

EPİGENETİK

Hafta 11: Epigenetik ve İnsan Hastalıkları I

Kanser epigenetiği, immün düzensizliklerde epigenetiğin rolü, beyin hastalıklarında epigenetik

Dr Öğr Üyesi Arzu ATALAY

Kanser Epigenetiği

- Kanser hem genetik, hem de epigenetik bir hastalıktır.
- İnsan kanserlerini tanımlamada hem patolojik hem de klinik özellikleri dikkate alınmaktadır.
- Kanserlerin orijinleri için üç teori geliştirilmiştir
 - Birinci teori daha çok patolojik gözlemlere dayanmaktadır. Buna göre kanser anormal farklılaşmaya bağlı bir hastalıktır. Bu modelde malign hücrelerin gelişimleri farklılaşma sürecindeki uygunsuz epigenetik (mutasyonal olmayan) değişikliklere bağlıdır.
 - İkinci teori virologlar tarafından geliştirilmiştir. Buna göre insan kanserleri SV40 veya Rous sarkoma virüsü gibi virüsler tarafından geliştirilmişlerdir.
 - Üçüncü modele göre kanser mutasyonlar sonucu olmaktadır. Bu teori kimyasal ve fiziksel ajanların mutajenik ve tümörojenik etkileri ile olan güçlü ilişkiyle desteklenmektedir.

- Her ne kadar o dönemde teorileri destekleyecek yeterli analiz imkanı olmasa da onkojenik Rous sarkoma virüsündeki *v-src* geninin tespit edilmesi ve bir proto-onkogen olan *c-src*'nin insan hücrelerinde tespit edilmesi çalışmaları desteklemiştir.
- 1982 yılında öncü bir çalışma *H-ras* genindeki bir nokta mutasyonunun benign *H-ras* proto-onkogeninin malign *H-ras* onkogenine dönüşmesine neden olduğunu göstermiştir.
- Bir yıl sonra ise «Knudson's two-hit» hipotezi ile tümör baskılayıcı genlerin inaktive edildiği gösterilmiştir.
- Ancak, bir onkogenin aktivasyonu ve eş zamanlı tümör baskılayıcı gen inaktivasyonu tüm pre-neoplastik dokularda veya metastatik kanserlerin hepsinde görülen bir durum değildir.

Kanserde epigenetik kontrol mekanizması

- Epigenetik, gen ekspresyonunu düzenleyen ancak primer DNA baz sekansını etkilemeyen değişiklikleri ifade eder.
- Öncelikli olarak
 - Metilasyon ve histon modifikasyonları
 - Non-coding RNA'lar ve polycomb mekanizmaları
- Bu mekanizmaların her birisinin kanser gelişimi ve ilerleyişinde önemli rolü vardır, her ne kadar farklı tümör histolojilerinde hangi mekanizmanın etkin olduğu oldukça geniş farklılıklar gösterse de.

- DNA metilasyonu

- Hipermetilasyon genellikle gen aktivitesinin susturulmasına yol açar.
- DNA metilasyonu CpG dinükleotidlerindeki sitozin üzerinde yapılır.
- Memeli hücreleri üç farklı DNA metiltransferaz enzimi tarafından kontrol edilir.
 - DNMT1, DNA replikasyonu sonrası mevcut olan metilasyon paternlerinin idamesini sağlayan asıl enzimdir ve bunu hemimetile CpG bölgelerine metil grupları ekleyerek yapar.
 - DNMT3A ve 3B yeni CpG bölgelerini metile eder. Embriyogenez esnasında yüksek oranda mevcut olup, yetişkin dokularda çok az eksprese edilir.
 - DNMT3L

- DNA metilasyonu

- DNA metilasyonu geri dönüşümsüz bir basamak değildir. Bazen metile edilmiş DNA bölgesi demetilasyon ve remetilasyon arasında denge halindedir.
- DNA replikasyonunun olmadığı durumda gözlenen demetilasyon normalde zigot ve germ hücrelerinin gelişiminde gözlenir ancak aynı zamanda malign hücrelerde de gözlenir.
- DNA demetilasyonuna neden olan tedavi edici ilaçlar klinik olarak kullanılmaktadırlar.

- **Histon modifikasyonları**

- DNA'nın direkt metilasyonu yanı sıra, çeşitli histon modifikasyonlarından etkilenen kromatin yapısı da kanserde gen ekspresyonunda etkin rol oynar
- Histon proteinleri transkripsiyona kapalı olan heterokromatin ve çeşitli transkripsiyon faktörlerinin bağlanması ve regülasyonuna izin veren ökromatin arasındaki değişikliği koordine ederler.
- Metilasyon ve asetilasyon, ubikütinasyon, biotinilasyon, poli-ADP ribozilasyon, SUMOilasyon gibi mekanizmalar histon modifikasyonlarında rol alırlar.

- **Histon modifikasyonları**

- Birçok HMT'lar tümör süpresör etkiye sahiptir ve dolayısıyla demetilazlar onkojeniktirler.
- Bu mekanizmaların koordine ettikleri yapısal değişiklikler DNA üzerindeki gen veya gen grubunun transkripsiyonuna izin verir veya engeller.
- Onkogeneizde de histon modifikasyonları bu şekilde etki ederek rol alırlar.

- **Genomik imprinting**

- Genomik imprinting DNA metilasyonu ile kontrol edilen ebeveyn spesifik bir şekilde genetik bölge ekspresyonunun yapıldığı bir fenomendir.
- Genlerin çok az bir kısmı imprint edilmiştir ve imprint genlerin çoğunluğu fetal ve plasental gelişim regulasyonunda bulunurlar.
- İlginç olarak imprinting kaybı (LOI) hemen tüm kanser türlerinde ortaya çıkmaktadır.
- Willm's tümörü LOI için tipik bir örnektir. Willm's tümöründe ilk gözlenen genetik veya epigenetik değişiklik LOI'dir.

- **Non-coding RNA**

- Fonksiyon olarak RNA splicing yanı sıra,
 - DNA metilasyon regulasyonu
 - Kromatin remodeling
 - Transkripsiyon regulasyonu
 - Translasyon regulasyonu (micro RNA)
- Her ne kadar microRNA'lar gelişme ve farklılaşmada rol alsalar da, kanserli ve normal hücreler arasında microRNA açısından farklılıklar vardır.
- Kanserde microRNA'ların rolü tam olarak bilinmese de miktarlarının malign transformasyon durumunda azaldığı bilinmektedir (farklılaşmanın idamesi fonksiyonu).
- Kanser gelişiminde incelenmesi gereken fonksiyonları mevcuttur.

Epigenetik ve Onkogeneze

- Onkogeneze kalıtılabilir olaylar sonucunda ortaya çıkar.
- Başlangıçta iddia edilenin aksine onkogeneze oldukça karmaşıktır ve uzun bir süre birçok olayın olmasını gerektirir.
- Onkogeneze farklı histopatolojik alt gruplara ayrılır.
 - Morfolojik normal, genetik veya epigenetik anormal
 - Premalign (proliferatif ve atipik değişiklikler ve karsinoma in situ)
 - Malign
 - Metastatik
- Epigenetik olarak olan değişiklikler her evrede ve her kanser türünde aynı olmak zorunda değildir. (BRCA1 geni erken bulgudur.)

Epigenetik ve Onkogenezi

- Tümör mikroçevresindeki normal stromal hücrelerde epigenetik değişiklikler
 - Rutin histopatoloji erken dönem onkogenezi tespit edemez
 - Birçok kanserde, tümör dokusunu çevreleyen stromal hücrelerde epigenetik değişiklikler mevcuttur (promotor metilasyonu)
 - Örnek
 - » Mesane kanserinde histopatolojik olarak normal görülen çevre stromal dokuda aslında LOH
 - » Kolon kanserinde normal görünen komşu mukozada MGMT promotor metilasyonu
 - » Meme kanserinde RASSF1A promotor metilasyonu
 - » Prostat kanserinde glutatyon S transferaz 1 metilasyonu

Bunlar da rekürrensi artırmaktadır. Ancak erken tanı ve tedavi açısından önemli olabilir.

Epigenetik ve Onkogenezi

- Premalign epigenetik değişiklikler
 - Patolojik tanımlamalara göre birçok malign olmayan histolojik görünömler vardır (displazi, atipi, proliferatif değişiklikler gibi)
 - Son yıllarda bu durumlarda gözlenen epigenetik değişiklikler onkogenezin anlaşılmasına ışık tutmaktadır. Çünkü histolojik olarak normal görünen bu hücrelerde epigenetik bazı değişiklikler gözlenmektedir.
 - Ayrıca premalign histolojik özellik sergileyen hücrelerde de epigenetik değişiklikler olduğu birçok organ kanserinde tanımlanmıştır
 - » Promotor bölge metilasyonunun yanı sıra histon modifikasyonları ve microRNA ekspresyonu değişiklikleri gibi.
 - Bazı kanser hücreleri belli ortamdan çıksa da (field-effect), malign hücreler de kendi buldukları ortamı etkileyebilmektedirler.
 - » Önceden metastatik melanom hücrelerinin bulunduğu ortama normal insan melanositlerinin konulması

Epigenetik ve Onkogenezi

- Malign transformasyon
 - Malign dönüşüme uğramış hücre fenotipik olarak
 - » Devamlı büyüme uyarısı (onkogen aktivasyonu)
 - » Kontrol bölgelerinin kaybı (tumor baskılayıcı kaybı)
 - » Sınırsız çoğalma (telomer korunması)
 - Genotipik olarak çoğu onkogen gen amplifikasyonu veya mutasyon sonucu aktive edilirler. Ancak bu her zaman geçerli değildir..
 - » Bcl2, B h lösemide metilasyon kaybı
 - » Pax2 geni normal dokularda sessiz, endometriumda östrojen ile uyarılır

Epigenetik ve Onkogenez

- Malign transformasyon
 - Epigenetik değişiklikler tumor supresor inaktivasyonu yapabilirler
 - » Tm sup olan RIZ1 geninin hipermetilasyonu tiroid, hepatoseluler ve özefageal kanserlerde görülebilir.
 - » Hepatoseluler kanserlerde Hint1 tm sup geninin hipermetilasyonu
 - » BRCA1, meme kanserinde
 - » Bazı tm sup etki gösteren microRNA'lar tumor hücrelerinde hipermetilasyon ile down-regule edilirler
 - İnvaziv kanserlerde telomer uzunluğunun idamesini sağlayan telomeraz (hTERT) aktivitesi vardır.
 - » hTERT normal hücrelerde deasetile vaziyette sessiz olarak mevcuttur.
 - » Kanser hücrelerinde hTERT promotor bölgesi hipo ve hipermetilasyon ve değişik histon modifikasyonları ile reaktive edilir.

Epigenetik ve Onkogeneze

- Metastatik fenotiple ilişkili epigenetik değişiklikler
 - Metastatik fenotip oluşumu epigenetik mekanizmalarla oluşmaktadır
 - Bu değişiklikler daha çok CpG adalarındaki hipermetilasyonla ilişkilidir
 - » Meme kanseri ve metastatik lenf nodu karşılaştırması
 - Metastazda etkin olan genler/proteinlerden
 - » Urokinaz tipi plazminojen aktivatörü geni hipometilasyonu meme ve prostat kanserlerinde kötü prognoz ile ilişkilidir.
 - Metastaz için anjiyogenez önemlidir
 - » TIMP3, VEGF ile bağlanarak anjiyogenezini inhibe eder
 - » TIMP3 hipermetilasyonu anjiyogenezine neden olur

- Metastatik kanser hücreleri ve hatta invaziv kanser hücreleri epigenetik olarak erken embriyonik dönem hücreleri ile benzer yapısal özellikler taşımaktadırlar.
 - Embriyogenez esnasında hareketsiz epitelial hücrelerin, invazyon yeteneğine sahip olan mezankimal hücrelere dönüşmesi (EMT)
 - Aniyogenez ve EMT'nin hem normal hem de kanserli hücrelerde microRNA'lar tarafından düzenlenmektedir
 - İleride tedavi stratejileri ile metastazın önlenmesi umulmaktadır

Epigenetik tanı ve Prognoz

- Her ne kadar epigenetik değişiklikler kullanılarak insan kanserlerine tanı konması rutin klinik kullanımı olan bir yaklaşım olmasa da
- Yeni yayınlarda umut verici sonuçlar mevcut
 - DNA metilasyon profili
 - microRNA ekspresyon profili
 - Histon modifikasyonları incelenmekte
- microRNA PCA3 idrarda tespit edilmesi prostat ca için PSA'dan daha spesifik
- Kanser tiplerinin tespit edilmesi ve tanı konmasında epigenetik değişiklikler henüz yeterli seviyede kullanılmamakta
 - Meme kanserinde epigenetik değişikliklerin chip tabanlı hibridizasyon teknikleri ile tespit edilmesi ve histolojik tip ve grade'lemede kullanılması ile ilgili çalışmalara devam edilmekte

Epigenetik tanı ve Prognoz

- Epigenetik testler içerisinde en sık kullanılanı sessiz konumda duran tümör baskılayıcı genlerin (TSG) promotor bölgelerindeki CpG adalarının hedef seçilerek incelendiği DNA metilasyonudur
- Metilasyon duyarlı PCR yöntemiyle akciğer, servikal, tiroid ve meme kanserlerinin etkin bir şekilde tespit edilmesi sağlanabilmektedir.
- microRNA ekspresyon profilleri de kullanılabilmektedir
 - miR127; BCL6 (anti-apoptotik) inhibitörü (lenfoma, lösemi)
 - Primeri tespit edilemeyen tm'lerde 42 microRNA taraması

Epigenetik tanı ve Prognoz

- Histon modifikasyonlarının CHIP yöntemiyle ve MS ile tespit edilmesi klinik uygulamada kullanım için aday yöntemlerdir
- Prognoz için global epigenetik anormalliklerin araştırılması son zamanlarda uygulanan bir yaklaşım
 - Global hipometilasyon
 - Global histon modifikasyonları
- İnvaziv kanserlerde global histon dimetilasyon, trimetilasyon ve asetilasyon incelenmesinin prognostik potansiyele sahip olduğu düşünülmekte
- Aksine histon trimetilasyon kaybının preneoplastik dokularda gözleendiği, hatta akciğer yassı hücreli ca'da kötü prognostik gösterge olduğu gösterilmiştir

Kanserde epigenetik tedavi

- Normal hücrelere göre kanser hücrelerinde asetilasyon gibi histon modifikasyonları daha az ve CpG bölgelerinde hipometilasyon mevcuttur.
- Farmakolojik olarak bu geri dönüştürülebilir değişiklikleri düzeltmek, bu tedavinin asıl mantığını oluşturmaktadır.
- Spesifik DNMT'ler ve HDAC'ler metile edilmiş veya asetile edilmiş tm baskılayıcı genleri tekrar aktifleyebilir.
 - p15-INK4B metilasyonu MDS ve AML'de kötü prognostik. DNMT inhibitörü olan 5-azacytidine ve 5-aza-2'deoxyctidine FDA onayı almıştır.
 - Bazı kanserlerde hücre siklusu kontrol eden genler susturulmuş durumda. HDAi olarak vorinostat kullanılmakta.

Kanserde epigenetik tedavi

- microRNA'ların anti-kanser tedaviler içinde rolü mevcuttur.
- microRNA'lar farklılaşma, proliferasyon ve apoptoz gibi biyolojik olayları kontrol etmenin dışında tumor supresor veya onkogen gibi fonksiyon görebilirler.
 - Kanser gelişimi ve metastazı artıran microRNA inhibisyonu
 - Meme kanserinde microRNA-155 inhibisyonu ile CXCR4 azaltımı
 - Eksik olan microRNA'nın yerine konması
 - Hücre döngüsünü D2 ve E2 hedef alarak durduran microRNA26a

Sonuç

- Epigenetik, onkogenezin anlaşılmasında ve yeni tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde faydalı olmuştur. Korunmada, tanıda ve tedavide yeni metodların geliştirilmesinde faydalı olacaktır.
- Epigenetik ile onkogenez ve tümör baskılayıcı genlerin bir arada değerlendirilmesi normalden maligniteye geçişte gözlenen patolojik geçişin anlaşılmasını kolaylaştırmıştır.
- Metilasyon, asetilasyon ve microRNA'lar tedavi yaklaşımları için yeni hedeflerdirler.
- Ayrıca, maligniteye geçiş öncesinde bu değişikliklerin zaten mevcut olması, araştırmacıların yeni ilaçlar veya tanı için ajanlar üretmelerini hatta erken dönemde kanserden korumalarını sağlayabilecektir.

İmmün düzensizliklerde Epigenetiğin Rolü

Innate (Doğuştan Gelen) Bağışıklık

- Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, mikroorganizmalara karşı birincil savunma mekanizmasını sağlamaktadır.
- Yabancı peptitlerin tanınması ile aktive olur.
- Bu süreçte pathogen associated molecular patternler (PAMPs), innate bağışıklık sistemi hücrelerinin yüzeyindeki “toll like receptor (TLR)” gibi pattern recognition reseptörlerine (PRRs) bağlanır ve sistem aktive olur.

Innate Bağışıklık

- Innate bağışıklık sistem hücreleri;
 - Fagositik hücreler (Monositler / Makrofajlar / Neutrofiller)
 - Natural Killer hücreleri
 - Dendritik Hücreler
 - Granulositler
 - Mast hücreler
 - Plateletlerden oluşmaktadır.

Innate Bağışıklık

- Bu hücreler antijen sunan hücreler olarak geçmektedirler (APCs).
- Hücre yüzeylerinde patojen epitoplarını sunan “major histocompatibility complex - class II” denilen MHC moleküllerini bulundurmaktadırlar.

Adaptif Bağışıklık

- Lemfositler, T hücreleri ve B hücrelerinden oluşmaktadırlar.
- Bu hücreler özelleşmiş bağışıklık hücreleridir ve her biri spesifik patojenik epitoplari tanıdıktan sonra proliferere olup çoğalmaktadırlar.

Otoimmünite ve Otoimmün Hastalıklar

- Otoimmünite; bağışıklık sisteminin, vücudun kendi dokularındaki antijenlere karşı antikor oluşturmasıdır.
- Systemic lupus erythematosus (SLE) ya da rheumatoid arthritis (RA) gibi otoimmünite hastalıkları bulunmaktadır.

Otoimmün Hastalıklar

- Otoimmün hastalıkların birçoğunun oluşumu tam olarak bilinmemektedir.
- Fakat örnek olarak, SLE, RA, MS(multiple sclerosis) gibi hastalıklarda epigenetik değişikliklerin etkisinin önemli bir yere sahip olduğu kabul edilmektedir.

Bağışıklık Hücrelerinin Epigenetiği

- T-Regülatör Hücreler: Araştırmalar forkhead box P3(Foxp3)'nin epigenetik regülasyonuna yönelmektedir. Foxp3 bir transkripsiyonal represördür ve Treg hücrelerinin gelişiminde önemli bir düzenleyicidir.
- Foxp3 transkripsiyon faktörünün fonksiyonel olması için Histon asetiltransferaz Tip60 ve HDAC7 ile bir kompleks içinde bulunması gerektiği gösterilmiştir.
- HDAC9'un ise işlevsel olmayan Foxp3 ile bir arada bulunduğu gösterilmiştir. Bunun sonucunda selektif bir HDAC9 bloklamasının Treg aktivitesinin azaldığı otoimmün hastalıklarda, işe yarayabileceği düşünülmüştür.

Bağışıklık Hücrelerinin Epigenetiği

- Th1 Hücreleri: Bu hücrelerin CpG adacıklarının çoğunluğu demetile halde bulunmaktadır. IFN-gamma promotoru da demetile haldedir. Bu hücrelerde ayrıca IFN-gamma gen bölgesinde histon asetilasyonu ve H3K4 dimetilasyonunda da artış gözükmemektedir.
- Th2 Hücreleri: Gelişmekte olan Th2 hücrelerinde IL-4 gen bölgesi heterokromatin bölgelerinden uzakta ve demetile halde bulunmaktadır. Geliştikten sonra IL-4 gen bölgesinde metilasyon artar ve susturulur.
- Th17 Hücreleri: Bilinen çok fazla bilgi olmamasına rağmen, IL17a ve IL17f gen promotorlarının hiperasetile olduğu gösterilmiştir.

Bağışıklık Hücrelerinin Epigenetiği

- B Hücreleri:
 - B hücrelerindeki epigenetik değişikliklerin birçoğu gelişim süresinde gerçekleşmektedir. Örnek olarak gelişim süresinde Pax-5, Pu-1 ve Ig-alpha/mb-1 gen promotorlarında demetilasyon gözükmektedir. Daha sonra bu bölgelerde metilasyon artar ve transkripsiyon durur.
- Makrofajlar:
 - Makrofajlarda epigenetik düzenleme LPS toleransı üzerinden gerçekleşmektedir. Proinflamator düzenleyici gen promotorlarındaki histon asetilasyon kaybı ve H3K4me3 işaretleri, makrofajların LPS toleransı geliştirmesine yol açmaktadır.
- Dendritik Hücreler: Akut sepsis sürecinde dendritik hücrelerin epigenetik değişikliklere uğradığı gösterilmiştir. (IL-12 ekspresyonu)

Systemic Lupus Erythematosus(SLE)

- SLE bağlayıcı dokularda(kıkırdak, deri, sinir sistemi, kan vb) oluşan kronik bir inflamatuvar hastalıktır.
- SLE'nin en önemli karakteristiği, otoantikor üretimidir. (Otoreaktif B hücreleri tarafından üretilen anti-dsDNA antikorları).
- T hücrelerinin demetile edici bir faktör olan 5-azaC ile muamele edildiğinde otoreaktif olduğu gözlemlenmiştir.
- SLE ve RA hastalarında T hücreleri DNA'larının hipometile olduğu gözlenmiştir.

SLE

- Hipometilasyonun SLE'nin sebebi mi yoksa SLE inflamasyonunun bir sonucu mu olduğu hala kesin olarak bilinmemektedir. Fakat çalışmalar inflamasyonun epigenetik değişikliklere yol açtığını göstermektedir.
- Promotor hipometilasyonu sonucunda *perforin*, *CD70*, *CD11a* gibi genlerin ekspresyonunda artış gözükmemektedir.
- *Perforin'in* CD4+ T hücrelerinin rasgele monosit öldürmesinde rol aldığı düşünölmektedir.
- *CD70'in* ekspresyon artışı ise B hücrelerinin hiperstimölasyonuna yol açmaktadır.
- *CD11a* otoreaktif T hücrelerinde üretilen bir integrindir ve ateş çıkmasına yol açtığını düşünölmektedir.

Rheumatoid Arthritis(RA)

- RA kronik bir otoimmün hastalıktır.
- En önemli karakteristiği eklem yıkımıdır.
- RA'de eklemden kıkırdak dokusunu oluşturan synovial doku, bağışıklık hücreleri ve synovial doku çevresindeki hücrelerin dayanıklılığının artması ile gereğinden fazla büyür.
- 1990 yılında epigenetik değişimler ile ilgili olan ilk yayın çıkmıştır ve RA synovial fibroblastlarının(RASFs) aktif hale geldiği gösterilmiştir. Bu da proinflamator sitokinlerin (bağışıklık hücrelerini çağıran proteinler) üretiminde artışın gözlemlenmesi ile gerçekleşmiştir.

RA

- RASF'ların genel DNA metilasyonunda azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Bu da bağışıklık hücrelerini aktive edici genlerin ekspresyonlarında artış gösterebilmektedir.
- Histon modifikasyonları açısından ise, RA synovial dokularında HAT/HDAC dengesinde histon asetilasyonuna doğru büyük bir kayma görülmektedir.
 - RA hastaları synovial doku HDAC1&2 ekspresyonlarında düşüş gözükmemektedir.

Multiple Sclerosis (MS)

- Son alışmalar epigenetik değişikliklerin MS'e de yol açabildiğinden bahsetmektedir.
- MS kronik inflamator nörodejeneratif bir otoimmün hastalıktır. Nöronlarda miyelin doku kaybı yüzünden beyin ve omurilikte birçok yara oluşabilmektedir.
- MS hastalığının karakteristik özellikleri lenfositlerin hastalık başında beyine göç etmesi sonucunda ortaya çıkmaktadır.

MS

- Myelin dokunun MS hastalarında azalmasının bir sebebi de PAD2 geninin ekspresyonundaki artıştır.
- PAD2 enzimi (peptidyl argininedeiminase) myelin basic proteininde(MSP) sitrülinsasyona sebep olur. (arginine → citrulline)
- PAD2 genindeki ekspresyon artışının sebebinin PAD2 promotorundaki bir demetilasyon olduğu düşünülmektedir.

Type 1 Diabetes Mellitus

- Type-1 diyabet T hücreleri kontrolünde pankreastaki insülin salgılayan β hücrelerinin yıkımına yol açan bir otoimmün hastalıktır.
- Type 1 Diyabet hastalarında IL-2 ve T hücresi tepkisinde negatif bir regülatör olan T-lymphocyte associate antigen 4(CTLA4) sentezinde düşüş gözükmemektedir.
- IL-2'deki düşüş ise Treg hücrelerinin fonksiyonunu düşürdüğünden otoimmüniteye yol açmaktadır.

Systemic Sclerosis (SSc)

- SSc'de progresif doku fibrosisi ve geniş bir vasküler düzensizlik gözükmemektedir. (Kolajen birikimi)
- Bu hastalık T, B hücreleri, sitokinler ve kemokinler sayesinde oluşmaktadır.
- 2006 yılında SSc fibroblastları tarafından arttırılmış kolajen sentezi, kolajen supresör geni olan FLI1 ile ilişkilendirilmiştir.
- FLI1 geni hem hipermetilasyon ile hemde promotor bölgesinin deasetilasyonu ile baskılanmaktadır.

ICF Sendromu

- Bu sendrom nadir gözükten bir otoimmün hastalıktır.
- *De novo* DNA metiltransferaz 3B (DNMT3B) enziminin yol açtığı mutasyonlar sebebi ile oluşmaktadır.
- ICF sendromunun ana karakteristikleri arasında; serum imünoglobulinlerinin düşüşü, Kromozom 1,9 ve 16'da kromatin açılması, yer değiştirmesi ve satelit DNA hipometilasyonu gösterilmektedir.

Epigenetik Değiştiricilerin Potansiyel Teşhis ve Terapide Kullanımı

- Ancak semptomlar gerçekleştikleri zaman otoimmün hastalıklar teşhis edilebilmektedirler.
- Her ne kadar fazlasıyla çalışılmakta olsa da otoimmün hastalıkların birçoğu için yeterli verimlilikte tedaviler henüz hayata geçirilememiştir. Bugün anlatılan hastalıkların hiçbiri için henüz bir tedavi bulunamamıştır.
- Tedavi çalışmalarında en çok miRNA'lar, HDAC inhibitörleri kullanılmaktadır.

BEYİN HASTALIKLARININ EPIGENETİĞİ

- Beyin hastalıklarının epigenetiğine bakıldığında;
 - DNA metilasyonu,
 - Histon proteinlerinde post-translasyonel modifikasyonları (PTMs) nın önemli etkenler olduğu görülmektedir.
- Histonlarda asetilasyon ve fosforilasyon Lizin, Serin, Teronin ve Tirozin rezidularında görülmektedir.
- Lizinde histon metilasyonu susturulmuş ve transkribe olan genlerle ilişkilidir. Arjinideki etkisi bilinmemektedir.
- Protein übikitinasyonu proteozomlarca degrade edilecek proteinleri işaretleme ile ilişkilidir. Fakat histon kuyruklarındaki fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir.
- Histon sümolasyonunun ise transkripsiyonu negatif regüle edebileceği bilinmektedir.
- DNA ve histon modifikasyonları DNA metiltransferaz (DNMTs), histon asetil transferazlar (HATs) ve deasetilazlar (HDACs), histon metiltransferazlar (HMTs), protein kinazlar ve fosfatazlar, übikütin ve SUMO- ilişkili enzimlerce başlatılır, sürdürülür ve korunur.

NÖROGELİŞİMSEL BOZUKLUKLARDA EPİGENETİK DÜZENSİZLİKLER- RETT SENDROMU (RS)

- Erken gelişim sürecinde başlayıp erginliğe kadar süren, merkezi sinir sistemindeki fonksiyonel bozukluklar ile karakterizedir.
- Bu bozukluklar gelişim sürecinin başında hamilelikte alkol tüketimi gibi etkenlerle görülebileceği gibi ileri safalarda Down sendromu gibi genetik yatkınlıklar nedeniyle de gözlemlenebilir.
- Bu sendromda anormal DNA metilasyonu ve histon PTM'lar görülür.
- Sinir sistemi gelişimi ve mental geriliğe neden olur. Otizm spektrumlu bozukluk olarak sınıflandırılır.
- Vakaların %80'i X'e bağlı metil-CpG-bağımlı protein 2 (MeCP2) geninde fonksiyon kaybına neden olan bir mutasyondan kaynaklanmaktadır.
- Dünya çapında prevalansı 1:10000 'dir ve kız çocuklarında gözükmektedir.
- MeCP2, metillenmiş DNA'lara bağlanan transkripsiyonel bir regülatördür. Eksikliğinde kromatin yapısı değişir ve gen transkripsiyonunda genel bir bozukluğu indükler.
- Hem transkripsiyonel susturucu hem de aktivatörüdür. Gen transkripsiyonunun artması ve azalması ile ilişkilidir.

- Farelerde MeCP2 nul mutasyonu ya da nörona özgü silme uygulandığında elde edilen veriler insanlarınkı ile uyumludur.
- Bu farelerde beyin ağırlığında azalma, kavramsal eksiklikler, bozulmuş sinaptik plastisite ve anormal nöroanatomikal yapılar (daha küçük nöronlar) gözlemlenmiştir.
- 2 katına çıkmış ekspresyon nedeniyle 20 haftalıklarda nöbet gözlemlenmiştir.
- MeCP2'nin birçok geni hedef aldığı belirlenmiştir. Promotora bağlanması kalsiyum bağımlı fosforilasyon ile regüle olmaktadır.
- Bilinen bir hedefi beyin kaynaklı nörotrofik faktör (Bdnf) genidir.
- Bdnf promotoruna bağlanma geni dereprese eder. MeCP2 eksikliğinde Bdnf ekspresyonunda artış olması beklenirken, farelerde gözlemlenmez.
- MeCP2 eksikliğini dengeleyen başka mekanizmalar olduğu tahmin edilmektedir.

- Fare beyrinde MeCP2 için hedef teşkil eden miyelin ilişkili proteinler ve dopamin dekarboksilazı da içeren 7 başka gen bölgesi daha belirlenmiştir.
- MeCP2 fosforilasyonunun dentritic büyüme ve omurga olgunlaŐması ile ilişkili olduğu bilinmektedir.
- MeCP2 histon PTM'leri, özellikle histon asetilasyon ve metilasyonunuda etkilemektedir.
- Bdnf'nin promotor bölgesinde HDAC1 kompleksi oluşur.H3 ve H4'te asetilasyon azalırken H3K9 dimetilasyonunda (transkripsiyon inhibisyonu) artış gözlemlenir.
- Nitekim ne RS hastalarında ne de farelerde gen ekspresyon artışı gözlemlenememiŐtir.

NÖROGELİŞİMSEL BOZUKLUKLARDA EPİGENETİK DÜZENSİZLİKLER- ALZHEIMER (AD)

- Nörogelişimsel hastalıklarda patolojik şartlar sinir sisteminde kademeli hücre kaybı ile karakterizedir.
- Bu tip kayıplar kavrama/bilişsel ve hareket yeteneğinde yıkıcı sonuçlara neden olabilir. Çünkü nöronlarda rejenerasyon çok azdır.
- Batı ülkelerinde 65 yaş üstü insanlar arasında prevalansı 1:100'dür.
- Patofizyolojisinde ekstraselüler amiloid plaklar ve intraselüler nörofibril düğümler (NFTs) görülür.
- Amiloid plaklar amiloid β peptit ($A\beta$) birikimi ile oluşur. Amiloid prokürsör proteinlerin (APP), β ve γ sekretazlarca bölünmesi ile oluşur.
- Hiperfosfatlanmış tau (mikrotübül bağımlı protein)'nin intranöronal agregasyonu ile NFT'ler oluşur.

- Anormal histon asetilasyonu ve DNA metilasyonunun APP-A β yolağında rol oynadığı ve AD'ye katkı yaptığı düşünülmektedir.
- AD ile ilişkili olarak histon hiper- ve hipo- asetilasyonu kayıtları mevcuttur.
- Hiperasetilasyon mekanizmasında APP'nin γ sekretaz tarafından oluşturulmuş APP intraselüler domain (AICD) ile nükleer adaptör protein Fe85 ve HAT TIP60 (transkripsiyonel aktivatör)'in bir kompleks oluşturduğu ileri sürülmüştür.
- Presenilin 1 (PS1- γ sekretaz kompleksi için gen kodlar)'in de histon hiperasetillenmesine katıldığı düşünülmektedir.
- PS1 mutant farelerde HAT CREB bağlayıcı proteinler (CBP)'nin protozomal degradasyonunda azalma, kültür nöronlarında CREB aracılığıyla ekspresyonunda artma gözlemlenmiştir.
- HDAC SIRT1 (silent mating type information regulation 2 homolog)'in siklin bağımlı kinaz 5(Cdk5)'i fazla eksprese eden mutant farelerde (CK-p25 mice) fazla eksprese olmasının AD ile ilişkili nörodegenerasyon ve hafıza kayıplarını önleyici etkiye sahip olduğunu göstermiştir.
- SIRT1 aktive edici polifenol resveratrol gibi maddelerin tedavi amaçlı kullanımı söz konusu edilebilir.

- Hipoasetilasyon söz konusu olduğunda; kültüre alınmış kortikal nöronlarda APP'nin fazla ekspresyonunun lme neden olduğu, H3 ve H4 asetilasyonunda CBP seviyesinin düşmesiyle beraber bir artış gözlemlenmiştir.
- PS1 ve PS2 mutant farelerde CBP ve CBP/CREB hedef gen ekspresyonu azalmıştır. Bunun sonucunda sinaptik plastisite, mekansal ve kavramsal hafızada bozulmalar gözlemlenmiştir.
- CK-p25 feralerine sodyum bitratın (I/II HDAC inhibitörü) intraserebroventrikular injeksiyonu hafıza ve sinaptik bağlanırlığı kurtarmıştır.
- Bu bulgular sınıf III HDAC SIRT1'in de benzer etki yapabileceği fikriyle çelişmektedir.
- Çevresel kuvvetlendirmenin AD semptomlarını azaltmada etkisi olabileceği 4 hafta uygulama yapılan mutant farelerden alınan sonuç tarafından desteklenmektedir.

- Amiloid plak oluşumuna karşın, metil donoru olan S-adenozilmetiyonin (SAM) uygulanması PS1 promotor bölgesindeki hipometilasyonu kurtarmakta, presenilin ekspresyonunu ve β amiloid oluşumunu azaltmaktadır.
- DNA hipermetilasyonu ile ilgili çalışmalar gerekmektedir.
- Asetilasyon mekanizması gibi çift yönlü olduğu tahmin edilmektedir.

PSİKİYATRİK BOZUKLUKLARDA EPİGENETİK DÜZENSİZLİKLER- DEPRESYON

- Kişilik ve anksiyete bozukluklarından bağımlılık ve depresyona kadar geniş bir yelpazeyi teşkil eder.
- Birtakım depresif eğilimli fenotiplerin epigenetik mekanizmalar nedeniyle ortaya çıktığı tahmin edilmektedir.
- Dünya üzerindeki insanların %5'i kronik depresyondan muzdariptir.
- Pesimistik düşünceler, heves ve canlılık yoksunluğu, umutsuzluk ya da suçluluk duygusu ve hiçbir şeyden zevk alamama ile karakterizedir.
- Kronik elektrokonvülsif nöbet (ECS) uygulamasının, hipokampüste Bdnf mRNA ve proteinini ve CREB ekspresyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir.
- Bu artış BDNF promotor 3'te H3 hiperasetilasyonunu artması ile açıklanmaktadır.

- Antidepresan uygulamalarının DNA metilasyonunu da etkilediği gözlemlenmiştir.
- Kronik uygulamalar MeCP2 ve metil CpG bağlayıcı domain protein 1 (MBD1)'de artışa neden olmaktadır.
- Antidepresan bağımlı MeCP2 artışı gama aminobütirik asit (GABA)-ergic internöronlara özgüdür.
- GABA-ergic anormal iletiminin ve GABA ilişkili gen metilasyonundaki anomalilerin majör depresyon ve intiharlarla ilişkili olduğu gözlemlenmiştir.

PSİKOTİK BOZUKLUKLARDA EPIGENETİK DÜZENSİZLİKLER- ŞİZOFRENİ

- Gerçekliğin algılanmasındaki bozukluklar ile karakterizedir.
- Dünya üzerinde 18 yaş ve üzeri kişiler arasındaki prevalansı %1'dir.
- Hezeyan, halüsinasyon, sosyal geri çekilme, motivasyon yoksunluğu ve genel ilgisizlik/duygusuzluk belirgin semptomlardır.
- Nedenleri olarak genetik yatkınlık, doğum öncesi ve sonrası gelişim sırasındaki çevresel faktörler gösterilmektedir.
- Kortikal bölgelerde anormal epigenetik profil ve anormal GABAergic nörotransmisyon varlığı artarak destek gören kanıtlardır.
- Şizofreni hastalarında reelin (gelişim ve erginlik döneminde, GABAergic nöronlarca eksprese olan bir glikoprotein) mRNA ve protein ekspresyonunda belirgin azalma gözlemlenmiştir.
- Bu azalmanın reelin promotor(büyük bir CpG adası barındırır) metilasyonundaki bir değişim sonucu olduğu tahmin edilmektedir.

- Tekrarlı metiyonin uygulaması ile reelin promotor metilasyonu artmakta, MeCP2'nin bağlanması indüklenmekte ve reelin ekspresyonu down-regüle olmaktadır.
- DNMT inhibitörü (5-aza-2'deoxycytidine) uygulaması ise reelin ekspresyonunu arttırmaktadır.
- Son çalışmalar, şizofreni hastalarında GAD67 (GABA sentezini katalazlayan glutamat dekarboksilaz) mRNA ve protein ekspresyonunun kortikal yapılarda down-regüle olduğunu göstermiştir.
- Bu verilerle beraber, SAM uygulaması bazı şizofreni hastalarında psikotik durumlarda artışa neden olmuştur. DNMT1 mRNA ekspresyon artışı olumlu etki göstermiştir.
- Şizofreni hastalarında GABAergic sistemde hipermetilasyon gözlemlenirken, dopaminergic sistemde hipometilasyon belirlenmiştir.
- Catechol-O-methyltransferase (COMT-monoamin nörotransmitter degradasyonuna katılan enzim) aktivasyonunda artış, dikkat bozulması, idari bilişsellik ve hafızada bozulmaya neden olarak şizofreni riskini arttırdığı anlaşılmıştır.

- Histon PTM'lerin etkisine bakıldığında; etkili bir HDAC inhibitörü olan valporik asit uygulamasında, HDAC aktivitesi azalırken reelin ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiştir.
- Trichostatin A uygulaması da reelin ve GAD67 ekspresyonunu aktive etmektedir.
- Bu inhibitörlerin nasıl bir mekanizma ile etki ettikleri bilinmemektedir.
- Asetilasyondaki azalmanın şizofreni patolojisine katkıda bulunduğu, etkisinin HDAC inhibitörlerince tersine çevrilebileceği gösterilmiştir.

ÇEVRESEL STRES KAYNAKLI EPİGENETİK DÜZENSİZLİKLER- ERKEN YAŞ STRESİ

- Artan strese hassasiyet ve diğer patolojik ve uygunsuz stresle baş etme davranışları da beyin bozuklukları kapsamına girmektedir.
- Doğum öncesi ve sonrası çevresel faktörlerin etkisinin, kalıcı epigenetik modifikasyonları uyararak, kalıcı gen ekspresyon değişimlerine neden olduğu düşünülmektedir.
- Yavru bakımının etkisiyle şekillenen, strese karşı verilen cevapların, glukokortikoidler ve reseptörlerince (GR) regüle edildiği belirlenmiştir.
- Vücutta yüksek seviye glukokortikoid sirkülasyonu strese verilen cevabın şiddetini arttırmaktadır.
- Önbeyinde yüksel miktarda GR, negatif feedbacke neden olarak glukokortikoid seviyesini azaltmakta ve kademeli olarak azalan stres cevabına neden olmaktadır.

- Yüksek yavru bakımı uygulanmış yavrularda, GR geni promotor bölgesinde DNA metilasyonunda azalma ve H3K9 asetilasyonunda artış gözlemlenmiştir.
- Düşük yavru bakımında ise, asetilasyon oranı değişmemekle beraber, metilasyonda artış gözlemlenmiştir.
- GR promotoru, transkripsiyon faktörü NGFI-A (Egr-1 ya da Zif268) bağlanmasıyla kontrol edilmektedir.
- Son çalışmalar, NGFI-A' nın GR promotor bölgesine bağlanmasının epigenetik değişimlerin eldesi için gerekli olduğunu belirtmektedir.
- Bu epigenetik değişimlerin çevresel ve farmakolojik (HDAC inhibitörleri, metil ekleme, vb.) manpülasyonlarla geri çevrilebilir olduğu belirlenmiştir.
- İntihar etmiş, çocukken istismara uğramış bireylerin beyinlerinde; hipokampal GR ekspresyonunda azalma, GR promotor bölgelerinde DNA metilasyonunda artma gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak;

- HDAC inhibitörleri; beyin fonksiyonları ile ilişkili bozuklukların tedavisi için oldukça önemlidir.
- Çoğunluğu non-spesifik olan HDAC inhibitörlerinin etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir.
- Mekanizmaların anlaşılması ve spesifik inhibitörlerin tanımlanması üzerine çalışmalar tedaviler açısından umut vaatmektedir.
- Beyin bozuklukları ile ilişkili olan DNA metilasyonu ve histon PTM ve ilişkisi olduğu tahmin edilen RNAi üzerine eğilen yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.