θανάτου των ατόμων που προσβάλλονται από το σύνδρομο Werner (WS) είναι τα 54 έτη και οι συχνότερες αιτίες είναι ο καρκίνος και το έμφραγμα του μυοκαρδίου.



Εικόνα 20η

Ιεραρχική φθορά των συστημάτων του σώματος στο σύνδρομο Werner.

https://www.google.gr/search?q=%CF%83%CF%85%CE%BD%CE%B4%CF%81%CE%BF%CE%BC%CE%BF+werner&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwil8sb5gOrcAhWLwAIHHXxwCcssQ_AUICigB&biw=1584&bih=704#imgsrc=oeSHZ_UpGx7JtM

Για τη συσχέτιση των επιγενετικών αλλαγών με το σύνδρομο αυτό έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες στις οποίες έχει μετρηθεί η φυσιολογική ηλικία των δειγμάτων ιστών με τον σε συνδυασμό με τη μέτρηση των επιπέδων μεθυλίωσης του DNA.

Συγκεκριμένα, στις μελέτες αυτές έχει αναπτυχθεί το "Επιγενετικό Ρολόι" με σκοπό την

μέτρηση της ηλικίας των συγκεκριμένων τύπων ανθρώπινων κυττάρων (CD4 + T κυττάρων ή νευρώνων), όλων των ιστών και οργάνων, συμπεριλαμβανομένου του αίματος, του εγκεφάλου, του μαστού, του νεφρού, του ήπατος και του πνεύμονα.

Επίσης, το επιγενετικό ρολόι καθορίστηκε ως σταθμισμένος μέσος όρος μεταξύ των 353 τοποθεσιών CpG και η εκτίμηση της ηλικίας που προέκυψε (σε μονάδες ετών) αναφέρεται ως "ηλικία μεθυλίωσης DNA" (ηλικία DNAm) ή "επιγενετική ηλικία". Οι πιο πρόσφατες μελέτες μάλιστα, υποστηρίζουν ότι οι εκτιμήσεις επιγενετικής ηλικίας είναι τουλάχιστον παθητικοί βιοδείκτες βιολογικής ηλικίας.

Ακόμη, σε μελέτες της νόσου του Alzheimer, του συνδρόμου Down, της HIV λοίμωξης, της νόσου του Huntington, την παχυσαρκία, το στρες σε όλη τη ζωή, την εμμηνόπαυση, την οστεοαρθρίτιδα και τη νόσο του Parkinson, έχει αποδειχθεί η χρησιμότητα της μεθόδου του επιγενετικού ρολογιού που χρησιμοποιεί διαφόρους ιστούς και όργανα.

Στις μελέτες αυτές παρουσιάζεται για πρώτη φορά ότι τα μέτρα επιγενετικής επιτάχυνσης της ηλικίας συνδέονται πράγματι με την κατάσταση WS.

Διαφορετικές από τις τυπικές μελέτες συσχέτισης επιγονιδίων (EWAS) που διερευνούν μεμονωμένες CpGs, στην μελέτη αυτή παρουσιάζεται μια και μοναδική υπόθεση: το WS συνδέεται με την επιγενετική επιτάχυνση της ηλικίας στα κύτταρα του αίματος. Επίσης, σε κάποια άλλη ανάλυση αναφέρεται η κατάσταση του WS σε μετρήσεις αφθονίας των τύπων των κυττάρων του αίματος που εκτιμήθηκαν χρησιμοποιώντας δεδομένα μεθυλίωσης DNA.

Τέλος αποδεικνύεται ότι, το Σύνδρομο Werner (WS) έχει άμεση σχέση με την επιτάχυνση της ηλικίας στο αίμα σύμφωνα με μερικά εξαιρετικά ισχυρά επιγενετικά μέτρα επιτάχυνσης της ηλικίας καθώς και αποδεικνύεται ο σημαντικός ρόλος του WRN στη διατήρηση της σταθερότητας της χρωματίνης των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων. Ωστόσο, η επιγενετική επιτάχυνση του αίματος δεν είναι ειδική μόνο για το WS αλλά μπορεί να παρατηρηθεί και σε άλλες καταστάσεις όπως το σύνδρομο Down και σε μικρότερο βαθμό στη νόσο του Parkinson.^{89,90,91,92}

B.Σύνδρομο Down

Η επιγενετική στη δημιουργία των μοτίβων κατέχει υψηλή προτεραιότητα στην μεταγονιδιωματική εποχή. Το σύνδρομο Down (DS), που προκαλείται από τρισωμία 21 (Ts21), περιλαμβάνει ιατρικά σημαντικούς φαινότυπους κυρίως στα κύτταρα του αίματος, την καρδιά και τον εγκέφαλο.

Το επιπλέον αυτό χρωμόσωμα, προκαλεί την αυξημένη έκφραση των γονιδίων Hsa21 και οδηγεί σε άμεσες βιολογικές επιδράσεις και διαταραχές μεταγενέστερων μεταγραφικών

δικτύων.

Οι μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί υποστηρίζουν ότι πέρα από τις μεταγραφικές μεταβολές που γίνονται, σημαντικό ρόλο κατέχει και η επιγενετική.



Εικόνα 21η

Χαρακτηριστική τρισωμία 21.

https://www.google.gr/search?q=%CF%83%CF%85%CE%BD%CE%B4%CF%81%CE%BF%CE%BC%CE%BF+down+%CF%87%CE%B1%CF%81%CE%B1%CE%BA%CF%84%CE%B7%CF%81%CE%B9%CF%83%CF%84%CE%B9%CE%BA%CE%B1&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwjJ2qWamurcAhXF6aQKHahZDw8Q_AUICigB&biw=1584&bih=704#imgdii=jcbab2-gqYQOiM:&imgsrc=Xn7qhWZWujNpnM

Πιο συγκεκριμένα, το επιπλέον αντίγραφο του Hsa21 μπορεί να δράσει για την παραγωγή ιστικών ειδικών μεταβολών στη μεθυλίωση του DNA (DS-DM) και για την κατάσταση της χρωματίνης σε θέσεις που κατανέμονται σε όλο το γονιδίωμα.

Σε έναν τύπο κυττάρου ή ιστού, το σύνδρομο Down, μπορεί να επηρεάσει πολλά από τα

γονίδια και οι επιγενετικές αλλαγές είναι ιδιαίτερα επαναλαμβανόμενες και προβλέψιμες.

Βάση μελετών μοντέλων ανθρώπινου DS και ποντικού που έχουν πραγματοποιηθεί, αποδεικνύεται πως φέρουν υποχρωμοσωματικές ανευπλοειδίες των Hsa21-συνθετικών περιοχών, και υποστηρίζεται ότι υπάρχουν δύο μηχανισμοί trans-acting που μπορούν να υποστούν το σύνδρομο (DS).

Αρχικά, μπορεί να υπάρχει ένας ρόλος για την αυξημένη δοσολογία γονιδίων οδού μεθυλίωσης που συνδέονται με Hsa21 (SLC19A1, FTCD, GART, CBS, PRMT2, N6AMT1, MIS18A και DNMT3L) που έχουν γνωστό ή προβλεπόμενο ρόλο στη μεθυλίωση του DNA που εξαρτάται από SAM.

Η αυξημένη δοσολογία αυτών των γονιδίων (τα περισσότερα από τα οποία χαρτογραφούνται στο απομακρυσμένο q-βραχίονα του Hsa21), θα μπορούσε να υποστηρίξει την θεωρία ότι πραγματοποιείται υπερμεθυλίωση σε DS-DM CpGs στον ανθρώπινο εγκέφαλο DS και σε άλλους ιστούς και η μεγαλύτερη υπερμεθυλίωση που βρίσκεται στο Dp 1Yey σε σύγκριση με τον Dp 1Yey ποντίκια.

Η δεύτερη υπόθεση ασχολείται με το ένα ρόλο για την κατανόηση της θέσης δέσμευσης παράγοντα μεταγραφής (TFBS) στη διαμόρφωση των μοτίβων του DS-DM. Οι αναλύσεις της βιοπληροφορικής μπορούν να υποστηρίξουν τον μηχανισμό αυτό με μοτίβα CTCF εμπλουτισμένα μεταξύ των θέσεων υπερμεθυλιωμένου ιστού DS-DM και μοτίβα δέσμευσης Runx1 εμπλουτισμένα μεταξύ υπομεθυλιωμένων θέσεων DS-DM σε T λεμφοκύτταρα. Έτσι, το γονίδιο RUNX1 που χαρτογραφείται σε Hsa21 και υπερεκφράζεται σε DS λεμφοκύτταρα, μπορεί να προστατεύσει την αυξημένη κατοχή των θέσεων Runx1 από τη μεθυλίωση CpG.

Ακόμη, οι αναλύσεις εμπλουτισμού των δεδομένων WGBS από τα μοντέλα ποντικών, υποστηρίζουν αυτόν τον τύπο μηχανισμού σε συνδυασμό και με άλλους TFs (Olig2, Gabpa, Erg, Ets2) που κωδικοποιούνται σε Hsa21 ορθολογικά χρωμοσωμικά τμήματα.

Τέλος, οι μελέτες που πραγματοποιούνται υποδεικνύουν ότι οι φαινοτυπικές επιδράσεις του συνδρόμου αυτού οφείλονται και σε βιολογικούς ρόλους των γονιδίων της οδού μεθυλίωσης και των γονιδίων του παράγοντα μεταγραφής, καθώς και τις ομάδες των γονιδίων-στόχων που επηρεάζονται από το σύνδρομο Down.

Για παράδειγμα στο αίμα, το σύνδρομο αυτό επηρεάζει γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες σηματοδότησης και τους παράγοντες μεταγραφής με γνωστούς ή πιθανολογούμενους ρόλους στην ανάπτυξη και τη λειτουργία λεμφοκυττάρων,

συμπεριλαμβανομένων των TMEM131, SH3BP2, ZDHHC14 και RUNX1. Παρόμοια, το σύνδρομο αυτό στα εγκεφαλικά κύτταρα, επηρεάζει γονίδια που κωδικοποιούν πολλαπλά μέλη της οικογένειας της πρωτοκαντερίνης και τις νευρικές πρωτεΐνες NLGN2, CYTH2, AMIGO3 και BRSK2, οι οποίες έχουν άμεση σχέση με τον εγκέφαλο.^{93,94,95,96}

Χαρακτηριστικά του Συνδρόμου:

- Επιπεδωμένο πρόσωπο και μύτη
- Επιπλέον δέρμα στο πίσω μέρος του λαιμού
- Μάτια που κλίνουν προς τα πάνω
- Χαρακτηριστικό βλέμμα
- Μειωμένος μυϊκός τόνος (υποτονία)
- Χαλαρές αρθρώσεις
- Μονήρης πτυχή σε όλη την παλάμη, που ονομάζεται εγκάρσια παλαμιαία πτυχή (φυσιολογικά υπάρχουν περισσότερες από μια πτυχές)
- Ασυνήθιστα ευέλικτες αρθρώσεις
- Περίεργη ελίκωση αυτιών
- Μεγάλη απόσταση μεταξύ πρώτου και δεύτερου δακτύλου (κλινοδακτυλία)
- Καθώς μεγαλώνουν τα παιδιά με σύνδρομο Down μπορεί να παρουσιάσουν επιπλέον τα ακόλουθα χαρακτηριστικά αν και μπορεί να τα παρουσιάσουν από τη γέννηση:
 - Ένα πεπλατυσμένο κεφάλι στο πίσω μέρος (βραχυ-κεφαλία)
 - Πτυχές του δέρματος στα άνω βλέφαρα
 - Πεπλατυσμένη γέφυρα της μύτης
 - Διπλωμένα, ασυνήθιστα, ή μικρά αυτιά
 - Το στόμα είναι ανοιχτό
 - Η γλώσσα προβάλλει έξω από το στόμα
 - Διαταραχές στο σχήμα δοντιών

- Κοντό λαιμό
- Κοντά χέρια

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την στιγμή που θα γεννηθεί ένας άνθρωπος το γενετικό υλικό παραμένει ουσιαστικά απαράλλαχτο. Παρόλα αυτά παρατηρούνται κάποιες μεταβολές στον οργανισμό με το πέρασμα των χρόνων.

Δυο είναι οι βασικές θεωρίες για αυτό:

1) συσσώρευση μεταλλάξεων στο DNA

2) προδιαγεγραμμένη γήρανση που ελέγχεται από το ίδιο το DNA

Σχετικά με την πρώτη θεωρία, η συσσώρευση των μεταλλάξεων στα βλαστικά κύτταρα, είναι αυτή που συνδέεται άμεσα με τη γήρανση. Τα βλαστικά κύτταρα έχουν τη δυνατότητα να διαιρούνται και να ανανεώνουν τον κυτταρικό πληθυσμό του ανθρώπου.

Με το πέρασμα του χρόνου τόσο ο αριθμός όσο και δραστικότητα των βλαστικών κυττάρων μειώνεται οδηγώντας στην μειωμένη έως και μηδαμινή αναπλήρωση των κυττάρων που καταστρέφονται.

Αυτό οφείλεται στην διαταραχή του μηχανισμού της τελομεράσης και της πολικότητας των κυττάρων που είναι πολύ σημαντική για την λειτουργία τους.

Η αναποτελεσματική αναπλήρωση των κυττάρων οδηγεί

στον εκφυλισμό των ιστών και των οργάνων:

1) Φανερές επιπτώσεις στο δέρμα που χάνει την ελαστικότητα του

2) Εκφυλισμός του νευρικού ιστού που οδηγεί σε παθήσεις όπως η άνοια.

3) Εκφυλισμός των οργάνων με αδυναμία να ανταπεξέλθουν σε ακραίες καταστάσεις (π.χ. καρδιά ,έμφραγμα)

Επίσης, σε έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έχει αποδειχθεί ότι υπάρχουν γονίδια που συνδέονται με την γήρανση. Μελετήθηκαν ποντίκια και βρέθηκε ότι ενεργοποίηση ή απενεργοποίηση της έκφρασης κάποιων πρωτεϊνών οδηγούσε σε αύξηση της διάρκειας ζωής

Συγκεκριμένα βιοχημικά μονοπάτια και η έκφραση συγκεκριμένων πρωτεϊνών φαίνεται να συνδέονται με την γήρανση.

Ο συνδυασμός των μηχανισμών αυτών είναι αυτός που πιθανότατα ευθύνεται για την γήρανση. Βέβαια το ιστορικό του κάθε ανθρώπου (ασθένειες που έχει περάσει, τρόπος ζωής κ.τ.λ.) έχει επίσης μεγάλη επίδραση.

Σχετικά με τις επιγενετικές μεταβολές:

Οι αλλαγές αυτές είναι μακροχρόνιες αλλά και αναστρέψιμες ενώ μπορούν να

κληρονομηθούν από έναν οργανισμό ή κύτταρο στους απογόνους του.

Η επιγενετική ρύθμιση εξηγεί γιατί κάθε άτομο είναι διαφορετικό, ακόμα και σε περιπτώσεις όπου έχουμε ίδιο γενετικό υλικό (ομοζυγωτικοί δίδυμοι) .

Ακόμα εξηγεί το πώς το περιβάλλον και οι συνθήκες ζωής μπορούν να επιδράσουν στο γονιδίωμα. Οι μεταβολές που παρατηρούνται στο γενετικό υλικό είναι δυο ειδών:

A) Μεθυλίωση βάσεων του DNA (κυρίως της κυτοσίνης) έχουμε απενεργοποίηση γονιδίων και

B) Τροποποίηση ιστονών: μπορούν να μεταβάλουν τον βαθμό συσπείρωσης του γενετικού υλικού επηρεάζοντας με αυτό τον τρόπο την έκφραση γονιδίων

Οι αλλαγές αυτές συμβαίνουν σε όλη την πορεία της ζωής ενός ατόμου. Γι' αυτό τον λόγο δεν μπορούμε να προβλέψουμε γνωρίζοντας το γονιδίωμα ενός ατόμου την διάρκεια της ζωής του ή τα γενετικά νοσήματα από τα οποία θα νοσήσει.⁹⁷

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. J. K. Kim, M. Samaranayake and S. Pradhan (2009) *Cell. Mol. Life Sci.* 66: 596-612
2. Adalsteinsson, B. T. and Ferguson-Smith, A.C. (2014) *Genes*, 5: 635-655
3. Allis C., et al. (2007) *Epigenetics*. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press
4. K(Campisi 2013; Frasca et al. 2017; Niccoli and Partridge 2012; Wyss-Coray 2016).enyon, C. J. The genetics of ageing. *Nature* 464, 504–512 (2010) (Campisi 2013; Frasca et al. 2017; Niccoli and Partridge 2012; Wyss-Coray 2016).
5. (R. Jaenisch and A. Bird, 2003)
6. Wu, C.-t. and J. R. Morris. 2001. “Genes, genetics, and epigenetics: A correspondence.” *Science* 293: 1103-1105
7. (Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, Kovalev GI, Al-Regaiey K, Su L, Sharpless NE. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J Clin Invest.* 2004;114:1299–1307.)
8. (Kenyon CJ. The genetics of ageing. *Nature.* 2010;464:504–512.)
9. (Muñoz-Najar U., Sedivy J. M., Epigenetic control of aging. *Antioxid. Redox Signal.* 14, 241–259 (2011).
10. (. López-Otín C., Blasco M. A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G., The hallmarks of aging. *Cell* 153, 1194–1217 (2013)
11. Sargent M., Why twins age differently. *Nature* 464, 1130–1131 (2010)
12. Brunet A., Berger S. L., Epigenetics of aging and aging-related disease. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 69 (Suppl. 1), S17–S20 (2014).
13. Brandeis M., Ariel M., Cedar H. (1993) Dynamics of DNA methylation during development. *Bioessays* 15:709–713.
14. Bird A. P., Wolffe A. P. (1999) Methylation-induced repression—belts, braces, and chromatin. *Cell* 99:451–454.
15. Eden S., Hashimshony T., Keshet I., Cedar H., Thorne A. W. (1998) DNA

methylation models histone acetylation. *Nature* 394:842.

16. Hsieh C. L. (1999) Evidence that protein binding specifies sites of DNA demethylation. *Mol. Cell. Biol.* 19:46–56
17. Keshet I., Lieman-Hurwitz J., Cedar H. (1986) DNA methylation affects the formation of active chromatin. *Cell* 44:535–543.
18. Li E., Bestor T. H., Jaenisch R. (1992) Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell* 69:915–926.
19. Struhl K. (1998) Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev.* 12:599–606.
20. Yen RW, Vertino PM, Nelkin BD, Yu JJ, el-Deiry W, Cumaraswamy A et al (1992). Isolation and characterization of the cDNA encoding human DNA methyltransferase. *Nucleic Acids Res* 20: 2287–2291.
21. Zhang Y, Jurkowska R, Soeroes S, Rajavelu A, Dhayalan A, Bock I et al (2010). Chromatin methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3a/3L is guided by interaction of the ADD domain with the histone H3 tail. *Nucleic Acids Res* 38: 4246–4253.
22. Zhou L, Cheng X, Connolly BA, Dickman MJ, Hurd PJ, Hornby DP (2002). Zebularine: a novel DNA methylation inhibitor that forms a covalent complex with DNA methyltransferases. *J Mol Biol* 321: 591–599.
23. Greer EL, Shi Y. 2012. Histone methylation: A dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet* 13: 343–357. , (Feser and Tyler 2011, Fraga και Esteller 2007, Lazarus et al. «Sullivan και Karlseder 2012 • Pal και Tyler 2016)., (Bochkis et al., 2014, Dell'Orco and Whittle 1982, Gaubatz et αϊ., 1979, Ishimi et αϊ. 1987, Thakur et αϊ., 1999, Zongza and Mathias 1979).
24. Guil S, Esteller M. 2012. Cis-acting noncoding RNAs: Friends and foes. *Nat Struct Mol Biol* 19: 1068–1075., (Gaubatz et αϊ., 1979, Zongza and Mathias 1979).
25. Adkins RM, Thomas F, Tylavsky FA, Krushkal J (2011) Parental ages and levels of DNA methylation in the newborn are correlated. *BMC Med. Genet.* 12, 47, (Dell'Orco and Whittle 1982, Ishimi et αϊ., 1987).
26. Fillingham J., Keogh M.C., Krogan N.J. γH2AX and its role in DNA double-strand break repair. *Biochem. Cell Biol.* 2006; 84: 568-577,, (Dai κ.ά., 2014, Fan et αϊ., 2015, Goudarzi et αϊ. 2016 • Lu and Thompson 2012 • Sabari et al., 2015 • Sabari et αϊ., 2017).
27. Cuthbert G.L.,Daujat S.,Snowden A.W.,Erdjument-Bromage H.,Hagiwara

T., Yamada M., Schneider R., Gregory P.D., Tempst P., Bannister A.J., Kouzarides T. Histone deimination antagonizes arginine methylation. *Cell*. 2004; 118: 545-553., (Banerjee et al., 2012, Fontana and Partridge 2015, Newman et al., 2017, Peleg κ.ά., 2016).

28. Bird, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 16, 6–21 (2002)., (Duarte et al., 2014, Kawakami et al. Liu et al., 2013, O'Sullivan et al., 2010, Sun et al., 2014, Wood κ.ά., 2010)

29. Shilatifard, A. Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression. *Annu. Rev. Biochem.* 75, 243–269 (2006)., (Duarte et al., 2014, Liu κ.ά., 2013, O'Sullivan et al., 2010 Sun et al., 2014, Wood et al., 2010), (Sun et al., 2014).

30. Shogren-Knaak, M. et al. Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science* 311, 844–847 (2006)., (Liu et al., 2013, Sun et al., 2014)

31. Dhalluin, C. et al. Structure and ligand of a histone acetyltransferase bromodomain. *Nature* 399, 491–496 (1999)., (Kawakami et al., 2009, O'Sullivan et al. Rodrigues et al., 2014)

32. Bartolomei M.S., Genomic imprinting: employing and avoiding epigenetic processes. *Genes Dev.* 2009; 23: 2124-2133

33. McGrath J., Solter D. Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell*. 1984; 37: 179-183, (Dang et al., 2009, O'Sullivan et al., 2010)

34. Crouse, H. V. The controlling element in sex chromosome behavior in *Sciara*. *Genetics* 45, 1429–1443 (1960)., (Bonasio and Shiekhataar 2014; Kaikkonen et al. 2011; Patil et al. 2014; Rinn and Chang 2012)., (Avrahami κ.ά., 2015, Duarte et al., 2014, Liu κ.ά., 2013, O'Sullivan et al. et al., 2011, Sun et al., 2014)

35. Khosla, S., Mendiratta, G. & Brahmachari, C. Genomic imprinting in the mealybugs. *Cytogenet. Genome Res.* 113, 41–52 (2006)., (Kutter et al., 2012, Spurlock κ.ά., 2016)., (Liu et al., 2013, Sun et al., 2014)

36. Cooper, D. W., VendeBerg, J. L., Sharman, G. B. & Poole, W. Phosphoglycerate kinase polymorphism in kangaroos provides further evidence for paternal X inactivation. *Nature New Biol.* 230, 155–157 (1971)., (O'Sullivan et al., 2010, Rodrigues et al., 2014, Sarg κ.ά., 2002, Scaffidi and Misteli 2006)

37. Kelsey G, Feil R. New insights into establishment and maintenance of DNA methylation imprints in mammals. *Phil Trans R Soc B* 2012, (Panda et al., 2017a),

(Kawakami et al., 2009, Wood et al., 2010)

38. Kiss T. Biogenesis of small nuclear RNPs. *J Cell Sci* 2004, (Wood et al., 2010)
39. Solter D., Differential imprinting and expression of maternal and paternal genomes. *Annu. Rev. Genet.* 1988 , 22, 127-146,, (Banerjee κ.ά., 2012, Gottlieb και Esposito 1989,) Sinclair and Guarente 1997; Smith and Boeke 1997, Morimoto κ.ά., 1993, Rhie κ.ά., 2013)
40. Edwards CA, Ferguson-Smith AC. Mechanisms regulating imprinted genes in clusters. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 2007;19:281–289,, (βλ. Guarente 2007, Wierman and Smith 2014), Larson et al., 2012, Sinclair and Guarente 1997, Warner 1999)., (O'Sullivan et al., 2010, Wood et al., 2010).
41. Verona RI, Mann MR, Bartolomei MS. Genomic imprinting: intricacies of epigenetic regulation in clusters. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 2003;19:237–259.
42. Abu-Amro S, Monk D, Apostolidou S, Stanier P, Moore G. Imprinted genes and their role in human fetal growth. *Cytogenet. Genome Res.* 2006;113:262–270,, (Raddatz et al., 2013, Rakyan κ.ά., 2010, Schellenberg κ.ά., 2012, Sun et al., 2014).
43. Chotalia M., Smallwood S.A., Ruf N., Dawson C., Lucifero D., Frontera M., James K., Dean W., Kelsey G., Transcription is required for establishment of germline methylation marks at imprinted genes. *Genes Dev.* 2009; 23: 105-117, (Lazarus et al., 2013)
44. Frost J.M., Moore G.E., The importance of imprinting in the human placenta. *PLoS Genet.* 2010; 6: e1001015, (Chandra et al., 2015)
45. Tycko, B. & Morison, I. M. Physiological functions of imprinted genes. *J. Cell. Physiol.* 192, 245–258 (2002).
46. Reik, W. & Walter, J. Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nature Rev. Genet.* 2, 21–32 (2001).
47. Tome, S. et al. Maternal germline-specific effect of DNA ligase I on CTG/CAG instability. *Hum. Mol. Genet.* 20, 2131–2143 (2011).
48. Silver HK, Kiyasu W, George J, Deamer WC. Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature, and elevated urinary gonadotropins. *Pediatrics* 1953;12:368–76.
49. Anderson J, Viskochil D, O’Gorman M, Gonzales C. Gastrointestinal complications of Russell-Silver syndrome: a pilot study. *Am J Med Genet* 2002;113:15–9.

50. Reboul MP, Tandonnet O, Biteau N, Belet-de Putter C, Rebouissoux L, Moradkhani K, Vu PY, Saura R, Arveiler B, Lacombe D, Taine L, Iron A. Mosaic maternal uniparental isodisomy for chromosome 7q21-qter. *Clin Genet* 2006;70:207–13
51. Marie V. Nelson, Arnould Verschuur and Jeffrey S. Dome, Wilms Tumor-Nephroblastoma, *Rare Kidney Tumors*, 10.1007/978-3-319-96989-3_2, (11-29), (2018).
52. Fady Hannah-Shmouni and Constantine A. Stratakis, *Genetic Disorders of Adrenocortical Function, Principles of Endocrinology and Hormone Action*, 10.1007/978-3-319-44675-2_29, (727-763), (2018).
53. Katherine Guthrie, Miriah Gillispie, Thais Queliz-Pena and Oscar Winners-Mendizabal, Case 1: Term Newborn with Purple Rash at Birth, *NeoReviews*, 18, 10, (e606), (2017).
54. Adkins RM, Thomas F, Tylavsky FA, Krushkal J (2011) Parental ages and levels of DNA methylation in the newborn are correlated. *BMC Med. Genet.* 12, 47.
55. Alisch RS, Barwick BG, Chopra P, Myrick LK, Satten GA, Conneely KN, Warren ST (2012) Age-associated DNA methylation in pediatric populations. *Genome Res.* 22, 623–632.
56. Payne B.A., Wilson I.J., Hateley C.A., Horvath R., Santibanez-Koref M., Samuels D.C., Price D.A., Chinnery P.F., Mitochondrial aging is accelerated by anti-retroviral therapy through the clonal expansion of mtDNA mutations. *Nat. Genet.* 2011; 43: 806-810
57. Putiri EL, Robertson KD. Epigenetic mechanisms and genome stability. *Clin Epigenetics* (2011) 2(2):299–314.
58. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. *Nat Genet* (2003) 33:245–54.
59. Jones PA, Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics. *Science* (2001) 293:1068–70. doi:10.1126/science.1063852
60. Lee SM, Choi WY, Lee J. The regulatory mechanisms of intragenic DNA methylation. *Epigenomics* (2015) 7(4):527–31. doi:10.2217/epi.15.38
61. Van Deursen JM (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature* 509:439–446
62. Lowe D, Horvath S, Raj K (2016) Epigenetic clock analyses of cellular senescence and ageing. *Oncotarget* 7:8524–8531

63. Liu XS, Wu H, Ji X, Stelzer Y, Wu X, Czauderna S, Shu J, Dadon D, Young RA, Jaenisch R (2016) Editing DNA methylation in the mammalian genome. *Cell* 167:233–247.e17
64. Koch CM, Joussen S, Schellenberg A, Lin Q, Zenke M, Wagner W (2012) Monitoring of cellular senescence by DNA-methylation at specific CpG sites. *Aging Cell* 11:366–369
65. Ait-Si-Ali, S., Guasconi, V., Fritsch, L., Yahi, H., Sekhri, R., Naguibneva, I., et al. (2004). A Suv39h-dependent mechanism for silencing S-phase genes in differentiating but not in cycling cells. *EMBO J.* 23, 605–615. doi: 10.1038/sj.emboj.7600074
66. Aw, D., Taylor-Brown, F., Cooper, K., and Palmer, D. B. (2009). Phenotypical and morphological changes in the thymic microenvironment from ageing mice. *Biogerontology* 10, 311–322. doi: 10.1007/s10522-008-9182-2
67. Cristofalo, V. J., Allen, R. G., Pignolo, R. J., Martin, B. G., and Beck, J. C. (1998). Relationship between donor age and the replicative lifespan of human cells in culture: a reevaluation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 10614–10619. doi: 10.1073/pnas.95.18.10614
68. Farr, J. N., Fraser, D. G., Wang, H., Jaehn, K., Ogrodnik, M. B., Weivoda, M. M., et al. (2016). Identification of senescent cells in the bone microenvironment. *J. Bone Miner. Res.* 31, 1920–1929. doi: 10.1002/jbmr.2892
69. Bergman Y, Cedar H (2013) DNA methylation dynamics in health and disease. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 20, 274–281.
70. Bird A (2007) Perceptions of epigenetics. *Nature* 447, 396–398., (Warren et al., 2007)
71. Bjornsson HT, Fallin MD, Feinberg AP (2004) An integrated epigenetic and genetic approach to common human disease. *Trends Genet.* 20, 350–358., (Enge et al., 2017, Martinez-Jimenez et al., 2017, Southworth et al., 2009, Wang κ.ά., 2011).
72. Borghol N, Suderman M, McArdle W, Racine A, Hallett M, Pembrey M, Hertzman C, Power C, Szyf M (2012) Associations with early-life socio-economic position in adult DNA methylation. *Int. J. Epidemiol.* 41, 62–74. (Murphy et al., 2003, Rangaraju et al., 2015).
73. Kirkwood, T.B.; Austad, S.N. Why do we age? *Nature* 2000, 408, 233–238.
74. Park, C.B.; Larsson, N.G. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *J. Cell Biol.* 2011, 193, 809–818.

75. Klaips, C.L.; Jayaraj, G.G.; Hartl, F.U. Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *J. Cell Biol.* 2018, 217, 51–63.
76. Lopez-Otin, C.; Blasco, M.A.; Partridge, L.; Serrano, M.; Kroemer, G. The hallmarks of aging. *Cell* 2013, 153, 1194–1217.
77. Kenyon, C. J. The genetics of ageing. *Nature* 464,504–512 (2010)
78. Cournil, A. & Kirkwood, T. B. If you would live long,choose your parents well. *Trends Genet.* 17, 233–235(2001)
79. Day, K. et al. Differential DNA methylation with age displays both common and dynamic features across human tissues that are influenced by CpG landscape,*Genome Biol.* 14, R102 (2013).
80. Aguilar-Arnal, L. & Sassone-Corsi, P. The circadian epigenome: how metabolism talks to chromatin remodeling. *Curr. Opin. Cell Biol.* 25, 170–176(2013)
81. Greer, E. L. & Brunet, A. Different dietary restriction regimens extend lifespan by both independent and overlapping genetic pathways in *C. elegans*. *Aging Cell* 8, 113–127 (2009)
82. Wellen, K. E. et al. ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science* 324,1076–1080 (2009).
83. Frye RA (June 1999). "Characterization of five human cDNAs with homology to the yeast SIR2 gene: Sir2-like proteins (sirtuins) metabolize NAD and may have protein ADP-ribosyltransferase activity". *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 260 (1): 273–79.
84. Kauppinen A, Suuronen T, Ojala J, Kaarniranta K, Salminen A (October 2013). "Antagonistic crosstalk between NF- κ B and SIRT1 in the regulation of inflammation and metabolic disorders". *Cellular signalling.* 25 (10): 1939–48.
85. Bryan TM, Englezou A, Dalla-Pozza L, Dunham MA, Reddel RR. Evidence for an alternative mechanism for maintaining telomere length in human tumors and tumor-derived cell lines. *Nat Med.* 1997;3:1271–1274.
86. Chen L, Lee L, Kudlow BA, Dos Santos HG, Sletvold O, Shafeghati Y, Botha EG, Garg A, Hanson NB, Martin GM, Mian IS, Kennedy BK, Oshima J. LMNA mutations in atypical Werner's syndrome. *Lancet.* 2003;362:440–445.
87. Drosopoulos WC, Kosiyatrakul ST, Yan Z, Calderano SG, Schildkraut CL. Human telomeres replicate using chromosome-specific, rather than universal, replication programs. *J Cell Biol.* 2012;197:253–266.

88. Epstein CJ, Martin GM, Schultz AL, Motulsky AG. Werner's syndrome a review of its symptomatology, natural history, pathologic features, genetics and relationship to the natural aging process. *Medicine (Baltimore)* 1966;45:177–221.
89. Ishikawa Y, Sugano H, Matsumoto T, Furuichi Y, Miller RW, Goto M. Unusual features of thyroid carcinomas in Japanese patients with Werner syndrome and possible genotype-phenotype relations to cell type and race. *Cancer*. 1999;85:1345–1352.
90. Ford B, Louis ED, Greene P, Fahn S. Oral and genital pain syndromes in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 1996;11(4):421-426.
91. Peralta CM, Frauscher B, Seppi K, et al. Restless legs syndrome in Parkinson's disease. *Mov Disord*. 2009;24(14):2076-2080.
92. Lu CE, Oshima J, Fu YH, Wijsman EM, Hisama F, Alisch R, Matthews S, Nakura J, Miki T, Ouais S, Martin GM, Mulligan J, Schellenberg GD. Positional cloning of the Werner's syndrome gene. *Science*. 1996;272:258–262.
93. Dykens, E. M., & Kasari, C. (1997). Maladaptive behavior in children with Prader-Willi syndrome, Down syndrome, and nonspecific mental retardation. *American Journal on Mental Retardation*, 102(3), 228–237.
94. Allison DB., Gomez JE., Heshka S., Babbitt RL., Geliebter A., Kreibich K., Heymsfield SB.: Decreased resting metabolic rate among person with Down syndrome. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995;19:858-861.
95. Bauer J., Teufel U., Doege C., Hans-Jeuren G., Beedgen B., Linderkamp O.: Energy expenditure in neonates with Down syndrome. *Pediatr J* 2003;143:264-266
96. Cento RM., Proto C., Spada RS., Ragusa L., Reitano S., Napolitano V.: Serum leptin concentrations in obese women with Down syndrome and Prader-Willi syndrome. *Gynecol Endocrinol* 1999;13:36-41
97. Βιολογία (Τόμος Ι): Η χημεία της ζωής - Το κύτταρο - Γενετική, Campell N. , Reece J. , Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης