



Epigenetik Mekanizmalar ve Bazı Güncel Çalışmalar

Epigenetic Mechanisms and Some Recent Studies

Muhammed İsmail Can¹, Abdullah Aslan²

¹Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji Bölümü, Aksaray, Türkiye

²Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

Öz

Uzun yıllardan beri tıp ve biyoloji bilimlerinde, özellikle de genetik alanında, birçok kalıtsal hastalık, yeni keşfedilen kanser türleri ve fonksiyonları tam anlaşılamamış bazı biyolojik sistemlerde birçok çalışma yapılmakta ve yeni teoriler üretilmektedir. Ancak özellikle son yıllarda, bilinen genetik çözümlerinin yetersiz kaldığı, genetiğin daha ötesindeki mekanizmalarla açıklanabilen birçok olgu mevcuttur ve bunlar epigenetik düzenleme adı altında incelenmektedir. Bu derleme makalesinde, epigenetik alanında yaşanan gelişmeler ve son yıllarda yapılan bazı çalışmalardan bahsedilecektir.

Anahtar Kelimeler: DNA metilasyonu, Epigenetik, Gen, Gen ifadesi, Gen susturma

Abstract

For many years, it has been made and many researches and it has been generated new theories in medicine, biology and particularly genetics sciences for many genetic disorders, newly discovered cancer kinds and in some biological systems that their functions are not completely understood. But in recent years, there are many fact that falling short of common genetic analyses and it can explained with further genetics mechanisms and these are examined under the name of epigenetics. In this review article, it will be mentioned from the emerging developments in epigenetics field and some actual studies in recent years.

Keywords: DNA methylation, Epigenetic, Gene, Gene expression, Gene silencing

1. Giriş

Geçtiğimiz yüzyılda biyoloji biliminde yaşanan ilerlemeler ve özellikle son yirmi yılda genetik biliminde gelinen nokta dikkate alındığında, bir zamanlar hayal gibi görülen birçok gelişmenin günümüzde kolaylıkla uygulanabildiğini görmekteyiz. Halen daha mekanizması çözülemeyen birçok olgu bulunmasına rağmen, gen klonlama, kök hücre teknolojisi, kalıtsal hastalıklar ve kanser türleriyle mücadelede yaşanan umut verici gelişmeler ve yaşlanmanın moleküler mekanizmalarında ulaşılan birçok yeni teori genetik alanındaki aktüel gelişmelerden sadece birkaçıdır. Bunun gibi birçok olayda klasik genetik teorilerle çözümler yapılabilmektedir; ancak son yıllarda önemi giderek artan ve birçok moleküler biyoloğun ilgisini çeken alanlardan biri de bildiğimiz genetik çözümlerinin de ötesine geçebilen epigenetik düzenlemedir.

'Epigenetik' terimi DNA sekansında değişimlerle sonuçlanmayan kalıtsal fenotipik değişimlerin çalışmasını ima eder. Bu terim, genomik damgalama, paramutasyon gibi bir dizi fenomeni kapsar. Örneğin, ilk olarak bitkilerde tanımlanan paramutasyon, bir genin bir allelinde (örneğin, tohum rengini belirten bir gen alleli) meydana gelen genetik değişikliğin normal alleli kalıtsal olarak etkilemesidir. Burada önemli olan ise, paramutant allel ve ilişkili fenotipin, kuşaklararası epigenetik kalıtım olarak adlandırılan sonraki jenerasyonlara geçebilmesidir (Zhang 2007, Alyea vd. 2012). Genlerin ne kadar süre, ne zaman ve nerede çalışacağını belirleyen, DNA'nın diziliminde ve yapısında bir değişim olmadan DNA'da kodlu olan genetik bilginin ortaya çıkmasında oluşan bu mekanizmaya epigenetik denilmektedir (Karaçay 2009).

Yepyeni bir çalışma alanı meydana getiren epigenetik, son yıllarda gizemi çözülmeye başlayan yeni mekanizmalarıyla birlikte birçok bilim adamının ilgi odağı olmayı sürdürmektedir. Epigenetik düzenlemenin mekanizmalarının

*Sorumlu yazarın e-posta adresi: aaaslan@firat.edu.tr

çözümlemeleri ışığında, kök hücre teknolojisi, kanser ve bazı kalıtsal hastalıklar gibi konularda yeni ve modern yaklaşımlar getirmek mümkün olabilmektedir. Örneğin, son yıllarda yapılan çalışmalar kanserin sadece klasik genetikle değil, aynı zamanda DNA metilasyonu, histon modifikasyonları, nükleozom konumlandırma, kodlama yapmayan RNA'lar ve mikroRNA ekspresyonundaki değişiklikleri kapsayan epigenetik mekanizmalarla birlikte değerlendirilmesi gerektiğini ortaya çıkarmaktadır.

2. Bilim Dalı Olarak Epigenetiğin Tarihi

'Epigenetik' terimi ilk olarak 1940'ların başlarında gelişimsel biyolog Conrad Waddington tarafından kullanılmıştır. Waddington'a göre epigenetik, gelişim esnasında genotipin fenotipi nasıl oluşturduğunu inceleyen bilim dalıdır (Waddington 1940; Dolinoy, 2007). 1970'lere gelindiğinde, Conrad'ın hipotezini açıklamak için moleküler mekanizma olarak, ilk olarak Holliday ve Pugh, sitozin-guanin dinükleotitlerinin (CpG) metilasyonunu içeren kovalent kimyasal DNA modifikasyonlarını önerdiler (Holliday ve Pugh 1975, Dolinoy vd. 2007). Birkaç yıl sonra, memelilerde X inaktivasyonu ve genomik damgalamanın keşfi, epigenetik gen regülasyonu mekanizmalarının kalıtsal doğasını vurgulayan epigenetik oluşumlarla düzenlendi. Bu yüzden 1990'larda epigenetik, DNA metilasyon modifikasyonu ve kromatin yeniden düzenlemesini kapsayan, DNA sekansında bir değişiklik olmaksızın meydana gelen gen ekspresyonundaki kalıtsal değişiklikler çalışması olarak tanımlandı (Dolinoy vd. 2007).

Genom bilimi (genomik) devrimi lokal gen analizinden ziyade global incelemeyi teşvik etti ve "daha yüksek düzeyde kromatin katlama düzeni ve çekirdeksel matrikse bağlanma, nükleozomlar etrafındaki DNA paketlenmesi, histon kuyruklarının kovalent modifikasyonları (asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, ubikütinasyon) ve DNA metilasyonunu

içeren kromatin etkileri"nin çalışması olarak 'epigenomik' terimi türetildi (Dolinoy vd. 2007, Karaçay 2009). İlginç biçimde, epigenetik gen regülasyonu üzerindeki çevresel faktörlerin tesiri ikinci, üçüncü ve dördüncü nesillerde devam eden yetersizlik ve noksanlığa maruz kalma durumuna rağmen, ara kuşaklar için de süreklilik gösterebilir (Dolinoy vd. 2007, Morgan vd. 2009).

3. Epigenetikte Etkili Olan Önemli Süreçler

DNA ve nükleozomlara toplanan histonlar kromatinin temel yapı taşlarıdır. Özellikle, DNA'nın 147 baz çifti içeren nükleozomu, dört çekirdek histon proteinli bir oktamerin etrafında paketlenmiştir: H2A, H2B, H3 ve H4. Geçmiş 15 yılda yapılan çalışmalar, DNA, histonlar, sorumlu enzimler, özel modifikasyonlar ve gen ekspresyonu konularında kapsamlı bir anlayışa sebep olmuştur (Nestler 2014). Ökaryotlarda DNA'nın kovalent modifikasyonu, sitozin bazlarının metilasyonu ve gen susturmayla ilişkili bu modifikasyonlarla sınırlanmaktadır. DNA'nın aksine, histon proteinleri metilasyon, asetilasyon, ubikütinasyon ve fosforilasyonu içeren modifikasyonların geçirmektedir. Bu modifikasyonlar, modifikasyonun doğasına ve özel amino asit modifiyesine bağlı olarak hem gen susturma hem de aktivasyonla ilişkilidir (Zhang 2007).

4. Epigenetik Düzenlemenin Mekanizmalarına Genel Bakış

DNA, ilk etapta histon proteinlerinin etrafına sarılmaktadır. Bu protein-DNA kompleksleri yan yana gelip bir yapı meydana getirirler. Bu yapı ise kendi çevresinde burgulu bir biçimde sarılıp kromozomları oluşturur (Karaçay 2009). Kromatinin temel birimi, bir histon oktameri çekirdeği etrafında paketlenmiş yaklaşık 147 DNA baz çifti içeren nükleozomdur. Her oktamer, H2A, H2B, H3 ve H4 histonlarının her birinden iki kopya içerir (Dolinoy vd. 2007, Nestler 2014).

Çizelge 1. Epigenetiğin tarihi (Skinner vd. 2009).

1940'lar	Conrad Waddington'un, gelişimsel fenotipleri indükleyen çevre-gen etkileşimleri olarak epigenetiği tanımlaması
1975	Holliday ve Pugh'ın DNA metilasyonunu belirlemesi
1988	X kromozomu inaktivasyonu ve DNA metilasyonu
1990'lar	Damgalanmış genler, allelik ekspresyonlar ve DNA metilasyonu
1995	Histon modifikasyonları ve kromatin yapısı
2000'ler	Küçük kodlamayan RNA'lar
2005	Epigenom haritalaması

Kromatin, gen transkripsiyonuna olanak tanımayan, inaktive olan, yoğunlaşmış bir bölge (heterokromatin) ve özel genlerin transkribe olmasına olanak tanıyan, aktif, açık bir bölge (ökromatin)'den oluşur. Aslında kromatin bu iki uç arasında birçok bölgeye sahiptir. Özel genlerin etrafında kromatin bölgesinin düzenlemesi, 'non-genic' bölgelerin yanı sıra, histonların farklı post-translasyonel modifikasyon tipleri, DNA'nın kendi metilasyonu, kromatini yeniden modelleyen geniş protein aileleri ve kodlama yapmayan RNA'ları kapsayan kompleks biyokimyasal süreçler tarafından kontrol edilmektedir (Nestler 2014).

4.1. Histonlar

Histonlar, ökaryotik kromatide ilk düzeyde DNA paketlenmesinden sorumludurlar. Histon proteinleri, yüksek oranda artı yüklü amino asit (lizinin ve arjininin) içerir. Bu amino asitler eksi yüklü DNA'ya sıkıca bağlanır. Histonun beş tipi vardır. Bir ökaryottan diğerine histonlar çok benzerdir. Elektron mikroskopuyla çekilmiş fotoğraflarda, katlanmamış kromatinin, ip üzerinde boncuklar varmış gibi bir görünümü vardır (Dolinoy vd. 2007).

Bu boncuklu iplik, hücre döngüsü boyunca aslında bozulmadan kalır. Histonlar, DNA'dan yalnızca DNA replikasyonu sırasında geçici olarak ayrılır ve transkripsiyon sırasında DNA ile birlikte kalırlar (Nestler 2014).

4.1.1. Histon Modifikasyonları

Evrimsel süreçte tipik olarak korunan birçok histon modifikasyonu vardır. Lizinin ve arjininin kalıntılarının metilasyonu, lizinin asetilasyonu, serinin ve treoninin fosforilasyonu, prolin izomerizasyonu, monoubikülasyon, sumoylasyon bunlar arasında sayılabilir (Zhang 2007).

Böyle modifikasyonlar, kodlama yapmayan genom sekanslarının yanı sıra kodlama yapanları da oluşturabilir. Bazı modifikasyonlar spesifik iken, bazıları ise transkripsiyon bölgelerinde hem aktif hem de inaktiftir. Bunlar hücre siklusunun gelişimsel fazında stres ve diğer çevresel faktörler tarafından etkilenirler (Dolinoy vd. 2007).

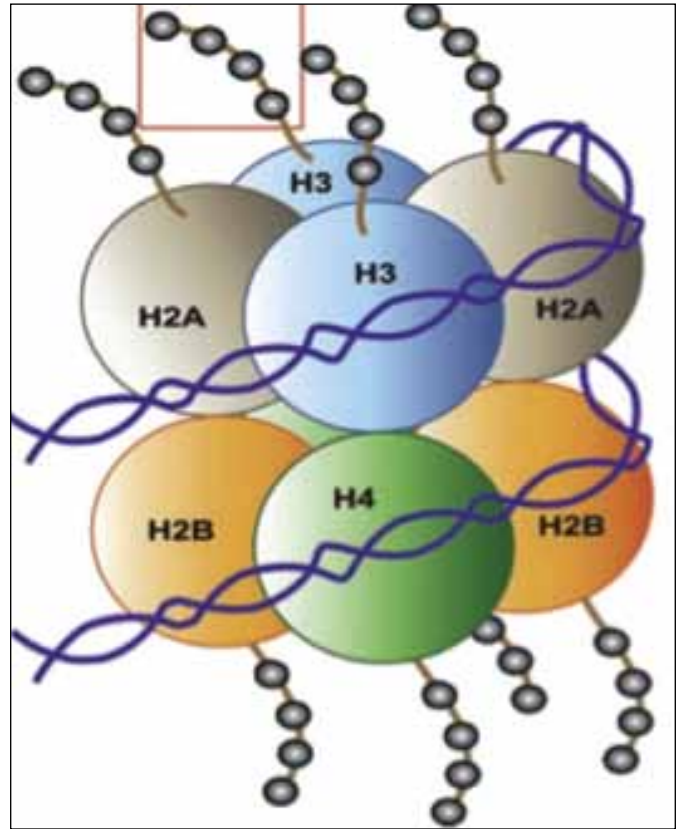
- Histon asetilasyonu: Histon asetilasyonu, gen transkripsiyonunun düzenlenmesinde doğrudan rol oynamaktadır. Histon asetilasyonu, histon proteinlerinin belirli bazı amino asitlerine asetil gruplarının ($-COCH_3$) bağlanması olayıdır. Deasetilasyon da, asetil gruplarının uzaklaştırılmasıdır. Nükleozomların histonları asetillendiği durumda, histonların DNA'ya daha az sıkıca bağlanması için biçim değiştirdikleri bilinmektedir. Sonuçta, transkripsiyon proteinleri, asetillenmiş bölgedeki genlere

daha kolay girebilirler (Zhang 2007, Nestler 2014).

- Histon metilasyonu
- Histon fosforilasyonu: Histonların fosforilasyonu mitoz, ERK yolu gibi sinyal transdüksiyon yolları sırasında oluşmaktadır.
- Histon ubikülasyonu: Histonların ubikülasyonunun, kalıtsal genlerin susturulmasına ve X kromozomu inaktivasyonuna yol açtığı bulunmuştur (Zhang 2007).

4.2. DNA Metilasyonu

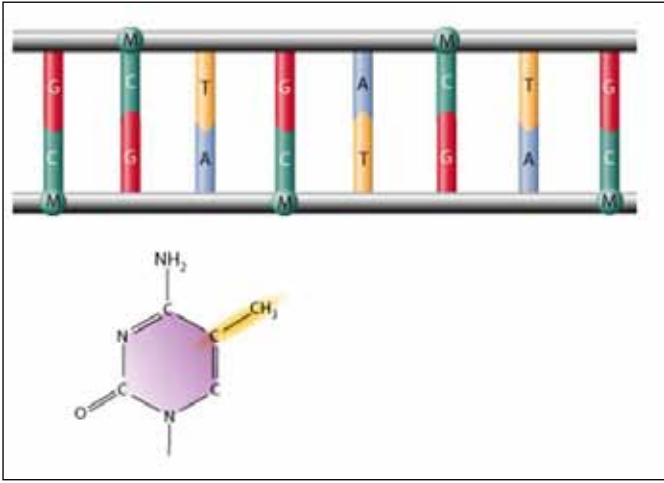
DNA metilasyonu, DNA sentezlendikten sonra DNA bazlarına metil gruplarının ($-CH_3$) bağlanmasıdır. Çoğu hayvan ve bitkinin DNA'sı, genellikle sitozin olmak üzere, metillenmiş bazlar içerir. Metillenmiş bir ökaryot DNA'sında bulunan sitozin bazlarının yaklaşık % 5'i metil gruplarına sahiptir (Nestler 2014). İnaktif durumda olan memeli X kromozomlarındaki gibi, inaktif DNA, aktif şekilde transkripsiyon geçiren DNA ile karşılaştırıldığı zaman bazı istisnalar olmasına rağmen, genellikle çok fazla oranda metillenmiştir. Farklı dokularda yer alan aynı genlerin karşılaştırılması, bu genlerin ifade edilmedikleri hücrelerde, genelde daha yoğun bir biçimde metillendiklerini göstermektedir. Aynı zaman-



Şekil 1. Her biri iki kopya içeren histon proteinleri (Nestler 2014).

da, inaktif durumdaki bazı genlerin demetilasyonu (fazla olan metil gruplarının koparılarak uzaklaştırılması), onları aktif duruma getirmektedir (Herceg vd. 2008).

Bir metil grubunun, DNA'nın bazlarından birine aktarılması olan DNA metilasyonu, DNA metiltransferaz enzimleri tarafından katalizlenmektedir. Metil vericisi olarak S-Adenozil Metiyonin (SAM) kullanılmaktadır. DNA metilasyonunda, enzimatik bir reaksiyonla S-adenozin metiyonin metil vericisi olarak kullanılır ve DNA metil transferaz enzimleri aracılığıyla metiyonin sitozinin 5' bölgesine aktarılmaktadır (Aslan 2008).



Şekil 2. Metillenmiş sitozin ve DNA metilasyonu (Aslan 2008).

DNA metilasyonu, ağırlıklı olarak CpG alanlarında sitozin C5 pozisyonunda bir metil grubunun eklenmesiyle oluşur. DNA metilasyonu, hücre farklılaşmasında, imprinting ve X kromozomu aktivasyonunda esas rol oynar (Zhang 2007, Nestler 2014).

DNA metilasyonu, gen ekspresyonu ve kromatin organizasyonunda önemli rolü olan bir epigenetik değişiktir. Metilasyonla genler susturulabilmekte ve kromatin yapısı değişmektedir. DNA metillenmesi, omurgalılarda transkripsiyonun kontrolünde kromatin yapısıyla alakalı bir mekanizmadır. Omurgalı DNA'sında yer alan sitozinler, 5'-karbon durumuna metillerin katılması ile değiştirilebilir. DNA zincirinde guaninlerden önce yer alan sitozinler, yani CpG dinükleotitler özel olarak metillenir (Herceg vd. 2008, Nestler 2014). Bu metillenme, promotorların çevresinde yüksek sıcaklıkta CpG dinükleotidine sahip genlerin transkripsiyonel fonksiyonlarının azaltılmasıyla bağlantılıdır. Metillenmiş olan DNA'ya bağlanan repressörler, histon deasetilazlar ile bir kompleks meydana getirerek çalışır ve DNA'nın metillenmesini, nükleozom yapısındaki değişimlerle ve histon asetilasyonu ile ilişkilendirir (Aslan 2008).

Bazı türlerde, embriyodaki hücre farklılaşması esnasında, genlerin uzun süreli inaktivasyonu gerçekleşirken DNA metilasyonunun gerekli olduğu görülmektedir. Fare ve Arabidopsis bitkisi gibi çok farklı iki organizmada, metilasyonu sağlayan enzimin bulunmaması sonucunda DNA metilasyonunda yetersizliğin olması, embriyonik

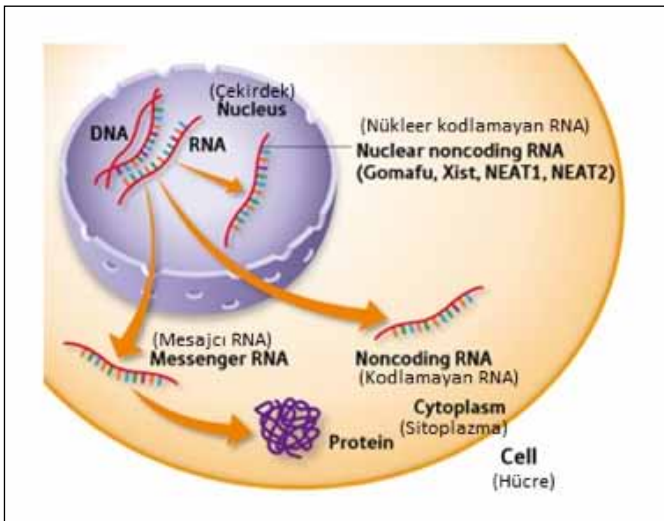
Çizelge 2. Yaygın endokrin engelleyiciler ve fonksiyonları (Skinner vd. 2009).

Endokrin Engelleyici	Etkisi
DDT	Üreme Bozukluğu
Fitoestrogenler (örneğin, Genistein)	Bozulmuş Fertilite, Üreme Etkileri, Meme Kanseri Koruyucu
Dietilstilbestrol (DES)	İnsanlarda Vajinal Kanseri, Hamsterlarda Gelişimsel Toksikite
Dikofol	Anormal Yumurtalık Folikülleri, Yüksek Plazma Estrojen Seviyeleri
Bisfenol-A (BPA)	Prostat Kanseri
Aflatoksin	Karaciğer Kanseri
Kadmiyum	Akciğer Kanseri, Üreme Sorunları
Heterosiklik Aminler	Kolon, Mide ve Meme Kanseri
Arsenik	Karaciğer Kanseri
Dioksinler	Meme Tümörü
Vinklozolin	Bozulmuş Erkek Fertilitesi
Metoksiklor	Bozulmuş Erkek Fertilitesi
Ftalatlar	Erkek Üreme Sistemi ve Testisin Zarar Görmesi

gelişimde anormalliklere yol açar. Genler, bir defa metilasyon geçirdikleri zaman, birbirlerini izleyen hücre bölünmeleri boyunca aynı şekilde varlıklarını sürdürürler (Herceg vd. 2008, Nestler 2014). Metilasyon enzimleri, bir ipliğin yeni metillenmiş olan DNA kısımları üzerinde çalışır ve böylece DNA replikasyonunun her raundunun ardından, kardeş ipliği doğru şekilde metiller. Bu şekilde, metilasyon kalıpları aktarılır ve özelleşmiş doku meydana getiren hücreler, embriyonik gelişim esnasında oluşan şeylerin kimyasal kaydını saklarlar. Bu yolla korunan metilasyon kalıbı, aynı zamanda memelilerdeki genomik imprinting (genomik damgalama) olayından da sorumludur (Dolinoy vd. 2007, Zhang 2007).

4.3. Kodlama Yapmayan RNA

Epigenetik düzenleme, protein kodlamayan RNA'ların varlığından etkilenir. Kodlamayan RNA, proteine çevirisi yapılmayan işlevsel bir RNA molekülüdür. Memeli genomunun tam dizilimi ve transkripsiyonel ürünlerinde, şartıcı bir şekilde proteinlere çevrilmeyen, çok sayıda ifade edilmeyen RNA ortaya çıkmıştır. Böyle kodlama yapmayan RNA'ların, hücre fonksiyonunda çok önemli düzenleyici rol oynadığı gösterilmiştir. Kodlama yapmayan RNA'lar incelediğinde tRNA ve rRNA gibi fonksiyonel açıdan önemli olanlara ek olarak siRNA'lar, piRNA'lar ve mikroRNA'lar gösterilebilir (Sweatt vd. 2013, Nestler 2014). Gen kodlaması yapmayan RNA'ların bir türü olan uzun 'non-coding' (kodlama yapmayan) RNA'ların örnekleri olarak ise Xist ve HOTAIR verilebilir. Kodlamayan RNA'lardan olan, yani DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak proteine çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanan miRNA, yaklaşık



Şekil 3. Kodlamayan RNA mekanizması (Rakyan vd. 2002).

21-23 nükleotit uzunluğunda olan tek iplikli bir RNA molekülü türüdür, gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rolü vardır (Zhang 2007, Nestler 2014).

5. Memelilerde Epigenetik Olgu

Memelilerdeki epigenetik sistemler, bir totipotensi sonucu meydana gelebilir ve aslında tüm hücreler aynı genetik bileşenlere sahip olmasına rağmen, sadece belirli tipte hücrelerdeki genlerin aktif hale gelmesi gereklidir (Dolinoy vd. 2007). Memelilerde en yaygın olarak çalışılmış iki epigenetik olgu, X kromozomu inaktivasyonu ve belirli bir geni taşıyan kromozomun kökeninin ana veya babaya ait olmasına bağlı olarak fenotipik ifadenin değişmesi olan genomik damgalama (genomic imprinting)'dır (Nestler 2014).

5.1. X Kromozomu İnaktivasyonu

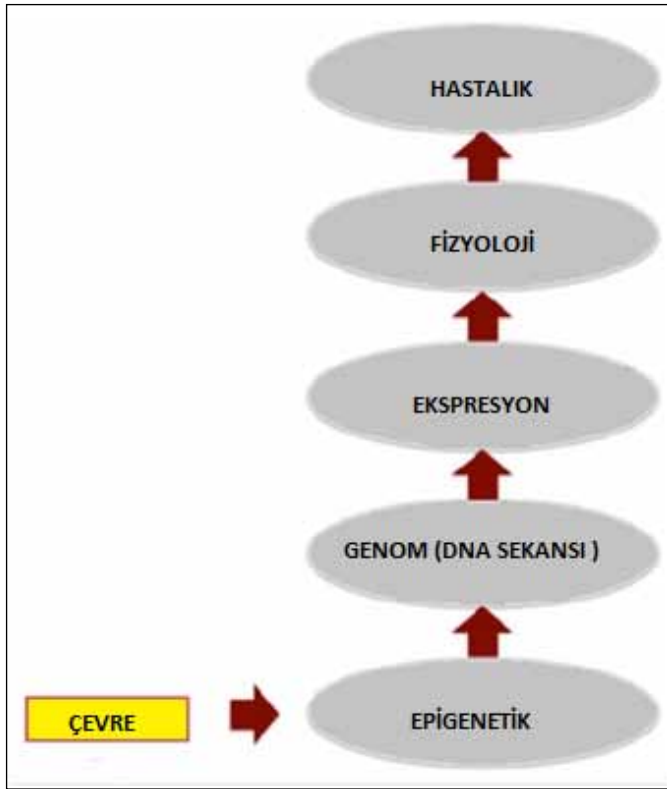
Plasentalı dişi memelilerde cinsiyet kromozomu dozajı, epigenetik inaktivasyon ve her bir dişi hücresinde transkripsiyonel olarak susturulmuş bir X kromozomu yoluyla dengelenerek oluşur. Bir X kromozomu erken embriyogenez döneminde rastgele seçilir ve heterokromatizasyon geçirir ve böylece X kromozomu inaktive olur (Xi). Bir X inaktivasyonu özel transkript geni, Xist diye adlandırılır ve onun antisens geni Tsix inaktivasyonun kontrolünde yardımcı olur (Bateson vd. 2004). Xi'de Xist RNA'sı Tsix ekspresyonunu baskılamak için kromozomu kaplar ve aktif X üzerinde Tsix RNA'sı, Xist RNA'sını durdurur. X kromozomu inaktivasyonu DNA metilasyonu ve histon asetilasyonu sayesinde sürdürülür. Xist, aktif X üzerinde hipermetillenirken, Xi üzerinde metillenmez. Ayrıca, Xi, CpG adacıklarında ve gen promotor bölgelerinde hipermetillenir. H₄ histonunun hipoasetilasyonunda açığa çıkar. DNA metilasyonu, histon asetilasyonu ve metilasyonu arasındaki etkileşim tamdır ve Xist RNA'sı belirginleşmiş olarak kalır (Petronis 2004, Skinner vd. 2009).

5.2. Genomik Damgalama

Genomik damgalama, soy kökenli bir tarzda kademeli gen ekspresyonu uygulayan epigenetik kromozomal modifikasyonlarda bir gen düzenleme biçimidir. Damgalanmış genler, ilk olarak 1980'lerde Surani ve arkadaşları tarafından iki erkek pronükleusundan diploit androjenlerin elde edilmesi ve uygunsuz bir biçimde gelişmiş iki dişi pronükleusundan diploit jinojenlerin elde edilmesiyle muhteşem nükleer transplantasyon çalışmalarının ardından hipotez haline getirilmiştir. İnsülin benzeri büyüme faktörü 2 (Igf2) ve insülin benzeri büyüme faktörü 2 reseptörü (Igf2r) belirlendiğinden



Şekil 4. İkiz fareler (Waterland ve Jirtle 2003).



Şekil 5. Hastalık üzerinde çevresel faktörlerin ve epigenetiğin etkisi (Skinner 2009).

beri, fare ve insanda 83 damgalanmış gen tespit edilmiştir, 29'u ise (yaklaşık üçte biri) her iki türde belirlenmiştir (Morgan vd. 1999, Dolinoy vd. 2007, Karaçay 2009). Son biyoinformatik çalışmalarda, fare genomunda 600 genin yüksek bir damgalanma ihtimali olduğu öngörülmektedir. Genomik damgalamanın ilk keşfinden beri, fare ve insanda 83 damgalanmış gen tespit edilmiştir ve bunların 29'u fare ve insanda ortaktır (Morgan vd. 2005, Nestler 2014).

Fonksiyonel olarak haploiyt genler damgalandığından beri, onların normal olarak diploidi olabilen resesif mutasyonlardan korunduğu kabul edilmemektedir. Damgalanmış gen mutasyonu veya düzensizlik ekspresyonu, kanser duyarlılığının artmasının yanı sıra, çocuk genetik hastalığı olan Prader-Willi sendromu, nörojenetik bir rahatsızlık olan Angelman sendromu ve aşırı büyüme sendromu olan Beckwith Wiedemann sendromu dâhil birçok bozuklukla ilişkilendirilmektedir. Damgalanmış genlere, *Igf2* (mesane, akciğer, yumurtalık ve diğerleri), *Igf2r* (meme, kolon, akciğer ve diğerleri) ve Neuronatin (pediyatrik lösemi) gibi birkaç örnek verilebilir. Soy kökenli atopik hastalıkların kanıtı, damgalanmış genlerin onların etiolojisiyle de, ayrıca birkaç davranışsal ve psikolojik bozukla da ilgisi olduğunu belirtmektedir. Damgalı *Igf2* kaybının, bağırsak tümörlerinin sıklığını artırdığı gösterilmiştir ve çoğunlukla kolorektal kanserli hastaların normal mukozasında bulunmaktadır (Reik vd. 2001, Skinner vd. 2009).

6. Epigenetik Düzenlemeyi Destekleyen Bazı Örnekler

Duke Üniversitesi'nden Randy Jirtle ve Dana Dolinoy, bir deney sırasında, bütünüyle aynı olan ikiz farelerin zamanla dış görünüş ve hastalıklara yakalanma bakımından oldukça farklılık gösterdiklerini anlamışlardır. Farelerden birinin renginin siyahla karışık kahverengi (normal renk) olduğunu, diğerinin renginde ise sarıya dönüşüm olduğunu ifade etmişlerdir. Daha sonra yapılan takipte, sarı farenin daha fazla kilo alıp daha çok yağ biriktirdiğini, kanser ve diyabet riskinin de diğerinden daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Kıl renkleri de farklı olan bu farelerde, çalışmaların ilerleyen aşamalarında "agoti" adlı, kıllara renk veren genin sarı farede aktifken, kahverengi ikizinde susmuş vaziyette olduğu belirlenmiştir (Waterland ve Jirtle 2003, Karaçay 2009).

Dolinoy vd., daha sonraki çalışmalarında, anne beslenmesinin yavruların genlerinin çalışması üzerinde etkisi olup olmadığını belirlemek için, bisfenol A (BPA) kimyasalını denemişlerdir. Bu madde, plastik şişelerde, plastik gıda ambalajları ve biberonlarda bulunur. Hamilelik esnasında farelerin besinlerine BPA eklendiği zaman, sarı renkli obez yavruların sayısının oldukça arttığı görülmüştür. Bu durumu, annenin besinindeki BPA'nın doğacak olan yavruların kıl rengini belirleyen genin çalışmasını etkilemesi olarak açıklamışlardır (Dolinoy vd. 2007).

Çalışma ekibi, bu ilk sonuçların ardından, hamilelik sırasında anne farelerin besinlerine BPA'ya ek olarak B9

vitamini (folik asit) de ekledi. Başka bir deneme grubunda ise genistin (soya fasulyesinden elde edilen bir madde) kullanıldı. Doğan farelerde sarı renkli ve obez olanların sayısında büyük bir düşüş; kahverengi olanların sayısında ise büyük bir artış meydana gelmiştir. Burada, annenin yediği şeyler, yavrularının genlerinin çalışması üzerinde etkili olmuştur yorumu yapılabilir (Waterland ve Jirtle 2003). Bu değişimin arkasındaki mekanizma DNA metilasyonudur. Anne farelerin günlük diyetine eklenen folik asit, 'metil grubu' sağlayıcısı görevini üstlenmiştir. Sarı renkli farenin kıl oluşturan hücrelerinde agoti genine metil grupları eklenmemiştir. Bu sebeple, gen artık çalışmaması gerekirken çalışmaya devam etmiştir. Agoti geni kahverengi farede ise metilasyona uğramıştır ve bundan dolayı genin çalışması durmuştur (Dolinoy vd. 2007, Karaçay 2009).

Skinner vd., günlük hayatta maruz kaldığımız ve birçoğu tehlikeli hastalıkların etkeni olan çevresel bileşiklerin DNA sekansında değişikliğe neden olmadığını; ancak epigenetik mekanizmalarla birlikte ele alındığında çok şaşırtıcı sonuçların meydana geldiğini belirtmişlerdir. Örneğin, çevresel bileşikler grubundan önemli bir grubu oluşturan endokrin engelleyicilerin, hormonların fonksiyonlarını engelleyerek ya da taklit ederek hormon sinyalizasyonunu değiştirdiklerini veya hormon üretimini bozduklarını ileri sürmüşlerdir. Endokrin hasarının ise, gelişimde hormonların kritik role sahip olmasından dolayı, çok ciddi sonuçları olabileceğini ifade etmişlerdir (Skinner vd. 2009).

İnsan sağlığı perspektifinden bakıldığı zaman, epigenetik orijine sahip bazı hastalıklar olduğu görülmektedir. Çeşitli hastalıklar ve sendromlar, çeşitli patolojilere yol açan anormal DNA metilasyonu ya da damgalanmış gen bölgelerine sahiptir. Bunlara büyüme geriliği ve vücut asimetrisi görülen Silver-Russell sendromu, Beckwith-Weidemann sendromu, Angelman ve Prader-Willi sendromları dâhildir (Mann ve Bartolomei 1999, Temple 2007). X kromozomunun anormal DNA metilasyonundan kaynaklanan başka bir epigenetik hastalık Fragile X sendromudur. Otizm, şizofreni ve Rett's sendromu gibi birkaç beyin rahatsızlığının da büyük epigenetik bileşenlere sahip olduğu görülmektedir (Ellis vd. 2009). Kanser de genom stabilitesini düzenleyen bir epigenetik bileşene sahiptir ve transformasyon ve hastalık fenotipiyle ilişkilidir. Dolayısıyla epigenetik bileşenlerin mekanizmalarını bilmek, birçok hastalığın etiyojisinde kritik bir role sahip olacaktır (Skinner 2009).

2005 yılında yayımlanan bir çalışmada, hamile kobaylara, yavruların anne karnında cinsiyetlerinin olduğu evrede, üzüm yetiştiriciliğinde mantarlarla mücadele maksadıyla

kullanılan Vinklozolin adlı ilaç verilmiştir (Skinner 2007). Doğan yavrular ergenlik çağına ulaştıkları zaman kendi aralarında çiftleştirilmişlerdir. Daha sonra aynı yöntemlerle üçüncü ve dördüncü nesil elde edilmiştir. Bu dört neslin erkeklerinin yaklaşık % 90'ında üreme problemleri meydana gelirken, dişi kobayların yumurtalıklarının ise ilaca karşı korunduğu görülmüştür. Erkek kobaylar yaşlandıkça üreme organlarının yanı sıra, başka organlarında da rahatsızlıklar oluşmuştur. Bir yaşına ulaştıklarında yüzde yirmisinde tümör, yüzde ellisinde prostat, yüzde kırkında böbrek problemleri, yüzde otuzunda bağışıklık sistemi sorunları ve yüzde otuzunda da kısırılık meydana gelmiştir. Dişilerde ise benzer rahatsızlıklar sadece ilk nesilde gözlenmiştir (Skinner 2007, Karaçay 2009). DNA'da tamamıyla şans eseri oluşabilecek mutasyonların oranı % 0,01'dir. Bu yüzden, Vinklozolin gibi zehirli maddelerin yol açtığı ve nesilden nesile aktarılan sorunlar, DNA'nın yapısında rastgele oluşabilecek mutasyonlarla açıklanamaz (Karaçay 2009).

Nestler, henüz tanımlanamamış bazı spesifik genlerden kaynaklanan genetik faktörler ile gelişim sırasında rastgele oluşan olaylar ve çevresel maruziyet gibi genetik olmayan faktörlerin birleşiminin, bazı kişilerde madde bağımlılığına hassasiyet meydana getirebileceğini ve bu durumun, bu hassasiyete sahip bireylerde 'nöral esneklik' adı altında incelenebileceğini ileri sürmektedir (Nestler 2014). Büyüme çağına ya da erişkinlikte, bahsi geçen spesifik genlerin epigenetik düzenlemesi aracılığıyla, gen ekspresyonunda stabil değişikliklerin bağımlılık hassasiyeti yüksek bireylerde bağımlılık maddesine bir şekilde maruz kalınmayla örtüşerek etkisini gösterdiği ifade edilmektedir (Robison ve Nestler 2011, Nestler 2014). Nestler, bağımlılık modellerindeki epigenetik düzenleme çalışmalarının büyüme çağı ve erişkin sinir sisteminde epigenetik hakkında temel prensipleri öğreteceğini ve beyinde transkripsiyon mekanizmalarının çalışılmasında çok önemli bir kapı aralayacağını iddia etmektedir (Nestler 2014).

7. Sonuç

Biyoloji ve özellikle de genetik biliminde son yüzyılda yaşanan gelişmeler dikkat çekici olmuştur ve insan hayatını ilgilendiren birçok konuda şaşırtıcı yenilikler sunmuştur. Daha yakın bir zaman diliminde ise genetikte 'epigenetik' adı verilen yeni bir olgu keşfedilmiş ve bu alanda birçok çalışma yapılmıştır. Birçoğu, bildiğimiz genetik çözümlenmelerle açıklanamayan yeni teoriler üretilmiştir. Epigenetik alanında günümüzde de devam eden bu çalışmaların ışığında, bazı kalıtsal hastalıklar ve kanser gibi mekanizmaları tam olarak

çözülemediği bazı sorunların aydınlatılabileceği ümit edilmektedir.

Bilgi: Bu derleme Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Bünyesinde Biyoloji Bölümünde doktora semineri başlığı altında sözlü olarak sunulmuştur.

8. Kaynaklar

- Alyea, RA., Moore, NP., LeBaron, MJ., Gollapudi BB., Rasoulpour RJ. 2012. Is the current product safety assessment paradigm protective for epigenetic mechanisms? *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, 66: 207-214.
- Aslan, A. 2008. DNA Metilasyonu. *Doktora Semineri*, Fırat Üniversitesi, 25 s.
- Bateson, P., Parker, D., Clutton-Brock, T., Deb, D., D'Udine, B., Foley, RA. 2004. Developmental Plasticity and Human Health. *Nature*, 430: 419-421.
- Dolinoy, DC., Weidman, JR., Jirtle, RL. 2007. Epigenetic gene regulation: Linking early developmental environment to adult disease. *Reprod. Toxicol.*, 23: 297-307.
- Ellis, L., Atadja, PW., Johnstone, RW. 2009. Epigenetics in cancer: Targeting chromatin modifications. *Mol. Cancer Ther.*, 8: 1409-1420.
- Herczeg, Z., Vissiere, T., Sawan, C. 2008. Epigenetic interplay between histon modifications and DNA methylation in Gene Silencing. *Mutat. Res.-Rev. Mutat.*, 659: 40-48.
- Holliday, R., Pugh, J. 1975. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science*, 187: 226-232.
- Karaçay, B. 2009. Kalıtımın yeni boyutu: epigenetik. *Bilim ve Teknik Dergisi*, 505: 32-37.
- Mann, MR., Bartolomei, MS. 1999. Towards a molecular understanding of Prader-Willi and Angelman syndromes. *Hum. Mol. Genet.*, 8: 1867; 1873.
- Morgan, H., Sutherland, H., Martin, D., Whitelaw, E. 1999. Epigenetic inheritance at the agouti locus in the mouse. *Nat. Genet.*, 23: 314-318.
- Morgan, HD., Santos, F., Green, K., Dean, W., Reik, W. 2005. Epigenetic reprogramming in mammals. *Hum. Mol. Genet.*, 14 (1): 47-58.
- Nestler, EJ. 2014. Epigenetic mechanisms of drug addiction. *Neuropharmacology*, 76: 259-268.
- Petronis, A. 2004. The origin of schizophrenia: Genetic thesis, epigenetic antithesis, and resolving synthesis. *Biol. Psychiat.*, 55 (10): 965-970.
- Rakyan, VK., Blewitt, ME., Druker, R., Preis, JI., Whitelaw, E. 2002. Metastable epialleles mammals. *Trends Genet.*, 18 (7): 348-351.
- Reik, W., Dean, W., Walter, J. 2001. Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science*, 293: 1089-1093.
- Robison, AJ., Nestler, EJ. 2011. Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction. *Nat. Rev. Neurosci.*, 12: 623-637.
- Skinner, MK. 2007. Epigenetic transgenerational toxicology and germ cell disease. *Int. J. Androl.*, 30: 393-397.
- Skinner, MK., Manikkam, M., Bosagna, CG. 2009. Epigenetic transgenerational actions of environmental factors in disease etiology. *NIH Public Access*, 21 (4): 214-222.
- Sweatt, JD., Guzman-Karlsson, MC., Rahn, EJ. 2013. Cellular, molecular and epigenetic mechanisms in non-associative conditioning: implications for pain and memory. *Neurobiol. Learn. Mem.*, 105: 133-150.
- Temple, IK. 2007. Imprinting in human disease with special reference to transient neonatal diabetes and Beckwith-Wiedemann syndrome. *Endocrin. Dev.*, 12: 113-123.
- Waddington, C. 1940. Organisers and genes. UK Cambridge University Press, Cambridge.
- Waterland, R., Jirtle, R. 2003. Transposable elements: Targets for early nutritional effects on epigenetic gene regulation. *Mol. Cell. Biol.*, 23 (15): 5293-5300.
- Zhang, M. 2007. Mechanisms of epigenetic inheritance. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 19: 266-272.