

EPIGENETİK

Hafta 12: Epigenetik ve İnsan Hastalıkları II

Metabolik sendrom ve epigenetik, insanda imprinting hastalıkları

Dr Öğr Üyesi Arzu ATALAY

Kompleks metabolik sendrom ve Epigenetik

- Metabolik hastalıklar; protein metabolizması, protein biyosentezi için aminoasit dönüşümü, yağ asit oksidasyonu ve lipid depolamada protein, lipid ve/veya karbonhidrat gibi temel besin öğelerinin düzgün bir şekilde alımı ve kullanımına olanak sağlayan hücresel biyolojik süreçlerin bozulması ile karakterizedir.
- Etiyolojilerinde çevresel ve genetik etmenler yer alır.
- Diyetle lipid ve protein emilim ve depolanmasında bozukluklar gibi anormal metabolik süreçlerde ortaya çıkan çeşitli "doğuştan hata" tek gen mutasyonları bulunmuştur.

METABOLİK HASTALIKLAR

Dünya'da bir çok gelişmiş ülkede giderek yaygınlaşan ve endişe verici bir biçimde artan MetS, Tip 1 ve Tip 2 DM

Alta yatan sebeplerin kalıtsal olmasından ziyade daha çok çevresel olduğu düşünülmektedir.

Tip 1 DM, Tip 2 DM ve Metabolik Sendroma Yatkınlıkta Etiyolojik Faktörler

- "Metabolik Sendrom" (MetS) genellikle obezite, inflamasyon, anormal glikoz metabolizması, insülin direnci, hipertansiyon ve dislipidemiye içeren fakat bunlarla sınırlı olmayan metabolik işlev bozukluklarını tanımlamak için kullanılan bir terimdir.
- MetS bireyler → T2DM ve buna bağlı kardiyovasküler komplikasyon gelişim riski
- Aşırı beslenme ve yetersiz aktivite gibi çeşitli çevresel bileşenler MetS etiyojisine katkıda bulunur, ancak bu sendroma kalıtsal bir genetik yatkınlık veya eğilim vardır.

Tip 1 DM, Tip 2 DM ve Metabolik Sendroma Yatkınlıkta Etiyolojik Faktörler

- Hiperglisemi ve insülin direnci → Tip 2 DM (Yetişkin başlangıçlı ve insülin bağımlı olmayan)
- T2DM riski → enerji metabolizmasında yer alan genlerde veya yakınında bulunan ve diğer hastalıklar için de risk oluşturan tek nükleotid polimorfizmleri (SNP)
- Bugüne kadar 13 SNP'den etkilenen gen T2DM ile ilişkilendirilmiştir. Ancak hastalığa yatkınlığın belirlenmesinde biyolojik belirteç olarak tek başına kullanılması yeterli görülmemektedir.
- MetS'de olduğu gibi, obezite ve hipertansiyona neden olan fiziksel aktivite eksikliği ve dengesiz beslenme T2DM riskine ve komplikasyonlarının şiddetine katkıda bulunan önemli çevresel faktörlerdir.

Tip 1 DM, Tip 2 DM ve Metabolik Sendroma Yatkınlıkta Etiyolojik Faktörler

- Tip 1 DM (Jüvenil tip veya insüline bağımlı DM) → T2DM ve MetS'de olduğu gibi benzer fenotipik özellikler ve patolojik sonuçlar gösterir, ancak gelişiminin altında yatan güçlü bir immun sistem bozukluğu bulunmaktadır. T1DM'li hastalar, Hashimoto tiroiditi, Sjögren sendromu ve gastrointestinal sistem inflamatuvar hastalıkları gibi diğer otoimmün sendromların gelişme riski altındadır.
- T1DM için risk, diğer iki metabolik sendromdan genetik açıdan farklıdır. (Hastalıkların her biri için farklı genetik faktörler)

Tip 1 DM, Tip 2 DM ve Metabolik Sendroma Yatkınlıkta Etiyolojik Faktörler

Tip 1 DM genetik yatkınlık, 6. kromozomun kısa kolundaki MHC (Major Histocompatibility Complex) içinde yer alan HLA (Human Leukocyte Antigen) genleriyle yakından ilişkilidir. HLA'lar, kendilerini kodlayan genler içinde, polimorfizm sayesinde ileri derecede değişkenlik gösteren hücre yüzey glikoproteinleridir*.

Metabolik Hastalıklara Genetik Yatkınlığın Altında Yatan Epigenetik Mekanizma

MetS, ilişkili anjiyogenezis, insülin direnci ve vasküler hastalık, hipertansiyon ve ateroskleroz duyarlılığı ile birlikte belirgin T1DM ve T2DM, etiyolojisi ve patolojisinde epigenetik regülasyonun her üç yolu ile oluşan değişiklikleri içerir:

- 1. Kalıtsal imprinting**
- 2. Utero indüksiyon**
- 3. Çevresel olarak aktivasyon**

Metabolik Hastalıklarda Kalıtsal Epigenetik Regülasyon Bozukluğu

- LEP (açlık ve tokluk), GLUT4 (enerji metabolizmasında enzimatik aktivite), PPARalfa ve gama (enerji metabolizması sinyalleri) ve PGC-1alpha (mitokondriyal fonksiyonun düzenlenmesi) de dahil olmak üzere diyabetli ailelerden doğan bebeklerde T2DM duyarlılığına katkıda bulunduğu bilinen bazı genlerde metilasyon paternlerinin kalıtsal imprintingi bulunmuştur.
- Gelişim döneminde metilasyon modellerinin imprintingi ve gen susturulmasının kontrolü; gen ekspresyonunu ve hücre fonksiyonunu etkileyebilir.
- Gebelikte, bu kalıtsal metilasyon kalıpları tarafından oluşturulan gen susturma modellerinin, yaşamın ilerleyen dönemlerinde diyabet ve kardiyovasküler hastalık riskini artırdığı düşünülmektedir.

- Gestasyonel diyabetle yapılan çalışmalarda, gebelik sırasında hafif hiperglisemi olan annelerin bile DNA metilasyon modifikasyon seviyeleri ve kalıplarında değişiklikleri aktardığı gösterilmiştir.
- Son yıllardaki kanıtlar, bu özelliklerin daha çok maternal olabileceğini göstermektedir; bu durum gelişim üzerine maternal imprinting ve *in utero* çevresel etkilerin bu özelliklerin aktarılmasında rol oynadığını düşündürmektedir.

- DNA metilasyonunun imprintingi ve olası histon modifikasyonu (asetilasyon, fosforilasyon, sumoilasyon ve ubiquitinasyon) profillerinin transpozonların düzenlenmesinde ve diyabette mikro RNA aracılı gen ifadesinde etkili faktörler olabileceği düşünülmektedir.
- MikroRNA regülasyon bozukluğu, son zamanlarda otoimmün hastalık gelişiminde, özellikle duyarlılık için çevresel tetikleyicilere yanıt vermede rol oynamaktadır.

EPIGENETİK MODİFİKASYONLARA *IN UTERO* ÇEVRENİN ETKİSİ

- Gen ekspresyonu yanlış programlaması, yaşamın ilerleyen dönemlerinde anormal etkileri başlatmak için muhtemel bazı ekstra genetik "tetikleyici" gerektirmektedir.
- Bu epigenetik değişiklikleri tetikleyen gelişimsel çevre mi yoksa utero çevresel faktörlerden dolayı imprinted modellerin devam etmesi mi?
- Bu soruyu cevaplamak için iki teori ortaya çıkmıştır; "thrifty fenotip hipotezi" ve "fetal orijinler hipotezi"

- «Thrifty fenotip hipotezi», gestasyonel veya erken postnatal yaşamda maternal malnütrisyon, diyabet ve maternal hipertansiyon gibi çevresel faktörlerin bebeğin kalıtsal olarak daha sonraki dönemlerde hastalık gelişimine yönelik riski olumsuz etkilediğini ortaya koymaktadır.
- Olası mekanizma → gelişim döneminde maternal hiperglisemi gibi faktörlere maruz kaldıktan sonra duyarlılık genlerinin yeniden programlanmasını düzenleyen maternal olarak kalıtsal epigenetik modifikasyon kalıpları

- "Fetal orijinler hipotezi", kardiyovasküler hastalık ve T2DM için risk özelliklerinin geçmesinin bebeğin gelişen genomu içindeki "esneklik" ten kaynaklandığını düşündürmektedir.
- Bu esneklik in utero ortam değişikliklerine yanıt vermek için gereklidir ve postnatal yaşama ve büyüme koşullarına ilerleyen dönemde verilecek cevabı modüle edecek değişiklikler yapılmasına izin verir.
- Örneğin → düşük doğum ağırlıklı bebeklerin beynin yavaş gelişmesine ve DNA metilasyon kalıplarındaki değişikliklere eğilimi.
- Gebelikte yetersiz beslenmenin yol açtığı gelişimde yavaşlama böbreklerde daha az nefron gelişimine ve adrenal bezde anjiyotensin AT1b reseptör gen promoterının az metillenmesine yol açar.

- Bu tür değişiklikler renal stresin artmasını, böbrek fonksiyon bozukluğunu ve vasküler basıncı tetikler.
- Böbrek yetmezliğine ve böbrek yetmezliğinin artması nedeniyle sistemik kan basıncının yükselmesine de katkıda bulunur.
- Sonuç olarak, bu vasküler stres, yaşıamın ilerleyen dönemlerinde koroner kalp hastalığı, T2DM, inme ve hipertansiyon riskini artırabilir.

- Hayvan modellerinde yapılan çalışmalar utero'da önemli gelişim ve fonksiyon kontrol geni **Pdx-1'in** uygun epigenetik düzenlenmesinin



«Uygun beta hücre gelişimini, beta hücre disfonksiyonu ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde diyabete yatkınlığın kontrolü»

- Normalde, öz (self) antijenlere karşı kuvvetli bir immün cevap oluşmamaktadır, bu fenomen “self-tolerans” olarak adlandırılır. İmmün sistem öz antijenleri tanıdığı ve kuvvetli bir immün cevap oluşturduğu durumlarda otoimmün hastalıklar gelişmektedir.
- İmmün sistem sürekli olarak self, non-self ayırımı yapmakta ve doğru cevabı düzenlemektedir.*
- Tolerasyon gelişimi sırasındaki sitokin ekspresyonundaki değişiklikler, immün yanıt gen ekspresyonunun epigenetik düzenlenmesini etkileyebilir ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde T1DM de dahil otoimmün hastalıklara yatkınlığa zemin hazırlar.

- İnterlökin -3 (IL-3), granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF) gibi sitokinler, hematopoietik farklılaşma sırasında kemik iliğindeki büyüme faktörü ortamını oluştururlar.
- Bu immün hormonların zamansal ve sıralı ekspresyonu ve alımı, myeloid lineage/dizi içerisindeki **self-tolerojenik APC** gelişiminde yaşamsal öneme sahiptir.

- İnflamasyon ve self-tolerans kontrolü ile ilişkili düzenleyici T hücre dizileri, IL-2, IL-4, tümör büyüme faktörü beta (TGFbeta) ve IL-17 gibi sitokinlerin etkileşimine bağlıdır.
- Bu sitokinler, gelişimlerinde anahtar transkripsiyon faktörü **FOXP3**, gen ifadesinin epigenetik kontrolünü arttırmak için epigenetik adaptör proteinleri ve CREB, AP1, ATF, N-FAT, SMAD3 ve STAT5 gibi transkripsiyonel faktörler aracılığıyla işlev görürler.

- Lineage farklılaşması genlerinde yer alan genlerin mikro RNA regülasyonu FOXP3'ün düzenlenmesi için çok önemlidir.
- FOXP3'ün regülasyonunun bozulması → düzenleyici T hücrelerinin kaybına ve Th17 proinflamatuvar efektör T hücrelerinin ortaya çıkmasına neden olur.
- Düzenleyici T hücresi kaybı ve Th17 hücre kazancı, NOD farelerindeki otoimmün diyabet gelişimiyle bağlantılıdır.
- Bu nedenle hem APC hem de T-hücre fonksiyonlarının epigenetik disregülasyonu, T1DM gibi otoimmün hastalıkların etiyolojisinde güçlü bir aday mekanizma olmaktadır.

Metabolik Hastalıklarda Uyarılabilir Epigenetik Regülasyon Bozukluğu

- Açlık ve tokluk için hormonal sinyallerin yanı sıra aktivitenin ve dinlenmenin sirkadiyen ritim zamanlaması, çevresel işaretlere veya uyarılara verilen gen ekspresyon yanıtları ile yönetilir.
- Sirkadiyen zamanlamanın düzenlenmesinde merkezi bir düzenleyici gen olan CLOCK, bir histon asetiltransferazdır.

- CLOCK proteini, BMAL1 ile dimer oluşturur ve enerji metabolizması, hormonal yanıt, termal kontrolün yanı sıra PPARgama, PPAR alfa, PGC1alfa, Leptin ve lipid/karbonhidrat enerji kullanımında ilgili diğer faktörleri içeren uyku indüksiyonu / uyanıklıkta yer alan genlerin transkripsiyonunu düzenler.
- PPAR molekülleri, PGC1alpha ve lipid metabolizmasının merkezindeki diğer genlerin düzenlenmesinde CLOCK disfonksiyonu, MetS ve T2D kardiyovasküler hastalığın gelişiminde rol oynamaktadır.

ENERJİ METABOLİZMASININ EPİGENETİK REGÜLASYON BOZUKLUĞU

- Psikolojik, fizyolojik ve farmakolojik stres faktörlerinin, hem gelişim sırasında uyarılan değişikliklerle hem de daha sonra çevresel uyarımlarla enerji metabolizmasını etkilediği kanıtlanmıştır.
- Epigenetik modifikasyon değişiklikleri, gebelik ve emzirme dönemindeki maternal obezite, artan enerji alımı, yüksek yağlı diyetler ve azalmış enerji harcamaları gibi çevresel faktörler tarafından perinatal dönemde indüklenebilir.
- Doğumun psikolojik ve fizyolojik stresleri → başlangıç epigenetik modifikasyon modellerinde MetS ve T2DM için daha yüksek risk oluşturan gen ekspresyonları modelleri ile ilişkilidir.

Çalışmalar, farelerde leptin, agouti veya melanokortin reseptör geni mutasyonları tarafından genetik olarak öngörülen obezite ve T2DM'nin uyarılmasının enerji alımında azalma, diyetteki yağ asidi içeriğindeki değişiklik veya enerji alımında kısıtlama olmaksızın egzersiz ile tersine çevrilebileceğini göstermektedir.

- Besin ögesi algılama ve metabolizma ile ilgili genlerin epigenetik kontrolü tarafından modüle edilen gen yanıtı/duyarlılığı, çoklu organ sistemi etkilerine sahiptir.
- Adipoz doku, karaciğer, beyin ve kardiyovasküler dokular, glikoz ve lipid besin ögesi algılama ve metabolizmasındaki düzensizlikler tarafından olumsuz şekilde etkilenir.
- Yağ ve glikoz metabolizması ve depolamadaki adiposit disfonksiyonu MetS ve T2DM'de insülin direncinin ve MetS, T1DM ve T2DM'de kardiyovasküler komplikasyonların gelişimine katkıda bulunur.

- İmmun ve enerji metabolizmasının işlevsel ve biyokimyasal etkileşimlerinin bozulması, T1DM, T2DM ve ateroskleroz gibi kronik metabolik hastalıklarda sık görülen patolojik olayların altındaki ilişkili mekanizma olarak ortaya çıkmaktadır.
- Adipositler, makrofajlar ve makrofaj kökenli köpük hücreler sadece lipid ve karbonhidrat metabolik enzimleri ve kofaktörleri (*PPAR γ* , *piruvat karboksilaz* ve *karnitin asetiltransferaz* gibi) değil aynı zamanda inflamasyonun indüksiyonu ve sürdürülmesinde rol oynayan genleri de içeren bir gen ekspresyon işaretini paylaşırlar (*IL-1 β* , *IL-6*, *tümör nekroz faktörü alfa (TNF α)*, *GM-CSF*, *komplement faktörleri*, *COX2*, *iNOS*, *MCP-1* ve *TGF beta* dahil olmak üzere) (Şekil 35.2).

İNFLAMASYONUN EPİGENETİK REGÜLASYON BOZUKLUĞU

- İnflamasyonun düzenlenmesindeki bozukluk, ateroskleroz, T1DM ve T2DM de dahil olmak üzere pek çok metabolik sendromun kilit bileşenidir.
- Makrofaj farklılaşması ve fonksiyonu inflamasyonun düzenlenmesinin ayrılmaz bir parçasıdır ve bunlarda meydana gelen bir bozukluk metabolik bozukluklarla ilişkili patolojiye katkıda bulunur.
- NFkappaB, STAT proteinleri ve JNK/AP1 molekülleri yoluyla normal hormonal ve sitokin sinyalizasyonunun bozulması, immun sistemin inflamasyonu kontrol etme yeteneğini etkiler ve obezite, dislipidemi ve enfeksiyon gibi kronik metabolik streslerin neden olduğu patolojiyi artırır.

- GM-CSF / M-CSF sinyal bozuklukları; yetersiz tolerojenik miyeloid APC (antijen sunucu hücre) gelişimini, makrofaj köpük hücresi birikimini, lipid metabolizmasına ve çevresel stres faktörlerine anormal yanıt oluşturan kronik inflamasyonu tetikler.
- Bu düzensiz immün hücre fonksiyonları, MetS, T1DM ve T2DM'de retinopati ve vasküler komplikasyonlara katkıda bulunan artmış vasküler plak oluşumu, anormal anjiyogenez ve inflamatuvar doku hasarına yol açar.

Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF)
Makrofaj koloni uyarıcı faktör (M-CSF)

PTGS2'nin disregölasyonu hem T2DM hem de T1DM epigenetik bölgeler için genom çapı taramalarının patogeneğinde rol oynar.

CSF2 ve IL10, T1DM ile ilişkili güçlü aday genler olarak bulunurken, TNF ve IL6 genleri, T2DM ile ilişkili potansiyel inflamasyon yanıt genleri olarak tanımlanmıştır.

Epigenetik Düzenlemeyi İçeren Terapötik Müdahaleler

- Substrat manipülasyonu, çevresel değişiklik ya da farmasötik müdahale yoluyla epigenetik modifikasyonun modülasyonu, hastalığı teşvik eden gen ekspresyonunun azalmasına neden olabilir.
- İmmun yanıt, nörolojik işaretleme ve bu metabolik bozukluklarda besin alımını içeren karmaşık yollar göz önüne alındığında, epigenetik düzenleyici mekanizmaları seçici olarak downregüle etmek zor olacaktır.
- Substrat kontrolü yoluyla tedavi (örn lipid alımı, insülin duyarlılığı/glikoz toleransı, aktivite/enerji alım dengesi) en umut vericidir fakat aynı zamanda doğru bir şekilde uygulanması ve ölçülmesi en zor olanıdır.

Epigenetik Düzenlemeyi İçeren Terapötik Müdahaleler

- Son çalışmalar, hematopoyetik tümörler ve meme / prostat kanseri gibi kanserlerde "epigenetik terapi" olarak başarı elde etmiş olan potansiyel DNA metil transferaz inhibitörleri ve histon deasetilaz (HDAC) inhibitörlerinin potansiyel terapötik kullanımı üzerine odaklanmıştır.
- Ancak bu kemoterapötik ajanların, immün sistemi baskılama ve rejeneratif proseslerin düzensizleştirilmesi gibi ciddi yan etkileri vardır.
- HDAC inhibitörleri → pankreas gelişimini ve kemik iliği immün hücre farklılaşmasını,
- MTDT inhibitörleri (5-azasitidin ve hidralazin vb) hücre bölünmesini ve DNA onarım/replikasyon mekanizmalarını etkiler.

İNSAND İMPRİNTİNG HASTALIKLARI

- İnsanda 100'den fazla genin epigenetik mekanizmalarla damgalandığı bilinmektedir.
- Damgalama işaretleri germlineda silinir ve yeni jenerasyonlara aktarılırken paternal veya maternal olarak aktarılır.

GENOMİK DAMGALAMA HASTALIKLARINDA MUTASYONLARIN VE EPİMUTASYONLARIN ÇEŞİTLERİ

1. UNIPARENTAL DISOMY (UPD)

Bir ebeveyynden gelen iki kromozomun veya kromozom segmentinin anormal olarak kalıtılmasıdır.

UPD'nin Fenotipteki Etkileri

1. UPD imprinted genlerde olursa, bu genlerin dengesiz ifadesine neden olur.
2. Bir ebeveyn otozomal resesif mutasyonu allel taşıyorsa ve uniparental isodisomy (UPiD) (aynı ebeveynden kromozom duplikasyonu) çocuğu varsa, bu çocuk da aynı alleli homozigot olarak taşır.
3. Eğer UPD trizomik zigottan gelmişse, bazı trizomik zigotlar yaşayabilir. Bu mozaik yapının çıktıları UPD veya trizomik hücre hattından kaynaklı olabilir. Bunu da ayırt etmek genelde imkansızdır.

GENOMİK DAMGALAMA HASTALIKLARINDA MUTASYONLARIN VE EPİMUTASYONLARIN ÇEŞİTLERİ

1. Uniparental disomy (UPD)
2. Kromozomal delesyonlar ve duplikasyonlar
3. Genomik nokta mutasyonları
4. Damgalama bozuklukları

TRANSIENT NEONATAL DIABETS MELLITUS/TNDM KROMOZOM 6

- TNDM hipoglisemi, IUGR (rahim içi gelişme geriliği), abdominal duvar bozuklukları gibi etkileri olan nadir bir hastalıktır.
- 6q24'ün imprinted lokusundaki PLAGL1/ZAC geninin aşırı ifadesi ile ilişkilidir.
- UPD(6)pat, 6q24'ün paternal duplikasyonu, anormal metilasyon gibi epigenetik nedenleri vardır.

SILVER-RUSSEL SENDROMU/SRS

KROMOZOM 7-11

- SRS, pre ve postnatal büyüme bozuklukları ile karakterize edilen doğuştan gelen bir hastalıktır.
- UPD(7)mat, 11q15 imprinted bölgesinde ICR1 hipometilasyonu, maternal duplikasyonlar, UPD(11)mat gibi epigenetik etkenleri olan heterojen bir hastalıktır.

BECKWITH-WIEDEMANN SENDROMU/ BWS KROMOZOM 11

- Exomphalos, macroglossia, gigantizm, hipoglisemi, hemihypertrophy gibi belirtileri vardır.
- ICR2 hipometilasyonu, UPD(11)pat, ICR1 hipermetilasyonu gibi epigenetik nedenlerle hastalık ortaya çıkar.

MATERNAL VE PATERNAL UPD(14) SENDROMLARI/ UPD(14)mat/pat – KROMOZOM 14

- UPD(14)mat; pre ve postnatal büyüme gerilikleri, güçsüz kaslar, besleme sıkıntıları, küçük el ve ayak
- UPD(14)pat; gelişim bozuklukları, polyhydroamnios, abdominal duvar bozuklukları gibi belirtileri vardır. Anne karnında veya doğumdan sonra ilk ay hayatlarını kaybederler.
- İkisinde de; DLK1/GLT2 lokusu etkilenir.
- DLK1(delta, *Drosophila* homolog like-1): transmembran sinyal proteini, (paternal)
- GLT2(gene trap locus 2): transkripsiyon regülasyon miRNA'sı. (maternal)

ANGELMAN VE PRADER-WILLI SENDROMLARI – KROMOZOM 15

- PWS: Paternal 15. kromozomda delesyon,
- AS: Maternal 15. kromozomda delesyon,
UBE3A1 mutasyonu, imprinting bozuklukları,
UPD(15)pat

KROMOZOM 20 VE *GNAS* LOKUSU

- *GNAS*: birçok transkript kodlayan kompleks bir damgalanmış lokustur. Bazı lokuslar biallelik olarak, bazıları paternal ya da maternal olarak ifade edilirler.
- *GNAS1*'deki mutasyon;
- Pseudohypoparathyroidism 1a(PHP1A), pseudopseudoparathyroidism (PPHP) ve progressive osseous hypoplasia hastalıkları ile ilişkilidir.

GENOMİK DAMGALAMA HASTALIKLARINDA GENETİK TESTLER

- Metilasyon spesifik PCR
- Bisülfid sekanslama
- Methylation-specific Multiplex Ligation Probe-dependent Amplification (MS-MLPA)
- Metilasyon spesifik microarray