

Telomeren vroeg en laat in het leven

Dries S. Martens¹, Tim S. Nawrot^{1,2}

1. Centrum voor Milieukunde, Universiteit Hasselt

2. Departement Maatschappelijke Gezondheidszorg en Eerstelijnszorg, KU Leuven

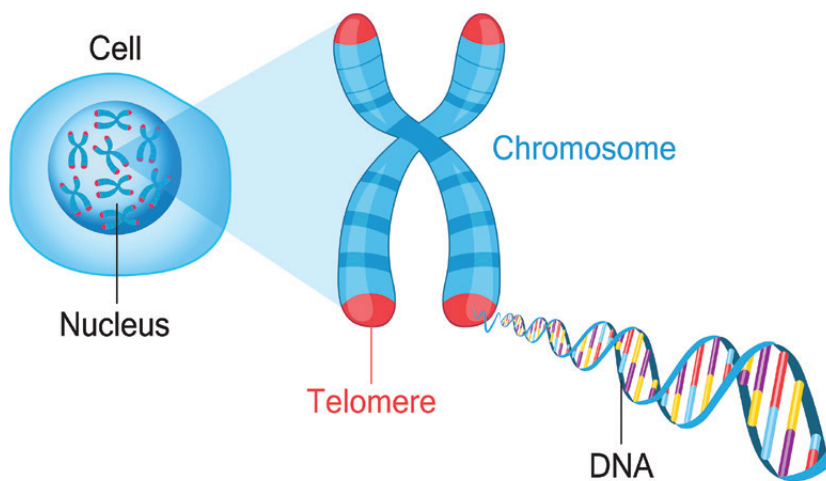
Veroudering gaat gepaard met een verminderde werking van lichaamsorganen, cognitief functioneren en spierkracht, en met een verhoogde kans op het ontwikkelen van ouderdomsgerelateerde ziekten zoals hart- en vaatziekten, kanker, diabetes of dementie. De meest eenvoudige maatstaf voor veroudering is de chronologische leeftijd uitgedrukt in levensjaren. Deze maat heeft echter geen achterliggende biologische betekenis, en wetenschappelijk onderzoek naar veroudering heeft in de laatste decennia verschillende biologische processen aan het licht gebracht die op moleculair niveau betrokken zouden zijn in het verouderingsproces. Een belangrijke ontdekking met betrekking tot het biologische verouderingsproces zijn telomeren. Telomeren zijn herhalende stukjes DNA op het uiteinde van chromosomen die verkorten naarmate een cel zal delen en dus veroudert. De lengte van telomeren is hierdoor een maat voor de biologische leeftijd en algemeen wordt aanvaard dat, hoe korter de telomeren zijn, des te ouder een persoon is op moleculair niveau. Begin jaren 90 werd door epidemioloog David Barker de hypothese geopperd dat ziekten op oudere leeftijd hun oorsprong al zouden vinden in het vroege of zelfs foetale leven (1). Hierbij spelen zowel genetische als omgeving- en leefstijlfactoren een grote rol. Recent werd de hypothese naar voor geschoven dat de telomeerlengte bij de geboorte bepaald wordt door gunstige en minder gunstige condities tijdens het leven *in utero*.

Telomeren en telomerase

Aan het uiteinde van onze chromosomen bevinden zich duizenden herhalingen van de basenpaarsequentie TTAGGG (2). Deze TTAGGG-sequenties kunnen verbindingen aangaan met DNA-bindingsproteïnen en zo een nucleoproteïnecomplex vormen. Dit nucleoproteïnecomplex vormt als het ware een omhulsel aan het uiteinde van onze chromosomen: telomeren genaamd. Door het vormen van dit complex hebben telomeren zowel een beschermende als een stabiliserende functie van ons genoom (3).

Naarmate een cel meer delingen ondergaat, worden de telomeren een stukje korter omdat het DNA-polymerase niet in staat is om de volledige DNA-streng te repliceren (2). Het verlies van herhalende TTAGGG-sequenties is echter niet problematisch aangezien deze geen belangrijke genetische informatie bevat. Door het verlies van niet-informatieve genetische informatie aan het uiteinde van de chromosomen beschermen de telomeren ons genoom als het ware tegen verlies van wel-nuttige genetische informatie vervat meer centraal op de chromosomen.

Humane populatie-gebaseerde onderzoeken hebben uitgewezen dat er een duidelijk verband bestaat tussen de telomeerlengte van een individu en de chronologische leeftijd (levensjaren) van een individu (4). Dus naarmate mensen ouder worden, zullen de telomeren onvermijdelijk korter worden. Telomeren kunnen inkorten totdat ze een kritische lengte bereiken, waarna genomische instabiliteit optreedt, het risico op fusies van chromosomen en fouten in het genoom toeneemt en uiteindelijk celdood zal optreden. Hierdoor is de telomeerlengte



een merker voor veroudering op biologisch niveau en een betere indicatie voor veroudering vergeleken met chronologische leeftijd (5).

Het verlies van telomeersequenties kan gecompenseerd worden door de functie van het enzym telomerase. Telomerase is een reverse-transcriptase-enzym dat in staat is TTAGGG-sequenties te synthetiseren en hierdoor de telomeerlengte kan onderhouden. De activiteit van dit enzym gaat echter verloren in somatische cellen terwijl het in de voortplantingscellen en stamcellen actief blijft doorheen het leven, waardoor de volgende generatie verzekerd is van een nieuwe set langere telomeren in vergelijking met hun ouders. Voor de ontdekking van de rol van telomeren en het enzym telomerase werd in 2009 de Nobelprijs voor Geneeskunde toegekend aan onderzoekers Elizabeth H. Blackburn, Carol W. Greider en Jack W. Szostak.

Telomeerlengte als voorspeller van ziekte en sterfte

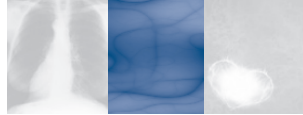
Voor het bepalen van de telomeerlengte in grootschalig bevolkingsonderzoek of epidemiologische studies worden meestal telomeren gemeten in witte bloedcellen (WBC). Ondanks de korte levensduur van witte bloedcellen heeft onderzoek uitgewezen dat er een sterke correlatie bestaat tussen de telomeerlengte gemeten in WBC en de telomeerlengte gemeten in verschillende weefsels van een persoon. Zo blijkt dat mensen met lange telomeren in WBC ook lange telomeren hebben in bijvoorbeeld spier-, vet- en huidweefsel, waardoor het gebruik van telomeerlengte in WBC een algemeen beeld geeft van de telomeerlengte over de verschillende orgaansystemen (6).

De telomeerlengte van een persoon neemt af met de chronologische leeftijd. Deze verkorting gebeurt echter niet aan een

constante snelheid en is leeftijdsafhankelijk. Zo blijkt dat tijdens de eerste levensjaren (0-4 jaar) telomeren sterker verkorten (tot 30x) vergeleken met de verkorting later in het leven (7, 8). Daarnaast hebben vrouwen langere telomeren in vergelijking met mannen, wat een mogelijke verklaring is voor de langere levensverwachting van vrouwen (9). Een achterliggend mechanisme voor het verschil in telomeerlengte tussen mannen en vrouwen zou de beschermende rol van oestrogenen bij vrouwen kunnen zijn. Oestrogenen zouden het telomeerverlengend enzym telomerase kunnen activeren, waardoor de telomeerlengte beter onderhouden blijft bij vrouwen. Oestrogenen hebben daarnaast een anti-inflammatoire eigenschap. Het blijkt inderdaad zo dat zowel oxidatieve stress en inflammatoire processen een direct telomeerverkortend effect kunnen hebben boven op het telomeerverkortend proces door celdeling.

De telomeerlengte van een persoon neemt af met de chronologische leeftijd. Deze verkorting gebeurt echter niet aan een constante snelheid en is leeftijdsafhankelijk.

Telomeren bevatten G-rijke sequenties die uiterst gevoelig zijn voor reactieve zuurstofverbindingen. Verhoogde productie van reactieve zuurstofverbindingen door verhoogde oxidatieve stress kunnen rechtstreeks schade aanrichten aan zowel DNA als telomeren, wat zorgt voor een versnelde telomeerverkorting. Hierdoor vormen telomeren als het ware het geheugen van de cel voor blootstelling aan inflammatie en oxidatieve stress tijdens het leven. Voorbeelden van omgeving- en leefstijlfactoren



GENETICA

die de oxidatieve stress-status van een persoon beïnvloeden en geassocieerd zijn met kortere telomeerlengtes zijn roken (10), obesitas (11), stress (12), luchtverontreiniging (13) en opleidingsniveau (14).

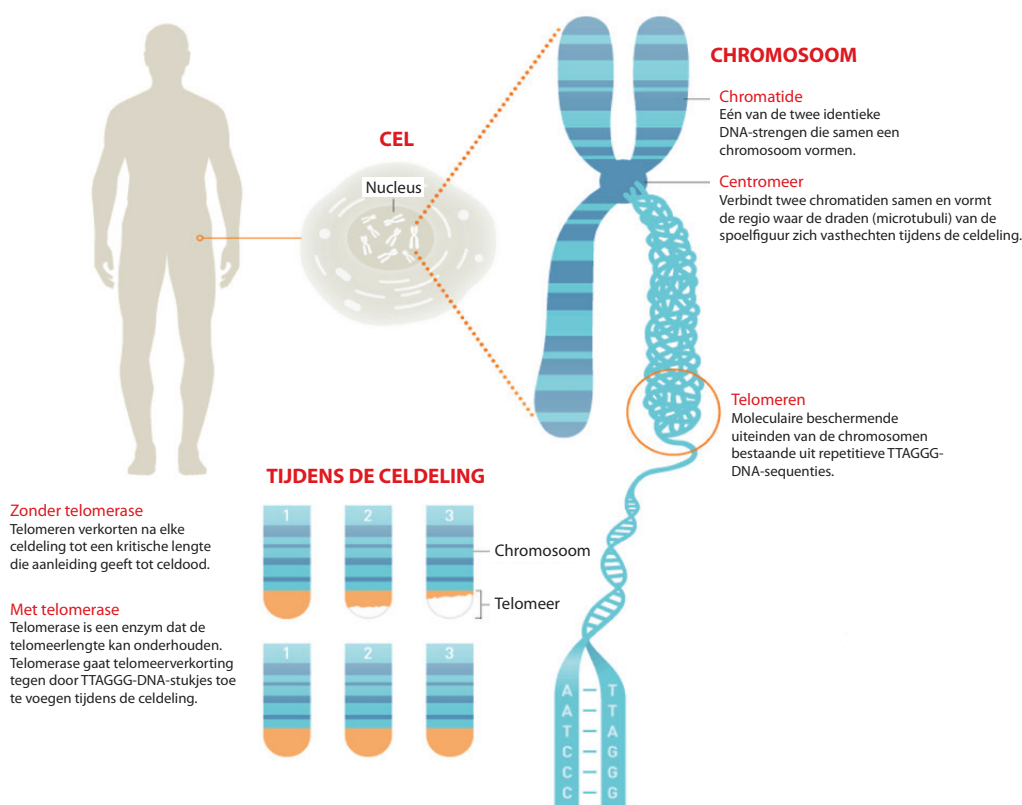
Vrouwen hebben langere telomenen in vergelijking met mannen, wat een mogelijke verklaring is voor de langere levensverwachting van vrouwen. Een achterliggend mechanisme voor het verschil in telomeerlengte tussen mannen en vrouwen zou de beschermende rol van oestrogenen bij vrouwen kunnen zijn.

Kortere telomenen zijn geassocieerd met een verhoogd risico op het ontwikkelen van ouderdomsgerelateerde ziekten, zoals cardiovasculaire aandoeningen. In een recente meta-analyse dat in totaal 24 studies en 43.725 deelnemers bevatte (waarvan 5.566 met cardiovasculaire ziekte en 2.834 met cerebrovasculaire ziekte) werd aangetoond dat deelnemers met de kortste telomenen, vergeleken met deelnemers met de langste telomenen, een hoger relatief risico van 1,54 (95% CI: 1,30 tot 1,83) hadden voor cardiovasculaire ziekte. Daarnaast werd aangetoond dat deelnemers met kortere telomenen een hoger relatief risico van 1,42 (95% CI: 1,11

tot 1,81) hadden voor cerebrovasculaire ziekte (15). Verder zijn korte telomenen gelinkt aan andere ouderdomsaandoeningen, zoals een verhoogde kankerincidentie (16), type 2-diabetes mellitus (17) en de ziekte van Alzheimer (18).

Naast een verband met ouderdomsgerelateerde ziekten is de telomeerlengte ook gelinkt met sterfte. In 2003 werd in *The Lancet* voor het eerst gerapporteerd dat, in een kleine populatie van 60-plussers (n = 143), deelnemers met korte telomenen bijna een dubbele sterfteratio hadden van 1,86 (95% CI: 1,22 tot 2,83) vergeleken met deelnemers met lange telomenen (19). Deze

Figuur 1:
Schematische weergave van telomenen en de werking van telomerase.



Bron: Ashley Leslie and Charles Walker. Telomerase Peptide Vaccine—The Next Cancer Therapy?
<https://islaslab.wikispaces.com/Telomerase+Peptide+Vaccine%E2%80%94The+Next+Cancer+Therapy%3F>

bevinding werd later door andere onderzoekers in grotere populaties bevestigd. Rode et al. rapporteerden bijvoorbeeld dat in een populatie van 64.637 deelnemers met een follow-up tussen de 0 en 22 jaar, mensen met korte telomeren een verhoogde sterfteratio van 1,40 (95% CI: 1,25 tot 1,57) hadden vergeleken met deelnemers met lange telomeren.

Deze studies in adulte populaties tonen duidelijk aan dat kortere telomeren geassocieerd zijn met ouderdomsgerelateerde ziekten, mortaliteit en veroudering.

Belang van telomeren vroeg in het leven

Klassiek worden veroudering en de biologische mechanismen van veroudering bestudeerd in het latere leven. Recent hebben we de hypothese naar voor geschoven dat verschillen in telomeerlengte bij de geboorte een mogelijke belangrijke verklaring kunnen vormen voor de Barker-hypothese. Bij volwassenen van dezelfde leeftijd wordt een grote variabiliteit in telomeerlengte waargenomen en een eerste belangrijke observatie is dat deze variatie in telomeerlengte ook bij de geboorte aanwezig is (20, 24). Dit geeft aan dat individuen die chronologisch even oud zijn (0 jaar in geval van geboorte) op vlak van telomeerlengte verschillen en dus biologisch gezien een verschillende leeftijd hebben. Pasgeborenen met korte telomeren zijn biologisch gezien ouder dan pasgeborenen met langere telomeren. De gevolgen van deze biologische leeftijdsverschillen bij de geboorte zijn echter tot op heden niet geheel duidelijk. Echter het is zeer goed aan te nemen dat, aangezien de telomeren afbrokkelen door chronische inflammatie en oxidatieve stress, pasgeborenen met kortere telomeren een lagere buffercapaciteit hebben met mogelijke consequenties later in het leven.

In opvolgstudies bij volwassenen is aangetoond dat er een 'tracking' bestaat van de telomeerlengte doorheen het leven. Deze telomeertracking impliceert dat mensen met lange telomeren doorheen het leven, deze lange telomeren zullen blijven behouden, vergeleken met mensen die kortere telomeren hebben. Hierdoor zou de initiële telomeerlengte bij de geboorte al een belangrijke predictor zijn voor de telomeerlengte later in het leven en dus ook al mogelijk een belangrijke factor vormen voor het ontwikkelen van telomeergelinkte ouderdomsaandoeningen, zoals besproken in de vorige paragraaf.

We konden aantonen dat de telomeerlengte bij de geboorte (gemeten in navelstrengbloed en placenta) omgekeerd evenredig gecorreleerd was met de BMI van de moeder voor de zwangerschap.

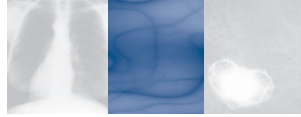
Een andere belangrijke observatie in een dierenstudie bij zebrafinken bracht aan het licht dat de telomeerlengte in het vroege leven een goede voorspeller is van de levensverwachting (21). In deze studie konden zebrafinken van geboorte tot sterfte worden opgevolgd en werd er een duidelijk verband waargenomen tussen de telomeerlengte gemeten 25 dagen na de geboorte en de levensduur van de vogels. **Deze studie suggereert dat wie bij de geboorte start met kortere telomeren, theoretisch gezien een kortere levensverwachting of minder buffercapaciteit tegen de verkorting van de telomeren tijdens het leven heeft.** Deze waarnemingen zouden in het verlengde van de Barker-hypothese kunnen liggen, die stelt dat ouderdomsaandoeningen, waaronder cardiovasculaire ziekten, dementie en diabetes, potentieel hun oorsprong kennen in het vroege leven (1). Hierdoor zou de

rol van telomeerlengte in het vroege leven een veel belangrijkere rol kunnen spelen dan in het adulte leven. In het geval dat telomeergelinkte ouderdomsaandoeningen effectief hun oorsprong vroeg in het leven hebben, onderlijnt dit het essentiële belang om factoren, zowel genetische als omgevingsfactoren, te identificeren die de telomeerlengte bij de geboorte bepalen.

Factoren geassocieerd met de telomeerlengte bij de geboorte

De grote variabiliteit aan telomeerlengtes bij de geboorte worden toegeschreven aan zowel genetische als omgeving- en leefstijlfactoren tijdens de zwangerschap die de initiële telomeerlengte zouden kunnen beïnvloeden. Om deze belangrijke factoren te kunnen identificeren hebben we het ENVIRONAGE (*ENVIRONmental influence ON AGEing in early life*)-geboortecohort in 2012 opgestart, waarbij we meer dan 1.400 moeder-kindparen vanaf de geboorte opvolgen (22). We vonden duidelijke bewijzen dat de telomeerlengte reeds vroeg in het leven wordt beïnvloed door omgevingsfactoren. Zo konden we aan tonen dat de telomeerlengte bij de geboorte (gemeten in navelstrengbloed en placenta) omgekeerd evenredig gecorreleerd was met de BMI van de moeder voor de zwangerschap. Baby's geboren van moeders met obesitas hadden 5,2% kortere telomeren bij de geboorte in vergelijking met baby's van moeders met een normaal gewicht ($BMI < 25\text{kg/m}^2$) (23).

Obesitas is een van de voornaamste doodsoorzaken wereldwijd doordat het metabolisme uit evenwicht geraakt door een overtolligheid van vetweefsel. Een van de belangrijkste achterliggende mechanismes die kunnen verklaren dat zwaarlijvigheid telomeren kan beïnvloeden is oxidatieve stress en inflammatoire processen die ontstaan door een overtollig vetpercen-



GENETICA

tage. Deze stijging in oxidatieve stress en inflammatie zouden niet enkel bij de moeders aanwezig blijven maar zelfs worden doorgegeven aan de pasgeborenen, waardoor het biologische verouderingsproces tijdens het leven *in utero* beïnvloed wordt.

Naast overgewicht tijdens de zwangerschap observeerden we dat een verhoogde blootstelling aan fijn stof tijdens de zwangerschap een negatieve invloed had op de telomeerlengtes van de pasgeborenen (24). Moeders waren blootgesteld aan een gemiddelde concentratie fijn stof ($PM_{2,5}$) dit zijn fijnstofpartikels met een diameter $\leq 2,5\mu m$ van $13,4\mu g/m^3$ tijdens de zwangerschap. We observeerden dat elke stijging van $5\mu g/m^3$ in $PM_{2,5}$ -concentratie geassocieerd was met een 9% kortere telomeerlengte in navelstrengbloed en 13% kortere telomeerlengte in de placenta. Verhoogde blootstelling aan luchtverontreiniging is geassocieerd met een verhoogd en vervroegd risico op sterfte en wordt wereldwijd als 6e belangrijkste factor beschreven die de globale gezondheid beïnvloed (25).

Onze resultaten met betrekking tot de telomeerlengte impliceren dat deze risico's hun oorsprong deels al hebben voor de geboorte. **Blootstelling aan luchtverontreiniging** gaat gepaard met longinflammatie en een verhoogde oxidatieve-stress-status door de rechtstreekse of onrechtstreekse productie van reactieve zuurstofverbindingen door fijnstofpartikels (26). Verbetering van de luchtkwaliteit is essentieel om de levensverwachting te kunnen verhogen en dit al vanaf de geboorte.

Naast overgewicht en een verhoogde blootstelling aan luchtverontreiniging tijdens de zwangerschap werd recentelijk ook de telomeerlengte bij de geboorte geassocieerd met roken (27) en verhoogde maternale stress (28) tijdens de zwanger-

schap, alsook met het opleidingsniveau van de moeder (29). Een kanttekening die gemaakt dient te worden is de rol van de ouderlijke telomeren die ook onderhevig zijn aan omgeving- en leefstijlfactoren, en de ouderlijke telomeerlengte zou mogelijk ook kunnen bijdragen tot de telomeerlengte van hun nakomelingen.

Naast overgewicht tijdens de zwangerschap observeerden we dat een verhoogde blootstelling aan fijn stof tijdens de zwangerschap een negatieve invloed had op de telomeerlengtes van de pasgeborenen.

Conclusies

Omgeving- en leefstijlfactoren zoals een gezond gewicht, lage blootstelling aan luchtverontreiniging en dieet zijn geassocieerd met een langere levensverwachting, en een mogelijk onderliggend mechanisme zouden de effecten van deze factoren op telomeren kunnen zijn. Deze factoren spelen al een rol tijdens de reproductieve fase van vrouwen en ze hebben een invloed op de telomeerlengte van pasgeborenen. We zien dat de moleculaire voorbeschiktheid om oud te worden wordt doorgegeven over generaties. De biologische processen die de foetale programmering van ziekten door omgevingsfactoren beïnvloeden, waarvan de Barker-hypothese de grondslag vormt, worden hierdoor steeds beter begrepen. Telomeren vormen potentieel één van de vele achterliggende mechanismes die ten grondslag liggen van deze Barker-hypothese. We identificeerden dat maternale blootstelling aan luchtvervuiling en een hoge BMI voor de zwangerschap, de moleculaire voorbeschiktheid om oud te worden van de volgende generatie negatief beïnvloedt.

Referenties

1. Barker DJ. The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ* 1990;301(6761):1111.
2. Blackburn EH. Structure and function of telomeres. *Nature* 1991;350(6319):569-73.
3. O'Sullivan RJ, Karlseder J. Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010;11(3):171-81.
4. Nawrot TS, Staessen JA, Gardner JP, Aviv A. Telomere length and possible link to X chromosome. *Lancet*. 2004;363(9408):507-10.
5. Benetos A, Okuda K, Lajemi M, et al. Telomere length as an indicator of biological aging: the gender effect and relation with pulse pressure and pulse wave velocity. *Hypertension* 2001;37(2 Pt 2):381-5.
6. Daniali L, Benetos A, Susser E, et al. Telomeres shorten at equivalent rates in somatic tissues of adults. *Nat Commun* 2013;4:1597.
7. Frenck RW, Jr., Blackburn EH, Shannon KM. The rate of telomere sequence loss in human leukocytes varies with age. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(10):5607-10.
8. Rufer N, Brummendorf TH, Kolvaas S, et al. Telomere fluorescence measurements in granulocytes and T lymphocyte subsets point to a high turnover of hematopoietic stem cells and memory T cells in early childhood. *J Exp Med* 1999;190(2):157-67.
9. Gardner M, Bann D, Wiley L, et al. Gender and telomere length: systematic review and meta-analysis. *Exp Gerontol* 2014;51:15-27.
10. Nawrot TS, Staessen JA, Holvoet P, et al. Telomere length and its associations with oxidized-LDL, carotid artery distensibility and smoking. *Front Biosci (Elite Ed)* 2010;2:1164-8.
11. Muezzinler A, Zaineddin AK, Brenner H. Body mass index and leukocyte telomere length in adults: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2014;15(3):192-201.
12. Epel ES, Blackburn EH, Lin J, et al. Accelerated telomere shortening in response to life stress. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(49):17312-15.
13. Pieters N, Janssen BG, Dewitte H, et al. Biomolecular Markers within the Core Axis of Aging and Particulate Air Pollution Exposure in the Elderly: A Cross-Sectional Study. *Environ Health Perspect* 2016;124(7):943-50.
14. Adler N, Pantell MS, O'Donovan A, et al. Educational attainment and late life telomere length in the Health, Aging and Body Composition Study. *Brain Behav Immun* 2013;27(1):15-21.
15. Haycock PC, Heydon EE, Kaptoge S, Butterworth AS, Thompson A, Willeit P. Leucocyte telomere length and risk of cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2014;349:g4227.
16. Willeit P, Willeit J, Mayr A, et al. Telomere length and risk of incident cancer and cancer mortality. *JAMA* 2010;304(1):69-75.
17. Willeit P, Raschenberger J, Heydon EE, et al. Leucocyte telomere length and risk of type 2 diabetes mellitus: new prospective cohort study and literature-based meta-analysis. *PLoS One* 2014;9(11):e112483.
18. Forero DA, Gonzalez-Giraldo Y, Lopez-Quintero C, et al. Meta-analysis of Telomere Length in Alzheimer's Disease. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2016;71(8):1069-73.
19. Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. *Lancet* 2003;361(9355):393-5.
20. Factor-Litvak P, Susser E, Kezios K, et al. Leukocyte Telomere Length in Newborns: Implications for the Role of Telomeres in Human Disease. *Pediatrics* 2016;137(4).
21. Heidinger BJ, Blount JD, Boner W, et al. Telomere length in early life predicts lifespan. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109(5):1743-8.
22. Janssen BG, Madhoum N, Gyselaers W, et al. Cohort Profile: The ENVIRONMENTAL INFLUENCE ON EARLY AGEING (ENVIRONMENTAL INFLUENCE ON EARLY AGEING) 2017.
23. Martens DS, Plusquin M, Gyselaers W, De Vivo I, Nawrot TS. Maternal pre-pregnancy body mass index and newborn telomere length. *BMC Med* 2016;14(1):148.
24. Martens DS, Cox B, Janssen BG, et al. Prenatal Air Pollution and Newborns' Predisposition to Accelerated Biological Aging. *JAMA Pediatr* 2017.
25. Collaborators GBD, Forouzanfar MH, Alexander L, et al. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks in 188 countries, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet* 2015;386(10010):2287-323.
26. Martens DS, Nawrot TS. Air Pollution Stress and the Aging Phenotype: The Telomere Connection. *Curr Environ Health Rep* 2016;3(3):258-69.
27. Salihu HM, Pradhan A, King L, et al. Impact of intrauterine tobacco exposure on fetal telomere length. *Am J Obstet Gynecol* 2015;212(2):205 e201-8.
28. Entringer S, Epel ES, Lin J, et al. Maternal psychosocial stress during pregnancy is associated with newborn leukocyte telomere length. *Am J Obstet Gynecol* 2013;208(2):134 e131-7.
29. Wojcicki JM, Olveda R, Heyman MB, et al. Cord blood telomere length in Latino infants: relation with maternal education and infant sex. *J Perinatol* 2016;36(3):235-41.