

Güncel Epigenetik Tedaviler

Current Epigenetic Treatments

Didem Seven^{1,a,*}

¹Yeditepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

*Sorumlu yazar e-posta: didem.seven@yeditepe.edu.tr

^a<https://orcid.org/0000-0003-3406-5905>

ÖZET

Epigenetik mekanizmalar, histon modifikasyonları, DNA metilasyonları ve kodlanmayan RNA'lar aracılığı ile DNA dizisinde herhangi bir değişiklik göstermeksizin, gen ifade düzeylerinin değişmesi olarak tanımlanmaktadır. Yapılan araştırmalar, epigenetik değişikliklerin birçok hastalığın patogeneğinde etkin olduğunu göstermiş, bazı hastalıkların tanı ve prognozunda etkili biyobelirteçler tespit edilmiştir. Belirlenen biyobelirteçlerin hedeflenerek klinik çalışmalarda araştırılması devam ederken, kimi epigenetik tedavi araçları FDA onayı ile tedavide kullanılmaktadır. Histon deasetilaz inhibitörleri, DNA metil transferaz inhibitörleri ve kodlanmayan RNA'lar başta kanser olmak üzere tekli veya kombine olarak birçok hastalığın patogeneğinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Her ne kadar epigenetik tedavilerin kabul görmesi zaman almış olsa da, etkinliği kanıtlanmıştır ve günümüzde tek veya kombine terapi olarak klinikte uygulanmaktadır. Bu sebeple epigenetik mekanizmaların aydınlatılarak hedeflerinin ve düzenleyicilerinin belirlenmesi ve bu hedeflerin işlevlerinin araştırılması önem arz etmektedir. Bu derlemede rutin klinik uygulamada kullanılan, FDA onayı almış ve klinik araştırmalarda sıklıkla kullanılan epigenetik terapiler özetlenecektir.

Anahtar Kelimeler: DNA metil transferaz inhibitörleri, FDA onaylı epigenetik tedaviler, Histon deasetilaz inhibitörleri, siRNA ilaçları

ABSTRACT

The epigenetic mechanisms are defined as alterations in gene expression levels through histone modifications, DNA methylations and non-coding RNAs without any change in DNA sequence. Studies conducted at the molecular level have shown that epigenetic regulations are key players in the pathogenesis of many diseases, and effective biomarkers have been identified in the diagnosis and prognosis of some diseases. While the research of the identified biomarkers in clinical trials carry on, some epigenetic treatment tools are started to be used in treatment with FDA approval. Histone deacetylase inhibitors, DNA methyl transferase inhibitors and non-coding RNAs are used for therapeutic purposes in the pathogenesis of many diseases, especially cancer. Although it took time for epigenetic therapies to be approved, their effectiveness has been shown and is now applied in the clinic as a single or combined therapy. For this reason, it is important to elucidate and investigate epigenetic targets and their functions and cross-talk between epigenetic mediator, modulator and regulator proteins. This review will summarise the epigenetic therapies that are used in routine clinical practice, have received FDA approval, and are frequently used in clinical trials.

Keywords: DNA methyl transferase inhibitors, FDA approved epigenetic therapies, Histone deacetylase inhibitors, siRNA drugs

GİRİŞ

Epigenetik tedaviler, DNA dizisini değiştirmeden gen ekspresyonunun düzenlenmesine olanak sağlayan yenilikçi bir tedavi yaklaşımıdır. Genlerin açılıp kapanmasında kritik rol oynayan DNA metilasyonu, histon modifikasyonu ve kodlamayan RNA aktivitesi gibi epigenetik mekanizmaları hedef alan bu tedaviler, kanserler, nörolojik bozukluklar ve otoimmün hastalıklar da dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Epigenetik tedavilerle, sadece semptomları hafifletmek yerine, normal gen fonksiyonunu yeniden sağlamak amaçlanmaktadır. Bu tedaviler kişiselleştirilmiş tıp için umut vaat etmektedir. Bu derleme makalede, epigenetik mekanizmaları hedefleyen FDA onayı almış ve klinik araştırmalarda yer alan ilaçlardan bahsedilecektir.

DNA Metilasyonu

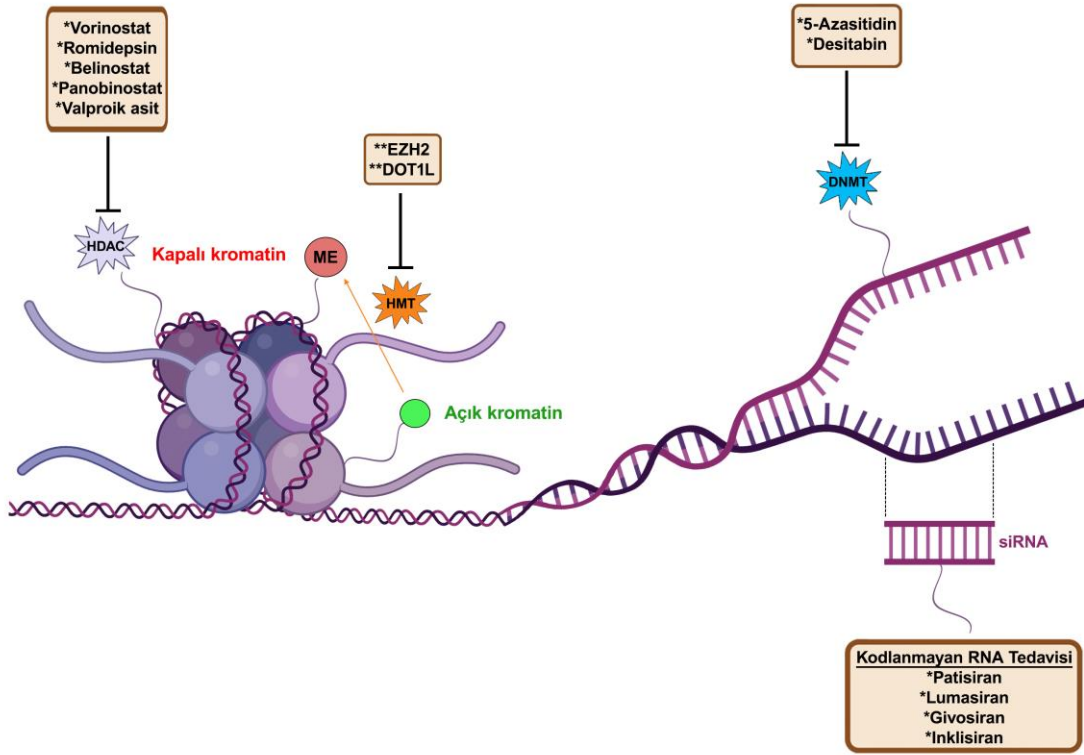
DNA metilasyonu ilk tanımlanan epigenetik değişimdir. Bir metil grubunun sitozin nükleotidinde eklenmesi sonucu 5mC'in (C-5 pozisyonunda) oluşması ile DNA metilasyonu gerçekleşir. 5mC'nin ise enzimatik olarak 5-hidroksimetilsitosine (hmC) oksitlenebileceği gösterilmiştir. Bu değişim de hidroksimetillenme olarak adlandırılmaktadır.¹ Yine 5mC'nin oksitlenmesi ile meydana gelen ve TET enzimleri tarafından kontrol edilen bir başka değişim 5-formil-2-deoksitimidin (5fdC).² Sıklıkla genlerin promotor bölgelerinde veya Sitozin- Guanin adacıklarında oluşan metillenme sonucunda genlerin ifadesinde değişiklikler meydana

gelir. Genom çapında yapılan metilom çalışmaları metilasyonun meydana geldiği bölgenin gen kontrolünde rolü olabileceğini vurgulamaktadır. Örneğin; transkripsiyon başlama bölgelerinin hemen yakınında gerçekleşen metilasyon transkripsiyon başlamasını inhibe eder. Gen gövdesinde meydana gelen metilasyon gen anlatımını etkilemezken, uç birleştirmede etkili olabileceği öne sürülmektedir.³ Sentromer bölgelerinde meydana gelen metilasyonların kromozomal stabiliteyi etkilediği bilinmektedir.⁴ Yakın zamanda gerçekleştirilen bir çalışmada transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgelerinde meydana gelen metilasyonların evrimsel ve fonksiyonel olarak ilişkilendirilebileceği ortaya konmuştur.⁵ Bir hücrede metilasyon, gen anlatımında indüklemeye veya baskılamaya yol açabileceği için hücrede farklı streslere yol açabilir. DNA'nın metilasyonunu katalizleyen enzim grubu DNA metiltransferazlar (DNMT) iken, demetilasyonundan TET (Ten eleven translocation) enzimleri sorumludur. DNA metilasyonunda meydana gelen değişiklikler, prostat, meme, gastrik, karaciğer, akciğer, glioblastoma ve lösemi gibi farklı kanser türlerinde bildirilmiştir.⁶

Tümör baskılayıcı genlerin promotor bölgelerinin aşırı metilasyonu sonucu ifade edilememesi tedavi için bir hedef olarak değerlendirilmiş ve metillenmenin geri dönüşebilen özelliği kullanılarak bazı tedaviler geliştirilmiştir. 2 sitidin analogu had VIDAZA adıyla (AZA) ve 5-aza-2'-deoksitimidin Dacogen (DAC) adıyla miyelodisplastik sendrom tedavisinde kullanılmak üzere FDA tarafından onaylanmıştır (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo1. FDA tarafından onaylanan epigenetik tedaviler

Epigenetik Hedef	Ticari İsim	Kimyasal Adı	Hastalık
DNMT inhibisyonu	Vidaza	Azasitidin	Myelodisplastik Sendrom, AML, KML
	Dacogen	Desitabin	Myelodisplastik Sendrom
Kodlanmayan RNA	Onpattro	Patisiran	Amiloidoz
	Leqvio	Inklisiran	Hiperkolesterolemi ve Aterosklerotik Kardiyovasküler Hastalık
	Oxlumo	Lumasiran	Primer Hiperoksalüri Tip1
	Givlaari	Givosiran	Akut Hepatik Porfiri
Histon Modifikasyonları	Zolinza	Vorinostat	Kutanöz T Hücreli Lenfoma
	Istodax	Romidepsin	Kutanöz T Hücreli Lenfoma, Periferik T hücreli Lenfoma
	Beleodaq	Belinostat	Tekrarlayan veya Dirençli Periferik T Hücreli Lenfoma
	Farydak	Panobinostat	Multipl miyeloma
	Depacon	Valproik Asit	Epilepsi Nöbeti, Bipolar Bozukluk, Migren



Şekil 1. Güncel Epigenetik Tedaviler

*FDA Onaylı Epigenetik Tedaviler

**Klinik Araştırmalarda Faz Çalışmalarında Aktif Kullanılan İlaçlar

Her iki bileşik de, DNMT'ler ile geri dönüşümsüz bir kovalent bağ oluşturur ve sonuçta proteozom aracılı DNMT1 bozunmasını tetikler. Bu DNMT inhibitörlerinin miyelodisplastik sendromlu hastalar ve akut miyeloid lösemi hastalarının %15'inden fazlasında kötü huylu tümörü azalttığı, kan hücresi sayılarını ve sağkalımı arttırdığı gösterilmiştir.⁷ Azasitidin kullanımı solid tümörlü hastalarda toksisite, kemik iliği baskılanması, tedavi etkinliğinin sınırlı olması ile sonuçlandığından henüz rutin tedavide uygulanmamaktadır.⁸ İkinci nesil guadecitabine analogu ve desitabinin aktif metaboliti olan SGI-110 ise hipometilleyici bir ilaçtır.³ Geliştirilmiş farmakolojik ve farmakodinamik etkileri olan bu epigenetik hedefli ilacın, MDS, lösemi, testis ve over kanseri hastalarının tedavisinde tekli ve yaygın kemoterapötiklerle kombine uygulamalarına dair klinik çalışmalar devam etmektedir.⁹ Hodgkin Lenfomalarında yapılan bir çalışmada hedefe yönelik ilaçlardan kamrelizumabın desitabin ile kombine uygulanmasında sadece kamrelizumab uygulanan hastalara oranla tedaviye tam yanıt yüzde 39 artış göstermiştir.¹⁰ Desitabinin solid tümörlerde kemoterapötik ilaçlarla kombine kullanımı klinik

çalışmalarda yer alsa da henüz rutin tedavide kullanılmamaktadır.⁸

Nazofarengeal kanserli hastalarda yapılan bir Faz I çalışmasında, azasitidin ağz yoluyla alınan formu CC-486, tekli ve carpolatinli veya paklitaksel ile kombine olarak uygulanmıştır. Monoterapi uygulanan hastalarda kısmi yanıt alınmışken, bir kısmında hastalık stabil olarak devam etmiştir. Monoterapideki etkisinin immün hücre etkinliğini artırmasından dolayı immün kontrol noktası inhibitörleri ile kombine uygulanmasının umut vaadedici bir gelişme olarak bildirilmiştir.¹¹

5-azasitidin ve entinostatın kombine uygulaması meme kanserli hastalarda daha uzun bir sağkalım sağlamış ve Faz I-II çalışmasında yerini almıştır.¹² Bu ilaç kombinasyonu *HER2* negatif hastalarda tolere edilebilir düzeyde olsa da, üçlü negatif meme kanseri hastalarında herhangi etki göstermemiştir. Klinik yanıt hormon dirençli hastalığı olan kadınların yalnızca bir alt grubunda gözlenmiş, bununla birlikte, *ESR1* DNA hipometilasyonu ve gen ekspresyonu aktivasyonu, tedavi edilen hormona dirençli hastaların yaklaşık yarısında tespit edilmiştir. Böylece, bu hastaların hem

endokrin, hem epigenetik terapiden faydalanabileceğini göstermiştir.¹³

Over kanserinde de hipometilleyici ajanlar klinik olarak test edilmiştir. Over kanseri rutin tedavisinde platinyum bazlı terapiler rutin olarak uygulanıyor olsa da, hastaların platinyum tedavisine direnç göstermeleri sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. Platinyum dirençli over kanseri hastalarına, 5-Aza-CR'i takiben verilen carboplatin, hastaların platinyum direncinin üstesinden gelmesini sağlayarak karaciğer metastazının gelişimini engellemiştir ve over kanseri hastalarının tedavisi için bir ışık olmuştur.¹⁴

DNMT inhibitörleri tümör baskılayıcı genlerin yeniden aktivasyonunu sağlamanın yanı sıra, onkogenlerin aktivasyonunu sınırlayabilmektedir.¹⁵ DNMT inhibitörlerinin klasik kemoterapi, immünterapi ve hedeflenmiş terapilerle birlikte uygulanması klinik öncesi araştırmalarda yer almaktadır ve kanser hastalarının rutin tedavisine kazandırılması önem taşımaktadır.

Histon Modifikasyonları

DNA, hücre çekirdeği içerisinde histon proteinleri ile paketlenmiş bir şekilde bulunur. Yaklaşık 160 bazlık DNA zincirinin bağlı olduğu bir H2A-H2B tetrameri ve iki H3-H4 dimerinden oluşan nukleozom, kromatin yapısının en küçük birimidir.¹⁶ Histon proteinlerinin posttranslasyonel modifikasyonları arasında metilasyon, asetilasyon, ubikitinasyon, SUMOasyon ve fosforilasyon yer alır. Bu değişimler DNA'ya bağlı olan histon proteinlerinin elektrik yükünü değiştirerek, histon proteinlerinin DNA'ya bağlanma affinitelerini etkiler ve kromatin kondensasyonunun değişimine neden olarak, gen ifade düzeylerini negatif veya pozitif yönde regüle eder.¹⁷ Kromatin kondensasyonu ve ayrışması DNA replikasyonu, tamiri, apoptoz gibi işlevlerde yer alan genlerin ifade düzeylerini değiştirerek kanser oluşumu ve prognozu ile ilişkilendirilmiştir.¹⁸

Histon asetilasyonu ve deasetilasyonu sıklıkla çalışılan epigenetik değişimlerdir.¹⁹ Genomda, hücre döngüsü, proliferasyon, farklılaşma, hücre ölümü, DNA replikasyonu ve mitoz olmak üzere birçok biyolojik işlevde aktif olarak görev alan 18 adet histon deasetilaz (HDAC) bulunur. Kanserde aşırı ifade edilen HDAC'lar umut verici bir hedef olarak tedavide yerini almıştır. Histon asetilazların (HAT) değişen ifadeleri veya bu genlerde meydana gelen mutasyonlar, tümör baskılayıcı genlerin susturulmasına veya aşırı ifadesine

neden olabilir. HDAC'lar asetil gruplarını elimine ederek, transkripsiyonel baskılayıcı olarak işlev görürler. Histon H4K16 asetilasyonu ve H4K20 trimetilasyonu kanser biyobelirteci olarak tanımlanmıştır.²⁰ Hücre farklılaşmasında bir grup hibrid polar bileşiğin HDAC'ları inhibe ettiği, lösemide yapılan tarama çalışmasında gösterilmiştir.²¹ Hidroksamik asit, kısa zincir yağ asitleri, benzamidler, siklik tetrapeptidler ve sirtuin inhibitörleri antikanser ajan olarak kullanılan HDAC inhibitörleridir. Bunlardan HDAC sınıf I ve II'yi hedef alan Zolinza (Merck) isimli Suberoylanilid hidroksamik asit (SAHA) olarak da bilinen Vorinostat ve Istodax adıyla Celgene tarafından çıkarılan Romidepsin ve Beleodaq isimli belinostat, Kutanoz T hücre lenfoma tedavisinde kullanılan FDA onaylı histon deasetilaz inhibitörleridir ve epigenetik tedavide kullanılan ilk terapötikleridir (Tablo1, Şekil 1).²² Yine bir histon deasetilaz inhibitörü olan Farydak (Novartis) isimli panobinostatın ise proteazom inhibitörü bortezomib ile kombine kullanımı ilaç dirençli multipl miyelomlarda klinikte yerini almıştır.²³ Kombine tedavilere yönelik çalışmalar küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaları için de devam etmektedir. Vorinostat, Romidepsin, Pivanex ve CI-994 histon deasetilaz inhibitörleri küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastaları için tekli tedavi olarak denenmiş ancak sağkalımı etkileyen bir faydası görülmediği için sonlandırılmıştır (NCT00045006, NCT00565227, NCT00126451, NCT00020202). HDAC inhibitörleri kemoterapötiklerle kombine olarak da faz çalışmalarında yer almıştır. Ancak hasta sayısının azlığı nedeniyle bir sonuca varılamamıştır. Bunlardan ileri küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hastalarında entinostat HDAC inhibitörünün erlotinibe eklenmesi, tek başına erlotinibe kıyasla genel bir fayda sağlamadysa da, E-kadherin düzeyi yüksek olan bir alt grubunda sağkalımı artırdığı gözlenmiştir.¹⁹ HDAC inhibitörlerinin tedavide kullanımını sınırlayan dezavantajlar da bulunmaktadır. Bunlardan biri, yarılanma ömürlerinin kısa olması ve hızlı metabolize olmaları nedeniyle farmakokinetiklerinin zayıf olmasıdır. Hedef dışı oluşan sekonder etkiler, çözünme ve geçirgenlik özelliklerinin düşük olması, intra tumor gönderimde de engel oluşturabilmektedir. Bu sınırlamalar HDAC inhibitörlerinin hücrelere gönderilmesi için farklı araçlar geliştirilmesi gerekliliğini ortaya koymuştur.²⁴

Değişen histon lizin metilasyonu da kanserlerde sıklıkla karşılaşılan bir durumdur. H3K4me2'nin azalan seviyeleri böbrek ve akciğer kanseri hastalarında düşük sağkalım ile orantılı iken, küçük hücre dışı akciğer kanseri, meme ve karaciğer kanserlerinde kötü prognozla ilişkili bulunmuştur.²⁵ Lizin metil transferazların değişen seviyeleri veya lizin demetilazların, histon/histon olmayan proteinlerin metilasyonu ile tümör oluşumunu desteklediği bildirilmiştir.²⁶ H3K27me3'ün düzensiz ifade edilmesi bazı kanserlerde gösterilmiştir. EZH2'nin aşırı ifade edilmesi veya SET bölgesinde meydana gelen mutasyonlar, lösemide H3K27me3'ün aşırı ifadesine neden olmaktadır.⁶ H3K27 metilasyonunun UNC1999 ile inhibisyonunun kolorektal kanserli hücrelerde 5-fluorourasil hassasiyetini arttırdığını ve H3K27 seviyesinin düşmesi ile kolorektal kanseri başlatan hücrelerin kendini yenileme özelliğini azalttığı gösterilmiştir.²⁷

Her ne kadar histon modifikasyonları ve kromatin düzenlenmesini hedef alan terapötiklerden bazıları hematolojik kanserler için klinikte uygulanmaktadır. Solid tümörler için aynı başarı elde edilememiştir ancak çalışmalar halen devam etmektedir.

Kodlanmayan RNA tedavileri

Gen ifadesinin düzenlenmesini temel alan kodlanmayan RNA uygulamaları, her geçen gün artan klinik öncesi ve klinik çalışmalar sayesinde tedavide yerini almıştır. Hastalığa neden olan mRNA'ya spesifik olarak tasarlanan kodlanmayan RNA'lar, hedef mRNA'nın ifadesini sınırlar. Kodlanmayan RNA'lar, mikroRNA'lar ve siRNA'lar, uzun kodlanmayan RNA'lar, sirküler RNA'lar ve antisens oligonükleotidler olarak epigenetik tedavilerde sıklıkla çalışılmaktadır. Kodlanmayan RNA'lar translasyonu inhibe ederek veya degradasyonu artırarak hücrenin sağkalımını etkileyebildiğinden değişen ifadeleri hedeflenen biyobelirteçler olarak karşımıza çıkmaktadır.

FDA onayı almış ilk kodlanmayan RNA, patisiran adıyla kalıtsal transtiretin aracılı amiloidoz hastalarının tedavisinde kullanılmak üzere 2018 yılında piyasaya sürülmüştür. Bu siRNA, bir RNA interferans kullanılarak gerçekleştirilen ilk terapi olması nedeniyle yeni bir dönem başlatmıştır. Güncel olarak kullanılan 4 adet FDA onaylı siRNA ilacı bulunmaktadır (Tablo 1, Şekil 1) ve onlarcası klinik çalışmalarda araştırılmaya devam etmektedir.²⁸ Kalıtsal transtiretin

aracılı amiloid, moleküler olarak, transiterin proteinin yanlış katlanması sonucu amiloid fibrillerin birikmesi ile karakterize edilmiştir. Biriken amiloid plakları, otonomik nöropati, kardiyomyopati, aritmi, dispne, nefes darlığı, ödem, karpal tünel sendromu, böbrek yetmezliği, vitreus opasiteleri, glokom ve/veya gözbebeği bozuklukları kendini gösterebilir. Patisiran, lipid nanopartikülün içerisinde hücreye gönderilen, 21 nükleotit uzunluğunda bir moleküldür ve yanlış katlanma gösteren transiterini hedefleyerek parçalar.²⁹ Patisiran'ı 2019 yılında akut hepatik porfiri tedavisinde Givosiran takip etmiştir. Akut hepatik porfiri hastalığı, şiddetli karın ağrısı, hipertansiyon, taşikardi, kusma ve nöropati, kronik böbrek hastalığı ve karaciğer hastalığı ile karakterizedir. *ALAS1* geninin aşırı ifadesi ile demir metabolizmasındaki düzensizlik sonucu karaciğer işlevini gerçekleştirilemez. Tedavisi için 23 nükleotid uzunluğunda karaciğere seçici iletimi gerçekleştirmesi için tri-N-asetilgalaktozamin aracılığı ile Givosiran subkutan olarak hastalara uygulanarak *ALAS1* ifadesini azaltmaktadır.³⁰ Hastaların %74'ünde ağrıların azaldığı ve yaşam kalitelerinin arttığı gösterilmiştir.³¹

Lumasiran primer hiperoksalüri Tip1 tedavisi için 2020'de FDA onayı alan üçüncü siRNA ilacıdır.³² Primer hiper oksalüri, glikosilat metabolizmasının inhibe olmasına neden olan peroksizomal enzim alanin glioksilat aminotransferazın azalması ile kalsiyum oksalatın böbreklerde ve idrar yollarında birikmesine neden olan karaciğer kaynaklı otozomal resesif nadir bir hastalıktır. Lumasiran 23 nükleotid uzunluğunda antisens zincirine sahip, tri-N-asetilgalaktozamin aracılı subkutan olarak uygulanır. Hidroksiasit oksidaz 1 (*HAOI*)'i hedef alarak ifadesinin azalmasını sağlayarak şikayetlerin yaştan bağımsız olarak azaldığı gösterilmiştir.³³

Son olarak, 2021 yılında FDA onayı almış siRNA ilacı İnkisiran, heterozigot ailesel hiperkolesterolemi ve aterosklerotik kardiyovasküler hastalık tedavisinde kullanılmaktadır. Her iki hastalıkta da, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyesi artar. İnkisiran ilacı LDL'ye bağlanan LDL reseptörü (LDLR) ile ilişkili, *PCSK9* geninin mRNA'sını hedefleyerek, LDL düzeylerini arttıran kolesterol ve sitoplazmik Apolipoprotein B'yi düzenler. *PCSK9* üretiminin engellenmesi, LDLR bozunmasını azaltır ve LDL alımını azaltır. İnkisiran 23 nükleotidlik uzun antisens zinciri ile 21 nükleotidlik sens zincirinden oluşan Galnac aracılığı ile hücrelere gönderilir ve subkutan olarak uygulanır.³⁴

FDA onayı almış olan dört siRNA'ya ek olarak çalışmaları aktif olarak devam eden ve ön çalışmaları tamamlanmış siRNA'lar da bulunmaktadır. Bunlardan Faz III çalışmasına kadar ulaşanlar hemofili hastalığını hedefleyen Fitusiran³⁵, primer hiperoksalüri tedavisi için Nedosiran³⁶, akut böbrek yetmezliği tedavisinde Teprasiran³⁷, kuru göz hastalığı ve oküler hastalıklar için Tivanisiran³⁸ ve kalıtsal transtiretin amiloidosis kaynaklı polinöropatiler için hedeflenmiş olan Vutrisiran'dır.³⁹

Kanser alanında gerçekleştirilen kodlanmayan RNA tedavileri aktif bir şekilde klinik çalışmalarda yerini almış ve umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Bazı miRNA tabanlı tedavilerden mezotelioma tedavisinde TargomiR (mir-16 terapisi)⁴⁰, T hücre lenfoma için Cobomarsen (anti-miR-155)⁴¹, Hepatit C enfeksiyonu tedavisi için Miravirsen (anti-miR-122)⁴² kullanılarak Faz II aşamasına geçilmiştir.⁴³

Kodlanmayan RNA'lara yenilikçi çözümlerin sunulduğu bir diğer yaklaşım dCas9 olarak bilinen ölü Cas9 (dead Cas9)'dur. Katalitik olarak aktif olmayan Cas9, çift sarmallı DNA kırılmalarının gerçekleşmediği ancak kılavuz RNA bağlanma aktivitesinin korunduğu bir sistemdir.⁴⁴

Transkripsiyonel aktivatör ve baskılayıcılarla bir araya gelen dCas9 füzyonları hedef gen ifadelerini düzenleyerek terapötik bir yaklaşım olarak sunulabilmektedir.⁴⁵ Aynı anda çok sayıda geni hedefleyebilmesi ve gen düzenlemesini DNA'yı kırmadan gerçekleştirebilmesi nedeniyle araştırmada kullanımı uygundur. Diğer DNA makasları olarak bilinen ZFN'leri ve TALEN'leri oluşturmak için gereken karmaşık ve pahalı protein mühendisliğiyle karşılaştırıldığında, CRISPR-dCas, çok yönlülüğü, azaltılmış maliyetleri ve daha geniş kullanımı nedeniyle daha etkili ve çok yönlü bir teknolojidir.⁴⁶ Tedavide kullanımını sınırlayan faktörler arasında ise, hedef dışı gerçekleşen yan etkiler, sgRNA tasarım listelerinde var olan eksiklikler, hedef bölgelerinin seçiminin zorluğu ve sgRNA-cas9 dağıtım sistemlerindeki yetersizlik sıralanabilir.⁴⁷

Son yıllarda elde edilen umut verici gelişmelere rağmen, kodlanmayan RNA tedavilerinin özgün yapısından kaynaklanan bazı faktörler klinik kullanımını sınırlamaktadır. RNaz'lar tarafından hızlı degradasyon, yetersiz doku ve hücre penetrasyonu, zayıf endozomal kaçış, bağışıklık yanıtının uyarılması, yan etkilere neden olan hedef dışı etkileşimler bu faktörlerden bazılarıdır.^{43,48}

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu derleme makalede, epigenetik tedavilerin çeşitli hastalıklarda umut verici bir tedavi yaklaşımı sunduğu ve kişiselleştirilmiş tıp için önemli bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir. Histon modifikasyonları, DNA metilasyonu ve kodlanmayan RNA'lar gibi epigenetik mekanizmaları hedef alan ilaçlar, özellikle kanser, nörolojik bozukluklar ve otoimmün hastalıkların tedavisinde dikkate değer başarılar elde etmiştir. Ancak, bu tedavilerin tam olarak etkinliğini artırmak ve geniş bir hasta kitlesine ulaştırmak için daha fazla araştırma ve geliştirme çalışması gerekmektedir.

Epigenetik tedavilerden daha fazla yararlanılabilmesi için, yeni epigenetik ilaçların geliştirilmesi, kombinasyon tedavilerin uygulanması, farmakokinetik ve farmakodinamik iyileştirmelerin yapılması gerekmektedir. Konu ile ilgili klinik araştırmaların artırılması, tedavi geliştirilmesi ile ilgili multidisipliner yaklaşımların benimsenmesi önem taşımaktadır. Bu alanda yapılacak ileri araştırmalar ve klinik uygulamalar, epigenetik tedavilerin pratikte daha geniş bir yer bulmasına katkı sağlayacaktır.

Teşekkür

Çizimler için Ceren Orhan'a teşekkürlerimi sunarım.

Yazarlık katkı beyanı

Konsept ve dizayn: DS.

Verilerin elde edilmesinde: DS.

Verilerin analizi ve yorumlanmasında: DS.

Makale yazımında: DS.

Makale revizyonu ve entelektüel katkı: DS.

Yazar çıkar çatışması

Yazar potansiyel çıkar çatışması yoktur.

Fon

Bu araştırma için maddi destek alınmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Kriaucionis S, Heintz N. The nuclear DNA base 5-hydroxymethylcytosine is present in Purkinje neurons and the brain. *Science*. 2009;324(5929):929-930.
2. Zhang Y, Zhou C. Formation and biological consequences of 5-Formylcytosine in genomic DNA. *DNA Repair (Amst)*. 2019;81:102649.
3. Jones PA, Issa JP, Baylin S. Targeting the cancer epigenome for therapy. *Nat Rev Genet*. 2016;17(10):630-641.
4. Smith ZD, Hetzel S, Meissner A. DNA methylation in mammalian development and disease. *Nat Rev Genet*. Published online August 12, 2024. doi:10.1038/s41576-024-00760-8.
5. Rimoldi M, Wang N, Zhang J, et al. DNA methylation patterns of transcription factor binding regions characterize their functional and evolutionary contexts. *Genome Biol*. 2024;25(1):146.

6. Park JW, Han JW. Targeting epigenetics for cancer therapy. *Arch Pharm Res.* 2019;42(2):159-170.
7. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *The lancet oncology.* 2009;10(3):223-232.
8. Hu C, Liu X, Zeng Y, Liu J, Wu F. DNA methyltransferase inhibitors combination therapy for the treatment of solid tumor: mechanism and clinical application. *Clin Epigenetics.* 2021;13(1):166.
9. Papadatos-Pastos D, Yuan W, Pal A, et al. Phase 1, dose-escalation study of guadecitabine (SGI-110) in combination with pembrolizumab in patients with solid tumors. *J Immunother Cancer.* Jun 2022;10(6).
10. Nie J, Wang C, Liu Y, et al. Addition of Low-Dose Decitabine to Anti-PD-1 Antibody Camrelizumab in Relapsed/Refractory Classical Hodgkin Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2019;37(17):1479-1489.
11. Von Hoff DD, Rasco DW, Heath EI, et al. Phase I Study of CC-486 Alone and in Combination with Carboplatin or nab-Paclitaxel in Patients with Relapsed or Refractory Solid Tumors. *Clin Cancer Res.* 2018;24(17):4072-4080.
12. Connolly RM, Li H, Jankowitz RC, et al. Combination Epigenetic Therapy in Advanced Breast Cancer with 5-Azacitidine and Entinostat: A Phase II National Cancer Institute/Stand Up to Cancer Study. *Clin Cancer Res.* 2017;23(11):2691-2701.
13. Liang G, Weisenberger DJ. DNA methylation aberrancies as a guide for surveillance and treatment of human cancers. *Epigenetics.* 2017;12(6):416-432.
14. Fu S, Hu W, Iyer R, et al. Phase 1b-2a study to reverse platinum resistance through use of a hypomethylating agent, azacitidine, in patients with platinum-resistant or platinum-refractory epithelial ovarian cancer. *Cancer.* 2011;117(8):1661-1669.
15. Laranjeira ABA, Hollingshead MG, Nguyen D, Kinders RJ, Doroshow JH, Yang SX. DNA damage, demethylation and anticancer activity of DNA methyltransferase (DNMT) inhibitors. *Sci Rep.* 2023;13(1):5964.
16. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications. *Nature.* 2000;403(6765):41-45.
17. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell.* 2007;128(4):693-705.
18. Fullgrabe J, Kavanagh E, Joseph B. Histone onco-modifications. *Oncogene.* 2011;30(31):3391-3403.
19. Bajbouj K, Al-Ali A, Ramakrishnan RK, Saber-Ayad M, Hamid Q. Histone Modification in NSCLC: Molecular Mechanisms and Therapeutic Targets. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):11701. doi:10.3390/ijms222111701
20. Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, et al. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nature genetics.* 2005;37(4):391-400.
21. Falkenberg KJ, Johnstone RW. Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nature reviews Drug discovery.* 2014;13(9):673-691.
22. Audia JE, Campbell RM. Histone Modifications and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016;8(4):a019521.
23. San-Miguel JF, Hungria VT, Yoon SS, et al. Panobinostat plus bortezomib and dexamethasone versus placebo plus bortezomib and dexamethasone in patients with relapsed or relapsed and refractory multiple myeloma: a multicentre, randomised, double-blind phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2014;15(11):1195-1206.
24. Shanmugam G, Rakshit S, Sarkar K. HDAC inhibitors: Targets for tumor therapy, immune modulation and lung diseases. *Transl Oncol.* 2022;16:101312.
25. Chen Y, Ren B, Yang J, et al. The role of histone methylation in the development of digestive cancers: a potential direction for cancer management. *Signal Transduct Target Ther.* 2020;5(1):143.
26. Colon-Bolea P, Crespo P. Lysine methylation in cancer: SMYD3-MAP3K2 teaches us new lessons in the Ras-ERK pathway. *Bioessays.* 2014;36(12):1162-1169.
27. Lima-Fernandes E, Murison A, da Silva Medina T, et al. Targeting bivalency de-represses Indian Hedgehog and inhibits self-renewal of colorectal cancer-initiating cells. *Nat Commun.* 2019;10(1):1436.
28. Zhang C, Zhang B. RNA therapeutics: updates and future potential. *Sci China Life Sci.* 2023;66(1):12-30.
29. Kristen AV, Ajroud-Driss S, Conceicao I, Gorevic P, Kyriakides T, Obici L. Patisiran, an RNAi therapeutic for the treatment of hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Neurodegener Dis Manag.* 2019;9(1):5-23.
30. Debacker AJ, Voutilainen J, Catley M, Blakey D, Habib N. Delivery of Oligonucleotides to the Liver with GalNAc: From Research to Registered Therapeutic Drug. *Mol Ther.* 2020;28(8):1759-1771.
31. Balwani M, Sardh E, Ventura P, et al. Phase 3 Trial of RNAi Therapeutic Givosiran for Acute Intermittent Porphyria. *N Engl J Med.* 2020;382(24):2289-2301.
32. Garrelfs SF, Frishberg Y, Hulton SA, et al. Lumasiran, an RNAi Therapeutic for Primary Hyperoxaluria Type 1. *N Engl J Med.* 2021;384(13):1216-1226.
33. Scott LJ, Keam SJ. Lumasiran: First Approval. *Drugs.* 2021;81(2):277-282.
34. Lamb YN. Inclisiran: First Approval. *Drugs.* 2021;81(3):389-395.
35. Machin N, Ragni MV. An investigational RNAi therapeutic targeting antithrombin for the treatment of hemophilia A and B. *J Blood Med.* 2018;9:135-140.
36. Kletzmayer A, Ivarsson ME, Leroux JC. Investigational Therapies for Primary Hyperoxaluria. *Bioconjug Chem.* 2020;31(7):1696-1707.
37. Gallagher KM, O'Neill S, Harrison EM, Ross JA, Wigmore SJ, Hughes J. Recent early clinical drug development for acute kidney injury. *Expert Opin Investig Drugs.* 2017;26(2):141-154.
38. Moreno-Montanes J, Bleau AM, Jimenez AI. Tivanisiran, a novel siRNA for the treatment of dry eye disease. *Expert Opin Investig Drugs.* 2018;27(4):421-426.
39. Habtemariam BA, Karsten V, Attarwala H, et al. Single-Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics

- of Transthyretin Targeting N-acetylgalactosamine-Small Interfering Ribonucleic Acid Conjugate, Vutrisiran, in Healthy Subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2021;109(2):372-382.
40. van Zandwijk N, Pavlakis N, Kao SC, et al. Safety and activity of microRNA-loaded minicells in patients with recurrent malignant pleural mesothelioma: a first-in-man, phase 1, open-label, dose-escalation study. *Lancet Oncol.* 2017;18(10):1386-1396.
 41. Foss FM, Querfeld C, Kim YH, et al. Ph 1 study of MRG-106, an inhibitor of miR-155, in CTCL: *Journal of Clinical Oncology.* 2018;36(15):2511-2511. doi:10.1200/JCO.2018.36.15_suppl.2511
 42. Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med.* 2013;368(18):1685-1694.
 43. Kara G, Calin GA, Ozpolat B. RNAi-based therapeutics and tumor targeted delivery in cancer. *Adv Drug Deliv Rev.* 2022;182:114113.
 44. Griazeva ED, Fedoseeva DM, Radion EI, et al. Current Approaches to Epigenetic Therapy. *Epigenomes.* 2023;7(4):23. doi:10.3390/epigenomes7040023
 45. Winkle M, El-Daly SM, Fabbri M, Calin GA. Noncoding RNA therapeutics - challenges and potential solutions. *Nat Rev Drug Discov.* 2021;20(8):629-651.
 46. Rabaan AA, AlSaihati H, Bukhamsin R, et al. Application of CRISPR/Cas9 Technology in Cancer Treatment: A Future Direction. *Curr Oncol.* 2023;30(2):1954-1976.
 47. Sharma G, Sharma AR, Bhattacharya M, Lee SS, Chakraborty C. CRISPR-Cas9: A Preclinical and Clinical Perspective for the Treatment of Human Diseases. *Mol Ther.* 2021;29(2):571-586.
 48. Segal M, Slack FJ. Challenges identifying efficacious miRNA therapeutics for cancer. *Expert Opin Drug Discov.* 2020;15(9):987-992.

To Cite: Seven D. Current Epigenetic Treatments. *Farabi Med J.* 2024;3(3):111-118. doi:10.59518/farabimedj.1542765