



# Nükleositooplazmik Transport Bozukluğu: Nörodejenerasyon ve Yaşlanmada Sebep mi Sonuç Mu? Nucleocytoplasmic Transport Defects: Cause or Consequence in Neurodegeneration and Aging?

<sup>1</sup>İrem Armağan, <sup>2,3</sup>Emel Ulupınar

<sup>1</sup>Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Dönem 1 Öğrencisi, Ankara, Türkiye  
<sup>2</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Anatomi Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye  
<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Disiplinlerarası Sinirbilimleri  
Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye

**Özet:** Çekirdek, hücrenin gen ekspresyonunun düzenlenmesinde kritik rol oynayan çok önemli bir organeldir. Nükleer zar içerisinde gömülü bulunan nükleer por kompleksleri (NPK) hücredeki en büyük protein kompleksleridir ve nükleoporin (Nups) olarak adlandırılan 30'dan fazla farklı proteine sahiptir. Bu yapılar, RNA'nın ve nükleer import veya export sinyalleri taşıyan spesifik proteinlerin çift yönlü olarak taşınımının kontrolünde önemli rol oynarlar. Özellikle de nöronlar gibi uzun ömürlü hücrelerde, genomik bütünlüğünün korunması ve DNA onarım mekanizmalarının işlevlerinin yerine getirebilmesi için nükleositooplazmik transport işlevinin giderek biriken iç ve dış hasarlardan korunması özel bir öneme sahiptir. Son çalışmalar, nükleer zarındaki ve NPK bileşenlerindeki değişikliklerin hem fizyolojik yaşlanma hem de toksik protein agregatları ile karakterize olan nörodejeneratif hastalıklarda nükleositooplazmik transport bozukluklarına yol açabileceğine işaret etmektedir. Bununla birlikte, bozulmuş nükleositooplazmik taşınımın bu problemlerin nedeni mi yoksa sonucu mu olduğu konusu hala belirsizliğini korumaktadır. Bu derlemede, nükleositooplazmik transport kusurlarının altında yatan moleküler mekanizmaların özetlenmesi amaçlanmıştır. Bu bilgiler, fizyolojik ve patolojik durumlarda gözlenen ortak mekanizmalara ilişkin öngörü sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda gelecekte yeni tedavi edici ve/veya koruyucu yaklaşımlar geliştirilmesi için düşünce yolunu da açacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Nükleositooplazmik transport; Nükleer por kompleksi; Nörodejenerasyon; Yaşlanma.

**Abstract:** Nucleus is the most important organelle of a cell playing a critical role in the regulation of gene expression. The nuclear pore complexes (NPCs) spanning the NE are the largest protein complexes, having more than 30 different proteins called as nucleoporins (Nups). These structures play a key role in controlling bidirectional transport of RNA and specific proteins which carry nuclear import or export signals. Especially in long-lived cells, like neurons, protection of the nucleocytoplasmic transport machinery from accumulating external and internal insults has a special importance for maintaining genomic integrity and DNA repairment mechanisms. Recent studies suggest that structural and functional alterations in the NE and components of the NPC might lead to nucleocytoplasmic transport defects in both physiological aging and neurodegenerative disorders, in particular characterized by toxic protein aggregates. However, whether impaired nucleocytoplasmic transport is a cause or a consequence of such conditions is still unclear. In this review, it was aimed to summarize the molecular mechanisms underlying the nucleocytoplasmic transport defects. This information will not only provide insights to shared pathways in physiological and pathological conditions, but also open the way of thinking to develop novel therapeutic and/or protective approaches in the future.

**Keywords:** Nucleocytoplasmic transport; Nuclear pore complex; Neurodegeneration; Aging.

**ORCID ID of the authors:** İ.A. 0000-0001-2386-646X, E.U. 0000-0001-9684-5937

*Received* 20.10.2020

*Accepted* 21.12.2020

*Online published* 23.12.2020

Armağan I, Ulupınar E, Nucleocytoplasmic Transport Defects: Cause or Consequence in Neurodegeneration and Aging?  
*Türk Tıp Öğrencileri Araştırma Dergisi*, 2020; 2(3):143-153

*Yazışma Adresi:* **Emel ULUPINAR**- Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı, Eskişehir, Türkiye  
mail: [zulupi@ogu.edu.tr](mailto:zulupi@ogu.edu.tr)

## 1. Giriş

Son yıllarda yapılan çalışmalarda; nöronal toksik protein agregatları ile karakterize olan amiotrofik lateral skleroz (ALS), frontotemporal demans (FTD), Alzheimer hastalığı (AD), Huntington hastalığı (HD) ve Parkinson hastalığı (PD) gibi pek çok farklı nörodejeneratif bozuklukta nükleositol plazmik transport kusurlarının önemli bir rol oynadığı ortaya çıkarılmıştır. Özellikle de nöronlar gibi bölünemeyen uzun ömürlü hücrelerde nükleositol plazmik taşıma mekanizmasının düzgün işleyişi son derece önem arz etmektedir. Çünkü nöronlar, plastisite kabiliyetleri sayesinde, sürekli değişiklik gösterebilen dış ve iç uyaranlara adaptasyon sağlayabilmek ve uygun yanıt oluşturabilmek için gereken düzenleyici unsurları etkinleştirmektedir. Bu süreç de hücrede DNA ve RNA'nın bakım ve onarımında görevli transkripsiyon faktörlerinin, nükleik asitlerin ve proteinlerin nükleer zarıdan taşınımını gerektirmektedir. Bu derlemede, nükleus ve sitoplazma arasındaki taşınım görevleri olan yapılar hakkında genel bir bilgi verildikten sonra, fizyolojik ve patolojik nöronal yaşlanma modellerinde meydana gelen yapısal ve işlevsel değişikliklerin incelenmesi amaçlanmıştır (1).

### *Nükleer Zarf*

Nükleus, tüm ökaryot hücrelerde, nükleer zarf adı verilen çift katlı bir zarla çevrili, özellikli ve ayırt ettirici bir organeldir. Nükleer zarf başlıca 3 ana kısımdan oluşur: Çift katlı zar, nükleer lamina ve nükleer por kompleksi (NPK). Çift katlı zarın perinükleer boşluğu çevreleyen dış yaprağı granüllü endoplazmik retikulumun lümeni ile devamlılık arz ederken, iç yaprak bazı özel nükleer zarf transmembran proteinlerini içerir (2). Nükleer zarfın iç yüzeyini kaplayan ve nükleusa yapısal destek sağlayan nükleer lamina ise hücrel genomu çevreleyen ara filamentlerden oluşan yoğun bir iplikli ağ örgüsüdür. Laminler adı verilen 60-80 kDaltonluk ara filaman sınıfına ait proteinler ve bunlarla ilişkili proteinlerden oluşur. Bu dinamik yapılar hem nükleer organizasyonda hem de gen regülasyonunda önemli rol oynarlar (3). Nükleer zarf boyunca yerleşim

gösteren ve LINC (linker of nucleus and cytoskeleton) olarak adlandırılan proteinler sayesinde nükleer zarf hücre iskeleti ve kromatin ile bağlantılıdır. Genetik materyal de dahil olmak üzere çekirdekte lokalize olan makromoleküller ya da sitoplazmada lokalize olan çeşitli kargo materyalleri NPK adı verilen yapılar aracılığıyla nükleus ve sitoplazma arasında taşınır. Kargo materyallerinin nükleositol plazmik transportu NPK'ye gömülü bir dizi fonksiyonel nükleoporin tarafından sıkı bir biçimde denetlenir. Böylece nükleoporinler nükleer zarfın seçici geçirgen olmasını sağlar (4, 5).

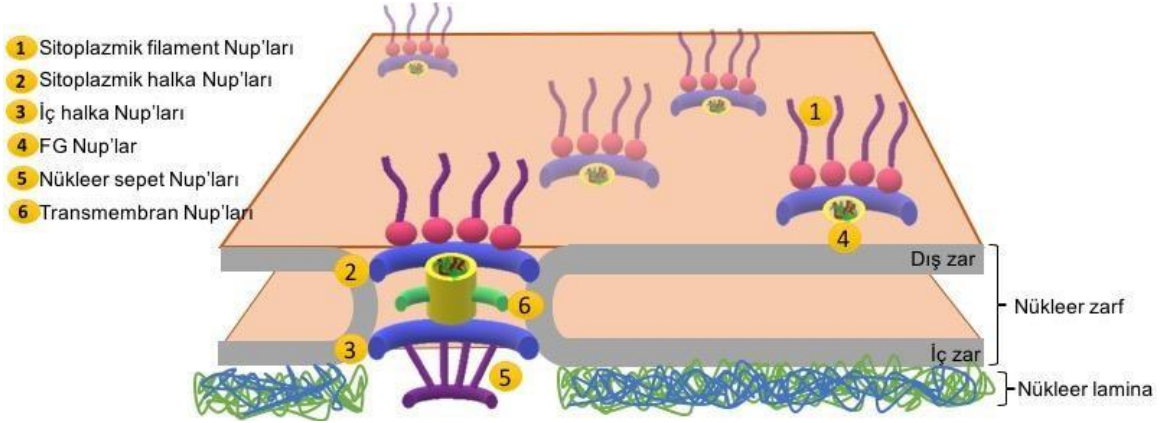
### *Nükleer Por Kompleksi (NPK)*

Aktif bir hücre nükleusunun zarfı içerisinde gömülü olarak bulunan 3000-4000 adet NPK, içerdiği merkezi açıklık sayesinde saniyede 1000 kadar molekülün sitoplazma ile çekirdek arasında seçici bir şekilde geçişine imkan sağlar (6). Bu protein kanalı 90-110 Angstrom'dan küçük parçacıkların serbest difüzyonuna, ~390 Angstrom'a kadar olan moleküllerin ise aktif transportuna aracılık eder (7). Nükleer zarfın iç ve dış zarıyla birleşik bir yapı olan NPK, oldukça organize bir yapı halinde düzenlenmiş merkezi bir kanal (90 nm uzunluğunda ve ~40 nm iç çapında) etrafında dizili sekiz çubuk ve çubukların tutunduğu halkalardan oluşur. Bunlardan sitoplazmik tarafta yerleşen halkaya sitoplazmik filamentler tutunurken, nükleer tarafta yerleşen halkaya sepet filamentleri tutunur. Bu iki halka arasında da iç halka kompleksi ve transmembran ünite yer alır. NPK'lerin protein kompozisyonu farklı organizmalarda ve aynı organizmanın farklı hücreleri arasında değişiklikler gösterir. Bu nedenle nükleositol plazmik taşınımındaki görevlerine ek olarak gen ekspresyonu, kromatin organizasyonu ve hücre döngüsünün düzenlenmesi gibi diğer hücrel süreçlerde de rol oynarlar (8).

### *Nükleoporinler (Nup)*

En büyük hücrel protein (~125 MDa) olan NPK, nükleoporin (Nup) adı verilen 30'dan fazla farklı proteinden oluşan kompleks bir yapıdır. Bu Nup'ların her birisi de NPK

içindeki lokalizasyonlarına bağlı olarak değişik sayıda kopyalara sahiptir. Nükleoporinler yapısal özelliklerine göre başlıca yedi kategoride incelenebilir (**Şekil 1**).



**Şekil 1.** Nükleer zarf ve nükleer por kompleksi (NPK). Rakamlar NPK'nin farklı komponentlerinde bulunan nükleoporinlerin (Nup) lokalizasyonunu göstermektedir.

- i. Sitoplazmik filament Nup'ları
- ii. Nükleoplazmik ve sitoplazmik halka Nup'ları
- iii. İç halka kompleksi Nup'ları
- iv. Fenilalanin-glisin (FG) tekrarları içeren merkezi Nup'ları
- v. Transmembran Nup'ları
- vi. Nükleer sepet Nup'ları
- vii. Adaptör Nup'lar

İlk üç kategoride yer alan Nup'lar sabit yapısal proteinler olup filogenetik açıdan da çok iyi korunmuştur ve kargo proteinlerinin bağlanma bölgesidir (9). “Son derece uzun ömürlü proteinler (ELLP= extremely long-lived proteins)” adı da verilen bu Nup'lar, oldukça sınırlı yenilenme potansiyeline sahip olduklarından ömürleri boyunca zararlı metabolitlere ve/veya kimyasallara maruz kalırlar (10,11). Bu nedenle zaman içerisinde NPK'lerin seçici geçirgenlik özelliğinde meydana gelen bozukluklar yaşlanmayla ilgili patolojik süreçlere zemin hazırlar (12,13).

NPK'nin merkezi kanalı düzensiz dağılmış FG tekrarları içeren Nup'lardan oluşan dinamik bir filtre içerir. Bu filtre 40 nm büyüklüğüne kadar olan moleküllerin pasif difüzyonunu önler (14). Bu Nup'lar seçici geçirgenlikte vazgeçilmez unsurlar olan import ve eksport mekanizmalarında önemli rol oynayan nükleer transport reseptörleri (NTR) için bağlanma alanı oluşturur. Tipik olarak ~30kDa'dan küçük proteinler NPK

merkezi kanalından çok rahat geçebilirken büyük proteinler NTR'lere ihtiyaç duyar.

Transmembran Nup'ları por kompleksinin nükleer zara bağlı kalmasını sağlar. Nükleer sepet Nup'ları ise kromatin regülasyonu, transkripsiyon regülasyonu, mRNA biyogenezi ve çekirdek dışına taşınımında görev alan multiprotein kompleks işlevlerinin koordinasyonunda görev alır (15).

### **Nükleer Transport Reseptörleri (NTR)**

İyonlar, metabolitler ve küçük makromoleküller NPK kanalından serbestçe geçebilirken 5 nm çapından büyük moleküller için bu durum söz konusu değildir (16,17). Bu makromoleküllerden sadece spesifik bir import ya da eksport sinyal sekansına sahip olan kargolar metabolik enerji gerektiren bir kolaylaştırılmış transport mekanizması aracılığıyla nükleustan sitoplazmaya ya da tam tersi sitoplazmadan nükleusa taşınırlar (13, 18).

Bu sinyal sekansına sahip kargolar karyoferin adı da verilen NTR'lerin bariyer nükleoporinleri ile etkileşime geçmesiyle NPK'den geçebilirler. Bu nedenle geçiş esnasında NPK yapısında kanalın açılması veya kapanması şeklinde bir değişiklik olmaksızın kargo ile FG Nup'ları arasında birden fazla zayıf bağlanma meydana gelir.

İnsanda pek çok farklı NTR bulunmakla birlikte, en iyi korunmuş ve en geniş üye sayısına sahip olan aile Kaps olarak bilinen proteinlerdir. Kaps ailesinin en az 20 üyesi (importinler, eksportinler ve transportinler) vardır (19). Spesifik makromoleküller NTR'lerin yüzeylerindeki hidrofobik bağlanma bölgelerinin FG Nup'ları ile bağlanması sayesinde NPK'den dışarı veya içeri taşınırlar. İmportinler sitoplazmadan nükleusa taşınımı, eksportinler ise nükleustan sitoplazmaya taşınımı kontrol ederler (18,19). Çoğu NTR, substratlarındaki uygun nükleer lokalizasyon sinyali (NLS) ya da nükleer eksport sinyali (NES) olarak adlandırılan kısa sinyal peptid bölgelerini tanıyarak doğrudan bağlanırken, importin- $\alpha$  gibi bazı reseptörler özel adaptör proteinlerine ihtiyaç duyar.

### ***Nükleositol plazmik Transport***

Kargo-reseptör komplekslerinin taşınımı için gereken enerji doğrudan ATP/GTP'nin hidrolizi yerine, kütlesi ve enzimatik aktivitesi nedeniyle küçük GTPaz'lar ailesinde yer alan Ran (Ras ile ilişkili nükleer protein) aktivitesine bağımlı bir şekilde gerçekleşir (20,21). Nükleositol plazmik transportun önemli bir komponenti olan Ran insan hücrelerinde sadece bir gen tarafından kodlanan bir mekik proteindir. Çekirdek ve sitoplazma arasında taşıma esnasında çeşitli import ve eksport reseptörleri ile dögüsel bir biçimde etkileşerek kargo bağlanması ve serbest bırakılmasını düzenler. Ayrıca taşıma yönünü de belirleyerek boş alıcıların başlangıç bölmesine geri dönmesini sağlar (13). Ran proteini guanin trifosfat (RanGTP) veya guanin difosfat (RanGDP) nükleotidinde bağlı olmak üzere iki farklı durumda bulunur. Normalde Ran proteininin intrinsik GTPaz aktivitesi düşüktür, ancak GTPaz aktive edici protein olan RanGAP ve onun kofaktörü olan RanBP (Binding Protein) sitoplazmada RanGTP'nin RanGDP'ye dönüşümünü katalize eder (22). Tam tersine nükleer

kromatine bağlı olarak bulunan bir kromozom kondensasyon düzenleyicisi olan RanGEF (Guanidin değişim faktörü) ise RanGDP'yi RanGTP'ye dönüştürür. RanGAP konsantrasyonunun sitoplazmada RanGEF'in ise çekirdekte daha fazla olması nedeniyle bir RanGDP/GTP gradiyenti oluşur ve böylece nükleer zarftaki taşınımın yönü garanti altına alınır (23).

#### **▪ Proteinlerin Nükleer İmportu**

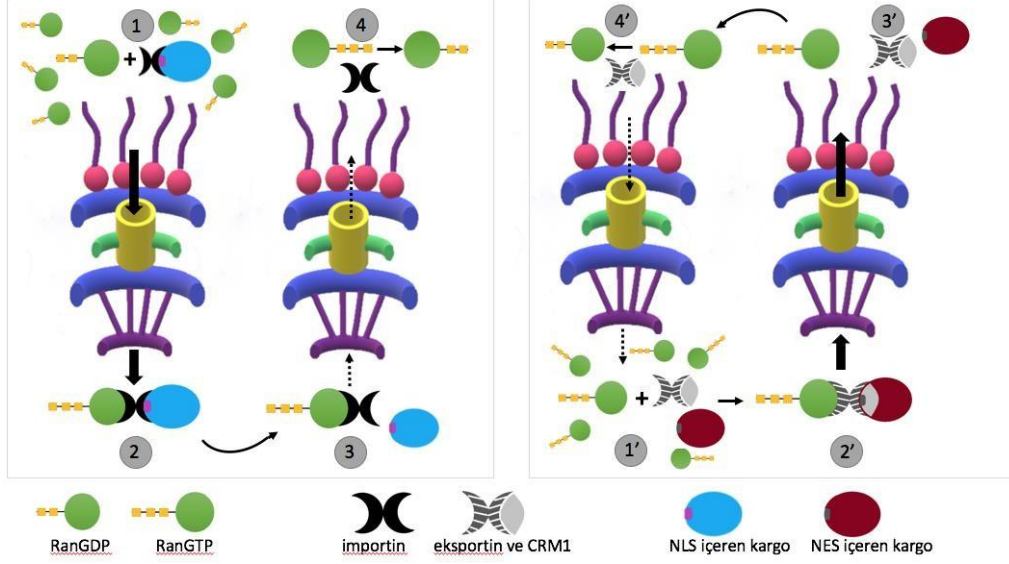
İnsanlarda görev yapan farklı proteinlerin çoğu sitozolde sentezlenir. Ancak bunlardan nükleus içinde etkin olan düzenleyici proteinler ile DNA ve RNA'nın işlenmesinde görev alanlar seçici bir şekilde nükleusa taşınırlar. Nükleusa taşınacak proteinler genellikle lizin ve arginin gibi bazik aminoasitlerden zengin NLS dizileri içerirler. Klasik nükleer import sürecinde NLS dizilerini taşıyan kargo nükleer import reseptörü importin- $\alpha$ 'ya bağlanarak importin- $\beta$  ile heterodimerleşir (24). Kargo-importin kompleksi enerji gerektirmeksizin NPK'nin sitoplazmik filamentlerine tutunur ve nükleer zarfta karyoferin- $\beta$  ile etkileşime girer. Burada nükleoporinlerin FG tekrarlarına bağlanarak pordan geçer. İmport kompleksi çekirdeğe taşındığında RanGEF aktivasyonu sonucu oluşan RanGTP karyoferin- $\beta$ 'ye bağlanarak yapısını değiştirir. Bu değişiklik import kompleksinin ayrışarak kargo proteininin çekirdeğe bırakılmasını sağlar. Karyoferin- $\beta$ /RanGTP kompleksi ise yeni bir taşınım için sitoplazmaya geri döner (**Şekil 2**). Bu kompleks doğrudan pordan geri dönebileceği gibi importin- $\alpha$  ile bağlı kompleksler CAS gibi bir nükleer eksport proteinine ihtiyaç duyabilir (18).

#### **▪ Proteinlerin Nükleer Eksportu**

Nükleer kompartmandan sitoplazmaya geçecek olan moleküller ise lösün aminoasitinden zengin NES dizileri içerir. NES dizisi içeren kargo proteininin eksportin ile bağlanabilmesi için CRM1 gibi bir adaptör proteinine ihtiyaç vardır (25). Bu süreçte adaptör protein aracılığıyla çekirdekte eksportine bağlanan kargo RanGTP ile kompleks oluşturur. RanGTP/eksportin/kargo kompleksi NPK'den sitoplazmaya geçer (26). Sitoplazmada yoğun konsantrasyonda bulunan RanGAP, RanGTP'yi hidroliz ederek

kompleksin ayrışmasına ve kargo proteininin sitoplazmaya bırakılmasını sağlar. Eksportin, RanGTP ve CRM1 yeni bir nükleer eksportta

görev almak üzere NPK aracılığıyla tekrar hücre çekirdeğine geri döner. (Şekil 2).



**Şekil 2.** İmport ve eksport mekanizmaları. NLS içeren kargoyu bağlayan importin ve RanGDP NPK aracılığıyla çekirdeğe geçer (1). Çekirdekte oluşan RanGTP (2) ile kargo importinden ayrılır (3). Importin ve RanGTP tekrar kullanılmak üzere sitoplazmaya geri döner (4). Eksportin, adaptör protein, kargo ve RanGTP çekirdekte bağlanır (1') ve NPK'den geçer (2'). Kargo proteini sitoplazmaya bırakılır (3') ve RanGTP RanGDP'ye dönüşür. Eksportin ve adaptör protein tekrar kullanılmak üzere çekirdeğe döner (4').

### ▪ RNA Transportu

Sitoplazmada görev yapacak transfer RNA (tRNA), mikro RNA (miRNA), küçük nükleer RNA ve ribozomal RNA (rRNA) gibi RNA'lar heterojen ribonükleoprotein (hnRNP) kompleksleri şeklinde taşınırlar. Kompleksteki bazı moleküller proteinlere benzer şekilde NES dizisi içerir ve eksportin/RanGTP döngüsü ile taşınır. Ancak rRNA'lar önce büyük (60S) ve küçük (40S) alt birimlerine ayrıldıktan sonra farklı rotalar izleyerek sitoplazmaya geçerler (9).

Ökaryotik hücre çekirdeğinde RNA polimeraz II (RNAPII) aracılığıyla sentezlenen öncü mRNA'lar olgun hale gelmek için nükleus içerisinde, en az 20 proteinle etkileşerek, çeşitli işleme adımlarından geçerler. Haberci ribonükleoprotein (mRNP) kompleksleri Ran proteinlerinden bağımsız, fakat henüz tam olarak açıklığa kavuşturulamamış bir mekanizma aracılığıyla NPK'den sitoplazmaya taşınır. Tamamen işlenmiş

mRNP'lerin NPK'den geçmesi mRNA'ya özgün eksportin kompleksleri aracılığıyla gerçekleşir. Örneğin tRNA'ların dışa aktarılmasında exportin-t (XPO-t), çift sarmallı RNA'ların ve pre-miRNA'ların taşınmasında exportin 5 (XPO5) rol oynar (27,28). Bazı mRNA'ların NPK aracılığıyla dışa aktarımında Crm1 (XPO1) gibi bir eksport reseptörü kullanılırken (29); mRNA aktarımının başlıca reseptörü olan NXF1 (Nükleer eksport faktörü 1) birkaç farklı adaptör proteinle kombine bir şekilde mRNA'yı bağlayarak topluca TREX-2 (TRanskripsiyon ve EXport) adı verilen bir kompleks oluşturur (30). TREX-2 kompleksi evrimsel açıdan maya hücresinden insana kadar çok iyi korunmuştur ve NXF1'in mRNA'ya bağlanma verimliliğini artırır. TREX-2'nin alt ünite proteinleri FG Nup'larla etkileşime girerek, hızla değişen çevresel koşullara adaptasyon sağlamak üzere sentezlenen RNA transkriptlerinin nükleustan

eksportunu kolaylaştırır. Sitoplazmik tarafta ise ATP hidrolizini kullanan RNA helikaz enzimi mRNA'ları serbest bırakmak üzere NXF1'i daha düşük afiniteli bir RNA bağlama durumuna dönüştürür. Nükleustan mRNA'ların geçişine katılan proteinler aynı zamanda transkripsiyon, işleme, ekleme ve poli-adenilasyon dahil olmak üzere pek çok farklı aşamalarda mRNA modifikasyonları ile karmaşık şekillerde bağlantı kurar (29). Bu nedenle hücresel işleyişin doğru bir şekilde sürdürülebilmesi, tüm bu mRNA olgunlaşma ve taşınma süreçlerinde görev alan bileşenlerin sıkı bir şekilde düzenlenmesini ve denetlenmesini gerektirir (31).

## **2. Nükleositol plazmik Transport Bozuklukları**

Nükleer zarf etrafındaki moleküler trafiğin dengesi hücre içi aktivitelerin doğru bir şekilde idame ettirilmesinde önemli rol oynar (32). NPK'lerin morfolojik değişiklikleri ve nükleer selektivitenin kaybolması da dahil olmak üzere nükleer zarfındaki yapısal anomaliler, NPK'yi oluşturan proteinlerin düzeylerindeki veya lokalizasyonundaki değişiklikler bu dengenin bozulmasına yol açar (33). Benzer şekilde NTR'lerdeki protein agregatları ve RNA eksport proteinlerinin toksik proteinler ya da dipeptid tekrar proteinleri (DPR) ile etkileşime girmesi de nükleositol plazmik transport trafiğini sekteye uğratır.

### **i.) NPK'deki yapısal bozukluklar (Nükleoporopatiler):**

Nükleoporinlerdeki anormal ekspresyon seviyeleri ve mutasyonların kanser dahil çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğu 20 yılı aşkın bir zamandır bilinmektedir. Nükleoporinlerin birincil yapısını etkileyen mutasyonlar zaman içerisinde NPK'nin genel yapısında ve NTR ile etkileşime girme işlevlerinde bozukluklara yol açar. Bu da defektin boyutuna bağlı olarak tüm vücutta ya da organa özel fenotipik değişiklikler oluşturur.

Nükleer zarf bütünlüğünün herhangi bir zamanda kalıcı hasara uğrayacak şekilde bozulması nörodejenerasyon, erken yaşlanma ve kanser gibi hastalıklara sebebiyet verebilir (34). Nükleer zarftaki bozukluklar; nükleer zarf stresi de denilen nükleositol plazmik taşıma fonksiyonunda kademeli bir

azalmadan, zarf bileşenlerinin seçici hasarına ve son olarak da zarf bütünlüğünün bozulması ve zarfın parçalanmasına kadar ilerleyebilen bir seyir izler. Nükleer transportta rol oynayan faktörlerin ya da yapıların bu kademeli hasarına nükleer zarf erozyonu da denir. Bu durum nükleer zarf bileşenlerinin mislokalisasyonuna yol açar. En son aşamasında ise nükleer zarf bariyerinde parçalanma meydana gelir ki bu durum çekirdekdeki ve sitoplazmadaki moleküllerin çift yönlü olarak birbirine karışmasına sebep olur. Hücreler bazı nükleer zarf stresleriyle başa çıkabilirken nükleer bütünlüğe karşı gelişen farklı tehditler gen regülasyonunu bozarak genom stabilitesini tehlikeye sokabilir.

### **ii.) Yaşlanmaya bağlı değişiklikler:**

Yaşla birlikte değişiklik gösteren hücresel süreçlerden en belirgin olanlarından biri nükleositol plazmik transporttur. Çünkü NPK'ler, içinde barındırdığı yapısal nükleoporinlerin yenilenme oranının çok düşük olması gereğiyle, yaşla alakalı hasarlara oldukça açıktır. Yaşlı hücrelerde nükleer lamina bozuklukları da oldukça sık görülmektedir (8,35,36). Özellikle de nöronlar gibi uzun ömürlü ve bölünemeyen hücrelerde genom bütünlüğünün korunması hücrenin sağlığının idamesi açısından en temel unsurlardan biridir. Post-mitotik hücreler olan nöronlar, tüm ömürleri boyunca, DNA'larının harici (toksinler) ve dahili (oksidatif stres gibi) hasarlardan korunmasını garanti eden mekanizmalara kesinlikle bağımlıdır. Bu süreçte, aprataxin gibi bazı DNA onarım proteinlerinin ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşturacağı hasarı önlemede görev alan temizleyici proteinlerin en yüksek verimlilikte çalışması gerekmektedir (37). Zaman içerisinde oluşan DNA hasarlanmaları ve ROS birikimleri fizyolojik hücresel yaşlanmaya neden olmaktadır (38,39). Yaşlanmayla birlikte NPK işlevlerinde meydana gelen yetersizlikler sonuçta nükleositol plazmik transport aracılığıyla temin edilen makromoleküllerin tedarik zincirinde aksaklıklara yol açmaktadır.

Nükleer lamina bozuklukları yaşlı hücrelerde oldukça sık görülen patolojik değişikliklerdir. Yaşlanma ile NPK'de oluşan sızıntı düzeyi arasındaki ilişkinin varlığına dair de birçok

kanıt vardır (9). Örneğin Nup93 ekspresyonunun yaşla birlikte azalması sitoplazmik maddelerin nükleusa, nükleus içinde bulunması gereken maddelerin de sitoplazmaya sızmasına sebep olmaktadır (35,40,41). Yaşlanmış farelerin nöronlarında yapılan çalışmalarda nükleopirin kompozisyonunda değişim olduğu bildirilmiştir (10,11). Sıçanlarda da hipokampus'un gyrus dentatus'undaki nöronlarında yaşlanmayla birlikte NPK yoğunluğunda azalma olduğu gösterilmiştir (42). Yaşlı insan donörlerinde importin- $\alpha$ 1, CAS ve RanBP1 gibi nükleositoplazmik transport faktörlerinin gençlere göre daha az olmasının proteinlerin import hızında azalmaya neden olduğu raporlanmıştır (9). Yaşlanma sürecinde, nükleopirinlerle etkileşim halinde olmaksızın da transportta rol oynayan proteinlerin seviyelerinde değişiklikler meydana gelmektedir. Yaşlı ve genç insanların iPSC (indüklenmiş pluripotent kök hücre)'lerinden elde edilen nöronların transkripsiyonel profillerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada nükleer import reseptörü RanBP17 seviyesinde azalma olduğu gösterilmiştir (43). Yaşlı nöronlarda bu önemli nükleer import reseptörü düzeyinde meydana gelen azalmaların sonuçta hücrel kompartmanların işlevlerinin uygun şekilde sürdürülememesi şeklinde bir etkiye neden olacağı açıktır. Bundan dolayı Nup'ların gerek yapısal gerek fonksiyonel özelliklerinin ve bunların yaşlanma ile ilişkisinin daha fazla aydınlatılması, nöronal kırılmanın yaşlanma ile ilişkisine dair bilgilerimizin artmasını sağlayacak ve altta yatan moleküler mekanizmaları hedefleyen tedavi yaklaşımlarının yolunu açacaktır.

### iii.) Nörodejeneratif hastalıklarda gözlenen değişiklikler:

Post-mitotik hücreler olan nöronlar ömür boyu enerji gerektiren aktivitelerine bağlı olarak hücrel yaşlanmayla ilgili ilerleyici işlev bozukluklarına karşı özellikle savunmasızdır. Nöronların hücrel komponentleri homeostazisi korumak için özel ve verimli taşıma mekanizmalarına ihtiyaç duyar. Hücrede sentezlenen maddelerin çekirdekten sinaptik terminallere taşınımı için nükleositoplazmik transportun

sıkı bir şekilde düzenlenmesi ve kontrolü son derece önem arz etmektedir. Nörodejenerasyon ilerleyici seyirli bir fonksiyon bozukluğu olup spesifik hücre gruplarının kaybı ile sonuçlanır. Nörodejeneratif süreçlerde sık görülen patolojik bulgulardan birisi olan sitoplazma ya da çekirdekteki toksik ya da yanlış katlanmış proteinlerin birikimi transport mekanizmalarındaki kalite kontrol sisteminin çökmesinden kaynaklanabilmektedir. Başlıca 3 farklı nöron grubunun kaybı ile seyreden nörodejeneratif hastalıklarda gözlenen nükleositoplazmik değişiklikler şu şekilde özetlenebilir:

- **Amyotrophic Lateral Skleroz (ALS) ve Frontotemporal demans (FTD):**

ALS merkezi sinir sisteminde istemli kasların hareket etmesini sağlayan motor nöronların ilerleyici seyirli kaybı ile karakterize bir hastalıktır. ALS hastalarının bazılarında frontotemporal kortekste atrofiye bağlı olarak davranışsal ve bilişsel kayıplar da gelişmektedir. Sporodik ALS/FTD hastalarının post-mortem beyin spesimenlerinde yapılan incelemelerde, normalde nöronlarda ve glia hücrelerinin çekirdekleri içerisinde bulunması gereken TDP-43 ve FUS gibi DNA/RNA bağlanma kapasitesine sahip proteinlerin sitoplazmada patolojik agregatlar oluşturdukları gösterilmiştir (44). Bu mislokalisasyonun import-eksport kusurlarından mı yoksa NPK'deki bozukluktan mı kaynaklandığı henüz net olarak anlaşılamamıştır (45). Bununla birlikte ALS/FTD hastalarının motor nöronlarında importin- $\beta$ 1 ve importin- $\beta$ 2 (transportin 1) gibi nükleer import reseptörlerinin ekspresyon düzeylerinde azalma ve/veya mislokalisasyon olduğu bildirilmiştir. ALS hastalığının en sık görülen genetik nedenlerinden biri olan SOD1 genindeki mutasyonların Nup62 işlevlerinde yetersizliğe yol açtığı gösterilmiştir. Deneysel modellerde yapılan çalışmalarda mutasyona uğramış TDP-43 proteininin FG tekrarlı ve yapısal Nup'larla birleşerek agregatlar oluşturduğu gösterilmiştir. Motor nöronlarda sitoplazmik filament nükleoporini olan ve oksidatif strese rol oynadığı bilinen Nup358'i (RanBP2 olarak da bilinen) kodlayan genin

silinmesiyle oluşturulan bir fare modelinde; ALS hastalığına özgün hipoaktivite, arka bacak felci ve solunum yetmezliğine bağlı ölüm ile sonuçlanan semptomların geliştiği gösterilmiştir (45). C9ORF72 genindeki heksanükleotid tekrarlarının artışı da ALS ve FTD'de ortak görülen bir başka mekanizmadır. Sağlıklı insanlarda C9ORF72 geninde sadece nadiren 5-7 (ama 23'ü asla geçmez) "GGGGCC" heksanükleotid tekrarı bulunurken, ALS/FTD hastalarında bu sayının yüzleri hatta binleri bulabilmektedir. Bu heksanükleotid tekrarları sitozoldeki DPR seviyelerini arttırmak ve aktin polimerizasyonunu bozmak suretiyle nükleositol plazmik taşıyım kusurlarına neden olmaktadır (46).

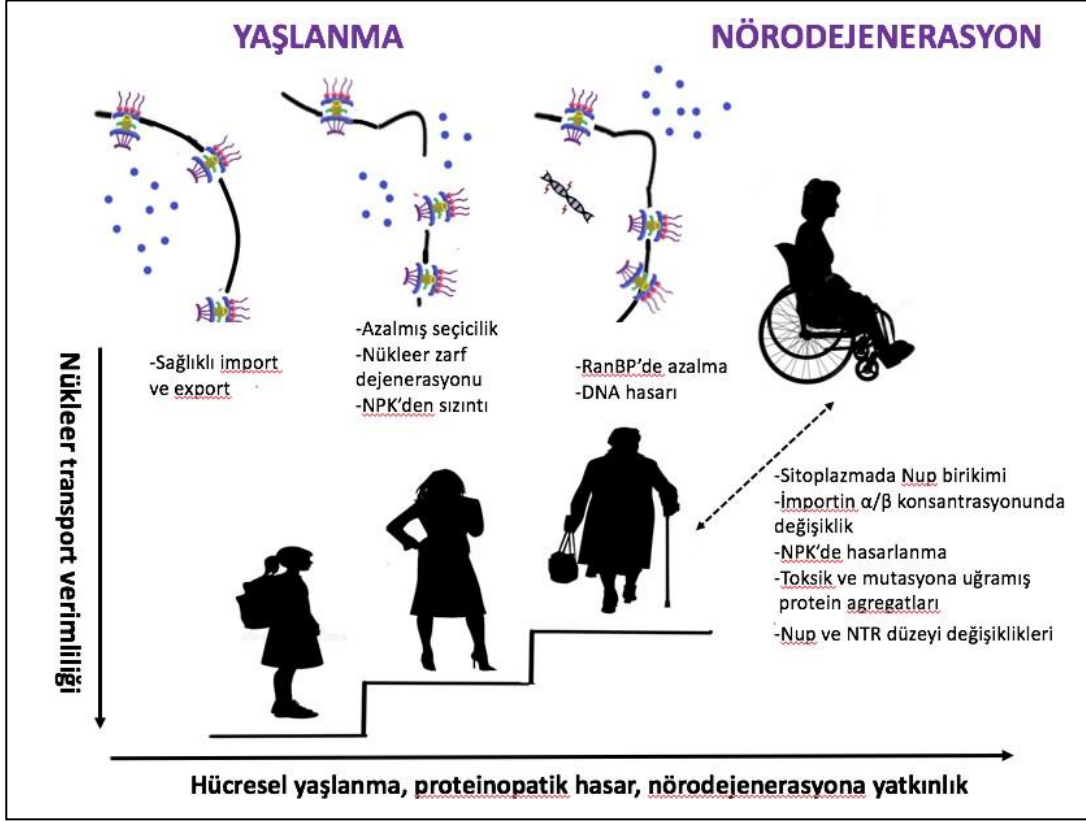
- ***Alzheimer hastalığı (AD) ve Taupatiler:***

Tüm dünyada en sık görülen demans türlerinden biri olan Alzheimer hastalığında gözlenen nörofibriler yumakların ana bileşeni olan Tau proteinin nükleositol plazmik transport bozuklukları ile ilişkili olduğu ortaya çıkarılmıştır. Anormal Tau birikimine yol açan kesin mekanizma henüz tam olarak açıklığa kavuşmamakla birlikte, Tau'nun nükleer por işlevlerini bozduğu ve hasarlı Nup'ların Tau agregasyonunu tetiklediği bilinmektedir. Normalde NPK'nin bir bileşeni olan Nup98, fosforile Tau ile doğrudan etkileşime girdiğinde bu proteinin sitoplazmada agregasyonunu kolaylaştırır ve nükleer pordan sızıntıya yol açmaktadır (47). Alzheimer hastalarının beyinlerinde ve Tau mutant farelerde yapılan incelemelerde Nup98'in sitoplazmaya mislokalle olduğu gösterilmiştir. Tau agregatlarının çözünür hale getirilmesi Nup98'in mislokallezasyonunu ve NPK yetmezliğini geri döndürmektedir (36). Hiperfosforile ve mislokalle olmuş Tau proteini aynı zamanda FTD hastalarının nöronlarında da mikrotübüler yetmezliğe neden olarak nükleer zar da hasara yol açmaktadır (48). Hastalardan elde edilen otopsi materyallerinde yapılan çalışmalarda hipokampal nöronlarda nükleer membran değişiklikleri ve NPK agregatlarının (özellikle NTF2 ve importin- $\alpha$ 1 birikimi) varlığı gösterilmiştir (49). Daha yakın zamanlarda yapılan çalışmalarda ise NPK sayısının ve Ran ifade ediliminin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (50).

- ***Huntington Hastalığı (HD):***

Huntingtin genindeki artmış poliglutamin tekrarlarına (CAG) bağlı genişlemeler ile karakterize olan bu otozomal dominant geçişli hastalıkta striatum'daki orta boy dikenli nöronların kaybına bağlı olarak motor nöron bozuklukları ve demans gelişmektedir (19). Nöronlardaki poliglutamin hasarı ya dolaylı olarak Nup'larla etkileşime geçerek ya da doğrudan NPK yetmezliğine yol açmaktadır. Bazı araştırmacılar, Huntingtin proteininin çekirdekdeki seviyesinin artışıyla nükleer eksport mekanizmalarındaki bozukluğun sorumlu olduğuna dikkat çekmektedir (23,51). Huntingtin proteininin N-terminalindeki 17 amino asit eksportin-1 ile etkileşime geçerek sitoplazma ve çekirdek arasında transportu destekleyen bir nükleer eksport sinyali oluşturmaktadır (52). Ancak bu etkileşim poliglutamin ile genişletilmiş mutant proteinlerinde bozulmakta ve çekirdek dışına çıkamayan mutant fragmanların çökmesine sebep olmaktadır. Huntington hastalarının striatal nöronlarında RanGAP1, GLE, Nup62 ve Nup88 proteinlerinde mislokallezasyon kusurları görülmektedir. Hastalardan elde edilen iPSC kökenli nöronlarda MAP2'nin nükleo-sitoplazmik oranında saptanan anlamlı düzeydeki artış da yine NPK'lerdeki işlev kaybı veya hasara işaret etmektedir. Mutant Huntingtin geninin kendi proteinine ek olarak kodladığı farklı homopolimerik proteinlerin (polyAla, polySer, polyLeu, ve polyCys gibi) üretimi, tıpkı ALS/FTD hastalığında C9ORF72 genindeki heksanükleotid tekrarlarında veya spinocerebellar ataksi adı verilen CAG veya CGG tekrarlarıyla karakterize bir genetik hastalıkta olduğu gibi nöronlarda toksik etki gösteren proteinlerin oluşmasına yol açmaktadır. Bu toksik peptitler sonuçta nöronlarda nükleer import ve eksport mekanizmalarını bozarak nükleositol plazmik taşıyım kusurlarına neden olmaktadır (**Şekil 3**). Bu nedenle tıpkı fizyolojik yaşlanma sürecinde olduğu gibi, gerek taupatilerde gerekse mutant ve/veya toksik proteinopatilerde oluşan zararlı agregatların hücrede birikiminin önlenmesi için bu moleküler mekanizmalar aydınlatılmalıdır.





Şekil 3. Yaşlanma ve nörodejenerasyonda gözlenen nükleositoloplazmik transport bozuklukları.

### 3. Gelecekte Yapılacak Çalışmalar

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, hatalı ve/veya normal makromoleküllerin yanlış hüresel kompartmanlardaki lokalizasyonu ve toksik protein agregatlarının pek çok farklı tipteki nörodejeneratif hastalıkta görülmesi; nükleositoloplazmik transport bozukluklarının yaşlanma ve nörodejenerasyonda ortak bir mekanizma mı, yoksa bir sebep-sonuç ilişkisi mi olduğu sorusunu ortaya çıkarmıştır. Gelecekte yapılacak çalışmalarda nükleositoloplazmik transport bileşenlerinin her birinin yapısal ve işlevsel özelliklerinin detaylı bir şekilde ortaya çıkarılması beklenmektedir. Özellikle de nükleositoloplazmik transport bozukluklarının nörodejenerasyondaki rolünü deşifre etmeyi amaçlayan fonksiyonel deneyler çok önemli olacaktır. Böylece yaşlanan proteomun uzun

yıllar boyunca işlevsel kalabilmesi için gereken moleküler mekanizmalar da ortaya çıkarılabilir. Elbette ki memelilerde son derece uzun ömürlü nükleoporinlerin çevresel ve içsel zararlı uyarılara ve oksidatif hasara karşı dayanıklılığını arttırabilecek süreçleri devreye sokabilmek çok heyecan verici olacaktır. Önümüzdeki dekada, gerek deney hayvanlarında yapılacak çalışmalarda spesifik NPK bileşenlerinin ekspresyon profillerinde meydana getirilecek değişikliklerle, gerekse hastalardan elde edilen kök hücrelerde yapılacak genetik analizler ile nükleositoloplazmik transport bozukluklarının yaşlanma ve nörodejenerasyon sürecinde bir sebep mi yoksa bir sonuç mu olduğu sorusuna netlik kazandırılacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Anna Tamburrino MD. Aged and Diseased Neurons Get Lost in Transport. *CellPress*.
2. Swift J, Discher DE. The nuclear lamina is mechano-responsive to ECM elasticity in mature tissue. *J Cell Sci*. 2014;127(Pt 14):3005-15.
3. Martins F, Sousa J, Pereira CD, da Cruz ESOAB, Rebelo S. Nuclear envelope dysfunction and its contribution to the aging process. *Aging Cell*. 2020;19:e13143.
4. Strambio-De-Castillia C, Niepel M, Rout MP. The nuclear pore complex: bridging nuclear transport and gene regulation. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2010;11:490-501.
5. Gerace L, Blobel G. The nuclear envelope lamina is reversibly depolymerized during mitosis. *Cell*. 1980;19:277-87.
6. Hoelz A DE, Blobel G. G. The structure of the nuclear pore complex. *Annu Rev Biochem*. 2011.
7. Hoelz A, Debler EW, Blobel G. The structure of the nuclear pore complex. *Annu Rev Biochem*. 2011;80:613-43.
8. Sakuma S, D'Angelo MA. The roles of the nuclear pore complex in cellular dysfunction, aging and disease. *Semin Cell Dev Biol*. 2017;68:72-84.
9. Kim HJ, Taylor JP. Lost in Transportation: Nucleocytoplasmic Transport Defects in ALS and Other Neurodegenerative Diseases. *Neuron*. 2017;96:285-97.
10. D'Angelo MA, Raices M, Panowski SH, Hetzer MW. Age-dependent deterioration of nuclear pore complexes causes a loss of nuclear integrity in postmitotic cells. *Cell*. 2009;136:284-95.
11. Toyama BH, Savas JN, Park SK, Harris MS, Ingolia NT, Yates JR, 3rd, et al. Identification of long-lived proteins reveals exceptional stability of essential cellular structures. *Cell*. 2013;154:971-82.
12. D'Angelo MA, Hetzer MW. The role of the nuclear envelope in cellular organization. *Cell Mol Life Sci*. 2006;63:316-32.
13. Fichtman B, Harel A. Stress and aging at the nuclear gateway. *Mech Ageing Dev*. 2014;135:24-32.
14. Wimmer C, Doye V, Grandi P, Nehrbass U, Hurt EC. A new subclass of nucleoporins that functionally interact with nuclear pore protein NSP1. *The EMBO journal*. 1992;11:5051-61.
15. Gallardo P, Salas-Pino S, Daga RR. A new role for the nuclear basket network. *Microb Cell*. 2017;4:423-5.
16. Mohr D, Frey S, Fischer T, Güttler T, Görlich D. Characterisation of the passive permeability barrier of nuclear pore complexes. *The EMBO journal*. 2009;28:2541-53.
17. Paine PL, Feldherr CM. Nucleocytoplasmic exchange of macromolecules. *Exp Cell Res*. 1972;74:81-98.
18. Fu X, Liang C, Li F, Wang L, Wu X, Lu A, et al. The Rules and Functions of Nucleocytoplasmic Shuttling Proteins. *Int J Mol Sci*. 2018;19.
19. Pemberton LF, Paschal BM. Mechanisms of receptor-mediated nuclear import and nuclear export. *Traffic*. 2005;6:187-98.
20. Moore MS. Nuclear pores: David and Goliath in nuclear transport. *Curr Biol*. 1995;5:1339-41.
21. Wen W, Meinkoth JL, Tsien RY, Taylor SS. Identification of a signal for rapid export of proteins from the nucleus. *Cell*. 1995;82:463-73.
22. Bischoff FR, Ponstingl H. Catalysis of guanine nucleotide exchange of Ran by RCC1 and stimulation of hydrolysis of Ran-bound GTP by Ran-GAP1. *Methods Enzymol*. 1995;257:135-44.
23. Bitetto G, Di Fonzo A. Nucleo-cytoplasmic transport defects and protein aggregates in neurodegeneration. *Transl Neurodegener*. 2020;9:25.
24. Gasiorowski JZ, Dean DA. Mechanisms of nuclear transport and interventions. *Adv Drug Deliv Rev*. 2003;55:703-16.
25. Ossareh-Nazari B, Bachelier F, Dargemont C. Evidence for a role of CRM1 in signal-mediated nuclear protein export. *Science*. 1997;278:141-4.
26. Dong X, Biswas A, Chook YM. Structural basis for assembly and disassembly of the CRM1 nuclear export complex. *Nat Struct Mol Biol*. 2009;16:558-60.
27. Kutay U, Lipowsky G, Izaurralde E, Bischoff FR, Schwarzmaier P, Hartmann E, et al. Identification of a tRNA-specific nuclear export receptor. *Mol Cell*. 1998;1:359-69.
28. Bohnsack MT, Czaplinski K, Görlich D. Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs. *Rna*. 2004;10(2):185-91.
29. Okamura M, Inose H, Masuda S. RNA Export through the NPC in Eukaryotes. *Genes (Basel)*. 2015;6:124-49.
30. Wickramasinghe VO, Laskey RA. Control of mammalian gene expression by selective mRNA export. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2015;16:431-42.
31. Lari A, Arul Nambi Rajan A, Sandhu R, Reiter T, Montpetit R, Young BP, et al. A nuclear role for the DEAD-box protein Dbp5 in tRNA export. *Elife*. 2019;8.
32. Akey CW, Goldfarb DS. Protein import through the nuclear pore complex is a multistep process. *J Cell Biol*. 1989;109:971-82.
33. Paul S. Agutter Dp. Nucleocytoplasmic transport. *BiochemJ*. 1994.
34. Robijns J, Houthaeve G, Braeckmans K, De Vos WH. Loss of Nuclear Envelope Integrity in Aging and Disease. *Int Rev Cell Mol Biol*. 2018;336:205-22.
35. D'Angelo MA, Raices M, Panowski SH, Hetzer MW. Age-dependent deterioration of nuclear pore complexes causes a loss of

- nuclear integrity in postmitotic cells. *Cell*. 2009;136:284-95.
36. Benvegnù S. Nucleus-cytoplasm cross-talk in the aging brain. *J Neurosci Res*. 2020;98:247-61.
37. Wang X, Michaelis E. Selective neuronal vulnerability to oxidative stress in the brain. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2010;2.
38. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*. 1998;78:547-81.
39. Chandrasekaran A, Idelchik M, Melendez JA. Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biol*. 2017;11:91-102.
40. Savas JN, Toyama BH, Xu T, Yates JR, 3rd, Hetzer MW. Extremely long-lived nuclear pore proteins in the rat brain. *Science (New York, NY)*. 2012;335:942-.
41. Brown CR, Kennedy CJ, Delmar VA, Forbes DJ, Silver PA. Global histone acetylation induces functional genomic reorganization at mammalian nuclear pore complexes. *Genes Dev*. 2008;22:627-39.
42. Fifková E, Tonks M, Cullen-Dockstader K. Changes in the nuclear pore complexes of the dentate granule cells in aged rats. *Exp Neurol*. 1987;95:755-62.
43. Mertens J, Paquola ACM, Ku M, Hatch E, Böhnke L, Ladjevardi S, et al. Directly Reprogrammed Human Neurons Retain Aging-Associated Transcriptomic Signatures and Reveal Age-Related Nucleocytoplasmic Defects. *Cell Stem Cell*. 2015;17:705-18.
44. Mackenzie IR, Neumann M. Molecular neuropathology of frontotemporal dementia: insights into disease mechanisms from postmortem studies. *J Neurochem*. 2016;138 Suppl 1:54-70.
45. Jovicic A, Paul JW, 3rd, Gitler AD. Nuclear transport dysfunction: a common theme in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *J Neurochem*. 2016;138 Suppl 1:134-44.
46. Solomon DA, Stepto A, Au WH, Adachi Y, Diaper DC, Hall R, et al. A feedback loop between dipeptide-repeat protein, TDP-43 and karyopherin- $\alpha$  mediates C9orf72-related neurodegeneration. *Brain*. 2018;141:2908-24.
47. Lester E, Parker R. *The Tau of Nuclear-Cytoplasmic Transport*. *Neuron*. 2018;99:869-71.
48. Tripathi T, Kalita J. Abnormal Microtubule Dynamics Impair the Nuclear-Cytoplasmic Transport in Dementia. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10:1133-4.
49. Sheffield LG, Miskiewicz HB, Tannenbaum LB, Mirra SS. Nuclear pore complex proteins in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2006;65:45-54.
50. Mastroeni D, Chouliaras L, Grover A, Liang WS, Hauns K, Rogers J, et al. Reduced RAN expression and disrupted transport between cytoplasm and nucleus; a key event in Alzheimer's disease pathophysiology. *PLoS One*. 2013;8:e53349.
51. Truant R, Atwal RS, Burtnik A. Nucleocytoplasmic trafficking and transcription effects of huntingtin in Huntington's disease. *Prog Neurobiol*. 2007;83:211-27.
52. Woerner AC, Frottin F, Hornburg D, Feng LR, Meissner F, Patra M, et al. Cytoplasmic protein aggregates interfere with nucleocytoplasmic transport of protein and RNA. *Science*. 2016;351:173-6.