

TELOMERLERİN HÜCRESEL ROLÜ

CELLULAR ROLE of TELOMERES

İlker BOLAT¹, Nurullah KEKLİKOĞLU¹, Sevtap İNCE AKINCI¹

ÖZET

Normal somatik hücrelerin proliferasyon kapasiteleri sınırlıdır. Bunun en önemli nedeni telomer adı verilen DNA tekrarlarından oluşan yapının her hücre siklusunda giderek kısalması ve hücre replikasyonunu sınırlandırmasıdır. Telomerler, ökaryotik lineer kromozomların uç bölgelerinde yer alan, protein kodu içermeyen, çok sayıda heksanükleotid tekrar dizinlerinden (TTAGGG)_n oluşur. Aynı zamanda birçok özelleşmiş proteinin eşlik ettiği telomerler, kromozomların uç füzyonları ve nükleotik etkiler gibi istenmeyen etkilere karşı korunması ve genomik bütünlüğün sağlanması için gereklidir. Replikasyon kapasiteleri sınırlı olan hücreler, her bir ardışık hücre bölünmesiyle telomerlerin aşamalı olarak kısalması sonucu replikatif yaşlanmaya girerler. Bu geri dönüşümü olmayan replikatif yaşlanma evresindeki hücreler çoğalma kapasiteleri olmayan fakat metabolik olarak aktif hücrelerdir. Çeşitli hastalıklarda yaşın en büyük risk faktörü olduğu, yaşlanmaya bağlı olan kimi hastalıklarla telomer uzunluğu arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir. Telomer uzunluğunun korunmasını ve stabil kalmasını kendine ait bir RNA ve proteinleri bulunan 'telomeraz enzim kompleksi' sağlar. İnsan hücrelerinde telomeraz enzim işlevi embriyonun ilk haftaları boyunca hemen her yerde görülürken, daha sonra hücrelerin çoğunda yaşa bağlı olarak azalır. Zamanla bazı hücreler telomeraz enzim regülasyonu ya da yeniden aktifleşmesi sonucu belirsiz bir şekilde çoğalır. Kanser hücreleri bu tip hücrelerdir. Telomer kısalması etkili bir tümör supressor mekanizması olarak düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Telomer, Telomeraz, Hücre siklusu, Replikatif yaşlanma.

ABSTRACT

Proliferation capacity of normal somatic cells are limited. The most important reason of it is the fact that, the structure called telomere which is consist of DNA repetition, gets shorter in every cell cycle and it limits cell replication. Telomeres are formed of many repetition of hexanucleotide series (TTAGGG)_n. Mentioned hexanucleotides are located on the end of eukaryotic lineer chromosomes and they have no protein code. Moreover, telomeres accompanied by many forms of specific proteins are necessary in order to prevent undesired effects such as edge-fusions and nucleotic effects, and it is also necessary in order to preserve genomic integrity. Cells with limited replication capacity enters in replicative ageing through shortening of telomeres in every consecutive cell division. These proliferatively incapacitated cells in the stage of irreversible ageing are metabolically active. It is reported that, in various diseases, age is the most important risk factor and there is a relation between the length of telomere and diseases depend on ageing. The preservation of telomere length and its stability is provided by "telomerase enzyme complex" which has its own RNA and proteins. In human cells, while telomerase enzyme activity is observed every region of body in first weeks of embryo, after that in most of the cells, the telomerase activity

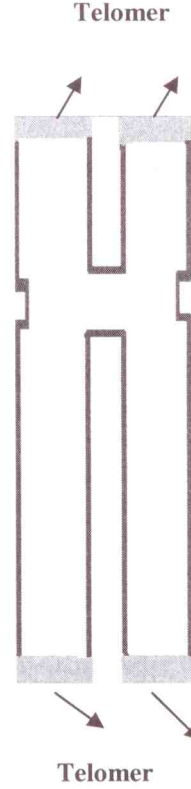
¹ İstanbul Üniversitesi, Dışhekimliği Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji BD.

decreases depending on age factor. In time, some cells proliferate indefinitely after telomerase enzyme regulation or reactivation. Cancer cells are this type of cells. Telomere shortening is considered to be an effective tumor suppressor mechanism.

Key Words: Telomere, Telomerase, Cell cycle, Replicative ageing

1960'lı yıllara kadar normal hücrelerin replikasyon kapasitelerinin limitsiz olduğuna inanılıyordu (1). Ancak daha sonra yapılan in vitro fibroblast hücre kültürü çalışmalarında bu hücrelerin genelde 40 - 80 kadar sınırlı sayıda bölünme gerçekleştirdikleri görüldü (2). Hücre kültürü ortamında, normal insan hücreleri 'Hayflick Limiti' olarak adlandırılan sınırlı bir yaşam süresine sahiptirler (3). Hayflick limiti, maksimum hücre bölünmesi sayısıdır. Normal hücreler bu limite ulaştığında morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler geçirerek proliferasyondan uzaklaşırlar ve bu 'replikatif yaşlanma' olarak adlandırılır (4). Normal hücrelerin çoğu, hücre yaşlanma nedeniyle limitsiz sayıda bölünemezler ve belirli bir aşamadan sonra somatik hücreler için replikatif yaşlanma temel bir özellik olarak ortaya çıkar. Yapılan çalışmalar 'telomer' adı verilen yapıların, hücrenin Hayflick limitinin belirlenmesi için önemli bir ölçek olduğuna işaret etmektedir (1, 5).

Telomerler, ökaryotik lineer kromozomların uç bölgelerinde yer alan, protein kodu içermeyen, çok sayıda heksanükleotid DNA tekrar dizinlerinden $(TTAGGG)_n$ oluşur (Şekil 1). Aynı zamanda birçok özelleşmiş proteinin eşlik ettiği telomerler genomik bütünlüğün korunması için gereklidir (6). Telomerler, kromozomları istenmeyen uç kaynaşmalarına (füzyonlarına) ya da çekirdeksel bozulmalara karşı korurlar. Kromozomların uçlarındaki bu fiziksel korumaya ek olarak, ökaryotik hücrelerde telomerler kromatin organizasyonu ve hücre proliferasyonunun kontrolünde de önemli roller üstlenir (7).



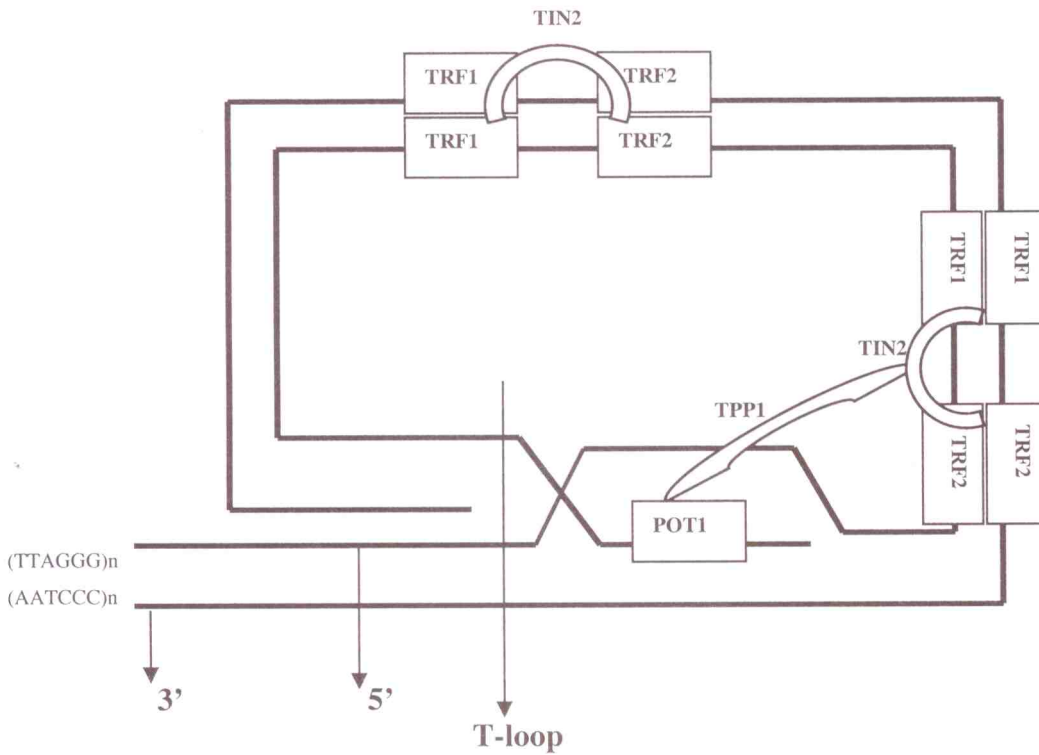
Şekil 1: Kromozomların uç kısımlarında yer alan telomerler.

İnsan telomer DNA'sı 2-15 kb'dan ibaret olup kromozomların uç bölgelerinde 5'-3' doğrultusunda lokalize olmuştur (8). Kromozomların uçlarında bulunan telomer bölgesi sub-telomerik ve esas telomerik olarak adlandırılan 2 bölgeye ayrılır. Sub-telomerik bölge heterojen DNA tekrarlarından oluşur ve boyu değişkendir. Esas telomerik bölge ise

homojen DNA tekrarlarından oluşur (9). Bir kılıf şeklinde kromozomların uç bölgelerinde yer alan telomerler, DNA çift zincirinin geriye doğru kendi üzerine dairesel olarak kıvrılıp, kement şeklinde bağlantı kurarlar. Oluşan bu düğüm şeklindeki telomerik yapıya 't-loop' adı verilir (10). Telomerler kromozomal korumayı, oluşturdukları bu t-loop yapısıyla gerçekleştirirler. Telomerlere bağlı olan ve çeşitli bölgelerinde lokalize olan birçok özel protein, telomer uçlarının şekillenmesinde ve telomer uzunluğunun korunmasında işlev görür (11).

Telomer kompleksi 6 ana protein içerir. Bunlar Rap1 (repressor activator protein 1), TRF1

(telomere-repeat-binding factor 1), TRF2 (telomere-repeat-binding factor 2), POT1 (protection of telomeres-1), TIN2 (TRF1-interacting protein 2) ve TPP1 (tripeptidylpeptidase 1) (eski adı; PTOP/PIP1/TINT1) dir (12). TRF1 ve TRF2, DNA çift zincirindeki TTAGGG tekrar dizinlerine bağlı homolog dimerlerdir. POT1 proteini ise t-loop yapısındaki DNA tek zinciri üzerindeki telomerik uzantıya bağlıdır. Telomerik DNA'ya bağlı olmayan fakat TRF1, TRF2, POT1 proteinlerine bağlı olan ve kompleks oluşturan bir çok özel protein ve DNA tamir faktörleri de bulunmaktadır (10, 13) (Şekil 2).



Şekil 2: Telomerik DNA ve t-loop yapısı ile DNA üzerinde yer alan bazı telomer proteinleri.

Telomerik tekrarların sayısı durağan değildir, her bir hücre bölünmesinin replikasyon aşamasında telomer uzunluğu dinamik bir şekilde değişir (14). Replikasyon sonucu oluşan yeni DNA'nın kısalma nedeni; DNA'nın 5'-3' doğrultusundaki replikasyonuna başlamak için DNA polimerazın bir RNA primerine ihtiyaç duymasıdır. Replikasyon bu RNA primerinin DNA iplikçğine yerleşmesiyle başlar (15, 16). Replikasyon sonunda RNA

primerinin uzaklaşmasıyla oluşan yeni DNA iplikçğinin 5' ucunda DNA polimeraz tarafından tamir edilemeyen bir boşluk oluşur. Oluşan bu boşluk hücre siklusunun S fazında ekzonükleaz enzimleri tarafından kesilir (14).

Bu yüzden normal somatik hücrelerin replikasyon kapasiteleri sınırlıdır. Ardışık her hücre bölünmesiyle gerçekleşen telomer kısalması sonucu

hücreler replikatif yaşlanmaya girerler (17). Bu geri dönüşü olmayan replikatif yaşlanma evresindeki hücreler çoğalma kapasiteleri olmayan fakat metabolik olarak aktif hücrelerdir (11). Çoğu insan hücrelerinde telomer kısalmasıyla tetiklenen replikatif yaşlanma, p53 ve/veya p16 (p16^{INK4a}) supressor proteinlerin artışına yol açar bu da hücre bölünmesini inhibe eder (18).

Hücre bölünmesinin sürekliliğinde yani hücreselel ölümsüzlük sürecinde, aşılması gereken M1 ve M2 olarak adlandırılan iki önemli aşama vardır. Yaşlanma evresi olarak bilinen M1 evresini aşan hücreler uzun bir yaşama sahip olurlar, fakat ölümsüz değildirler (19). M1 evresini, hücre siklusunun kontrol noktaları olan p53 ve/veya p16/Rb yokluğunda aşan hücreler M2 evresine girerler. M2 evresine giren hücrelerin bir kısmı telomeraz enziminin regülasyonu ya da reaktivitesi sonucu belirsiz bir şekilde çoğalır, kanser hücreleri bu tip hücrelerdir (20).

Telomer uzunluğunun korunmasını ve stabil kalmasını, kendine ait bir RNA ve proteinleri bulunan 'telomeraz enzim kompleksi' sağlar. Telomeraz enzim kompleksi bu korumayı kromozomların uç kısımlarına telomerik DNA tekrarlarını ekleyerek gerçekleştirir (21). Telomeraz enzimi; RNA'dan DNA sentezlenmesinde katalitik görev yapan 127 kDa hTERT proteini (telomeraz revers transkriptaz) ve telomer uzamasında kalıp görevi yapan RNA alt birimi hTERC'den (telomeraz RNA komponenti) oluşur (20, 22, 23). Telomeraz RNA'sı, iki dalı olan telomerin daha uzun olan tek dalının karşısına yerleşerek, revers transkripsiyonla kromozomların uç kısımlarına TTAGGG (DNA nükleotidleri) tekrar dizinlerini ekleyerek telomerik DNA'nın uzamasını sağlar (21, 23, 24).

İnsan hücrelerinde telomeraz enzim fonksiyonu embriyo evresinin ilk haftaları boyunca hemen her yerdeki hücrelerde görülürken, sonradan hücrelerin çoğunda yaşa bağlı olarak azalır (25, 26). Normal somatik hücrelerden farklı olarak insan embriyonik kök hücreleri farklılaşmadan ve hücreselel yaşlanma göstermeden çoğalabilir. Bu hücreler pluripotent özelliklerini in vivo ve in vitro ortamda koruyarak yüksek telomeraz aktivitesi gösterirler (27). Telomeraz aktivitesi fetal ve ergin germ hücrelerinde, tamir gören dokuların çoğalan hücrelerinde, hematopoietik kök hücrelerde, bağırsak kripta hücrelerinde, lenfositlerde ve saç folikülleri gibi normal insan hücrelerinde tespit edilmiştir (28). İnsan kanser hücrelerinin %90'ında yüksek telomeraz aktivitesi belirlenmiştir (8). Sigara

içerilerden alınan biyopsi örneklerinde telomeraz aktivitesi sigara içmeyenlerden alınan biyopsi örneklerine göre daha yüksek çıkmıştır (29).

Telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi insan hastalıklarının pato-biyolojisinde önemli bir faktördür (30). Ortalama uzunluktan daha kısa telomere sahip insanlarda, kalp hastalıklarından ölme riski artmakta ve kronik stres veya enfeksiyonlar telomerin kısalmasını artırmaktadır (26). Obezite ve sigara yaşlanmaya bağlı hastalıklarda önemli bir risk faktördür. Bu faktörler telomerin kısalmasını artırmaktadır (31). Yapılan çalışmalarda arterioskleroz gibi hastalıklarda yaşın major risk faktörü olduğu, esansiyel arteriyel hipertansiyonla telomer uzunluğu ve telomeraz enzim aktivitesi arasında bir ilişki bulunduğu belirtilmiştir (32, 33).

Telomer uzunluğunun korunması erken hücreselel yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların birikiminden kaçınmak için yeterli olabilir (25).

Bazı araştırmacılar immün sistemde telomerin kısalmasının enfeksiyon hastalıklarıyla savaşma yeteneğinde azalmaya işaret ettiğini belirtmiştir (34). Ardışık hücre bölünmeleriyle telomerlerin kısalmasının çok fazla hücreselel soruna yol açtığı ve kusurlu genlerin kendilerini gösterme fırsatı bularak kalıtsal hastalıklarda rol oynayabileceği düşünülmektedir (35). Normal memeli hücreleri telomer kısalmasına hücreselel tümör supressor mekanizmaları olan apoptozis ya da replikatif yaşlanmayla yanıt verirler (10) Aksi takdirde prekanseröz hücrelerin malign olmak için birçok kez bölünerek gerekli mutasyonları biriktirmeleri gerekir (36).

Telomer kısalması etkili bir tümör supressor mekanizma olarak düşünülmektedir (20). Telomerin onkojenik translokasyonlarla yarışarak DNA çift sarmalındaki kırıklarla füzyona girmesinin tümör oluşumunu azalttığı ileri sürülmektedir (37). Bu yüzden telomer uzunluğunun doku homeostazının korunması ile de ilgili olduğu düşünülmektedir (38).

SONUÇ

Lineer kromozomların uç bölgelerinde yer alan telomerik yapılar, birçok hücreselel olayda anahtar rol oynar. Her normal hücreselel bölünme ile kısalan telomerlerin uzunluğu telomeraz enzim aktivitesiyle korunur. Kanser oluşumu ve hücreselel yaşlanmada telomer-telomeraz ilişkisinin belirlenmesinin ardından son yıllarda yapılan çalışmalar kanser

hücrelerinde tedavi amaçlı telomeraz enzim inhibisyonu üzerine yoğunlaşmıştır. Telomer ve/veya telomerazın kanser hastalıkları için potansiyel bir tanı ve prognoz belirteci olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Telomer ve/veya telomerazları hedefleyen terapi yöntemlerinin kanser hücrelerinin çoğalmasını durdurmak için kullanılabileceği tartışılmaktadır. Kanser ve yaşlanmayla ilgili çalışmalarda olduğu gibi, klonlama ve doku transplantasyonu ile ilgili çalışmalarda da telomer-telomeraz ilişkisi önemlidir. Tüm bu alanlarda umut verici çalışmalar yapılmasına karşın telomer-telomeraz yapısının ve hücresel rolünün moleküler düzeyde daha iyi anlaşılıp, güvenli ve etkili yöntemlerin geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Hayflick L. Mortality and immortality at the cellular level. *Biochemistry (Mosc)*, 1997; 62: 1180-90.
- Awaya N, Baerlocher GM, Manley TJ, Sanders JE, Mielcarek M, Torok-Storb B, Lansdorp PM. Telomere shortening in hematopoietic stem cell transplantation: a potential mechanism for late graft failure? *Biol Blood Marrow Transplant*, 2002; 8: 597-600.
- Klingelutz AJ. The roles of telomeres and telomerase in cellular immortalization and the development of cancer. *Anticancer Res*, 1999; 19: 4823-30.
- Wai LK. Telomeres, telomerase, and tumorigenesis-- a review. *MedGenMed*, 2004; 6: 19.
- Campisi J. The biology of replicative senescence. *Eur J Cancer*, 1997; 33: 703-9.
- Gilley D, Tanaka H, Herbert BS. Telomere dysfunction in aging and cancer. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005; 37: 1000-13.
- Wong JM, Collins K. Telomere maintenance and disease. *Lancet*, 2003; 362: 983-8.
- Yamada O. Telomeres and telomerase in human hematologic neoplasia. *Int J Hematol*, 1996; 64: 87-99.
- Atlı K, Bozcuk N. Telomer ve hücresel yaşlanma. *Turkish Journal of Geriatrics*, 2002; 5: 111-114.
- Rodier F, Kim SH, Nijjar T, Yaswen P, Campisi J. Cancer and aging: the importance of telomeres in genome maintenance. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005; 37: 977-90.
- Klapper W, Parwaresch R, Krupp G. Telomere biology in human aging and aging syndromes. *Mechanisms of Ageing and Development*, 2001; 122: 695-712.
- O'Connor MS, Safari A, Xin H, Liu D, Songyang Z. A critical role for TPP1 and TIN2 interaction in high-order telomeric complex assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006; 103: 11874-9.
- Wright WE, Shay JW. Telomere-binding factors and general DNA repair. *Nat Genet*, 2005; 37: 116-8.
- Bekaert S, Derradji H, Baatout S. Telomere biology in mammalian germ cells and during development. *Dev Biol*, 2004; 274: 15-30.
- Sumida T, Hamakawa H. Telomerase and oral cancer. *Oral Oncology*, 2001; 37: 333-340.
- Geserick C, Blasco MA. Novel roles for telomerase in aging. *Mech Ageing Dev*, 2006; 127: 579-83.
- Flanary BE, Streit WJ. Telomeres shorten with age in rat cerebellum and cortex in vivo. *J Anti Aging Med*, 2003; 6: 299-308.
- Ksiazek K, Trominska-Starczynska J, Witowski J. Mechanisms and medical implications of replicative senescence. *Pol Arch Med Wewn*, 2005; 114: 918-23.
- MacKenzie KL, Franco S, May C, Sadelain M, Moore MA. Mass cultured human fibroblasts overexpressing hTERT encounter a growth crisis following an extended period of proliferation. *Exp Cell Res*, 2000; 259: 336-50.
- Shay JW, Wright WE. Senescence and immortalization: role of telomeres and telomerase. *Carcinogenesis*, 2005; 26: 867-74.
- Forstemann K, Lingner J. Telomerase limits the extent of base pairing between template RNA and telomeric DNA. *EMBO Rep*, 2005; 6: 361-6.
- Pendino F, Tarkanyi I, Dudognon C, Hillion J, Lanotte M, Aradi J, Segal-Bendirdjian E. Telomeres and telomerase: Pharmacological targets for new anticancer strategies? *Curr Cancer Drug Targets*, 2006; 6: 147-80.
- Dong CK, Masutomi K, Hahn WC. Telomerase: regulation, function and transformation. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2005; 54: 85-93.

24. Legassie JD, Jarstfer MB. Telomerase as a DNA-dependent DNA polymerase. *Biochemistry*, 2005; 44: 14191-201.
25. Hug N, Lingner J. Telomere length homeostasis. *Chromosoma*, 2006; 115: 413-425.
26. Harley CB. Telomerase therapeutics for degenerative diseases. *Curr Mol Med*, 2005; 5 (2): 205-11.
27. Zeng X, Rao MS. Human embryonic stem cells: long term stability, absence of senescence and a potential cell source for neural replacement. *Neuroscience*, 2007; 145: 1348-1358.
28. Özdemir M, Güneş H.V, Başaran A, Değirmenci İ, Solak M, Çoşan D. KLL ve AML'li hastalarda telomeraz enzim aktivitesi tayini. *Kocatepe tıp dergisi*, 2004; 5: 25-29.
29. Targowski T, Jahnz-Rozyk K, Szkoda T, From S, Rozynska R, Plusa T. Influence of nicotine addiction on telomerase activity in malignant non-small cell lung tumors *Przegl Lek*, 2005; 62: 1043-6.
30. Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet*, 2005; 6: 611-22.
31. Valdes AM, Andrew T, Gardner JP, Kimura M, Oelsner E, Cherkas LF, Aviv A, Spector TD. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*, 2005; 366: 662-4.
32. Tristano A, Eugenia Chollet M, Willson ML, Adjounian H, Fernanda Correa M, Borges A. Telomerase activity in peripheral blood leukocytes from patients with essential hypertension. *Med Clin (Barc)*, 2003; 120: 365-9.
33. Harley CB, Sherwood SW. Telomerase, checkpoints and cancer. *Cancer Surv*, 1997; 29: 263-84.
34. Miller RA. Telomere diminution as a cause of immune failure in old age: an unfashionable demurral. *Biochem Soc Trans*, 2000; 28: 241-5.
35. Aviv A, Aviv H. Telomeres, hidden mosaicism, loss of heterozygosity, and complex genetic traits. *Hum Genet*, 1998; 103 (1): 2-4.
36. Wright WE, Shay JW. Telomere biology in aging and cancer. *J Am Geriatr Soc*, 2005; 53: S292-4.
37. Qi L, Strong MA, Karim BO, Huso DL, Greider CW. Telomere fusion to chromosome breaks reduces oncogenic translocations and tumour formation. *Nat Cell Biol*, 2005; 7: 706-11.
38. Munoz P, Blanco R, Blasco MA. Role of the TRF2 telomeric protein in cancer and ageing. *Cell Cycle*, 2006; 5: 718-21.

Yazışma Adresi:**Dr. İlker BOLAT**

İstanbul Üniversitesi, Dişhekimliği Fakültesi,

Histoloji ve Embriyoloji BD,

Çapa, İstanbul.

Tel: +90.212.4142020-30221

+90.542.4879584

E-mail: ilkerbolat@hotmail.com