

«Σχολή Θετικών επιστημών και τεχνολογίας»

«Χημική και βιομοριακή ανάλυση»

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

«Ο ρυθμιστικός ρόλος του μιτοχονδρίου στην επιγενετική της γήρανσης»

Αγγελική Πασπαράκη

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Αικατερίνη Κωνσταντίνου

Πάτρα, Ιούλιος 2024

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του φοιτητή («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



«Ο ρυθμιστικός ρόλος του μιτοχονδρίου στην επιγενετική της γήρανσης»

Αγγελική Πασπαράκη

Επιτροπή Επίβλεψης Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια: Αικατερίνη Κωνσταντίνου Συνεργαζόμενο εκπαιδευτικό προσωπικό Ελληνικό Ανοικτό Πανεπιστήμιο	Συν-Επιβλέπων Καθηγητής: Μαργαρίτης Αυγέρης Καθηγητής-Ιατρική Σχολή Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
---	--

Πάτρα, Ιούλιος 2024

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς όλους όσους στάθηκαν δίπλα μου, με στήριξαν και με στηρίζουν σε κάθε φάση της ζωής μου.

Νίκο, Πωλίνα, Μάνο σας ευχαριστώ για την αγάπη, την κατανόηση, την υπομονή και την συνεχή ενθάρρυνση σε μια δύσκολη περίοδο για όλους. Χωρίς εσάς δεν θα ήμουν εδώ!

Φίτσα, Πάυλο σας ευχαριστώ για ό,τι έχω καταφέρει μέχρι σήμερα.

Ευχαριστώ τις φίλες μου που ήταν δίπλα μου πριν καν το ζητήσω, και όσους πίστεψαν σε μένα!!!

Ιδιαίτερες ευχαριστίες στην Κατερίνα, για την συνεργασία και την καθοδήγηση, αλλά πάνω από όλα για την υποστήριξη στα δύσκολα...

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η γήρανση είναι ένα πολυδιάστατο βιολογικό φαινόμενο που καθοδηγείται από έναν συνδυασμό γενετικών, περιβαλλοντικών και επιγενετικών παραγόντων. Χαρακτηρίζεται από προοδευτική φθορά των φυσιολογικών λειτουργιών, με αποτέλεσμα την αυξημένη ευπάθεια σε ασθένειες και τον θάνατο. Τα μιτοχόνδρια έχουν κρίσιμο ρόλο στην επιβίωση του κυττάρου και του οργανισμού, που εκτείνεται πολύ πέρα από την συμμετοχή τους στην παραγωγή ενέργειας. Πρόσφατες μελέτες υπογραμμίζουν την σημαντική επίδραση μιτοχονδριακών επιγενετικών μηχανισμών όπως μεθυλίωση του mtDNA, μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην διαμόρφωση του νουκλεοειδούς και ρύθμιση από μη κωδικοποιητικά RNA, στην ομαλή λειτουργία των μιτοχονδρίων και, κατά συνέπεια, στη διαδικασία της γήρανσης. Τα οργανίδια αυτά περιέχουν το δικό τους γενετικό υλικό, το οποίο είναι εκτεθειμένο σε επιγενετικές αλλαγές που επηρεάζουν την έκφραση και τη λειτουργία των γονιδίων τους. Αν και η μεθυλίωση του mtDNA είναι λιγότερο συχνή από τη μεθυλίωση του πυρηνικού DNA, έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τη βιογένεση των μιτοχονδρίων, την αναπνευστική λειτουργία και την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Οι ηλικιοεξαρτώμενες αλλαγές στα πρότυπα μεθυλίωσης του μιτοχονδριακού γονιδιώματος έχουν συσχετιστεί με τη μείωση της φυσιολογικής λειτουργίας των οργανιδίων στους γηρασμένους ιστούς. Τα μη κωδικοποιητικά RNA, συμπεριλαμβανομένων των miRNA και των lncRNA, επίσης επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό τη μιτοχονδριακή λειτουργία καθώς ρυθμίζουν την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων που κωδικοποιούνται τόσο από τον πυρήνα όσο κι από το μιτοχόνδριο, επηρεάζοντας τη δυναμική του οργανιδίου, τον ενεργειακό μεταβολισμό και την απόπτωση. Αλλαγές στη συγκέντρωση ή στον τρόπο δράσης των ncRNA έχει συνδεθεί με μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και σχετιζόμενες με την ηλικία παθολογίες. Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις πρωτεϊνών στο μιτοχόνδριο, επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων τους και τη διατήρηση της ακεραιότητας του οργανιδίου επηρεάζοντας τις μεταβολικές διαδικασίες και την αντίδραση στο οξειδωτικό στρες. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί, τέλος, μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους προκειμένου να ρυθμίσουν από κοινού τα μιτοχονδριακά γονίδια, με συνέπειες στη λειτουργία των οργανιδίων και στην πορεία της γήρανσης. Η καλύτερη κατανόηση των μηχανισμών αυτών, αποκαλύπτει πληροφορίες για τη μοριακή βάση της γήρανσης και αναδεικνύει πιθανούς θεραπευτικούς στόχους για την καταπολέμηση των ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία.

Λέξεις – Κλειδιά

Γήρανση, Μιτοχόνδριο, Επιγενετική, Μιτοεπιγενετική, Μεθυλίωση, Μη-κωδικοποιητικά RNA, TFAM

ABSTRACT

Aging is a complex biological phenomenon influenced by a combination of genetic, environmental, and epigenetic factors. It is characterized by a gradual decline in physiological functions, leading to increased susceptibility to disease and mortality. Mitochondria play a crucial role in cell and organism survival, extending beyond their primary function in energy production. Recent research underscores the significant impact of mitochondrial epigenetic mechanisms—such as mtDNA methylation, post-translational modifications of nucleoid-associated proteins, and regulation by non-coding RNAs—on mitochondrial function and, consequently, on the aging process. Mitochondria possess their own genetic material, which is susceptible to epigenetic modifications that influence the expression and functionality of their genes. Although mtDNA methylation is less prevalent than nuclear DNA methylation, it has been shown to affect mitochondrial biogenesis, respiratory function, and reactive oxygen species (ROS) production. Age-related alterations in mitochondrial genome methylation patterns have been linked to a decline in normal organelle function in aging tissues. Non-coding RNAs, including miRNAs and lncRNAs, also play a pivotal role in mitochondrial function by regulating the expression of both nuclear and mitochondrial genes, impacting organelle dynamics, energy metabolism, and apoptosis. Variations in the levels or mechanisms of action of ncRNAs have been associated with mitochondrial dysfunction and age-related pathologies. Additionally, post-translational modifications of mitochondrial proteins influence gene expression and the maintenance of organelle integrity by affecting metabolic processes and oxidative stress responses. Furthermore, these epigenetic mechanisms can interact synergistically to regulate mitochondrial genes, thereby influencing organelle function and the aging trajectory. A deeper understanding of these processes provides insights into the molecular underpinnings of aging and identifies potential therapeutic targets for combating age-related diseases.

Keywords

Aging, Mitochondrion, Epigenetics, Mitoepigenetics, Methylation, ncRNAs, TFAM

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	5
ABSTRACT	6
Συντομογραφίες και Ακρωνύμια.....	9
1. ΓΗΡΑΝΣΗ	14
ΟΡΟΛΟΓΙΑ ΓΗΡΑΝΣΗΣ	14
1.1 Κυτταρική γήρανση.....	15
1.2 Συστημική γήρανση	16
1.3 Θεωρίες της γήρανσης.....	17
1.3.1. Θεωρίες του προγραμματισμένου γεγονότος	18
1.3.2. Θεωρίες βλάβης ή σφάλματος.....	18
1.4 Εξελικτικές θεωρίες της γήρανσης.....	21
1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν τη γήρανση.....	22
1.5.1. Αστάθεια DNA.....	24
1.5.2. Φθορά τελομερών	24
1.5.3 Επιγενετικές αλλοιώσεις.....	25
1.5.4 Απώλεια πρωτεόστασης	25
1.5.5 Απορρύθμιση ανίχνευσης θρεπτικών ουσιών	26
1.5.6 Μιτοχονδριακή δυσλειτουργία.....	26
1.5.7 Κυτταρική γήρανση.....	27
1.5.8 Εξάντληση βλαστοκυττάρων.....	28
1.5.9. Διαφοροποιημένη διακυτταρική επικοινωνία.....	29
1.5.10 Απενεργοποίηση της μακροαυτοφαγίας,	29
1.5.11 Χρόνια φλεγμονή	30
1.5.12 Η δυσβίωση.	31
Δημογραφικά στοιχεία	32
2. Το ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΟ	34
2.1 Θεωρίες για την προέλευση των μιτοχονδρίων.....	34
2.2 Η δομή του μιτοχονδρίου	35
2.3 Κληρονόμηση mtDNA	37
2.4 Λειτουργία και ρόλοι στο κύτταρο.....	38
2.4.1 Παραγωγή Ενέργειας.....	39
2.4.2. Ομοιόσταση ασβεστίου	40
2.4.3. Απόπτωση	40
2.4.4. Σύνθεση αίμης	41

2.4.5. Σύνθεση συμπλεγμάτων Fe/S	41
2.4.6 Επιπλέον λειτουργικοί ρόλοι	41
2.5 Ο ρόλος των μιτοχονδρίων στη γήρανση	42
2.5.1. Μεταλλάξεις στο Μιτοχονδριακό DNA	42
2.5.2 Φλεγμονώδης απόκριση, mtROS	44
2.5.3 Μηχανισμοί ποιοτικού ελέγχου του μιτοχονδρίου	45
3. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ	52
3.1 ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ DNA	52
3.2. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ	57
3.2.1. Μεθυλίωση	58
3.2.2 Ακετυλίωση	60
3.2.3 Ουβικιτινίωση	62
3.2.4 Φωσφορυλίωση	63
3.2.5 Σουμοϋλίωση	65
3.3 Μη κωδικοποιητικά RNA	65
3.3.1 miRNAs	68
3.3.2. Μακρά μη κωδικοποιητικά RNA	70
3.3.3 Κυκλικά RNA	72
Κεφάλαιο 4_ Η ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΩΝ	75
4.1. Μεθυλίωση του μιτοχονδριακού DNA	77
4.1.1. Μεθυλίωση και υδροξυμεθυλίωση κυτοσίνης (5mC και 5hmC)	77
4.1.2 Μεθυλίωση Αδενίνης (6mA)	80
4.1.3 Ο ρόλος της μεθυλίωσης στη γήρανση	81
4.2 Ο ρυθμιστικός ρόλος των μιτοχονδριακών μη κωδικοποιητικά RNA (ncRNAs)	84
4.2.1 miRNAs	85
4.2.2 lncRNAs	87
4.3 Ο ρυθμιστικός ρόλος των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (PTMs) σε πρωτεΐνες που σχετίζονται με mtDNA	88
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	92
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	98

Συντομογραφίες και Ακρωνύμια

AD	Alzheimer's Disease
AMBRA1	autophagy and beclin 1 regulator 1
ATF4	Activating Transcription Factor 4
ATF5	Activating Transcription Factor 5
ATFS-1	activating transcription factor associated with stress-1
BNIP3	BCL2/adenovirus E1B 19 kDa protein-interacting protein 3
cGAS	Cyclic GMP-AMP synthase
CHOP	C/EBP Homologous Protein
circRNAs	circular RNAs
DAMPs	damage-associated molecular patterns
DELE1	DAP3 Binding Cell Death Enhancer 1
D-Loop	displacement loop
DNMTs	DNA methyltransferases
Drp1	dynamain-related protein 1
ELISA	antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay
FUNDC1	Fun14 domain-containing protein 1
GRSF1	G-rich RNA sequence-binding factor 1

GSS	gene start site
HSP1, HSP2	H-strand promoters 1 and 2
IMM	inner mitochondrial membrane
IMS	intermembrane space
LC3	microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3
lncRNAs	long non-coding RNAs
LonP1	Lon protease-like 1
LPS	lipopolysaccharide
LSP	L-strand promoter
MDVs	mitochondrial-derived vesicles
METTL4	methyltransferase like 4
MFF	Mitochondrial fission factor
miRNAs	microRNAs
mtDNA	mitochondrial DNA
mtETC	mitochondrial electron transport chain
mtROS	Mitochondrial reactive oxygen species
mtSSB	mitochondrial single-stranded DNA binding protein
MTS	mitochondrial targeting signal

mtUPR	mitochondrial unfolded protein response
ncRNAs	non-coding RNAs
nDNA	nuclear DNA
NLS	nuclear localization signal
NLR	NOD-like receptor
NRF1	nuclear respiratory factor 1
NRF2	nuclear respiratory factor 2
Numts	nuclear mitochondrial DNA segments
OMM	outer mitochondrial membrane
OPTN	optineurin
OXPHOS	oxidative phosphorylation
PGC-1 α	peroxisome proliferator-activated receptor γ co-activator 1 α
PINK1	PTEN-induced kinase 1
piRNAs	piwi-interacting RNAs
POLRMT	mitochondrial RNA polymerase
PTMs	post-translational modifications
ROS	reactive oxygen species
rRNAs	ribosomal RNAs

SAM	S-adenosyl-methionine
siRNAs	short interfering RNAs
sncRNAs	small non-coding RNAs
SOD2	superoxide dismutase 2
TAX1BP1	Tax1-binding protein 1
TCA	tricarboxylic acid
TETs	ten-eleven translocation enzymes
TFAM	mitochondrial transcription factor A
TFB2M	mitochondrial transcription factor B2
TIM	translocase of the inner membrane
TOM	translocase of the outer membrane
tRNAs	transfer RNAs
UBL-5	ubiquitin-like protein 5
UPRmt	Unfolded Protein Response of the mitochondria
5caC	5-carboxylcytosine
5fC	5-formylcytosine
5hmC	5-hydroxymethylcytosine
5mC	5-methylcytosine

6hmA	N6-hydroxymethyladenine
6mA	N6-methyldeoxyadenosine

1. ΓΗΡΑΝΣΗ

Σήμερα, καθώς οι περισσότεροι άνθρωποι ζουν πέραν των 60 ετών και οι παγκόσμιοι πληθυσμοί γηράσκουν, οι στατιστικές μελέτες αποκαλύπτουν ότι η μακροζωία σπάνια συνοδεύεται από παρατεταμένη υγιή κατάσταση. Αυτό οφείλεται στην αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης εκφυλιστικών ασθενειών, οι οποίες επηρεάζουν την ποιότητα ζωής και αυξάνουν την ανάγκη υγειονομικής περίθαλψης.

Η γήρανση, ως βιολογικό φαινόμενο, αποτελεί μια πολύπλοκη αλληλεπίδραση γενετικών, περιβαλλοντικών και επιγενετικών παραγόντων. Η αποσαφήνιση της μοριακής της βάσης είναι πρωταρχικής σημασίας, όχι μόνο για την κατανόηση των θεμελιωδών διαδικασιών που διέπουν τη ζωή, αλλά και για την αντιμετώπιση των προκλήσεων που θέτει ο ολοένα γηράσκων παγκόσμιος πληθυσμός.

Δυστυχώς, η πεποίθηση ότι η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής συνοδεύεται αυτομάτως από μακρά περίοδο καλής υγείας δεν επιβεβαιώνεται πάντα. Αν και η μακροζωία είναι εξαιρετικά σημαντική, είναι η περίοδος καλής υγείας που τελικά καθορίζει την ποιότητα ζωής.

Ήδη από τις αρχές του 20ού αιώνα, η επιστημονική κοινότητα εξετάζει την ιδέα ότι χρόνιες ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία οφείλονται στη γήρανση. Με την κατανόηση των μοριακών μονοπατιών και των παραγόντων που επηρεάζουν το φαινόμενο, οι ερευνητές και οι επαγγελματίες υγείας αποκτούν γνώσεις που θα μπορούσαν ενδεχομένως να χρησιμοποιήσουν για την προαγωγή υγιούς γήρανσης.

Σε αυτή την εργασία, θα εξεταστεί η μοριακή βάση της γήρανσης, με ιδιαίτερη έμφαση στη διαλεύκανση του ρόλου της επιγενετικής ρύθμισης της μιτοχονδριακής λειτουργίας σε αυτό το περίπλοκο βιολογικό φαινόμενο.

ΟΡΟΛΟΓΙΑ ΓΗΡΑΝΣΗΣ

- **Διάρκεια ζωής (Lifespan):** Ο χρόνος από τη γέννηση έως τον θάνατο ενός οργανισμού.
- **Προσδόκιμο ζωής (Life expectancy):** Η μέση διάρκεια ζωής ενός πληθυσμού. Ουσιαστικά αναφέρεται στο χρονικό διάστημα που αναμένεται να ζήσει ένα άτομο, βάσει του έτους γέννησης, της τρέχουσας ηλικίας, του φύλου και διαφόρων άλλων δημογραφικών παραγόντων και στατιστικά ορίζεται ως ο μέσος αριθμός των ετών ζωής που αντιστοιχούν σε μια δεδομένη ηλικία.
- **Μέγιστη διάρκεια ζωής (Maximum lifespan):** Η μέγιστη παρατηρούμενη περίοδος επιβίωσης ενός πληθυσμού, φθάνοντας στα περίπου 122 έτη στον άνθρωπο ¹.

- **Μακροζωία (Longevity):** Η ικανότητα ενός ατόμου να ζήσει περισσότερο από τον μέσο όρο (προσδόκιμο) για το συγκεκριμένο είδος ².
- **Περίοδος υγιούς ζωής (Healthspan):** Ο συνολικός χρόνος κατά τον οποίο ένα άτομο παραμένει υγιές, και είναι συχνά λιγότερος από τη διάρκεια ζωής, καθώς κάποιος μπορεί να νοσήσει σε νεαρή ηλικία, αλλά να ζήσει για πολλά χρόνια ³. Η γήρανση διακρίνεται στην κυτταρική γήρανση (senescence) και στην συστημική (aging) ή απλά "γήρανση".

1.1 Κυτταρική γήρανση

Senex στα λατινικά σημαίνει «γηρασμένος» και από εκεί προέρχεται ο αγγλικός όρος “senescence” που χρησιμοποιείται για να αποδώσει την έννοια της κυτταρικής γήρανσης. Η κυτταρική γήρανση είναι μια διαδικασία κατά την οποία τα κύτταρα παύουν να διαιρούνται και υφίστανται διακριτές φαινοτυπικές αλλοιώσεις. Ο όρος χρησιμοποιήθηκε πρώτη φορά από τον Hayflick ως «αναπαραγωγική γήρανση» (replicative senescence) για να περιγράψει την περιορισμένη ικανότητα διπλοειδών κυττάρων να πολλαπλασιαστούν σε κυτταροκαλλιέργεια ⁴. Τα γηρασμένα κύτταρα παρουσιάζουν:

- Χαρακτηριστικές μορφολογικές αλλοιώσεις ^{5 6}, όπως διογκωμένη, πεπλατυσμένη και ακανόνιστη μορφολογία και συχνά κοκκιώδη όψη που σχετίζεται με μια αύξηση στο μέγεθος και αριθμό των λυσοσωμάτων ⁷.
- Απώλεια φυσιολογικής λειτουργίας και τροποποίηση του μεταβολισμού τους, για την καλύτερη εξυπηρέτηση των υψηλών ενεργειακών απαιτήσεων του κυττάρου ⁸ όπως αυτές διαμορφώνονται λόγω αυξημένης παραγωγής λειτουργικών οργανιδίων -για την άμεση αντικατάσταση αυτών που έχουν υποστεί βλάβη ⁹ -, αυξημένης συσσώρευσης μιτοχονδριακής μάζας (άρα και ROS) λόγω ανεπαρκούς μιτοφαγίας ¹⁰, αυξημένης γλυκόλυσης λόγω ανεπαρκούς οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και τέλος λόγω αυξημένου κυτταρικού μεγέθους και παραγωγής εκκριτικών παραγόντων ¹¹.
- Αύξηση λυσοσωμικού φορτίου που συνοδεύεται από αύξηση συγκέντρωσης της β-γαλακτοσιδάσης (SA-β-Gal), γεγονός που καθιστά την τελευταία, πολύτιμο βιοδείκτη γηρασμένων κυττάρων ¹².
- Αδυναμία πολλαπλασιασμού, λόγω διακοπής του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1/G2.
- Δομικές πυρηνικές αλλαγές, όπως μείωση πυρηνικής λαμίνης ¹³ και σχηματισμός χαρακτηριστικών εστιών ετεροχρωματίνης (SAHF) που εξυπηρετούν την παρεμπόδιση του κυτταρικού κύκλου ¹⁴.

- Ανθεκτικότητα σε αποπτωτικούς μηχανισμούς παρά την συσσώρευση βλαβών. Τα αυξημένα επίπεδα των BCL-2 πρωτεϊνών, επίσης αποτελούν πολύτιμο βιοδείκτη ανίχνευσης γηρασμένων κυττάρων¹⁵.
- Χαρακτηριστικό εκκριτικό φαινότυπο γηρασμένου κυττάρου (SASP). Με την έκκριση προφλεγμονωδών ουσιών και μορίων αποικοδόμησης της εξωκυττάριας μήτρας (κυτοκινών, χημοκινών, αυξητικών παραγόντων και πρωτεασών)¹⁶, ο εκκριτικός φαινότυπος SASP εξυπηρετεί την δυνατότητα του γηρασμένου, εκκριτικού κυττάρου να επηρεάζει τη ρύθμιση και τις λειτουργίες τόσο γειτονικών όσο και απομακρυσμένων σημείων^{17 18}.

Με τους παραπάνω μηχανισμούς η κυτταρική γήρανση περιορίζει τον αριθμό των κυττάρων που είναι διαθέσιμα για τη φυσιολογική λειτουργία ενός ιστού, με στόχο τη ρύθμιση ομοιοστατικών μηχανισμών του κυττάρου, κυρίως κατά την εμβρυική ανάπτυξη και κατά την διαδικασία της επούλωσης πληγών. Ωστόσο, μπορεί να εξελιχθεί σε μια παθολογική διαδικασία που σχετίζεται άμεσα με την συστηματική γήρανση και με ασθένειες ή μεταβολικές διαταραχές που οφείλονται στην τελευταία. Επιπλέον, η έκθεση σε παράγοντες στρες, όπως οξειδωτικό στρες, ακτινοβολία, ενεργοποίηση ογκογονιδίων, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και φάρμακα, είναι ικανή να προκαλέσει κυτταρική γήρανση, γνωστή ως επαγόμενη από το στρες πρόωρη κυτταρική γήρανση (SIPS)¹⁹. Αυτή η μορφή κυτταρικής γήρανσης χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη ταχύτητα εξέλιξης²⁰ και προκαλεί ήπια συστηματική φλεγμονή, που σε συνδυασμό με τη φθίνουσα ικανότητα απομάκρυνσης των γηρασμένων κυττάρων (λόγω SASP ή αντίστασης στην απόπτωση) καταλήγει στη συσσώρευσή τους στους ιστούς. Ενεργοποιείται, επομένως, ένας φαύλος κύκλος ανατροφοδότησης της φλεγμονής, που με τη σειρά της επάγει εκ νέου τη γήρανση. Για το λόγο αυτό τα γηρασμένα κύτταρα και ο εκκριτικός φαινότυπος τους (SASP) θεωρούνται δυνητικοί θεραπευτικοί στόχοι. Πρόσφατα πειραματικά στοιχεία δείχνουν ότι η γενετική ή η φαρμακολογική απομάκρυνση γηρασμένων κυττάρων μπορεί να παρατείνει τη διάρκεια ζωής και να βελτιώσει την περίοδο υγείας. Έτσι, έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον για τον εντοπισμό μεθόδων κατάλληλων για στόχευση και καταστροφή των γηρασμένων κυττάρων²¹.

1.2 Συστημική γήρανση

Η συστηματική γήρανση είναι μια αναπόφευκτη βιολογική διαδικασία κατά την οποία οι φυσιολογικές λειτουργίες φθίνουν με το χρόνο, οδηγώντας σε μειωμένη λειτουργικότητα πολλών οργάνων, αυξημένη ευαισθησία σε ασθένειες και περιβαλλοντικούς παράγοντες και

τελικά σε περιορισμό της διάρκειας ζωής ενός οργανισμού. Συνδέεται με αλλαγές σε βιολογικές, φυσιολογικές, ψυχολογικές, συμπεριφορικές και κοινωνικές διαδικασίες. Κάποιες ηλικιοεξαρτώμενες αλλαγές μπορεί να είναι καλοήθειες, όπως το γκριζάρισμα των μαλλιών, ενώ κάποιες άλλες μπορεί να έχουν ως αποτέλεσμα την φθορά της φυσιολογικής λειτουργίας των αισθήσεων και των δραστηριοτήτων της καθημερινής ζωής, την αυξημένη ευαισθησία και συχνότητα εμφάνισης ασθενειών, αδυναμίας ή αναπηρίας. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι οι εκτεταμένες φαινοτυπικές και λειτουργικές αλλοιώσεις ιστών και οργάνων, που συνοδεύουν τη γήρανση, οδηγούν σε βλάβες οστών και αρθρώσεων, καρδιαγγειακή και μυϊκή ανεπάρκεια, περιορισμένη νεφρική λειτουργία, αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου και νευροεκφυλισμό.

Στην πραγματικότητα, η προχωρημένη ηλικία είναι ο κύριος παράγοντας κινδύνου για μια σειρά χρόνιων ασθενειών στον άνθρωπο. Εκτεταμένες μελέτες της βιολογίας της γήρανσης σε διαφορετικά είδη οργανισμών έχουν οδηγήσει στην εμφάνιση μιας σειράς θεωριών που προσεγγίζουν το φαινόμενο και υπάρχουν πλέον ενδείξεις ότι ο ρυθμός της γήρανσης μπορεί να επιβραδυνθεί. Επομένως, η εμφάνιση ηλικιοεξαρτώμενων ασθενειών δύναται να καθυστερήσει και η περίοδος καλής υγείας να παραταθεί. Αν και απέχουμε πολύ από το να κατανοήσουμε απολύτως τη βιολογική της βάση, η στόχευση της ίδιας της διαδικασίας της γήρανσης θα μπορούσε να βελτιώσει πολλές παθογένειες που σχετίζονται με την ηλικία.

1.3 Θεωρίες της γήρανσης

Αν και θα ήταν συναρπαστικό να βρεθεί μια ενιαία εξήγηση για τη γήρανση, καμία μεμονωμένη θεωρία, από τις ήδη υπάρχουσες -τουλάχιστον 300- θεωρίες, δεν εξηγεί πλήρως το φαινόμενο ²². Οι περισσότεροι ειδικοί πιστεύουν ότι η γήρανση είναι μια περίπλοκη και πολυπαραγοντική διαδικασία ²³. Οι συνδυαστικές θεωρίες προσέγγισης όχι μόνο δεν απορρίπτουν τους επιμέρους μηχανισμούς, αλλά υποστηρίζουν ότι πιθανότατα πολλές διαδικασίες ενεργούν από κοινού για να συμβάλουν στο πώς και γιατί γερνούν οι άνθρωποι. Αυτό που διαφοροποιείται μονάχα είναι, ότι πιθανότατα, ο κάθε μηχανισμός μπορεί να συμβάλλει σε διαφορετικό βαθμό στα διαφορετικά άτομα.

Οι σύγχρονες βιολογικές θεωρίες για τη γήρανση στον άνθρωπο εμπίπτουν σε δύο βασικές κατηγορίες: τις θεωρίες του προγραμματισμένου γεγονότος και τις θεωρίες βλάβης ή σφάλματος.

1.3.1. Θεωρίες του προγραμματισμένου γεγονότος

Σύμφωνα με αυτές η γήρανση ακολουθεί ένα βιολογικό χρονοδιάγραμμα, ως μια φυσιολογική συνέχεια του μηχανισμού ρύθμισης της ανάπτυξης, που χαρακτηρίζεται από αλλαγές στη έκφραση γονιδίων που επηρεάζουν τα συστήματα ελέγχου συντήρησης, επισκευής και άμυνας του οργανισμού.

1.3.1.1. Γενετική θεωρία/Προγραμματισμένη μακροβιότητα.

Η γήρανση είναι το αποτέλεσμα μιας διαδοχικής ενεργοποίησης και απενεργοποίησης ορισμένων γονιδίων²⁴. Έχει παρατηρηθεί ότι άτομα που εμφανίζουν μακροζωία τείνουν να μεταβιβάζουν αυτή τους την ιδιότητα και στις θυγατρικές τους γενιές²⁵. Ωστόσο, ο έλεγχος και η μελέτη των υποψήφιων αλληλομόρφων είναι μάλλον δύσκολη, λόγω του περιορισμένου στατιστικού δείγματος μελέτης²⁶.

1.3.1.2. Ανοσολογική Θεωρία.

Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι το ανοσοποιητικό σύστημα είναι εξαιρετικά αποτελεσματικό κατά την εφηβεία ενώ με την πρόοδο των ετών σταδιακά φθίνει, επιτρέποντας την έκθεση του οργανισμού σε μολυσματικές ασθένειες και κατ' επέκταση σε γήρανση και θάνατο²⁷. Η απορυθμισμένη ανοσολογική απόκριση έχει συνδεθεί είτε άμεσα είτε έμμεσα με ηλικιο-εξαρτώμενες καρδιαγγειακές νόσους, φλεγμονές, νόσο του Αλτσχάιμερ (AD) και καρκίνο²⁸.

1.3.1.3. Νευροενδοκρινική Θεωρία.

Η επικοινωνία μεταξύ εγκεφάλου, νευρικού συστήματος και ενδοκρινών αδένων είναι υπεύθυνη για την παραγωγή ορμονών, μέσω των οποίων το βιολογικό ρολόι μπορεί να ελέγχει τον ρυθμό της γήρανσης²⁹. Η μείωση ορμονικών επιπέδων λόγω αφαίρεσης της υπόφυσης σε ώριμα ποντίκια μπορεί να παρατείνει δραματικά τη διάρκεια ζωής, υποδεικνύοντας ότι επηρεάζονται ορμονικά θεμελιώδεις διαδικασίες γήρανσης³⁰. Πρόσφατες μελέτες επιβεβαιώνουν ότι η εξελικτικά συντηρημένη οδός σηματοδότησης ινσουλίνης/IGF-1 (IIS) παίζει βασικό ρόλο στην ορμονική ρύθμιση της γήρανσης^{31 32}.

1.3.2. Θεωρίες βλάβης ή σφάλματος

Αυτές οι θεωρίες υποστηρίζουν ότι τη διαδικασία της γήρανσης συνδέεται με την επίδραση τυχαίων γεγονότων ή εσωτερικών και εξωτερικών παραγόντων (π.χ. περιβαλλοντικές τοξίνες, ακτινοβολία) που μπορούν να βλάψουν ή να φθείρουν τα κύτταρα και τους ιστούς σφωρευτικά

και με την πάροδο του χρόνου, με αποτέλεσμα ασθένειες και αναπηρίες που οδηγούν στη γήρανση.

Ενδεικτικά σε αυτή την ομάδα ανήκουν οι παρακάτω θεωρίες:

1.3.2.1. Θεωρία φθοράς.

Η θεωρία της φθοράς κατά τη γήρανση διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τον August Weismann, το 1882 και υποστηρίζει ότι η γήρανση είναι ένα ευεργετικό γεγονός, που εξελίχθηκε για να καθαρίσει τον πληθυσμό από τα παλιά φθαρμένα άτομα. Δεδομένου πως τα κύτταρα και οι ιστοί έχουν ζωτικά μέρη που φθείρονται με το χρόνο, η θεωρία της φθοράς, αποτελεί μια υπεραπλουστευμένη αλλά λογική προσέγγιση της φυσιολογικής γήρανσης για πολλούς ανθρώπους ακόμα και σήμερα, αφού ουσιαστικά περιγράφει αυτό που συμβαίνει στα περισσότερα πράγματα γύρω μας, που συσσωρεύουν φθορές στο πέρασμα του χρόνου.

1.3.2.2. Θεωρία του ρυθμού ζωής (rate-of-living theory).

Σύμφωνα με ό,τι υποστηρίζει η παραπάνω θεωρία, όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός βασικού μεταβολισμού του οξυγόνου ενός οργανισμού, τόσο μικρότερη είναι η διάρκεια ζωής του. Η έρευνα που συσχετίζει το μεταβολικό ρυθμό ηρεμίας με την μακροζωία πάει πολλές δεκαετίες πίσω. Ο Max Rubner, το 1908, παρουσιάζει πρώτος τη «θεωρία του ρυθμού ζωής», βασιζόμενος στην παρατήρηση ότι τα μεγαλύτερα ζώα τείνουν να ζουν περισσότερο από τα μικρότερα ζώα και προτείνει ότι ο αργός μεταβολισμός μπορεί να σχετίζεται με τη μακροζωία

33 .

1.3.2.3. Θεωρία των διασυνδέσεων ή θεωρία της γλυκοζυλίωσης.

Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία που προτάθηκε το 1942 από τον Johan Bjorksten, η πρόσδεση απλών σακχάρων σε πρωτεϊνικά μόρια οδηγεί σε συσσώρευση διασυνδεδεμένων πρωτεϊνών σε κύτταρα και ιστούς, επιβραδύνοντας τις μεταβολικές διαδικασίες και καταλήγοντας στη γήρανση.

Η θεωρία αυτή κέρδισε αποδοχή με σταθερό ρυθμό, όπως αποδεικνύεται από πολλές ανεξάρτητες μελέτες. Χρησιμοποιώντας τη διαφορική θερμιδομετρία σάρωσης (DSC), φάνηκε ότι εάν πρωτεΐνη από νεαρούς ανθρώπινους εγκεφάλους εκτεθεί σε γλουταραλδεϋδη προσομοιάζει με πρωτεΐνη από γηρασμένους εγκεφάλους, γεγονός που υποδεικνύει ότι οι αντιδράσεις διασύνδεσης εμπλέκονται στις αλλαγές που σχετίζονται με την ηλικία, στις πρωτεΐνες που μελετήθηκαν.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι η στοχαστική τροποποίηση ώριμων (γηρασμένων) δομικών μορίων της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) και άλλων μακρομορίων έχει σημαντική επίδραση στη γήρανση του δέρματος, των ιστών και των οργάνων ³⁴. Σύμφωνα με την παραπάνω θεωρία η διασύνδεση μακρομορίων όπως το κολλαγόνο και η ελαστίνη ³⁵, μεταξύ άλλων, επηρεάζει τις φυσικομηχανικές ιδιότητες (ακαμψία) των πρωτεϊνών της εξωκυττάριας μήτρας (ECM) και πιθανότατα συμβάλλει στη διαταραχή της αίσθησης μηχανικών ερεθισμάτων που προκαλούν δυσλειτουργία και γήρανση των ιστών.

1.3.2.4. Θεωρία ελεύθερων ριζών.

Αυτή η θεωρία, του Denham Harman ήδη από το 1956 ³⁶, προτείνει ότι το υπεροξειδίο και άλλες ελεύθερες ρίζες προκαλούν βλάβη στα μακρομοριακά συστατικά του κυττάρου. Η συσσώρευση τέτοιων βλαβών περιορίζει τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων και συνεπώς, του οργανισμού. Ως εξέλιξη της αρχικής θεωρίας των ελεύθερων ριζών, το μονοπάτι δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) αποτελεί σήμερα ίσως το σημαντικότερο μεταβολικό μονοπάτι της κυτταρικής αλλά και της συστημικής γήρανσης ³⁷. Ο οργανισμός διαθέτει φυσικά αντιοξειδωτικά, τα οποία βοηθούν στον περιορισμό της επικίνδυνης συσσώρευσης αυτών των ελεύθερων ριζών και του κυτταρικού θανάτου. Αυτή η θεωρία ενισχύθηκε αρχικά από πειράματα στα οποία τα τρωκτικά που τρέφονταν με αντιοξειδωτικά είχαν μεγαλύτερη μέση διάρκεια ζωής. Ωστόσο, μεταγενέστερες μελέτες δείχνουν ότι τα ROS είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής αρκετών οδών σηματοδότησης οξειδοαναγωγής που προστατεύουν από συνέπειες της γήρανσης ³⁸ και επομένως η σχέση μεταξύ ROS και διάρκειας ζωής είναι πιο πολύπλοκη από την αρχική υπόθεση Harman ³⁹.

1.3.2.5. Θεωρία μετάλλαξης των σωματικών κυττάρων.

Η οργάνωση και η διατήρηση της γενετικής πληροφορίας είναι εξαιρετικά κρίσιμη για κάθε οργανισμό. Ωστόσο, βλάβες στο DNA συμβαίνουν συνεχώς κατά την διάρκεια ζωής ενός ατόμου. Ενώ οι περισσότερες από αυτές επιδιορθώνονται με ειδικούς μηχανισμούς του κυττάρου, που εξασφαλίζουν ακρίβεια στην αντιγραφή και αποκατάσταση τυχόν βλαβών, κάποιες δεν καταφέρνουν να διορθωθούν, είτε γιατί οι μηχανισμοί επισκευής έχουν φθαρεί είτε γιατί ο ρυθμός εξέλιξης της βλάβης είναι μεγαλύτερος από το ρυθμό επιδιόρθωσης. Επομένως σωματικές μεταλλάξεις μπορεί να συσσωρεύονται με τον χρόνο και να οδηγούν σε δυσλειτουργία των κυττάρων. Τυχαίες μεταλλάξεις μπορεί να αδρανοποιήσουν γονίδια, σημαντικά για τη λειτουργία συγκεκριμένων κυττάρων στον ενήλικο οργανισμό, μειώνοντας

την αποτελεσματικότητα των αντίστοιχων ιστών και οργάνων και οδηγώντας σε σταδιακή φθορά και θάνατο. Εκτός των βλαβών στο πυρηνικό γενετικό υλικό, μπορεί να συμβούν και βλάβες στο μιτοχονδριακό DNA που μπορεί να οδηγήσουν σε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία. Επομένως, η γήρανση μπορεί να προκύψει και ως αποτέλεσμα βλάβης στη γενετική ακεραιότητα των κυττάρων του σώματος ⁴⁰.

1.4 Εξελικτικές θεωρίες της γήρανσης

Από εξελικτική σκοπιά, η γήρανση είναι ένα παράδοξο, καθώς αποτελεί μια επιβλαβή διαδικασία που σταδιακά οδηγεί σε φθίνουσα ευεξία ⁴¹. Από τα μέσα του 19^{ου} αιώνα, μια σειρά εξελικτικών θεωριών προσπαθεί να εξηγήσει πώς η βιολογική γήρανση, μπορεί να αποδοθεί στη φυσική επιλογή:

- Η θεωρία της συσσώρευσης μεταλλάξεων, υποστηρίζει ότι η δύναμη της φυσικής επιλογής παραμένει υψηλή μέχρι την πρώιμη αναπαραγωγική περίοδο και στη συνέχεια μειώνεται, επιτρέποντας στις επιβλαβείς μεταλλάξεις να συσσωρευτούν ⁴². Ως εκ τούτου, οι επιβλαβείς μεταλλάξεις και τα αποτελέσματά τους εμφανίζονται αργά στη ζωή. Αυτό σημαίνει ότι ο πρωταρχικός στόχος ενός οργανισμού είναι η αναπαραγωγή και μέχρι τότε η φυσική επιλογή διασφαλίζει τη διατήρηση των κυτταρικών διεργασιών που είναι απαραίτητες για την επιβίωση. Μετά την αναπαραγωγή, δεν υπάρχει εξελικτική πίεση για να εξασφαλιστεί η συνεχής επιβίωση του οργανισμού. Οι κυτταρικές διεργασίες μειώνονται, ο οργανισμός γερνά και τελικά πεθαίνει.
- Η ανταγωνιστική πλειοτροπική θεωρία, υποστηρίζει ότι η φυσική επιλογή μπορεί να ευνοήσει γονίδια με ευεργετικά αποτελέσματα νωρίς στη ζωή, ακόμη και αν οι ίδιες παραλλαγές έχουν επιβλαβή αποτελέσματα αργότερα ⁴³. Επειδή οι επιβλαβείς επιδράσεις αυτών των γονιδίων εμφανίζονται σε μεγάλη ηλικία, μετά την αναπαραγωγική φάση, έχουν μικρή εξελικτική επίδραση. Η φύση δεν μπορεί να επιλέξει άμεσα ένα γονίδιο ή τη μετάλλαξή του που προκαλεί θάνατο ενός ατόμου σε μεγάλη ηλικία, εάν οι επιβλαβείς επιπτώσεις του δεν εμφανιστούν πριν από το τέλος της αναπαραγωγικής φάσης.
- Η θεωρία του αναλώσιμου σώματος υποστηρίζει ότι ο οργανισμός πρέπει να επενδύσει ενέργεια κυρίως στην αναπαραγωγή, μειώνοντας τη δαπάνη ενέργειας για τη διατήρηση του σώματος, καθώς η επιδιόρθωση του DNA είναι δαπανηρή διαδικασία ⁴⁴. Αυτή η θεωρία ερμηνεύει επίσης και διαφορές στη διάρκεια ζωής που

παρουσιάζουν διαφορετικοί οργανισμοί, δεδομένου ότι, όσο υψηλότερος ο βαθμός εξωγενούς θνησιμότητας, τόσο μεγαλύτερη η ανάγκη επένδυσης ενέργειας πρωταρχικά στην αναπαραγωγή και αντιστοίχως περιορισμένη η δαπάνη ενέργειας στην διατήρηση του σώματος επί μακρόν. Επομένως τέτοιοι οργανισμοί παρουσιάζουν περιορισμένη διάρκεια ζωής.

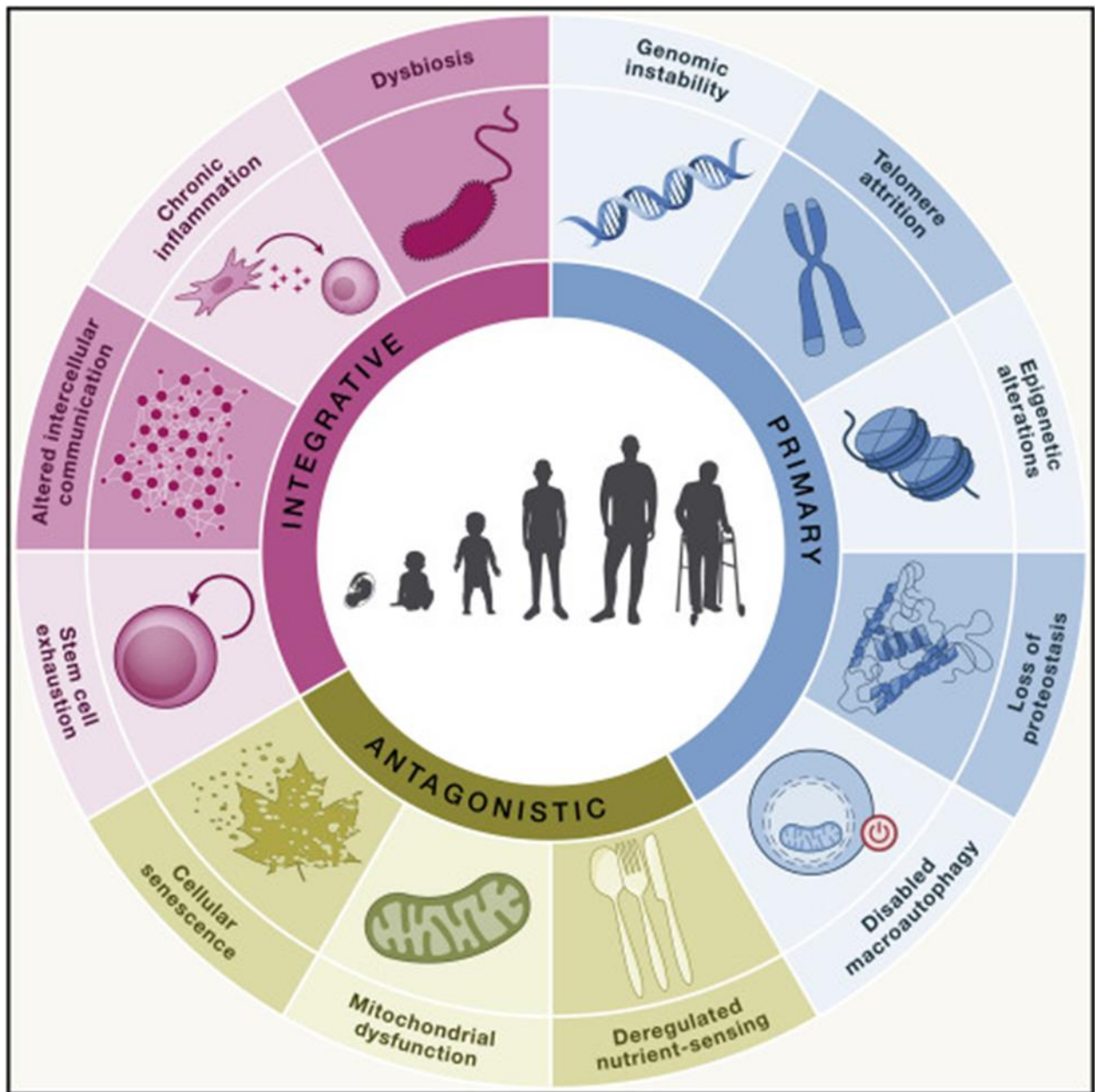
1.5 Παράγοντες που επηρεάζουν τη γήρανση

Κατά τη διάρκεια της γήρανσης, οι περισσότεροι άνθρωποι βιώνουν μια χρονική περίοδο όπου νοσούν από ηλικιο-εξαρτώμενες ασθένειες, χάνουν την απόλυτη λειτουργικότητα και την ανεξαρτησία τους. Επομένως, πρέπει να μελετηθούν οι μηχανισμοί που επηρεάζουν τη γήρανση, προκειμένου να αναπτυχθούν προσεγγίσεις που μπορούν να μεγιστοποιήσουν το διάστημα υγιούς διαβίωσης

Ως εκ τούτου, την τελευταία δεκαετία έχουν δημοσιευτεί περισσότερα από 300.000 νέα άρθρα σχετικά με τη γήρανση, σχεδόν όσα και το σύνολο των σχετικών δημοσιεύσεων ολόκληρου του προηγούμενου αιώνα.

Οι παράγοντες γήρανσης που έχουν περιγραφεί μέχρι σήμερα κατατάσσονται σε τρεις βασικές κατηγορίες ⁴⁵ (Εικόνα 1):

- Τους πρωτογενείς (primary), που δρουν ως το «αίτιο» και αφορούν βλάβες που επηρεάζουν το γονιδίωμα, το επιγονιδίωμα, τα τελομερή, το πρωτέωμα και τα οργανίδια, συσσωρεύονται σταδιακά με το χρόνο και συμβάλουν στη διαδικασία της γήρανσης.
- Τους ανταγωνιστικούς (antagonistic), που λειτουργούν ως «απόκριση στη βλάβη» με μεταβλητό αντίκτυπο στον οργανισμό. Σε αυτήν την κατηγορία εμπίπτουν γονίδια ή διαδικασίες που ελέγχουν περισσότερα από ένα χαρακτηριστικά, με τρόπο κάποιες φορές ωφέλιμο-συνήθως νωρίτερα στη ζωή-, και κάποιες επιζήμιο – κυρίως σε ωριμότερο στάδιο- για τον οργανισμό (μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, απορυθμισμένη ανίχνευση θρεπτικών ουσιών και κυτταρική γήρανση) .
- Τους ενοποιητικούς (integrative), που δρουν ως «συνέπεια της απόκρισης», καθορίζουν το ρυθμό της γήρανσης και προκύπτουν όταν οι κυτταρικοί ομοιοστατικοί μηχανισμοί αποτυγχάνουν να αντισταθμίσουν τη συσσωρευμένη βλάβη από τους πρωτογενείς και τους ανταγωνιστικούς παράγοντες (εξάντληση βλαστοκυττάρων, αλλοιωμένη διακυτταρική επικοινωνία, χρόνια φλεγμονή και δυσβίωση) .



Εικόνα 1: Παράγοντες γήρανσης ⁴⁵

1.5.1. Αστάθεια DNA

Η γήρανση χαρακτηρίζεται από τη συσσώρευση γενετικής βλάβης που προκαλείται τόσο από εξωγενείς (φυσικούς, χημικούς και βιολογικούς), όσο και από ενδογενείς (λάθη κατά την αντιγραφή, οξειδωτικό στρες και υδρολυτικές αντιδράσεις) παράγοντες, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής ενός οργανισμού ⁴⁶. Αυτές οι βλάβες που επηρεάζουν άμεσα το πυρηνικό ή το μιτοχονδριακό DNA, αλλά και την πυρηνική αρχιτεκτονική, προκαλούν αστάθεια του γονιδιώματος και σε κάποιες περιπτώσεις πρόωρη γήρανση ⁴⁷. Οι μεταλλάξεις στο πυρηνικό DNA μπορούν να επηρεάσουν γονίδια και μεταγραφικές οδούς, καθιστώντας τα κύτταρα δυσλειτουργικά και θέτοντας σε κίνδυνο την ομοιόσταση του οργανισμού ⁴⁸. Αντίστοιχα, αλλαγές στο μιτοχονδριακό DNA, που ούτως ή άλλως είναι πιο εκτεθειμένο- αφενός λόγω του οξειδωτικού μιτοχονδριακού μικροπεριβάλλοντος, αφετέρου λόγω έλλειψης προστατευτικών ιστονών και μηχανισμών επιδιόρθωσης-, μπορούν να προκαλέσουν προβλήματα στην ομαλή λειτουργία της αναπνευστικής αλυσίδας, παρά την ετεροπλασμία ⁴⁹. Επιπλέον, εκτός από την άμεση βλάβη που μπορεί να υποστεί το πυρηνικό ή μιτοχονδριακό γενετικό υλικό, φθορές στις πυρηνικές λαμίνες, δηλαδή σε πρωτεΐνες της εσωτερικής πυρηνικής μεμβράνης του ευκαρυωτικού κυττάρου, μπορούν επίσης να επιφέρουν αστάθεια γονιδιώματος. Συνεπώς, τα προγηροειδή σύνδρομα που επάγονται από μεταλλάξεις στην λαμίνη A αποτελούν πλέον συστήματα μελέτης μοριακών οδών που επηρεάζουν τη φυσιολογική ή πρόωρη γήρανση ⁵⁰.

1.5.2. Φθορά τελομερών

Τα τελομερή σχετίζονται άμεσα με τη γήρανση και ηλικιο-εξαρτώμενες ασθένειες ⁵¹. Η διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος από γενιά σε γενιά εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σταθερότητα αυτών των χρωμοσωμικών περιοχών. Κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης, παρατηρείται μια ηλικιο-εξαρτώμενη σταδιακή μείωση του μήκους των τελομερών, η οποία οφείλεται στην αδυναμία αντιγραφής του χρωμοσωμικού άκρου από την DNA πολυμεράση. Η σταδιακή μείωση του μήκους των τελομερών επιφέρει γονιδιωματική αστάθεια που τελικά οδηγεί είτε σε απόπτωση είτε σε γήρανση των κυττάρων. Αυτές οι επιβλαβείς επιδράσεις μπορούν να αποφευχθούν με τη δραστηριότητα της τελομεράσης, μιας ριβονουκλεοπρωτεΐνης με δράση αντίστροφης μεταγραφάσης, που επιμηκύνει τα τελομερή ώστε να διατηρήσουν το επαρκές μήκος τους, η οποία ωστόσο δεν εκφράζεται από τα περισσότερα σωματικά κύτταρα θηλαστικών. Γενετικά τροποποιημένα ζωικά μοντέλα έχουν αποκαλύψει αιτιώδεις δεσμούς μεταξύ της φθοράς των τελομερών, της κυτταρικής γήρανσης

και της γήρανσης του οργανισμού. Τα ποντίκια με κοντύτερα ή επιμηκυμένα τελομερή παρουσιάζουν μειωμένη ή αυξημένη διάρκεια ζωής, αντίστοιχα ⁵². Η πρόωρη γήρανση των ποντικών με έλλειψη τελομεράσης μπορεί να αναστραφεί όταν η τελομεράση ενεργοποιηθεί γενετικά ή φαρμακολογικά ⁵³, ενώ ποντίκια με υπέρμακρα τελομερή παρουσιάζουν αυξημένη διάρκεια ζωής και βελτίωση της μεταβολικής υγείας υποδηλώνοντας ότι η γήρανση μπορεί να ρυθμιστεί με την ενεργοποίηση της τελομεράσης.

1.5.3 Επιγενετικές αλλοιώσεις

Οι επιγενετικές αλλαγές τροποποιούν την ενεργοποίηση ορισμένων γονιδίων, αλλά όχι τη γενετική κωδική αλληλουχία του DNA. Ορισμένες επιγενετικές τροποποιήσεις μπορεί να μεταβιβαστούν από το γονικό κύτταρο στο θυγατρικό κύτταρο κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης ή από τη μια γενιά στην άλλη. Οι επιγενετικές αλλοιώσεις είναι κληρονομήσιμες αλλαγές που δεν οφείλονται στην αλλαγή του DNA, αλλά στη μεταβολή της λειτουργίας συγκεκριμένων γονιδίων του οργανισμού από μηχανισμούς που ελέγχουν το ποια γονίδια θα εκφραστούν, που και πότε μέσα στο κύτταρο. Οι μηχανισμοί αυτοί λειτουργούν ως διακόπτες, ενεργοποιούνται από την γονιμοποίηση του πρώτου κυττάρου του οργανισμού και παραμένουν ενεργοί μέχρι τον θάνατό του. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί μπορούν να τροποποιηθούν από εξωγενείς επιρροές και να ρυθμίσουν με ακρίβεια τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης ως απόκριση σε περιβαλλοντικά ερεθίσματα. Η μεγάλη ποικιλία επιγενετικών αλλαγών που συμβάλλουν στη γήρανση θα συζητηθεί στην Ενότητα 3 της εργασίας.

1.5.4 Απώλεια πρωτεόστασης

Πρωτεόσταση είναι ο μηχανισμός ομοιόστασης των πρωτεϊνών και περιλαμβάνει μηχανισμούς εκκαθάρισης προβληματικά αναδιπλωμένων ή οξειδωμένων πρωτεϊνών όπως α) το μονοπάτι ουβικιτίνης-πρωτεασώματος, το οποίο συμμετέχει στην αποικοδόμηση ουβικιτιλιωμένων φυσιολογικών πρωτεϊνών με μικρό χρόνο ημιζωής, καθώς και μη λειτουργικών πρωτεϊνών στον πυρήνα, στο κυτταρόπλασμα, στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στο μιτοχόνδριο, β) το μονοπάτι αυτοφαγίας-λυσosώματος, καθώς και γ) το κύριο σηματοδοτικό μονοπάτι αντι-οξειδωτικής απόκρισης Nrf2/Keap1, όπου ο Nrf2 ως ένας από τους βασικούς μεταγραφικούς παράγοντες, ελέγχει την έκφραση πρωτεασωμικών υπομονάδων, για τη ρύθμιση της αντιοξειδωτικής απόκρισης του κυττάρου. Όταν αυτοί οι μηχανισμοί αποτυγχάνουν, όπως σε περιπτώσεις ανεπάρκειας πρωτεασώματος ή λυσosώματος, ή σε περιορισμένη απόκριση σε

μη ορθώς αναδιπλούμενες πρωτεΐνες (UPR) στο ενδοπλασματικό δίκτυο, το δίκτυο πρωτεόστασης καταρρέει ⁵⁴.

Η διαταραχή της γενικής πρωτεόστασης επιταχύνει τη γήρανση⁵⁵. Για παράδειγμα, έχει παρατηρηθεί ότι κατά την γήρανση- κυτταρική και συστημική-, το πρωτεάσωμα παρουσιάζει μειωμένη ενεργότητα, ενώ αύξηση της έκφρασής του σε ανθρώπινους ινοβλάστες, καθυστερεί τη γήρανση ⁵⁶.

1.5.5 Απορρύθμιση ανίχνευσης θρεπτικών ουσιών

Μια βασική διαδικασία που επηρεάζει όλους τους πυλώνες της γήρανσης είναι η ικανότητα των κυττάρων να ανιχνεύουν την παρουσία ή την απουσία ενδοκυτταρικών και εξωκυτταρικών θρεπτικών ουσιών. Η βλάβη του κυτταρικού μηχανισμού να ανιχνεύει τα θρεπτικά συστατικά συνδέεται άμεσα με την κυτταρική δυσλειτουργία των γηρασμένων ιστών. Το ένζυμο mTOR είναι μια εξαιρετικά συντηρημένη πρωτεϊνική κινάση σερίνης/θρεονίνης που λειτουργεί τόσο ως κύριος αισθητήρας θρεπτικών συστατικών όσο και ως βασικός ελεγκτής του κυτταρικού μεταβολισμού ⁵⁷. Στα θηλαστικά το mTOR είναι καταλυτικό συστατικό δύο συμπλόκων με διαφορετικές ιδιότητες: του mTOR 1 και του mTOR 2 ⁵⁸. Κατά τη γήρανση, που απορρυθμίζεται η κυτταρική και η οργανική φυσιολογία, φθίνει και η ικανότητα αίσθησης θρεπτικών ουσιών, η οποία ελέγχεται κυρίως μέσω του συμπλόκου mTORC1⁵⁹, το οποίο επηρεάζει και άλλους μηχανισμούς γήρανσης, τονίζοντας τον κεντρικό του ρόλο στην διατήρηση της ομοιόστασης του οργανισμού. Μόρια-στόχοι του mTORC1(downstream) και οι λειτουργίες που ελέγχονται από αυτά, επίσης διαταράσσονται, γεγονός που υπογραμμίζει την πολύπλοκη φύση της ίδιας της διαδικασίας της γήρανσης και περιπλέκει την κατανόησή μας σχετικά με την πολυπλοκότητα της αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των κυτταρικών δραστηριοτήτων.

Το mTORC1 επάγει τις αναβολικές διεργασίες, όπως η βιοσύνθεση πρωτεϊνών, νουκλεοτιδίων και λιπιδίων, όταν υπάρχει επάρκεια θρεπτικών συστατικών, ενώ αναστέλλει την αυτοφαγία και τη λυσοσωμική βιογένεση. Αδρανοποιείται αντίστοιχα σε καταστάσεις έλλειψης θρεπτικών ουσιών ή σε απάντηση στο κυτταρικό στρες, για να μπλοκάρει την ανάπτυξη.

1.5.6 Μιτοχονδριακή δυσλειτουργία

Η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία αναδεικνύεται ως ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της διαδικασίας της γήρανσης και συνδέεται με ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία, όπως το μεταβολικό σύνδρομο, οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές, οι καρδιαγγειακές παθήσεις και ο

καρκίνος. Τα μιτοχόνδρια έχουν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση της ενέργειας και της μεταβολικής ομοιόστασης και διαθέτουν ένα πολύπλοκο σύστημα ποιοτικού ελέγχου που στόχο έχει τον περιορισμό της μιτοχονδριακής βλάβης και τη διατήρηση της ομαλής λειτουργίας τους.

Η κατάταξη της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας στην υποκατηγορία των ανταγωνιστικών χαρακτηριστικών της γήρανσης δεν είναι τυχαία και ενώ αρκετές μελέτες έχουν υποστηρίξει τη θεωρία των ελεύθερων ριζών της γήρανσης ^{60 61}, άλλες έχουν δείξει ότι η αυξημένη παραγωγή ROS δεν μειώνει πάντα τη διάρκεια ζωής ⁶². Τα ευρήματα της έρευνας σε πολλά είδη αμφισβητούν τον ρόλο του οξειδωτικού στρες στη μεταλλαξιογένεση του mtDNA ⁶³. Αυτά τα ευρήματα οδηγούν στην υπόθεση ότι η παραγωγή ROS μπορεί να μην είναι η κύρια αιτία φαινοτύπων γήρανσης και ότι πρόκειται για πλειοτροπικό μηχανισμό ^{64 65}. Η μιτοχονδριακή αλλαγή κατά τη γήρανση ξεκινά με την ύφεση των μιτοχονδριακών μονοπατιών απόκρισης στο στρες (σχάση και σύντηξη μιτοχονδρίων, μιτοφαγία και mtUPR) που οδηγεί στη συσσώρευση μεταλλάξεων στο μιτοχονδριακό DNA, την απελευθέρωση κατεστραμμένου μιτοχονδριακού υλικού, ικανού να επάγει φλεγμονώδη απόκριση (για παράδειγμα, DAMPs), μιτοχονδριακό ROS, πρωτεοτοξικότητα και απορρυθμισμένους ενδιάμεσους μεταβολίτες (TCA, NAD⁺)⁶⁶. Τέτοιες αλλαγές επηρεάζουν αρνητικά την κυτταρική ομοιόσταση και, μέσω ενός πολύπλοκου μηχανισμού σηματοδότησης, που περιλαμβάνει μιτοκίνες, μεταβολίτες και άλλα, συμβάλλουν στη συστημική φθορά του οργανισμού και στην εμφάνιση πολλών ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία.

1.5.7 Κυτταρική γήρανση

Η κυτταρική γήρανση χαρακτηρίζεται από τερματισμό του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, με διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην G1 ή στην G2 φάση και μπορεί να πυροδοτηθεί από μια μεγάλη ποικιλία ερεθισμάτων, γεγονός που υποδεικνύει πολλαπλούς ρόλους, υπό διαφορετικές συνθήκες. Συνοδεύεται από φαινοτυπικές αλλοιώσεις, όπως αναδιαμόρφωση χρωματίνης, μεταβολικό επαναπρογραμματισμό, αυξημένη αυτοφαγία, προφλεγμονώδες έκκριμα. Η κυτταρική γήρανση μπορεί να εμφανίζεται υπό φυσιολογικές συνθήκες κατά την εμβρυογένεση, για την προγραμματισμένη απομάκρυνση συγκεκριμένων κυττάρων και δομών (λόγω βράχυνσης τελομερών), ωστόσο, σε ιστούς ενηλίκων ατόμων, ενεργοποιείται κυρίως ως απάντηση σε βλάβη, π.χ., κατά την ογκογένεση, σακχαρώδη διαβήτη, χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία⁶⁷, για την καταστολή δυνητικά δυσλειτουργικών, μετασχηματισμένων ή γηρασμένων κυττάρων, διότι η συσσώρευση τους στους ιστούς μπορεί να έχει αρνητικές

επιπτώσεις. Ο ρυθμός συσσώρευσης γηρασμένων κύτταρων σε ιστούς νεαρών ατόμων (<35 ετών) είναι από 2 έως 20 φορές μικρότερος από ότι σε υγιείς ηλικιωμένους (>65 ετών) ανθρώπους ⁶⁸, επηρεάζοντας κυρίως ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και κύτταρα του ανοσοποιητικού, αν και όλοι οι κυτταρικοί τύποι μπορούν να υποστούν γήρανση- ακόμη κι εκείνοι που πολλαπλασιάζονται με αργό ρυθμό, π.χ εγκέφαλος και καρδιά- κατά την πάροδο των χρόνων ⁶⁹ γεγονός που εν μέρει πυροδοτείται από τη βράχυνση των τελομερών ⁷⁰. Τα πιο πειστικά στοιχεία για τον αιτιολογικό ρόλο της κυτταρικής γήρανσης στη συστημική γήρανση είναι ότι η συνεχιζόμενη γενετική ή φαρμακολογική εξάλειψη των γηρασμένων κυττάρων επεκτείνει τη διάρκεια της υγείας και τη μακροζωία των φυσικώς ηλικιωμένων ποντικών⁷¹. Συγκεκριμένα, έχουν εντοπιστεί και χαρακτηριστεί μόρια, γνωστά ως σενοθεραπευτικά, που έχουν ικανότητα είτε να αναγνωρίζουν και να σκοτώνουν επιλεκτικά τα γηρασμένα κύτταρα (σενολυτικά) είτε να ρυθμίζουν τον σχετιζόμενο με τη γήρανση εκκριτικό φαινότυπο (SASP) (σеноμορφικά) ⁷². Επίσης, η χρήση μοριακών βιοδεικτών της γήρανσης και η ανάπτυξη γενετικών μοντέλων μελέτης του ρόλου των γηρασμένων κυττάρων in vivo, επιβεβαιώνουν το συσχετισμό κυτταρικής και συστημικής γήρανσης. Μόρια όπως όπως το SA-β-G, το p21 και το p16 ⁷³ έχουν καταγραφεί και χαρακτηριστεί ως μοριακοί δείκτες της κυτταρικής γήρανσης, αν και περιορισμένης ευαισθησίας ή/και εξειδίκευσης (ειδικότητας). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έχουν εστιάσει στον σημαντικό ρόλο του μονοπατιού COPI, που μεταφέρει πρωτεΐνες και λιπίδια μεταξύ ενδοπλασματικού δικτύου και συμπλέγματος Golgi, στην επιβίωση των γηρασμένων κυττάρων, προτείνοντας τη στόχευσή του ως θεραπευτικό στόχο για ασθένειες που συνδέονται με την κυτταρική γήρανση ⁷⁴.

1.5.8 Εξάντληση βλαστοκυττάρων.

Τα βλαστοκύτταρα είναι αρχέγονα, μη διαφοροποιημένα κύτταρα, τα οποία έχουν την δυνατότητα της αυτό-ανανέωσης και της διαφοροποίησης σε πολλούς κυτταρικούς τύπους. Οι γηρασμένοι ιστοί παρουσιάζουν φθίνουσα ομοιόσταση και αναγεννητική ικανότητα, λόγω εκφυλιστικών μεταβολικών και επιγενετικών αλλαγών που λαμβάνουν χώρα στα βλαστοκύτταρα των ιστών κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης. Η παραπάνω διαδικασία γνωστή ως «εξάντληση» των βλαστοκυττάρων, εκδηλώνεται ως αλλαγή στην ικανότητα διαφοροποίησης και την ομαλή τους λειτουργία. Έτσι, για παράδειγμα, η εμφάνιση προβλημάτων στα οστά, όπως η οστεοπόρωση, είναι συχνότερη σε ηλικιωμένα άτομα, λόγω

ηλικιο-εξαρτώμενων βλαβών στο σχηματισμό οστίτη και χόνδρινου ιστού από τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα μυελού των οστών (MSCs) ⁷⁵.

1.5.9. Διαφοροποιημένη διακυτταρική επικοινωνία

Κατά τη διακυτταρική επικοινωνία, η λειτουργία των γειτονικών κυττάρων επηρεάζεται μέσω διαλυτών, κυρίως, παραγόντων που απελευθερώνονται από το κύτταρο ⁷⁶. Η γήρανση σχετίζεται με προοδευτικές αλλαγές στη διακυτταρική επικοινωνία που επηρεάζουν την ομοιοστατική και προσαρμοστική ρύθμιση. Στο μικροπεριβάλλον γηράσκοντος ιστού, ο εκκριτικός φαινότυπος γηρασμένου κυττάρου (SASP) μπορεί να επιδράσει αρνητικά στα γύρω κύτταρα, στην περιβάλλουσα εξωκυτταρική μήτρα και σε άλλα δομικά συστατικά, προκαλώντας χρόνια φλεγμονή ή/και παθητική γήρανση υγιών κυττάρων ^{77 78}. Τα EVs που εκκρίνονται από ακτινοβολημένα κύτταρα καρκίνου του μαστού καταστέλλουν τη δραστηριότητα τελομεράσης και προκαλούν βράχυνση των τελομερών στα κύτταρα λήπτες ⁷⁹. Τα γηρασμένα κύτταρα (senescent cells) επικοινωνούν τόσο μεταξύ όσο και με τα γειτονικά κύτταρα με διεπαφή κύτταρο- κύτταρο ή με εγγύς εκκριτικό μηχανισμό. Το μονοπάτι NOTCH – JAG1 αποτελεί παράδειγμα συνδετοκρινούς σηματοδότησης που βασίζεται στη δέσμευση υποδοχέα – συνδέτη ⁸⁰ και επάγει τη γήρανση. Μια άλλη μορφή διακυτταρικής επικοινωνίας που επάγει τη γήρανση όχι μόνο στα πρωτεύοντα αλλά και σε άλλα κύτταρα είναι η σύντηξη κυττάρου-κυττάρου ⁸¹. Ο TNF-α επάγει τη γήρανση των μυών μέσω σύντηξης μυϊκών κυττάρων με γηρασμένες μυϊκές ίνες ⁸². Οι κυτταροπλασματικές γέφυρες, εκτός από την κυτταρική σύντηξη, εξυπηρετούν τη διακυτταρική ανταλλαγή βιολογικού υλικού, όπως RNA, πρωτεΐνες, ή ακόμη και ολόκληρων οργανιδίων όπως τα μιτοχόνδρια και τα λυσοσώματα ^{83 84}.

1.5.10 Απενεργοποίηση της μακροαυτοφαγίας,

Η αυτοφαγία είναι ένας συντηρημένος μηχανισμός αποδόμησης κυτταρικών συστατικών με σημαντικό ρόλο στη διατήρηση του ενεργειακού ισοζυγίου και της ομοιόστασης του κυττάρου, που ενισχύει τη μακροβιότητα και καθυστερεί τη διαδικασία της γήρανσης. Βασικός στόχος της αυτοφαγίας, εκτός της απομάκρυνσης ελαττωματικών οργανιδίων και μακρομορίων και της παροχής προϊόντων αποδόμησης για τη διασφάλιση διαθεσιμότητας νέων δομικών στοιχείων, είναι και ο ποιοτικός έλεγχος, που είναι απαραίτητος για την ομαλή κυτταρική λειτουργία, την ανάπτυξη και την επιβίωση του οργανισμού. Συνεπώς, στα φυσιολογικά κύτταρα, η αυτοφαγία είναι εξαιρετικά σημαντική και μονίμως ενεργή σε βασικά επίπεδα, ανεξαρτήτως ερεθισμάτων. Αν και η μακροαυτοφαγία (εφεξής αναφερόμενη απλά

ως αυτοφαγία) θεωρήθηκε αρχικά ως μια μαζική, μη επιλεκτική διαδικασία αποδόμησης, εντούτοις αποδείχθηκε εξαιρετικά εκλεκτική και στοχεύει συγκεκριμένες πρωτεΐνες και οργανίδια ⁸⁵.

Η μείωση/ απενεργοποίηση της αυτοφαγίας, είχε αρχικά χαρακτηριστεί ως ειδική περίπτωση απώλειας πρωτεόστασης. Ωστόσο, η διαδικασία της αυτοφαγίας περιλαμβάνει την απομόνωση κυτταροπλασματικού υλικού σε ειδικά δι-μεμβρανικά κυστίδια, τα αυτοφαγοσώματα, τα οποία αργότερα συντήκονται με λυσοσώματα προς διάσπαση του περιεχομένου τους. Επομένως, η αυτοφαγία δεν εμπλέκεται μόνο στην πρωτεόσταση, αλλά επηρεάζει και μη πρωτεϊνικά μακρομόρια (όπως το έκτοπο κυτταροπλασματικό DNA, λιπιδικά κυστίδια και γλυκογόνο), ολόκληρα οργανίδια (συμπεριλαμβανομένων των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων «Μιτοφαγία», λυσοσωμάτων «Λυσοφαγία», ενδοπλασματικού δικτύου «Δικτυοφαγία» ή υπεροξεισωμάτων «Πεξοφαγία»), καθώς και εισβάλλοντα παθογόνα («Ξενοφαγία»), δικαιολογώντας την παρουσία της ως ξεχωριστό χαρακτηριστικό που φθίνει με την ηλικία ⁸⁶.

Κατά τη διαδικασία της γήρανσης, συμβαίνει συσσώρευση μοριακών βλαβών, και μείωση της πρωτεόστασης. Μεταλλάξεις σε γονίδια της αυτοφαγίας που οδηγούν σε απώλεια λειτουργικότητάς τους, συνδέονται με φαινότυπο μειωμένης επιβίωσης σε οργανισμούς-μοντέλα ⁸⁷, ενώ αυξημένα επίπεδα αυτοφαγίας φαίνεται να συνεισφέρουν στην μακροβιότητα ⁸⁶. CD4+ T- λεμφοκύτταρα που απομονώθηκαν από απογόνους ατόμων με χαρακτηριστική μακροζωία παρουσιάζουν ενισχυμένη αυτοφαγική δραστηριότητα ⁸⁸.

Παράλληλα, κατά τη γήρανση, η έκφραση των γονιδίων ATG5, ATG7 και BECN1 που σχετίζονται με την αυτοφαγία, σταδιακά φθίνει ⁸⁹.

Τέλος η γενετική αναστολή της αυτοφαγίας επιταχύνει τη διαδικασία γήρανσης σε πρότυπους οργανισμού-μοντέλα ^{90 91 86 92}.

1.5.11 Χρόνια φλεγμονή

Η γήρανση χαρακτηρίζεται από συστηματική χρόνια φλεγμονή, η οποία συνοδεύεται από κυτταρική γήρανση, ανοσογήρανση, δυσλειτουργία οργάνων και ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία.

Παράγοντες που εκκρίνονται από γηρασμένα κύτταρα, γνωστοί ως εκκριτικός φαινότυπος που σχετίζεται με τη γήρανση (SASP), προάγουν τη χρόνια φλεγμονή και μπορούν να προκαλέσουν γήρανση σε φυσιολογικά κύτταρα. Ταυτόχρονα, η χρόνια φλεγμονή επιταχύνει τη γήρανση των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος, με αποτέλεσμα την εξασθένηση

της ανοσοποιητικής λειτουργίας και την αδυναμία εκκαθάρισης των γηρασμένων κυττάρων και των φλεγμονωδών παραγόντων, γεγονός που δημιουργεί έναν φαύλο κύκλο φλεγμονής και γήρανσης. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι τα μακρόβια άτομα διαθέτουν ισχυρές αντιφλεγμονώδεις ικανότητες, υποδηλώνοντας ότι η φλεγμονή και η ανοσία μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τη διαδικασία γήρανσης.

Φλεγμονή σε κυτταρικό επίπεδο: Τα ανοσοκύτταρα, ως βασικοί ρυθμιστές της γήρανσης των κυττάρων, ήταν πάντα στο επίκεντρο της έρευνας για τη γήρανση ^{93 94}. Ήδη από το 1969, ο Walford πρότεινε «την ανοσολογική θεωρία της γήρανσης»⁹⁵, η οποία στη συνέχεια εξελίχθηκε στην έννοια της ανοσογήρανσης. Η τελευταία χαρακτηρίζεται από μείωση της ικανότητας ανοσολογικής απόκρισης του οργανισμού σε ενδογενή και εξωγενή αντιγόνα, καταλήγοντας σε αδυναμία μείωσης του πληθυσμού των γηρασμένων κύτταρων ⁹⁶.

Φλεγμονή σε επίπεδο οργάνου: Ως αποτέλεσμα των επιπτώσεων της κυτταρικής γήρανσης, της χρόνιας φλεγμονής και της ανοσογήρανσης, η παθολογική γήρανση των οργάνων αυξάνει το επίπεδο της φλεγμονής και καθιστά δύσκολη την αποκατάσταση, οδηγώντας τελικά σε ασθένειες ⁹⁷.

1.5.12 Η δυσβίωση.

Τα τελευταία χρόνια, παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον η μελέτη των αλλαγών του εντερικού μικροβιώματος που συμβαίνουν κατά την γήρανση.

Ένα υγιές μικροβίωμα είναι απαραίτητο για τον μεταβολισμό, τη ρύθμιση της φλεγμονής, την πρόληψη της αυτοανοσίας, την αντίσταση σε λοιμώξεις και καρκίνο καθώς και τη ρύθμιση του άξονα εγκεφάλου-εντέρου ⁹⁸. Με την ηλικία, όμως, αλλάζει η μικροβιακή σύσταση του εντέρου, καθώς εμφανίζεται μια αύξηση των εν δυνάμει φλεγμονωδών μικροοργανισμών ⁹⁹ εις βάρος των ωφέλιμων¹⁰⁰, προκαλώντας δυσβίωση, δηλαδή μεταβολή του μικροβιώματος του εντέρου που σύμφωνα με μελέτες είναι υπεύθυνη για την εξέλιξη διαφορετικών τύπων ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία ¹⁰¹.

Το μικροβίωμα δεν αποτελείται μονάχα από τη μικροβιακή κοινότητα αλλά και από το σύνολο των γονιδιωμάτων τους, τα δομικά συστατικά, τους μεταβολίτες και τις περιβαλλοντικές συνθήκες που επηρεάζουν τις δραστηριότητες και τις αλληλεπιδράσεις τους. Ο ανθρώπινος γαστρεντερικός σωλήνας φιλοξενεί μια σημαντική μικροβιακή κοινότητα αποτελούμενη από περίπου 100 τρισεκατομμύρια μικροοργανισμούς^{102 103}. Τα κύρια συστατικά του μικροβιώματος του εντέρου είναι τα αναερόβια βακτήρια, τα οποία περιλαμβάνουν χιλιάδες είδη και εκατομμύρια γονίδια. Μια υγιής κοινότητα μικροχλωρίδας παρουσιάζει τυπικά

χαρακτηριστικά όπως υψηλή ταξινομική ποικιλομορφία, πλούσια συλλογή μικροβιακών γονιδίων και σταθερό μικροβιακό πυρήνα^{104 102}. Οι πληθυσμοί της μικροχλωρίδας του εντέρου μπορούν να επηρεαστούν από πολλούς παράγοντες όπως η γήρανση, η διατροφή, η φαρμακευτική αγωγή, η φυλή, η γενετική, η κοινωνικοοικονομική κατάσταση, η γεωγραφική θέση, ο δείκτης μάζας σώματος, το κάπνισμα, οι λοιμώξεις και οι ασθένειες^{102 105}. Αυτοί οι παράγοντες συμβάλλουν στη δυσβίωση λόγω μείωσης της ποικιλότητας και της αφθονίας της μικροχλωρίδας του εντέρου. Η δυσβίωση επίσης προκαλεί την ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς το σώμα παράγει προφλεγμονώδεις κυτοκίνες όπως η IL-6, η IL-8 και τον παράγοντα νέκρωσης όγκου-α (TNF-α) και ενισχύει τη συστηματική φλεγμονή¹⁰⁶.

Μεταμόσχευση μικροβίων κοπράνων από νεαρά ποντίκια δότες βελτίωσε το ανοσοποιητικό μικροπεριβάλλον γερασμένων ποντικών¹⁰⁷ ενώ μεταμόσχευση μικροβίων των κοπράνων από αγρίου τύπου ποντίκια βελτίωσε τη διάρκεια υγείας και διάρκεια ζωής σε λήπτες ποντίκια-μοντέλα προγηρίας¹⁰⁸.

Δημογραφικά στοιχεία

Βάσει δημογραφικών στοιχείων του Ιανουαρίου του 2022, ο πληθυσμός της Ευρωπαϊκής Ένωσης (ΕΕ) ανερχόταν σε περίπου 446,7 εκατομμύρια άτομα, με το 21,1% του συνολικού πληθυσμού να αποτελείται από άτομα ηλικίας 65 ετών και άνω.

Καθώς ο πληθυσμός γερνάει, αυξάνονται δυσανάλογα η νοσηρότητα και η θνησιμότητα που σχετίζονται με την ηλικία.

Σύμφωνα με μελέτη της Γερμανικής Στατιστικής Υπηρεσίας το 2022, περισσότεροι από 500.000 άνθρωποι εν ζωή, παγκοσμίως είχαν φτάσει ή ξεπεράσει τα 100 έτη, μια τάση που φαίνεται να τριπλασιάστηκε τα τελευταία 20 χρόνια. Η Γαλλίδα Jeanne Louise Calment, που έζησε 122 έτη και 164 ημέρες κατείχε μέχρι πρόσφατα το παγκόσμιο ρεκόρ μακροζωίας. Ωστόσο, πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι τα 120 έτη αποτελούν το ανώτερο φυσιολογικό προσδόκιμο ζωής του ανθρώπου, δεδομένου ότι, παρά την αύξηση του μέσου προσδόκιμου ζωής τα τελευταία χρόνια, το ανώτερο όριο παραμένει σχεδόν σταθερό.

Οι πάροχοι υγειονομικής περίθαλψης γνωρίζουν καλά ότι ο αυξημένος κίνδυνος ασθένειας και θανάτου σχετίζεται συνήθως με την ηλικία των γηραιότερων ασθενών τους. Η γήρανση αυξάνει εκθετικά τον κίνδυνο θανάτου, καθώς στην ηλικία των 80 ετών, ο σχετικός κίνδυνος θανάτου είναι περισσότερο από 300 φορές μεγαλύτερος από ό,τι για άτομα ηλικίας 20 ετών.

Παρά το αναπόφευκτο της γήρανσης και τη σημασία της για την υγεία, το πώς και το γιατί γερνάμε παραμένει μια σκοτεινή πτυχή της ανθρώπινης βιολογίας.

Ήδη από το 2015 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας επαναπροσδιορίζει τις ηλικιακές κατηγορίες. Συγκεκριμένα, τα άτομα 25- 44 ετών χαρακτηρίζονται πλέον ως νέοι, 44-60 ως μεσήλικες, 60-75 ως ηλικιωμένοι, 75-90 ως γέροντες και άνω των 90 ετών ως μακρόβια άτομα.

Τα τελευταία 120 χρόνια το μέσο προσδόκιμο ζωής των δύο φύλων, στις βιομηχανικές χώρες, έχει διπλασιαστεί. Συγκεκριμένα, στην ΕΕ το μέσο προσδόκιμο ζωής για το 2021 φτάνει τα 80,1 έτη, με τις γυναίκες να έχουν σχετικά μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής 82,9 ετών σε σύγκριση με τους άνδρες, που κατά μέσο είχαν όρο 77,2 χρόνια, σύμφωνα με τη Eurostat. Στις γυναίκες το υψηλότερο προσδόκιμο ζωής συχνά αποδίδεται στο γεγονός ότι τρέφονται πιο υγιεινά, προσέχουν περισσότερο την υγεία τους και κατά μέσο όρο επισκέπτονται το γιατρό νωρίτερα και συχνότερα από τους άνδρες, καταναλώνουν λιγότερο αλκοόλ, καπνίζουν λιγότερο και δίνουν μεγαλύτερη προσοχή σε μια υγιεινή διατροφή¹⁰⁹. Ωστόσο, μπορεί επίσης να υπάρχει ένα γενετικό πλεονέκτημα που κάνει τις γυναίκες να ζουν περισσότερο όπως το διπλό χρωμόσωμα X. Ενώ οι γυναίκες έχουν δύο χρωμοσώματα X, οι άνδρες έχουν ένα χρωμόσωμα X και ένα χρωμόσωμα Y, επομένως σημαντικές γενετικές πληροφορίες που εδράζονται στο χρωμόσωμα X είναι διπλές στις γυναίκες και μπορούν να αντισταθμίσουν πιθανές γονιδιακές μεταλλάξεις και ελαττώματα στο άλλο χρωμόσωμα X.

2. Το ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΟ

Τα μιτοχόνδρια αποτελούν κυτταρικά οργανίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών. Έχουν επίμηκες, σφαιρικό ή ωοειδές σχήμα και χαρακτηρίζονται ως ημιαυτόνομα διότι περιέχουν δικό τους γενετικό υλικό και δικά τους ριβοσώματα. Το μιτοχονδριακό γενετικό υλικό (mtDNA), είναι δίκλωνο κυκλικό DNA και κωδικοποιεί μονάχα το 1%-2% των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, ενώ οι υπόλοιπες πρωτεΐνες του μιτοχονδρίου κωδικοποιούνται από το πυρηνικό γονιδίωμα.

Ο αριθμός των μιτοχονδρίων σε κάθε ιστό μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον τύπο κυττάρου, το αναπτυξιακό στάδιο ή την κατάσταση στρες του οργανισμού.

Τα μιτοχόνδρια είναι οργανίδια υψίστης σημασίας για τον ευκαρυωτικό οργανισμό, καθώς ο κύριος ρόλος τους είναι η παραγωγή ATP μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης (OXPHOS), κατά τη ροή ηλεκτρονίων στην αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC), για την προμήθεια του κυττάρου με την απαιτούμενη ενέργεια για την επιβίωσή του.

Παράλληλα όμως, ρυθμίζουν και άλλες βασικές κυτταρικές λειτουργίες όπως τον μεταβολισμό των λιπιδίων¹¹⁰, την ομοιόσταση του χαλκού¹¹¹ και του ασβεστίου¹¹², τον κυτταρικό κύκλο¹¹³, την απόπτωση¹¹⁴, την παραγωγή αμινοξέων¹¹⁵, αίμης και συμπλεγμάτων σιδήρου/θείου¹¹⁶. Σοβαρές ανθρώπινες παθολογίες όπως καρκίνος, νευροεκφυλισμός, διαβήτης, μυοκαρδιοπάθεια και πρόωρη γήρανση, σχετίζονται με δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων, μεταξύ άλλων.

Επομένως, μπορεί εύκολα κανείς να αντιληφθεί τον καίριο ρόλο των οργανιδίων αυτών στην ρύθμιση της φυσιολογίας του κυττάρου, της υγείας και της μακροζωίας και ως εκ τούτου να δικαιολογήσει το αυξημένο επιστημονικό ενδιαφέρον για την κατανόηση των μηχανισμών που ρυθμίζουν τη λειτουργία τους. Ο μοναδικός ευκαρυωτικός οργανισμός που έχει βρεθεί να στερείται πλήρως μιτοχονδρίων είναι το *Monocercomonoides*¹¹⁷.

2.1 Θεωρίες για την προέλευση των μιτοχονδρίων

Τα μιτοχόνδρια είναι βασικά οργανίδια του ευκαρυωτικού κυττάρου με κεντρικό ρόλο στον κυτταρικό μεταβολισμό. Υπάρχουν δύο θεωρίες για την προέλευση τους: η αυτογενής και η ενδοσυμβιωτική.

Σύμφωνα με την αυτογενή θεωρία, το ίδιο το προγονικό ευκαρυωτικό κύτταρο δημιούργησε τα μιτοχόνδρια με τη σταδιακή ομαδοποίηση συγκεκριμένων πυρηνικών γονιδίων και την απομόνωσή τους από τον πυρήνα, με παράλληλη εγκόλπωση της πλασματικής μεμβράνης

προς τελικό σχηματισμό του οργανιδίου.

Σύμφωνα με την ενδοσυμβιωτική θεωρία, τα μιτοχόνδρια προέκυψαν από ενδοκύτωση ενός άλφα-πρωτεοβακτηρίου από έναν ευκαρυωτικό πρόγονο¹¹⁸, πριν από περίπου 1.6 δισεκατομμύρια χρόνια. Με αυτή τη «συμβίωση» δημιουργήθηκε μία σχέση αμοιβαίου οφέλους, όπου το πρωτεοβακτήριο εξασφάλισε ένα ασφαλές περιβάλλον για τον πολλαπλασιασμό του μέσα στον ξενιστή, ενώ ο τελευταίος πέτυχε τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας παραγωγής ενέργειας με το σχηματισμό μορίων ATP στην αναπνευστική αλυσίδα.
¹¹⁹.

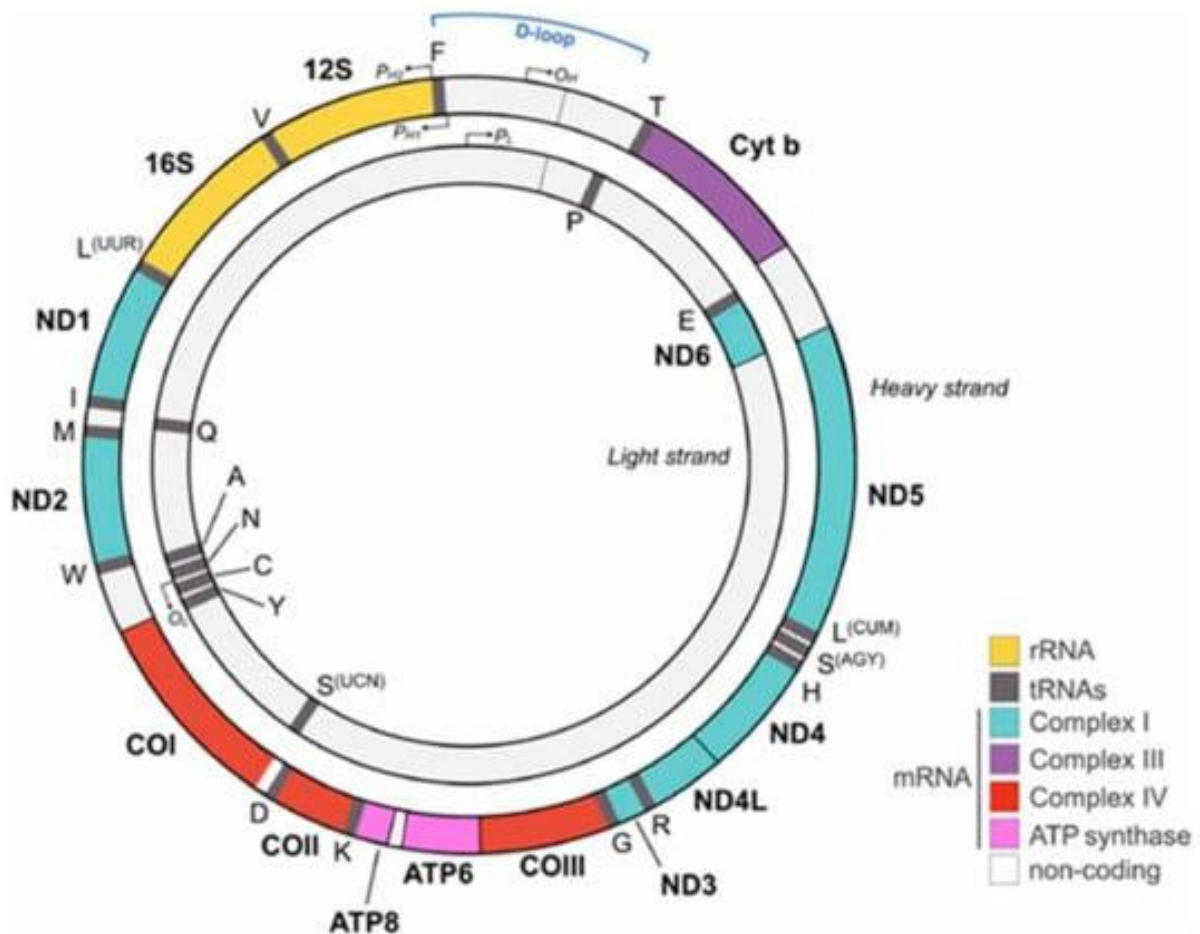
Η ενδοβιωτική θεωρία ενισχύεται από το γεγονός ότι τα μιτοχόνδρια διαθέτουν κυκλικό DNA και ριβοσώματα όπως τα βακτήρια, δύο ξεχωριστές και λειτουργικά διακριτές μεμβράνες, -μία εξωτερική και μία εσωτερική - και ανεξάρτητο μηχανισμό μετάφρασης.

2.2 Η δομή του μιτοχονδρίου

Τα μιτοχόνδρια, όπως και ο πυρήνας και οι χλωροπλάστες των ευκαρυωτικών κυττάρων, περιβάλλονται από δύο φωσφολιπιδικές μεμβράνες. Στο μιτοχόνδριο, η εξωτερική (OMM) και η εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη (IMM) χωρίζουν το οργανίδιο σε δύο χώρους, τη μήτρα και τον ενδομεμβρανικό χώρο (IMS)¹²⁰. Η εξωτερική μεμβράνη έχει σύσταση παρόμοια με αυτή των ευκαρυωτικών μεμβρανών και επιτρέπει τη διέλευση ιόντων και μικρών μορίων μέσω πορινών ή τασεο-εξαρτώμενων καναλιών ανιόντων (VDACs)¹²¹, ενώ η εσωτερική μεμβράνη μοιάζει με αυτή των βακτηριακών μεμβρανών και χαρακτηρίζεται από παρουσία καρδιολιπίνης¹²², υψηλότερη αναλογία πρωτεϊνών/λιπιδίων και σχηματίζει πολλαπλές χαρακτηριστικές πτυχώσεις στη μήτρα, που ονομάζονται ακρολοφίες, και στόχο έχουν την αύξηση της διαθέσιμης επιφάνειας για παραγωγή ενέργειας. Όσον αφορά την διαπερατότητα, η εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων επιτρέπει την ελεύθερη διέλευση μόνο νερού (H₂O), οξυγόνου (O₂) και διοξειδίου του άνθρακα (CO₂). Οι βασικές διαφορές στο σχήμα, τη σύσταση, τη διαπερατότητα αλλά και το ρόλο των δύο μεμβρανών φαίνεται να συνάδουν με την ενδοσυμβιωτική θεωρία προέλευσης του οργανιδίου, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως.

Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων είναι κυκλικό δίκλωνο μόριο, μεγέθους 16.569 ζευγών βάσεων (bp) στον άνθρωπο, το οποίο δεν περιέχει εσώνια και είναι πολυκιστρονικό (Εικόνα 2.1). Αποτελείται από μία βαριά αλυσίδα (H-strand) πλούσια σε γουανίνες (G) και μία ελαφριά (L-strand) πλούσια σε κυτοσίνες (C). Ολόκληρη η αλληλουχία αντιστοιχεί σε γονίδια, συνεχόμενα και κάποια εν μέρει επικαλυπτόμενα όπως τα MTATP6 και MTATP8, εκτός από

μια μη-κωδικοποιούσα περιοχή, που ονομάζεται βρόχος μετατόπισης ή βρόχος D. Ο βρόχος D περιλαμβάνει τη θέση έναρξης αντιγραφής του mtDNA (την αρχή σύνθεσης της βαριάς αλυσίδας - OH), τους δύο υποκινητές μεταγραφής της βαριάς αλυσίδας H (HSP1 και HSP2) και τον υποκινητή της ελαφριάς αλυσίδας.



Εικόνα 2.1 Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA). Σχηματική απεικόνιση του δίκλωνου, κυκλικού μορίου mtDNA μεγέθους 16.6 kb. Ο εξωτερικός κύκλος αναπαριστά την βαριά αλυσίδα και ο εσωτερικός την ελαφριά, όπου και εμφανίζονται με ίδιο χρώμα, τα γονίδια που κωδικοποιούν υπομονάδες του ίδιου συμπλόκου. Τα rRNAs είναι σημειωμένα με κίτρινο ενώ τα tRNAs με γκρι.¹²³

Το mtDNA περιέχει 37 γονίδια, 28 στην βαριά αλυσίδα και 9 στην ελαφριά. Δεκατρία (13) από τα γονίδια αυτά κωδικοποιούν για τμήματα πολυπεπτιδικών συμπλοκών της μιτοχονδριακής αναπνευστικής αλυσίδας (RC), ενώ είκοσι τέσσερα (24) γονίδια κωδικοποιούν για ώριμα μόρια RNA, εκ των οποίων τα 22 είναι μιτοχονδριακά μεταφορικά μόρια tRNA, και τα 2 ριβοσωμικά μόρια (μια μεγάλη ριβοσωματική υπομονάδα -16 s rRNA- και μία μικρή

ριβosomal υπομονάδα -12 s rRNA)¹²⁴. Είναι φανερό ότι τα μιτοχόνδρια περιέχουν όχι μόνο τα δικά τους μόρια DNA και RNA αλλά κι ένα πλήρες σύστημα μεταγραφής και μετάφρασης, συμπεριλαμβανομένων και ριβωσμάτων, που τους επιτρέπουν να συνθέτουν ανεξάρτητα ορισμένες από τις πρωτεΐνες τους. Ωστόσο, τα μιτοχόνδρια, κάνουν μικρή μόνο χρήση αυτών των εξειδικευμένων μηχανισμών παραγωγής πολυπεπτιδίων. Κατά τη διάρκεια της εξέλιξης φαίνεται να έχει σταδιακά μεταφερθεί το 99% των «μιτοχονδριακών γονιδίων» στον πυρήνα και έτσι η πλειονότητα των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών ελέγχεται από γονίδια που μεταγράφονται στον πυρήνα, μεταφράζονται στο κυτταρόπλασμα και εν συνεχεία εισάγονται στο μιτοχόνδριο με τη βοήθεια πρωτεϊνικών μεταφορασών (τρανλοκάσες)¹²⁵.

Σε αντίθεση με το πυρηνικό DNA, το mtDNA υπάρχει σε πολλά αντίγραφα στο κύτταρο, με τον αριθμό των αντιγράφων να ποικίλλει δραματικά από κύτταρο σε κύτταρο, ανάλογα με τις ενεργειακές ανάγκες του κάθε ιστού. Έτσι, μπορεί να κυμαίνεται από 800 αντίγραφα στα ηπατοκύτταρα των θηλαστικών έως 100.000 στα ωκύτταρα¹²⁶. Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι τα ανθρώπινα μιτοχόνδρια δεν ακολουθούν αυστηρά τον παγκόσμιο γενετικό κώδικα, καθώς ο μιτοχονδριακός κώδικας διαφέρει ελαφρώς από ό,τι ισχύει για το πυρηνικό DNA (nDNA). Το mtDNA χρησιμοποιεί δύο τριπλέτες αργινίνης- τα AGA και AGG- ως κωδικόνια λήξης της μετάφρασης, ενώ το UGA κωδικοποιεί το αμινοξύ τρυπτοφάνη. Τέλος, το κωδικόνιο AUA που κωδικοποιεί για την ισολευκίνη στο πυρηνικό DNA, στο mtDNA κωδικοποιεί για τη μεθειονίνη¹²⁷.

2.3 Κληρονόμηση mtDNA

Η επικρατούσα θεωρία υποστηρίζει ότι η μονάδα κληρονόμησης του mtDNA είναι τα νουκλεοειδή και ότι αυτά προέρχονται μόνο από τη μητέρα. Κατά το σχηματισμό του ζυγωτού ενός θηλαστικού, το μιτοχονδριακό γενετικό υλικό του σπέρματος αφαιρείται με ουβικιτινίωση των μιτοχονδρίων του σπέρματος. Η προσθήκη ουβικιτίνης στα μιτοχόνδρια του αρσενικού γαμέτη συμβαίνει κατά τη διαφοροποίηση των σπερματίδων στους όρχεις και η διαμόρφωση αυτή προστατεύεται εν συνεχεία στην επιιδυμίδα, με δισουλφιδικούς δεσμούς. Μετά τη γονιμοποίηση, αναγωγικά πεπτίδια που υπάρχουν στο κυτταρόπλασμα του ωαρίου (π.χ. γλουταθειόνη) διασπούν το δισουλφιδικό δεσμό εκθέτοντας την ουβικιτίνη στην μεμβρανική επιφάνεια των μιτοχονδρίων του σπέρματος, γεγονός που σηματοδοτεί την αποικοδόμηση τους. Κατά συνέπεια, η μιτοχονδριακή σύσταση του ζυγωτού καθορίζεται

σχεδόν αποκλειστικά από το ωάριο και ο απόγονος φέρει τον μητρικό μιτοχονδριακό απλότυπο (μιτότυπο)¹²⁸.

Θεωρίες προτείνουν ότι η έλλειψη πατρικής κληρονόμησης μπορεί να οφείλεται είτε σε αραίωση, δεδομένου ότι σπέρμα περιέχει πολύ λιγότερα αντίγραφα mtDNA, σε σύγκριση με το ωάριο, είτε σε εκλεκτική ουβικιτινυλίωση του πατρικού mtDNA, όπως περιεγράφηκε παραπάνω, ή ακόμη στο φαινόμενο «mtDNA bottleneck» βάσει του οποίου τα λιγοστά πατρικά μιτοχόνδρια αραιώνονται ακόμη περισσότερο στα θυγατρικά κύτταρα, καθώς η κατανομή τους είναι περιορισμένη και τυχαία.

Παρόλο που τα κύτταρα περιέχουν χιλιάδες μόρια mtDNA, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η αλληλουχία τους είναι πανομοιότυπη, ως αποτέλεσμα της μητρικής κληρονόμησης τους. Επομένως όλοι οι απόγονοι αναμένεται να φέρουν ένα μόνο μιτότυπο και το φαινόμενο αυτό χαρακτηρίζεται ως ομοπλασμία. Ωστόσο, υπάρχουν κύτταρα ή και άτομα τα οποία φέρουν παραπάνω από έναν μιτοτύπους και χαρακτηρίζονται ως ετεροπλασμικά. Η ετεροπλασμία μπορεί να είναι αποτέλεσμα είτε μεταλλαγών που συμβαίνουν στο mtDNA, είτε διαρροής πατρικού μιτοχονδριακού DNA κατά το σχηματισμό ζυγωτού. Κατά τον πολλαπλασιασμό του μιτοχονδριακού DNA είναι σχετικά εύκολο να συσσωρευτούν μεταλλάξεις λόγω του αυξημένου ρυθμού αντιγραφής, του οξειδωτικού περιβάλλοντος και της έλλειψης μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA στα μιτοχόνδρια, και ως εκ τούτου οι μεταλλάξεις συχνά συνυπάρχουν με το αντίστοιχο άγριου τύπου mtDNA, σε διάφορες αναλογίες.

Το φαινόμενο της ετεροπλασμίας παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς η συνύπαρξη διαφορετικών μιτοτύπων μέσα σε ένα άτομο δημιουργεί τις κατάλληλες προϋποθέσεις για ανασυνδυασμό, γεγονός που επιτρέπει και σε κάποιες περιπτώσεις την επιτυχή αναστροφή συσσώρευσης επιβλαβών μεταλλαγών και αποκατάσταση της μιτοχονδριακής ποιότητας. Η μελέτη της διαρροής του πατρικού mtDNA παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, καθώς μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στην αρμοστικότητα του mtDNA, αλλά και γενικότερα στην εξέλιξή του.

Η αναλογία του μεταλλαγμένου/ αγρίου τύπου μιτοχονδριακού DNA, έχει σημαντικές συνέπειες για το κύτταρο και τον οργανισμό γενικότερα ¹²⁹.

2.4 Λειτουργία και ρόλοι στο κύτταρο

Αν και τα μιτοχόνδρια είναι κοινώς γνωστά ως «τα εργοστάσια παραγωγής ενέργειας», τα τελευταία χρόνια, έχει αποκαλυφθεί ένα ευρύ φάσμα συμβολής τους σε άλλες φυσιολογικές

λειτουργίες του οργανισμού, όπως η ομοιόσταση του ασβεστίου, η απόπτωση και η σύνθεση αίμης και σιδήρου-θείου.

2.4.1 Παραγωγή Ενέργειας

Το ATP αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας για τα κύτταρα, καθώς σημαντικές ποσότητες ενέργειας γίνονται διαθέσιμες στο κύτταρο κατά την αποφωσφορυλίωση της τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) προς διφωσφορική αδενοσίνη (ADP). Τα κύτταρα χρησιμοποιούν τα μιτοχόνδρια για τον μεταβολισμό των βιολογικών μακρομορίων που προσλαμβάνουν οι οργανισμοί με την τροφή για την παραγωγή ενέργειας υπό τη μορφή μορίων τριφωσφορικής αδενοσίνης, μέσω της κυτταρικής αναπνοής και της ρύθμισης του κυτταρικού μεταβολισμού. Η διαδικασία μεταβολισμού της γλυκόζης αποτελείται από μια σειρά χημικών αντιδράσεων που ολοκληρώνονται σε τρία στάδια.

- **Γλυκόλυση:** Αυτό το στάδιο λαμβάνει χώρα στο κυτταρόπλασμα, είναι αναερόβιο και ανεξάρτητο από τα μιτοχόνδρια. Παράγει μονάχα δύο μόρια ATP και δύο μόρια πυροσταφυλικού ανά μόριο γλυκόζης που μεταβολίζεται.
- **Κύκλος του κιτρικού οξέος (κύκλος του Krebs):** Αυτό το στάδιο είναι αερόβιο και λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια. Τα μόρια πυροσταφυλικού οξέος που παράγονται κατά τη γλυκόλυση, εισέρχονται στη μιτοχονδριακή μήτρα μέσω του μιτοχονδριακού πυροσταφυλικού φορέα (MPC)¹³⁰ όπου αποκαρβοξυλιώνονται, οξειδώνονται και συνδέονται με το συνένζυμο Α (με τη βοήθεια του ενζύμου πυροσταφυλική αφυδρογονάση, PDH), προς το σχηματισμό μορίων ακετυλο-CoA. Το ακέτυλο-CoA που παράγεται από το πυροσταφυλικό αντιδρά με το οξαλοξικό οξύ και έτσι παράγεται κιτρικό οξύ. Ο κάθε κύκλος του Krebs αποτελείται από ένα κύκλο οκτώ διαδοχικών αντιδράσεων-που η καθεμία καταλύεται από το δικό της ένζυμο- και τελικά παράγει τρία μόρια νικοτινάμινο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (NADH), ένα μόριο φλάβινο-αδενινο-δινουκλεοτιδίου (FADH₂) και μία τριφωσφορική γουανοσίνη (GTP), ανά μόριο πυροσταφυλικού.

Επομένως, τα δύο μόρια ακετυλ-CoA που προέρχονται από ένα μόριο γλυκόζης παράγουν συνολικά, έξι NADH, δύο FADH₂ και δύο GTP. Καθώς ο βασικός ρόλος του μιτοχονδρίου είναι η παραγωγή ATP, τα παραπάνω ενεργοποιημένα μόρια φορείς που παράγονται κατά την διάρκεια του κύκλου αντιδρούν για να παραχθεί ATP. Το GTP μπορεί άμεσα να δημιουργήσει ATP προσφέροντας την μία φωσφορική ομάδα του στο ADP. Τα μόρια NADH και FADH₂ λειτουργούν ως φορείς ηλεκτρονίων υψηλής ενέργειας και έτσι μπορούν στο συνεχίσουν στο τρίτο στάδιο.

- **Οξειδωτική φωσφορυλίωση.** Λαμβάνει χώρα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και συνίσταται στη διέλευση ηλεκτρονίων από το NADH και το FADH₂ μέσω των διαμεμβρανικών συμπλόκων ενζύμων (σύμπλοκο αφυδρογονάσης του NADH, σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων b-c₁ και σύμπλοκο της οξειδάσης του κυτοχρώματος) στον τελικό δέκτη, το οξυγόνο, μέσω της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (ETC). Συνολικά, η πλήρης οξείδωση ενός μόνο μορίου γλυκόζης χρησιμοποιείται από το κύτταρο για την παραγωγή 30 μορίων ATP.

Αξίζει να σημειωθεί ότι NADH και FADH₂ μπορούν επίσης να παραχθούν κατά τη β-οξείδωση λιπαρών οξέων, διαδικασία κατά την οποία ένα μόριο λιπαρού οξέος διασπάται σε ακυλο-CoA, και μπορούν να συνεχίσουν στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, παρέχοντας επίσης ενέργεια στο κύτταρο¹³¹.

2.4.2. Ομοιόσταση ασβεστίου

Τα μιτοχόνδρια μπορούν να δεσμεύουν ή να απελευθερώνουν ασβέστιο, ρυθμίζοντας έτσι την συγκέντρωση των ιόντων στο κύτταρο. Τα ιόντα ασβεστίου, λειτουργώντας ως ευέλικτα μόρια σηματοδότησης, ελέγχουν πολλές φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η μυική σύσπαση, η νευρωνική διέγερση, η κυτταρική μετανάστευση και η κυτταρική ανάπτυξη¹³².

Παράλληλα, η συγκέντρωση ασβεστίου παίζει σημαντικό ρόλο στη μιτοχονδριακή λειτουργικότητα επηρεάζοντας τη δράση των ενζύμων της μήτρας και κατ' επέκταση την μιτοχονδριακή αναπνοή και την διαπερατότητα της μιτοχονδριακής μεμβράνης¹³³.

2.4.3. Απόπτωση

Απόπτωση χαρακτηρίζεται ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, που εξυπηρετεί μια σειρά φυσιολογικών διαδικασιών στον οργανισμό, που κυμαίνονται από την εμβρυϊκή ανάπτυξη έως την ανοσολογική απόκριση. Η απόπτωση συνήθως συμβαίνει ως απόκριση σε βλάβες και στρεσογόνους παράγοντες, όπως φθορά του DNA, οξειδωτικό στρες, ανοσολογικές αντιδράσεις, έλλειψη αυξητικών παραγόντων, ορμονών και κυτοκινών ή ως φυσιολογική διαδικασία ανάπτυξης και γήρανσης¹³⁴. Υπάρχουν δύο κύρια σηματοδοτικά μονοπάτια της απόπτωσης: το εξωτερικό (υποδοχείς θανάτου) και το εσωτερικό (μιτοχονδριακό) μονοπάτι. Το μιτοχονδριακό μονοπάτι ενεργοποιείται ως απάντηση σε στρες ή βλάβη και οδηγεί στον κυτταρικό θάνατο, μέσω αύξησης της διαπερατότητας της εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου (MOMP) προς απελευθέρωση διαλυτών πρωτεϊνών (όπως του κυτοχρώματος c) από τον μιτοχονδριακό διαμεμβρικό χώρο¹³⁵.

Το κυτόχρωμα c, δεσμεύει και ενεργοποιεί τον παράγοντα ενεργοποίησης της αποπτωτικής πρωτεάσης-1 (Araf-1) καθώς και την προκασπάση-9, και σχηματίζει ένα σύμπλεγμα γνωστό ως «αποπτώσωμα» που ξεκινά τη διαδικασία του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου ¹³⁶. Εκτός το κυτόχρωμα c, κι άλλες μιτοχονδριακές πρωτεΐνες μπορούν να καθορίσουν την απόπτωση μέσω εναλλακτικών μηχανισμών, όπως ο παράγοντας AIF1 που είναι μια οξειδοαναγωγική πρωτεΐνη που συνδέεται με τη μεμβράνη των μιτοχονδρίων σε κατάσταση στρες ¹³⁷.

2.4.4. Σύνθεση αίμης

Η σύνθεση της αίμης λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια και στο κυτταρόπλασμα ¹³⁸. Η αίμη έχει σημαντικό ρόλο στη μεταφορά και αποθήκευση οξυγόνου, στην κυτταρική αναπνοή, στην επεξεργασία miRNAs, στο μεταβολισμό φαρμάκων και στη μεταγωγή σήματος ¹³⁹. Παράγεται με την εισαγωγή σιδήρου στον δακτύλιο τετραπυρρόλης της πρωτοπορφυρίνης IX που καταλύεται από ένα ένζυμο της μιτοχονδριακής μήτρας, που ονομάζεται φερροχελάση.

2.4.5. Σύνθεση συμπλεγμάτων Fe/S

Ένζυμα, όπως οι γλυκοζυλάσες, οι ελικάσες, οι πριμάσες και τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας, απαιτούν την πρόσδεση συμπλεγμάτων Fe/S για τη δραστηριότητά τους ¹⁴⁰. Ο πιο κοινός πρωτεϊνικός συνδέτης είναι η κυστεΐνη, αλλά επίσης η ιστιδίνη, η σερίνη και η αργινίνη μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς.

Ο κεντρικός παράγοντας της οδού σύνθεσης ενός συμπλέγματος [Fe-S], γνωστός ως ένζυμο συναρμολόγησης συστάδων σιδήρου-θείου (ISCU), βρίσκεται στα ευκαρυωτικά μιτοχόνδρια.

2.4.6 Επιπλέον λειτουργικοί ρόλοι

Τα μιτοχόνδρια διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο σε πολλές άλλες μεταβολικές διαδικασίες, όπως:

- **Κυτταρική σηματοδότηση:** Τα μιτοχόνδρια συμμετέχουν στη διαδικασία της κυτταρικής σηματοδότησης ¹⁴¹.
- **Ρύθμιση του δυναμικού της μεμβράνης:** Επίσης, ρυθμίζουν το δυναμικό της μεμβράνης τους.
- **Ρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού.** Συμβάλλουν στη ρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού ¹⁴².
- **Σύνθεση στεροειδών:** Συμμετέχουν στη σύνθεση στεροειδών ¹⁴³.

- **Ορμονική σηματοδότηση:** Επιπλέον, συμμετέχουν στην ορμονική σηματοδότηση ¹⁴⁴.

2.5 Ο ρόλος των μιτοχονδρίων στη γήρανση

Τα τελευταία χρόνια, η σχέση μεταξύ της βιολογίας της γήρανσης και των μιτοχονδρίων αποτελεί βασικό αντικείμενο μελέτης.

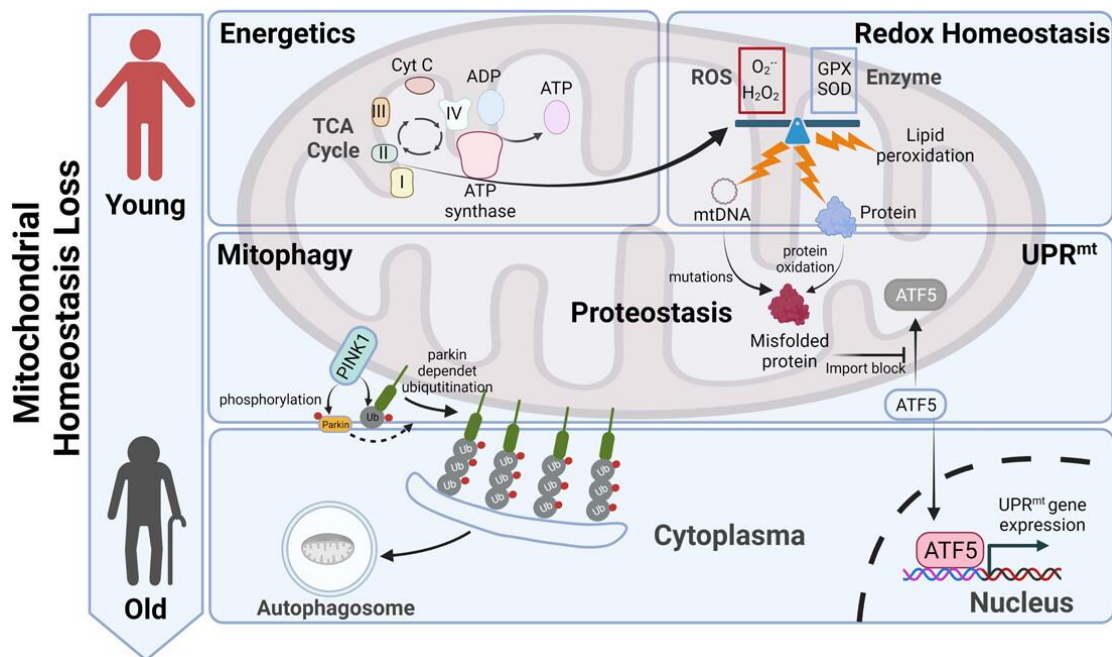
Τα μιτοχόνδρια παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία της γήρανσης, καθώς συμμετέχουν στην οξειδωτική φωσφορυλίωση για την παραγωγή ενέργειας, ενώ ταυτόχρονα επιτρέπουν το σχηματισμό παραπροϊόντων ROS (δραστικών μορφών οξυγόνου) λόγω «διαρροής» ενεργοποιημένου οξυγόνου από την αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων ¹⁴⁶. Αυτά τα μόρια μπορούν να προκαλέσουν βλάβη στα κυτταρικά μακρομόρια (DNA, πρωτεΐνες, λιπίδια) διαταράσσοντας τη μιτοχονδριακή ομοιόσταση. Επιδείνωση της μιτοχονδριακής βλάβης μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένη αναδίπλωση των πρωτεϊνών και βλάβη στο mtDNA. Συγχρόνως όμως μπορεί να ενεργοποιηθεί ο μιτοχονδριακός μηχανισμός απόκρισης σε μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες (UPRmt), ένας εξαιρετικά συντηρημένος προστατευτικός μηχανισμός που εξυπηρετεί την μιτοχονδριακή αποκατάσταση και την επιβίωση του κυττάρου, κυρίως μέσω της μεταφοράς του μεταγραφικού παράγοντα ATF5 στον πυρήνα για την ενεργοποίηση των γονιδίων που εξυπηρετούν καλύτερα τη διαδικασία αυτή. Για να αντιμετωπιστεί μια εκτεταμένη μιτοχονδριακή βλάβη, ενεργοποιείται διαδικασία αυτοφαγίας του μιτοχονδρίου γνωστή ως μιτοφαγία που καταλύεται από την λιγάση ουβικιτίνης parkin, που έχει ενεργοποιηθεί από την κινάση PINK1 και στοχεύει για την διάσπαση και απομάκρυνση των φθαρμένων μιτοχονδρίων (Εικόνα 2.2) ¹⁴⁷.

2.5.1. Μεταλλάξεις στο Μιτοχονδριακό DNA

Οι μεταλλάξεις, τόσο στο πυρηνικό όσο και στο μιτοχονδριακό DNA, ως αναμένεται, αυξάνονται με την ηλικία ¹⁴⁸. Στην περίπτωση των μιτοχονδριακών μεταλλάξεων, ωστόσο, η αφθονία των αντιγράφων του μιτοχονδριακού γενετικού υλικού, που κυμαίνονται από εκατοντάδες έως χιλιάδες αντίγραφα ανά κύτταρο, καθιστά δυσκολότερο τον εντοπισμό και τη λειτουργική ερμηνεία μιας μετάλλαξης.

Με μεθόδους αλληλούχισης επόμενης γενιάς (NGS) έχει φανεί ότι σε όλα, σχεδόν, τα άτομα υπάρχει ένα χαμηλό ποσοστό μεταλλαγμένου μιτοχονδριακού γονιδιώματος (ετεροπλασμία), που έχει κληρονομηθεί από τη μητέρα στο παιδί ¹²⁹. Δυστυχώς, η λειτουργική ανάγνωση αυτών

των αποτελεσμάτων αλληλούχισης είναι λιγότερο σαφές. Ενώ το mtDNA κωδικοποιεί εξαιρετικά κρίσιμες πρωτεΐνες, προκειμένου η οποιαδήποτε μετάλλαξη mtDNA να έχει μετρήσιμο βιοενεργειακό αποτέλεσμα, θα πρέπει να φτάσει τουλάχιστον το κρίσιμο κατώφλι του 60% και ίσως πιο κοντά στο 90%, σε συγκεκριμένο κύτταρο ή ιστό ¹⁴⁹. Παρόλο που τα πειραματικά στοιχεία υποδηλώνουν ότι το φορτίο των μεταλλάξεων mtDNA μπορεί να διαμορφώσει τον ρυθμό γήρανσης ¹³⁶, πιθανότατα η αύξηση του μεταλλαγμένου φορτίου mtDNA να είναι απλά ένας συσχετισμός και όχι το αίτιο για τον φαινότυπο της γήρανσης. Επιπλέον, μοντέλα ποντικών με ανεπάρκεια δράσης εξωνουκλεάσης της μιτοχονδριακής DNA πολυμεράσης (POLγ), εμφανίζουν συσσώρευση εξαιρετικά υψηλών επιπέδων μιτοχονδριακών μεταλλάξεων και μειωμένη διάρκεια ζωής, συνοδευόμενη από χαρακτηριστικούς φαινοτύπους γήρανσης, όπως τα γκρίζα μαλλιά και η κύφωση ¹⁵⁰. Επομένως, οι μεταλλάξεις mtDNA σε υψηλά επίπεδα, μπορεί να επηρεάσουν τη γήρανση των θηλαστικών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα οι, περισσότερες από 300, παθολογικές μεταλλάξεις στο ανθρώπινο POLγ που συνδέονται με την ανάπτυξη ενός ευρέος φάσματος παθολογικών καταστάσεων, όπως τη νόσο του Πάρκινσον και άλλες ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία ¹⁵¹.



Εικόνα 2.2 Η μιτοχονδριακή ομοιόσταση κατά τη γήρανση. ¹⁴⁷

2.5.2 Φλεγμονώδης απόκριση, mtROS

Υπάρχουν ενδείξεις ότι τα μιτοχόνδρια μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στον φλεγμονώδη φαινότυπο, μαρτυρώντας μια πιθανή σχέση μεταξύ ενεργοποίησης του ανοσοποιητικού συστήματος και γήρανσης¹⁵². Η ενεργοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος που σχετίζεται με τη γήρανση, ακόμη και απουσία ηλικιο-εξαρτώμενων ασθενειών, οδηγεί σε μια κατάσταση γνωστή ως «φλεγμονή γήρανσης» (inflammaging) που χαρακτηρίζεται από υψηλότερα επίπεδα φλεγμονωδών μεσολαβητών όπως η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη, η IL-6 και το ινωδογόνο¹⁵³.

Ενώ ο φυσιολογικός ρόλος του ανοσοποιητικού συστήματος είναι να ανιχνεύει και να ανταποκρίνεται σε βλάβες των ιστών και στην είσοδο παθογόνων μικροοργανισμών, ενεργοποιείται επίσης κατά την απελευθέρωση ενδοκυτταρικών μορίων, που δρουν ως σήμα κινδύνου, που σχετίζονται με βλάβη όπως τα μόρια DAMPs. Τέτοια μόρια μπορεί να απελευθερωθούν από γηρασμένα ή πεθαμένα κύτταρα πυροδοτώντας μια ανοσοαπόκριση γνωστή ως στείρα φλεγμονή¹⁵⁴. Το ελεύθερο μιτοχονδριακό DNA (mtDNA), τα πεπτίδια N-φορμυλίου και η καρδιολιπίνη, χαρακτηριστικό φωσφολιπίδιο της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, δρουν ως μιτοχονδριακά DAMPs¹⁵⁵. Σε άτομα μεγαλύτερα των 50 ετών, η συγκέντρωση του ελεύθερου mtDNA φαίνεται να αυξάνεται σταδιακά με την ηλικία και υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτή η αύξηση στη συγκέντρωσή του, επάγει αυξημένη παραγωγή κυτοκίνης σε κυτταρικές καλλιέργειες¹⁵⁶.

Μόρια που προέρχονται από μιτοχόνδρια, με χαρακτηριστικότερα τα μόρια DAMPs, τα μεμβρανικά MAVS (που βρίσκεται στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη) και το μιτοχονδριακό φωσφολιπίδιο καρδιολιπίνη, εμπλέκονται στην ενεργοποίηση ενός πολypeπτιδικού συμπλέγματος υψηλού μοριακού βάρους, του φλεγμονώδους σωματίου (inflammasome), που ενεργοποιεί την πρωτεάση κασπάση¹⁵⁷. Είναι ενδιαφέρον να επισημανθεί σε αυτό το σημείο, ότι η ενεργοποίηση της κασπάσης-1 μπορεί με τη σειρά της να ανατροφοδοτήσει τη μιτοχονδριακή βλάβη¹⁵⁸. Υπάρχουν ενδείξεις ότι οι δραστικές μορφές οξυγόνου που δημιουργούνται στα μιτοχόνδρια (mtROS), μπορούν να δράσουν ως μόρια σηματοδότησης για την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών και την ενεργοποίηση των T-λεμφοκυττάρων. Τα mtROS συμμετέχουν στην ενεργοποίηση του NLRP3 που είναι στοιχείο του φλεγμονώδους σωματίου και ενεργοποιεί την ανοσοαπόκριση¹⁵⁹, αν και η απόλυτη απαίτηση για οξειδωτικά όπως και ο ακριβής μηχανισμός παραμένουν ασαφείς¹⁶⁰.

Υπάρχει σύνδεση μεταξύ μιτοφαγίας, ενεργοποίησης των φλεγμονωδών σωματίων και βλαβών που σχετίζονται με την ηλικία. Το ελεύθερο mtDNA μπορεί να ανιχνευθεί στον

ανθρώπινο ορό όχι μόνο σε παθολογικές καταστάσεις αλλά και κατά τη φυσιολογική γήρανση¹⁶¹, γεγονός που πιθανότατα οφείλεται στο φαινόμενο της μιτοφαγίας. Διαταραχές στην διαδικασία της μιτοφαγίας μπορεί να οδηγήσουν σε αύξηση του ελεύθερου mtDNA στο κυτταρόπλασμα και να επάγουν την έκκρισης ιντερλευκίνης IL-1β¹⁶².

Το mtDNA μπορεί να αναγνωριστεί από την κυκλική συνθάση GMP-AMP (cGAS), όπως συμβαίνει με το ξένο βακτηριακό ή ιικό DNA κατά τη διάρκεια μιας μόλυνσης, ενεργοποιώντας το μεταγραφικό παράγοντα IRF3 και επάγοντας ανοσολογική απόκριση¹⁶³.

Τέλος, υπάρχουν και άλλοι σημαντικοί τρόποι με τους οποίους τα μιτοχόνδρια θα μπορούσαν να συμμετέχουν στην παρατηρούμενη στείρα φλεγμονή που εξαρτάται από την ηλικία. Οι μεταβολίτες του τρικαρβοξυλικού οξέος (TCA) φαίνεται ότι μπορούν να επάγουν ανοσολογική απόκριση, είτε μέσω ενεργοποίησης του HIF-1α που με τη σειρά του ρυθμίζει την παραγωγή IL-1β, είτε με την αντίστροφη μεταφορά ηλεκτρονίων (RET). Η αντίστροφη μεταφορά ηλεκτρονίων είναι μια διαδικασία κατά την οποία, καθώς τα ηλεκτρόνια περνούν από το μιτοχονδριακό σύμπλοκο II στο σύμπλοκο I, παράγουν ROS¹⁶⁴ και φαίνεται να εντείνεται καθώς τα ζώα γηράσκουν. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί μάλιστα να είναι ευεργετική και να παρατείνει τη διάρκεια ζωής¹⁶⁵.

Κατά τη διέγερση των μακροφάγων από λιποπολυσακχαρίτες (LPS), η εμφάνιση ενός υψηλού δυναμικού στη μιτοχονδριακή μεμβράνη σε συνδυασμό με την οξείδωση του ηλεκτρικού οξέος, οδηγεί σε παραγωγή ROS, επάγοντας προφλεγμονώδη απόκριση¹⁶⁴. Το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης μπορεί στην πραγματικότητα να είναι ένας σημαντικός καθοριστικός παράγοντας της ανοσοαπόκρισης¹⁶⁶, ενώ το ηλεκτρικό οξύ φαίνεται να είναι ένας από τους πολλούς μεταβολίτες μιτοχονδριακής προέλευσης που μπορεί να ρυθμίζει την ανοσολογική απόκριση και έτσι να συμβάλλει σε ηλικιοεξαρτώμενες αλλαγές του ανοσοποιητικού συστήματος.

2.5.3 Μηχανισμοί ποιοτικού ελέγχου του μιτοχονδρίου

Υπάρχει μια σειρά μηχανισμών ποιοτικού ελέγχου για την αντιμετώπιση του μιτοχονδριακού στρες. Η ενεργοποίηση αυτών των μηχανισμών κυμαίνεται βάσει της σοβαρότητας του ερεθίσματος. Σε αύξουσα πορεία εκτίμησης απόκρισης, εμφανίζεται αρχικά η ενεργοποίηση του UPRmt για την έναρξη ενός μεταγραφικού προγράμματος με στόχο την πιθανή ανακούφιση από το στρες και έπεται η απομάκρυνση του φθαρμένου μέρους των μιτοχονδρίων σε κυστίδιο που προέρχεται από μιτοχόνδρια (MDV), με την ελπίδα να διατηρηθεί άθικτο το

υπόλοιπο οργανίδιο ¹⁶⁷. Για την απομάκρυνση ολόκληρου μη-λειτουργικού μιτοχονδρίου απαιτείται η ενεργοποίηση της μιτοφαγίας, ενώ για την αφαίρεση ολόκληρου του φθαρμένου κυττάρου ενεργοποιείται κυτταρικός θάνατος μέσω απόπτωσης ή νέκρωσης.

2.5.3.1 UPRmt

Ένας αποτελεσματικός μηχανισμός παρακολούθησης και αξιολόγησης της μιτοχονδριακής λειτουργίας είναι και η παρακολούθηση της επιτυχούς εισαγωγής των μιτοχονδριακών πολυπεπτιδίων που ελέγχονται από τον πυρήνα και παράγονται στο κυτταρόπλασμα, στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων, γεγονός που απαιτεί παρουσία του συμπλόκου Tim23, μιτοχονδριακά συνοδά μόρια στην μήτρα και κατάλληλο δυναμικό μεμβράνης ¹⁶⁸.

Έχουν εντοπιστεί μόρια σηματοδότησης που ενεργοποιούνται από τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, ανάμεσα τους και ο μεταγραφικός παράγοντας ATFS-1 που διαθέτει ειδικές περιοχές τόσο πυρηνικού (NLS) όσο και μιτοχονδριακού εντοπισμού (MTS). Ο αρχικός γενετικός χαρακτηρισμός αυτής της οδού έγινε στους νηματώδεις. Εκεί, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία έχει ως αποτέλεσμα ο μεταγραφικός παράγοντας ATFS-1 να απομακρύνεται από τα μιτοχόνδρια (όπου φυσιολογικά θα ανοικοδομούνταν) και να συσσωρεύεται στον πυρήνα, ενεργοποιώντας το UPRmt ¹⁶⁹.

Η απόκριση σε μιτοχονδριακή ξεδιπλωμένη πρωτεΐνη (UPRmt), αποτελεί μια συντονισμένη μεταγραφική απόκριση που βρέθηκε ότι αυξάνει τα μιτοχονδριακά συνοδά μόρια (chaperons) και τις πρωτεάσες με στόχο τη διατήρηση της πρωτεόστασης ¹⁷⁰. Καταστέλλει γονίδια της κυτταρικής αναπνοής για να μειώσει το μιτοχονδριακό στρες, ενώ την ίδια στιγμή ενισχύει τη γλυκόλυση και των καταβολισμό των αμινοξέων για να εξυπηρετήσει τον κυτταρικό μεταβολισμό και την επιβίωση του κυττάρου ¹⁶⁹.

Στα θηλαστικά, η ρύθμιση της UPRmt δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητή γιατί αν και παρουσιάζει πολλές ομοιότητες με εκείνη στους νηματώδεις, είναι αρκετά πιο περίπλοκη. Έχουν περιγραφεί αρκετοί παράγοντες μιτοχονδριακού στρες που μπορούν να ενεργοποιήσουν το UPRmt σε κύτταρα θηλαστικών πέρα από τη συσσώρευση λανθασμένα αναδιπλωμένων και ξεδιπλωμένων πρωτεϊνών, όπως διαταραχές στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, αύξηση ROS, αναστολή της μιτοχονδριακής μετάφρασης και μια σειρά χημικών ουσιών ¹⁷¹. Εδώ, το κύριο ρυθμιστικό μόριο είναι ο παράγοντας ενεργοποίησης μεταγραφής 5 (ATF5) (ορθόλογο του ATFS-1) ¹⁷². Συγχρόνως, και άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες όπως τα ATF4 και το CHOP, παίζουν επίσης ουσιαστικούς ρόλους στη ρύθμιση του UPRmt στα θηλαστικά, καθώς επάγουν τη μεταγραφική έκφραση του ATF5 ¹⁷³. Όταν αυτοί οι μεταγραφικοί παράγοντες εισέλθουν στον πυρήνα, ενεργοποιούν τη μεταγραφή μιτοχονδριακών συνοδών όπως οι Hsp70, Hsp60

και Hsp10, καθώς και μιτοχονδριακών πρωτεασών όπως οι ClpP και LonP1¹⁷⁴. Επιπλέον, όπως πρόσφατα έχει περιγραφεί, η πρωτεολυτική απελευθέρωση του παράγοντα DELE1 από τη μιτοχονδριακή πρωτεάση OMA1 σηματοδοτεί τη μεταφορά του οξειδωτικού στρες από τα μιτοχόνδρια στο κυτοσόλιο¹⁷⁵, προσθέτοντας έτσι έναν νέο παράγοντα στη σηματοδότηση UPRmt.

Το 2018, ο Münch ορίζει ως βασικούς άξονες του UPRmt¹⁷⁶

- το μεταγραφικό κανονικό άξονα UPRmt,
- το μεταφραστικό άξονα UPRmt
- τον άξονα sirtuin UPRmt (οι σιρτουίνες ασκούν αντιοξειδωτική δράση αποακετυλιώνοντας το FOXO3A, το οποίο στη συνέχεια μετατοπίζεται στον πυρήνα και προάγει τη μεταγραφή αντιοξειδωτικών ενζύμων όπως η καταλάση και η μιτοχονδριακή υπεροξειδική δισμουτάση 2 (SOD2)¹⁷⁷
- και το IMS mtUPR που ενεργοποιείται όταν το μιτοχονδριακό στρες εντοπίζεται στον ενδομεμβρανικό μιτοχονδριακό χώρο¹⁷⁸

Σε αντίθεση με τους άλλους άξονες UPRmt, που αναστέλλουν τη σύνθεση μιτοχονδριακού συμπλέγματος και προάγουν τη μιτοχονδριακή συναρμολόγηση, η ενεργοποίηση των αξόνων sirtuin ή IMS UPRmt επάγουν τη μιτοχονδριακή βιογένεση μέσω SIRT1 και NRF1, αντίστοιχα, αυξάνοντας έτσι τη σύνθεση μιτοχονδριακού πλέγματος.

Η σύνδεση UPRmt και διάρκειας ζωής προήλθε από μελέτες μεταλλαγμάτων *C. elegans* με προβλήματα στη λειτουργία μεταφοράς ηλεκτρονίων τους, που εμφανίζονται κατά τη γήρανση. Εδώ, η ενεργοποίηση της απόκρισης UPRmt ήταν απαραίτητη για την αύξηση της διάρκειας ζωής, αλλά αυτή η απόκριση μακροζωίας φαίνεται να προκαλείται με μη αυτόνομο κυτταρικό τρόπο. Συγκεκριμένα, η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στους νευρώνες προκαλούσε απόκριση UPRmt στο έντερο, μέσω της μιτοκίνης, που παράγεται από τα νευρικά κύτταρα που βιώνουν μιτοχονδριακό στρες, εκκρίνεται και στη συνέχεια προσλαμβάνεται από κύτταρα άλλων ιστών με στόχο την ρύθμιση της μιτοχονδριακής ομοιόστασης του οργανισμού¹⁷⁹. Αν και η ακριβής φύση της μιτοκίνης παραμένει ασαφής, στο σκουλήκι, φαίνεται να εμπλέκονται νευροδιαβιβαστές, όπως η σεροτονίνη, και νευροπεπτίδια¹⁸⁰.

Εμφανίζεται επίσης μια επιγενετική μνήμη, που σχετίζεται με αυτές τις δράσεις, καθώς η μιτοχονδριακή δυσλειτουργία προκαλεί αύξηση του προσδόκιμου ζωής στο σκουλήκι μονάχα όταν εμφανίζεται κατά τη διάρκεια ενός συγκεκριμένου αναπτυξιακού παραθύρου¹⁷⁹. Οι

μεθυλοτρανσφεράσες ιστόνης και απομεθυλάσες ιστόνης της οικογένειας Jumonji φέρονται ως σημαντικοί επιγενετικοί ρυθμιστές του UPRmt ¹⁸¹.

Η απόκριση UPRmt συνδέεται επίσης σε ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία και με ουσίες που συνδέονται με την αυξανόμενη διάρκεια ζωής, συμπεριλαμβανομένης της μεταφορμίνης ¹⁸², της ρεσβερατρόλης, της ραπαμυκίνης και των συμπληρωμάτων NAD⁺ ¹⁸³ που φαίνονται να ενεργοποιούν την ανάδρομη σηματοδότηση από τα μιτοχόνδρια ¹⁸⁴.

2.5.3.2 MDVs

Είναι σημαντικό, τέλος, να τονιστεί ότι η απομάκρυνση των μιτοχονδρίων μέσω της μιτοφαγίας αντιπροσωπεύει μόνο μία πτυχή του ποιοτικού ελέγχου των μιτοχονδρίων. Επειδή η λυσοσωμική διάσπαση ενός ολόκληρου μιτοχονδρίου έχει υψηλό θερμοδυναμικό κόστος, όταν η βλάβη είναι λιγότερο σοβαρή, συνήθως επιλέγονται διαδικασίες που δεν αφορούν πλήρη καταστροφή του οργανιδίου αλλά εντοπισμό και απομάκρυνση μόνο μιας μικρής περιοχής (που παρουσιάζει τη μεγαλύτερη φθορά) του μιτοχονδρίου. Αυτό μπορεί να συμβεί μέσω της δημιουργίας κυστιδίων που προέρχονται από τα μιτοχόνδρια (MDVs). Τα μιτοχόνδρια, πιθανότατα, έχουν κληρονομήσει, από τους βακτηριακούς προγόνους τους, την ικανότητα να φορτώνουν το περιεχόμενό τους σε κυστίδια για μεταφορά του σε μεγάλες αποστάσεις. Τα MDV στα ευκαρυωτικά κύτταρα έχουν πιο εξειδικευμένους ρόλους σε σύγκριση με τα αντίστοιχα προκαρυωτικά τους και έχουν εξελιχθεί για διαφορετικούς σκοπούς ¹⁸⁵. Σε καταστάσεις μιτοχονδριακού στρες, τα MDV μπορούν να μεταφέρουν οξειδωμένο φορτίο στα λυσοσώματα για αποικοδόμηση ή να το απομακρύνουν στο εξωκυτταρικό διαμέρισμα μέσω EVs, ρυθμίζοντας έτσι τη μιτοχονδριακή μάζα πιο γρήγορα από τη μιτοφαγία ^{186 187 188}. Εμφανίζουν ετερογένειά ¹⁸⁹ που αντανάκλαται στο γεγονός ότι εμπλέκονται σε μια σειρά διαδικασιών, συμπεριλαμβανομένης της μιτοχονδριακής σχάσης, της βιογένεσης υπεροξεισωμάτων, της αντίστασης στο οξειδωτικό στρες και τις λοιμώξεις. Αλλαγές στους μηχανισμούς που δημιουργούν MDVs έχουν συσχετιστεί με διάφορες παθολογικές καταστάσεις, όπως ο νευροεκφυλισμός και η βλάβη των καρδιομυοκυττάρων υπό ισχαιμία/υποξία ¹⁸⁷. Επιπλέον, η αλλοιωμένη παραγωγή και απελευθέρωση MDV έχει συσχετιστεί με τη γήρανση, τα αυτοάνοσα νοσήματα, τον καρκίνο και τις λοιμώξεις ¹⁹⁰.

2.5.3.3 Μιτοφαγία

Η μιτοφαγία ορίζεται ως η ειδική διαδικασία απομάκρυνσης των μιτοχονδρίων μέσω αυτοφαγίας ¹⁹¹. Η απώλεια της εύρυθμης μιτοχονδριακής λειτουργίας κατά τη γήρανση, μπορεί να οφείλεται είτε σε επιδείνωση μιας ηλικιοεξαρτώμενης μιτοχονδριακής βλάβης, είτε στην

αδυναμία απομάκρυνσης των δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων, ή ακόμη και σε συνδυασμό και των δύο μηχανισμών. Η μελέτη της μιτοχονδριακής λειτουργίας σε ιστούς ηλικιωμένων ατόμων, όπως ο σκελετικός μυς, αποκαλύπτει μείωση περίπου 50% της μιτοχονδριακής αναπνευστικής ικανότητας με συνεπακόλουθη μείωση του ATP, σε σχέση με αυτήν που παρατηρείται σε νεότερα άτομα ¹⁹². Αυτή η λειτουργική ανεπάρκεια συνδέεται στενά με τη μείωση της μυϊκής δύναμης και κάποιοι υποστηρίζουν ότι είναι ένας αιτιολογικός παράγοντας για τη σαρκοπενία που σχετίζεται με την ηλικία ¹⁹³. Η διαδικασία της μιτοφαγίας παρατηρήθηκε για πρώτη φορά με ηλεκτρονική μικροσκοπία, σε κύτταρα θηλαστικών, όπου παρουσιάστηκε αύξηση της μιτοχονδριακής δέσμευσης σε λυσοσώματα μετά από διέγερση του καταβολισμού ηπατοκυττάρων ¹⁹⁴.

Βασικός ρυθμιστικός παράγοντας της μιτοφαγίας είναι η πρωτεϊνική κινάση (PINK1) και η E3-λιγάση ουβικιτίνης parkin. Η πρώτη διαθέτει περιοχή εντοπισμού στα μιτοχόνδρια (MTS), διαμεμβρανική περιοχή και δραστική περιοχή κινάσης. Όταν η PINK1 εισάγεται σε φυσιολογικά μιτοχόνδρια, ανοικοδομείται κάτω από τη δράση πρωτεασών της μήτρας και της εσωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων. Σε βλάβη των μιτοχονδρίων, όπου εμφανίζεται παρατεταμένη εκπόλωση της εσωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου (IMM), η PINK1 συσσωρεύεται στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη σχηματίζοντας ένα σύμπλοκο 850kDa, το οποίο μπορεί να αυτοφωσφορυλιωθεί και με τη σειρά του να φωσφορυλιώσει την parkin διευκολύνοντας την πρόσδεση και τη δράση της ¹⁹⁵. Ένας γνωστός μηχανισμός είναι η συσσώρευση ουβικιτινιλιωμένων πρωτεϊνών στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη. Μόλις ενεργοποιηθεί η Parkin, ουβικιτινιλιώνει πολλαπλές πρωτεΐνες στη μιτοχονδριακή επιφάνεια, οι οποίες με τη σειρά τους ανιχνεύονται από πρωτεΐνες που δεσμεύουν την ουβικιτίνη όπως η οπτινουρίνη (OPTN), η p62, η NDP52, η πρωτεΐνη TAX1BP1 και η NRB1, που αλληλεπιδρούν με την πρωτεΐνη των μικροσωληνίσκων και σχηματίζουν αυτοφαγοσώματα ¹⁹⁶. Είναι πιθανό να υπάρχουν ξεχωριστά προγράμματα για βασική μιτοφαγία και μιτοφαγία που προκαλείται από στρες ¹⁹⁷. Οι προχμιπτινίνες έχουν συσχετιστεί με ένα ευρύ φάσμα ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία, εν μέρει λόγω της ικανότητάς τους να ρυθμίζουν τα επίπεδα των μιτοχονδριακών ROS ¹⁷⁹.

Εκτός από αυτήν την κλασική οδό μιτοφαγίας, έχουν εντοπιστεί αρκετοί άλλοι υποδοχείς για μιτοφαγία ανεξάρτητοι από PINK1/Parkin, όπως τα FUNDC1, AMBRA1 και BNIP3. Έχει βρεθεί ότι το AMBRA1 εξυπηρετεί στην απομάκρυνση των κατεστραμμένων μιτοχονδρίων οδηγώντας τα, σε αυτοφαγοσώματα μέσω της αλληλεπίδρασής του με το LC3 ¹⁹⁸.

Υπάρχουν ενδείξεις ότι το επίπεδο μιτοφαγίας μειώνεται σημαντικά στους ιστούς των θηλαστικών κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής γήρανσης¹⁹⁹. Είναι δελεαστικό να υποθέσουμε ότι αυτή η μείωση παρέχει μια εξήγηση για τη λειτουργική φθορά και το αυξημένο οξειδωτικό στρες που παρατηρείται συνήθως σε γηρασμένους ιστούς και όργανα. Η μείωση της μιτοφαγίας, μπορεί να ανατροφοδοτήσει τον φαύλο κύκλο της προκαλούμενης από το οξειδωτικό στρες, ηλικιο-εξαρτώμενης βλάβης ιστών.

Στα θηλαστικά, οι στρατηγικές που επεκτείνουν την επιβίωση, όπως ο περιορισμός των θερμίδων στα τρωκτικά, φαίνεται να συμβάλουν στη διατήρηση της μιτοχονδριακής μορφολογίας²⁰⁰. Φυσικές ενώσεις όπως η σπερμιδίνη, φαίνεται να αυξάνουν την αυτοφαγία και τη μιτοφαγία, με αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας ζωής και την προστασία από ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία²⁰¹. Ομοίως, η ουρολιθίνη Α, διεγείρει τη μιτοφαγία και φαίνεται να παρατείνει τη διάρκεια ζωής των σκουληκιών και να βελτιώνει τη μυϊκή λειτουργία σε ηλικιωμένα ποντίκια²⁰².

Τέλος, η υποξία²⁰³ έχει χαρακτηριστεί ως διεγέρτης της μιτοφαγίας, καθώς επίσης και ενώσεις όπως η ακτινονίνη²⁰⁴, οι ενισχυτές NAD+²⁰⁵, η τρεχαλόζη²⁰⁶, η ρεσβερατρόλη²⁰⁷, το βηξαροτένιο²⁰⁸, η β-ασαρόνη²⁰⁹, η μελατονίνη²¹⁰, το UMI-77²¹¹, η καμπερόλη, η ραποντιγενίνη²¹² και η μετορμίνη²¹³.

Στοχευμένες, και πιθανώς πιο αποτελεσματικές, προσεγγίσεις για τη διέγερση της μιτοφαγίας μπορεί να έχουν ευρέως ευεργετικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση της λειτουργικής φθοράς που επέρχεται με την ηλικία.

Συμπερασματικά ο ρόλος των μιτοχονδρίων στη φλεγμονή, η απορρύθμιση του ποιοτικού ελέγχου των μιτοχονδρίων και η σχετιζόμενη με την ηλικία μιτοχονδριακή δυσλειτουργία καθώς και η διαδικασία της ανάδρομης σηματοδότησης (από το μιτοχόνδριο στον πυρήνα) μπορεί να συμβάλλουν στη γήρανση²¹⁴.

Καθώς οι γνώσεις μας για τα μιτοχόνδρια έχουν επεκταθεί, η συσχέτιση της μιτοχονδριακής λειτουργίας με τη γήρανση έχει εμπλουτιστεί. Υπάρχει επίσης σχέση μεταξύ της αλλοιωμένης μιτοχονδριακής δυναμικής και της βιογένεσης, σε καταστάσεις που σχετίζονται με την ηλικία και ένας αναδυόμενος ρόλος για τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία στη ρύθμιση της γήρανσης^{61 215 216}. Ωστόσο, παραμένουν σημαντικά κενά στη γνώση μας.

Για παράδειγμα, ενώ το ελεύθερο mtDNA μπορεί να προκαλέσει μια μη ειδική ανοσολογική απόκριση, δεν είναι σαφές πόσο αυτό το φαινόμενο συμβάλλει στη φλεγμονώδη ενεργοποίηση και ποιος ακριβώς είναι ο μηχανισμός με τον οποίο η τελευταία επηρεάζει τη γήρανση.

Τέλος, η απόκριση UPRmt των θηλαστικών παραμένει ελάχιστα κατανοητή και οι επιπτώσεις της σε μεγάλο βαθμό ανεξερεύνητες. Υπάρχει δε η υποψία ότι η σχέση μεταξύ μιτοχονδρίων - μεταβολισμού - γήρανσης μπορεί να εξαρτάται από το είδος. Για παράδειγμα, οι χαρακτηριστικές διαφορές που εμφανίζονται στη διάρκεια ζωής των τρωκτικών κατά τον θερμιδικό περιορισμό μπορεί να μην είναι τόσο εμφανείς σε μακρόβια είδη (π.χ. ανθρώπους) στα οποία η αποθήκευση ενέργειας, η διάρκεια και το ενεργειακό κόστος της αναπαραγωγής διαφέρουν.

Η διαταραχή της μιτοχονδριακής λειτουργίας έχει ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση καταρρακτών σηματοδότησης, ως απάντηση στην προσπάθεια του κυττάρου να αντισταθμίσει το πρόβλημα των διαταραγμένων μιτοχονδρίων, ένα φαινόμενο που αναφέρεται ως ανάδρομη ή σηματοδότηση μιτοχονδριακού στρες²¹⁷. Τα τελευταία χρόνια, πολλές μελέτες επικεντρώνονται στον χαρακτηρισμό κυτταροπροστατευτικών μοριακών μηχανισμών προσαρμογής σε χαμηλά επίπεδα στρες, όπως στο οξειδωτικό στρες στο μιτοχόνδριο, γνωστή ως mitohormesis ²¹⁸ και πώς παρεμβαίνουν σε διάφορες μεταβολικές διαταραχές και τελικά στη γήρανση ²¹⁹. Ένα ήπιο μιτοχονδριακό στρες μπορεί να είναι ευεργετικό, αλλά είναι δύσκολο να καθοριστεί με σαφήνεια το όριο μεταξύ της θεραπευτικής mitohormesis και της βιοενεργειακής κατάρρευσης.

3. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ

Το προσδόκιμο ζωής, καθορίζεται εν μέρει από το γονιδίωμα του οργανισμού, καθώς μεταλλάξεις σε μεμονωμένα γονίδια επηρεάζουν τη διαδικασία της γήρανσης, ειδικά εάν πρόκειται για γονίδια που ελέγχουν μηχανισμούς επιδιόρθωσης DNA ή το μήκος των τελομερών. Δεν μπορούν ωστόσο όλα τα γεγονότα που παρατηρούνται στη γήρανση να εξηγηθούν μονάχα από τις πληροφορίες που μεταφέρει η αλληλουχία DNA. Η έκφραση των γονιδίων μπορεί να επηρεαστεί και από επιγενετικούς μηχανισμούς, αν και χωρίς άμεσες αλλαγές στο DNA, και για το λόγο αυτό η επιγενετική μπορεί να παρέχει μια επιπλέον μοριακή εξήγηση στη διαδικασία της γήρανσης.

Ως επιγενετική ορίζεται η μελέτη σταθερών γενετικών τροποποιήσεων που οδηγούν σε αλλαγές στην έκφραση και τη λειτουργία των γονιδίων χωρίς αντίστοιχη αλλαγή στην αλληλουχία του DNA ²²⁰ και ευθύνεται για τις αναστρέψιμες κληρονομήσιμες αλλαγές στη λειτουργία των γονιδίων.

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί λειτουργούν ως οι μοριακοί διακόπτες που ενεργοποιούν ή απενεργοποιούν γονίδια σε συγκεκριμένους ιστούς και το επιγονιδίωμα αποτελεί το σύνολο των πρωτεϊνών που ρυθμίζουν τη γονιδιακή έκφραση ²²¹.

Οι βασικότερες επιγενετικές τροποποιήσεις περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών και τα μη κωδικοποιά RNA, και σχετίζονται με την έκφραση γονιδίων και τη δομή της χρωματίνης ²²².

3.1 ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ DNA

Η μεθυλίωση της κυτοσίνης είναι ένας επιγενετικός μηχανισμός που βασικό στόχο έχει τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης.

Ενώ παρατηρήθηκε πρώτη φορά το 1948, σχεδόν συγχρόνως με την ανακάλυψη της δομής του DNA, μόλις στη δεκαετία του 1980 άρχισε να γίνεται φανερός ο ρόλος της. Η μεθυλίωση της κυτοσίνης στα κύτταρα θηλαστικών, εμφανίζεται κυρίως στα δινουκλεοτίδια CpG. Καταλύεται από μια οικογένεια ένζυμων, τις DNA μεθυλοτρανσφεράσες (Dmnts), που μεταφέρουν μια μεθυλομάδα από την S-αδενυλ-μεθειονίνη (SAM), στον πέμπτο άνθρακα της κυτοσίνης (C) που βρίσκεται 5' μιας γουανίνης (G), προς το σχηματισμό 5μεθυλο-κυτοσίνης (5mC) ²²³. Είναι σημαντικό, να διατηρείται το μοτίβο των τροποποιημένων κυτοσινών, στο νεοσυντιθέμενο κλώνο κατά την αντιγραφή του DNA, και γι' αυτό η δράση των μεθυλοτρανσφερασών εξυπηρετεί αφενός την απαιτούμενη διατήρηση του προτύπου

μεθυλίωσης του DNA κατά την αντιγραφή και αφετέρου την δυναμική *de novo* μεθυλίωση περιοχών, με στόχο την κυτταρική διαφοροποίηση και ανάπτυξη του οργανισμού.

Οι μεθυλιωμένες κυτοσίνες εντοπίζονται, σχεδόν εξ ολοκλήρου, στα δινουκλεοτίδια CpG (το 70%-80% αυτών των γονιδιωματικών περιοχών των θηλαστικών, μεθυλιώνεται) ²²⁴. Υψηλά επίπεδα μεθυλίωσης εντοπίζονται επίσης σε δορυφορικά DNA, επαναλαμβανόμενα στοιχεία, μη επαναλαμβανόμενο διαγονιδιακό DNA και εξόνια γονιδίων.

Συγκεκριμένες περιοχές στο γονιδίωμα, μήκους περίπου 1000 ζευγών βάσεων, γνωστές ως νησίδες CpG, εμφανίζουν υψηλότερη πυκνότητα σε επαναλήψεις CpG. Περίπου το 70% των υποκινητών, με έμφαση εκείνους που ρυθμίζουν την μεταγραφή συντηρημένων γονιδίων, βρίσκονται σε περιοχές νησίδων CpG, γεγονός που φανερώνει την λειτουργική σημασία των περιοχών αυτών ²²⁵. Δεδομένου ότι οι θέσεις πρόσδεσης πολλών μεταγραφικών παραγόντων είναι πλούσιες σε CG επαναλήψεις, είναι πιθανό η παρουσία μη-μεθυλιωμένων νησίδων CpG να ευνοεί τη δέσμευση τους στον υποκινητή, επάγοντας έτσι την έναρξη μεταγραφής συγκεκριμένων γονιδίων. Οι κυτοσίνες των περιοχών αυτών είναι κατά κανόνα μη-μεθυλιωμένες στη βλαστική σειρά και στους περισσότερους σωματικούς ιστούς. Είναι φανερό επομένως, ότι η μεθυλίωση των νησίδων CpG θα οδηγούσε σε σταθερή σίγηση της γονιδιακής έκφρασης και αναστολή έκφρασης της γενετικής πληροφορίας ²²⁶. Αυτό ακριβώς συμβαίνει στην περίπτωση αδρανοποίησης του χρωμοσώματος X, στα κύτταρα του πλακούντα, όπου οι νησίδες CpG μεθυλιώνονται *de novo*, οδηγώντας στην επιθυμητή σίγηση των γονιδίων στο απενεργοποιημένο χρωμόσωμα για αντιστάθμιση δόσης (Brockdorff & Turner, 2014). Εκτός από την απενεργοποίηση του χρωμοσώματος X, η μεθυλίωση του DNA παίζει καθοριστικό ρόλο στην καταστολή στοιχείων ρετροτρανσποζονίου, στη γονιδιωματική αποτύπωση ²²⁴ αλλά και στην φυσιολογική ανάπτυξη ^{221 227}.

Γονιδιωματική αποτύπωση είναι το φαινόμενο κατά το οποίο η έκφραση των δύο αλληλομόρφων ενός γονιδίου καθορίζεται από το φύλο του γονέα από το οποίο προέρχεται.

Η μεθυλίωση DNA κατά μήκος του γονιδιώματος εξασφαλίζει χρωμοσωμική σταθερότητα, αποφυγή χρωμοσωμικών μεταθέσεων και καταστολή της κινητικότητας μεταθετών στοιχείων (ακολουθίες DNA που μετακινούνται σε διαφορετικές θέσεις μέσα στο γονιδίωμα προκαλώντας μεταλλάξεις).

Αν και ο κανόνας είναι η μεθυλίωση του DNA να αφορά τις κυτοσίνες που προηγούνται γουανίνης, είναι πλέον γνωστό ότι συμβαίνει και σε CpA, CpT και CpC και μάλιστα με συχνότητες μεθυλίωσης, ανάλογες της παραπάνω σειράς αναφοράς ²²⁸. Ωστόσο, στις παραπάνω περιπτώσεις μεθυλίωσης, μετά την αντιγραφή, η αρχική μεθυλίωση θα υπάρχει

μόνο στον ένα κλώνο DNA για τις αντίστοιχες θέσεις, σε αντίθεση με τα παλίνδρομα δινουκλεοτίδια CpG, τα οποία επειδή είναι συμμετρικά (CpG:GpC), οδηγούν σε μεθυλίωση κυτοσίνης και στους δύο κλώνους των θυγατρικών μορίων DNA ²²⁹.

Η μεθυλίωση μη- CpG κυτοσινών, αν και θεωρείται από κάποιους ως αποτέλεσμα της υπερδραστηριότητας της *de novo* μεθυλίωσης, φαίνεται να έχει συγκεκριμένο ρυθμιστικό ρόλο στην έκφραση γονιδίων και στην εξειδίκευση κυττάρων και ιστών ²³⁰.

Η μεθυλίωση του DNA είναι ένας μηχανισμός συντηρημένος, καλά καθορισμένος και εξαιρετικά ιστο-ειδικός, που πραγματοποιείται από μια οικογένεια ενζύμων που ονομάζονται μεθυλοτρανσφεράσες (Dnmts) και διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- η Dnmt1, που μεθυλιώνει ημιμεθυλιωμένο DNA και
- οι Dnmt3a και Dnmt3b, που δρουν σε μη-μεθυλιωμένες περιοχές ²³¹.

Η Dnmt1, καλείται μεθυλοτρανσφεράση συντήρησης και ο βασικός της ρόλος είναι η διατήρηση του αρχικού προτύπου μεθυλίωσης κατά την αντιγραφή του DNA. Συγκεκριμένα συνδέεται με τον νεοσυντιθέμενο κλώνο, στην διχάλα αντιγραφής και τον μεθυλιώνει, για να μιμηθεί ακριβώς το πρότυπο μεθυλίωσης που υπάρχει στο πατρικό κύτταρο ²³². Επιπλέον, ο Dnmt1 έχει την ικανότητα να επιδιορθώνει τη μεθυλίωση σε θέσεις βλάβης του DNA ²³³.

Οι Dnmt3a και Dnmt3b, αντιθέτως, χαρακτηρίζονται ως *de novo* μεθυλοτρανσφεράσες, εισάγουν μεθυλίωση σε γυμνό DNA και αν και διαθέτουν παρόμοια δομή και λειτουργία έχουν διαφορετικό μοντέλο έκφρασης. Ενώ η Dnmt3a εκφράζεται σχεδόν σε όλα τα κύτταρα, η Dnmt3b, με λίγες εξαιρέσεις, δεν εκφράζεται στους διαφοροποιημένους ιστούς- παρά μόνο στον θυρεοειδή, τον μυελό των οστών και τους όρχεις- και φαίνεται ότι απαιτείται κυρίως κατά την πρόιμη ανάπτυξη ²³⁴.

Τέλος, έχουν εντοπιστεί και οι μεθυλοτρανσφεράσες Dnmt2 με περιορισμένη δραστηριότητα ²³⁵ και Dnmt3L – που όπως και η Dnmt3b ενεργοποιείται κυρίως στην πρόιμη ανάπτυξη- και η οποία αν και στερείται σαφούς καταλυτικού ρόλου, αλληλεπιδρώντας με τις Dnmt3a και Dnmt3b μπορεί να επάγει τη δραστηριότητα τους ²³⁶. Η μεθυλοτρανσφεράση Dnmt3L φαίνεται επίσης να έχει ρόλο στην γονιδιωματική αποτύπωση, στην συμπύκνωση του χρωμοσώματος X και στην μεθυλίωση ρετροτρανσποζόντων ²³⁷.

Εξίσου σημαντική με τη μεθυλίωση είναι και η απομεθυλίωση του DNA και είναι προφανές ότι η εναλλαγή διαστημάτων μεθυλίωσης και απομεθυλίωσης ελέγχει και καθορίζει την κυτταρική λειτουργία ²³⁸. Υπάρχουν ενδείξεις ότι η απομεθυλίωση επιτυγχάνεται μέσω πολλαπλών μηχανισμών αν και ακόμη δεν έχει αποσαφηνιστεί επαρκώς το πως.

Η απομεθυλίωση του DNA μπορεί είτε να συμβεί παθητικά κατά την κυτταρική διαίρεση είτε κάτω από τον αυστηρό έλεγχο μηχανισμού αντικατάστασης της μεθυλιωμένης κυτοσίνης από μια μη τροποποιημένη C²³⁹.

Κατά την παθητική απομεθυλίωση, παρεμποδίζεται ή αναστέλλεται η λειτουργία του Dnmt1 στα διαιρούμενα κύτταρα, με συνέπεια τη σταδιακή μείωση του συνολικού επίπεδου μεθυλίωσης σε κάθε διαίρεση.

Η ενεργή απομεθυλίωση εκτιμάται πως δεν είναι απλά μια διαδικασία ενός μόνο σταδίου αλλά πραγματοποιείται μέσω μιας σειράς χημικών αντιδράσεων, στα θηλαστικά²⁴⁰. Σε αντίθεση με τα φυτά, που υπάρχει η DNA γλυκοσυλάση DME/ROS1 για την απευθείας απομάκρυνση της μεθυλιωμένης κυτοσίνης, στα κύτταρα θηλαστικών θα πρέπει να προηγηθεί τροποποίηση της 5mC είτε με οξείδωση είτε με απαμίνωση προκειμένου να ενεργοποιηθεί ο μηχανισμός επιδιόρθωσης μέσω εκτομής βάσεων (BER) για την αντικατάσταση της²⁴¹.

Οι 5 mC μπορούν να τροποποιηθούν χημικά σε δύο θέσεις, την ομάδα αμίνης και την ομάδα μεθυλίου. Απαμίνωση της αμίνης σε καρβονυλομάδα μετατρέπει την μεθυλιωμένη κυτοσίνη σε θυμίνη, δημιουργώντας έτσι μια αναντιστοιχία G/T που επάγει το μηχανισμό επιδιόρθωσης (BER).

Εναλλακτικά η απομεθυλίωση του DNA πραγματοποιείται από τα ένζυμα της οικογένειας TET (Tet1, Tet2 και Tet3) με την προσθήκη μιας υδροξυλομάδας στην ομάδα μεθυλίου της 5 mC προς το σχηματισμό 5 hmC (5-υδροξυμεθυλοκυτοσίνης)^{242 243} και στη συνέχεια αλληπάλληλες οξειδώσεις, από τα ένζυμα TET προς 5-φορμυλ-κυτοσίνη και τελικά 5-καρβοξυκυτοσίνη²⁴⁴, είτε απαμίνωση του 5hmC προς 5-υδροξυμεθυλουρακίλη²⁴⁵. Η σημασία του 5hmC για το κύτταρο, δεν περιορίζεται μόνο στο ρόλο του ως ενδιάμεσο μόριο στην απομεθυλίωση του DNA αλλά και ως παράγοντα ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης²⁴⁶.

Αξίζει να σημειωθεί ότι σχεδόν όλοι οι μηχανισμοί ενεργής απομεθυλίωσης, επιστρατεύουν τελικά το μηχανισμό επιδιόρθωσης μέσω εκτομής βάσεων που χρησιμοποιεί το ένζυμο DNA γλυκοζυλάση θυμίνης (TDG) για την αντικατάσταση του τροποποιημένου υπολείμματος (θυμίνη, 5-υδροξυμεθυλ-ουρακίλη, 5-φορμυλ-κυτοσίνη, και 5-καρβοξυ-κυτοσίνη) με μια απλή κυτοσίνη, και για αυτό το λόγο το TDG απαιτείται για τη φυσιολογική ανάπτυξη του οργανισμού²⁴⁷.

Τέλος, ένζυμα της οικογένειας GADD45 σχετίζονται με την απομεθυλίωση του DNA μέσω αλληλεπίδρασης τους με άλλες πρωτεΐνες που ως κύριο ρόλο έχουν την αποκατάσταση βάσεων ή την εκτομή νουκλεοτιδίων²⁴⁸. Ο κύριος ρόλος των ενζύμων αυτών είναι η απομεθυλίωση περιοχών του DNA για την ενεργοποίηση της μεταγραφής γονιδίων που εμπλέκονται κυρίως

στην διαφοροποίηση βλαστοκυττάρων. Απουσία των GADDA45A και το GADDA45B από τα κύτταρα οδηγεί στην εξασθενημένη απομεθυλίωση του DNA²⁴⁹.

Υπάρχει μία άμεση συσχέτιση της μεθυλίωσης του DNA με την ηλικία. Αναλύοντας τα ολικά επίπεδα μεθυλίωσης αλλά και τη μεθυλίωση στοχευμένων γενετικών τόπων σε μονοζυγωτικά δίδυμα, διαπιστώθηκε ότι σε νεαρές ηλικίες αυτά είχαν δυσδιάκριτα μεθυλώματα, ενώ σε μεγαλύτερες παρουσίαζαν αξιοσημείωτα διαφορετικά μεθυλώματα²⁵⁰. Σε μια άλλη σχετική μελέτη σύγκρισης της μεθυλίωσης 27.578 CpG θέσεων στο γονιδίωμα μονοζυγωτικών διδύμων και απλών αδελφών (μη-διδύμων), αποκαλύφθηκαν 88 θέσεις εντός ή πλησίον 80 γονιδίων των οποίων η περιεκτικότητα σε 5mC άλλαζε σημαντικά με την ηλικία. Τις μεγαλύτερες διαφορές (υπομεθυλίωση) με την ηλικία παρουσίασε η μεθυλίωση των CpG στα γονίδια EDARADD, TOM1L1 και NPTX2²⁵¹, μεταλλάξεις των οποίων ενέχονται σε πολλές ανθρώπινες παθολογίες^{252 253 254}.

Επιπλέον ένας ικανός όγκος *in vitro* μελετών σε καλλιέργειες ινοβλαστών ανθρώπου, ποντικού και ινδικού χοιρίδιου ανέδειξαν αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των κυτταρικών διπλασιασμών και των ολικών επιπέδων μεθυλίωσης²⁵⁵. Ομοίως μελέτες σε ιστούς θηλαστικών (βοοειδή, τρωκτικά) ανέδειξαν υπομεθυλίωση πολλών ιστών με τη γήρανση^{256 257}. Αξιοσημείωτο είναι ότι μελέτη πυροαλληλούχισης σε 1.413 αυτοσωμικούς CpG τόπους, οι οποίοι σχετίζονται με 773 γονίδια, μεταξύ νεαρών και γηρασμένων ατόμων ανέδειξαν ότι μονήρη CpG (εκτός νησιδίων) παρουσίαζαν υπομεθυλίωση με τη γήρανση ενώ τα CpG εντός νησιδίων χαρακτηρίζονται από υπερμεθυλίωση με τη γήρανση²⁵⁸. Σε δείγματα DNA του περιφερικού αίματος από 318 ανθρώπους μέσης και προχωρημένης ηλικίας (55 - 92 ετών) που αναλύθηκαν, εμφανίστηκε συσχέτιση μεταξύ της συνολικής υπομεθυλίωσης και της τροποποίησης ή/και απώλειας φυσιολογικής λειτουργίας. Πολυετής παρακολούθηση του δείγματος (για 7 έτη) αποκάλυψε ότι η μείωση των συνολικών επιπέδων μεθυλίωσης του γονιδιώματος επιδεινώθηκε με τον χρόνο²⁵⁹. Οι ίδιοι ερευνητές σε συνέχεια της ερευνητικής τους προσπάθειας αξιολόγησαν τη μεθυλίωση του DNA σε δύο από τα πιο χαρακτηρισμένα μεταθετά στοιχεία, το Alu και το LINE-1. Σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκε DNA αίματος από τα ίδια ηλικιωμένα άτομα της προηγούμενης μελέτης και τα οποία είχαν αξιολογηθεί επανειλημμένα κατά τη διάρκεια των 7 ετών. Οι ερευνητές βρήκαν μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της μεθυλίωσης των Alu και LINE-1 και της γήρανσης. Δεδομένου του ρόλου αυτών των δύο μεταθετών στοιχείων στη συσχετιζόμενη με το γήρας αστάθεια του DNA, προτάθηκε ότι η παρατηρούμενη υπομεθυλίωση των Alu και LINE1 μεταθετών στοιχείων ενδέχεται να είναι ένας γενικός επιγενετικός μηχανισμός γήρανσης. Σε αντιδιαστολή με όλες τις ανωτέρω

μελέτες που υποδεικνύουν υπομεθυλίωση του γονιδιώματος γενικά και ειδικά με τη γήρανση μία μελέτη παρουσιάζει ότι στα κύτταρα του αίματος ηλικιωμένων ατόμων, επικρατεί μια κατάσταση υπερμεθυλίωσης γονιδιώματος ²⁶⁰, η οποία είναι ανεξάρτητη της αλλαγής (αύξης) του λόγου των κοκκιοκυττάρων προς τα λεμφοκύτταρα που παρατηρείται επίσης με την αύξηση της ηλικίας. Ωστόσο, βρέθηκε πως η μοναδική αυτή υπερμεθυλίωση κατά την γήρανση στον συγκεκριμένο μάλιστα ιστό δεν έχει επίδραση στη *cis* γονιδιακή έκφραση των λευκοκυττάρων του αίματος αλλά περισσότερο σταθεροποιεί προϋπάρχοντα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης.

3.2. ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ

Στο ευκαρυωτικό κύτταρο, το πυρηνικό DNA είναι καλά οργανωμένο σε ινίδια χρωματίνης. Η βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης, ονομάζεται νουκλεόσωμα και αποτελείται από DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων γύρω από ένα οκταμερές πρωτεϊνικών μορίων ιστόνης. Κάθε οκταμερές ιστονών αποτελείται από τις κεντρικές ιστόνες (H2A, H2B, H3 και H4), ενώ υπάρχει και η συνδετική ιστόνη H1, που δεν ανήκει στον πυρήνα του νουκλεοσώματος, αλλά δεσμεύεται στο συνδετικό DNA. Οι ιστόνες αποτελούνται σε ποσοστό >20% από αμινοξέα θετικά φορτισμένα (αργινίνη, λυσίνη) προκειμένου να εξυπηρετείται, η συνθήκη στενής και σταθερής πρόσδεσης του αρνητικά φορτισμένου DNA πάνω στις πρωτεΐνες, στο νουκλεόσωμα.

Η πορεία της γονιδιακής έκφρασης καθορίζεται από τη δομή της χρωματίνης που ουσιαστικά καθορίζει την ικανότητα αλληλεπίδρασης μεταξύ DNA και μεταγραφικών παραγόντων ²⁶¹. Στο νουκλεόσωμα, οι αμινοτελικές ουρές των ιστονών, πλούσιες σε υπολείμματα αργινίνης και λυσίνης, είναι εκτεθειμένες σε ομοιοπολικές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις. Η μεταμεταφραστική τροποποίηση της ιστόνης και η επακόλουθη ενεργοποίηση ή καταστολή της γονιδιακής μεταγραφής εξαρτάται από τον τύπο της ιστόνης, το υπόλειμμα του αμινοξέος και τη χημική λειτουργική ομάδα (τη μεθυλομάδα (μεθυλίωση), την ακετυλομάδα (ακετυλίωση), τη φωσφορική ομάδα (φωσφορυλίωση), την ουβικιτίνη (ουβικιτινυλίωση), την πρωτεΐνη SUMO (σουμυλίωση), τα υδρόφοβα ισοπρενικά πολυμερή (ισοπρενυλίωση) ²⁶². Παράλληλα, σημαντικό ρόλο έχει ο βαθμός τροποποίησης (π.χ μονο-, δι- και τρι-μεθυλίωση), οι θέσεις εντοπισμού (γονιδιακό σώμα, υποκινητής και νησίδες CpG) και το πρότυπο τροποποίησης ²⁶³. Τέλος, κάποιες τροποποιήσεις ιστόνης, διαφορετικών τύπων, μπορούν να αλληλεπιδρούν. Για παράδειγμα, η φωσφορυλίωση της σερίνης 10 στην ιστόνη H3 (H3S10PH) αναστέλλει την τριμεθυλίωση της λυσίνης 9 στην ιστόνη H3 (H3K9me3) ²⁶⁴ και επάγει την ακετυλίωση της λυσίνης 16 στην ιστόνη H4 (H4K16AK) ²⁶⁵. Η ενεργοποίηση ή η

αδρανοποίηση των τροποποιήσεων, μεταβάλλει το πρόγραμμα γονιδιακής έκφρασης και μπορεί να οδηγήσει σε μεταγραφικά προβλήματα και παθολογικούς φαινοτύπους. Έτσι, σχεδόν οποιαδήποτε μετάλλαξη σε γονίδια που εμπλέκονται σε τροποποιήσεις ιστόνης μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων καρκίνων, αυτοάνοσων και νευροεκφυλιστικών διαταραχών ²⁶⁶.

3.2.1. Μεθυλίωση

Σε αντίθεση με τη μεθυλίωση του DNA, η οποία σχετίζεται με την καταστολή της μεταγραφής, η μεθυλίωση ιστόνης μπορεί είτε να καταστείλει είτε να ενεργοποιήσει την έκφραση ενός γονιδίου. Αυτό, όπως έχει προαναφερθεί, εξαρτάται από το κατάλοιπο που μεθυλιώνεται [λυσίνης (K) ή αργινίνης (R)], την περιοχή (H3 και H4) και το βαθμό τροποποίησης (προσθήκη είτε μίας (me1), δύο (me2) ή τριών (me3) μεθυλομάδων) ²⁶⁷. Έτσι, μεθυλίωσεις τύπου H3K4me1, H3K4me2, H3K36me2, H3K4me3 και H3K36me3, δρουν και χαρακτηρίζονται ως σήματα ενεργοποίησης, ενώ τροποποιήσεις όπως οι H3K9me3, H4K20me3 και H3K27me3 θεωρούνται κατασταλτικές ²⁶⁸.

Η μεθυλίωση ιστόνης είναι άμεσα συνδεδεμένη με τη μεταγραφική ρύθμιση, καθώς επηρεάζει την αρχιτεκτονική της χρωματίνης, την πρόσδεση μεταγραφικών παραγόντων, τη διαδικασία έναρξης, επιμήκυνσης και επεξεργασίας του RNA ²⁶³. Πραγματοποιείται στα υπολείμματα λυσίνης και αργινίνης, με μεγαλύτερη συχνότητα στην ιστόνη H3 και δευτερευόντως στην H4 ²⁶⁹.

Η λυσίνη μπορεί να μονο-, δι- ή τριμεθυλιωθεί – με κάθε της μορφή να έχει διαφορετικό αντίκτυπο στη μεταγραφική ρύθμιση- και η παραπάνω διαδικασία καταλύεται από έξι διαφορετικές οικογένειες συμπλοκών μεθυλτρανσφεράσης λυσίνης ιστόνης (KMT1-6) ²⁷⁰.

- Η οικογένεια KMT1, περιλαμβάνει τα SUV39H1/2, G9a, GLP και SETDB1, που μεθυλιώνουν την λυσίνη στη θέση 9 της H3 (H3K9) και έχει κατασταλτικό ρόλο στην μεταγραφή ²⁶⁴.
- Η οικογένεια KMT2 περιλαμβάνει ένζυμα που εντοπίζονται μέσα στο μακρομοριακό σύμπλεγμα Set1 (COMPASS), έχουν δυνατότητα μονο-, δι- ή τριμεθυλίωσης της λυσίνης στη θέση 4 της H3 (H3K4) και έχει ενεργοποιητικό ρόλο στην μεταγραφή ²⁷¹.
- Η οικογένεια KMT3 περιλαμβάνει τα NSD1, NSD2 (WHSC1) και NSD3 (WHSC1L1), κυρίως μεθυλιώνει το λυσίνη στη θέση 36 της H3 (H3K36) και έχει ενεργοποιητικό ρόλο ²⁶⁵.
- Η οικογένεια KMT4 περιλαμβάνει μόνο το DOT1L, που μεθυλιώνει τη λυσίνη στη θέση 79 της H3 (H3K79) και έχει ενεργοποιητικό ρόλο ²⁷².

- Η οικογένεια KMT5 περιλαμβάνει τα PR-Set7 και SUV4-20H1/2. Το PR-Set7 μονομεθυλιώνει την λυσίνη 20 της H4 (H4K20), ενώ το SUV4-20H1/2 μπορεί να δι-/τριμεθυλιώσει την ίδια θέση και έχει κατασταλτικό ρόλο ²⁷³.
- Η οικογένεια KMT6 περιλαμβάνει τα EZH1 και EZH2 για μονο-, δι- και τριμεθυλίωση της λυσίνης 27 στην H3 (H3K27) και έχει κατασταλτικό ρόλο ²⁶¹.

Τέλος είναι πιθανό να συνεντοπιστούν επιγενετικοί ρυθμιστές καταστολής και ενεργοποίησης στην ίδια περιοχή σχηματίζοντας «δισθενείς τομείς», όπως για παράδειγμα η συνύπαρξη και αλληλεπίδραση μεγάλων περιοχών μεθυλίωσης H3K27 που φιλοξενούν μικρότερες περιοχές σημαδιών μεθυλίωσης H3K4. Οι τομείς αυτοί εντοπίζονται συνήθως σε υποκινητές γονιδίων που εκφράζονται σε χαμηλά επίπεδα και πιστεύεται ότι είναι σημαντικοί κατά την αναπτυξιακή ρύθμιση σε πολυδύναμα εμβρυικά βλαστοκύτταρα, στη γονιδιακή αποτύπωση και στον καρκίνο ²⁷⁴.

Η μεθυλίωση-απομεθυλίωση ιστόνης είναι μια δυναμική διαδικασία με βασικό ρόλο στην ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση των κυττάρων ^{275 276}.

Η απομεθυλίωση της λυσίνης καταλύεται από έξι οικογένειες απομεθυλασών ιστόνης λυσίνης (KDM1-6). Το σύνολο των KDMs, με μόνη εξαίρεση τα μέλη της οικογένειας KDM1, περιλαμβάνουν την περιοχή Jumonji (JmjC) που έχει τη δυνατότητα να αφαιρεί το σημάδι τριμεθυλίου ²⁷⁷.

Τα υπολείμματα αργινίνης μπορούν να μονο- ή δι-μεθυλωθούν από τις μεθυλτρανσφεράσες αργινίνης (PRMTs). Η οικογένεια των PRMTs περιλαμβάνει τα PRMT1, CARM5, MTPR1 ²⁷⁸. Η απομεθυλίωση αργινίνης μπορεί να συμβεί μέσω της μετατροπής της, σε κιτρουλίνη από το PADI4 ²⁷⁹.

Παρά την τεράστια πρόοδο που έχει πραγματοποιηθεί στην ανακάλυψη των οικογενειών των μεθυλοτρανσφερασών ιστόνης, υπάρχουν ακόμη πολλά που πρέπει διευκρινιστούν για το βιολογικό ρόλο των απομεθυλασών στα διαφορετικά αναπτυξιακά στάδια και σε ασθένειες. Έχει παρατηρηθεί ότι απώλεια ορισμένων μεθυλοτρανσφερασών και απομεθυλασών ιστονών στα ασπόνδυλα και αλλαγές επιπέδων μεθυλίωσης των ιστονών σε ηλικιωμένους οργανισμούς ρυθμίζουν τη διάρκεια ζωής και τους φαινοτύπους γήρανσης όπως για παράδειγμα η σηματοδότηση από την ινσουλίνη στο *Caenorhabditis elegans* αλλά και στα θηλαστικά ²⁸⁰. Σε όλες τις περιπτώσεις όπου η μεθυλίωση ιστονών έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τη γήρανση και τους φαινοτύπους της γήρανσης, το κάνει συμβάλλοντας είτε στη μεταγραφική ενεργοποίηση είτε στη μεταγραφική καταστολή, ανάλογα με την ιστόνη, το τροποποιημένο υπόλειμμα και το επίπεδο μεθυλίωσης. Ένας μεγάλος αριθμός μελετών υποδεικνύει ότι η

μεθυλίωση των ιστονών αλλάζει κατά τη γήρανση συμβάλλοντας σε μια διαφορετική εικόνα ετεροχρωματίνης του γηρασμένου κυττάρου που χαρακτηρίζεται από απώλεια της εσωτερικής δομής των ετεροχρωματικών περιοχών του γονιδιώματος και συνοδεύεται από χωρική ομαδοποίηση των ετεροχρωματικών περιοχών²⁸¹.

3.2.2 Ακετυλίωση

Η ακετυλίωση είναι μια αντιστρεπτή, μετα-μεταφραστική τροποποίηση που αφορά ένα ευρύ φάσμα πρωτεϊνών. Το 80-90% των ανθρώπινων πρωτεϊνών μπορούν να ακετυλωθούν στο αμινοτελικό τους άκρο ²⁸².

Η προσθήκη ακετυλομάδας μπορεί να συμβεί σε πολλαπλά υπολείμματα λυσίνης στις ουρές ιστόνης, επηρεάζοντας τη συμπίκνωση της χρωματίνης καθώς η πρόσδεση του ακετυλίου εξουδετερώνει το βασικό ιστονικό φορτίο ²⁷⁶, αποδυναμώνοντας την αλληλεπίδραση αρνητικά φορτισμένου DNA - ιστονών. Άλλη λειτουργία της ακετυλίωσης ιστόνης είναι η ρύθμιση του ενδοκυτταρικού pH (pHi) ²⁸³. Ο βασικός λειτουργικός ρόλος της ακετυλίωσης ιστόνων σχετίζεται με την ενεργοποίηση της διαδικασίας της μεταγραφής ²⁸⁴.

Οι ακετυλοτρανσφεράσες λυσίνης (KATs), ευρύτερα γνωστές ως ακετυλοτρανσφεράσες ιστόνης (HATs), είναι υπεύθυνες για την ακετυλίωση υπολειμμάτων λυσίνης στις ιστόνες αλλά και σε μη-ιστόνες.

Οι HATs ανάλογα με τη δομική τους ομολογία κατατάσσονται σε τρεις μεγάλες οικογένειες:

- την οικογένεια N-ακετυλοτρανσφεράσης που σχετίζεται με Gcn5 (GNAT),
- την οικογένεια MYST (ακρωνύμιο για τα μέλη της : MOZ, Ybf2, Sas2, TIP60) και
- την οικογένεια ορφανών υποδοχέων (CBP/EP300 και πυρηνικοί υποδοχείς) ²⁸⁵.

Οι HATs χρησιμοποιούν ακέτυλο-CoA ως συμπράγοντα προκειμένου να καταλύουν τη μεταφορά ενός ακετυλίου στην ε-αμινομάδα των πλευρικών αλυσίδων λυσίνης. Κάθε υποοικογένεια HAT χρησιμοποιεί μια διαφορετική καταλυτική στρατηγική για τη μεταφορά ακετυλίου.

Η εξουδετέρωση του θετικού φορτίου της λυσίνης με ακετυλίωση, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, μπορεί να μειώσει την αλληλεπίδραση DNA – ιστονών, χαλαρώνοντας έτσι τη δομή της χρωματίνης και καθιστώντας το DNA πιο προσιτό στους μεταγραφικούς παράγοντες ²⁸⁶. Η ακετυλιωμένη ουρά ιστόνης μπορεί να αναγνωριστεί από διαφορετικούς πρωτεϊνικούς παράγοντες μέσω μιας επικράτειας bromo (bromodomain) που δεσμεύει ειδικά τις ακετυλιωμένες λυσίνες ²⁸⁷. Η ενεργοποίηση της γονιδιακής μεταγραφής τελικά, επάγεται από το συνδυασμό εξουδετέρωσης φορτίου και στρατολόγησης παραγόντων (π.χ. μεταγραφικοί παράγοντες, τροποποιητές χρωματίνης) που προκαλούνται από την ακετυλίωση.

Μελέτες σε όλο το γονιδίωμα έχουν δείξει ότι η ακετυλίωση λυσινών λαμβάνει χώρα στις ιστόνες H3 και στις H4 και σε ρυθμιστικές περιοχές ενεργών γονιδίων, όπως π.χ ενισχυτές, υποκινητές, θέσεις έναρξης μεταγραφής, με το πρότυπο ακετυλίωσης να συντηρείται από τη ζύμη μέχρι τον άνθρωπο ²⁸⁸.

Εκτός από τις ουρές η ακετυλίωση είναι δυνατή και εντός του πυρήνα ιστόνης όπως στην περίπτωση ακετυλίωσης της λυσίνης 56 της H3 (H3K56) που καταλύεται από την GCN5 στον άνθρωπο. Και στην περίπτωση της H3K56 η θέση ακετυλίωσης είναι στραμμένη προς την κύρια αύλακα DNA, με αποτέλεσμα και πάλι να επηρεαστεί η αλληλεπίδραση ιστόνης – DNA. Κάποιες ακετυλάσες ιστόνης δρουν ως υπομονάδες μεγαλύτερων πολυπρωτεϊνικών συμπλόκων ²⁸⁹.

Η διαδικασία της ακετυλίωσης είναι μία δυναμική κατάσταση που ρυθμίζεται εύκολα και γρήγορα με απακετυλίωση των αντίστοιχων περιοχών και η παρουσία τόσο των απακετυλασών όσο και των ακετυλασών στους υποκινητές των ενεργών γονιδίων είναι σημαντική για τη ρύθμιση της μεταγραφής ²⁹⁰.

Οι απακετυλάσες ιστονών (HDACs) καταλύουν την απομάκρυνση ακετυλίου από τη λυσίνη, γεγονός που αποκαθιστά και το θετικό φορτίο του αμινοξέος και δυνητικά σταθεροποιεί την αρχιτεκτονική της χρωματίνης στην περιοχή ενισχύοντας την υπόθεση ότι οι HDACs δρουν κυρίως ως μεταγραφικοί καταστολείς.

Στον άνθρωπο υπάρχουν 18 HDACs που ανήκουν σε τέσσερις τάξεις:

- τάξη I (scRpd3, HDAC1-3 και HDAC8)
- τάξη II (scHda1, HDAC4-7, HDAC9 και HDAC10)
- τάξη III/Σιρτουίνες (SIRT1-7) και
- τάξη IV (HDAC11). ²⁹¹

Με βάση τον καταλυτικό τους μηχανισμό, οι HDACs χωρίζονται σε:

- κανονικές απακετυλάσες (Τάξης I, II και IV), που είναι ένζυμα εξαρτώμενα από ιόντα ψευδαργύρου, και
- τις σιρτουίνες, που αποτελούν μια ανεξάρτητη κατηγορία απακετυλασών που χρησιμοποιούν το NAD⁺ ως συμπράγοντα.

Οι HDACs εμφανίζουν σχετικά χαμηλή εξειδίκευση υποστρώματος και ένα μόνο ένζυμο είναι ικανό για την αποακετυλίωση διαφορετικών θέσεων ²⁹¹.

Ο κατάλογος των γνωστών υποψηφίων-στόχων για απακετυλίωση περιλαμβάνει την α-τουμπουλίνη, την HSP90 και την κορτακτίνη (HDAC6), το p53 (HDAC5) και το ERRA (HDAC8). Η HDAC2 για παράδειγμα μπορεί να απακετυλιώσει άμεσα την p53 και τις

πρωτεΐνες CDKN1B/1C/2A, μειώνοντας την αποπτωτική ικανότητα του κυττάρου ή ρυθμίζοντας τον κυτταρικό κύκλο^{292 293}. Είναι επομένως, αρκετά περίπλοκο να αναλυθούν οι ακριβείς επιγενετικές επιδράσεις της απορρύθμισης της HDAC και ο μηχανισμός με τον οποίο οι αναστολείς τους, παρεμβαίνουν στη δραστηριότητά τους.

Οι HDAC III, οι Sirtuins (SIRT1-7), διακρίνονται από τις άλλες κατηγορίες απακετυλασών λόγω διαφορετικού καταλυτικού μηχανισμού δράσης²⁹¹. Οι SIRT1-3, 6, 7 απακετυλιώσουν ιστόνες, ενώ η SIRT4 καταλύει την ADP-ριβοςυλίωση και η SIRT5 την αποηλεκτρυλίωση πρωτεϊνών. Δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί εάν το SIRT1 επάγει ή καταστέλλει την κυτταρική έκφραση, υποδηλώνοντας ότι μπορεί να δρα συνδυαστικά²⁹⁴.

Έχει αποδειχθεί ότι για την ομαλή ρύθμιση και την φυσιολογική έκφραση των γονιδίων απαιτείται συνεργασία μεταξύ HAT και HDACs.²⁹⁰

Είναι προφανές ότι η εξασθένηση της ισορροπίας μεταξύ ακετυλίωσης και απακετυλίωσης μπορεί να επηρεάσει την έκφραση των γονιδίων. Τροποποίηση της θέσης δράσης των HDAC ή της δραστηριότητας των HAT (ή/και των HDAC) μπορεί να συνθέσουν ένα ανώμαλο προφίλ ακετυλίωσης και να μεταβάλλουν τον φυσιολογικό κυτταρικό κύκλο, να τροποποιήσουν τη διαφοροποίηση, να μπλοκάρουν την απόπτωση και να διευκολύνουν τον πολλαπλασιασμό. Έτσι, ανάλογα με τα γονίδια-στόχους, τόσο η υπερακετυλίωση όσο και η υποακετυλίωση μπορούν να συμβάλουν στην εμφάνιση παθολογικού φαινοτύπου. Στη γήρανση έχει παρατηρηθεί αλλαγή σε ένα μεγάλο αριθμό ακετυλοτρανσφερασών και αποακετυλασών στον άνθρωπο αλλά και σε πειραματικά μοντέλα²⁸¹, χωρίς να παρατηρείται ένα σταθερό μοτίβο αύξησης ή μείωσης της ακετυλίωσης ή της αποακετυλίωσης κατά τη γήρανση για όλους τους οργανισμούς ή τους ιστούς ενός οργανισμού. Αντιθέτως, ενώ αυτή η επιγενετική τροποποίηση είναι εμφανής κατά τη γήρανση είναι επίσης και εξειδικευμένη ειδικά για τα γονίδια που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο.

3.2.3 Ουβικιτινίωση

Τα τελευταία χρόνια, φάνηκε ότι οι ιστόνες υφίστανται πολλές τροποποιήσεις ουβικιτινίωσης, με το 5–15% της ιστόνης H2A να τροποποιείται σε H2AK118/119ub και 1% της ιστόνης H2B, σε H2BK120ub²⁹⁵.

Στα θηλαστικά η μονοουβικιτινίωση της ιστόνης H2B καταλύεται από τις λιγάσες ουβικιτίνης RNF20/RNF 40 και λαμβάνει χώρα στη λυσίνη 120. Το H2BK120ub που προκύπτει, σχετίζεται με την επιμήκυνση της μεταγραφής και τη διαδικασία επιδιόρθωσης δίκλωνων ρήξεων του DNA (DSB)²⁹⁶.

Ανάλογα τη θέση ουβικιτινίωσης, το φαινόμενο έχει συνδεθεί με πολλές φυσιολογικές διαδικασίες. Έτσι για παράδειγμα η H2AK118/119ub έχει κεντρικό ρόλο στη μεταγραφική σίγαση, η ουβικιτινίωση στις λυσίνες Lys125/127/129 της ιστόνης H2A επάγει την εκτομή του άκρου του DNA, ως μηχανισμός επιδιόρθωσης ομόλογου ανασυνδιασμού ²⁹⁷, οι H2AK13/15UB ρυθμίζουν τη σταθερότητα της διχάλας αντιγραφής ²⁹⁸.

Το σύμπλεγμα RNF8/UBC13 μπορεί να πολυ-ουβικιτινιώσει την ιστόνη H1 σε βλάβες του δίκλωνου DNA, ωστόσο παραμένει ασαφές εάν το RNF8 δρα άμεσα στις ιστόνες ή λειτουργεί κυρίως σε ουβικιτινιωμένα υποστρώματα Lys63 Ub ²⁹⁹.

Αξίζει να αναφερθεί ότι υπάρχει αλληλεπίδραση μεταξύ των τροποποιητικών επιγενετικών μηχανισμών. Η μονοουβικιτινίωση της ιστόνης H2B απαιτείται για την τριμεθυλίωση τόσο των H3K4 όσο και του H3K79 από τις μεθυλοτρανσφεράσες Compass και DOT1, αντίστοιχα. Ουβικιτινίωση της ιστόνης H3 στις θέσεις Lys14/18/23, καταλύεται από τη λιγάση E3 UHRF1 και στη συνέχεια αναγνωρίζεται από τη DNA μεθυλτρανσφεράση DNMT1. Η αλληλεπίδραση Ub-DNMT1 διεγείρει τη δραστηριότητα της μεθυλτρανσφεράσης του DNMT1, για τη διατήρηση των προτύπων μεθυλίωσης του DNA μετά την αντιγραφή του DNA ³⁰⁰.

Η H3K14ub επάγει τη δραστηριότητα της μεθυλοτρανσφεράσης Cfr4, που είναι υπεύθυνη για το σήμα σίγησης H3K9me2/3. Ομοίως, ουβικιτινίωση των Lys23/36/37 στην ουρά της H3, από τη λιγάση E3 NEDD4, διεγείρει την ακετυλίωση των Lys9 και Lys14 της H3 ³⁰⁰.

Έχει επίσης αναφερθεί ουβικιτινίωση του καρβοξυτελικού άκρου της H3 στις Lys121/122/125 που επηρεάζει τη γονιδιωματική σταθερότητα κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου ³⁰¹.

Ανεξέλεγκτη ουβικιτινίωση των H3 και H4 μπορεί να εμφανιστεί ως απόκριση σε βλάβη του DNA ³⁰².

Στις περιοχές κοντά σε τελομερή των γηρασμένων ατόμων ζύμης, έχει παρατηρηθεί συσσώρευση της μονο-ουβικιτινιωμένης H2B, που συνοδεύεται από αύξηση των H3K4Me3, H3K79me3 και H4K16Ac.

Αν και ο ρόλος της ουβικιτινιωμένης H2B δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί, η αύξησή της φαίνεται να συνδέεται με την αντιγραφική γήρανση.

3.2.4 Φωσφορυλίωση

Η φωσφορυλίωση ιστόνης λαμβάνει χώρα σε υπολείμματα σερίνης (S), θρεονίνης (T) και τυροσίνης (Y) στις αμινοτελικές ουρές των ιστονών, αν και όχι αποκλειστικά, και ελέγχεται από τη δράση κινασών. Επειδή πρόκειται για μια εξαιρετικά δυναμική επιγενετική διαδικασία,

η φωσφορυλίωση βρίσκεται σε συνεχή ισορροπία με την διαδικασία της αποφωσφορυλίωσης η οποία καταλύεται από τις φωσφατάσες³⁰³. Οι κινάσες ιστόνης μεταφέρουν μια φωσφορική ομάδα από το ATP στην υδροξυλομάδα της πλευρικής αλυσίδα του αμινοξέος, επηρεάζοντας τη δομή της χρωματίνης, προσθέτοντας αρνητικό φορτίο στην ιστόνη. Για την πλειοψηφία των κινασών, ωστόσο, δεν είναι σαφής ο μηχανισμός με τον οποίο το ένζυμο στρατολογείται με ακρίβεια στη θέση δράσης του πάνω στη χρωματίνη. Σε λίγες περιπτώσεις, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση του ενζύμου MAPK1, που η κινάση διαθέτει μια περιοχή δέσμευσης στο DNA, μπορεί είτε να προσδεθεί άμεσα είτε να συνδεθεί πρώτα με παράγοντα δεσμευμένο στη χρωματίνη, πριν έρθει σε άμεση επαφή με το DNA, για να σταθεροποιηθεί η συνολική αλληλεπίδραση³⁰⁴.

Η πλειονότητα των θέσεων φωσφορυλίωσης ιστόνης εντοπίζονται στις N-τελικές ουρές. Ωστόσο, υπάρχουν και θέσεις δέσμευσης εντός του πυρήνα του νουκλεοσώματος. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η φωσφορυλίωση του H3Y41, που πραγματοποιείται από την JAK2³⁰⁵.

Η φωσφορυλίωση είναι μια δυναμική διαδικασία στο κύτταρο. Αν και ο ρόλος των φωσφατασών ιστόνης (που καταλύουν την αποφωσφορυλίωση) δεν είναι εξίσου καλά μελετημένος, είναι γνωστό ότι πρέπει να διατηρείται υψηλή δραστηριότητα της φωσφατάσης εντός του πυρήνα προκειμένου να εξασφαλιστεί η γρήγορη εναλλαγή φωσφορυλίωσης – αποφωσφορυλίωσης. Ξέρουμε, π.χ. ότι η φωσφατάση PP1 (υπεύθυνη για την αποφωσφορυλίωση της πλειονότητας των αμινοξέων σερίνης, θρεονίνης) δρα ανταγωνιστικά με την κινάση AuroraB, που καθορίζει το H3S10ph σε όλο το γονιδίωμα και H3S28ph στη μίτωση³⁰⁶.

Πρόσφατες μελέτες αποκαλύπτουν σύνδεση μεταξύ των οδών ανίχνευσης της τροφής και της ρύθμισης της χρωματίνης στη γήρανση. Διαπιστώθηκε ότι σε ζυμομύκητες υπό διατροφικό στρες, τα επίπεδα φωσφορυλίωσης ιστόνης H3 θρεονίνης 11 (H3pT11) είναι αυξημένα σε γονίδια που ανταποκρίνονται στο στρες, ρυθμίζοντας τη μεταγραφή των γονιδίων που εμπλέκονται στη μεταβολική διαδικασία. Επομένως η H3pT11 εμφανίζεται ως εν δυνάμει δείκτης διατροφικού στρες και γήρανσης³⁰⁷.

Στη *Drosophila*, τα μεταλλαγμένα στελέχη H3S28A (μιμούν τη φωσφορυλίωση του H3S28) εμφανίζουν αυξημένη μακροζωία και βελτιωμένη αντίσταση στην πείνα και στο οξειδωτικό στρες³⁰⁸. Επιπλέον, η εφαρμογή σύγχρονων μεθόδων αλληλούχησης (whole-exome deep gene sequencing) έχει αποκαλύψει ότι οι μεταλλάξεις H3S28A υπάρχουν σε μια σειρά προτύπων μακροζωίας, αποκαλύπτοντας έναν πιθανό ενεργό ρόλο της φωσφορυλίωσης του H3S28 στον έλεγχο της μακροζωίας και της αντοχής στο στρες.

3.2.5 Σουμοϋλίωση

Αυτή η μετα-μεταφραστική τροποποίηση (PTM) είναι εξαιρετικά δυναμική, καθώς αντιστρέφεται εύκολα από ειδικές πρωτεάσες. Στον άνθρωπο υπάρχουν εννέα γνωστές πρωτεάσες Sumo, ενώ ο *S. cerevisiae* εκφράζει μόνο δύο, τις ULP1 και ULP2³⁰⁹.

Η σουμοϋλίωση πρωτεϊνών είναι ρυθμιστικός μηχανισμός πολλών διαφορετικών κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της μεταγραφής, της αντιγραφής του DNA, του κυτταρικού κύκλου, της μιτοχονδριακής δυναμικής, της βιογένεσης ριβοσώματος, της επιδιόρθωσης του DNA, της απόπτωσης και των αποκρίσεων στρες³¹⁰.

Η πρώτη καταγραφή σουμοϋλίωσης αφορούσε την ανθρώπινη ιστόνη H4 καθώς και τα αδύναμα σήματα σουμοϋλίωσης σε H2A, H2B και H3³¹¹. Οι πιο συνηθισμένες θέσεις προσκόλλησης SUMO είναι οι K6, K7, K16 και K17 της ιστόνης H2B είναι, και οι K5, K8, K12, K16 και K20 της ιστόνης H4,³¹² αν και υπάρχουν και άλλες πιθανές θέσεις. Σε μελέτες που ακολούθησαν, εντοπίστηκε σουμοϋλίωση σε διάφορες θέσεις, όπως στο K18 της H3³¹³, στην H2A.x³¹⁴ και στην H1³¹⁵.

Στο *S. cerevisiae*, SUMO μπορεί να συζευχθεί και στις τέσσερις βασικές ιστόνες, καθώς και στην παραλλαγή H2A H2A.Z³¹⁶ και H3 παραλλαγή CSE4³¹⁷.

Συγκριτικά με τις υπόλοιπες κατηγορίες μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων ιστόνης, η ανακάλυψη της σουμοϋλίωσης, είναι ακόμη πολύ πρόσφατη, και λίγα είναι γνωστά για την επίδραση της στην οργάνωση της χρωματίνης και την έκφραση γονιδίων, σε σύγκριση με την ουβικιτιλίωση, τη μεθυλίωση και την ακετυλίωση.

3.3 Μη κωδικοποιητικά RNA

Το ανθρώπινο γονιδίωμα μεταγράφεται στο μεγαλύτερο μήκος του. Τα μόρια RNA που προκύπτουν, μπορούν να χωριστούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες: τα κωδικοποιητικά και τα μη κωδικοποιητικά RNA (ncRNA). Τα κωδικοποιητικά μόρια RNA περιλαμβάνουν ουσιαστικά τους αγγελιαφόρους RNA (mRNAs) και έχουν μελετηθεί εκτενώς λόγω του ουσιαστικού τους ρόλου στην παραγωγή πρωτεϊνών και τη συμμετοχή τους σε μια μεγάλη ποικιλία βιολογικών διεργασιών και ασθενειών.

Τα τελευταία χρόνια, ωστόσο, υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον και για τα μη κωδικοποιητικά RNA (ncRNAs) καθώς, αν και δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες έχουν επίσης σημαντικό ρόλο σε βιολογικές διαδικασίες και σε παθολογικές καταστάσεις.

Τα ncRNA συμμετέχουν σε αλληλεπιδράσεις πρωτεϊνών, DNA και RNA και έχουν ρόλους σε μια ποικιλία κυτταρικών δραστηριοτήτων, συμπεριλαμβανομένης της ενεργοποίησης ή της

σίγησης γονιδίων, της συρραφής RNA, της μεταμεταγραφικής τροποποίησης, της επεξεργασίας και της μετάφρασης πολυπεπτιδίων. Αντιπροσωπεύοντας το 76-97 % του DNA μας³¹⁸, τα μόρια των ncRNA έχουν χαρακτηριστεί ως κρίσιμοι ρυθμιστές κυτταρικών λειτουργιών³¹⁹ με το εύρος των δραστηριοτήτων τους να κυμαίνονται από συμμετοχή στη ρύθμιση του καρκίνου, ως δυνητικά ογκογόνα ή ως ογκοκαταστολείς, έως στην εμφάνιση καρδιαγγειακών παθήσεων, νευρολογικών διαταραχών ή ακόμη και μολυσματικών ασθένειων όπως το Covid-19³²⁰.

Τα μη κωδικοποιητικά RNA μπορούν να κατηγοριοποιηθούν βάσει της λειτουργικότητάς τους, σε:

- I. Συντηρητικά RNA (housekeeping) και
- II. Ρυθμιστικά RNA (regulatory). (Εικόνα 3.1)

Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν ncRNA, με μεγέθη που κυμαίνονται έως 500 nt (με εξαίρεση τα rRNAs που μπορεί να έχουν μεγαλύτερο μήκος) και τα οποία εκφράζονται σταθερά, και σε σημαντικές ποσότητες, σε όλους τους τύπους κυττάρων γιατί είναι απαραίτητα για τη βιωσιμότητα/ «συντήρηση» των κυττάρων³²¹. Στα συντηρητικά ncRNA ανήκουν τα μεταφορικά (tRNAs) και τα ριβοσωμικά RNA (rRNAs), με πολύ καλά καθορισμένο ρόλο στην τη διαδικασία της μετάφρασης, εξυπηρετώντας την μεταφορά αμινοξέων και την οργάνωση των ριβοσωμάτων αντίστοιχα, τα μικροπυρηνικά (snRNAs) που συμμετέχουν στην διαδικασία της ωρίμανσης του ευκαρυωτικού mRNA, τα μικροπυρηνισκικά (snoRNAs) με καθορισμένο ρόλο σε τροποποιήσεις RNA. Πρόσφατα έχουν ενταχθεί σε αυτή την κατηγορία τα tRFs και tiRNAs, θραύσματα από tRNA που προκύπτουν ως απόκριση σε κυτταρικό στρες³²², και μικρά RNA που προέρχονται από τα snoRNAs (sno-derived RNA), sno-miRNA και sno-piRNA.

Τα tiRNA βοηθούν τα κύτταρα να ανταποκρίνονται σε συνθήκες στρες, μέσω επαναπρογραμματισμού της μετάφρασης – όπως π.χ καταστολής της μετάφρασης μέσω του σχηματισμού συσσωματωμάτων πρωτεϊνών -RNA, αναστολής της απόπτωσης, αποικοδόμησης mRNA και δημιουργίας στρες granules.

Τα ρυθμιστικά ncRNAs, με τη σειρά τους, εμπλέκονται σε διαδικασίες που μπορούν να καθορίσουν την γονιδιακή έκφραση σε μεταγραφικό, μετα-μεταγραφικό ή και σε επιγενετικό επίπεδο. Με βάση το μήκος του μεταγράφου και τη ρυθμιστική τους λειτουργία αυτά χωρίζονται σε δύο κύριες υπο-ομάδες:

- i. τα μικρά (small ncRNA - sncRNA) με μεγέθη μικρότερα των 200 νουκλεοτιδίων και

- ii. τα μακρά μη κωδικοποιητικά RNA(long ncRNA - lncRNA), με μήκη >200 νουκλεοτιδίων

Τα ncRNAs παρουσιάζουν εξαιρετικά μεγάλο εύρος μηχανισμών, καθώς δημιουργούν ρυθμιστικά δίκτυα που μπορούν να ελέγξουν και να ρυθμίσουν την γονιδιακή έκφραση, την μάτιση του RNA και άλλες κυτταρικές διεργασίες^{323 324}.

<u>RNA</u>	<u>ΤΥΠΟΣ</u>	<u>ΥΠΟΚΑΤΗ ΓΟΡΙΑ</u>	<u>ΟΝΟΜΑΣΙΑ</u>	<u>ΜΕΓΕΘΟΣ</u>
κωδικοποιητικά RNAs			Αγγελιαφόρο RNA (mRNA)	
Μη- κωδικοποιητικά RNAs	Συντηρητικά ncRNAs (housekeeping)		ΡΙβοσωμικό RNA (rRNA)	120–4,500 nt
			Μεταφορικό RNA(tRNA)	76–90 nt
			Μικροπυρηνικό RNA(snRNA)	100–300 nt
			Μικροπυρηνισκικό RNA(snoRNA)	60–400
			RNA στοιχείο Τελομεράσης (TERC)	-
			Θραύσματα προερχόμενα από tRNA(tRF)	16–28 nt
			Μισά tRNAs (tiRNA)	29–50 nt
	Ρυθμιστικά ncRNAs (regulatory)	Μικρά μη-κωδικοποιητικά RNAs	Μικρο-RNA (miRNA)	19–25 nt
			Μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (siRNA)	20–25 nt
			piwi-αλληλεπιδρώντα RNA (piRNA)	26–32 nt
		Μακρά μη-κωδικοποιητικά RNAs	Μακρά μη-κωδικάRNAs(lncRNA)	>200 nt

			Κυκλικά RNA (circRNA)	100–10,000
			RNA ενισχυτή (eRNA)	50–2,000 nt
			Y RNA	-

Εικόνα 3.1 Κατηγορίες ncRNA ³²⁵

3.3.1 miRNAs

Τα miRNA είναι μια κατηγορία μικρών μη-κωδικοποιητικών RNA , με μονόκλωνη δομή και μήκος που κυμαίνεται από 19-25 nt. Παρά το μικρό μέγεθος τους, έχει παρατηρηθεί ότι επηρεάζουν την συντριπτική πλειοψηφία των ανθρώπινων γονιδίων. Μέχρι σήμερα έχουν χαρακτηριστεί περίπου 2300 miRNAs στα ανθρώπινα κύτταρα, τα οποία λειτουργούν ως μετα-μεταγραφικοί ρυθμιστές της λειτουργίας των περισσοτέρων κωδικών γονιδίων ³²⁶

Ο φυσιολογικός ρόλος των miRNA είναι η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, ³²⁷ μέσω της αλληλεπίδρασης τους με μερικώς συμπληρωματικές αλληλουχίες του mRNA-στόχου που επηρεάζουν τη σταθερότητά του ³²⁸. Το ρυθμιστικό αυτό σύστημα είναι ιδιαίτερα σύνθετο, καθώς ένα miRNA έχει τη δυνατότητα να αλληλεπιδρά με εκατοντάδες διαφορετικά mRNAs, και αντιστοίχως, ένα mRNA μπορεί να στοχεύεται από πολλά διαφορετικά miRNAs, επηρεάζοντας την κυτταρική διαδικασία με διάφορους τρόπους ³²⁹.

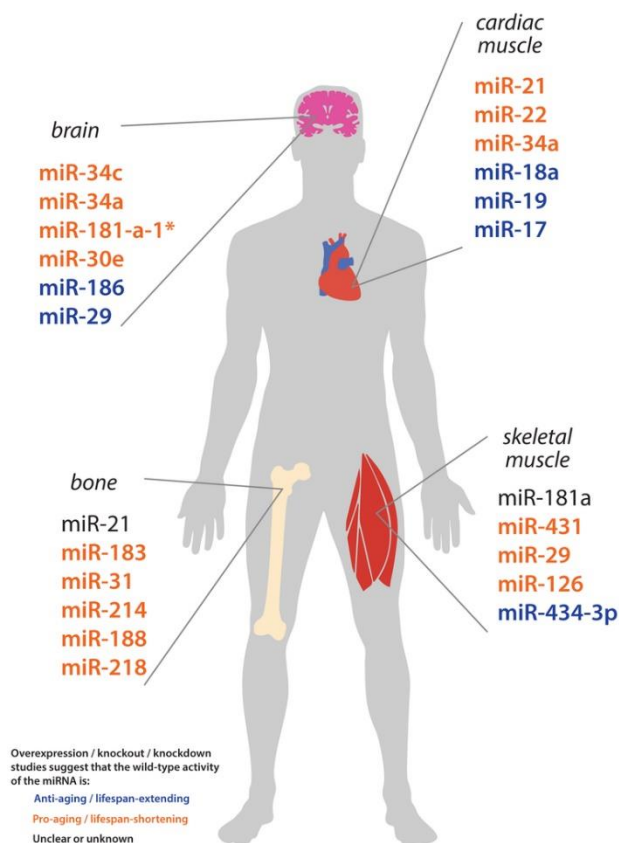
Ο παραδοσιακός τρόπος δράσης των microRNAs (miRNAs) είναι η στόχευση μιας 3' αμετάφραστης περιοχής συγκεκριμένου mRNA (UTR), προς αποικοδόμηση του mRNA ή καταστολή της μετάφρασης ³³⁰. Αυτό επιτυγχάνεται είτε με άμεση σύνδεση του, είτε με τη στρατολόγηση του επαγόμενου από miRNA σύμπλοκου σίγησης που αποτελείται από πρωτεΐνες Argonaute και GW182 (RISC) ³³¹. Οι περιοχές κοντά ή πιο μακριά από τη θέση δράσης των miRNAs έχουν επίσης σημαντικό ρόλο στη διαμόρφωση της γονιδιακής έκφρασης που προκαλεί ένα miRNA ³³².

Η ακριβής αντιστοίχιση οδηγεί συνήθως στην αποικοδόμηση του mRNA, ενώ η μερική αντιστοίχιση μπορεί να προκαλέσει την μεταφραστική καταστολή ³³³. Έχουν ταυτοποιηθεί, ωστόσο, και μόρια miRNA που μπορούν να αλληλεπιδρούν με την 5' αμετάφραστη περιοχή (5' UTR) ή ακόμη και την κωδική περιοχή (CDS) του mRNA -στόχου, προκαλώντας την αποικοδόμηση, την καταστολή της μετάφρασης ή ακόμη και την ενεργοποίησή του ³³⁴.

Πέρα από τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στα κύτταρα που δημιουργούνται, τα miRNA μπορούν επίσης να εκκρίνονται μέσω εξωκυτταρικών κυστιδίων και να δρουν ως ορμόνες εξυπηρετώντας την ενδοκυτταρική επικοινωνία. Στο ανοσοποιητικό σύστημα, τα miRNAs

μπορούν να στοχεύουν άμεσα υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), ενεργοποιώντας τα μονοπάτια σηματοδότησης των TLR και προκαλώντας ανοσοαπόκριση.

Πέρα από τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στα κύτταρα που δημιουργούνται, τα miRNA μπορούν επίσης να εκκρίνονται μέσω εξωκυτταρικών κυστιδίων και να δρουν ως ορμόνες εξυπηρετώντας την ενδοκυτταρική επικοινωνία. Στο ανοσοποιητικό σύστημα, τα miRNAs μπορούν να στοχεύουν άμεσα υποδοχείς τύπου Toll (TLRs), ενεργοποιώντας τα μονοπάτια σηματοδότησης των TLR και προκαλώντας ανοσοαπόκριση.



Εικόνα 3.2 miRNAs με λειτουργικούς ρόλους στη φυσιολογική γήρανση του εγκεφάλου, της καρδιάς, των σκελετικών μυών και των οστών του ανθρώπου. Τα miRNA που έχουν επικυρωθεί πειραματικά (μέσω μελετών knockout/knockdown ή υπερέκφρασης) ότι διαδραματίζουν ενεργητικό, επιζήμιο ή διφορούμενο/σύνθετο ρόλο στη διαδικασία γήρανσης, κωδικοποιούνται με χρώμα μπλε, πορτοκαλί και μαύρο, αντίστοιχα.³³⁶

Ορισμένα miRNAs μπορούν επίσης να αλληλεπιδρούν με μη- Argonaute πρωτεΐνες (non-Ago proteins), γνωστές ως πρωτεΐνες δέσμησης miRNA (miRBPs), που μπορούν να συνεργαστούν ή να ανταγωνιστούν τις πρωτεΐνες Argonaute, ενισχύοντας ή καταστέλλοντας τη λειτουργία του miRNA στο μόριο στόχευσης.

Συγχρόνως τα πυρηνικά miRNA βρέθηκε ότι μεσολαβούν στη σίγηση ή την ενεργοποίηση των μεταγραφικών γονιδίων³³⁵. Μπορούν επίσης να μεταφέρονται μεταξύ της AGO2 και της miRBP, αν και αυτός ο μηχανισμός είναι λιγότερο μελετημένος. Ορισμένα πρωταρχικά μετάγραφα (pri-miRNAs) κωδικοποιούν ρυθμιστικά πεπτίδια που μπορούν να επηρεάσουν την έκφραση των ώριμων miRNA. Παρόλο που αυτές οι εναλλακτικές λειτουργίες εξακολουθούν να διερευνώνται, τα στοιχεία για τη σημασία τους στα κύτταρα αυξάνονται, υποδεικνύοντας μια βαθύτερη κατανόηση της δράσης των miRNAs.

Πολλά microRNA εκφράζονται διαφορετικά κατά τη γήρανση, δημιουργώντας ενδιαφέρον για τη χρήση τους ως βιοδείκτες γήρανσης και τους ρόλους τους ως ρυθμιστές της διαδικασίας γήρανσης. Στα ασπόνδυλα *C. elegans* και *Drosophila*, ένας αριθμός miRNAs έχει βρεθεί ότι

ρυθμίζουν τόσο θετικά όσο και αρνητικά τη μακροζωία μέσω γνωστών οδών γήρανσης. Ανάλογες μελέτες σε θηλαστικά υποδεικνύουν ότι τα miRNA ρυθμίζουν διαδικασίες και παθολογίες που σχετίζονται με την ηλικία σε μια ποικιλία ιστών, συμπεριλαμβανομένου του εγκεφάλου, της καρδιάς, των οστών και των μυών³³⁶. Ειδικότερα, μελέτες σε ανθρώπινους ιστούς δείχνουν ότι οι φυσιολογικοί τους ρόλοι διεκπεραιώνονται στον εγκέφαλο και στους μυς μέσω της ρύθμισης της έκφρασης του αυξητικού παράγοντα 1 που προσομοιάζει την ινσουλίνη (Insulin-like growth factor 1 - IGF1) επιδρώντας στην ενεργοποίηση της μικρογλοίας³³⁷, στα οστά μέσω της ρύθμισης της έκφρασης των γονιδίων PTEN³³⁸, SPRY1³³⁷, RECK³³⁹, FZD3³⁴⁰, ATF4³⁴⁰, RICTOR³⁴¹ και PDCD4³⁴² που συνολικά προάγουν την απώλεια οστικής μάζας μέσω απόπτωσης και μειώνουν την διαφοροποίηση των οστεοκλαστών σε οστικά κύτταρα, και στην καρδιά στοχεύοντας γονίδια που μειώνουν την λειτουργία και την επιβίωση των καρδιακών κυττάρων και επάγουν την καρδιακή ίνωση^{343 344}

3.3.2. Μακρά μη κωδικοποιητικά RNA

Τα lncRNA αποτελούν το 81,8% του συνόλου των ncRNAs³⁴⁵ και εμφανίζουν ιστοειδικά και χωροχρονικά πρότυπα, μεγάλη ποικιλία και ευρύ φάσμα βιολογικών λειτουργιών³⁴⁶. Σύμφωνα με την πρόσφατη έκδοση της βάσης δεδομένων NONCODE (v6.0) έχουν αναφερθεί 96.411 ανθρώπινα γονίδια lncRNA, που εκτιμάται ότι αντιστοιχούν σε 173.112 μετάγραφα lncRNA, ωστόσο, μόνο ένα μικρό ποσοστό τους έχει χαρακτηριστεί λειτουργικά³⁴⁷.

Τα lncRNA μπορούν να υποστούν μάτισμα, όπως και το mRNA. Ωστόσο, συγκρινόμενα με τα μόρια αγγελιαφόρου RNA, τα lncRNA διαθέτουν λιγότερα εξόνια, εντοπίζονται κυρίως μέσα στον πυρήνα στην πρωταρχική τους μορφή και η κυτταρική τους αφθονία είναι συχνά πολύ χαμηλότερη³⁴⁸.

Θεωρούνται ως οι βασικοί ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης και ο κανονικός μηχανισμός δράσης τους πραγματοποιείται με τη δέσμευσή τους στα miRNA προκειμένου να ρυθμίσουν την έκφραση του γονιδίου στόχου και να επιβάλλουν ένα πρόσθετο επίπεδο μετα-μεταγραφικής ρύθμισης³⁴⁹. Πιο συγκεκριμένα, τα lncRNAs μπορούν να επηρεάσουν την τύχη του γονιδίου, συνοδεύοντας και σταθεροποιώντας το mRNA κατά τη μετάφραση ή δρώντας ως ενδιάμεση αντίδραση, μπλοκάροντας τις θέσεις δέσμευσης του miRNA και της σίγησης.

Πέρα από την απλή σύνδεση, τα lncRNAs μπορούν να εξυπηρετήσουν το σχηματισμό δυναμικής δομής βρόγχου (R-loop) με το DNA ή να συνεργαστούν με πρωτεΐνες που δεσμεύονται στο DNA για να ρυθμίσουν την οργάνωση της χρωματίνης.

Τα lncRNA μπορούν επίσης να δεσμεύσουν μεταγραφικούς παράγοντες (TFs) μακριά από τη χρωματίνη χρησιμεύοντας ως μοριακές καταβόθρες (molecular sinks), διαφοροποιώντας έτσι την έκφραση γονιδίων.

Κάποια μπορούν να λειτουργήσουν ως σφουγγάρια, προκειμένου να δεσμεύσουν συγκεκριμένα miRNAs και επηρεάζοντας τους στόχους που εντοπίζονται καθοδικά τους, ενώ κάποια άλλα μπορούν να συνδεθούν με πρωτεΐνες, λειτουργώντας ως ικριώματα ή οδηγοί, με αποτέλεσμα, σε κάθε περίπτωση την αλλαγή της γονιδιακής έκφρασης³⁵⁰.

Τα lncRNA μπορούν επίσης να οδηγήσουν ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα στον υποκινητή γονιδίου, επηρεάζοντας έτσι τη μεταγραφική δραστηριότητα των καθοδικών (downstream) γονιδίων-στόχων³⁵¹. Επιπλέον, τα lncRNAs αλλάζουν επίσης την έκφραση των γονιδίων επηρεάζοντας την επεξεργασία, την ωρίμανση και τη σταθερότητα του mRNA³⁴⁹.

Τέλος κάποια lncRNA καταφέρνουν να παράγουν λειτουργικά μικροπεπτίδια.

Και ενώ τα mRNA έχουν ως βασικό στόχο τη μετάφραση τους, τα lncRNA σπανίως φτάνουν στα ριβοσώματα, γεγονός που ωστόσο δεν μειώνει την αξία τους στο παραμικρό³⁵². Τα lncRNAs μπορούν να μεταγραφούν με νοηματική(sense) ή αντι- νοηματική (non-sense) κατεύθυνση, από διάφορες γονιδιωματικές περιοχές, συμπεριλαμβανομένων των εσωνίων ή των εξονίων αλληλεπικαλυπτόμενων κωδικών γονιδίων, διαγονιδιακές περιοχές (lincRNAs), ψευδογονίδια, μεταγραφόμενες υπερσυντηρημένες μεταγραφικές περιοχές (T-UCRs), κεντρομερικές επαναλήψεις (κεντρομερικά lncRNAs), ριβοσωμικές περιοχές DNA (υποκινητής και προ-rRNA αντινοηματικό (PAPAS)),υποκινητές (PALRs), ενισχυτές (eRNAs) και 3' UTRs³⁵³.

Επίσης αλληλεπιδρούν με διάφορα RNA όπως mRNA, circRNA και miRNA, που επηρεάζουν το μάτισμα, miRNA δραστηριότητα και αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης³⁵⁴.

Διαρκώς αυξανόμενες σε αριθμό μελέτες υποδεικνύουν ότι τα lncRNA διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική γήρανση σε όλα τα επίπεδα - μεταγραφικό, μετα-μεταγραφικό, μεταφραστικό και μετα-μεταφραστικό. Η κατανόηση του μοριακού μηχανισμού μέσω του οποίου τα lncRNA προάγουν τη γήρανση θα μπορούσε να διευκολύνει την ερμηνεία των υποκείμενων της γήρανσης μηχανισμών αλλά και του ελέγχου τους ως αντισταθμιστικό μέτρο ενάντια στη γήρανση. Μια σύγχρονη μελέτη επισκόπησης ανέδειξε μια πληθώρα lncRNA που εμπλέκονται:

- σε κοινές για όλους τους ιστούς κυτταρικές λειτουργίες όπως η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η δομή του τελομερούς, η δομή της χρωματίνης και η παραγωγή

του εκκριτικού φαινοτύπου γήρανσης (senescence-associated secretory phenotype (SASP)

- σε εξειδικευμένες, αναλόγως του ιστού, κυτταρικές λειτουργίες, όπως η διαφοροποίηση των μυοβλαστών σε ώριμα μυϊκά κύτταρα, η νευρογένεση, και η αγγειογένεση
- σε νόσους που σχετίζονται με το γήρας όπως ο διαβήτης τύπου II, η αθηρωμάτωση και ο νευροεκφυλισμός.

Η διασαφήνιση των λειτουργίας των lncRNA στη φυσιολογία και τη παθολογία της γήρανσης έχει μεγάλη αξία υπό το πρίσμα μιας σύγχρονης κοινωνίας που διαρκώς γεράζει προκαλώντας ένα συνεχώς αυξανόμενο βάρος στην οικονομία και τα συστήματα υγείας παγκοσμίως ³⁵⁵.

3.3.3 Κυκλικά RNA

Τα circRNA παράγονται με back splicing (ανάποδο μάτισμα) διάφορων γονιδιωματικών περιοχών, συμπεριλαμβανομένων εξονίων, ιντρονίων και διαγονιδιακών περιοχών ³⁵⁶. Η κυκλική τους δομή τα προστατεύει από διάσπαση από την RNA εξωνουκλεάση, όπως η RnaseR, γεγονός που οδηγεί σε υψηλή σταθερότητα και αφθονία σε σύγκριση με τη γραμμικό RNA ³⁵⁷. Η έκφραση του circRNA είναι συχνά ανεξάρτητη από τα γονίδια του ξενιστή ³⁵⁸. Εντοπίζονται κατά κανόνα στο κυτταρόπλασμα, αλλά μπορούν επίσης να βρεθούν στον πυρήνα και να σχηματίζουν κύκλους circR (loops) ³⁵⁹. Τα circRNAs που παραμένουν στον πυρήνα βοηθούν στη ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων από τα οποία προήλθαν. Αν και πολλές άλλες λειτουργίες των circRNA παραμένουν άγνωστες, η πιο γνωστή μέχρι σήμερα είναι η συμμετοχή τους στη ρύθμιση των miRNA.

Κάποια circRNAs διαθέτουν θέσεις πρόσδεσης για τα miRNA και δρουν ως «σφουγγάρι», που δεσμεύουν τα miRNAs εμποδίζοντάς τα να προσδεθούν στα mRNA-στόχους. Με ανάλογο τρόπο συνδέονται και με πρωτεΐνες RBPs, σχηματίζοντας τα σύμπλοκα circRNPs, που επηρεάζουν τη μετάφραση των γονιδίων και τη δράση των πολυπεπτιδίων.

Τέλος, πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι, παρόλο που τα circRNAs στερούνται 5' καλύμματος, μπορούν να προσδεθούν στα ριβοσώματα, μέσω ειδικών θέσεων (IRES) που διαθέτουν και να μεταφραστούν.

Ο μηχανισμός ανατροφοδότησής τους είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστος, αλλά πιθανώς εμπλέκεται σε έκκριση μέσω εξωσωμάτων. Τα circRNA μπορούν επίσης να ενισχύσουν την πρωτεϊνική δραστηριότητα σχηματίζοντας σύμπλοκα circRNA-πρωτεΐνης που χρησιμεύουν ως δομικά στηρίγματα για πρωτεΐνες ή προσελκύοντας πρωτεΐνες σε συγκεκριμένες θέσεις

εντός του κυττάρου (κυτταρικά διαμερίσματα), που τους επιτρέπει να τοποθετηθούν μαζί. Αυτός ο συνεντοπισμός επηρεάζει τον τρόπο με τον οποίο οι πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

Οι κύριες λειτουργίες των circRNA περιλαμβάνουν τη δυνατότητα λειτουργίας «σπόγγου» για miRNA, τη συνεργασία με mRNA στη σταθερότητα και τη μετάφραση, τη μετάφραση σε πεπτίδια, και τη ρύθμιση των πρωτεϊνών³⁵⁹. Μελέτες RNA-seq έχουν λειτουργήσει συμπιεστικά τα τελευταία χρόνια για την ανακάλυψη, μεταξύ άλλων μη κωδικοποιητικών RNA, και circRNA που σχετίζονται με το γήρας αλλά και για την ποσοτικοποίηση των επιπέδων έκφρασής τους. Αναλόγως έχει χρησιμοποιηθεί και η τεχνολογία της ανάλυσης μικροσυστοιχιών για τον εντοπισμό μοριακών υπογραφών μη κωδικοποιητικών RNA και πιο ειδικά circRNA που χαρακτηρίζουν το γήρας³⁶⁰. Επί του παρόντος, τα προφίλ έκφρασης circRNA που σχετίζονται με τη γήρανση πολλαπλών ιστών που προέρχονται από πολλά είδη έχουν διευκρινιστεί σε επίπεδο χωροχρονικής εξειδίκευσης. Συνοπτικά, τα circRNA μπορεί να επηρεάσουν την διαδικασία γήρανσης και την αντίστοιχη λειτουργική απόδοση (π.χ., τη γνωστική λειτουργία) μέσω πολλαπλών λειτουργιών, οι οποίες περιλαμβάνουν: 1) συμμετοχή πεπτιδίων που εκφράζονται από circRNA στη μεταγωγή σήματος, 2) δέσμευση των circRNA στον υποκινητή των γονιδίων στόχων και 3) δέσμευση των circRNAs σε άλλες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μεταγωγή σήματος. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι το ίδιο circRNA μπορεί να εμπλέκεται στη γήρανση μέσω διαφορετικών μηχανισμών, και διαφορετικά circRNA μπορεί επίσης να επηρεάσουν τη γήρανση μέσω του ίδιου μηχανισμού. Ωστόσο, παρά τη μεγάλη πρόοδο που έχει σημειωθεί, ο ρόλος των circRNA και οι συγκεκριμένες λειτουργίες τους ανθρώπινο γήρας παραμένουν σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστα. Σε αυτό συντείνει το γεγονός ότι τα αποτελέσματα των circRNA σε ζωικά μοντέλα είναι πολύ δύσκολο να μεταφραστούν σε κλινικές εφαρμογές λόγω διαφορών στην λειτουργική πολυπλοκότητα μεταξύ του ανθρώπου και των πειραματικών μοντέλων και επιπλέον, για τον άνθρωπο, τα δεδομένα είναι προς το παρόν ελάχιστα και αφορούν circRNA που εκφράζονται στις ανθρώπινες ωοθήκες σε μία προσπάθεια διαλεύκανσης των υποκείμενων μηχανισμών της γήρανσης του γυναικείου αναπαραγωγικού συστήματος και ενδεχομένως προσπάθειες καθυστέρησης ή/και αντιστροφής της πορείας αυτής³⁶¹. Οι μελέτες αυτές υπέδειξαν ότι μεταξύ 48.220 αναγνωρισμένων circRNA που εκφράζονται στις ανθρώπινες ωοθήκες, 194 circRNA ρυθμίστηκαν θετικά και 207 circRNA ρυθμίστηκαν αρνητικά κατά τη γήρανση. Η διαφοροποιημένη έκφραση κατά τη γήρανση των circRNA που εντοπίστηκαν, ενέχονται σε

μεταβολικά μονοπάτια, ενδοκρινολογικά μονοπάτια, οξειδο-αναγωγικές διαδικασίες και στη βιοσύνθεση στεροειδών ³⁶¹.

4_ Η ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΩΝ ΜΙΤΟΧΟΝΔΡΙΩΝ

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, το αυξανόμενο ενδιαφέρον για την αναζήτηση βιολογικών και περιβαλλοντικών παραγόντων που επηρεάζουν την ποιότητα και το ρυθμό γήρανσης του ανθρώπου έχει αναδείξει το σημαντικό ρόλο της μιτοχονδριακής λειτουργίας σε αυτή τη διαδικασία³⁶².

Το μιτοχόνδριο είναι το κυτταρικό οργανίδιο του ευκαρυωτικού κυττάρου, που ελέγχει τη δημιουργία του μεγαλύτερου μέρους της κυτταρικής ενέργειας (ATP) μέσω της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια έχει αποκαλυφθεί μια πιο περίπλοκη εικόνα, που καθιστά το μιτοχόνδριο κόμβο μιας σειράς ζωτικών κυτταρικών λειτουργιών^{336 363}. Οι γενετικές μεταλλάξεις στο mtDNA και οι διαταραχές στις μιτοχονδριακές πρωτεΐνες μπορεί να προκαλέσουν δυσλειτουργία του οργανιδίου που συνδέεται στενά με πολλές μιτοχονδριακές ασθένειες και με τη γήρανση.

Σχετικά πρόσφατα η συσχέτιση των μιτοχονδρίων με τη γήρανση προσεγγίστηκε και από μια νέα οπτική γωνία, με την ανάλυση των επιγενετικών μηχανισμών που μπορεί να επηρεάζουν το μιτοχονδριακό DNA³⁶⁴.

Βασική παράμετρος για τη μιτοχονδριακή επιγενετική είναι το γεγονός ότι το mtDNA, σε αντίθεση με το πυρηνικό DNA, στερείται ιστονών. Αυτή η διαφορά επηρεάζει σημαντικά την επιγενετική ρύθμιση των μιτοχονδρίων, καθώς αποκλείει την παρουσία ισομορφών ιστόνης και τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTMs) της ουράς ιστονών, που αποτελούν θεμελιώδεις συνιστώσες της «υπόθεσης του γραμμικού κώδικα» (barcode hypothesis)³⁶⁵ στην επιγενετική του πυρηνικού DNA, και απαιτεί εναλλακτικούς μηχανισμούς σε σχέση με αυτούς που παρατηρούνται στον πυρήνα.

Μια σειρά επιγενετικών μηχανισμών στα μιτοχόνδρια επηρεάζουν την έκφραση των γονιδίων. Αυτές οι τροποποιήσεις ρυθμίζουν επιδέξια τη μιτοχονδριακή αντιγραφή, μεταγραφή, μετάφραση και τον κυτταρικό μεταβολισμό, συντονίζοντάς τα ώστε να ικανοποιούν και τις ενδογενείς απαιτήσεις του κυττάρου και τυχόν απόκριση σε εξωτερικά ερεθίσματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτή η διαμόρφωση λαμβάνει χώρα χωρίς καμία αλλαγή στην ίδια την αλληλουχία του mtDNA.

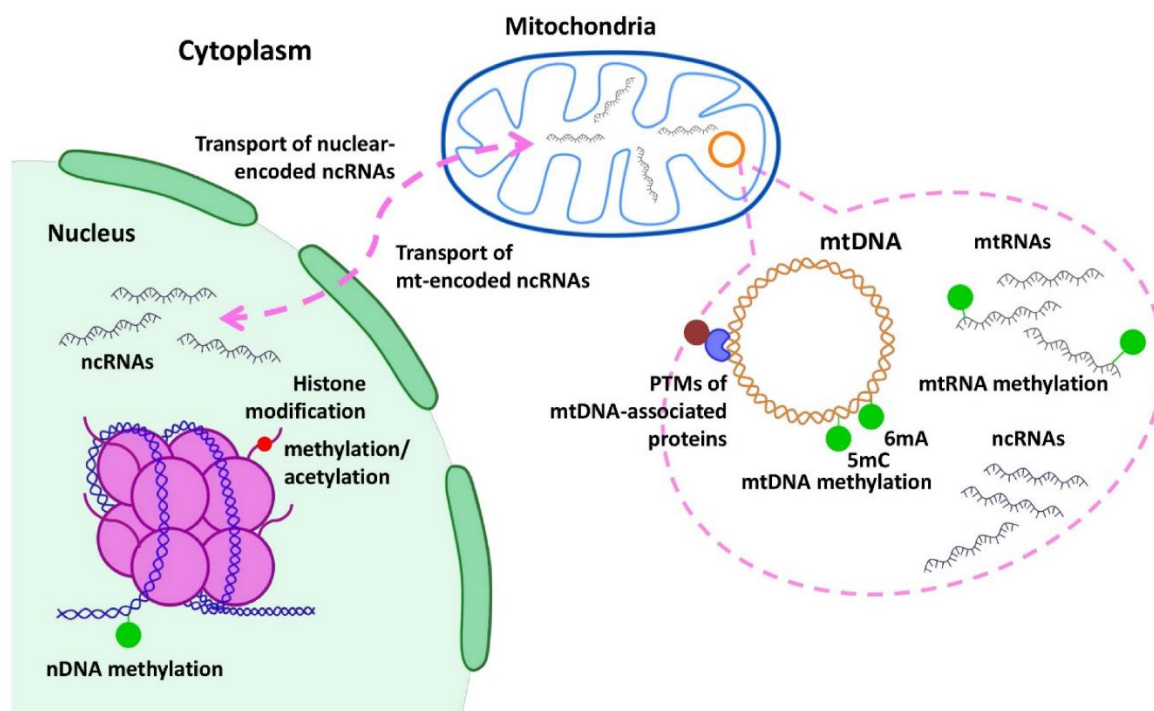
Οι επιγενετικοί μηχανισμοί που εξελίσσονται στο εσωτερικό των μιτοχονδρίων, γνωστοί και ως μηχανισμοί μιτοεπιγενετικής, περιλαμβάνουν κυρίως τρεις τομείς:

- Τη μεθυλίωση μιτοχονδριακού DNA (mtDNA), που κυρίως αφορά τροποποιήσεις των: 5-μεθυλκυτοσίνης (5 mC), 5-υδροξυμεθυλκυτοσίνης (5hmC) και N6-μεθυλαδερίνης (6

mA) και καταλήγει σε ενεργοποίηση ή καταστολή της μεταγραφής μιτοχονδριακών γονιδίων³⁶⁶.

- Τα μη-κωδικοποιητικά RNA (ncRNAs) των μιτοχονδρίων, που περιλαμβάνουν γραμμικά μακρά μη-κωδικοποιητικά RNA (lncRNAs), κυκλικά RNA (circRNAs) και microRNA (miRNAs), τα οποία εμπλέκονται στη μεταγραφή ή τη μετάφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων³⁶⁷ και
- Τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTMs) πρωτεϊνών που σχετίζονται με το mtDNA, όπως το TFAM, επηρεάζοντας τη μεταγραφή ή την αντιγραφή του mtDNA³⁶⁸.

Αξίζει να σημειωθεί ότι, αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων εντός του μιτοχονδρίου, συγχρονίζονται με αντίστοιχες αλλαγές στον πυρήνα, αναπτύσσοντας μια περίπλοκη αλληλεπίδραση μεταξύ αυτών των δύο βασικών κυτταρικών οργανιδίων.



Εικόνα 4.1 Μιτοχονδριακή επιγενετική. Η τροποποίηση της έκφρασης του μιτοχονδριακού γονιδίου ρυθμίζεται από τη μεθυλίωση mtDNA/mtRNA, τα μη κωδικοποιά RNA και τις μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις πρωτεϊνών (PTMs) που σχετίζονται με το mtDNA. Η μεθυλίωση mtDNA αναφέρεται σε μεθυλίωση 5 mC και 6 mA. Τα ncRNA, που κωδικοποιούνται είτε στον πυρήνα είτε στα μιτοχόνδρια, ρυθμίζουν τη μεταγραφή, τη μετάφραση και τη μετα-μετάφραση μέσω αλληλεπίδρασης με DNA, RNA και πρωτεΐνες. Τα ncRNA συμμετέχουν επίσης στην επικοινωνία από τα μιτοχόνδρια προς τον πυρήνα. Τα PTM των πρωτεϊνών που σχετίζονται με το mtDNA περιλαμβάνουν ακετυλίωση, φωσφορυλίωση, μεθυλίωση, SUMOυλίωση, ουβικιτινίωση.³⁶⁹.

4.1. Μεθυλίωση του μιτοχονδριακού DNA.

Η μεθυλίωση του πυρηνικού DNA έχει μελετηθεί εκτενώς και είναι ευρέως γνωστός ο ρόλος της στη διατήρηση της φυσιολογικής κυτταρικής λειτουργίας, στη γενετική αποτύπωση, στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και την εμφάνιση ασθενειών ³⁷⁰.

Αν και η πρώτη αναφορά στο φαινόμενο έγινε περίπου πριν από 5 δεκαετίες ³⁷¹, οι μηχανισμοί μεθυλίωσης και απομεθυλίωσης του DNA στα μιτοχόνδρια παρέμειναν σε μεγάλο βαθμό ασαφείς και ξαναβρέθηκαν στο επίκεντρο την τελευταία δεκαετία ³⁷².

Πρόσφατες μελέτες μάλιστα, έχουν αποκαλύψει το σημαντικό ρόλο της μεθυλίωσης του mtDNA στη γήρανση ^{373 374}.

4.1.1. Μεθυλίωση και υδροξυμεθυλίωση κυτοσίνης (5mC και 5hmC)

Τα πρότυπα μεθυλίωσης του mtDNA παρουσιάζουν τρεις σημαντικές διαφορές συγκρινόμενα με αυτά του nDNA:

- ενώ στο nDNA, η μεθυλίωση συμβαίνει κυρίως σε θέσεις δινουκλεοτιδίων CpG, με συχνότητα μεθυλίωσης 70–80%, η μεθυλίωση στο mtDNA, εμφανίζεται συχνότερα σε μη-CpG θέσεις, με πολύ χαμηλότερη μέση συχνότητα.
- ενώ το πρότυπο μεθυλίωσης του nDNA είναι συνήθως δίκλωνο συμμετρικό, το mtDNA παρουσιάζει ασύμμετρο μοτίβο μεθυλίωσης, με σχετικά υψηλότερη συχνότητα στον κλώνο L, γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από την αφθονία κυτοσινών C στον ελαφρύ μιτοχονδριακό κλώνο.
- ενώ η μεθυλίωση nDNA λαμβάνει χώρα συνήθως στην περιοχή του υποκινητή του γονιδίου που είναι πλούσια σε νησίδες CpG, η μεθυλίωση του mtDNA εντοπίζεται τόσο στον βρόχο D όσο και σε σώματα γονιδίων που κωδικοποιούνται από αυτό.

Τα χαμηλά επίπεδα μεθυλίωσης του mtDNA καθώς και το γεγονός ότι δεν διαθέτει νησίδες CpG, χρησιμοποιήθηκαν αρχικά για να αντικρούσουν την υπόθεση ότι το mtDNA μπορεί να υφίσταται λειτουργική μεθυλίωση ³⁷⁵. Αργότερα, η χρήση ειδικών μεθόδων ανίχνευσης υψηλής ευαισθησίας, έρχονται να αποδείξουν την παρουσία μεθυλίωσης του μιτοχονδριακού DNA τόσο σε θέσεις CpG όσο και σε μη CpG ^{376 377}.

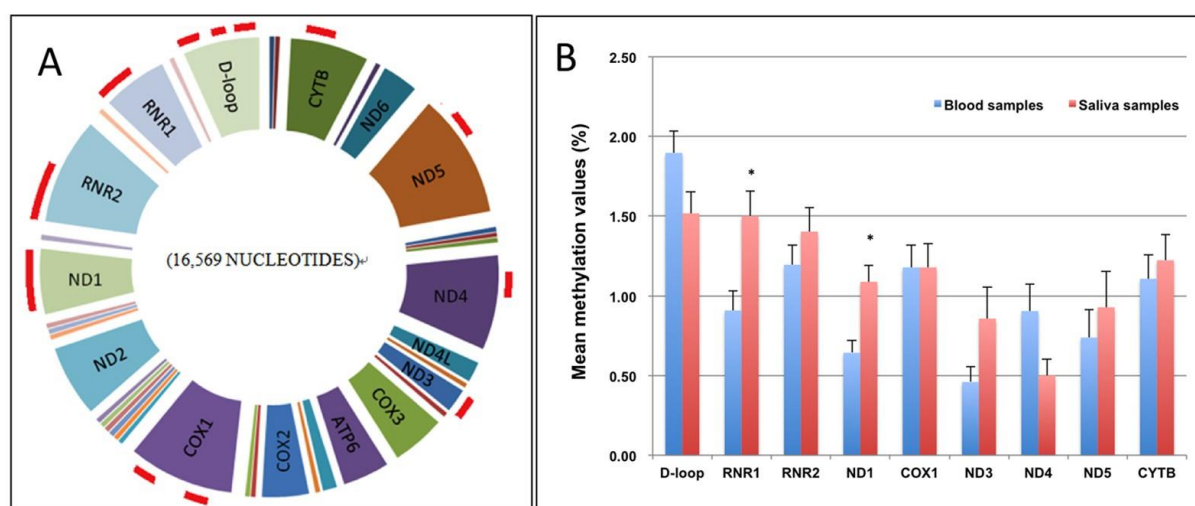
Αυτή η επιγενετική τροποποίηση επηρεάζει σημαντικά τη μεταγραφή των μιτοχονδριακών γονιδίων καθώς η υπερμεθυλίωση του γονιδίου-στόχου, οδηγεί συνήθως σε μειωμένη έκφρασή του, λόγω τοπικής συμπύκνωσης της δομής. Υπερμεθυλίωση στο βρόγχο D του mtDNA, όπου

εντοπίζονται οι υποκινητές των μιτοχονδριακών γονιδίων, έχει συσχετιστεί με μειωμένη έκφρασή τους, σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου³⁷⁷. Η φαρμακολογική παρέμβαση με 5-αζακυτιδίνη, που προκαλεί απομεθυλίωση, φαίνεται να αποκαθιστά την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων και τη βιογένεση των οργανιδίων και να αντιστρέφει τον γηρασμένο φαινότυπο σε μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα (MSCs), μειώνοντας τα επίπεδα ROS και μονοξειδίου του αζώτου, των οποίων η συσσώρευση καταλήγει σε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και χαμηλή βιωσιμότητα³⁷⁸. Αποκαλύπτεται επομένως η ρυθμιστική σημασία της μεθυλίωσης του mtDNA στην έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων, και οι συνέπειες της στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, την παραγωγή ATP και άλλες μιτοχονδριακές λειτουργίες.

Το 2016 παρουσιάζεται χάρτης μεθυλίωσης από δείγματα ανθρώπινου αίματος και σάλιου, που αποκαλύπτει 83 θέσεις μεθυλίωσης CpG σε 9 περιοχές του μιτοχονδριακού γονιδιώματος³⁷⁹ (εικόνα 4.2).

Για πρώτη φορά αποκαλύπτονται σημάδια μεθυλίωσης στις περιοχές ND1, COX1, ND3, ND4, ND5 και CYTB του mtDNA, ενώ η απουσία μεθυλίωσης στις περιοχές COXII και ATP6 επιβεβαιώνουν παλιότερες παρατηρήσεις ότι οι περιοχές αυτές δεν μεθυλιώνονται³⁸⁰.

Η αλληλεπίδραση της μιτοχονδριακής DNA μεθυλοτρανσφεράσης (mtDNMT1) με το mtDNA εξαρτάται από τη μεθυλίωση των CpG θέσεων που εντοπίζονται στην περιοχή του βρόγχου³⁶⁶.

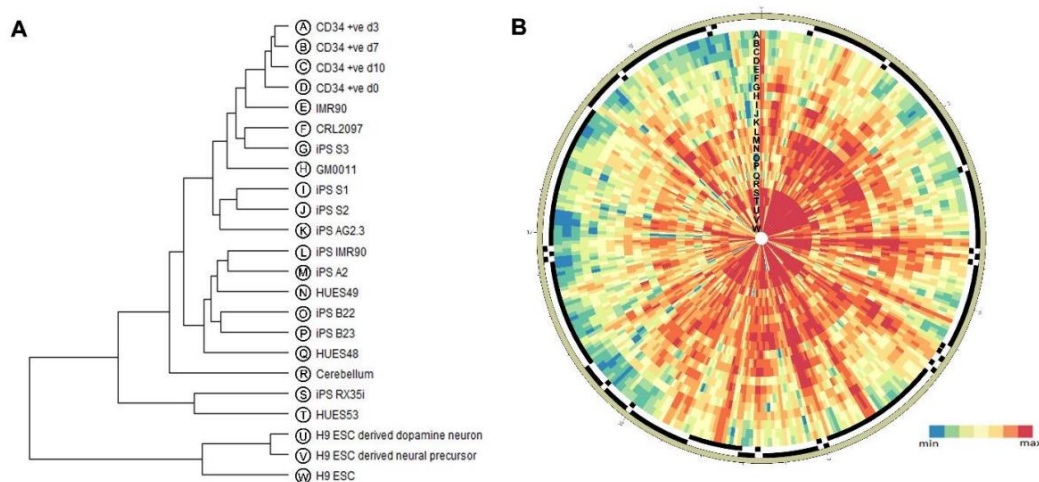


Εικόνα 4.2 (Α) Η κατανομή των περιοχών μεθυλίωσης στο ανθρώπινο mtDNA επισημάνθηκε ως κόκκινη γραμμή έξω από τον κύκλο του mtDNA. (Β) Μέσες τιμές μεθυλίωσης 9 περιοχών στο ανθρώπινο mtDNA που ανιχνεύονται με την τεχνική του bisulfite pyrosequencing³⁷⁹.

Η υδροξυμεθυλίωση κυτοσίνης (5hmC) στο DNA φαίνεται να λειτουργεί ως αρχικό βήμα προς αποκατάσταση της υπομεθυλιωμένης μορφής του DNA³⁸¹. Εξελεγχμένες τεχνικές ανίχνευσης χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να επιβεβαιώσουν τα επιγενετικά πρότυπα υδροξυμεθυλίωσης (5hmC) τόσο σε δείγματα ολικού mtDNA όσο και σε τυχαία θραύσματα μιτοχondριακών κωδικών περιοχών από εγκέφαλο ποντικού^{376 366 374}.

Αυτή η επιγενετική τροποποίηση καταλύεται από τις υδροξυμεθυλάσες της οικογένειας TET. Τα TET1 και TET2, δύο από τα κύρια ένζυμα που καταλύουν την υδροξυμεθυλίωση του DNA, έχουν ανιχνευτεί σε μιτοχondριακό πρωτεϊνικό κλάσμα ινοβλαστών ποντικού και κυττάρων HeLa καθώς και σε πρωτογενείς καλλιέργειες νευρώνων^{376 374}. Επαγωγή ή καταστολή της έκφρασης του TET2, σχετίζεται με αυξημένα ή μειωμένα αντίστοιχα, επίπεδα 5hmC τόσο στο nDNA όσο και στο mtDNA, και επηρεάζουν τα επίπεδα μεταγραφής γονιδίων που κωδικοποιούνται από mtDNA, υποδηλώνοντας τον πιθανό ρόλο της υδροξυμεθυλίωσης στη ρύθμιση της μιτοχondριακής γονιδιακής έκφρασης³⁸².

Το πρότυπο υδροξυμεθυλίωσης (Εικόνα 4.3) και η χαρτογράφηση θέσεων 5hmC του ανθρώπινου μιτοχondριακού γονιδιώματος, σε διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους, αποκαλύπτει υψηλή συγκέντρωση 5hmC σε θέσεις ελέγχου ανοδικά (upstream) της θέσης έναρξης γονιδίων (gene start site, GSS) και όχι μέσα στα σώματα των μιτοχondριακών γονιδίων που μεταφράζονται ιστοειδικά, γεγονός που υποδηλώνει πιθανό ρυθμιστικό ρόλο της 5hmC μεθυλίωσης σε αυτές τις περιοχές^{383 384}.



Εικόνα 4.3 Πρότυπο υδροξυμεθυλίωσης στο ανθρώπινο μιτοχondριακό γονιδίωμα. (Α) Το προφίλ υδροξυμεθυλίωσης γονιδιώματος 5hmC κάθε κυτταρικού και ιστικού τύπου ομαδοποιείται σε δένδrogram και σημειώνεται με τα γράμματα Α έως W. (Β) Ολόκληρο το προφίλ του μιτοχondριακού γονιδιώματος των 5hmC αντιπροσωπεύεται σε έναν κυκλικό θερμικό χάρτη

χρησιμοποιώντας *circos plot*.. Η χρωματική κλίμακα του χάρτη θερμότητας αντιπροσωπεύει την πυκνότητα 5hmC, όπου το μπλε αντιπροσωπεύει χαμηλή πυκνότητα 5hmC ενώ το κόκκινο αντιπροσωπεύει περιοχές υψηλής πυκνότητας 5hmC³⁸³. (Ghosh, Sengupta, Mitochondrion, 2016)

Μια άλλη σειρά ερευνητικών εργασιών αποκαλύπτει την επιγενετική ρύθμιση της μεταγραφής μιτοχονδριακών γονιδίων, μέσω μεθυλίωσης του mtDNA προς 5mC και 5hmC σε περιοχές D-loop αλλά και στο σώμα γονιδίων^{385 382}. Επειδή η περιοχή του βρόγχου D, παίζει κεντρικό ρόλο στην αντιγραφή και τη μεταγραφή του mtDNA, είναι εύλογο να υποθέσει κάποιος ότι η μεθυλίωση σε αυτή την περιοχή, μπορεί άμεσα ή έμμεσα να επηρεάσει την στρατολόγηση ή δέσμευση πρωτεϊνών που σχετίζονται με τη μιτοχονδριακή μεταγραφή (π.χ. TFAM), συμμετέχοντας έτσι στη διαμόρφωση μιτοχονδριακής έκφρασης³⁸⁵.

Τέλος, μια σειρά μελετών επιβεβαιώνουν ένα χαρακτηριστικό μοτίβο μεθυλίωσης και σε μη-CpG σε περιοχές, CpC, CpA και CpT³⁸⁶.

4.1.2 Μεθυλίωση Αδενίνης (6mA)

Η πιο χαρακτηριστική μορφή επιγενετικής μεθυλίωσης του mtDNA είναι η μεθυλίωση αδενίνης (6mA)³⁸⁷. (Εικόνα 4.4)

Αυτή η επιγενετική τροποποίηση, είναι η κυρίαρχη μορφή DNA μεθυλίωσης και στα προκαρυωτικά κύτταρα, ενώ ο λειτουργικός της ρόλος στο ευκαρυωτικό γονιδίωμα παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστος. Αν και αρχικά, η τροποποίηση 6mA δεν είχε εντοπιστεί σε ευκαρυωτικούς οργανισμούς, πιθανότατα λόγω ακατάλληλων μεθόδων ανίχνευσής της, η χρήση *deep sequencing* αποκάλυψε σχετικά πρόσφατα την παρουσία της στο ευκαρυωτικό γονιδίωμα αρκετών οργανισμών -μοντέλων^{388 389 390 391 392}.

Στην μεθυλίωση της αδενίνης εμπλέκονται οι μεθυλτρανσφεράσες N6AMT1 και METTL4, ενώ στην απομεθυλίωσή της προς N6-υδροξυμεθυλαδενίνη (6hmA) συμμετέχουν τα ένζυμα ALKBH1 και ALKBH4³⁹³.

Πρόσφατα, όχι μόνο ανιχνεύτηκε η τροποποίηση 6mA στο mtDNA των θηλαστικών, αλλά αποκαλύφθηκε ότι τα επίπεδα αυτής της επιγενετικής τροποποίησης στο ανθρώπινο μιτοχονδριακό DNA είναι τουλάχιστον 1300 φορές υψηλότερα από ό,τι στο πυρηνικό DNA³⁸⁷.

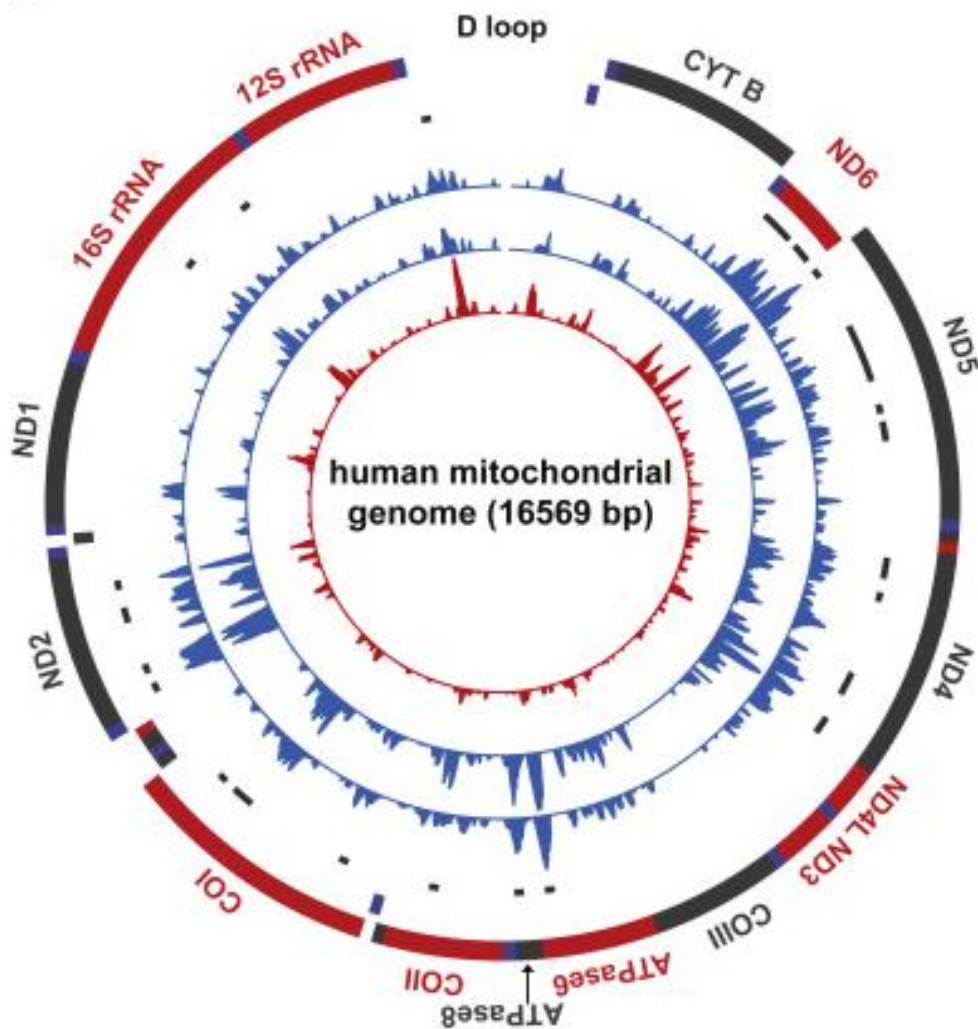
4.1.3 Ο ρόλος της μεθυλίωσης στη γήρανση

Κατά τη γήρανση παρατηρείται βιολογική φθορά σε κυτταρικό, γενετικό και επιγενετικό επίπεδο. Η μεθυλίωση του πυρηνικού DNA θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης της γήρανσης και να υιοθετηθεί για να προβλέψει με ακρίβεια τον βαθμό γήρανσης σε διαφορετικούς ιστούς κατά τη διάρκεια ζωής ενός ατόμου ³⁹⁴.

Ωστόσο, ένας συνεχώς αυξανόμενος αριθμός μελετών, αποκαλύπτει και το δυναμικό ρόλο της μιτοεπιγενετικής στη γήρανση ^{374 373}.

Αλλαγές στα επίπεδα υδροξυμεθυλίωσης του mtDNA παρατηρήθηκαν σε περιοχές του εγκεφάλου του ποντικού, με μειωμένα επίπεδα 5-hmC, αλλά όχι 5mC, στον μετωπιαίο φλοιό των γηρασμένων ζώων. Η μείωση της υδροξυμεθυλίωσης στην μιτοχονδριακή περιοχή D-loop, η οποία μπορεί να οφείλεται στη μείωση του DNMT1 και στην αύξηση του TET2 στα μιτοχόνδρια του μετωπιαίου φλοιού των ηλικιωμένων ποντικών, συνδέεται με αύξηση της μεταγραφής και τελικά αυξημένα επίπεδα mRNA των μιτοχονδριακών γονιδίων ND2, ND4, ND4L, ND5 και ND6 ³⁷⁴.

Κατά τη γήρανση, παρατηρήθηκαν επίσης διαφορετικά πρότυπα μεθυλίωσης στις θέσεις CpG του μιτοχονδριακού γονιδίου RNR1, το οποίο είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση της μιτοχονδριακής υπομονάδας 12S rRNA ³⁷³. Υψηλά επίπεδα μεθυλίωσης του RNR1 σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο θνησιμότητας, αποκαλύπτοντας τη σημασία της μιτοχονδριακής επιγενετικής στη γήρανση και την επιβίωση.



Εικόνα 4.4 Γράφημα κατανομής 6mA σε mtDNA.³⁸⁷

Μελέτη του προτύπου μεθυλίωσης των ανθρώπινων μιτοχονδριακών γονιδίων MT-RNR1 και MT-RNR2, τα οποία κωδικοποιούν για τις ριβοσωμικές υπομονάδες 12S και 16S αντίστοιχα (που συνθέτουν τα μιτο-ριβοσώματα), αποκάλυψε μεθυλίωση της CpG θέσης 932 στο MT-RNR1³⁹⁵.

Προκειμένου να ερμηνευτούν και να συσχετιστούν καλύτερα οι μεταβολές στα επίπεδα μεθυλίωσης κατά τη γήρανση, ομαδοποιήθηκαν οι ηλικιακές τάξεις του δείγματος. Όπως αποκαλύφθηκε, τα ηλικιωμένα άτομα παρουσίαζαν υψηλότερα επίπεδα μεθυλίωσης από τα μεσήλικα ή/και τα νεαρότερα άτομα (εικόνα 4.5), υποδεικνύοντας ότι τα επίπεδα μεθυλίωσης στη θέση 932 του mtDNA μπορεί να αποτελέσουν σημαντικό βιοδείκτη γήρανσης. Η

μεθυλίωση της θέσης 932 πιθανότατα επηρεάζει τη διαμόρφωση της μεταγραφικής διαδικασίας στο mtDNA.

Εντός του MT-RNR1 εντοπίζονται επίσης οι θέσεις M1215 και M1313, των οποίων τα επίπεδα μεθυλίωσης εμφανίζουν αντίστροφη συσχέτιση με την ηλικία και επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως επιγενετικοί δείκτες γήρανσης³⁷³.

Η αποκάλυψη των προτύπων μεθυλίωσης συγκεκριμένων γονιδίων, με καλά καθορισμένο δομικό ή λειτουργικό ρόλο στο μιτοχόνδριο, μπορεί να παρέχει πληροφορίες για τη δομή, τη βιογένεση και τη λειτουργία των συγκεκριμένων οργανιδίων, είναι ωστόσο δύσκολο να επιβεβαιωθεί ότι η μεθυλίωση ασκεί πραγματικά λειτουργικό ρόλο.

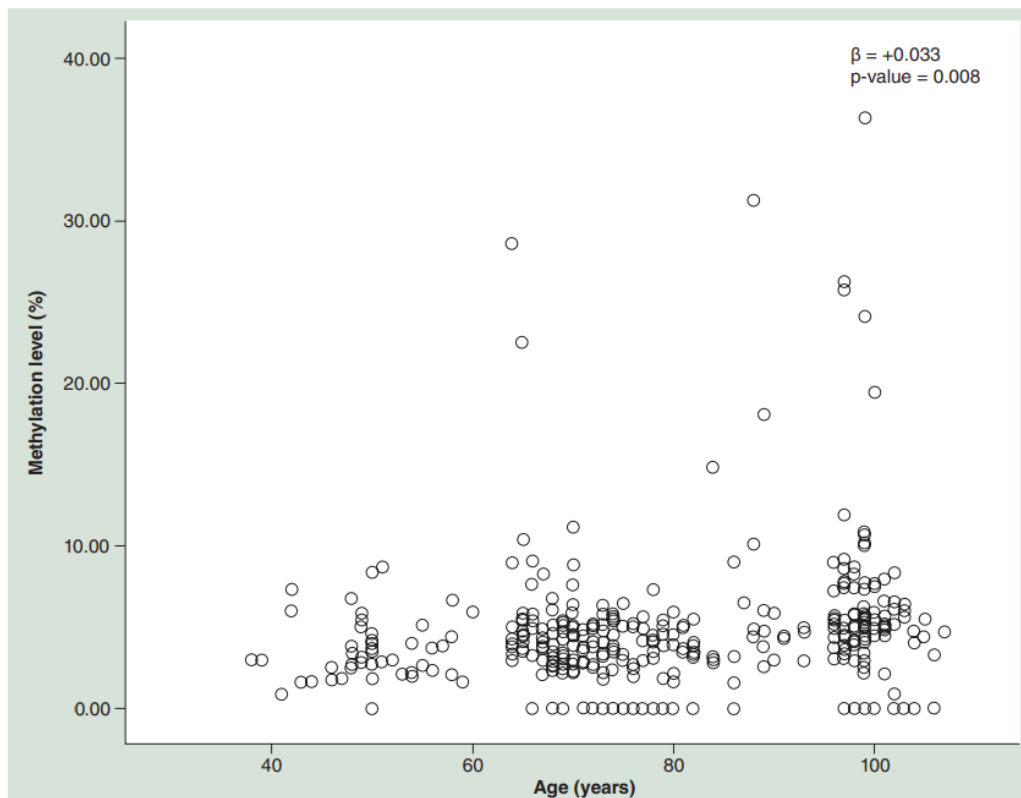
Αν και η πιο αντιπροσωπευτική μεθυλιωμένη βάση στο mtDNA είναι η αδείνη, πρόσφατη εργασία δείχνει συσχέτιση μεταξύ της μεθυλίωσης κυτοσίνης (5 mC) σε CpG και σε μη-CpG θέσεις του mtDNA, σε διαφορετικές περιοχές του εγκεφάλου, με τη γήρανση. Στην μελέτη αυτή εξετάστηκαν 70 μεθυλιωμένες θέσεις κυτοσίνης μιτοχονδριακού DNA, στον επικλινή πυρήνα και τον προμετωπιαίο φλοιό και σε αντίθεση με το γονιδιωματικό DNA, το γηρασμένο mtDNA εμφανίζει μοτίβο υπερμεθυλίωσης³⁹⁶. Η συσχέτιση βασίζεται στο συντονισμό της μιτοχονδριακής δραστηριότητας με τη μεθυλίωση του μιτοχονδριακού DNA και τη δράση α-κετογλουταρικού³⁹⁷. Λόγω εξασθένησης της μιτοχονδριακής δραστηριότητας κατά τη γήρανση, τα μιτοχόνδρια χάνουν σταδιακά την ικανότητα να εξαλείφουν τη μεθυλίωση στις κυτοσίνες. Αυτό οφείλεται στη μείωση του α-κετογλουταρικού, το οποίο δρα ως συμπάραγοντας των ενζύμων TET που ρυθμίζουν την απομεθυλίωση³⁹⁸.

Άλλη μελέτη συσχετίζει επίσης την αύξηση των επιπέδων μεθυλίωσης του DNA με τη γήρανση αλλά και με τη χορήγηση δίαιτας χαμηλών θερμίδων, υποδεικνύοντας ότι ηλικία και διατροφή καθορίζουν την αύξηση μεθυλίωσης και τη συνεπακόλουθη καταστολή των γονιδίων που εμπλέκονται στη μιτοχονδριακή βιογένεση³⁹⁹.

Κατά τη γήρανση, η μιτοχονδριακή αύξηση στο ROS, έχει αναφερθεί ότι, επηρεάζει το mtDNA. Συγκεκριμένα, η επαγόμενη από το ROS βλάβη του mtDNA, προκαλεί μειωμένη παραγωγή ή τροποποίηση των ενζύμων που εμπλέκονται στην οξειδωτική φωσφορυλίωση, επιδεινώνοντας τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και ενισχύοντας με αυτό τον τρόπο, την κυτταρική γήρανση⁴⁰⁰.

Τέλος, έχει επίσης παρατηρηθεί ότι οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και οι γενετικές τροποποιήσεις του πυρηνικού DNA επιφέρουν αλλαγές στα πρότυπα μεθυλίωσης του mtDNA

401 402



Εικόνα 4.5 Διάγραμμα διασποράς των τιμών μεθυλίωσης στη θέση 932, σε σχέση με την ηλικία ³⁹⁵

4.2 Ο ρυθμιστικός ρόλος των μιτοχονδριακών μη κωδικοποιητικών RNA (ncRNAs)

Ένας άλλος κλάδος της επιγενετικής ρύθμισης περιλαμβάνει τη δράση των μη κωδικοποιητικών RNA (ncRNAs), μιας κατηγορίας αλληλουχιών ριβονουκλεϊκών οξέων που δεν φέρουν πληροφορίες μετάφρασης πρωτεΐνης αλλά εμπλέκονται στη ρύθμιση γονιδίων και πρωτεϊνών. Με βάση το μήκος τους, τα ncRNA χωρίζονται σε μακρά μη κωδικοποιητικά RNA (lncRNA), τα οποία είναι μεγαλύτερα από 200 nts και μικρά ncRNA (sncRNAs), τα οποία είναι μικρότερα από 200 nts και περιλαμβάνουν miRNA, cirRNA και piRNA. Η εμπλοκή των ncRNA στη μιτοχονδριακή ομοιόσταση που μπορεί να οδηγήσει σε διαδικασία γήρανσης έχει επιβεβαιωθεί μέσα από μια σειρά επιστημονικών μελετών.

4.2.1 miRNAs

Στα μονοπύρρηνα κύτταρα (PBMC) η έκφραση της Sirt1 φαίνεται να επηρεάζεται από την παρουσία των miR-9, miR-34a και του miR-181a. Αύξηση των miR-9 και miR-34a κατά τη γήρανση μειώνει τη συγκέντρωση Sirt1, στοχεύοντας το mRNA της. Προφανώς η υπερέκφραση σιρτουινών στα PBMC δεν αποτελεί προϋπόθεση για τη μακροζωία στον άνθρωπο, αλλά η μείωση τους μπορεί να αποτελέσει αίτιο δυσλειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος στα ηλικιωμένα άτομα ⁴⁰³. Η μείωση των miR-181a, που παρατηρείται κατά τη γήρανση, συνδέεται με προβλήματα ενεργοποίησης των T-λεμφοκυττάρων στα ηλικιωμένα άτομα ⁴⁰⁴. Ενίσχυση του miR-181a, αυξάνει την έκφραση μιτοχονδριακών γονιδίων όπως COX1 και ND-1, ενώ η μείωση του miR-181a με την ηλικία σχετίζεται με αυτοφαγία και συσσώρευση δυσλειτουργικών μιτοχονδρίων, γεγονότα που το καθιστούν σημαντικό ρυθμιστή της μιτοχονδριακής δυναμικής, ιδιαίτερα κατά τη γήρανση των σκελετικών κυττάρων ⁴⁰⁵.

Εκτεταμένες έρευνες έχουν δείξει τη σχέση μεταξύ παραλλαγών των miRNAs ειδικά για τα μιτοχόνδρια (mitomiRs) και της κυτταρικής γήρανσης. Αυτές οι παραλλαγές στα mitomiRs μπορούν να οδηγήσουν στη συσσώρευση του mtROS, στην ενεργοποίηση της μιτοχονδριακής αποπτωτικής οδού, στη φλεγμονή και στις αλλαγές στη δυναμική των μιτοχονδρίων, με καταλυτικό ρόλο στην πορεία της κυτταρικής γήρανσης ⁴⁰⁶.

Ένα βασικό χαρακτηριστικό της γήρανσης είναι η δυσλειτουργία του μιτοχονδριακού συμπλέγματος I, η οποία καταλήγει σε παραγωγή mtROS ^{407 408}. Κατά τη γήρανση των ανθρώπινων δερματικών ινοβλαστών, λόγω έκθεσης σε υπεριώδη ή γ-ακτινοβολία, τα επίπεδα του miR-15b μειώνονται. Αυτό το γεγονός αυξάνει την έκφραση του SIRT4 και επάγει τη δημιουργία mtROS, μειώνοντας το δυναμικό της μιτοχονδριακής μεμβράνης και αλλάζοντας την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων που κωδικοποιούνται από τον πυρήνα, καθώς και των συστατικών του SASP ⁴⁰⁹.

Τα miR-183-5p, miR-199b-5p, miR-200b-3p και miR-205-5p εμφανίζουν αύξηση σε νεαρά ποντίκια, ηλικίας 3 μηνών, συμμετέχοντας στη διαδικασία παλινδρόμησης του θύμου αδένος, που σταδιακά ατροφεί και χάνει τη δομή και τη λειτουργία του κατά τη γήρανση, φαινότυπος που έχει συνδεθεί με μείωση της ανοσοεπιτήρησης και αύξηση της συχνότητας εμφάνισης λοιμωδών νοσημάτων και καρκίνου στους ηλικιωμένους ⁴¹⁰.

Μελέτες έχουν αποκαλύψει χιλιάδες των snRNA που κωδικοποιούνται από το μιτοχονδριακό γονιδίωμα ποντικού και ανθρώπου, που προήλθαν κυρίως από την αισθητική μεταγραφή των μιτοχονδριακών γονιδίων. Μεταβολές ορισμένων από τα επίπεδα των μιτοχονδριακών

sncRNAs, αναφέρεται ότι, σχετίζονται με μη φυσιολογική γονιδιακή έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων³⁶⁷ του ξενιστή τους.

Εντός της μιτοχονδριακής μήτρας έχει εντοπιστεί το miRNA-2392 που αλληλεπιδρά με τα μιτοχονδριακά mRNA για να περιορίσει τη μετάφρασή τους⁴¹¹. Ομοίως, το miRNA-181c, που μεταγράφεται στον πυρήνα, μπορεί να μεταφερθεί εν συνεχεία στα μιτοχόνδρια, όπου εμποδίζει τη μετάφραση της κωδικοποιημένης από mtDNA, κυτοχρωματικής οξειδάσης I (COX1), επηρεάζοντας έτσι την οξειδωτική φωσφορυλίωση⁴¹².

Σε μιτοχόνδρια γηρασμένων ενδοθηλιακών κύτταρων έχει παρατηρηθεί αυξημένη συγκέντρωση των miR-181a, -34a και -146a, που δρουν μειώνοντας το Bcl-2, ενεργοποιώντας τις κασπάσες και ρυθμίζοντας την ευαισθησία στην απόπτωση⁴⁰⁶. Με βιοπληροφορική ανάλυση, επιβεβαιώθηκε ο ρόλος των παραπάνω mitomiRs, που σχετίζονται με τη φλεγμονή στον άνθρωπο, κατά τη διάρκεια της κυτταρικής γήρανσης μέσω της ρύθμισης μελών της οικογένειας Bcl-2⁴¹³.

Επιτάχυνση της φλεγμονής και έκκριση προφλεγμονωδών παραγόντων σε γηρασμένα κύτταρα, διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην εμφάνιση ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση. Τα mitomiRs let7b, miR-1 και miR-146a-5p πιθανότατα έχουν κάποιο ρόλο στην ενεργειακή, οξειδωτική και φλεγμονώδη κατάσταση των γηρασμένων κυττάρων⁴¹⁴.

Μεταξύ αυτών, το miR-146a σχετίζεται με τη γήρανση που προκαλείται από φλεγμονή⁴¹⁴, σε διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπινων ινοβλαστών, των κυττάρων του δοκιδωτού πλέγματος και των ενδοθηλιακών κυττάρων^{415 416}.

Η στοχευμένη παροχή του miR-146a, μέσω νανοσωματιδίων, τόσο in vitro όσο και in vivo⁴¹⁷, επιβεβαιώνει την παρατήρηση ότι αύξηση του miR-146a μπορεί να περιορίσει την παραγωγή φλεγμονωδών μεσολαβητών σε γηρασμένα κύτταρα, περιορίζοντας έτσι την επιβλαβή επίδρασή τους στους γύρω ιστούς⁴¹⁸. Η μιτοχονδριακή δυναμική είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας και παίζει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση της γήρανσης και των σχετικών κυτταρικών διεργασιών.

Το οξειδωτικό στρες, αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της γήρανσης, διότι καταστρέφει τα μιτοχόνδρια, δημιουργώντας υπερβολικά mtROS, προκαλώντας κυτταρική βλάβη και ενεργοποιώντας αποπτωτικές οδούς. Το miR-4485 αλληλεπιδρά άμεσα με το μιτοχονδριακό 16S rRNA, επηρεάζοντας την προ-rRNA επεξεργασία και τη σύνθεση πρωτεϊνών, ρυθμίζοντας με αυτό τον τρόπο τη δραστηριότητα του μιτοχονδριακού συμπλέγματος I, τα επίπεδα ATP, ROS και προκαλώντας απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα⁴¹⁹.

Πολυάριθμες μελέτες δείχνουν ότι miRNAs που σχετίζονται με τα μιτοχόνδρια, ρυθμίζουν την καθοριστική ισορροπία σύντηξης και σχάσης των μιτοχονδρίων, αλληλεπιδρώντας με βασικές πρωτεΐνες του μηχανισμού, όπως οι μιτοφουσίνες MFN1 και MFN2, η πρωτεΐνη οπτικής ατροφίας 1 (OPA1) και ο παράγοντας μιτοχονδριακής σχάσης (MFF) (Ni et al., 2015), επηρεάζοντας έτσι τη λειτουργία των μιτοχονδρίων. Το miR-20b περιορίζει την έκφραση των MFN1 και MFN2 ⁴²⁰, ενώ το miR-214 στοχεύει το MFN2, διαταράσσοντας έτσι την ισορροπία σύντηξης-σχάσης μιτοχονδρίων, με αποτέλεσμα εξασθενημένη σύντηξη και αυξημένο κατακερματισμό ⁴²¹. Μείωση του miR-15b, ενισχύει την έκφραση της SIRT4 που οδηγεί σε αύξηση του L-OPA1 και ενίσχυση της μιτοχονδριακής σύντηξης ⁴²². Αντιθέτως το miR-200a-3p δεσμεύει παράγοντες μιτοχονδριακής σχάσης, επάγοντας την επιμήκυνση των μιτοχονδρίων και αλλάζοντας τη συνολική μιτοχονδριακή δυναμική.

4.2.2 lncRNAs

Κατά τη γήρανση, τροποποιείται επίσης η συγκέντρωση κάποιων μακρών μορίων μη κωδικοποιητικών RNA (lncRNA).

Καταστολή του H19 μπλοκάρει τον κυτταρικό κύκλο. Συγκεκριμένα, μείωση των επιπέδων του H19 φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί το STAT3, που με τη σειρά του, ενισχύει τη μεταγραφή των p16 και p21 που αναστέλλουν την κυτταρική διαίρεση και επάγουν την κυτταρική γήρανση ⁴²³.

Αύξηση των επιπέδων του NEAT1, προκαλεί βλάβη στη μιτοχονδριακή λειτουργία και επάγει τη γήρανση των μεσεγχυματικών βλαστικών κυττάρων του μυελού των οστών. Καταστολή του NEAT1 προκαλεί αύξηση της Sirt3 ⁴²⁴ η οποία, όπως συζητήθηκε προηγουμένως, είναι υπεύθυνη για την απακευλίωση του TFAM ⁴²⁵.

Σύμφωνα με μελέτες, το lncRNA ENSMUST00000134285, ελέγχει τη διαδικασία της απόπτωσης σε κύτταρα του μυοκαρδίου θηλαστικών, καθώς σε γηρασμένους ιστούς, η έκφραση του αυξάνεται. Εν συνεχεία, αυτό αναστέλλει τη δραστηριότητα του MAPK11, βασικού μορίου της κυτταρικής σηματοδότησης, και ξεκινά την αποπτωτική διαδικασία ⁴²⁶.

Τέλος, σε κύτταρα ήπατος γηρασμένων ποντικών εντοπίστηκαν αυξημένα επίπεδα των lncRNA Meg3, Rian και Mirg που συμμετείχαν σε μεταβολικές αλλαγές, αυξημένη φλεγμονή, και καταστολή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων ⁴²⁷.

Τα παραπάνω παραδείγματα υπογραμμίζουν το ρόλο των lncRNAs ως σημαντικών, αν και απροσδόκων, συντελεστών στη ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων στο μιτοχόνδριο.

Εντοπίστηκαν επίσης 4 lncRNAsmtDNA, που ονομάζονται SncmtRNA-1/2 και ASncmtRNA-1/2, μεταξύ των οποίων, το lncRNA ASncmtRNA-2 επάγεται κατά τη διάρκεια της γήρανσης

και της αντιγραφικής γήρανσης στα ενδοθηλιακά κύτταρα, αλλά όχι στα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων (VSMC). Το ASncmtRNA-2 μπορεί να είναι ο πρόδρομος των hsa-miR-4485 και hsa-miR-1973, τα οποία προέρχονται τουλάχιστον εν μέρει από ένα μιτοχondριακό μετάγραφο. Αυτά τα δύο microRNA στοχεύουν το p16 και προκαλούν διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2-M, επηρεάζοντας έτσι την γήρανση ⁴²⁸.

Ταυτοποιήθηκαν ακόμη τρία μιτοχondριακά lncRNA, τα lncND5, lncND6 και lncCyt b, τα οποία μεταγράφηκαν από τον ελαφρύ κλώνο mtDNA-L ενώ η έκφραση τους είναι υπό τον έλεγχο πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το nDNA. Σε αυτή τη μελέτη, διαπιστώθηκε ότι η αφθονία των τριών lncRNAs ήταν συγκρίσιμη, με τα συμπληρωματικά mRNA τους σε έναν συγκεκριμένο κυτταρο/ιστο-ειδικό τρόπο, υποδεικνύοντας πιθανό ρόλο αυτών στη ρύθμιση της έκφρασης των μιτοχondριακών γονιδίων⁴²⁹. Ένα άλλο παράδειγμα είναι το κωδικοποιημένο από πυρηνικό DNA lncRNA RMRP, το οποίο μπορεί να μεταφερθεί στα μιτοχόνδρια υπό τον έλεγχο δύο πρωτεϊνών που δεσμεύουν το RNA, του ανθρώπινου αντιγόνου R (HuR) και του παράγοντα δέσμευσης αλληλουχίας RNA πλούσιου σε G (GRSF1). Εξάντληση του GRSF1, συνεπάγεται μειωμένο επίπεδο μιτοχondριακού lncRMRP οδηγώντας σε αλλαγή του ρυθμού κατανάλωσης μιτοχondριακού οξυγόνου και εκκίνηση της αντιγραφής του μιτοχondριακού DNA⁴³⁰. Το lncRNA MALAT1 βρίσκεται στα μιτοχόνδρια και ασκεί έλεγχο στις διαδικασίες μεταγραφής και μετάφρασης μιτοχondριακών γονιδίων ⁴³¹.

Εκτός τα lncRNA, ορισμένα από τα snRNA στα μιτοχόνδρια μπορεί επίσης να επηρεάσουν την έκφραση μιτοχondριακών γονιδίων, όπως αναφέρθηκε παραπάνω ⁴³³.

4.3 Ο ρυθμιστικός ρόλος των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (PTMs) σε πρωτεΐνες που σχετίζονται με mtDNA

Κατ' αναλογία με τον πυρήνα, αν και απουσία ιστονών, το mtDNA βρίσκεται οργανωμένο σε μια δομή πρωτεΐνης-DNA που ονομάζεται νουκλεοειδές. Οι μιτοχondριακές πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε βασικές δραστηριότητες που σχετίζονται με το mtDNA όπως η μεταγραφή και η αντιγραφή, υφίστανται επιγενετικές τροποποιήσεις παρόμοιες με εκείνες των ιστονών.

Ο μιτοχondριακός μεταγραφικός παράγοντας A (TFAM) έχει ουσιαστικό ρόλο στη συντήρηση, την έκφραση και την οργάνωση του μιτοχondριακού DNA, καθώς απαιτείται για την αποτελεσματική αναγνώριση του υποκινητή από τη μιτοχondριακή RNA πολυμεράση, δεσμεύει και επάγει σημαντικές αλλαγές διαμόρφωσης στο mtDNA. Είναι, ωστόσο, εκτεθειμένος σε διάφορες τροποποιήσεις που μπορεί να επηρεάζουν την αποτελεσματικότητά

δέσμευσής του στο mtDNA, συμπεριλαμβανομένης της ακετυλίωσης, της μεθυλίωσης και της φωσφορυλίωσης ⁴³².

Επιγενετικές τροποποιήσεις στο TFAM ή/και σε άλλα πρωτεϊνικά μόρια που σχετίζονται με τη μεταγραφή, όπως η μιτοχονδριακή RNA πολυμεράση (POLRMT) και ο μιτοχονδριακός μεταγραφικός παράγοντας B2 (TFB2M), μπορεί να επηρεάσουν την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων.

Αξίζει να σημειωθεί ότι η αναλογία επιπέδων έκφρασης TFAM και TFB2M/POLRMT είναι σημαντική για την ενίσχυση της μεταγραφής από τους μιτοχονδριακούς υποκινητές LSP, HSP1 και HSP2 ⁴³³.

Μελέτες στη *Drosophila* έχουν δείξει ότι το TFAM και το mtDNA εμφανίζουν μια πιο συμπαγή δομή στους μύες των ηλικιωμένων μυγών από ότι στα νεαρά άτομα. Αυτή η πυκνή διαμόρφωση παρεμποδίζει το μεταγραφικό μηχανισμό και τελικά μειώνει την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων. Η *in vivo* δομή TFAM-νουκλεοειδούς αλλάζει κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής της *Drosophila* (σε ηλικιακό παράθυρο από 1 ημέρας έως 12 εβδομάδων) με τα σύμπλοκα να γίνονται σταδιακά μικρότερα και πιο συμπαγή, κατά τη γήρανση ⁴³⁴.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η υπερέκφραση του TFAM μειώνει τη διάρκεια ζωής των μυγών υπό κανονικές συνθήκες, ενώ σε περιβάλλον 1% H₂O₂ την αυξάνει. Στις μύγες που υπερεκφράζουν TFAM δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στον αριθμό αντιγράφων ή στη μεταγραφή του mtDNA. Επομένως, παρόλο που η περίσσεια TFAM έχει αρνητική επίδραση στη διάρκεια ζωής, το TFAM διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στη διατήρηση των μιτοχονδρίων σε καταστάσεις σοβαρού οξειδωτικού στρες ⁴³⁵.

Το TFAM μπορεί να διαδραματίσει ρόλο στη γήρανση. Αν και οι μελέτες που το συσχετίζουν με τη γήρανση στα θηλαστικά είναι περιορισμένες, είναι γνωστό ότι σε αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης TFAM, καταστέλλεται η μιτοχονδριακή μεταγραφή. ⁴³⁶

Είναι ευρέως γνωστή η αύξηση της φλεγμονώδους κατάστασης, η οποία εμπλέκει αρκετές κυτοκίνες, συμπεριλαμβανομένης της ιντερφερόνης (IFN), κατά τη γήρανση, με το TFAM να συμβάλλει στην έκρηξη φλεγμονής που παρατηρείται ⁴³⁷.

Συγκεκριμένα, τα χαμηλά επίπεδα του TFAM προκαλούν απελευθέρωση mtDNA στο κυτταρόπλασμα, γεγονός που μπορεί να ενεργοποιήσει τη σηματοδότηση της κυκλικής συνθάσης GMP-AMP (cGAS) και την παραγωγή ιντερφερόνης-α (IFN α), με αποτέλεσμα τη φλεγμονή. Τα DNMT3A και TET2 συμμετέχουν στη ρύθμιση της έκφρασης του TFAM στα μακροφάγα, και η μείωση της συγκέντρωσης των DNMT3A και/ή TET2 οδηγεί επίσης σε μείωση της έκφρασης του TFAM ⁴³⁸.

Λεμφοκύτταρα νεαρών ποντικών με σίγηση του Tfam (knockout) εμφανίζουν χαρακτηριστικά μιτοχondριακής δυσλειτουργίας, ανάλογα αυτών που παρατηρούνται σε ηλικιωμένα ποντίκια (22 μηνών) άγριου τύπου. Αυτή η μιτοχondριακή φθορά χαρακτηρίζεται από αυξημένη έκκριση φλεγμονωδών κυτοκινών, όπως η ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου-α (TNF-α) ⁴³⁹.

Μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις του TFAM μπορεί να επηρεάσουν την ικανότητα δέσμευσής του στο mtDNA, επομένως και τη μεταγραφή ή/και την αντιγραφή του μιτοχondριακού DNA.

Οι μιτοχondριακές απακετυλάσες (SIRT3-5) μπορεί να έχουν σημαντική συνεισφορά στη διαδικασία. Συγκεκριμένα η απακετυλάση SIRT3 μπορεί να αφαιρέσει ομάδες ακετυλίου από το TFAM, ρυθμίζοντας θετικά την έκφραση του μιτοχondριακού γονιδίου ⁴⁴⁰. Άλλα μέλη της οικογένειας των σιρτουϊνών, όπως το SIRT4 και το SIRT5, είναι γνωστό ότι τροποποιούν τις μιτοχondριακές πρωτεΐνες μέσω διεργασιών όπως η ADP-ριβοζυλίωση, η απομαλонуλίωση και η αποηλεκτρυλίωση ⁴⁴¹. Αυτές οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις παρέχουν στο κύτταρο έναν διαφοροποιημένο μηχανισμό για τον συντονισμό της έκφρασης του μιτοχondριακού γονιδίου και των σχετικών λειτουργιών, καλύπτοντας τις εξελισσόμενες απαιτήσεις του κυττάρου.

Τόσο τα επίπεδα γονιδιακής έκφρασης όσο και τα επίπεδα των μιτοχondριακών σιρτουϊνών γενικά μειώνονται με την ηλικία στα θηλαστικά, αλλά είναι ασαφές εάν οι σιρτουΐνες ρυθμίζουν ενεργά τη γήρανση στους ανθρώπους.

Σύμφωνα με τη βάση δεδομένων Aging Atlas, που περιλαμβάνει δεδομένα -omics που σχετίζονται με τη γήρανση, τα επίπεδα έκφρασης SIRT3 μειώνονται σε ποντίκια και ανθρώπινα κύτταρα, και το SIRT4 εμφανίζει μείωση σε κύτταρα ήπατος ηλικιωμένου ποντικού ⁴⁴².

Καθώς το SIRT3 ρυθμίζει ενεργά το οξειδωτικό στρες, είναι πιθανόν να μετριάξει και την κυτταρική γήρανση.

Αναλυτικότερα το SIRT3 απακετυλιώνει και ενεργοποιεί την 8-οξογουανινο-DNA γλυκοζυλίωση 1 (OGG1), που είναι υπεύθυνη για την επιδιόρθωση του mtDNA ⁴⁴³ και προστατεύει από το οξειδωτικό στρες ^{443 444}. Το SIRT3 αυξάνεται όταν το αντιοξειδωτικό γονίδιο καταστέλλεται ⁴⁴⁵ σε κυτταρική σειρά ανθρώπινου κοκκιδώδους ιστού, ενώ σε κυτταρική σειρά ανθρώπινων μεσεγχυματικών κυττάρων (hMSC) ανταγωνίζεται τη γήρανση σταθεροποιώντας την ετεροχρωματίνη, ρόλος που προσάπτεται επίσης και στη SIRT7 ^{446 447}. Επιπλέον, το SIRT3 απακετυλιώνει τη μιτοχondριακή υπεροξειδική δισμουτάση 2 (SOD2) και

την ισοκιτρική αφυδρογονάση 2 (IDH2), που έχουν αντιοξειδωτική δράση ^{448 449}. Τέλος, ενεργοποιεί το GDH, που επάγει τον καταβολισμό της γλουταμίνης και τη δημιουργία αντιοξειδωτικών ⁴⁵⁰.

Αντίθετα, η υπερέκφραση Sirt4 σε ωοκύτταρα ποντικού οδηγεί σε αυξημένα επίπεδα ROS, χαμηλότερο ATP και μιτοχονδριακή βλάβη. Αξίζει να σημειωθεί ότι, τα επίπεδα SIRT4 εμφανίζουν αύξηση στα ωοκύτταρα ηλικιωμένων ποντικών, και μείωση σε εγκεφάλους αρουραίων ⁴⁵¹. Επιπλέον, η καταστολή του SIRT4 αποκαθιστά εν μέρει τους ανεπαρκείς (deficient) φαινότυπους των ωοκυττάρων σε ηλικιωμένα ποντίκια ⁴⁵². Εκτός από τα ωοκύτταρα ποντικών, μια άλλη μελέτη σε καρδιακό ιστό επίμυος δείχνει ότι το SIRT4 αναστέλλει την ενεργοποίηση SOD2, που προκαλείται από το SIRT3, και έτσι αυξάνει τα επίπεδα ROS και καταλήγει σε καρδιακή ανεπάρκεια ⁴⁵³. Επομένως η δράση της SIRT4 ενισχύει τα επίπεδα ROS, σε αντίθεση με την SIRT3.

Παρόμοια με το SIRT3, το SIRT5 μειώνει επίσης το ROS ⁴⁵⁴.

Συνολικά, ο ρόλος των μιτοχονδριακών σιρτουινών στη γήρανση ⁴⁵⁵ είναι οι μεν SIRT5 και SIRT3 να προστατεύουν τα κύτταρα από το οξειδωτικό στρες, ενώ το SIRT4 να το εντείνει.

Συμπερασματικά, οι μιτοχονδριακοί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τα ncRNAs και τις τροποποιήσεις των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, προσφέρουν ένα εξελιγμένο, πολυεπίπεδο σύστημα ρύθμισης για τη μεταγραφή, τη μετάφραση και τις σχετικές διεργασίες των μιτοχονδριακών γονιδίων. Αυτό το σύστημα διασφαλίζει την προσαρμοστικότητα του κυττάρου στις ποικίλες ανάγκες του. Συγκεκριμένα, οι διαταραχές σε αυτά τα μιτοχονδριακά μονοπάτια συνδέονται όλο και περισσότερο με μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες σε διάφορες ανθρώπινες ασθένειες ⁴⁰¹. Κατά συνέπεια, η πλήρης κατανόηση αυτών των διαδικασιών είναι ζωτικής σημασίας για την αποκάλυψη της παθογένεσης σχετικών νόσων και τον εντοπισμό νέων οδών για θεραπευτική παρέμβαση.

Είναι, επίσης, πιθανό οι επιγενετικοί μηχανισμοί να αλληλεπιδρούν προκειμένου να ρυθμίζουν από κοινού την έκφραση μιτοχονδριακών γονιδίων, όπως για παράδειγμα η μεθυλίωση του mtDNA με τις μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις του TFAM ³⁸⁵.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η γήρανση είναι μια πολύπλευρη βιολογική διαδικασία που καθοδηγείται από έναν συνδυασμό γενετικών, περιβαλλοντικών και επιγενετικών παραγόντων και στην οποία τα μιτοχόνδρια, διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο.

Το μιτοχόνδριο συμμετέχει στην επιβίωση του κυττάρου και του οργανισμού, με λειτουργίες που εκτείνονται πολύ πέρα από τον γνωστό ρόλο τους στην παραγωγή ενέργειας, καθώς φιλοξενούν ένα μοναδικό γονιδίωμα που μπορεί να εκτεθεί σε μια ποικιλία επιγενετικών μηχανισμών ανάλογων με αυτούς που ελέγχουν την έκφραση πυρηνικών γονιδίων.

Πρόσφατες μελέτες στην επιγενετική έχουν δείξει ότι οι επιγενετικές τροποποιήσεις του mtDNA μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση και στη γήρανση. Ο αναπτυσσόμενος τομέας της μιτοεπιγενετικής εμβαθύνει σε αυτούς τους πολύπλοκους ρυθμιστικούς μηχανισμούς.

Αυτή η εργασία στόχο είχε να συνοψίσει τον ρόλο της επιγενετικής των μιτοχονδρίων στη διαδικασία γήρανσης εστιάζοντας σε μηχανισμούς όπως η μεθυλίωση του mtDNA, η επίδραση των ncRNAs και οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, που ρυθμίζουν τη μεταγραφή, την αντιγραφή και τον μεταβολισμό των μιτοχονδριακών γονιδίων ως απάντηση στις εσωτερικές απαιτήσεις αλλά και στα εξωτερικά ερεθίσματα που δέχεται το κύτταρο.

Η μεθυλίωση του DNA, έχει μεν μελετηθεί ευρέως στο nDNA, αλλά μόλις πρόσφατα αποκαλύφθηκε η ενεργός δράση της και στο mtDNA^{456 457}. Συγχρόνως, τα μη κωδικοποιητικά RNA επηρεάζουν την έκφραση του mtDNA, είτε με την απευθείας ρύθμιση γονιδίων που εντοπίζονται στο μιτοχόνδριο, είτε μέσω της δράσης τους σε πυρηνικά γονίδια που εμπλέκονται σε μιτοχονδριακές διεργασίες. Πρόσφατες αναλύσεις του μιτοχονδριακού μεταγραφώματος αποκάλυψαν ακόμη, την ύπαρξη ολιγοπεπτιδίων γνωστών ως MDPs (mitochondria-derived peptides), που κωδικοποιούνται από μικρά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης (sORFs) των γονιδίων του mtRNA και συμμετέχουν σε κυτταροπροστατευτικές, αντι-αποπτωτικές, αντι-φλεγμονώδεις και αντι-οξειδωτικές λειτουργίες⁴⁵⁸.

Η φυσιολογική γήρανση συνοδεύεται από αναδιαμόρφωση των προτύπων μεθυλίωσης του mtDNA⁴⁵⁹.

Συνολικά, το mtDNA τείνει να υπερμεθυλιώνεται με την ηλικία, σε αντίθεση με την γενικότερη υπομεθυλίωση που παρατηρείται στο πυρηνικό DNA⁴⁶⁰, με συγκεκριμένες θέσεις CpG να παρουσιάζουν υπο- ή υπερμεθυλίωση που σχετίζεται με την ηλικία⁴⁶¹. Αυτή η μιτοχονδριακή μετατόπιση πιθανότατα μεταβάλλει την έκφραση των μιτοχονδριακών γονιδίων και τον μεταβολισμό κατά τη διάρκεια της ζωής.

Η γήρανση αλλάζει επίσης τα σημάδια των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών και τα ncRNA. Για παράδειγμα, τα μειωμένα επίπεδα NAD⁺ μπορεί να μειώσουν τη δραστηριότητα της αποακετυλάσης SIRT3, αυξάνοντας τις ακετυλιωμένες πρωτεΐνες όπως το TFAM για την καταστολή της μεταγραφής των μιτοχονδριακών γονιδίων⁴⁶². Τροποποιήσεις που σχετίζονται με αλλαγές στην στόχευση και μεταφορά του μιτοχονδριακού miRNA κατά τη γήρανση, θα μπορούσαν επίσης να διαταράξουν τη μιτοχονδριακή ομοιόσταση⁴⁶³. Συνολικά, τα τροποποιημένα μιτοχονδριακά μοτίβα φαίνεται να συμβάλλουν στη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία που κρύβεται πίσω από την κυτταρική γήρανση (πίνακας 5.1).

Στόχος	Τροποποίηση	Αποτέλεσμα	Οργανισμός	Βιβλιογραφία
TFAM	Συμπύκνωση δομής νουκλεοειδούς	↓ συσταλτικότητας	<i>Drosophila</i> Μυϊκός ιστός	⁴³⁴
	↑	↓ μεταγραφής	<u>Θηλαστικά</u>	⁴³⁶
	↓	↑ διαφυγής mtDNA στο κυτταρόπλασμα ↑ Κυτοκινών ↑ φλεγμονώδους αντίδρασης		⁴³⁸
	Σίγηση (Knockout TFAM)	↑ έκκρισης φλεγμονώδους κυτοκινών ↑ φαινοτύπου γήρανσης	<u>Επίμνες</u> Λεμφοκύτταρα	⁴³⁹
	Απακετυλίωση μέσω SIRT3	↑ γονιδιακής έκφρασης TFAM ↓ γήρανσης		⁴⁴⁰
mtDNA	↑ 5mC	↓ μεταγραφής μιτοχ. γονιδίων Βλάβη απόκρισης σε οξειδωτικό στρες Επιτάχυνση γήρανσης	<u>Θηλαστικά</u> και <u>Άνθρωπος</u>	³⁷⁷
	Ηλικιοεξαρτώμενη 5mC στον εγκέφαλο	ιστοειδικό για εγκέφαλο μιτοχονδριακό επιγενετικό ρολόι	<u>Άνθρωπος</u>	⁴⁶⁴
D-loop, MT-ND2, MT-ND5	↓ 5hmC	↑ μεταγραφικών επιπέδων μιτοχονδριακών γονιδίων (MT-ND2, MT-ND4, MT-ND4L, MT-ND5) ↑ γήρανσης	<u>Επίμνες</u> Εγκεφαλικός ιστός	³⁷⁴
MT-RNR1 MT-RNR2	↑ 5mC	↑ μεταγραφικών επιπέδων	<u>Άνθρωπος</u> , περιφερικό αίμα	³⁹⁵

		μιτοχονδριακών γονιδίων ↑ γήρανσης		
D-loop, MT-CO1	↓5mC in D-loop	↑ μεταγραφικών επιπέδων μιτοχονδριακών γονιδίων ↑ γήρανσης	<u>Επίμνες</u> Ενδοθηλιακά κύτταρα	⁴⁶⁵
CpG περιοχές του mtDNA	↑ 5mC	↑ 5mC σε δύο θέσεις CpG μέσα στο MT- RNR1 ↓ Γήρανση	<u>Άνθρωπος</u> , περιφερικό αίμα	³⁷³
CpG sites σε γονίδια του mtDNA	↓ 5mC	↓5mC σε τρεις θέσεις (μία από αυτές μέσα στο MT-CO1) σε γηρασμένα κύτταρα	<u>Άνθρωπος</u> Μεσεγχυματικά κύτταρα από καρδιακού ιστού	⁴⁶⁶
D-loop, MT-RNR1, MT-RNR2, ATP	-	Απουσία μεθυλίωσης mtDNA	<u>Επίμνες</u> Ωοκύτταρα	⁴⁶⁷
MT-CO2	↑ 5mC	↓μεταγραφικών επιπέδων MT-CO2 Κατά τη γήρανση	<u>Άνθρωπος</u> Μεσεγχυματικά κύτταρα καρδιακού ιστού	⁴⁶⁸
MT-RNR1	↑ 5mC	↑ Γήρανση		^{395 469}
	↓5mC			⁴⁷⁰
miR-15b	↓	↑ SIRT4 ↑ mtROS ↓δυναμικό μεμβράνης Τροποποίηση μιτοχονδριακών γονιδίων και SASP	<u>Άνθρωπος</u> <u>Δερματικοί</u> <u>ινοβλάστες</u>	⁴²²
miR-181a	↓	Καταστολή Sirt1 Επιτάχυνση γήρανσης Απορρύθμιση ενεργοποίησης T- λεμφοκυττάρων	<u>Άνθρωπος</u>	⁴⁰⁵
			<u>Άνθρωπος</u> <u>Σκελετικοί μύες</u>	⁴⁰⁵
miR-181c (nuclear)	↑	↑ mt-COX1 Πυροδότηση μιτοχ. Δυσλειτουργίας Αλλαγή συμπλόκου IV ↑ mtROS Καρδιακή δυσλειτουργία	<u>Αρουραίος</u> <u>Μυοκύτταρα</u> <u>καρδιακής κοιλίας</u>	^{471,472}
miR-183-5p	↑	Παλινδρόμηση θύμου αδένα	<u>Επίμνες</u>	⁴¹⁰
miR-199b-3p				
miR-205-5p				
miR-200b-3p				

miR-200a-3p	↑	↓ παράγοντα σχάσης (MFF) Διατάραξη ισορροπίας σχάσης - σύντηξης μιτοχονδρίων		473
miR-181a	↑	↓ Bcl-2 Ενεργοποίηση κασπασών ↑ Απόπτωσης	<u>Άνθρωπος</u> Ενδοθηλιακά κύτταρα	406 413
miR-34a				406 413
miR-146a				415 416
miR-146a-5p	↑	↑Οξειδωσης Επιτάχυνση Φλεγμονής		414
miR-1				
let 7b				
hsa-miR-4485	↑	Στόχευση p16 Διακοπή κυττ. κύκλου ↑ γήρανσης		428
hsa-miR-1973				
Meg3	↑	↑ φλεγμονής Διακοπή πολλαπλασιασμού Μεταβολικές αλλαγές	<u>Επίμυες</u> Ιστός Ήπατος	
Rian				
Mirg				
miR-4485	↑	Τροποποίηση 16S rRNA Τροποποίηση δράσης μιτοχ. συμπλόκου I		419
miR-20b	↑	↓ MFN1, MFN2 Διατάραξη ισορροπίας σχάσης - σύντηξης μιτοχονδρίων		420
miR-214	↑	↓ MFN2		421
NEAT1	↑	Βλάβη μιτοχονδριακής λειτουργίας Μετατροπή BMSCs σε κύτταρα λίπους Σκελετική γήρανση	<u>Επίμυες</u>	423
H19	↓	↑ STAT3 φωσφορυλίωσης ↑ p16 και p21 ↓ κυτταρικής διαίρεσης ↑ Ενδοθηλιακή κυτταρική γήρανση	<u>Θηλαστικά και Άνθρωπος</u>	424
ENSMUST000001342 85	↑	Αναστολή MAPK11 Απόπτωση καρδιομυοκυττάρων	<u>Θηλαστικά</u> Μυοκάρδιο	426
ASncmtRNA-2	↑	γήρανση	ενδοθηλιακά κύτταρα	474 428

Πίνακας 5.1

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί, τέλος, μπορούν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους, όπως για παράδειγμα η μεθυλίωση του mtDNA με μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις του TFAM, προκειμένου να ρυθμίζουν συνδιαστικά την έκφραση μιτοχονδριακών γονιδίων ³⁸⁵.

Η επικοινωνία μεταξύ πυρήνα και μιτοχονδρίων είναι επίσης, εξαιρετικά κρίσιμη για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης και τη διασφάλιση της καλής λειτουργίας του οργανισμού. Αυτή η αλληλεπίδραση συμβαίνει σε πολλά διαφορετικά επίπεδα, όπως αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης στο OXPHOS, πυρηνικού παράγοντα-θέσης αναγνώρισης mtDNA στην αντιγραφή και μεταγραφή και πρωτεΐνης-RNA ⁴⁷⁰. Η αλληλεπίδραση ακόμη και μεταξύ επιγενετικών τροποποιήσεων nDNA και mtDNA μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στη γονιδιακή ρύθμιση και στην εκδήλωση σύνθετων χαρακτηριστικών και ασθενειών. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις στο mtDNA μπορούν δυνητικά να επηρεάσουν την έκφραση του πυρηνικού γονιδίου μέσω ανάδρομων μονοπατιών σηματοδότησης και να επηρεάσουν τον κυτταρικό μεταβολισμό, την παραγωγή ενέργειας και τις αποκρίσεις του οξειδωτικού στρες ⁴⁷⁰.

Μελέτη της αλληλεπίδρασης επιγενετικών μηχανισμών μεταξύ mtDNA και nDNA, είναι κρίσιμης σημασίας στις γενετικές αναλύσεις, καθώς παρέχουν πληροφορίες για το πώς οι επιγενετικές αλλαγές στο mtDNA ρυθμίζουν την έκφραση του πυρηνικού γονιδίου και συμβάλλουν στην αύξηση της ευαισθησίας σε ασθένειες. Αυτή η κατανόηση βοηθά στην αποσαφήνιση των υποκείμενων μοριακών μηχανισμών και οδών που εμπλέκονται σε πολύπλοκους φαινοτύπους. Με την ενσωμάτωση των επιγενετικών προτύπων στην ανάλυση, μπορούν να εντοπιστούν πιθανές ρυθμιστικές περιοχές, μη κωδικοποιητικά RNA ή άλλα λειτουργικά στοιχεία μέσα στο mtDNA που συμβάλλουν σε εμφάνιση ασθενειών, βελτιώνοντας την κατανόηση της αιτιολογίας και της παθογένειας της νόσου και δημιουργώντας ευκαιρίες για εξατομικευμένες διαγνωστικές και θεραπευτικές ιατρικές προσεγγίσεις.

Η απορρύθμιση των μιτοχονδριακών οδών συνδέεται όλο και περισσότερο με τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία και μια σειρά ανθρώπινων ασθενειών. Κατά συνέπεια, η οριοθέτηση του μιτοχονδριακού επιγονιδιωματικού τοπίου σε διάφορες καταστάσεις υγείας και ασθένειας αναμένεται να ανοίξει το δρόμο για νέες διαγνωστικές, προληπτικές και θεραπευτικές στρατηγικές για ένα ευρύ φάσμα διαταραχών. Αυτό περιλαμβάνει καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από μιτοχονδριακή βλάβη, όπως νευροεκφυλιστικές ασθένειες, καρκίνος, διαβήτης και καρδιαγγειακές παθήσεις. Οι ρυθμοί έρευνας και ανακάλυψης στο πεδίο της μιτοεπιγενετικής και της μιτοεπιγονιδιωματικής επιταχύνονται μετά από τις συνεχείς εξελίξεις στην τεχνολογία και τις υπολογιστικές μεθοδολογίες. Ταυτόχρονα, η έρευνα με μεταφραστική εστίαση αρχίζει να διερευνά

τις πιθανές κλινικές εφαρμογές αυτών των ανακαλύψεων. Αυτό περιλαμβάνει την ανάπτυξη νέων μιτοχονδριακών βιοδεικτών, καθώς και την προσαρμογή των σχημάτων μιτοχονδριακής διατροφής και άσκησης προσαρμοσμένων στις ατομικές ανάγκες, προαναγγέλλοντας μια νέα εποχή εξατομικευμένης ιατρικής με επίκεντρο τη μιτοχονδριακή υγεία.

Το μέλλον της μιτοεπιγενετικής και της μιτοεπιγονιδιωματικής βρίσκεται στο κατώφλι πρωτοποριακών ανακαλύψεων και καινοτομιών, ωστόσο με πολλά βασικά εμπόδια στον ορίζοντα. Τα μιτοχόνδρια θεωρούνται οι εστίες ενέργειας των κυττάρων και είναι σημαντικά για την παραγωγή ενέργειας μέσω της αναπνοής και της ρύθμισης του κυτταρικού μεταβολισμού. Η συσσώρευση βλάβης στα μιτοχόνδρια μπορεί να μειώσει τον ενεργειακό μεταβολισμό και να αυξήσει την παραγωγή αντιδραστικών οξειδωτικών ειδών (ROS), οδηγώντας σε αλλαγές που σχετίζονται με τη γήρανση. Η έκφραση των μιτοχονδριακών μεθυλοτρανσφερασών έχει αποδειχθεί ότι εξαρτάται από την ηλικία, υποδεικνύοντας ότι τα μιτοχόνδρια εμπλέκονται στην ανάπτυξη χαρακτηριστικών αναπαραγωγής.

Αυτά τα ευρήματα αυξάνουν την πιθανότητα η αποκατάσταση της ορθής μιτοχονδριακής λειτουργίας να είναι μια πιθανή προσέγγιση για την παράταση της ζωής. Επομένως, απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση όσον αφορά τον προσδιορισμό του εάν η άμεση στόχευση της μεθυλίωσης του DNA μπορεί να βελτιώσει τη μιτοχονδριακή βλάβη και να καθυστερήσει την πρόοδο της γήρανσης χρησιμοποιώντας ζωικά μοντέλα. Συμπερασματικά, οι μιτοχονδριακοί μηχανισμοί που περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τα ncRNAs και τις τροποποιήσεις των μιτοχονδριακών πρωτεϊνών, προσφέρουν ένα εξελιγμένο, πολυεπίπεδο σύστημα ρύθμισης για τη μεταγραφή, τη μετάφραση και τις σχετικές διεργασίες των μιτοχονδριακών γονιδίων. Αυτό το σύστημα διασφαλίζει την προσαρμοστικότητα του κυττάρου στις ποικίλες ανάγκες του. Συγκεκριμένα, οι διαταραχές σε αυτά τα μιτοχονδριακά μονοπάτια συνδέονται όλο και περισσότερο με μιτοχονδριακές δυσλειτουργίες σε διάφορες ανθρώπινες ασθένειες⁴⁰¹. Κατά συνέπεια, η πλήρης κατανόηση αυτών των διαδικασιών είναι ζωτικής σημασίας για την αποκάλυψη των περιπλοκών της παθογένεσης της νόσου και για τον εντοπισμό νέων οδών για θεραπευτική παρέμβαση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dong, X., Milholland, B. & Vijg, J. Evidence for a limit to human lifespan. *Nature* 2016 538:7624 **538**, 257–259 (2016).
2. De Benedictis, G., Carrieri, G., Varcasia, O., Bonafè, M. & Franceschi, C. Inherited variability of the mitochondrial genome and successful aging in humans. *Ann N Y Acad Sci* **908**, 208–218 (2000).
3. Kaeberlein, M. It is Time to Embrace 21st-Century Medicine. *Public Policy & Aging Report* **29**, (2019).
4. Hayflick, L. & Moorhead, P. S. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* **25**, (1961).
5. Bourdens, M. *et al.* Short exposure to cold atmospheric plasma induces senescence in human skin fibroblasts and adipose mesenchymal stromal cells. *Sci Rep* **9**, (2019).
6. Neurohr, G. E. *et al.* Excessive Cell Growth Causes Cytoplasm Dilution And Contributes to Senescence. *Cell* **176**, (2019).
7. Gorgoulis, V. *et al.* Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* vol. 179 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.005> (2019).
8. Kwon, S. M., Hong, S. M., Lee, Y. K., Min, S. & Yoon, G. Metabolic features and regulation in cell senescence. *BMB Reports* vol. 52 Preprint at <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2019.52.1.291> (2019).
9. Dolan, D. W. P. *et al.* Integrated Stochastic Model of DNA Damage Repair by Non-homologous End Joining and p53/p21- Mediated Early Senescence Signalling. *PLoS Comput Biol* **11**, (2015).
10. Chapman, J., Fielder, E. & Passos, J. F. Mitochondrial dysfunction and cell senescence: deciphering a complex relationship. *FEBS Letters* vol. 593 Preprint at <https://doi.org/10.1002/1873-3468.13498> (2019).
11. Tai, H. *et al.* Autophagy impairment with lysosomal and mitochondrial dysfunction is an important characteristic of oxidative stress-induced senescence. *Autophagy* **13**, 99–113 (2017).

12. Valieva, Y., Ivanova, E., Fayzullin, A., Kurkov, A. & Igrunkova, A. Senescence-Associated β -Galactosidase Detection in Pathology. *Diagnostics* vol. 12 Preprint at <https://doi.org/10.3390/diagnostics12102309> (2022).
13. de Leeuw, R., Gruenbaum, Y. & Medalia, O. Nuclear Lamins: Thin Filaments with Major Functions. *Trends in Cell Biology* vol. 28 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2017.08.004> (2018).
14. Rocha, A., Dalgarno, A. & Neretti, N. The functional impact of nuclear reorganization in cellular senescence. *Brief Funct Genomics* **21**, (2022).
15. Di Micco, R., Krizhanovsky, V., Baker, D. & d'Adda di Fagagna, F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* vol. 22 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00314-w> (2021).
16. Basisty, N. *et al.* A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development. *PLoS Biol* **18**, (2020).
17. Karin, O. & Alon, U. Senescent cell accumulation mechanisms inferred from parabiosis. *Geroscience* **43**, (2021).
18. McHugh, D. & Gil, J. Senescence and aging: Causes, consequences, and therapeutic avenues. *Journal of Cell Biology* vol. 217 Preprint at <https://doi.org/10.1083/jcb.201708092> (2018).
19. Toussaint, O., Medrano, E. E. & Von Zglinicki, T. Cellular and molecular mechanisms of stress-induced premature senescence (SIPS) of human diploid fibroblasts and melanocytes. *Exp Gerontol* **35**, 927–945 (2000).
20. Bielak-Zmijewska, A., Mosieniak, G. & Sikora, E. Is DNA damage indispensable for stress-induced senescence? *Mech Ageing Dev* **170**, 13–21 (2018).
21. Huang, W., Hickson, L. T. J., Eirin, A., Kirkland, J. L. & Lerman, L. O. Cellular senescence: the good, the bad and the unknown. *Nature Reviews Nephrology* vol. 18 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00601-z> (2022).
22. Jin, K. Modern biological theories of aging. *Aging and Disease* vol. 1 Preprint at <https://doi.org/10.1093/jn/119.6.952> (2010).

23. Weinert, B. T. & Timiras, P. S. Invited review: Theories of aging. *Journal of Applied Physiology* vol. 95 Preprint at <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00288.2003> (2003).
24. Longo, V. D. Programmed longevity, youthspan, and juvenology. *Aging Cell* **18**, (2019).
25. van den Berg, N. *et al.* Longevity defined as top 10% survivors and beyond is transmitted as a quantitative genetic trait. *Nat Commun* **10**, (2019).
26. Melzer, D., Pilling, L. C. & Ferrucci, L. The genetics of human ageing. *Nature Reviews Genetics* vol. 21 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0183-6> (2020).
27. Pinti, M. *et al.* Aging of the immune system: Focus on inflammation and vaccination. *Eur J Immunol* **46**, 2286–2301 (2016).
28. Yin, Z. *et al.* Immune hyperreactivity of Aβ plaque-associated microglia in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* **55**, (2017).
29. Diggs, J. Neuroendocrine (Aging Clock) Theory of Aging. *Encyclopedia of Aging and Public Health* 584–586 (2008) doi:10.1007/978-0-387-33754-8_313.
30. Powers, R. W., Harrison, D. E. & Flurkey, K. Pituitary removal in adult mice increases life span. *Mech Ageing Dev* **127**, (2006).
31. Duran-Ortiz, S., List, E. O., Basu, R. & Kopchick, J. J. Extending lifespan by modulating the growth hormone/insulin-like growth factor-1 axis: coming of age. *Pituitary* vol. 24 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s11102-020-01117-0> (2021).
32. van Heemst, D. Insulin, IGF-1 and longevity. *Aging and Disease* vol. 1 Preprint at (2010).
33. Ferrucci, L., Schrack, J. A., Knuth, N. D. & Simonsick, E. M. Aging and the energetic cost of life. *Journal of the American Geriatrics Society* vol. 60 Preprint at <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2012.04102.x> (2012).
34. Fedintsev, A. & Moskalev, A. Stochastic non-enzymatic modification of long-lived macromolecules - A missing hallmark of aging. *Ageing Res Rev* **62**, 101097 (2020).

35. Bjorksten, J. & Tenhu, H. The crosslinking theory of aging - Added evidence. *Exp Gerontol* **25**, (1990).
36. HARMAN, D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* **11**, 298–300 (1956).
37. Afanas'ev, I. Signaling and damaging functions of free radicals in aging-free radical theory, hormesis, and TOR. *Aging and Disease* vol. 1 Preprint at (2010).
38. Sies, H. & Jones, D. P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol* **21**, 363–383 (2020).
39. Cohen, A. A. *et al.* Beneficial and Detrimental Effects of Reactive Oxygen Species on Lifespan: A Comprehensive Review of Comparative and Experimental Studies. (2021) doi:10.3389/fcell.2021.628157.
40. Kennedy, S. R., Loeb, L. A. & Herr, A. J. Somatic mutations in aging, cancer and neurodegeneration. *Mech Ageing Dev* **133**, (2012).
41. Johnson, A. A., Shokhirev, M. N. & Shoshitaishvili, B. Revamping the evolutionary theories of aging. *Ageing Research Reviews* vol. 55 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.arr.2019.100947> (2019).
42. Medawar PB (1952) An Unsolved Problem of Biology:... - Μελετητής Google. https://scholar.google.com/scholar?hl=el&as_sdt=0%2C5&q=Medawar+PB+%281952%29+An+Unsolved+Problem+of+Biology%3A+An+Inaugural+Lecture+Delivered+at+University+College%2C+London%2C+6+December%2C+1951.+H.K.+Lewis+and+Company.&btnG=.
43. Williams, G. C. Pleiotropy, Natural Selection, and the Evolution of Senescence. *Evolution (N Y)* **11**, 398 (1957).
44. Kirkwood, T. B. L. & Kowald, A. Disposable Soma Aging Theory. *Encyclopedia of Gerontology and Population Aging* 1481–1487 (2021) doi:10.1007/978-3-030-22009-9_40.
45. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* vol. 186 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001> (2023).

46. Andressoo, J.-O. *et al.* An Xpb Mouse Model for Combined Xeroderma Pigmentosum and Cockayne Syndrome Reveals Progeroid Features upon Further Attenuation of DNA Repair. *Mol Cell Biol* **29**, (2009).
47. Méndez-López, I. & Worman, H. J. Inner nuclear membrane proteins: Impact on human disease. *Chromosoma* vol. 121 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s00412-012-0360-2> (2012).
48. Zhang, N. N. *et al.* A Thermostable mRNA Vaccine against COVID-19. *Cell* **182**, 1271-1283.e16 (2020).
49. Sanchez-Contreras, M. & Kennedy, S. R. The Complicated Nature of Somatic mtDNA Mutations in Aging. *Frontiers in aging* **2**, (2022).
50. Gordon, L. B., Rothman, F. G., López-Otín, C. & Misteli, T. Progeria: a paradigm for translational medicine. *Cell* **156**, 400–407 (2014).
51. Blackburn, E. H., Epel, E. S. & Lin, J. Human telomere biology: A contributory and interactive factor in aging, disease risks, and protection. *Science* (1979) **350**, 1193–1198 (2015).
52. Tomás-Loba, A. *et al.* Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer-resistant mice. *Cell* **135**, 609–622 (2008).
53. Muñoz-Lorente, M. A., Cano-Martin, A. C. & Blasco, M. A. Mice with hyper-long telomeres show less metabolic aging and longer lifespans. *Nature Communications* 2019 10:1 **10**, 1–14 (2019).
54. Hetz, C., Zhang, K. & Kaufman, R. J. Mechanisms, regulation and functions of the unfolded protein response. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* vol. 21 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0250-z> (2020).
55. Labbadia, J. & Morimoto, R. I. The biology of proteostasis in aging and disease. *Annu Rev Biochem* **84**, 435–464 (2015).
56. Chondrogianni, N., Sakellari, M., Lefaki, M., Papaevgeniou, N. & Gonos, E. S. Proteasome activation delays aging in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med* **71**, 303–320 (2014).

57. Panwar, V. *et al.* Multifaceted role of mTOR (mammalian target of rapamycin) signaling pathway in human health and disease. doi:10.1038/s41392-023-01608-z.
58. Papadopoli, D. *et al.* mTOR as a central regulator of lifespan and aging. *F1000Res* **8**, (2019).
59. Kim, J. & Guan, K. L. mTOR as a central hub of nutrient signalling and cell growth. *Nature Cell Biology* 2019 21:1 **21**, 63–71 (2019).
60. Van Raamsdonk, J. M. & Hekimi, S. Superoxide dismutase is dispensable for normal animal lifespan. *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**, (2012).
61. Kauppila, T. E. S., Kauppila, J. H. K. & Ran Larsson, N.-G. Cell Metabolism Review Mammalian Mitochondria and Aging: An Update. (2017) doi:10.1016/j.cmet.2016.09.017.
62. Amorim, J. A. *et al.* Mitochondrial and metabolic dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nature Reviews Endocrinology* vol. 18 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41574-021-00626-7> (2022).
63. Lima, T., Li, T. Y., Mottis, A. & Auwerx, J. Pleiotropic effects of mitochondria in aging. *Nat Aging* **2**, (2022).
64. Kuilman, T., Michaloglou, C., Mooi, W. J. & Peeper, D. S. The essence of senescence. *Genes and Development* vol. 24 Preprint at <https://doi.org/10.1101/gad.1971610> (2010).
65. Salama, R., Sadaie, M., Hoare, M. & Narita, M. Cellular senescence and its effector programs. *Genes and Development* vol. 28 Preprint at <https://doi.org/10.1101/gad.235184.113> (2014).
66. Chen, G., Kroemer, G. & Kepp, O. Mitophagy: An Emerging Role in Aging and Age-Associated Diseases. *Front Cell Dev Biol* **8**, (2020).
67. Rhinn, M., Ritschka, B., Development, W. K.- & 2019, undefined. Cellular senescence in development, regeneration and disease. *journals.biologists.comM Rhinn, B Ritschka, WM KeyesDevelopment, 2019•journals.biologists.com* (2019) doi:10.1242/dev.151837.

68. Tuttle, C. S. L. *et al.* Cellular senescence and chronological age in various human tissues: A systematic review and meta-analysis. *Aging Cell* vol. 19 Preprint at <https://doi.org/10.1111/accel.13083> (2020).
69. Xu, P. *et al.* The landscape of human tissue and cell type specific expression and co-regulation of senescence genes. *Mol Neurodegener* **17**, (2022).
70. Blasco, M. A. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* **6**, 611–622 (2005).
71. Xu, M. *et al.* Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nature Medicine* 2018 24:8 **24**, 1246–1256 (2018).
72. Lagoumtzi, S. M. & Chondrogianni, N. Senolytics and senomorphics: Natural and synthetic therapeutics in the treatment of aging and chronic diseases. *Free Radical Biology and Medicine* vol. 171 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.05.003> (2021).
73. Palmer, A. *et al.* Expression of p16 Within Myenteric Neurons of the Aged Colon: A Potential Marker of Declining Function. *Front Neurosci* **15**, (2021).
74. Victorelli, S. & Passos, J. F. COPing with senescence. *Nat Cell Biol* **25**, (2023).
75. Zhao, Y. *et al.* Epigenetic therapy targeting bone marrow mesenchymal stem cells for age-related bone diseases. *Springer* Zhao, J He, T Qiu, H Zhang, L Liao, X Su *Stem cell research & therapy*, 2022•*Springer* **13**, (2021).
76. Fafián-Labora, J. A. & O’Loghlen, A. Classical and Nonclassical Intercellular Communication in Senescence and Ageing. *Trends in Cell Biology* vol. 30 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.05.003> (2020).
77. Xu, Q. *et al.* The flavonoid procyanidin C1 has senotherapeutic activity and increases lifespan in mice. *Nat Metab* **3**, (2021).
78. Takasugi, M. Emerging roles of extracellular vesicles in cellular senescence and aging. *Aging Cell* **17**, (2018).
79. Al-Mayah, A. H. J. *et al.* Exosome-Mediated Telomere Instability in Human Breast Epithelial Cancer Cells after X Irradiation. *Radiat Res* **187**, 98–106 (2017).
80. Narita, M. Juxtacrine regulation of cellular senescence. *BMB Rep* **52**, (2019).

81. Giordano-Santini, R., Linton, C. & Hilliard, M. A. Cell-cell fusion in the nervous system: Alternative mechanisms of development, injury, and repair. *Seminars in Cell and Developmental Biology* vol. 60 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2016.06.019> (2016).
82. Wang, Y., Welc, S. S., Wehling-Henricks, M. & Tidball, J. G. Myeloid cell-derived tumor necrosis factor-alpha promotes sarcopenia and regulates muscle cell fusion with aging muscle fibers. *Aging Cell* **17**, (2018).
83. Chaigne, A. & Brunet, T. Incomplete abscission and cytoplasmic bridges in the evolution of eukaryotic multicellularity. *Current Biology* vol. 32 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.03.021> (2022).
84. Guo, J. *et al.* Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduction and Targeted Therapy* vol. 7 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0> (2022).
85. Reggiori, F., Komatsu, M., Finley, K. & Simonsen, A. Autophagy: More than a nonselective pathway. *International Journal of Cell Biology* Preprint at <https://doi.org/10.1155/2012/219625> (2012).
86. Meléndez, A. *et al.* Autophagy genes are essential for dauer development and life-span extension in *C. elegans*. *Science* (1979) **301**, 1387–1391 (2003).
87. López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. The hallmarks of aging. *Cell* vol. 153 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039> (2013).
88. Raz, Y. *et al.* Activation-Induced Autophagy Is Preserved in CD4+ T-Cells in Familial Longevity. *Journals of Gerontology - Series A Biological Sciences and Medical Sciences* **72**, (2017).
89. Lipinski, M. M. *et al.* Genome-wide analysis reveals mechanisms modulating autophagy in normal brain aging and in Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* **107**, (2010).
90. Rubinsztein, D. C., Mariño, G. & Kroemer, G. Autophagy and aging. *Cell* **146**, 682–695 (2011).

91. Madeo, F., Zimmermann, A., Maiuri, M. C. & Kroemer, G. Essential role for autophagy in life span extension. *Journal of Clinical Investigation* **125**, 85–93 (2015).
92. Hansen, M., Rubinsztein, D. C. & Walker, D. W. Autophagy as a promoter of longevity: insights from model organisms. *Nat Rev Mol Cell Biol* **19**, 579–593 (2018).
93. Yousefzadeh, M. J. *et al.* An aged immune system drives senescence and ageing of solid organs. *Nature* **594**, (2021).
94. Carrasco, E. *et al.* The role of T cells in age-related diseases. *Nature Reviews Immunology* vol. 22 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00557-4> (2022).
95. Walford, R. L. THE IMMUNOLOGIC THEORY OF AGING. *Immunol Rev* **2**, (1969).
96. Pawelec, G. Age and immunity: What is “immunosenescence”? *Experimental Gerontology* vol. 105 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.exger.2017.10.024> (2018).
97. Yousefzadeh, M. J. *et al.* An aged immune system drives senescence and ageing of solid organs. *Nature* 2021 594:7861 **594**, 100–105 (2021).
98. Biagi, E. *et al.* Through ageing, and beyond: Gut microbiota and inflammatory status in seniors and centenarians. *PLoS One* **5**, (2010).
99. Allen, J. M. *et al.* Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically-induced colitis in gnotobiotic mice. *Gut Microbes* **9**, (2018).
100. Claesson, M. J. *et al.* Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, (2011).
101. Gothandapani, D. & Makpol, S. Effects of Vitamin E on the Gut Microbiome in Ageing and Its Relationship with Age-Related Diseases: A Review of the Current Literature. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 24 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ijms241914667> (2023).

102. Hou, K. *et al.* Microbiota in health and diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy* vol. 7 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00974-4> (2022).
103. Valdes, A. M., Walter, J., Segal, E. & Spector, T. D. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ (Online)* **361**, (2018).
104. Alseghiani, A. & Shah, Z. The influence of gut microbiota alteration on age-related neuroinflammation and cognitive decline. *Neural Regeneration Research* vol. 17 Preprint at <https://doi.org/10.4103/1673-5374.335837> (2022).
105. Chen, Y., Zhou, J. & Wang, L. Role and Mechanism of Gut Microbiota in Human Disease. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.625913> (2021).
106. Gothandapani, D. & Makpol, S. Effects of Vitamin E on the Gut Microbiome in Ageing and Its Relationship with Age-Related Diseases: A Review of the Current Literature. *International Journal of Molecular Sciences* vol. 24 Preprint at <https://doi.org/10.3390/ijms241914667> (2023).
107. Boehme, M., Guzzetta, K., Aging, T. B.-N. & 2021, undefined. Microbiota from young mice counteracts selective age-associated behavioral deficits. *nature.com* M Boehme, KE Guzzetta, TFS Bastiaanssen, M Van De Wouw, GM Moloney, A Gual-Grau *Nature Aging*, 2021 • *nature.com*.
108. Bárcena, C. *et al.* Healthspan and lifespan extension by fecal microbiota transplantation into progeroid mice. *nature.com* C Bárcena, R Valdés-Mas, P Mayoral, C Garabaya, S Durand, F Rodríguez *Nature medicine*, 2019 • *nature.com*.
109. Griswold, M. G. *et al.* Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet* **392**, 1015–1035 (2018).
110. Alaynick, W. A. Nuclear receptors, mitochondria and lipid metabolism. *Mitochondrion* **8**, 329–337 (2008).
111. Horn, D. & Barrientos, A. Mitochondrial copper metabolism and delivery to cytochrome C oxidase. *IUBMB Life* vol. 60 421–429 Preprint at <https://doi.org/10.1002/iub.50> (2008).

112. Duchen, M. R. Mitochondria and calcium: from cell signalling to cell death. *J Physiol* **529**, 57–68 (2000).
113. Arciuch, V. G. A., Elguero, M. E., Poderoso, J. J. & Carreras, M. C. Mitochondrial Regulation of Cell Cycle and Proliferation. <https://home.liebertpub.com/ars> **16**, 1150–1180 (2012).
114. Wang, C. & Youle, R. J. The role of mitochondria in apoptosis. *Annual Review of Genetics* vol. 43 95–118 Preprint at <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134850> (2009).
115. Guda, P., Guda, C. & Subramaniam, S. Reconstruction of Pathways Associated with Amino Acid Metabolism in Human Mitochondria. *Genomics Proteomics Bioinformatics* **5**, 166–176 (2007).
116. Lill, R. *et al.* The role of mitochondria in cellular iron–sulfur protein biogenesis and iron metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1823**, 1491–1508 (2012).
117. Karnkowska, A. *et al.* A eukaryote without a mitochondrial organelle. *Current Biology* **26**, 1274–1284 (2016).
118. Lane, N. & Martin, W. The energetics of genome complexity. *Nature* **467**:7318 **467**, 929–934 (2010).
119. Protasoni, M., sciences, M. Z.-I. journal of molecular & 2021, undefined. Mitochondrial structure and bioenergetics in normal and disease conditions. *mdpi.com* M Protasoni, M Zeviani *International journal of molecular sciences*, 2021 • *mdpi.com* (2021) doi:10.3390/ijms.
120. Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. *BMC Biol* **13**, 1–11 (2015).
121. Najbauer, E. E. *et al.* Structure, gating and interactions of the voltage-dependent anion channel. *Springer* EE Najbauer, S Becker, K Giller, M Zweckstetter, A Lange, C Steinem, BL de Groot *European Biophysics Journal*, 2021 • *Springer* **50**, 159–172 (2021).
122. Pennington, E. R., Funai, K., Brown, D. A. & Shaikh, S. R. The role of cardiolipin concentration and acyl chain composition on mitochondrial inner membrane

- molecular organization and function. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* **1864**, 1039–1052 (2019).
123. Hoffmann, A., Spengler, D., Hunter, R. G., Sandi, C. & Howell, B. R. The Mitochondrion as Potential Interface in Early-Life Stress Brain Programming. (2018) doi:10.3389/fnbeh.2018.00306.
 124. Gustafsson, C. M., Falkenberg, M. & Larsson, N.-G. "O. Maintenance and Expression of Mammalian Mitochondrial DNA. (2016) doi:10.1146/annurev-biochem-060815-014402.
 125. Schmidt, O., Pfanner, N. & Meisinger, C. Mitochondrial protein import: from proteomics to functional mechanisms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2010 11:9 11**, 655–667 (2010).
 126. Hüttemann, M., Lee, I., Samavati, L., Yu, H. & Doan, J. W. Regulation of mitochondrial oxidative phosphorylation through cell signaling. (2007) doi:10.1016/j.bbamcr.2007.10.001.
 127. Temperley, R., Richter, R., Dennerlein, S., Science, R. L.- & 2010, undefined. Hungry codons promote frameshifting in human mitochondrial ribosomes. *science.org*R Temperley, R Richter, S Dennerlein, RN Lightowlers, ZM Chrzanowska-LightowlersScience, 2010•science.org **327**, 301 (2010).
 128. technique, P. S.-M. research and & 2003, undefined. Ubiquitin-dependent proteolysis in mammalian spermatogenesis, fertilization, and sperm quality control: Killing three birds with one stone. *Wiley Online Library*P SutovskyMicroscopy research and technique, 2003•Wiley Online Library **61**, 88–102 (2003).
 129. Payne, B., Wilson, I., ... P. Y.-W.-M.-H. molecular & 2013, undefined. Universal heteroplasmy of human mitochondrial DNA. *academic.oup.com*BAI Payne, IJ Wilson, P Yu-Wai-Man, J Coxhead, D Deehan, R Horvath, RW TaylorHuman molecular genetics, 2013•academic.oup.com.
 130. Herzig, S. *et al.* Identification and functional expression of the mitochondrial pyruvate carrier. *Science (1979)* **336**, 93–96 (2012).
 131. Adeva-Andany, M., Mitochondrion, N. C.-F.- & 2019, undefined. Mitochondrial β -oxidation of saturated fatty acids in humans. *Elsevier*.

132. Giorgi, C., Marchi, S., biology, P. P.-N. reviews M. cell & 2018, undefined. The machineries, regulation and cellular functions of mitochondrial calcium. *nature.com* C Giorgi, S Marchi, P Pinton *Nature reviews Molecular cell biology*, 2018 • *nature.com* doi:10.1038/s41580-018-0052-8.
133. Pozzan, T., biochemistry, R. R.-E. journal of & 2000, undefined. The renaissance of mitochondrial calcium transport. *Wiley Online Library* T Pozzan, R Rizzuto *European journal of biochemistry*, 2000 • *Wiley Online Library* **267**, 5269–5273 (2000).
134. pathology, S. E.-T. & 2007, undefined. Apoptosis: a review of programmed cell death. *journals.sagepub.com* S Elmore *Toxicologic pathology*, 2007 • *journals.sagepub.com* **35**, 495–516 (2007).
135. Bock, F. J. & Tait, S. W. G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* vol. 21 85–100 Preprint at <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0173-8> (2020).
136. Tait, S. W. G. & Green, D. R. Mitochondrial Regulation of Cell Death. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **5**, a008706 (2013).
137. Modjtahedi, N., Giordanetto, F., Madeo, F., biology, G. K.-T. in cell & 2006, undefined. Apoptosis-inducing factor: vital and lethal. *cell.com* N Modjtahedi, F Giordanetto, F Madeo, G Kroemer *Trends in cell biology*, 2006 • *cell.com*.
138. AS, O., NV, J. & M, V. Biochemistry, Heme Synthesis. *StatPearls* (2019).
139. Chiabrando, D., Vinchi, F., Fiorito, V., Mercurio, S. & Tolosano, E. Heme in pathophysiology: A matter of scavenging, metabolism and trafficking across cell membranes. *Front Pharmacol* **5**, 1–24 (2014).
140. Maio, N. & Rouault, T. A. Iron –sulfur cluster biogenesis in mammalian cells: New insights into the molecular mechanisms of cluster delivery. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* **1853**, 1493–1512 (2015).
141. Li, X. *et al.* Targeting mitochondrial reactive oxygen species as novel therapy for inflammatory diseases and cancers. *J Hematol Oncol* **6**, (2013).

142. McBride, H., Neuspiel, M., biology, S. W.-C. & 2006, undefined. Mitochondria: more than just a powerhouse. *cell.com*HM McBride, M Neuspiel, S Wasiak*Current biology*, 2006•*cell.com* **16**,.
143. calcium, M. R.-C. & 2006, undefined. T channels and steroid biosynthesis: in search of a link with mitochondria. *Elsevier*.
144. Klinge, C. M. Estrogenic control of mitochondrial function and biogenesis. *J Cell Biochem* **105**, 1342–1351 (2008).
145. Klinge, C. M. Estrogenic control of mitochondrial function and biogenesis. *J Cell Biochem* **105**, 1342–1351 (2008).
146. Jang, J. Y., Blum, A., Liu, J. & Finkel, T. The role of mitochondria in aging. *Journal of Clinical Investigation* vol. 128 3662–3670 Preprint at <https://doi.org/10.1172/JCI120842> (2018).
147. Qin, X., Li, H., Zhao, H., ... L. F.-M. R. & 2024, undefined. Enhancing healthy aging with small molecules: A mitochondrial perspective. *Wiley Online Library*X Qin, H Li, H Zhao, L Fang, X Wang*Medicinal Research Reviews*, 2024•*Wiley Online Library* (2024) doi:10.1002/med.22034.
148. Cortopassi, G., research, N. A.-N. acids & 1990, undefined. Detection of a specific mitochondrial DNA deletion in tissues of older humans. *academic.oup.com*GA Cortopassi, N Arnheim*Nucleic acids research*, 1990•*academic.oup.com* **18**, 6927 (1990).
149. Kauppila, T. E. S., Kauppila, J. H. K. & Larsson, N. G. Mammalian Mitochondria and Aging: An Update. *Cell Metabolism* vol. 25 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.09.017> (2017).
150. Trifunovic, A., Wredenberg, A., Nature, M. F.- & 2004, undefined. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *nature.com*A Trifunovic, A Wredenberg, M Falkenberg, JN Spelbrink, AT Rovio, CE Bruder*Nature*, 2004•*nature.com*.
151. DeBalsi, K., Hoff, K., reviews, W. C.-A. research & 2017, undefined. Role of the mitochondrial DNA replication machinery in mitochondrial DNA mutagenesis, aging and age-related diseases. *Elsevier*KL DeBalsi, KE Hoff, WC Copeland*Ageing research reviews*, 2017•*Elsevier*.

152. Newman, A. B. *et al.* Associations of Subclinical Cardiovascular Disease With Frailty. *Journal of Gerontology: MEDICAL SCIENCES* Copyright vol. 56 <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/56/3/M158/545769> (2001).
153. Franceschi, C. *et al.* Inflammaging and anti-inflammaging: A systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech Ageing Dev* **128**, 92–105 (2007).
154. Seong, S., Immunology, P. M.-N. R. & 2004, undefined. Hydrophobicity: an ancient damage-associated molecular pattern that initiates innate immune responses. *nature.comSY Seong, P MatzingerNature Reviews Immunology, 2004•nature.com*.
155. Dela Cruz, C. S. & Kang, M. J. Mitochondrial dysfunction and damage associated molecular patterns (DAMPs) in chronic inflammatory diseases. *Mitochondrion* **41**, 37–44 (2018).
156. Pinti, M. *et al.* Circulating mitochondrial DNA increases with age and is a familiar trait: Implications for ‘inflamm-aging’. *Eur J Immunol* **44**, 1552–1562 (2014).
157. Broz, P., Immunology, V. D.-N. R. & 2016, undefined. Inflammasomes: mechanism of assembly, regulation and signalling. *nature.comP Broz, VM DixitNature Reviews Immunology, 2016•nature.com*.
158. Yu, J. *et al.* Inflammasome activation leads to Caspase-1-dependent mitochondrial damage and block of mitophagy. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 15514–15519 (2014).
159. Zhou, R., Yazdi, A., Menu, P., Nature, J. T.- & 2011, undefined. A role for mitochondria in NLRP3 inflammasome activation. *nature.comR Zhou, AS Yazdi, P Menu, J TschoppNature, 2011•nature.com* (2011) doi:10.1038/nature09663.
160. van der Burgh, R. & Boes, M. Mitochondria in autoinflammation: Cause, mediator or bystander? *Trends in Endocrinology and Metabolism* **26**, 263–271 (2015).

161. Picca, A. *et al.* Circulating Mitochondrial DNA at the Crossroads of Mitochondrial Dysfunction and Inflammation During Aging and Muscle Wasting Disorders. *Rejuvenation Res* **21**, 350–359 (2018).
162. Nakahira, K., Haspel, J., Rathinam, V., ... S. L.-N. & 2011, undefined. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *nature.com* *K Nakahira, JA Haspel, VAK Rathinam, SJ Lee, T Dolinay, HC Lam, JA Englert* *Nature immunology*, 2011 • *nature.com*.
163. Journal, P. W.-B. & 2015, undefined. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *cell.com* *P West* *Biophysical Journal*, 2015 • *cell.com* **108**, 3a (2015).
164. Mills, E. L. *et al.* Succinate dehydrogenase supports metabolic repurposing of mitochondria to drive inflammatory macrophages. *cell.com* *EL Mills, B Kelly, A Logan, ASH Costa, M Varma, CE Bryant, P Tournalomousis, JHM Däbritz* *Cell*, 2016 • *cell.com* **167**, 457–470 (2016).
165. Scialò, F. *et al.* Mitochondrial ROS produced via reverse electron transport extend animal lifespan. *cell.com* *F Scialo, A Sriram, D Fernandez-Ayala, N Gubina, M Lohmus, G Nelson, A Logan* *Cell metabolism*, 2016 • *cell.com* **23**, 725–734 (2016).
166. Sukumar, M. *et al.* Mitochondrial membrane potential identifies cells with enhanced stemness for cellular therapy. *cell.com* *M Sukumar, J Liu, GU Mehta, SJ Patel, R Roychoudhuri, JG Crompton, CA Klebanoff, Y Ji* *Cell metabolism*, 2016 • *cell.com* **23**, 63–76 (2016).
167. Zhao, Q., Liu, Z., Song, P., Yuan, Z. & Zou, M. H. Mitochondria-derived Vesicle Packaging as a Novel Therapeutic Mechanism in Pulmonary Hypertension. *Am J Respir Cell Mol Biol* **70**, 39–49 (2024).
168. Chacinska, A., Koehler, C. M., Milenkovic, D., Lithgow, T. & Pfanner, N. Importing Mitochondrial Proteins: Machineries and Mechanisms. *Cell* vol. 138 628–644 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.08.005> (2009).

169. Nargund, A. M., Pellegrino, M. W., Fiorese, C. J., Baker, B. M. & Haynes, C. M. Mitochondrial import efficiency of ATFS-1 regulates mitochondrial UPR activation. *Science* (1979) **337**, 587–590 (2012).
170. Melber, A. & Haynes, C. M. UPR mt regulation and output: A stress response mediated by mitochondrial-nuclear communication. *Cell Research* vol. 28 281–295 Preprint at <https://doi.org/10.1038/cr.2018.16> (2018).
171. Cilleros-Holgado, P. *et al.* mtUPR Modulation as a Therapeutic Target for Primary and Secondary Mitochondrial Diseases. *Int J Mol Sci* **24**, (2023).
172. Fiorese, C. J. *et al.* The transcription factor ATF5 mediates a mammalian mitochondrial UPR. *Curr Biol* **26**, 2037 (2016).
173. Quirós, P. M. *et al.* Multi-omics analysis identifies ATF4 as a key regulator of the mitochondrial stress response in mammals. *Journal of Cell Biology* **216**, 2027–2045 (2017).
174. Naresh, N. U. & Haynes, C. M. Signaling and regulation of the mitochondrial unfolded protein response. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **11**, (2019).
175. Fessler, E., Krumwiede, L. & Jae, L. T. DELE1 tracks perturbed protein import and processing in human mitochondria. *Nat Commun* **13**, (2022).
176. biology, C. M.-B. & 2018, undefined. The different axes of the mammalian mitochondrial unfolded protein response. *SpringerC MünchBMC biology*, 2018•*Springer* **16**, (2018).
177. Tao, R. *et al.* Sirt3-Mediated Deacetylation of Evolutionarily Conserved Lysine 122 Regulates MnSOD Activity in Response to Stress. *Mol Cell* **40**, 893–904 (2010).
178. Papa, L. & Germain, D. Estrogen receptor mediates a distinct mitochondrial unfolded protein response. *J Cell Sci* **124**, 1396 (2011).
179. Durieux, J., Wolff, S. & Dillin, A. The cell-non-autonomous nature of electron transport chain-mediated longevity. *Cell* **144**, 79–91 (2011).
180. Berendzen, K. M. *et al.* Neuroendocrine Coordination of Mitochondrial Stress Signaling and Proteostasis. *Cell* **166**, 1553-1563.e10 (2016).

181. Merkwirth, C. *et al.* Two Conserved Histone Demethylases Regulate Mitochondrial Stress-Induced Longevity. *Cell* **165**, 1209–1223 (2016).
182. De Haes, W. *et al.* Metformin promotes lifespan through mitohormesis via the peroxiredoxin PRDX-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, E2501–E2509 (2014).
183. Zhang, H. *et al.* NAD⁺ repletion improves mitochondrial and stem cell function and enhances life span in mice. *Science (1979)* **352**, 1436–1443 (2016).
184. Houtkooper, R. H. *et al.* Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism. *Nature* **497**, 451 (2013).
185. Andrade-Navarro, M. A., Sanchez-Pulido, L. & McBride, H. M. Mitochondrial vesicles: an ancient process providing new links to peroxisomes. *Current Opinion in Cell Biology* vol. 21 560–567 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.04.005> (2009).
186. Sugiura, A., McLelland, G., Fon, E., journal, H. M.-T. E. & 2014, undefined. A new pathway for mitochondrial quality control: mitochondrial-derived vesicles. *embopress.org* A Sugiura, GL McLelland, EA Fon, HM McBride *The EMBO journal*, 2014 • *embopress.org* **33**, 2142–2156 (2014).
187. McLelland, G. L., Soubannier, V., Chen, C. X., McBride, H. M. & Fon, E. A. Parkin and PINK1 function in a vesicular trafficking pathway regulating mitochondrial quality control. *EMBO Journal* **33**, 282–295 (2014).
188. Todkar, K. *et al.* Selective packaging of mitochondrial proteins into extracellular vesicles prevents the release of mitochondrial DAMPs. *Nat Commun* **12**, (2021).
189. Lin, M. Y. *et al.* Releasing Syntaphilin Removes Stressed Mitochondria from Axons Independent of Mitophagy under Pathophysiological Conditions. *Neuron* **94**, 595-610.e6 (2017).
190. Pouikli, A. *et al.* Chromatin remodeling due to degradation of citrate carrier impairs osteogenesis of aged mesenchymal stem cells. *Nat Aging* **1**, 810–825 (2021).
191. Youle, R. J. & Narendra, D. P. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* **12**, 9 (2011).

192. Santanasto, A., Glynn, N., ... S. J.-... S. A. B. & 2015, undefined. Skeletal muscle mitochondrial function and fatigability in older adults. *academic.oup.comAJ Santanasto, NW Glynn, SA Jubrias, KE Conley, RM Boudreau, F Amati, DC MackeyJournals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical ...*, 2015•*academic.oup.com*.
193. Picca, A. *et al.* Update on mitochondria and muscle aging: All wrong roads lead to sarcopenia. *Biol Chem* **399**, 421–436 (2018).
194. De Duve, C. & Wattiaux, R. Functions of lysosomes. *Annu Rev Physiol* **28**, 435–492 (1966).
195. Kane, L. A. *et al.* PINK1 phosphorylates ubiquitin to activate parkin E3 ubiquitin ligase activity. *Journal of Cell Biology* **205**, 143–153 (2014).
196. Lazarou, M. *et al.* The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. *nature.comM Lazarou, DA Sliter, LA Kane, SA Sarraf, C Wang, JL Burman, DP Sideris, AI FogelNature*, 2015•*nature.com*.
197. Wei, Y. *et al.* Prohibitin 2 is an inner mitochondrial membrane mitophagy receptor. *cell.comY Wei, WC Chiang, R Sumpter, P Mishra, B LevineCell*, 2017•*cell.com* **168**, 224-238.e10 (2017).
198. Strappazzon, F. *et al.* AMBRA1 is able to induce mitophagy via LC3 binding, regardless of PARKIN and p62/SQSTM1. *Cell Death Differ* **22**, 419–432 (2015).
199. Sun, N. *et al.* Measuring in vivo mitophagy. *cell.comN Sun, J Yun, J Liu, D Malide, C Liu, II Rovira, KM Holmström, MM Fergusson, YH YooMolecular cell*, 2015•*cell.com* **60**, 685–696 (2015).
200. Khraiwesh, H., López-Domínguez, J., ... L. del R.-E. & 2014, undefined. Mitochondrial ultrastructure and markers of dynamics in hepatocytes from aged, calorie restricted mice fed with different dietary fats. *Elsevier*.
201. Eisenberg, T., Abdellatif, M., Schroeder, S., medicine, U. P.-N. & 2016, undefined. Cardioprotection and lifespan extension by the natural polyamine spermidine. *nature.comT Eisenberg, M Abdellatif, S Schroeder, U Primessnig, S Stekovic, T Pendl, A HargerNature medicine*, 2016•*nature.com*.
202. Ryu, D., Mouchiroud, L., Andreux, P., medicine, E. K.-N. & 2016, undefined. Urolithin A induces mitophagy and prolongs lifespan in *C. elegans* and

- increases muscle function in rodents. *nature.com* D Ryu, L Mouchiroud, PA Andreux, E Katsyuba, N Moullan, AA Nicolet-dit-Félix, EG Williams *Nature medicine*, 2016 • *nature.com* (2016) doi:10.1038/nm.4132.
203. Sulkshane, P. *et al.* Ubiquitination and receptor-mediated mitophagy converge to eliminate oxidation-damaged mitochondria during hypoxia. *Redox Biol* **45**, 102047 (2021).
 204. Pradeepkiran, J. A., Hindle, A., Kshirsagar, S. & Reddy, P. H. Are mitophagy enhancers therapeutic targets for Alzheimer's disease? *Biomed Pharmacother* **149**, 112918 (2022).
 205. Houtkooper, R. H., Cantó, C., Wanders, R. J. & Auwerx, J. The Secret Life of NAD⁺: An Old Metabolite Controlling New Metabolic Signaling Pathways. *Endocr Rev* **31**, 194 (2010).
 206. Liu, K. *et al.* Effect of trehalose on manganese-induced mitochondrial dysfunction and neuronal cell damage in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* **125**, 536–547 (2019).
 207. Lin, K. L. *et al.* Resveratrol provides neuroprotective effects through modulation of mitochondrial dynamics and ERK1/2 regulated autophagy. *Free Radic Res* **52**, 1371–1386 (2018).
 208. Martín-Maestro, P. *et al.* Autophagy induction by Bexarotene promotes mitophagy in Presenilin 1 familial Alzheimer's disease iPSC-derived neural stem cells. *Mol Neurobiol* **56**, 8220 (2019).
 209. Wang, N. *et al.* The Combination of β -Asarone and Icaritin Inhibits Amyloid- β and Reverses Cognitive Deficits by Promoting Mitophagy in Models of Alzheimer's Disease. *Oxid Med Cell Longev* **2021**, (2021).
 210. Li, B. *et al.* Melatonin promotes peripheral nerve repair through Parkin-mediated mitophagy. *Free Radic Biol Med* **185**, 52–66 (2022).
 211. Cen, X., Xu, X. & Xia, H. Targeting MCL1 to induce mitophagy is a potential therapeutic strategy for Alzheimer disease. *Autophagy* **17**, 818 (2021).

212. Ai, R., Zhuang, X. X., Anisimov, A., Lu, J. H. & Fang, E. F. A synergized machine learning plus cross-species wet-lab validation approach identifies neuronal mitophagy inducers inhibiting Alzheimer disease. *Autophagy* **18**, 939 (2022).
213. Bharath, L. P. *et al.* Metformin Enhances Autophagy and Normalizes Mitochondrial Function to Alleviate Aging-Associated Inflammation. *Cell Metab* **32**, 44 (2020).
214. Jang, J. Y., Blum, A., Liu, J. & Finkel, T. The role of mitochondria in aging. *J Clin Invest* **128**, 3662–3670 (2018).
215. Korolchuk, V. I., Miwa, S., Carroll, B. & von Zglinicki, T. Mitochondria in Cell Senescence: Is Mitophagy the Weakest Link? *EBioMedicine* vol. 21 7–13 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.020> (2017).
216. Chen, H., metabolism, D. C.-C. & 2017, undefined. Mitochondrial dynamics in regulating the unique phenotypes of cancer and stem cells. *cell.com H Chen, DC Chan Cell metabolism, 2017 • cell.com* **26**, 39–48 (2017).
217. Liu, Z. & Butow, R. A. Mitochondrial retrograde signaling. *Annu Rev Genet* **40**, 159–185 (2006).
218. Ristow, M. & Zarse, K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp Gerontol* **45**, 410–418 (2010).
219. Shanley, D. P. & Kirkwood, T. B. L. Caloric restriction does not enhance longevity in all species and is unlikely to do so in humans. *Biogerontology* **7**, 165–168 (2006).
220. Probst, A. V., Dunleavy, E. & Almouzni, G. Epigenetic inheritance during the cell cycle. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* vol. 10 192–206 Preprint at <https://doi.org/10.1038/nrm2640> (2009).
221. Waddington, C. H. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol* **41**, 10–13 (2012).
222. Esteller, M. Epigenetics in Cancer. *New England Journal of Medicine* **358**, 1148–1159 (2008).
223. Berger, S. L. The complex language of chromatin regulation during transcription. *Nature* **447**, 407–412 (2007).

224. Bird, A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev* **16**, 6–21 (2002).
225. Saxonov, S., Berg, P. & Brutlag, D. L. A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 1412–1417 (2006).
226. Mohn, F. *et al.* Lineage-specific polycomb targets and de novo DNA methylation define restriction and potential of neuronal progenitors. *Mol Cell* **30**, 755–766 (2008).
227. Okano, M., Bell, D. W., Haber, D. A. & Li, E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *Cell* **99**, 247–257 (1999).
228. Shirane, K. *et al.* Mouse Oocyte Methylomes at Base Resolution Reveal Genome-Wide Accumulation of Non-CpG Methylation and Role of DNA Methyltransferases. *PLoS Genet* **9**, e1003439 (2013).
229. Patil, V., Ward, R., Epigenetics, L. H.- & 2014, undefined. The evidence for functional non-CpG methylation in mammalian cells. *Taylor & Francis V Patil, RL Ward, LB Hesson Epigenetics, 2014 • Taylor & Francis* **9**, 823–828 (2014).
230. Barrè, R. *et al.* Non-CpG methylation of the PGC-1 α promoter through DNMT3B controls mitochondrial density. *cell.com R Barrès, ME Osler, J Yan, A Rune, T Fritz, K Caidahl, A Krook, JR Zierath Cell metabolism, 2009 • cell.com* doi:10.1016/j.cmet.2009.07.011.
231. Pradhan, S., Bacolla, A., Wells, R. D. & Roberts, R. J. Recombinant human DNA (cytosine-5) methyltransferase. I. Expression, purification, and comparison of de novo and maintenance methylation. *J Biol Chem* **274**, 33002–33010 (1999).
232. Hermann, A., Goyal, R. & Jeltsch, A. The Dnmt1 DNA-(cytosine-C5)-methyltransferase methylates DNA processively with high preference for hemimethylated target sites. *J Biol Chem* **279**, 48350–48359 (2004).
233. Mortusewicz, O., Schermelleh, L., Walter, J., Cardoso, M. C. & Leonhardt, H. Recruitment of DNA methyltransferase I to DNA repair sites. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 8905–8909 (2005).

234. Moore, L. D., Le, T. & Fan, G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology* **38**, 23–38 (2013).
235. Okano, M., Xie, S. & Li, E. Dnmt2 is not required for de novo and maintenance methylation of viral DNA in embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res* **26**, 2536–2540 (1998).
236. Jia, D. *et al.* Structure of Dnmt3a bound to Dnmt3L suggests a model for de novo DNA methylation. *nature.com* D Jia, RZ Jurkowska, X Zhang, A Jeltsch, X Cheng *Nature*, 2007 • *nature.com*.
237. Zamudio, N. M. *et al.* DNMT3L is a regulator of X chromosome compaction and post-meiotic gene transcription. *PLoS One* **6**, (2011).
238. Williams, B. P. & Gehring, M. Stable transgenerational epigenetic inheritance requires a DNA methylation-sensing circuit. *Nature Communications* 2017 **8**:1 **8**, 1–8 (2017).
239. Gehring, M., Reik, W. & Henikoff, S. DNA demethylation by DNA repair. *Trends Genet* **25**, 82–90 (2009).
240. Zhang, F., Pomerantz, J. H., Sen, G., Palermo, A. T. & Blau, H. M. Active tissue-specific DNA demethylation conferred by somatic cell nuclei in stable heterokaryons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**, 4395–4400 (2007).
241. Zhu, J. K. Active DNA demethylation mediated by DNA glycosylases. *Annu Rev Genet* **43**, 143–166 (2009).
242. Tahiliani, M. *et al.* Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1. *Science* **324**, 930–935 (2009).
243. Ito, S. *et al.* Role of Tet proteins in 5mC to 5hmC conversion, ES-cell self-renewal and inner cell mass specification. *Nature* **466**, 1129–1133 (2010).
244. Ito, S. *et al.* Tet proteins can convert 5-methylcytosine to 5-formylcytosine and 5-carboxylcytosine. *Science* **333**, 1300 (2011).
245. Guo, J. U., Su, Y., Zhong, C., Ming, G. L. & Song, H. Hydroxylation of 5-methylcytosine by TET1 promotes active DNA demethylation in the adult brain. *Cell* **145**, 423–434 (2011).

246. Valinluck, V. *et al.* Oxidative damage to methyl-CpG sequences inhibits the binding of the methyl-CpG binding domain (MBD) of methyl-CpG binding protein 2 (MeCP2). *Nucleic Acids Res* **32**, 4100–4108 (2004).
247. Cortellino, S. *et al.* Thymine DNA glycosylase is essential for active DNA demethylation by linked deamination-base excision repair. *Cell* **146**, 67–79 (2011).
248. Schmitz, K. M. *et al.* TAF12 Recruits Gadd45a and the Nucleotide Excision Repair Complex to the Promoter of rRNA Genes Leading to Active DNA Demethylation. *Mol Cell* **33**, 344–353 (2009).
249. Sen, G. L., Reuter, J. A., Webster, D. E., Zhu, L. & Khavari, P. A. DNMT1 maintains progenitor function in self-renewing somatic tissue. *Nature* **463**, 563–567 (2010).
250. Fraga, M. F. *et al.* Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 10604–10609 (2005).
251. Bocklandt, S. *et al.* Epigenetic Predictor of Age. *PLoS One* **6**, e14821 (2011).
252. Langton, A., Herrick, S., dermatology, D. H.-J. of investigative & 2008, undefined. An extended epidermal response heals cutaneous wounds in the absence of a hair follicle stem cell contribution. *Elsevier*.
253. Park, J. K. *et al.* Quantitative analysis of NPTX2 hypermethylation is a promising molecular diagnostic marker for pancreatic cancer. *Pancreas* **35**, (2007).
254. Qi, Y., Li, X., Zhao, L., research, J. S.-A. & 2010, undefined. Decreased Srcasm expression in esophageal squamous cell carcinoma in a Chinese population. *ar.iarjournals.org* Y Qi, X Li, L Zhao, JT Seykora *Anticancer research*, 2010 • *ar.iarjournals.org*.
255. Wilson, V. L. & Jones, P. A. DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells. *Science (1979)* **220**, 1055–1057 (1983).
256. Romanov, G., (BBA)-Nucleic, B. V.-B. et B. A. & 1981, undefined. Methylation of reiterated sequences in mammalian DNAs Effects of the tissue type, age, malignancy and hormonal induction. *Elsevier*.

257. Singhal, R., Mays-Hoopers, L., and, G. E.-M. of ageing & 1987, undefined. DNA methylation in aging of mice. *Elsevier*.
258. Christensen, B. C., Houseman, E. A., Marsit, C. J., Zheng, S. & Wrensch, M. R. Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context. *journals.plos.orgBC Christensen, EA Houseman, CJ Marsit, S Zheng, MR Wrensch, JL Wiemels, HH NelsonPLOS genetics, 2009•journals.plos.org 5, 1000602 (2009)*.
259. Bellizzi, D., D'Aquila, P., Giordano, M., ... A. M.- & 2012, undefined. Global DNA methylation levels are modulated by mitochondrial DNA variants. *Future MedicineD Bellizzi, P D'Aquila, M Giordano, A Montesanto, G PassarinoEpigenomics, 2012•Future Medicine (2012)*.
260. Yuan, T. *et al.* An integrative multi-scale analysis of the dynamic DNA methylation landscape in aging. *PLoS Genet* **11**, 1–21 (2015).
261. Margueron, R. & Reinberg, D. The Polycomb complex PRC2 and its mark in life. *Nature* **469**, 343–349 (2011).
262. Wang, P. *et al.* Global analysis of H3K4 methylation defines MLL family member targets and points to a role for MLL1-mediated H3K4 methylation in the regulation of transcriptional initiation by RNA polymerase II. *Mol Cell Biol* **29**, 6074–6085 (2009).
263. Greer, E. L. & Shi, Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet* **13**, 343–357 (2012).
264. Shinkai, Y. & Tachibana, M. H3K9 methyltransferase G9a and the related molecule GLP. *Genes Dev* **25**, 781–788 (2011).
265. Wagner, E. J. & Carpenter, P. B. Understanding the language of Lys36 methylation at histone H3. *Nat Rev Mol Cell Biol* **13**, 115–126 (2012).
266. Steger, D. J. *et al.* DOT1L/KMT4 recruitment and H3K79 methylation are ubiquitously coupled with gene transcription in mammalian cells. *Mol Cell Biol* **28**, 2825–2839 (2008).

267. Zhao, Y. Identification and Initial Characterization of Histone Lysine Propionylation and Lysine Butyrylation Pathways. *The FASEB Journal* **24**, 306.1-306.1 (2010).
268. Li, T., Guan, J., Huang, Z., Hu, X. & Zheng, X. RNF168-mediated H2A neddylation antagonizes ubiquitylation of H2A and regulates DNA damage repair. *J Cell Sci* **127**, 2238–2248 (2014).
269. Herz, H. M., Garruss, A. & Shilatifard, A. SET for life: biochemical activities and biological functions of SET domain-containing proteins. *Trends Biochem Sci* **38**, 621–639 (2013).
270. Mohan, M., Herz, H. M. & Shilatifard, A. SnapShot: Histone Lysine Methylase Complexes. *Cell* **149**, 498-498.e1 (2012).
271. Meeks, J. J. & Shilatifard, A. Multiple roles for the mll/compass family in the epigenetic regulation of gene expression and in cancer. *Annu Rev Cancer Biol* **1**, 425–446 (2017).
272. Nguyen, A. T. & Zhang, Y. The diverse functions of Dot1 and H3K79 methylation. *Genes Dev* **25**, 1345–1358 (2011).
273. Jørgensen, S., Schotta, G. & Sørensen, C. S. Histone H4 lysine 20 methylation: key player in epigenetic regulation of genomic integrity. *Nucleic Acids Res* **41**, 2797–2806 (2013).
274. Azuara, V. *et al.* Chromatin signatures of pluripotent cell lines. *Nature Cell Biology* 2006 8:5 **8**, 532–538 (2006).
275. Eissenberg, J. C. & Shilatifard, A. Histone H3 Lysine 4 (H3K4) Methylation in Development and Differentiation. *Dev Biol* **339**, 240 (2010).
276. Kouzarides, T. Chromatin Modifications and Their Function. *Cell* vol. 128 693–705 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.005> (2007).
277. Shi, Y. *et al.* Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell* **119**, 941–953 (2004).
278. Di Lorenzo, A. & Bedford, M. T. Histone arginine methylation. *FEBS Lett* **585**, 2024–2031 (2011).

279. Litt, M., Qiu, Y. & Huang, S. Histone arginine methylations: their roles in chromatin dynamics and transcriptional regulation. *Biosci Rep* **29**, 131–141 (2009).
280. McCauley, B. S. & Dang, W. Histone methylation and aging: Lessons learned from model systems. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* **1839**, 1454–1462 (2014).
281. Yi, S. J. & Kim, K. New Insights into the Role of Histone Changes in Aging. *Int J Mol Sci* **21**, 1–20 (2020).
282. Kalvik, T. V. & Arnesen, T. Protein N-terminal acetyltransferases in cancer. *Oncogene* **32**, 269–276 (2013).
283. McBrien, M. A. *et al.* Histone Acetylation Regulates Intracellular pH. *Mol Cell* **49**, 310–321 (2013).
284. Di Cerbo, V. & Schneider, R. Cancers with wrong HATs: the impact of acetylation. *Brief Funct Genomics* **12**, 231–243 (2013).
285. Marmorstein, R. & Zhou, M. M. Writers and readers of histone acetylation: structure, mechanism, and inhibition. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **6**, (2014).
286. Tropberger, P. & Schneider, R. Going global: Novel histone modifications in the globular domain of H3. (2010) doi:10.4161/epi.5.2.11075.
287. Mujtaba, S., Zeng, L. & Zhou, M. M. Structure and acetyl-lysine recognition of the bromodomain. *Oncogene* **26**, 5521–5527 (2007).
288. Li, B., Carey, M. & Workman, J. L. The role of chromatin during transcription. *Cell* **128**, 707–719 (2007).
289. Yang, X. J. & Seto, E. HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. *Oncogene* **26**, 5310–5318 (2007).
290. Wang, Z. *et al.* Genome-wide mapping of HATs and HDACs reveals distinct functions in active and inactive genes. *Cell* **138**, 1019–1031 (2009).
291. Seto, E. & Yoshida, M. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb Perspect Biol* **6**, (2014).

292. Jung, K. H. *et al.* HDAC2 overexpression confers oncogenic potential to human lung cancer cells by deregulating expression of apoptosis and cell cycle proteins. *J Cell Biochem* **113**, 2167–2177 (2012).
293. Reichert, N., Choukrallah, M. A. & Matthias, P. Multiple roles of class i HDACs in proliferation, differentiation, and development. *Cellular and Molecular Life Sciences* vol. 69 2173–2187 Preprint at <https://doi.org/10.1007/s00018-012-0921-9> (2012).
294. Stünkel, W. & Campbell, R. M. Sirtuin 1 (SIRT1): the misunderstood HDAC. *J Biomol Screen* **16**, 1153–1169 (2011).
295. Uckelmann, M. & Sixma, T. K. Histone ubiquitination in the DNA damage response. *DNA Repair (Amst)* **56**, 92–101 (2017).
296. So, C. C., Ramachandran, S. & Martin, A. E3 Ubiquitin Ligases RNF20 and RNF40 Are Required for Double-Stranded Break (DSB) Repair: Evidence for Monoubiquitination of Histone H2B Lysine 120 as a Novel Axis of DSB Signaling and Repair. *Mol Cell Biol* **39**, (2019).
297. Uckelmann, M. *et al.* USP48 restrains resection by site-specific cleavage of the BRCA1 ubiquitin mark from H2A. *Nat Commun* **9**, (2018).
298. Zhu, Q. *et al.* BRCA1 tumour suppression occurs via heterochromatin-mediated silencing. *Nature* **477**, 179–184 (2011).
299. Zhu, Q. *et al.* BRCA1 tumour suppression occurs via heterochromatin-mediated silencing. *Nature* 2011 477:7363 **477**, 179–184 (2011).
300. Li, T. *et al.* Structural and mechanistic insights into UHRF1-mediated DNMT1 activation in the maintenance DNA methylation. *Nucleic Acids Res* **46**, 3218–3231 (2018).
301. Niikura, Y., Kitagawa, R. & Kitagawa, K. CENP-A Ubiquitylation Is Inherited through Dimerization between Cell Divisions. *Cell Rep* **15**, 61–76 (2016).
302. Yan, Q. *et al.* BBAP monoubiquitylates histone H4 at lysine 91 and selectively modulates the DNA damage response. *Mol Cell* **36**, 110–120 (2009).
303. Oki, M., Aihara, H. & Ito, T. *ROLE OF HISTONE PHOSPHORYLATION IN CHROMATIN DYNAMICS AND ITS IMPLICATIONS IN DISEASES.* (2007).

304. Hu, S. *et al.* Profiling the Human Protein-DNA Interactome Reveals ERK2 as a Transcriptional Repressor of Interferon Signaling. *Cell* **139**, 610–622 (2009).
305. Dawson, M. A. *et al.* JAK2 phosphorylates histone H3Y41 and excludes HP1alpha from chromatin. *Nature* **461**, 819–822 (2009).
306. Goto, H., Yasui, Y., Nigg, E. A. & Inagaki, M. Aurora-B phosphorylates Histone H3 at serine28 with regard to the mitotic chromosome condensation. *Genes Cells* **7**, 11–17 (2002).
307. Oh, S., Suganuma, T., Gogol, M. M. & Workman, J. L. Histone H3 threonine 11 phosphorylation by Sch9 and CK2 regulates chronological lifespan by controlling the nutritional stress response. *Elife* **7**, (2018).
308. Joos, J. P. *et al.* Ectopic expression of S28A-mutated Histone H3 modulates longevity, stress resistance and cardiac function in *Drosophila*. *Sci Rep* **8**, (2018).
309. Hickey, C. M., Wilson, N. R. & Hochstrasser, M. Function and regulation of SUMO proteases. *Nat Rev Mol Cell Biol* **13**, 755–766 (2012).
310. Ryu, H. Y., Ahn, S. H. & Hochstrasser, M. SUMO and cellular adaptive mechanisms. *Exp Mol Med* **52**, 931–939 (2020).
311. Shiio, Y. & Eisenman, R. N. Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**, 13225–13230 (2003).
312. Nathan, D. *et al.* Histone sumoylation is a negative regulator in *Saccharomyces cerevisiae* and shows dynamic interplay with positive-acting histone modifications. *Genes Dev* **20**, 966–976 (2006).
313. Hendriks, I. A. *et al.* Uncovering global SUMOylation signaling networks in a site-specific manner. *Nature Structural & Molecular Biology* **21**, 927–936 (2014).
314. Chen, W.-T. *et al.* Systematic Identification of Functional Residues in Mammalian Histone H2AX. *Mol Cell Biol* **33**, 111 (2013).
315. Matafora, V., D’Amato, A., Mori, S., Blasi, F. & Bachi, A. Proteomics analysis of nucleolar SUMO-1 target proteins upon proteasome inhibition. *Mol Cell Proteomics* **8**, 2243–2255 (2009).

316. Nathan, D. *et al.* Histone sumoylation is a negative regulator in *Saccharomyces cerevisiae* and shows dynamic interplay with positive-acting histone modifications. *Genes Dev* **20**, 966–976 (2006).
317. Ohkuni, K. *et al.* SUMO-targeted ubiquitin ligase (STUbL) Slx5 regulates proteolysis of centromeric histone H3 variant Cse4 and prevents its mislocalization to euchromatin. *Mol Biol Cell* **27**, 1500–1510 (2016).
318. Statello, L., Guo, C., Chen, L., cell, M. H.-N. reviews M. & 2021, undefined. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *nature.com* L Statello, CJ Guo, LL Chen, M Huarte Nature reviews Molecular cell biology, 2021 • nature.com.
319. Meng, X. *et al.* The role of non-coding RNAs in drug resistance of oral squamous cell carcinoma and therapeutic potential. *Wiley Online Library* X Meng, QY Lou, WY Yang, YR Wang, R Chen, L Wang, T Xu, L Zhang Cancer Communications, 2021 • Wiley Online Library **41**, 981–1006 (2021).
320. Chavez, M., Chen, X., Finn, P., Nephrology, L. Q.-N. R. & 2023, undefined. Advances in CRISPR therapeutics. *nature.com* M Chavez, X Chen, PB Finn, LS Qi Nature Reviews Nephrology, 2023 • nature.com.
321. Chen, Q., Meng, X., Liao, Q. & Chen, M. Versatile interactions and bioinformatics analysis of noncoding RNAs. *Briefings in Bioinformatics* vol. 20 1781–1794 Preprint at <https://doi.org/10.1093/bib/bby050> (2019).
322. Schimmel, P. The emerging complexity of the tRNA world: mammalian tRNAs beyond protein synthesis. *Nature Publishing Group* (2017) doi:10.1038/nrm.2017.77.
323. Parashar, D. *et al.* Emerging Roles and Potential Applications of Non-Coding RNAs in Cervical Cancer. *Genes* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.3390/genes13071254> (2022).
324. Khanbabaie, H. *et al.* Non-coding RNAs and epithelial mesenchymal transition in cancer: molecular mechanisms and clinical implications. *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research* vol. 41 Preprint at <https://doi.org/10.1186/s13046-022-02488-x> (2022).

325. Zhang, P., Wu, W., Chen, Q. & Chen, M. Non-Coding RNAs and their Integrated Networks. *Journal of integrative bioinformatics* vol. 16 Preprint at <https://doi.org/10.1515/jib-2019-0027> (2019).
326. Diener, C., Keller, A., Genetics, E. M.-T. in & 2022, undefined. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *cell.com* C Diener, A Keller, E Meese *Trends in Genetics*, 2022 • *cell.com* (2022) doi:10.1016/j.tig.2022.02.006.
327. Correia De Sousa, M., Gjorgjieva, M., Dolicka, D., Sobolewski, C. & Foti, M. Deciphering miRNAs' action through miRNA editing. *mdpi.com* M Correia de Sousa, M Gjorgjieva, D Dolicka, C Sobolewski, M Foti *International journal of molecular sciences*, 2019 • *mdpi.com* (2019) doi:10.3390/ijms20246249.
328. Pu, M. *et al.* Regulatory network of miRNA on its target: coordination between transcriptional and post-transcriptional regulation of gene expression. *Cellular and Molecular Life Sciences* **76**, 441–451 (2019).
329. Liu, Y., Ding, W., Wang, J., Ao, X. & Xue, J. Non-coding RNAs in lung cancer: molecular mechanisms and clinical applications. *Frontiers in Oncology* vol. 13 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1256537> (2023).
330. Hu, F. *et al.* Role of Exosomal Non-coding RNAs in Gastric Cancer: Biological Functions and Potential Clinical Applications. *Frontiers in Oncology* vol. 11 Preprint at <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.700168> (2021).
331. Jungers, C. F. & Djuranovic, S. Modulation of miRISC-Mediated Gene Silencing in Eukaryotes. *Front Mol Biosci* **9**, (2022).
332. Seok, H., Ham, J., Jang, E., cells, S. C.-M. and & 2016, undefined. MicroRNA target recognition: insights from transcriptome-wide non-canonical interactions. *Elsevier*.
333. Berg, A. van den, Mols, J., (BBA)-Gene, J. H.-B. et B. A. & 2008, undefined. RISC-target interaction: cleavage and translational suppression. *Elsevier* A van den Berg, J Mols, J Han *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 2008 • *Elsevier*.
334. Wong, N., Huang, C., Islam, R., Oncology, S. Y.-J. of H. & & 2018, undefined. Long non-coding RNAs in hematological malignancies: translating basic

- techniques into diagnostic and therapeutic strategies. *Springer* NK Wong, CL Huang, R Islam, SP Yip *Journal of Hematology & Oncology*, 2018•*Springer* **11**, (2018).
335. Miao, L. *et al.* A dual inhibition: MicroRNA-552 suppresses both transcription and translation of cytochrome P450 2E1. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* **1859**, 650–662 (2016).
 336. Kinser, H. E. & Pincus, Z. MicroRNAs as modulators of longevity and the aging process. *Hum Genet* **139**, 291–308 (2020).
 337. Yang, N. *et al.* Tumor necrosis factor α suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-21 in estrogen deficiency-induced osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* **28**, 559–573 (2013).
 338. Zhao, C. *et al.* miR-214 promotes osteoclastogenesis by targeting pten/pi3k/Akt pathway. *RNA Biol* **12**, 343–353 (2015).
 339. Zhao, W. *et al.* MiR-21 overexpression improves osteoporosis by targeting RECK. *Mol Cell Biochem* **405**, 125–133 (2015).
 340. Weilner, S. *et al.* Secreted microvesicular miR-31 inhibits osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Wiley Online Library* S Weilner, E Schraml, M Wieser, P Messner, K Schneider, K Wassermann, L Micutkova *Aging cell*, 2016•*Wiley Online Library* **15**, 744–754 (2016).
 341. Li, C.-J. *et al.* MicroRNA-188 regulates age-related switch between osteoblast and adipocyte differentiation. *Journal of Clinical Investigation* **125**, 1509–1522 (2015).
 342. Hu, C.-H. *et al.* miR-21 deficiency inhibits osteoclast function and prevents bone loss in mice. *nature.com* CH Hu, BD Sui, FY Du, Y Shuai, CX Zheng, P Zhao, XR Yu, Y Jin *Scientific reports*, 2017•*nature.com* (2017) doi:10.1038/srep43191.
 343. Jazbutyte, V. *et al.* MicroRNA-22 increases senescence and activates cardiac fibroblasts in the aging heart. *Springer* V Jazbutyte, J Fiedler, S Kneitz, P Galuppo, A Just, A Holzmann, J Bauersachs, T Thum *Age*, 2013•*Springer* **35**, 747–762 (2013).

344. Van Almen, G. C. *et al.* MicroRNA-18 and microRNA-19 regulate CTGF and TSP-1 expression in age-related heart failure. *Wiley Online LibraryGC van Almen, W Verhesen, REW van Leeuwen, M van de Vrie, C EurlingsAging cell, 2011•Wiley Online Library* **10**, 769–779 (2011).
345. Saw, P., Xu, X., Chen, J., sciences, E. S.-S. C. L. & 2021, undefined. Non-coding RNAs: the new central dogma of cancer biology. *SpringerPE Saw, X Xu, J Chen, EW SongScience China Life sciences, 2021•Springer* **64**, 22–50 (2021).
346. Núñez-Martínez, H., Molecular, F. R.-T.-I. J. of & 2022, undefined. Emerging functions of lncRNA loci beyond the transcript itself. *mdpi.comHN Núñez-Martínez, F Recillas-TargaInternational Journal of Molecular Sciences, 2022•mdpi.com* (2022) doi:10.3390/ijms23116258.
347. Srivastava, G., Dixit, A., Prakash, O., international, M. S.-N. & 2011, undefined. Tiny non-coding RNAs in Parkinson’s disease: Implications, expectations and hypes. *Elsevier*.
348. Qian, Y., Shi, L. & Luo, Z. Long Non-coding RNAs in Cancer: Implications for Diagnosis, Prognosis, and Therapy. *Front Med (Lausanne)* **7**, (2020).
349. Mattick, J. S. *et al.* Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *nature.comJS Mattick, PP Amaral, P Carninci, S Carpenter, HY Chang, LL Chen, R Chen, C DeanNature reviews Molecular cell biology, 2023•nature.com* **24**, 34 (2023).
350. Greco, S., Gorospe, M., cellular, F. M.-J. of molecular and & 2015, undefined. Noncoding RNA in age-related cardiovascular diseases. *ElsevierS Greco, M Gorospe, F MartelliJournal of molecular and cellular cardiology, 2015•Elsevier*.
351. Lv, N., Shen, S., Chen, Q., International, J. T.-C. C. & 2023, undefined. Long noncoding RNAs: glycolysis regulators in gynaecologic cancers. *SpringerN Lv, S Shen, Q Chen, J TongCancer Cell International, 2023•Springer* **23**, (2023).
352. Chen, J., Wang, R., Zhang, K. & Chen, L.-B. Long non-coding RNAs in non-small cell lung cancer as biomarkers and therapeutic targets. doi:10.1111/jcmm.12431.
353. Ahangar Davoodi, N. *et al.* Role of non-coding RNAs and exosomal non-coding RNAs in retinoblastoma progression. *Front Cell Dev Biol* **10**, (2022).

354. Mattick, J. S. *et al.* Long non-coding RNAs: definitions, functions, challenges and recommendations. *nature.comJS Mattick, PP Amaral, P Carninci, S Carpenter, HY Chang, LL Chen, R Chen, C DeanNature reviews Molecular cell biology, 2023•nature.com* **24**, 34 (2023).
355. He, J., Tu, C., Medicine, Y. L.-A. & 2018, undefined. Role of lncRNAs in aging and age-related diseases. *Wiley Online LibraryJ He, C Tu, Y LiuAging Medicine, 2018•Wiley Online Library* **1**, 158–175 (2018).
356. Gomes, C., Gonzalo-Calvo, D. de, ... R. T.-C. & 2018, undefined. Non-coding RNAs and exercise: pathophysiological role and clinical application in the cardiovascular system. *portlandpress.comCPC Gomes, D de Gonzalo-Calvo, R Toro, T Fernandes, D Theisen, DZ Wang, Y DevauxClinical Science, 2018•portlandpress.com.*
357. Wen, Z. *et al.* Emerging roles of circRNAs in the pathological process of myocardial infarction. *cell.comZJ Wen, H Xin, YC Wang, HW Liu, YY Gao, YF ZhangMolecular Therapy-Nucleic Acids, 2021•cell.com* **26**, 828–848 (2021).
358. Zhang, Y. *et al.* The emerging function and clinical significance of circRNAs in Thyroid Cancer and Autoimmune Thyroid Diseases. *Int J Biol Sci* **17**, 1731–1741 (2021).
359. Wang, M. *et al.* The Emerging Roles of Circular RNAs in the Chemoresistance of Gastrointestinal Cancer. *Front Cell Dev Biol* **10**, (2022).
360. Kristensen, L. S. *et al.* The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs. *Nat Rev Genet* **20**, 675–691 (2019).
361. Cai, H. *et al.* Identification and characterization of human ovary-derived circular RNAs and their potential roles in ovarian aging. *Aging* **10**, 2511–2534 (2018).
362. Passarino, G., Rose, G., Biogerontology, D. B.- & 2010, undefined. Mitochondrial function, mitochondrial DNA and ageing: a reappraisal. *SpringerG Passarino, G Rose, D BellizziBiogerontology, 2010•Springer* **11**, 575–588 (2010).
363. Blik, A. Van der, Sedensky, M., Genetics, P. M.- & 2017, undefined. Cell biology of the mitochondrion. *academic.oup.comAM Van der Blik, MM Sedensky, PG MorganGenetics, 2017•academic.oup.com.*

364. Chocron, E. S., Munkácsy, E. & Pickering, A. M. Cause or casualty: The role of mitochondrial DNA in aging and age-associated disease. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease* vol. 1865 285–297 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.09.035> (2019).
365. Hake, S. B. & Allis, C. D. Histone H3 variants and their potential role in indexing mammalian genomes: the ‘H3 barcode hypothesis’. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 6428–6435 (2006).
366. Shock, L. S., Thakkar, P. V, Peterson, E. J., Moran, R. G. & Taylor, S. M. DNA methyltransferase 1, cytosine methylation, and cytosine hydroxymethylation in mammalian mitochondria. *National Acad Sciences* LS Shock, PV Thakkar, EJ Peterson, RG Moran, SM Taylor *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2011 • *National Acad Sciences* **108**, 3630–3635 (2011).
367. Ro, S. *et al.* The mitochondrial genome encodes abundant small noncoding RNAs. *nature.com* S Ro, HY Ma, C Park, N Ortogero, R Song, GW Hennig, H Zheng, YM Lin, L Moro, JT Hsieh *Cell Research*, 2013 • *nature.com* **23**, 759–774 (2013).
368. Unravelling the molecular mechanisms underlying mitochondrial dysfunction in metabolic diseases. (University of Groningen, 2020).
doi:10.33612/diss.146092791.
369. Wagner, A. ; *et al.* Mitochondrial genetic and epigenetic regulations in cancer: therapeutic potential. *mdpi.com* A Wagner, H Kosnacova, M Chovanec, D Jurkovicova *International Journal of Molecular Sciences*, 2022 • *mdpi.com* **2022**, 7897 (2022).
370. Lee, T., Zhai, J., National, B. M.-P. of the & 2010, undefined. Conservation and divergence in eukaryotic DNA methylation. *National Acad Sciences* T Lee, J Zhai, BC Meyers *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010 • *National Acad Sciences* **107**, 9027–9028 (2010).
371. Kudriashova, I., ... M. K.-B. (Moscow & 1976, undefined. DNA-methylase activities from animal mitochondria and nuclei: different specificity of DNA methylation. *europemc.org* I Kudriashova, MD Kirnos, BF Vaniushin *Biokhimiia (Moscow, Russia)*, 1976 • *europemc.org*.

372. Stoccoro, A. & Coppedè, F. Mitochondrial DNA Methylation and Human Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 4594 **22**, 4594 (2021).
373. Mawlood, S., Dennany, L., Watson, N., ... J. D.-A. (Albany & 2016, undefined. Quantification of global mitochondrial DNA methylation levels and inverse correlation with age at two CpG sites. *ncbi.nlm.nih.gov* SK Mawlood, L Dennany, N Watson, J Dempster, BS Pickard *Aging* (Albany NY), 2016 • *ncbi.nlm.nih.gov*.
374. Dzitoyeva, S., Chen, H., aging, H. M.-N. of & 2012, undefined. Effect of aging on 5-hydroxymethylcytosine in brain mitochondria. *Elsevier* S Dzitoyeva, H Chen, H Manev *Neurobiology of aging*, 2012 • Elsevier.
375. Reis, R. S., biological, S. G.-T. J. of & 1983, undefined. Mitochondrial DNA in mortal and immortal human cells: genome number, integrity, and methylation. *pascal-francis.inist.fr*.
376. Bellizzi, D. *et al*. The control region of mitochondrial DNA shows an unusual CpG and non-CpG methylation pattern. *academic.oup.com* D Bellizzi, P D'Aquila, T Scafione, M Giordano, V Riso, A Riccio, G Passarino *DNA research*, 2013 • *academic.oup.com* doi:10.1093/dnares/dst029.
377. Liu, Y.-F. *et al*. Hypermethylation of mitochondrial DNA in vascular smooth muscle cells impairs cell contractility. *nature.com* YF Liu, JJ Zhu, X Yu Tian, H Liu, T Zhang, YP Zhang, SA Xie, M Zheng, W Kong, WJ Yao *Cell death & disease*, 2020 • *nature.com* doi:10.1038/s41419-020-2240-7.
378. Kornicka, K., Marycz, K., Mare Z Dziak C, M., Tomaszewski, K. A. & Nicpo, J. The effects of the DNA methyltransferases inhibitor 5-Azacytidine on ageing, oxidative stress and DNA methylation of adipose derived stem cells. *Wiley Online Library* K Kornicka, K Marycz, M Marędziak, KA Tomaszewski, J Nicpoń *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2017 • *Wiley Online Library* **21**, 387–401 (2017).
379. Liu, B. *et al*. CpG methylation patterns of human mitochondrial DNA. *nature.com* B Liu, Q Du, L Chen, G Fu, S Li, L Fu, X Zhang, C Ma, C Bin *Scientific reports*, 2016 • *nature.com* (2016) doi:10.1038/srep23421.

380. Hong, E. E., Okitsu, C. Y., Smith, A. D. & Hsieh, C.-L. Regionally Specific and Genome-Wide Analyses Conclusively Demonstrate the Absence of CpG Methylation in Human Mitochondrial DNA. *Mol Cell Biol* **33**, 2683–2690 (2013).
381. Kohli, R., Nature, Y. Z.- & 2013, undefined. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *nature.comRM Kohli, Y ZhangNature, 2013•nature.com*.
382. Ji, F. *et al.* The role of 5-hydroxymethylcytosine in mitochondria after ischemic stroke. *J Neurosci Res* **96**, 1717–1726 (2018).
383. Ghosh, S., Sengupta, S., Mitochondrion, V. S.- & 2016, undefined. Hydroxymethyl cytosine marks in the human mitochondrial genome are dynamic in nature. *Elsevier*.
384. Ghosh, S., Sengupta, S., Mitochondrion, V. S.- & 2014, undefined. Comparative analysis of human mitochondrial methylomes shows distinct patterns of epigenetic regulation in mitochondria. *Elsevier*.
385. Wijst, M. van der, genetics, M. R.-T. in & 2015, undefined. Mitochondrial epigenetics: an overlooked layer of regulation? *cell.comMGP van der Wijst, MG RotsTrends in genetics, 2015•cell.com* **31**, 353–359 (2015).
386. Jang, H., Shin, W., Lee, J., Genes, J. D.- & 2017, undefined. CpG and non-CpG methylation in epigenetic gene regulation and brain function. *mdpi.comHS Jang, WJ Shin, JE Lee, JT DoGenes, 2017•mdpi.com* (2017) doi:10.3390/genes8060148.
387. Hao, Z. *et al.* N6-deoxyadenosine methylation in mammalian mitochondrial DNA. *cell.comZ Hao, T Wu, X Cui, P Zhu, C Tan, X Dou, KW Hsu, YT Lin, PH Peng, LS Zhang, Y Gao, L HuMolecular cell, 2020•cell.com* **78**, 382-395.e8 (2020).
388. Greer, E. L. *et al.* DNA methylation on N6-adenine in *C. elegans*. *Cell* **161**, 868–878 (2015).
389. Ratel, D., Ravanat, J. L., Berger, F. & Wion, D. N6-methyladenine: The other methylated base of DNA. *BioEssays* **28**, 309–315 (2006).

390. Cao, K., Feng, Z., Gao, F., Zang, W. & Liu, J. Mitoeptigenetics: An intriguing regulatory layer in aging and metabolic-related diseases. *Free Radic Biol Med* **177**, 337–346 (2021).
391. Zhang, G. *et al.* N6-methyladenine DNA modification in *Drosophila*. *Cell* **161**, 893–906 (2015).
392. Wu, T. P. *et al.* DNA methylation on N6-adenine in mammalian embryonic stem cells. *Nature* **532**, 329–333 (2016).
393. Xiao, C. *et al.* N6-methyladenine DNA modification in the human genome. *cell.com*CL Xiao, S Zhu, M He, D Chen, Q Zhang, Y Chen, G Yu, J Liu, SQ Xie, F Luo, Z Liang*Molecular cell*, 2018•*cell.com* **71**, 306–318 (2018).
394. Horvath, S., genetics, K. R.-N. reviews & 2018, undefined. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *nature.com*S Horvath, K Raj*Nature reviews genetics*, 2018•*nature.com* (2018) doi:10.1038/s41576-018-0004-3.
395. D'Aquila, P., Giordano, M., Montesanto, A., ... F. D. R.- & 2015, undefined. Age-And Gender-Related Pattern of Methylation in the MT-RNR1 Gene. *Taylor & Francis*P D'Aquila, M Giordano, A Montesanto, F De Rango, G Passarino, D Bellizzi*Epigenomics*, 2015•*Taylor & Francis* **7**, 707–716 (2015).
396. Huang, C.-H. *et al.* Mitochondrial DNA methylation profiling of the human prefrontal cortex and nucleus accumbens: correlations with aging and drug use. *Springer*CH Huang, MC Chang, YC Lai, CY Lin, CH Hsu, BY Tseng, CK Hsiao, TP Lu, SL Yu*Clinical Epigenetics*, 2022•*Springer* **14**, (2020).
397. Bayliak, M. M. & Lushchak, V. I. Pleiotropic effects of alpha-ketoglutarate as a potential anti-ageing agent. *Ageing Res Rev* **66**, 101237 (2021).
398. Azar Asadi Shahmirzadi, A. *et al.* Alpha-ketoglutarate, an endogenous metabolite, extends lifespan and compresses morbidity in aging mice. *cell.com*AA Shahmirzadi, D Edgar, CY Liao, YM Hsu, M Lucanic, AA Shahmirzadi, CD Wiley, G Gan*Cell metabolism*, 2020•*cell.com* **32**, 447-456.e6 (2020).
399. D'aquila, P. *et al.* Multi-tissue DNA methylation remodeling at mitochondrial quality control genes according to diet in rat aging models. *mdpi.com*P

D'Aquila, F De Rango, F Guarasci, M Mandalà, A Corsonello, D Bellizzi, G Passarino *Nutrients*, 2020 • *mdpi.com* doi:10.3390/nu12020460.

400. Martín-Fernández, B. & Gredilla, R. Mitochondria and oxidative stress in heart aging. *Age (Omaha)* **38**, 225–238 (2016).
401. Stocco, A., Sciences, F. C.-I. J. of M. & 2021, undefined. Mitochondrial DNA methylation and human diseases. *mdpi.com* A Stocco, F Coppedè *International Journal of Molecular Sciences*, 2021 • *mdpi.com* (2021) doi:10.3390/ijms22094594.
402. Donato, L. *et al.* Possible A2E mutagenic effects on RPE mitochondrial DNA from innovative RNA-seq bioinformatics pipeline. *mdpi.com* L Donato, C Scimone, S Alibrandi, A Pitruzzella, F Scalia, R D'Angelo, A Sidoti *Antioxidants*, 2020 • *mdpi.com* doi:10.3390/antiox9111158.
403. Owczarz, M. *et al.* miR-34a and miR-9 are overexpressed and SIRT genes are downregulated in peripheral blood mononuclear cells of aging humans. *Exp Biol Med* **242**, 1453–1461 (2017).
404. Ye, Z. *et al.* Regulation of miR-181a expression in T cell aging. *nature.com* Z Ye, G Li, C Kim, B Hu, RR Jadhav, CM Weyand, JJ Goronzy *Nature communications*, 2018 • *nature.com* doi:10.1038/s41467-018-05552-3.
405. Goljanek-Whysall, K., Soriano-Arroquia, A., McCormick, R., Chinda, C. & McDonagh, B. miR-181a regulates p62/SQSTM1, parkin, and protein DJ-1 promoting mitochondrial dynamics in skeletal muscle aging. *Aging Cell* **19**, (2020).
406. Giuliani, A., Cirilli, I., Prattichizzo, F., ... E. M.-A. (Albany & 2018, undefined. The mitomiR/Bcl-2 axis affects mitochondrial function and autophagic vacuole formation in senescent endothelial cells. *ncbi.nlm.nih.gov* A Giuliani, I Cirilli, F Prattichizzo, E Mensà, G Fulgenzi, J Sabbatinelli, L Graciotti, F Olivieri *Aging (Albany NY)*, 2018 • *ncbi.nlm.nih.gov*.
407. journal, M. M.-B. & 2009, undefined. How mitochondria produce reactive oxygen species. *portlandpress.com* MP Murphy *Biochemical journal*, 2009 • *portlandpress.com* **417**, 1–13 (2009).

408. Ugalde, A. P., Ordóñez, G. R., Quirós, P. M., Puente, X. S. & López-Otín, C. Metalloproteases and the degradome. *Methods Mol Biol* **622**, 3–29 (2010).
409. Lang, A. *et al.* MicroRNA-15b regulates mitochondrial ROS production and the senescence-associated secretory phenotype through sirtuin 4/SIRT4. *Aging* **8**, 484–505 (2016).
410. Jia, H.-L. *et al.* Integrated microRNA and mRNA sequencing analysis of age-related changes to mouse thymic epithelial cells. *Wiley Online Library* HL Jia, XQ Zeng, F Huang, YM Liu, BS Gong, KZ Zhang, JH Zeng, DG Guo, ZY Wang, YG Lilubmb Life, 2018•Wiley Online Library **70**, 678–690 (2018).
411. Luo, L. *et al.* Mitochondrial-related microRNAs and their roles in cellular senescence. *Front Physiol* **14**, (2023).
412. Das, S. *et al.* miR-181c Regulates the Mitochondrial Genome, Bioenergetics, and Propensity for Heart Failure In Vivo. *journals.plos.org* S Das, D Bedja, N Campbell, B Dunkerly, V Chenna, A Maitra, C SteenbergenPloS one, 2014•journals.plos.org **9**, (2014).
413. Rippo, M., Olivieri, F., Monsurrò, V., ... F. P.-E. & 2014, undefined. MitomiRs in human inflamm-aging: a hypothesis involving miR-181a, miR-34a and miR-146a. *Elsevier*.
414. Giuliani, A. *et al.* Mitochondrial (Dys) Function in Inflammaging: Do MitomiRs Influence the Energetic, Oxidative, and Inflammatory Status of Senescent Cells? *Mediators Inflamm* **2017**, 1–11 (2017).
415. Olivieri, F. *et al.* MiR-146a as marker of senescence-Associated pro-inflammatory status in cells involved in vascular remodelling. *Age (Omaha)* **35**, 1157–1172 (2013).
416. Ong, S. M. *et al.* The pro-inflammatory phenotype of the human non-classical monocyte subset is attributed to senescence. *Cell Death & Disease* 2018 9:3 **9**, 1–12 (2018).
417. Wang, W. X. *et al.* Temporal changes in inflammatory mitochondria-enriched microRNAs following traumatic brain injury and effects of miR-146a nanoparticle delivery. *Neural Regen Res* **16**, 514–522 (2021).

418. Li, G., Luna, C., Qiu, J., ... D. E.-... ophthalmology & visual & 2010, undefined. Modulation of inflammatory markers by miR-146a during replicative senescence in trabecular meshwork cells. *iovs.arvojournals.org* Li, C Luna, J Qiu, DL Epstein, P Gonzalez *Investigative ophthalmology & visual science*, 2010 • *iovs.arvojournals.org* doi:10.1167/iovs.09-4874.
419. Lakshmi, S. *et al.* hsa-miR-4485 regulates mitochondrial functions and inhibits the tumorigenicity of breast cancer cells. *Springer* L Sripada, K Singh, AV Lipatova, A Singh, P Prajapati, D Tomar, K Bhatelia, M Roy, R Singh *Journal of Molecular Medicine*, 2017 • *Springer* **95**, 641–651 (2017).
420. Mu, G., Deng, Y., Lu, Z., Li, X. & Chen, Y. MiR-20b suppresses mitochondrial dysfunction-mediated apoptosis to alleviate hyperoxia-induced acute lung injury by directly targeting MFN1 and MFN2. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* **53**, 220–228 (2021).
421. Bucha, S., Mukhopadhyay, D. & Bhattacharyya, N. P. Regulation of mitochondrial morphology and cell cycle by microRNA-214 targeting Mitofusin2. *Biochem Biophys Res Commun* **465**, 797–802 (2015).
422. Lang, A. *et al.* Correction: SIRT4 interacts with OPA1 and regulates mitochondrial quality control and mitophagy [Aging, Albany NY, 9, 10, (2017), (2163-2189)] doi 10.18632/aging.101307. *Aging* vol. 10 2536–2536 Preprint at <https://doi.org/10.18632/aging.101570> (2018).
423. Hofmann, P. *et al.* Long non-coding RNA H19 regulates endothelial cell aging via inhibition of STAT3 signalling. *academic.oup.com* P Hofmann, J Sommer, K Theodorou, L Kirchhof, A Fischer, Y Li, L Perisic, U Hedin *Cardiovascular research*, 2019 • *academic.oup.com* doi:10.1093/cvr/cvy206.
424. Zhang, H. *et al.* LncRNA NEAT1 controls the lineage fates of BMSCs during skeletal aging by impairing mitochondrial function and pluripotency maintenance. *nature.com* H Zhang, R Xu, B Li, Z Xin, Z Ling, W Zhu, X Li, P Zhang, Y Fu, J Chen, L Liu, J Cheng *Cell Death & Differentiation*, 2022 • *nature.com* **29**, 351–365 (2022).
425. Bagul, P. *et al.* SIRT-3 modulation by resveratrol improves mitochondrial oxidative phosphorylation in diabetic heart through deacetylation of TFAM.

mdpi.com PK Bagul, PB Katare, P Bugga, AK Dinda, SK Banerjee *Cells*,
2018 • *mdpi.com* doi:10.3390/cells7120235.

426. Yang, X. C. *et al.* lncRNA ENSMUST00000134285 increases MAPK11 activity, regulating aging-related myocardial apoptosis. *academic.oup.com* X Chun Yang, D Hui Zhao, W Bond Lau, K Qiang Liu, J Yu Tian, Z Chao Cheng, X Liang Ma *The Journals of Gerontology: Series A*, 2018 • *academic.oup.com* **73**, 1010–1017 (2018).
427. White, R. R. *et al.* Comprehensive transcriptional landscape of aging mouse liver. *Springer* RR White, B Milholland, SL MacRae, M Lin, D Zheng, J Vijg *BMC genomics*, 2015 • *Springer* **16**, (2011).
428. Bianchessi, V. *et al.* The mitochondrial lncRNA ASncmtRNA-2 is induced in aging and replicative senescence in Endothelial Cells. *J Mol Cell Cardiol* **81**, 62–70 (2015).
429. Rackham, O. *et al.* Long noncoding RNAs are generated from the mitochondrial genome and regulated by nuclear-encoded proteins. *rnajournal.cshlp.org* O Rackham, AMJ Shearwood, TR Mercer, SMK Davies, JS Mattick, A Filipovska *Rna*, 2011 • *rnajournal.cshlp.org* doi:10.1261/rna.029405.111.
430. Noh, J. H. *et al.* HuR and GRSF1 modulate the nuclear export and mitochondrial localization of the lncRNA RMRP. *genesdev.cshlp.org* JH Noh, KM Kim, K Abdelmohsen, JH Yoon, AC Panda, R Munk, J Kim, J Curtis, CA Moad *Genes & development*, 2016 • *genesdev.cshlp.org* doi:10.1101/gad.276022.115.
431. Zhao, Y. *et al.* Nuclear-encoded lncRNA MALAT1 epigenetically controls metabolic reprogramming in HCC cells through the mitophagy pathway. *cell.com*, T Sun, X Wen, X Li, Y Meng, Y Li, M Liu, S Liu, SJ Kim, J Xiao, L Li, S Zhang, W Li, P Cohen... *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 2021 • *cell.com* **23**, 264–276 (2021).
432. King, G. A. *et al.* Acetylation and phosphorylation of human TFAM regulate TFAM–DNA interactions via contrasting mechanisms. *academic.oup.com* GA King, M Hashemi Shabestari, KKH Taris, AK Pandey, S Venkatesh, J Thilagavathi *Nucleic acids research*, 2018 • *academic.oup.com* **46**, 3633–3642 (2018).

433. Zollo, O., Tiranti, V., the, N. S.-P. of & 2012, undefined. Transcriptional requirements of the distal heavy-strand promoter of mtDNA. *National Acad Sciences* O Zollo, V Tiranti, N Sondheimer *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2012 • *National Acad Sciences* **109**, 6508–6512 (2024).
434. Wang, L., Hsu, T., Lin, H., Open, C. F.-B. & 2021, undefined. Modulation of mitochondrial nucleoid structure during aging and by mtDNA content in *Drosophila*. *journals.biologists.com* L Wang, T Hsu, H Lin, C Fu *Biology Open*, 2021 • *journals.biologists.com* (2021) doi:10.1242/bio.058553.
435. Matsuda, T., Kanki, T., Tanimura, T., ... D. K.-B. and & 2013, undefined. Effects of overexpression of mitochondrial transcription factor A on lifespan and oxidative stress response in *Drosophila melanogaster*. *Elsevier* T Matsuda, T Kanki, T Tanimura, D Kang, ET Matsuura *Biochemical and biophysical research communications*, 2013 • *Elsevier*.
436. Bonekamp, N. A. *et al.* High levels of TFAM repress mammalian mitochondrial DNA transcription in vivo. *life-science-alliance.org* NA Bonekamp, M Jiang, E Motori, RG Villegas, C Koolmeister, I Atanassov, A Mesaros *Life Science Alliance*, 2021 • *life-science-alliance.org* (2021) doi:10.26508/lsa.202101034.
437. Xia, S. *et al.* An update on inflamm-aging: mechanisms, prevention, and treatment. *Wiley Online Library* S Xia, X Zhang, S Zheng, R Khanabдали, B Kalionis, J Wu, W Wan, X Tai *Journal of immunology research*, 2016 • *Wiley Online Library* **2016**, (2016).
438. Cobo, I. *et al.* DNA methyltransferase 3 alpha and TET methylcytosine dioxygenase 2 restrain mitochondrial DNA-mediated interferon signaling in macrophages. *cell.com* I Cobo, TN Tanaka, KC Mangalhara, A Lana, C Yeang, C Han, J Schlachetzki, J Challcomb *Immunity*, 2022 • *cell.com*.
439. Desdín-Micó, G. *et al.* T cells with dysfunctional mitochondria induce multimorbidity and premature senescence. *Science (1979)* **368**, 1371–1376 (2020).
440. Zhang, J. *et al.* Mitochondrial Sirtuin 3: New emerging biological function and therapeutic target. *ncbi.nlm.nih.gov* J Zhang, H Xiang, J Liu, Y Chen, RR He, B Liu *Theranostics*, 2020 • *ncbi.nlm.nih.gov*.

441. Ji, Z., Liu, G. H. & Qu, J. Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging. *Journal of Genetics and Genomics* vol. 49 287–298 Preprint at <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2021.11.005> (2022).
442. Liu, G. H. *et al.* Aging Atlas: A multi-omics database for aging biology. *Nucleic Acids Res* **49**, D825–D830 (2021).
443. Cheng, Y. *et al.* Interaction of Sirt3 with OGG1 contributes to repair of mitochondrial DNA and protects from apoptotic cell death under oxidative stress. *nature.com* Y Cheng, X Ren, ASP Gowda, Y Shan, L Zhang, YS Yuan, R Patel, H Wu, K Huber-Keener *Cell death & disease*, 2013 • *nature.com* **4**, (2013).
444. Jing, E. *et al.* Sirtuin-3 (Sirt3) regulates skeletal muscle metabolism and insulin signaling via altered mitochondrial oxidation and reactive oxygen species production. *Proc Natl Acad Sci U S A* **108**, 14608–14613 (2011).
445. Wang, S. *et al.* Single-cell transcriptomic atlas of primate ovarian aging. *cell.com*.
446. Bi, S. *et al.* SIRT7 antagonizes human stem cell aging as a heterochromatin stabilizer. *academic.oup.com* doi:10.1007/s13238-020-00728-4.
447. Diao, Z. *et al.* SIRT3 consolidates heterochromatin and counteracts senescence. *Nucleic Acids Res* **49**, 4203–4219 (2021).
448. Qiu, X., Brown, K., Hirschey, M. D., Verdin, E. & Chen, D. Cell Metabolism Calorie Restriction Reduces Oxidative Stress by SIRT3-Mediated SOD2 Activation. *Cell Metab* **12**, 662–667 (2010).
449. Yu, W., Dittenhafer-Reed, K., Chemistry, J. D.-J. of B. & 2012, undefined. SIRT3 Protein Deacetylates Isocitrate Dehydrogenase 2 (IDH2) and Regulates Mitochondrial Redox Status* ♦ . *ASBMB* (2012) doi:10.1074/jbc.M112.355206.
450. Pacella-Ince, L., Zander-Fox, D. L. & Lane, M. Mitochondrial SIRT3 and its target glutamate dehydrogenase are altered in follicular cells of women with reduced ovarian reserve or advanced maternal age. *Human Reproduction* **29**, 1490–1499 (2014).
451. Braidy, N. *et al.* Differential expression of sirtuins in the aging rat brain. *Front Cell Neurosci* **9**, 124188 (2015).

452. Zeng, J. *et al.* SIRT 4 is essential for metabolic control and meiotic structure during mouse oocyte maturation. *Wiley Online Library*J Zeng, M Jiang, X Wu, F Diao, D Qiu, X Hou, H Wang, L Li, C Li, J Ge, J Liu, X Ou, Q Wang*Aging Cell*, 2018•*Wiley Online Library* **17**, (2018).
453. Luo, Y.-X. *et al.* SIRT4 accelerates Ang II-induced pathological cardiac hypertrophy by inhibiting manganese superoxide dismutase activity. *academic.oup.com* **38**, 1389–1398 (2017).
454. Zhou, L. *et al.* SIRT 5 promotes IDH 2 desuccinylation and G6 PD deglutarylation to enhance cellular antioxidant defense. *embopress.org*L Zhou, F Wang, R Sun, X Chen, M Zhang, Q Xu, Y Wang, S Wang, Y Xiong, KL Guan*EMBO reports*, 2016•*embopress.org* **17**, 811–822 (2016).
455. Ji, Z., Liu, G., Genomics, J. Q.-J. of G. and & 2022, undefined. Mitochondrial sirtuins, metabolism, and aging. *Elsevier*.
456. Epigenetics, A. F. L.-C. & 2020, undefined. Mitochondrial metabolism and DNA methylation: a review of the interaction between two genomes. *Springer*A FC Lopes*Clinical Epigenetics*, 2020•*Springer* **12**, 182 (2020).
457. Low, H. C. *et al.* Changes in Mitochondrial Epigenome in Type 2 Diabetes Mellitus. *Br J Biomed Sci* **80**, (2023).
458. Gong, Z., Oncotarget, I. T.- & 2018, undefined. Humanin enhances the cellular response to stress by activation of chaperone-mediated autophagy. *academia.edu*Z Gong, I Tasset*Oncotarget*, 2018•*academia.edu*.
459. Donato, L. *et al.* From powerhouse to regulator: The role of mitoepigenetics in mitochondrion-related cellular functions and human diseases. *Free Radic Biol Med* **218**, 105–119 (2024).
460. Johnson, A. A. *et al.* The role of DNA methylation in aging, rejuvenation, and age-related disease. *Rejuvenation Res* **15**, 483–494 (2012).
461. Devall, M. *et al.* Genome-wide characterization of mitochondrial DNA methylation in human brain. *Front Endocrinol (Lausanne)* **13**, (2023).
462. Xu, H., Liu, Y., Li, L., Disease, Y. L.-A. and & 2023, undefined. Sirtuins at the crossroads between mitochondrial quality control and neurodegenerative

diseases: structure, regulation, modifications, and modulators.

ncbi.nlm.nih.gov H Xu, YY Liu, LS Li, YS Liu *Aging and Disease*,
2023 • *ncbi.nlm.nih.gov*.

463. Luo, L. *et al.* Mitochondrial-related microRNAs and their roles in cellular senescence. *Front Physiol* **14**, (2023).
464. Dou, X. *et al.* The strand-biased mitochondrial DNA methylome and its regulation by DNMT3A. *genome.cshlp.org*, JD Boyd-Kirkup, J McDermott, X Zhang, F Li, B Rong, R Zhang, B Miao, P Chen, H Cheng... *Genome Research*, 2019 • *genome.cshlp.org* (2019) doi:10.1101/gr.234021.117.
465. Bianchessi, V. *et al.* Methylation profiling by bisulfite sequencing analysis of the mtDNA Non-Coding Region in replicative and senescent Endothelial Cells. *Mitochondrion* **27**, 40–47 (2016).
466. Yu, D. *et al.* Mitochondrial DNA hypomethylation is a biomarker associated with induced senescence in human fetal heart mesenchymal stem cells. *Stem Cells Int* **2017**, (2017).
467. Fan, L. H. *et al.* Absence of mitochondrial DNA methylation in mouse oocyte maturation, aging and early embryo development. *Biochem Biophys Res Commun* **513**, 912–918 (2019).
468. Sun, X. *et al.* Mitochondrial gene COX2 methylation and downregulation is a biomarker of aging in heart mesenchymal stem cells. *Int J Mol Med* **47**, 161–170 (2021).
469. Shaughnessy, D. T. *et al.* Mitochondria, energetics, epigenetics, and cellular responses to stress. *Environmental Health Perspectives* vol. 122 1271–1278 Preprint at <https://doi.org/10.1289/ehp.1408418> (2015).
470. Castegna, A., Iacobazzi, V. & Infantino, V. The mitochondrial side of epigenetics. *Physiol Genomics* **47**, 299–307 (2015).
471. Das, S. *et al.* Divergent effects of miR-181 family members on myocardial function through protective cytosolic and detrimental mitochondrial microRNA targets. *Am Heart Assoc* S Das, M Kohr, B Dunkerly-Eyring, DI Lee, D Bedja, OA Kent, AKL Leung, J Henao-Mejia *Journal of the American Heart Association*, 2017 • *Am Heart Assoc* **6**, (2017).

472. Das, S. *et al.* Nuclear miRNA regulates the mitochondrial genome in the heart. *Circ Res* **110**, 1596–1603 (2012).
473. Lee, H. *et al.* microRNA-200a-3p enhances mitochondrial elongation by targeting mitochondrial fission factor. *BMB Rep* **50**, 214–219 (2017).
474. Centro, V. B. *et al.* The mitochondrial lncRNA ASncmtRNA-2 is induced in aging and replicative senescence in Endothelial Cells. *ElsevierV Bianchessi, I Badi, M Bertolotti, P Nigro, Y D'Alessandra, MC Capogrossi, M ZanobiniJournal of molecular and cellular cardiology*, 2015•Elsevier (2015)
doi:10.1016/j.yjmcc.2015.01.012.

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.