

EPİGENOM ve EPİGENETİK

Beran YOKUŞ¹

¹Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, 21280 Diyarbakır, Türkiye

Özet

Her ne kadar DNA'nın kimyasal ve moleküler yapısı anlaşılmiş olsa da, son on yıldır elde edilen bulgular sayesinde artık her şeyin DNA'da bitmediği bilinmektedir. Yaşamı sürdürebilmek için çevresel uyarılara uygun tepki göstermeyi gerektirir. Embriyodan yaşamın sonuna kadar geçen süreçte, gen ifadelerinde değişiklikler gözlemlenir. Genomda bulunan genler, belirli hücrelerde ve belirli zamanlarda ifade edilir. Bu yeni kavrama "genler üstü genetik" anlamına gelen "epigenetik" denilmektedir. Epigenetik düzenlemelerde ve mekanizmalarda yer alan tüm oluşumlara ise "epigenom" denir. Epigenetik değişiklikler bir genin aktivasyonuna ya da sessizleşmesine neden olurlar, bu ise bir geni aktive edici, mutasyon ya da delesyon gibi genetik bir mekanizmaya benzerdir. Fakat, epigenetik değişiklikler baz dizisinde bir değişime neden olmadan ortaya çıkarlar ve çoğu kez geriye dönüşümlüdür. Gen regülasyonunun düzenlenmesi, hücrelerin nasıl differansiye olduklarının belirlenmesinde ve nasıl kansorejen hale geldiklerinin anlaşılmasında hayati önem taşımaktadır. Bu çalışmada en az genetik kadar önemli ve çok yeni olan epigenetik hakkında, bilgiler derlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Epigenetik, Epigenom, DNA Metilasyonu, Histon Modifikasyonu, genetik ifadenin düzenlenmesi.

Epigenome and Epigenetic

Abstract

Although the chemical and molecular structure of DNA understood, thanks to the findings of the last ten years, is known that everything is not over the DNA. To sustain of the life are requires of the appropriate response to environmental stimuli. Embryo to until the end of life, changes in gene expression observed. Genes in the genome is expressed at certain times and in certain cells. This new grip is called that "epigenetic". All of the mechanisms of epigenetic regulation is called that "epigenome". Epigenetic alterations cause of the gene silencing or activation, such as a genetic mutation or deletion mechanism. However, epigenetic alterations are emerging without change of the base sequence, and occurring often recyclable. Arrangement of the gene regulation is vital importance to understanding of the cells how they differentiated and they can be carcinogenic. In this study the information is compiled about that epigenetic, which is important at least as genetic.

Key words: Epigenetic, Epigenom, DNA metilation, Histon modifications, Regulation of genetic expression

Her ne kadar DNA'nın kimyasal ve moleküler yapısı anlaşılmiş olsa da, son on yıldır elde edilen bulgular sayesinde artık her şeyin DNA'da bitmediği bilinmektedir. Yaşamı sürdürebilmek için çevresel uyarılara uygun tepki göstermeyi gerektirir. Embriyodan yaşamın sonuna kadar geçen süreçte, gen ifadelerinde değişiklikler gözlemlenir. Genomda bulunan genler, belirli hücrelerde ve belirli zamanlarda ifade edilir. Bir başka deyişle DNA'nın üstünde bir ya da birkaç başka boyutu daha var. Bu yeni kavrama "genler üstü genetik" anlamına gelen "epigenetik" denilmektedir. Başka bir tanımla, genlerin ne zaman, nerede ve ne kadar çalışacağını belirleyen, DNA'nın yapısında veya diziliminde herhangi bir değişiklik olmaksızın 'DNA'da kodlu olan genetik bilginin" açığa çıkmasını sağlayan ve düzenleyen mekanizmaları inceleyen bilim dalına "epigenetik" denir. Epigenetik düzenlemelerde ve mekanizmalarda yer alan tüm oluşumlara ise "epigenom" denir. En az genetik kadar önemli olan epigenetik

hakkında, henüz çok yeni bir konu olduğu için yeterli bilgiye sahip olmamakla birlikte, bu konuda yapılan çalışmalar yoğunluk kazanmaktadır.

Epigenetik değişiklikler bir genin aktivasyonuna ya da sessizleşmesine neden olurlar, bu ise bir geni aktive edici, mutasyon ya da delesyon gibi genetik bir mekanizmaya benzerdir. Fakat, epigenetik değişiklikler baz dizisinde bir değişime neden olmadan ortaya çıkarlar ve çoğu kez geriye dönüşümlüdür. Genom, canlının parça listesi gibidir, bize canlının nelerden yapıldığını söyler ama bunların nasıl çalışacağını söylemez. Daha kolay anlaşılır olması için genomu CD çalara benzetilebiliriz, CD çalara ne çalışacağını ise takacağımız CD söyler.

Gen regülasyonunun düzenlenmesi, hücrelerin nasıl differansiye olduklarının belirlenmesinde ve nasıl kansorejen hale geldiklerinin anlaşılmasında hayati önem taşımaktadır. Embriyonun gelişim süresince, başlangıçta tek bir hücre çoğalmaya başlayarak,

memeli vücudunu oluşturan 200'ün üzerinde rağmen, değişik hücre tiplerine özelliklerini kazandıran, onlarda çalışan genlerin farklı oluşudur. Ya da bir beyin hücrelerini bir karaciğer hücrelerinden ayıran, sahip olunan genlerden hangisinin beyin hücrelerinde, hangisinin ise karaciğer hücrelerinde çalıştığıdır.

Hem hücre farklılaşmasının hemde farklı dokularda farklı genlerin ifade olmasının temelinde epigenetik düzenleme yatmaktadır. Burada susturulmuş ve çalışan genlerin farklı kombinasyonları, vücudu oluşturan farklı hücre tiplerini ortaya çıkarmaktadır (Bunu Hox genleri* ile karıştırmamak gerekir). Hangi genlerin çalışıp hangilerinin suskun kalacağı, hücre ve doku tipine bağlı olmakla birlikte, organizmanın yaşamın hangi evresinde olduğuna da bağlıdır. Örneğin yaşamın ilk evresinde çalışmayan üreme ile ilgili faaliyetleri düzenleyen genlerin, ergenlikle beraber etkinlik göstermesi gibi.

Herhangi bir fenotipik özelliğin ortaya çıkışı, var olan genotipin mutlak sonucunun bir yansıması değil, çevresel faktörlerin genleri nasıl etkilediğine bağlı olarak değişir. Maruz kalınan çevresel uyaranlar, biyolojik potansiyelin gerçekleşmesini tetikleyebilir ya da engelleyebilir. Örneğin, aynı genetik yapıyı taşıyan tek yumurta ikizi kardeşlerden sadece birinin kanser olup diğerinin olmamasında, genetik faktörü etkileyen bir şeyler vardır. Bu ise büyük ihtimalle dış etkidir.

Kısaca genetik anlatımın yorumlanmasındaki farklılıkları araştıran epigenetik değişiklikler, ta anne karnında başlar, Özellikle embriyonik dönemde ve kritik periotlarda, düzenleyici genler ve büyüme ile ilgili genler üzerinden fetal programlamayı etkileyerek kalıcı değişikliklere aracılık etmektedir. Bu süreç beslenme, uyaran düzeyi, bakım tutumu, toksik maruziyetler gibi çevresel uyaranlara oldukça açıktır. Tek bir besin, toksin, davranış ya da çevresel maruziyet genetik kodu değiştirmeden genin aktive olmasını ya da sessizleşmesini (silencing) sağlayarak genetik anlatımı etkiler. Doğumdan sonraki 6 gün bebeğe yakın ilgi ve bakım gösterme GR (Glucocorticoid receptor) öncülünün DiP not:

*Hox (homeobox) geni, birçok canlıda ortak bulunan, vücudun organlarının inşası esnasında bunların sırasının düzenlenmesine sağlayan, kromozom üzerinde belli bir sırayla dizilmiş yaklaşık 40 adet genden oluşan gen topluluğudur. Fakat bir organın (örneğin karaciğer) üretim bilgisi hox genlerinde bulunmaz, sadece bu bilgiyi taşıyan genleri aktif veya pasif hale geçirirler. Yani sadece belli bir üretimle ilgili gen grubunu açıp kapatan düğmeler gibidir.

Epigenetik Mekanizmalar

Ökaryotların DNA'sı kromatin şeklinde pakletlendiğinden, transkripsiyon için kalıp olarak kullanılabilirliği sınırlıdır. Genlerin çalışabilmesi için "transkripsiyon faktörleri" adı

farklı hücre tipine dönmektedir. Bir canlının metilasyonunu azaltarak GR ekspresyon düzeyini arttırmıştır. Hipokampusta GR ekspresyonunun artışı yaşam boyu "strese dayanıklılığı" artırır (1). İnsanlar için çocukluğun erken safhalarında yaşananlar, yetiştiriliş tarzı, genlerin dışa vurumunu etkiler. Bazılarını etkin kılıp bazılarını devre dışı bırakır.

Zaten biz yüzyıllardır genetik özelliklerin ortaya çıkmasında, çevresel faktörlerin önemli olduğunu bilmekteyiz. Pedigrileri belli soylu tayların daha çok tercih edilmeleri, ileride onların daha iyi bir koşucu olacaklarına dair en önemli ipucudur. Ya da mavi ve beyaz sertifikalı ineklerin Tarım Bakanlığı tarafından desteklenmesinin sebebi onların genetik kapasitelerinin bilinmesinden kaynaklanır. Bu genetik potansiyelin ortaya çıkmasında ise bakım, beslenme, iklim vs. dış etkenlerin önemli olduğu herkes tarafından bilinmektedir.

Asıl öğrenmemiz gereken soru şudur; eğer genler ancak epigenetik mekanizmalarla aktifleşip sessizleşiyorsa, hangi genin metilasyona uğrayacağına ya da hangi kromozonun modifiye olup o bölgedeki genin aktivitesinin düzenleneceğini ne belirliyor? Biyolojik süreçlerde genellikle birden fazla kontrol ve düzenleme katmanı vardır, siRNA ve miRNA'nın DNA metilasyonu yaparak kendi sentezini düzenlemesi gibi, belki de bunun gibi birçok silsile daha bulunmaktadır. Bundan başka dış etkenlerinde gen ifadesinde önemli rol oynadığının altını bir kez daha çizmek gerekir.

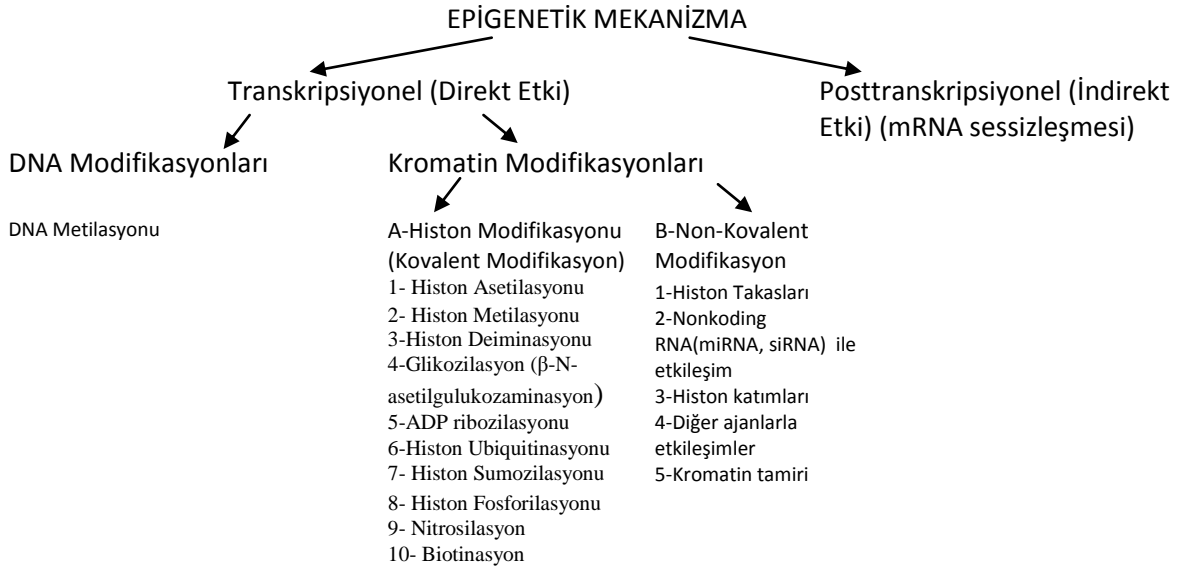
Düşüncelerin bile bir genin işleyişini düzenlediği iddia edilmektedir. Klasik müzik dinleyen ineklerin süt veriminin artmasının altında beklide epigenetik yatmaktadır. Daha bilmediğimiz ve öğrenecek çok şeyimizin olduğu mutlak ve yeni şeyler öğrendikçe her şey daha çok karmaşıklaştığı ve zorlaştığı aşkardır. Oldukça karmaşık ve yeterince aydınlatılmamış bu epigenetik ilişki yumağı biyokimyadan, felsefeye kadar tüm yaşamı derinden etkileyecek gibi durmaktadır (2).

verilen protein yapıdaki moleküllerin DNA üzerindeki kontrol bölgelerine bağlanması gereklidir. Bunun gerçekleşebilmesi için ise çalışacak genlerin bağlı olduğu kromatinin gevşeyip açılması gereklidir, böylece çalışacak

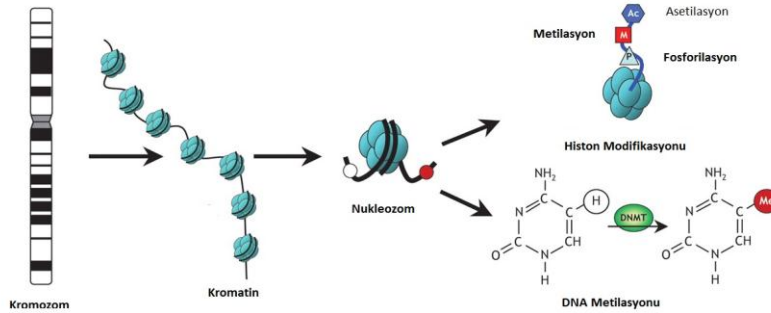
genler aktive olur. Bunun tersine kromatin yapı sıkışıp yoğunlaştığında, transkripsiyon faktörleri onlara ulaşamaz ve ilgili bölgedeki genler inaktive olur, sessizleşir yani gen anlatımı durur. Bu mekanizmalar temel olarak transkripsiyon regülatörlerinin DNA'ya ulaşabilirliğini etkilerler (1,2).

Kromatin yapıdaki bu değişiklikleri ise en başta, histon modifikasyonları ya da DNA

metilasyonu yoluyla olur. Histon modifikasyonlarıyla, DNA metilasyonu arasında da direkt ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Bunların birlikte çalışarak gen ifadesinin durumunu belirlediği ve hücrenin yazgısının belirlenmesinde önemli rol oynadığı kabul edilmektedir.



Şekil 1: Epigenetik düzenlenme yolları



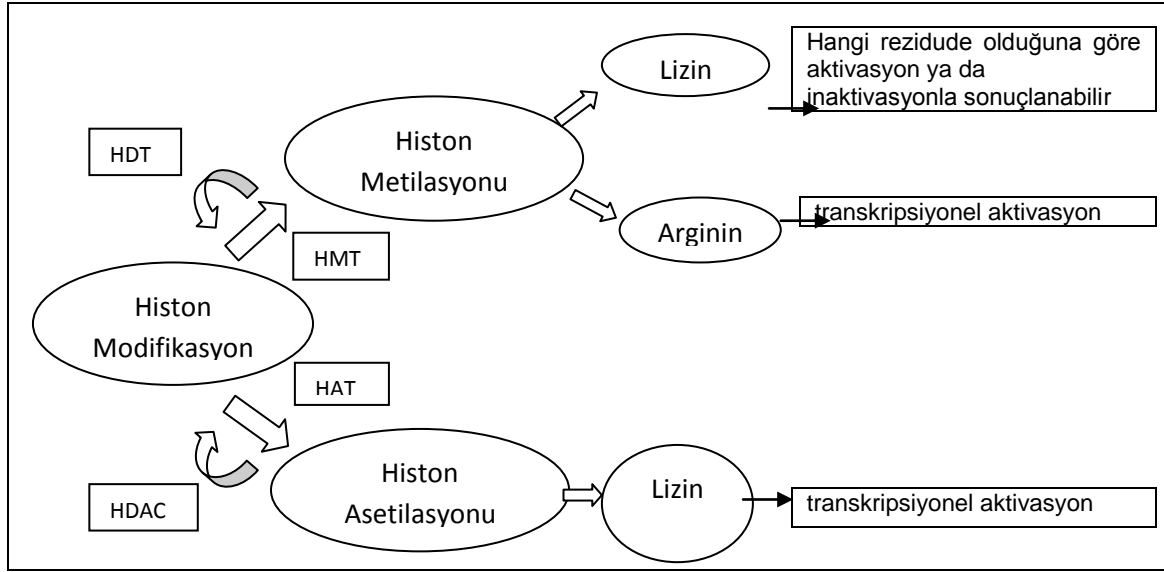
Şekil 2: Epigenetik mekanizmalar

I- Kromatin Modifikasyonları

A.Histon modifikasyonları:

Ökaryotik hücrelerde DNA, beş tip histon proteini ile paketlenerek nükleozom yapısını oluşturmaktadır (3). Histon proteinlerinin bazik amino terminal kuyrukları nükleozomdan çıkıntılar yapar ve asetilasyon, metilasyon, ubiquitinizasyon, fosforilasyon, ribozilasyon ve sumozilasyon gibi birtakım posttranslasyonel modifikasyonlara uğrayabilir. Tüm bu modifikasyonlar sonucu, histonların

elektrostatik yükü etkilenerek, kromatin yapısının gevşek ya da sıkı olma durumunu değiştirdiği ve transkripsiyonu düzenleyici protein komplekslerinin DNA'nın promotör bölgelerine ulaşabilirliğinin etkilendiği düşünülmektedir (4-9). Özetle bu mekanizmalar, kromatin yapısında değişiklikler yaparak transkripsiyon düzenleyici proteinler için tanınma bölgesi oluşturur. Böylece Histonlar üzerinde yapılan bu değişiklikler gen ifadesinde regülatör rol oynar.



Şekil 3: Histon Modifikasyonu ve etkileri (HDT: Histon demetilaz, HMT: Histon metil transferaz, HAT: Histon asetilaz, HDAC: Histon deasetilaz)

Bu modifikasyonların kromatinin yapısını nasıl etkilediği, nükleozomların yüksek çözünürlüklü x-ışını kristalografisi kullanılarak görüntülenmesiyle ortaya çıkartılmıştır. Meydana gelen çoğu histon modifikasyonu reversibildir ve modifikasyon seviyesi ile transkripsiyon seviyesi sıkı ilişki içerisindedir. Modifikasyonlar tek başlarına veya farklı kombinasyonlarda bulunarak kromatine bazı anlamlar yüklemekte veya bu anlamları değiştirebilmektedir. Böylece histon-DNA ve histon-histon ilişkisi etkilenmekte, DNA paketlenmesi, replikasyonu, tamiri ve gen ifadesinin kontrolü gibi birçok biyolojik olay kontrol edilebilmektedir.

1- Histon Asetilasyonu:

1964 yılında histonlarda asetilasyon görüldüğü bildirildiğinden beri, üzerinde en çok çalışılan histon modifikasyonu asetilasyondur (4). Negatif (-) yüklü asetil grubunun histon proteininin amino ucuna takılmasıyla, pozitif (+) yüklü lizin aminoasiti yükünü kısmen kaybederek nötral amid bağlarına dönüşür. Yani histonlar ve DNA arasındaki elektrostatik etkileşim zayıflar ve kromatide gevşeme meydana gelir. Bu olduğunda transkripsiyon faktörlerinin genlerin promotor bölgelerine ulaşmaları kolaylaşmakta, bu sayede RNA polimeraz gibi enzimlere maruz kalması sağlanmakta ve gen transkripsiyon gerçekleşmektedir.

Histonların asetilasyonu histon asetil transferaz (HAT) ve histon deasetilaz (HDAC) enzimleri tarafından düzenlenmektedir (Daha

sonra yapılan çalışmalar, HDAC'ın bir alt versiyonunun, embriyonik kök hücre farklılaşmasını düzenlediği bulunmuştur). Asetilasyon geri dönüşümlü bir olaydır. Asetillenmiş lizin amino asitinden asetil grubunun ayrılmasıyla kromatin tekrar kondense olmaktadır ve transkripsiyon baskılanmaktadır. Kromatinin belli bir bölgesinde histonların asetile olması, o bölgenin transkripsiyonel açıdan aktif olduğunu gösterirken, deasetile olması transkripsiyonun baskılandığını göstermektedir (5).

2- Histon metilasyonu:

S-adenozil metiyoninden (SAM), metil gruplarının histonlara aktarılması histon metiltransferaz (HMT) olarak adlandırılan enzim tarafından gerçekleştirilir. Histon asetilasyonu ve histon fosforilasyonunun aksine, histon metilasyonu histonların yükünü değiştirmez. HMT enzimleri ile histondaki arjinin yada lizin kalıntıları hedef alınabilir. Arjinin bir ya da iki kere metillebilir ve bu durum transkripsiyonel aktivasyona neden olur. Histon lizin metilasyonu ise, asetilasyonun tersine, hangi rezidude olduğuna göre aktivasyon ya da inaktivasyonla sonuçlanabilir. 2002 yılına kadar histon metilasyonunun stabil ve değişmez olduğu sanılıyordu, 2004 yılında spesifik demetilazların (HDT) keşfi ile reaksiyonun geriye dönüşümlü olduğu kesinleşmiştir. Belli aminoasit kalıntıları üzerinde metillenmiş olan histonlar epigenetik biçimde etki ederek gen ifadesini etkinleştirebilir veya engelleyebilirler

3-Histon deiminasyonu:

Arginin'in sitriline dönüşümüne neden olur. Bu reaksiyon "peptidyl deiminase" (PADI) tarafından katalize edilir. Bu dönüşüm sonucu pozitif yük nötral hale geçer ve kromatinde gevşeme oluşur.

4-Histon glikozilasyonu (β -N-asetilglukozaminasyon):

Histon zincirinin serin veya treonin uçlarının β -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) şekeri ile modifiye edilmesidir. UDP-GlcNAc verici olarak kullanılır ve reaksiyon O-GlcNAc transferaz ile katalize edilir. Reaksiyon β -N-acetylglucosaminidase (O-GlcNAcase) enzimi ile geriye dönüşebilir.

5-Histon ADP ribozilasyonu:

Histonların glutamat yada arginin rezidülerinin, geriye dönüşümlü olarak ribozillenebildiği bilinsede, bu modifikasyonun fonksiyonu bilinmemektedir. Artmış DNA hasarına paralel olarak miktarıda artar. Poly-ADP-ribose polimeraz (PARP) enzim ailesi tarafından katalize edilir. Ribozile histonların miktarı ile kromatin gevşekliği arasında korelasyon vardır. Bunun olası nedeni ise histonun negatif yüklenmesi yada PARP'ların, histon asetilasyonunun seviyesini artırması olduğu düşünülmektedir.

6-Histon Ubiquitinasyonu:

Yukarıda anlatılmış olan histon modifikasyonları, aminoasit zincirinde küçük moleküler değişiklikler yapsada, ubiquitinasyon daha büyük moleküler değişiklik yapar. Ubiquitin bilindiği gibi, proteinlerin 3 boyutlu yapısının kazanılmasında görev yapan 76 amino asitten oluşan bir polipeptiddir. Histonların lizin rezidülerine 3 enzimden oluşan bir enzim kompleksi ile bağlanır.(E1 -activating, E2-conjugating ve E3-ligating enzimleri). Histon ve DNA arası bağlar gevşer ve transkripsiyonu aktive eder.

7-Histon Sumozilasyon

Sumozilasyon, ubiquitinasyon ile ilişkili bir modifikasyondur ve E1, E2, E3 enzimleri ile small ubiquitin-like modifier -"küçük-ubiquitin-benzeri" (SUMO) moleküllerin histonların lizin rezidülerine bağlanmasıdır. Görevi asetilasyon ve ubiquitinasyonun tersidir yani transkripsiyoniyonel baskılanmaya yol açar.

8- Histon Fosforilasyon:

Fosfatlar histon deasetilazlara serin, treonin ve tirozin rezidülerinden bağlanır. Fosforilasyon, protein kinazlar (PK) ve protein fosfatazlar (PP) tarafından fosfat gruplarının geri dönüşümlü olarak Histon deasetilazlara bağlanmasıdır.

9- Histon Nitrasilasyon: Sistein rezidüsünden nitrosil grubunun, histon deasetilazlara eklenmesi reaksiyonudur. Bu olay histon deasetilazların katalitik aktivitesini etkiler ve histona bağlı korepresörlerin ayırlanmasına neden olur.

B. Non-kovalent modifikasyonlar,

Bunlar Histon takasları, histon katılımları, kromatin tamiri, kromozom içi etkileşim, kodlamayan (noncoding) RNA ile etkileşimlerdir. Özellikle epigenetik süreçte rol aldığı gösterilen RNA (non-coding RNA) adı verilen bu küçük RNA moleküllerinden, miRNA (micro RNA), siRNA (small-interfering RNA) posttranskripsiyonel ve posttranslasyonel sessizleştirilmelere neden olur. Bunlar tümör supresör gibi davranarak (miR-15 ve miR-16) onkogenleri inhibe ettikleri veya tam tersi olarak onkogen gibi (miR155) hareket ederek tümör supresörleri inhibe ettikleri gösterilmiştir.

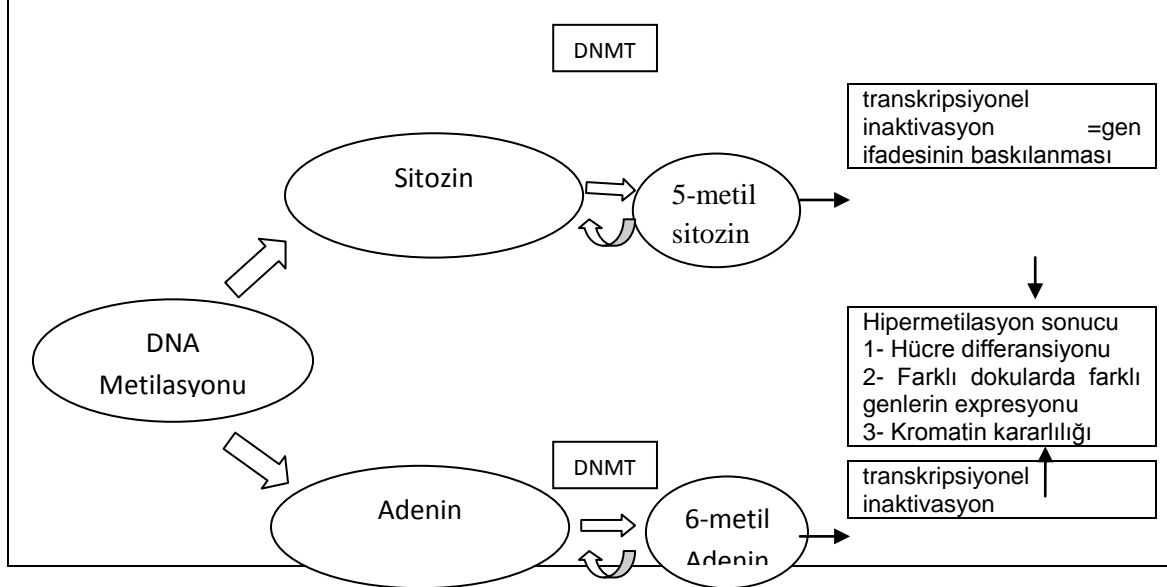
II-DNA Modifikasyonu

DNA Metilasyonu:

DNA metilasyonu, Sitozin ya da Adenin nükleotidlerinin metillenmesidir. Genlerin sessizleşmesiyle sonuçlanan ve en çok araştırılan epigenetik mekanizmadır. Daha çok, DNA dizisinde bulunan CpG* (Citozin-fosfat-Guanin) bölgelerinde görülen DNA metillenmesi sonucu, sitozinin 5. karbon atomu metillenir ve 5-metil sitozin oluşur. Ya da Adenin'in 6. Pozisyonunda bulunan azotun metillenmesi görülür. Bu reaksiyon DNA-metiltransferaz (DNMT) enzimi ile katalize edilir.

Genlerin promotor bölgelerindeki metilasyon seviyesinin azalması ile gen ifadesindeki artış arasında korelasyon vardır. Genlerin promotor bölgelerindeki metillenme, transkripsiyon faktörlerinin tanıma bölgelerinde değişiklikler oluşturarak, transkripsiyon faktörlerin bağlanmasını engellemekte ve gen ifadesinin baskılanmasında rol oynamaktadır. Başlangıçta tek bir çeşit hücre olan embriyonik kök hücrenin farklılaşarak 200'ün üzerinde farklı somatik hücreye dönüşmesinin temelinde bu mekanizma rol oynar. Ayrıca farklı dokularda farklı genlerin ifade olmasının temelinde yine bu düzenleme yatmaktadır. Metilasyon oranı, genomdaki tekrar dizilerinin ve transpozonların CpG bölgelerinde yüksektir, bu sayede transkripsiyon baskılanmakta ve transpozonların genom içerisindeki hareketi engellenerek kromatin kararlılığının korunmasında fonksiyon görür (7, 8). Hipometilasyon ise bunun tersine yol açar.

Dip Not: CpG adacıkları ise genlerin promotor bölgelerinde bulunan, yaklaşık 500 baz çifti uzunluğunda ve %55'ten fazla CG içeren, metilasyon oranı düşük olan korunmuş dizilerdir [2]. DNA metilasyonunun, transkripsiyon faktörlerinin bağlanması nı engelleyerek veya metilli DNA'ya bağlanan proteinkompleksleri sayesinde kromatin yapısını değiştirerek genlerin ifadesini baskıladığı düşünülmektedir.



Şekil 4: DNA metilasyonu ve etkileri. (DNMT: DNA-metiltransferaz)

Epigenetik Hastalıklar ve Kanser

Yakalanılan hastalıklarda, taşınan genlerin, önemli bir etken olduğu bilinmektedir. Oysa bazen hastalık yapıcı genlerin DNA da taşınmasına rağmen o hastalığa yakalanılmamasının sebebi, o hastalığa ait genlerin aktif hale geçmemesidir. Epigenetik işleyişte bir sapma olduğunda ortaya çıkan gen anlatımındaki anormallikler çeşitli klinik sonuçlara yol açabilir.

Mekanizmaların herhangi birindeki hata, genlerin ifadesinin aşırı artmasına veya baskılanmasına neden olarak epigenetik hastalıklara yol açmaktadır (7). Mekanizmanın anlaşılması ise epigenetik hastalıkların etiolojisinin anlaşılmasını sağlayacağı gibi olası müdahaleleride yapılabilir kılar. Kanser,

genetik ve epigenetik hataların birikimiyle ortaya çıkan ve sağlıklı hücrenin metastazik tümör hücresine dönüşmesiyle sonuçlanan, çok basamaklı multifaktöriyel bir hastalıktır. DNA metilasyonu ve kanser arasındaki ilişki ilk kez 1983 yılında ortaya konmuş, kanser hücre genomlarının normale göre hipometile olduğu gösterilmiştir. Habis bir hücre normal halinden %20-60 daha az genomik 5-metil sitozin içerebilir. DNA'nın hipometilasyonu, onkogenleri aktive eder ve transpozon hareketliliğini artırır, sonuçta genomik kararsızlığa neden olarak kanser oluşuma neden olur. Ayrıca, metilasyon kaybının da hastalığın ciddiyetini ve metastazı etkilediği bilinmektedir (8).

DNA Hipermetilasyonu 5 mekanizma aracılığıyla karsinogeneze katkıda bulunur:

- DNA onarım mekanizmasında görevli enzimlerin kodlayan genleri inaktive ederek, sessizleştirir.
- Sinyal iletiminde görevli genleri inaktive eder (Hücre differansiyonu ve hormonal düzenlenme)
- Hücre siklusu düzenleyicisi olarak görevli genleri inaktive eder.
- Apoptozda (programlanmış hücre ölümü) görevli genleri inaktive eder.
- Detoksifikasyonda görevli genleri inaktive eder.

Kanser hücrelerinde kanserle ilişkili spesifik genlerin hipermetilasyonlarında görülmektedir. Bu şekilde genomda hayati fonksiyonu olan pek çok gen sessizleştirilir ve tümör oluşumuna neden olur. Örneğin; DNA

tamirinde yer alan (BRC1, MLH1, MGMT) genleri, sinyal iletiminde görev alan (APC, RASSF1, LKB1/STK11) genleri, apoptosis de görev alan (p53, DAPK ve caspaz 8) genleri, hücre siklusunda yer alan (RB1, p14 ARF),

genleri ve detoksifikasyonla ilişkili genlerinin hipermetilasyonu gibi. Bu durum kanser hücrelerine büyüme ve çoğalmasını sağlamakta, kanserin yayılmasını kolaylaştırmaktadır(9, 10). CpG adaları hipermetile olduklarında, kanser hücre genomları da göze çarpar bir şekilde

global hipometilasyona uğrarlar. Bu metil grubu kaybı, exonlar (kodlayıcı alanlar) ile intronların hipometilasyonu ve tekrarlayıcı dizilerin demetilasyonu sebebiyle gerçekleşir.

DNA Hipometilasyonu 3 mekanizma aracılığıyla karsinogeneze katkıda bulunur:

- a. Artan onkogen aktivitesi
- b-Transpozon hareketleri artar. Genomik kararlılık kaybolur
- c- İmprinting kaybı

Diyetteki dengesizlikler hipometilasyona yol açarak, gen ifadesinde bozukluğa ya da kromozomal düzensizliklere yol açabilir. Metaller ya da aromatik hidrokarbonlar gibi maruz kalınan çevresel ajanlar da genomu destabilize ederek yada hücre metabolizmasını etkileyerek epigenetik paternlerde değişikliklere neden olabilir. Yaşlanmaya bağlı olarak artmış epigenetik değişikliklerin, gen ifadesinin kontrolünde aksamalara yol açtığı ve kanser, nörodejenerasyonlar ve otoimmün bozukluklarda rol oynadığı düşünülmektedir. Son zamanlarda, şizofreni ve davranış bozukluğu hastalıklarında DNMT genlerinin bu tür hastalıklarda rolü olduğu yolunda birçok çalışma yapılmıştır.

Kanser ve Epigenetik Terapi:

Epigenetik, sadece kanser tanısında değil, terapisinde de yeni yaklaşımların gelişmesine katkıda bulunmaktadır. Farelerde kanser hücrelerinde gözlemlenen promotor hipermetilasyonu oluşuma karşı, DNMT inhibitörlerinin başarıyla uygulanmış olması, DNA metilasyonunun karsinogeneze önemli bir rolü olabileceğini göstermiştir. Kanser epigenetik temellerinin olduğunun anlaşılması üzerine, epigenetik hataların düzeltilmesi amacıyla yürütülen ilaç araştırma-geliştirme çalışmaları son yıllarda büyük hız kazanmıştır. DNA metilasyon ve histon modifikasyon profilini değiştirebilen ilaç adayları bileşikler geliştirilmeye başlanarak klinik aşamalara geçilmiştir. Bu ilaçlar tek başlarına ya da diğer terapatik ilaçlarla birlikte kullanılabilir. Örneğin, tümör-supresör genlerin ve DNA onarım mekanizmalarının yeniden aktivasyonu ile hücreler kimyasallara duyarlı hale gelebilir ve bundan sonra başka bir yöntemle tedaviye iyi cevap alınabilir. Kullanılan bazı ilaçların bir kısmı ise tümör oluşumunu engellerken, kemik iliği toksikasyonuna ve sitopeniye, yeni hücrelerde mutasyon oluşumlarına yol açma gibi dezavantajları da vardır.

Geliştirilen ilaç adayları arasında en çok ümit vadeden bileşikler 1-DNMT inhibitörleri ve 2- HDAC inhibitörleridir (7).

1-DNA metiltransferaz (DNMT) inhibitörleri: DNA metilasyonu ile birçok tümör supresör genin-transkripsiyonun baskılanmasından dolayı, metilasyonda görevli DNMT enziminin inhibitörleri kullanılarak, bu baskının kaldırılması ve tümör supresör genlerin tekrar eksprese olması amaçlanmıştır. Bunlar Etki mekanizmalarına göre, iki sınıf altında incelenmektedir

a-Nükleozid analogu olan DNMT inhibitörleri: 5-Aza-2'-deoxycytidine (decitabine) ve 5-Fluoro-2'-deoxycytidine adlı moleküller (gemcitabine), nükleozid yapısına benzer ve yeni sentezlenen zincirin yapısına katılır. DNMT hücre içine girmiş decitabine yada gmcitabine ile kompleks oluşturarak kataliz yeteneğini kaybeder ve bundan sonra sentezlenecek DNA zincirinin hipometile olması sağlanır. Fakat decitabine genomla bütünleştiği için, eğer bu hücreler yok edilmez ise, mutasyonlara, miyelotoksiteye ve sitopeniye neden olur bu dezavantajlar ise terapatik yaklaşımı sınırlandırmaktadır.

b- Nükleozid analogu olmayan DNMT inhibitörleri: Nükleozid analoglarının olumsuz etkilerinin belirlenmesi üzerine, nükleozid analogu olmayan bileşiklerin geliştirilmesi çalışmaları yoğunlaşmıştır. RG108 ve yeşil çayda bolca bulunan (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) adlı bileşikler, DNMT'nin aktif merkezine bağlanarak enzimin aktivitesini engeller ve DNA metilasyonunda azalmaya sebep olur.

Lokal bir anestezi olan Prokain ve türevleri kanser hücrelerinde, CG'ce zengin dizilere bağlanarak metiltransferazın hedef bölgelere bağlanmasını engellediği ve hipermetile olan tümör supresör genlerin tekrar aktive olmalarını sağlarlar.

2-Histon deasetilaz (HDAC) inhibitörleri: Histon asetilaz (HAT)'ın tersi reaksiyon yapan HDAC inhibitörleri, histonların

deasetilasyonu engellenmekte, histonlar asetile halde kalmakta ve transkripsiyonun sürekliliği sağlanmaktadır. Böylece transkripsiyon faktörleri ve tümör baskılayıcı proteinler gibi histon olmayan bazı proteinlerin asetilasyonunu arttırarak tümör büyümesini ve metastazı önemli ölçüde azalttıklarını göstermiştir. En sık

Epigenomik ve Epigenom Projesi:

Epigenomik, epigenetik ve genomik bilimlerinin birleştiği yeni bir disiplin olarak ortaya çıkmıştır. Epigenomik araştırmanın amacı, genetik regülasyonu anlamak ve bunun hücrel büyüme ve farklılaşmaya etki ile yaşlanma ve hastalıklardaki rolünü aydınlatmak ve yeni tedavi imkanlarının yaratılması olarak özetlenebilir. Son yıllarda epigenetikçiler, organize bir epigenom projesinin gerekliliği üzerinde fikir birliğine vardılar (10-12).

Bu projede karşılaşılan en büyük handikaplar şunlardır

- Öncelikle, epigenetik bilgi, tek bir gende yüzlerce metilenmiş sitozin ve onlarca histon modifikasyonu taşıyabildiği için, doğası gereği oldukça karmaşıktır.
- İkinci olarak, epigenetik bilgi, genetik bilginin tersine stabil değildir ve geriye dönebilir.
- Dokulara özgü olarak epigenetik değişimler gözlenebilir, yani belirli lokuslarda kısmi metilasyon görülebilir ve görülen metilasyonun yoğunluğunda farklılıklar olabilir.

Epigenetik çalışmaların önemi

- 1- DNA metilasyon markerları birçok hastalığın tanısında, yatkınlığın saptanmasında ve sınıflandırılması kullanılması.
- 2- Birçok kanser tipinde, belirli genlerdeki hipermetilasyon ile prognoz arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bireylerde genlerin promotorundaki metilasyon durumu genel prognoz ya da belirli bir terapiye cevabın takibinde kullanılabilir.
- 3- Henüz kanserleşmemiş hücrelerde saptanan epigenetik anomaliler hastalığa yatkınlığın tespitinde, kemopreventif yaklaşımlarda bulunulması.

kullanılanları, Apcidin, Butyrates, Pyroxamide ve Valporic asitir (9).

- 4- miRNA ve siRNA'nın kendi oluşumlarını düzenlediği gibi, gen ifadesinin düzenlenmesinde görev alan biyolojik katmanlarda görevli diğer unsurlarında, epigenetik düzenlemede fonksiyon gösterdiğinin bulunması sürpriz olmayacaktır. Eğer epigenetik düzenlenmeye ait yeni yollar bulunursa, bu aynı zamanda yeni müdahale yolları yani tedavi yöntemleri gelişmesi manasına gelir.

Epigenom projesi ile elde edilecek muhtemel çıktılar şunlardır.

- 1- Epigenetik profilin aydınlatılması ile başta kanser olmak üzere epigenetik hastalıkların mekanizmasının anlaşılması ve yeni tedavi imkânlarının yaratılması mümkün olacaktır.
- 2- Mevcut hücrelerin istenilen bir proteini ya da herhangi bir molekülü sentezlemesini sağlanması.
- 3- Epigenetikte elde edilecek ilerlemeler ve bilgilerle beklide gelecekte kök hücrelere gerek kalmadan, vücudumuzdaki herhangi bir somatik hücre alınarak istenilen dokuya ve organa daha başarılı bir oranda dönüştürülebilecektir. Shinya Yamanaka bu konuda yaptığı çalışmasıyla 2012 fizyoloji ve tıp alanında Nobel ödülünü almıştır.
- 4- Memeli genomundaki regülatör dizilerin fonksiyonunun anlaşılmasında katkı sağlaması.
- 5- Epigenetik mekanizmaları aktive ve de-aktive eden anahtarın bulunmasına katkı sunacak olması.

Gelecekte hakkında çok konuşulacak ve popülerleşecek epigenetik ve yeni bir meslek olarak karşımıza çıkacak olan "epigenetik mühendisliği", muhtemelen en saygın mesleklerden olacaktır. Büyük ihtimalle gelecekte birçok Nobel ödülü bu konuda katkı sunan bilim adamlarına verilecektir.

Kaynaklar

- 1- Meaney, M. J., and Szyf, M. (2005). Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? *Trends in Neuroscience*, 28(9), 456-463.
- 2- Karaçay B., Yaşamın sırrı DNA. Tubitak yayınları (2010).
- 3- Cooper MG, Hausman ER. The cell a molecular approach.3rded. USA, 150-4. (2004).
- 4- Strahl DB, Allis D. The language of covalent histone modifications. *Nature* 403:41-5 (2000).
- 5- Grant AP. A tale of histone modifications. *Genome Biol*2:1-6(2001).
- 6- Peterson LC, Laniel M. Histones and histone modifications. *Curr Biol* 14:546-51 (2004).
- 7- Egger G, Liang G, Aparicio A, Jones AP. Epigenetics in human disease and prospects for epigenetic therapy. *Nature*. 429:457-63 (2004).
- 8- Robertson DK. DNA methylation and human disease. *Nature Rev Genet* 6:597-610 (2005).
- 9- Miyamoto K, Ushijima T. Diagnostic and therapeutic applications of epigenetics. *Jpn J Clin Oncol* 35:293-301 (2005).
- 10- İzmirli M., Epigenetik Mekanizmalar ve Kanser Tedavisinde Epigenetik Yaklaşımlar. *Van Tıp Dergisi*, Cilt:20, Sayı:1 (2013).
- 11- Bora G. Yurter H.E.; Epigenetik hastalıklar ve tedavi yaklaşımları. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 38.48-54 (2007).
- 12- Manikkam M., Tracey R., Guerrero-Bosagna C., Skinner MK. Dioxin(TCDD) Induces Epigenetic transgenerational inheritance of adult onset disease and sperm epimutations. *Plosone* 7(9):e46249 (2012).

Yazışma Adresi:

Doç. Dr.Beran YOKUŞ

Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, 21280 Diyarbakır,
Türkiye

beyokus@dicle.edu.tr