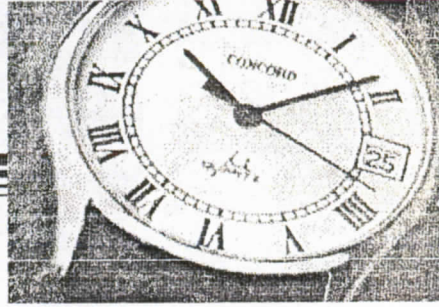


BİYOLOJİK SAATİN

tik-tak'ları



Prof. Dr. Adil Denizli
ve Sinan Akgöl

Hacettepe Üni. Kimya Böl. Biyokimya ABD

Aksan saat 19.00'da uyuşa dürtüsüyle mücadele etmek zorunda kalırsınız. Gecenin 03.00'ünde kurt gibi acıkıp, akşam yemeği saati geldiğinde hiç iştahınız olmaz. Sabaha karşı 04.00'de uyanıp, bir daha uyuyamazsınız. Bu senaryo üç saatlik bir zaman atlayarak Amerika'nın doğu kıyısından Kaliforniya'ya uçan insanlara tanıdık gelebilir. Bir haftalık bir iş gezisi ya da tatilde vücudunuz yeni zaman çizelgesine henüz alışmıştır ki, yeniden eve dönme zamanınız gelir ve orada eski düzene alışmamız gerekmektedir.

Araştırmacılar, bir grup meyve sineğine (Drosophila) New York-San Francisco arasındaki bir yolculuğun benzeri durumunda yaşanan, zaman dilimlerini atlamada oluşan yorgunluğu yaşatmışlardır. Laboratuvarlarda biri New York diğeri San Francisco diye adlandırılan buzdolabı büyüklüğünde inkübatörler kullanmışlardır. Bu inkübatörlerin içindeki ışıklar, güneşin bu iki şehirdeki doğup, batma saatlerine göre yanıp, sönmekteydi. Her iki şehirde de güneşin doğma saati sabah 06.00 batması ise akşam 18.00'e göre ayarlanmıştı. Her iki inkübatördeki sıcaklık ise 77°F olarak sabit tutulmuştu.

Bu sinekler özel tepsiler içine konulmuş, küçük cam tüplerin içinde yolculuk ediyorlardı. Hareketleri dar bir kırmızı ötesi ışık ile izleniyordu. Sinekler bu ışığın içine hareket ettiğinde tepsideki fototransistöre gölgesi düşüyordu. Tepsinin bağlı olduğu bilgisayar da bu aktiviteyi kaybetmekteydi. New York'tan San Francisco'ya gitmek, bu sineklerin be-saatlik bir yolculuk yapması anlamına gelmiyordu. Bu inkübatördeki sinek dolu tepsiler çıkarılıp, diğer inkübatöre götürülüp, çalıştırılıyordu. Araştırmacılar, bu şehirlerarası ulaşımı, sadece meyve sineklerinde değil, fareler ve insanları da kapsayan bir çok canlının gündüz gece döngüsünü kontrol eden biyolojik saatin dişileri ve tekerlekleri olan bir çok genin işlevlerini bulmak ve incelemek amacıyla kul-

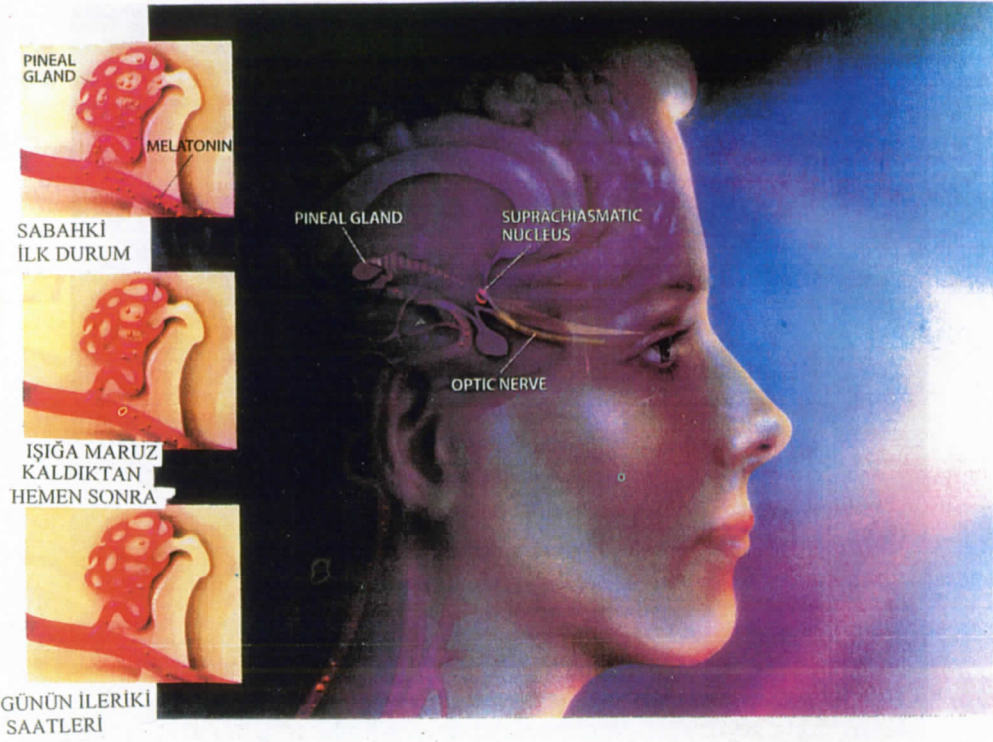
lanmışlardır. Bu genleri bulmak, kodladıkları proteinlerin ortaya çıkarılmalarını sağlamaktadır. Bu proteinler, uyku bozukluklarından mevsimsel depresyona kadar bir çok hastalığın tedavileri için kullanılabilir.

İnsanın biyolojik saatindeki en önemli dişli suprachiasmatic nucleus (SCN)'tur. Bu, beynin hipotalamus bölgesinde bulunan bir grup sinir hücreleridir. Işık her sabah gözlerdeki retina tabakasına vurduğu zaman özel bir takım sinirler SCN'ye sinyaller gönderir. SCN'de biyolojik olarak aktif olan bir çok maddenin üretim döngüsünü kontrol eder. Örneğin SCN yakınındaki bir beyin bölgesi olan beyin epifizini uyarır. SCN'den aldığı emirlerle beyin epifiz, ritmik olarak melatonin üretir. Melatonin piyasada ilaç şeklinde bulunan uyku hormonudur. Akşama yaklaştığında epifiz giderek



Çoğu canlılarda biyolojik saatler 24 saatlik bir aralığa sahiptir. Genetik bilimi, meyve sineklerinde, farelerde ve insanlarda moleküler saatlerin işlemekte olduğunu açığa çıkarmıştır.

Meyve sineklerine zaman dilimleri atlatma deneyleri bir takım araştırmacıların, insanlar dahil, birçok organizmanın biyolojik saatlerinin moleküler temelini anlamasını sağlamaktadır.



daha çok melatonin salgılar. Bu hormonun kandaki düzeyi yükseldiğinde vücut ısı biraz düşer ve uykuya eğilimde artış görülür.

İnsan Saati

Biyolojik saatin her gün ışıkla birlikte harekete geçtiği görülse de ışıktan yoksun olan bireylerde bile ritmin işlemeye devam ettiği saptanmıştır. Bu da SCN aktivitesinin doğuştan olduğu anlamına gelir. 1960'larda doğal ışık, saat ve zamana dair başka bir ipucu olmayan bir ortamda yaşayan gönüllülerin her seye rağmen 25 saat civarında bir uyku-uyanma döngüsüne sahip oldukları ortaya konulmuştur.

Daha yakın bir zamanda insanın günlük döngüsünün aslında 24 saate yakın olduğu ortaya çıkarılmıştır (Tam olarak 24, 18 saat). 24 kadın ve erkek üzerinde (11'i 20'li yaşlarda, 13'ü 60'lı yaşlarda) üç hafta boyunca yapılan bir çalışmada ise zayıf bir ışık döngüsü ve 28 saate ayarlanan karanlık dışında hiçbir ipucu bulunamamıştır.

Deneklerin normalde geceleri düşen ve vücut ısı, kandaki melatonin düzeyi ve akşamları azalan kortizol stres hormonu ölçülmüştür. Deneklerin günleri 4 saat uzatılmasına rağmen vücut ısılan, melatonin ve

koristol düzeyleri kendi içlerinde bulunan 24 saatlik döngüye göre işlemeye devam etmiştir. Dahası, yasin da saatin işlemesinde hiçbir etkisinin olmadığı görülmüştür. Önceki çalışmaların aksine ki, bunlarda yaş ile birlikte biyolojik saat ritminin bozulduğu öne sürülüyordu, bu çalışmadaki yaşlı deneklerin vücut ısı ve hormon dalgalanmalarının genç deneklerinki kadar düzenli olduğu görülmüştür.

Biyolojik saatin altında yatan genlerin araştırılması için başka bir bilgi verici kaynak olan meyve sineklerine de yönelinmiştir. Sinekler genetik araştırmalarda, kısa ömürlü olmaları ve küçük olmaları nedeniyle çok idealdir. Bu yüzden ilginç mutasyonlar elde edilene kadar laboratuvar ortamında binlerce üretilir. Mutasyon işlemini hızlandırmak için, bilimadamları, mutajen denilen kimyasal maddeler kullanırlar.

Biyolojik saatlerinde değişim görülen ilk sinekler 1970'lerin başında keşfedilmiştir. Araştırmacılar, birkaç meyve sineğine bir mutajen yerleştirmişler ve üreyen 2 bin sineğin hareketini incelemişlerdir. Deneylerinde New York-San Francisco deneyine benzer bir metot kullanmışlardır. Gözlemlenen sineklerin bir çoğunun normal 24 saatlik ritimleri vardı. Bunun 12

saatini aktif olarak, diğer 12 saatini dinlenerek geçiriyorlardı. Fakat sineklerin 3 tanesinin mutasyonları farklıydı. Birisi 19 saatlik, diğeri ise 28 saatlik bir döngüye sahipti. Üçüncü sineğin ise hiç ritmi olmadığı, gelişigüzel bir şekilde dinlenip, aktif hale geldiği saptanmıştı.

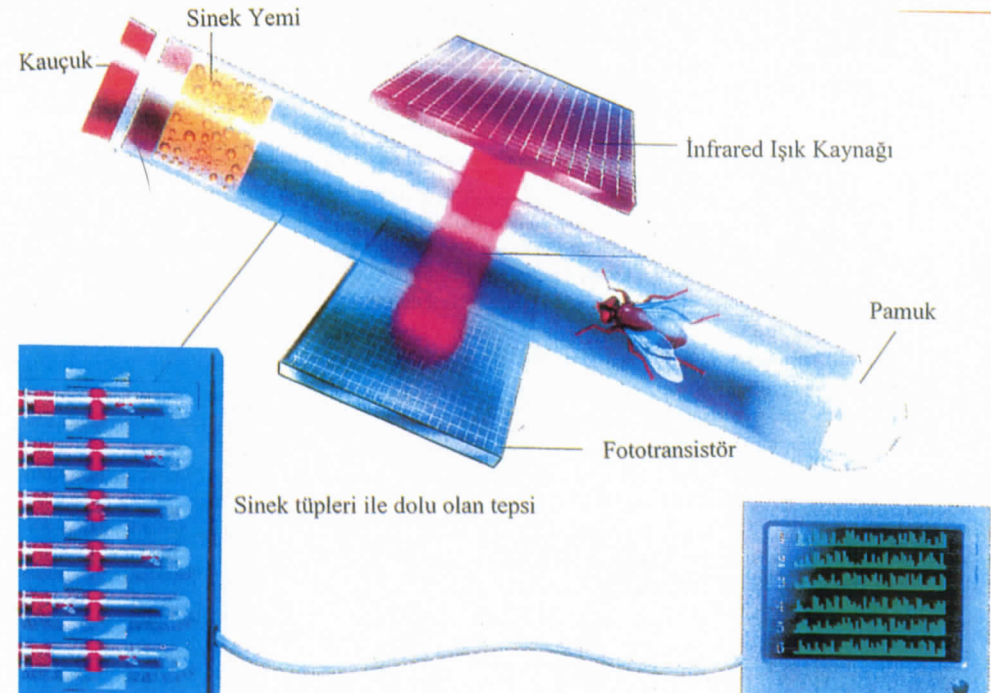
Son yıllarda araştırmacılar, bu üç mutant sineğin period ya da "Per" isimli tek bir gende üç ayrı değişim gösterdiğini saptamışlardır. Bu üç ayrı değişim, üç ayrı davranışa neden olmaktadır. Sonuç olarak Per isimli gen, sineklerdeki biyolojik ritmi üretmekle ve ritmin hızını ayarlamakla görevli olduğu kesindir.

Per geni bulunduktan sonra, bu genin gündüz-gece döngüsünü kontrol etmekte tek başına mı görev aldığı araştırılmaya başlanmıştır. Bazı araştırmacılar 7 binden fazla sinek üzerinde çalışıp, başka ritim mutantları bulmaya çalışmışlardır. Sonunda Per mutantlarına benzeyen yani biyolojik ritmi olmayan bir sinek bulunmuşlardır. Bu yeni mutasyonun 2 numaralı kromozomda olduğu anlaşılmıştır. Öte yandan Per, X kromozomuna bağlıdır ve yeni bir gen olduğu anlaşılan bu gene Timeless ya da "Tim" adı verilmiştir.

Fakat bu yeni genin Per ile ne gibi bir ilişkisi vardır? Genler, bilindiği gibi, DNA'dan oluşur ki, DNA da proteinlerin yapılması için gerekli bilgiler vardır. DNA hücrenin çekirdeğini asla terketmez. Moleküler tarifler haberci (ulak) olan RNA tarafından okunur. RNA çekirdeği terkedip, proteinlerin yapıldığı stoplazmaya girer. Tim ve Per genlerini laboratuvarında Per ve Tim proteinlerinin oluşturulması için kullanılmıştır.

Yapılan deneylerde, Per ve Tim genleri protein derişimleri birbirine bağlanacak kadar yükselene dek aktif halde oldukları görülmüştür. Bağlandıkları zaman çekirdeğe giren ve onları oluşturan genleri kapatan kompleksler meydana getirirler. Birkaç saat sonra enzimler bu kompleksleri parçalar. Genler yeniden harekete geçer ve döngü yeniden başlar.

Moleküler bir saatin oluşturulmasında işlevi olan iki genin bulunmasından sonra bu saatin yeniden kurulmasının nasıl gerçekleştiği konusunda araştırmalar yapılmıştır. Bilindiği gibi, uyuma-uyanma döngümüz zaman dilimleri arasındaki yolculuklara tamamen adapte olabilmektedir. Bu adaptasyon birkaç gün ya da hafta olabilir. Bu konudaki araştırmalar için New



Göze vuran ışık, beyin epifizinin (pineal gland) melatonin üretmesini sağlar. Melatonin uykunun gelmesini sağlayan bir hormondur. Melatonin üretimini azaltan sinyal retinadan optik sinir aracılığıyla SCN denilen bir yapıya yollar, SCN'den epifize doğrudan bir bağlantı vardır.

24 saat boyunca vücuttaki değişimler

**Gece-
yarısı
01.00**

Hamile

kadınların doğurma ihtimali çok yüksektir. Yardımcı T-lenfositleri denilen immün hücreleri en yüksek düzeydedirler.

Gece yarısı 02.00

Büyüme hormonu düzeyleri en yüksektir.

Sabaha karşı 04.00

Astım krizlerinin en çok meydana geldiği saattir.

Sabah 06.00

Menstruasyonun en çok başladığı saattir.

Kandaki insülin seviyesi en düşük seviyededir. Kan basıncı ve kalp atışı yükselmeye başlar.

Stres hormonu kortizol düzeyleri yükselir. Melatonin düzeyleri düşmeye başlar.

Sabah 07.00

Saman nezlesi belirtileri en kötü halindedir.

Sabah 08.00

Kalp krizi riski en yüksek düzeydedir.

Romatoit Arthirit belirtileri en şiddetli halindedir.

Yardımcı T-lenfositleri en düşük gündüz düzeyindedirler.

Öğle

Kandaki hemoglobin düzeyi en üst noktadadır.

Öğleden sonra 15.00

Kavrama gücü, solunum hızı ve refleks duyarlılığı en üst düzeydedir.

Öğleden sonra 16.00

Vücut ısı, nabız hızı ve kan basıncı en üst düzeye çıkar.

Akşam 18.00

Üriner akış en üst düzeydedir.

Akşam 21.00

Ağrı eşiği en düşük düzeydedir.

Gece 23.00

Allerjik tepkilerin en çok görüldüğü saattir.

York-San Fransisco inkübatörleri kullanılmıştır. Sineklerden biri karanlık inkübatörden aydınlık inkübatöre taşındığında sineğin beyindeki Tim proteinlerinin birkaç dakika içinde yok olduğu gözlenmiştir.

Daha da ilginç olanı, sineklerin yolculuk ettiği yönün Tim proteinleri düzeyine olan etkisidir. Sinekler, havanın New York'ta karanlık olduğu akşam 20.00'da, New York'tan San Fransisco'ya taşındığında (o sırada San Fransisco'da saat öğleden sonra 17.00 ve aydınlıktır.) Sineklerin Tim düzeyleri aniden düşmüştür. Fakat bir saat sonra San Fransisco'da ışıklar söndüğünde Tim tekrar yükselmeye başlamıştır. Belli ki, taşınım tarafından durdurulan moleküler saatler biraz gecikme ile yeni zaman diliminde tekrar işlemeye başlamıştır.

Bunun tersine San Fransisco'dan sabah saat 04.00'te taşınan sinekler, o sırada saat sabah 07.00 olan New York'a yerleştirildiklerinde erken bir gün doğuşu yaşamışlardır. Bu taşınma işlemi sonucunda da Tim düzeyleri düşmüştür, fakat bu kez Tim proteinini tekrar yükselmemiştir, çünkü, zaman dilimi değişimi ile birlikte moleküler saat ileri alınmıştır.

Değişik moleküler tepkilerin arkasındaki mekanizmayı, Tim-RNA üretiminin zamanlamasının incelenmesi ile daha iyi anlaşılmıştır. Tim-RNA düzeyleri akşam saat 20.00'de en yüksek düzeydedir. Sabah 06.00-08.00 arası ise en düşük düzeydedir. New York'tan San Fransisco'ya akşam 20.00'de taşınan bir sinek, maksimum düzeylerde Tim-RNA üretmektedir. Bu yüzden San Fransisco'daki ışık yüzünden kaybedilen protein gün batımından sonra tekrar kazanılmaktadır. Fakat San Fransisco'dan New York'a sabahın 04.00'ünde taşınan sinek, hareketinden önce çok az miktarda Tim-RNA üretmektedir. Bu sineğin yaşadığı erken

gün doğuşu Tim'i elimine eder ve bir sonraki üretim döngüsünün daha erken bir saate başlamasına yol açar.

Sadece böcekler değil

Sineklerle yapılan bu zaman dilimi atlama deneyleri insanlar da dahil tüm memelilerdeki biyolojik ritmin anlaşılması için kolaylık sağlamıştır. Bazı araştırmacılar, 1997'de fareler ve insanlarda Per'in bir benzerini bulmuşlardır.

Farelerde yapılan çalışmalar önemli bir soruya da cevap bulmuştur. Per ve Tim genlerini aktive eden nedir? 1997'de Clock diye adlandırılan bir gen bulunmuştur. Clock geni mutasyona uğratıldığında belli bir ritmi olmayan fareler ortaya çıkmıştır. Bu gen bir transkripsiyon faktörünü kodlar. Bu faktör DNA'ya bağlanan ve onun RNA tarafından okunmasını sağlayan bir proteindir.

Bundan kısa bir süre sonra farelerdeki clock geninin sinek versiyonu bulunmuştur ve çeşitli araştırma grupları Per, tim ve Clock genlerinin kombinasyonlarını memelilerin ve meyve sineklerinin hücreleri üzerinde denemeye başlamışlardır. Bu deneyler, Clock proteinini farelerde Per genini, sineklerde ise hem Perhem de Tim genini hedeflediğini göstermiştir. Saat işleyişleri en iyi anlaşılır hayvanlar olan sineklerde Cycle denilen bir genle kodlanan bir proteinle birleşen Clock proteinini Per ve Tim genleriyle birleşip, onları aktive eder. Fakat bu ancak Per ve Tim proteinleri çekirdekte bulunmadığı zaman gerçekleşir. Bu dört gen ve proteinleri sineklerdeki biyolojik saatin kalbini oluşturur ve bir takım değişiklikler ile bu genlerin balıklardan, kurbağalara, farelerden insanlara kadar tüm hayvanlar alemine hükmeden bir mekanizma oluşturduğu gözlenmektedir.

Son zamanlarda farelerin ve meyve sineklerinin

biyolojik saatleriyle değişik davranışların zamanı, hormon dalgalanmaları ve diğer fonksiyonlar arasındaki bağlantıyı sağlayan sinyallerin araştırılmasına başlanmıştır. Çıkış genlerinin Clock proteini ile doğrudan etkileşime girdiklerinde aktive edildikleri görülmektedir. Per ve Tim'in, Clock'un bu genleri aynı zamanda aktive etme yeteneğini bloke ettiği gözlenmiştir.

Gelecek için heyecan verici bir olasılık, fareler ve meyve sinekleri gibi organizmalarda saatle düzenlenen bir gen sisteminin oluşturulmasıdır. Davranış üzerinde şaşırtıcı etkileri olan ve daha önceden karakterize edilemeyen gen ürünlerinin gelecekte keşfedilmesi olasıdır. Belki bunlardan bir tanesi ya da moleküler saatin bir parçası ilerde ilaç üretimi için gözde bir hedef olacaktır. Bu ilaçlar, zaman dilimleri arasında yolculuk eden kişiler üzerindeki olumsuz etkileri, vardiyalı işlerin yan etkilerini, uyku bozukluklarını ve bununla bağlantılı depresif hastalıkları iyileştirmek için kullanılacaktır. Bir gün New York'tan San Fransisco'ya yapılan bir yolculuğa adaptasyon çok daha kolay olacaktır.

Biyolojik Saat

Bazı Anahtar

Sorulara Yanıtlar

Biyolojik saat nerededir?

Memelilerde gece-gündüz döngüsünü kontrol eden ana saat beynin SCN denilen bölümündedir. Fakat başka yerlerdeki hücrelerde saat aktivitesi göstermektedirler.

Saati ne çalıştırır?

Her bir SCN hücresinde özel saat genleri, bir feed-back halkası içinde kodladıkları proteinler tarafından açılıp, kapanırlar.

Biyolojik saat 24 saatlik gündüz-gece döngüsüne bağlı mıdır?

Hayır. Saat genleri aktivitesinin moleküler ritmleri doğuştan gelir. Gündüz ve gece döngüleri olmadığı zaman bile bu ritimler sürer.

Işığın biyolojik saati düzenleme ve yeniden hareket ettirmedeki rolü nedir?

Gündüz retina tarafından emilen parlak ışık saatin ritimlerini çevredeki döngüye göre ayarlar. Geceleri parlak ışığa maruz kalmak ise bazı saat geni ürünlerinin miktarlarının büyük oranda artmasıyla vücut

saati ritimlerinin yeniden harekete geçirilmesine yol açar.

Moleküler saat bir bireyin gündüz-gece aktivitesini nasıl düzenler?

Saat genleri tarafından sentezlenen ve değişik miktarlardaki proteinler ek genetik yolları kontrol ederler. Bu yollar moleküler saat ile hayvanın fizyolojisi ve davranışlarındaki zamanlı değişiklikleri birbirine bağlar.

SAATLER HER YERDEDİR

Sadece beyinde değildir..

Hayvanların biyolojik saatleri üzerine yapılan araştırmaların çoğu beyin üzerinde yoğunlaşmıştır. Fakat beyin gündüz-gece ritmi olan tek organ değildir. Meyve sineklerinin karaciğere benzeyen malgözde bir hedef olacaktır. Bu ilaçlar, zaman dilimleri arasında yolculuk eden kişiler üzerindeki olumsuz etkileri, vardiyalı işlerin yan etkilerini, uyku bozukluklarını ve bununla bağlantılı depresif hastalıkları iyileştirmek için kullanılacaktır. Bir gün New York'tan San Fransisco'ya yapılan bir yolculuğa adaptasyon çok daha kolay olacaktır.



Bir meyve sineğinin kafası bir çok biyolojik saati içerir. Ağız bölgesinden ve antenden (gözlerin arasındaki yapı) alınan hücreler ışık ve karanlığa beyindeki hücrelerle aynı tepkiyi verirler.

pighian tubuluslerinde biyolojik saatlerin temel parçaları olan Per ve Tim proteinleri bulunmuştur. Bu proteinlerin gece artan gündüz düşen bir döngüye göre üretildikleri de saptanmıştır. Bu döngü başı kesilmiş sineklerde bile devam etmektedir. Bu da malpighian hücrelerinin sadece beyinden gelen sinyallere cevap vermediğini göstermektedir.

Başka bir araştırma grubu da biyolojik saatlerin sineklerin kanatlarında, bacaklarında, ağız bölgelerinde ve antenlerinde de olduğunu kanıtlamıştır. Floresant Per proteinlerinin üretimini yönlendiren genlerin canlı sineklere aktarılması sonucunda görüldü ki, her doku bağımsız bir ftoresesitif saat taşımaktadır. Her bir kodu hayvandan çıkarıldığı zaman bile bu saatlerin işlemeye ve ışığa tepki verdiği gözlenmiştir.

Kafatası dışında bulunan biyolojik saatler sadece meyve sinekleriyle sınırlı değildir. Farelerde bulunan ve fibroblast adı verilen bağlantı doku hücrelerindeki Per genleri de bu döngüye uygun olarak hareket etmektedirler.

Saat aktivitesi gösteren çeşitli hücre tiplerinin olması, birçok doku için doğru zamanlamanın çok önemli olduğu, anlamına gelir. Çünkü bu olay dokunun izlenmesini garanti eder. Buluntular, "vücut saati" terimine yeni bir anlam kazandırabilir.

Kaynak: Scientific American. •