ЕПИГЕНЕТИКА В РЕВМАТОЛОГИЯТА

Р. Шумналиева и Зл. Коларов
Клиника по ревматология, МУ – София

Резюме. *През последното десетилетие се полагат големи усилия при изучаване на молекулно ниво на етиопатогенетичните механизми на ревматичните заболявания. Предполага се, че появата им е резултат на взаимодействието между генетични, хормонални, имунни и фактори на околната среда. Връзката между етиологичните фактори се осъществява чрез механизми на епигенетична регулация, които повлияват генната експресия. От своя страна епигенетичната регулация също е обект на въздействие на факторите на околната среда. Изясняването на тези механизми е обект на настоящи и бъдещи проучвания, резултатите от които вероятно ще предоставят и нови терапевтични възможности при тези заболявания.*

Ключови думи: *епигенетична регулация, ревматични заболявания*

R. Shumnalieva and Zl. Kolarov*. EPIGENESIS IN RHEUMATOLOGY*

Summary. *Over the last decade great endeavors are being made to study the etiopathogenetic mechanisms of rheumatic diseases at molecular level. It is believed that their appearance is a result from the interaction between genetic, hormonal, immune and environmental factors. The relationship between the etiological factors is made through mechanisms of epigenetic regulation that affect gene expression. In turn, epigenetic regulation is also a subject of influence of environmental factors. Clarifying these mechanisms is the subject of current and future studies, the results of which will likely provide new therapeutic options for these diseases.*

Key words: *epigenetic regulation, rheumatic diseases*

Етиопатогенезата на автоимунните ревматични заболявания е комплексна – предполага се, че те са резултат от взаимодействието на генетичните фактори с факторите на околната среда. Носителството на определени гени е свързано с предразположението на индивида към дадена болест, докато факторите на околната среда допринасят за времето на нейната клиничната изява, модифицират хода ѝ и влияят на тежестта на протичането ѝ. Взаимодействието между тези фактори се осъществява чрез механизмите на епигенетична регулация.

Първоначално генетичните проучвания в ревматологията са насочени към изясняване на ролята на HLA (Human Leukocyte Antigen) системата в патогенезата предимно на възпалителните ставни заболявания и на системните заболявания на съединителната тъкан. HLA системата е част от MHC (Major Histocompatibility Complex) – главен комплекс на тъканната съвместимост, който включва съответните алели върху дезоксирибонуклеиновите киселини (ДНК) и експресираните по повърхността на ядроносните клетки HLA. Локусите на HLA системата съдържат множество гени, отговорни за правилното функциониране на имунната система при човека. Те са разположени в шестата хромозома.

Различните класове от HLA системата имат различна функция:

- HLA клас I (A, B, C) са вътреклетъчни антигени, резултат на преработването на погълнатите от клетката белтъци до късоверижни полимери.
- HLA клас II (DP, DM, DOA, DOB, DQ, DR) са извънклетъчни пептиди, които стимулират Т-хелперите за активиране на В-клетките за продукция на антитела срещу специфичен антиген.
- HLA клас III кодира компонентите от системата на комплемента [17].

Чрез HLA системата организмът различава чуждите от своите клетки и тъкани и така се защитава от развитие на различни заболявания – злокачествени, автоимунни (захарен диабет, болест на Crohn и др.). Тази система участва и в процесите на отхвърляне на органни трансплантати [14, 22].

Унаследяването на определени хаплотипове на HLA системата се свързва с развитие на автоимунни (захарен диабет тип I, болест на Crohn, миастения гравис, анкилозиращ спондилит – АС, системен лупус еритематозус – СЛЕ, ревматоиден артрит – РА, миозит с включвания, синдром на Sjögren) и други заболявания. HLA типизирането при автоимунните болести все почесто се използва като част от диагностичния процес [15, 22]. При болестта на Crohn това е начин за разграничаване на първостепенни родственици с висок риск за развитие на болестта от тези с нисък риск преди появата на

някои невъзвратими симптоми, като алергии или вторична автоимунна болест [11].

Някои HLA медиирани болести са директно отговорни за развитие на злокачествени заболявания. Глутеновата ентеропатия се асоциира с повишена честота на Т-клетъчен лимфом, като хомозиготните индивиди от тази група по DR3-DQ2 антигени са с най-висок риск (80%) за развитие на Т-клетъчен лимфом [1, 15].

Освен HLA системата са описани и други генетични фактори, участващи в патогенезата на някои болести. Така например развитието на някои ревматични заболявания се свързва с носителство на генни полиморфизми, като PTPN22, IRF5 и STAT4 [25, 26].

Микро-РНК са къси, ендогенни нуклеотидни последователности, с дължина около 20 нуклеотида, за които е известно, че регулират генната експресия на посттранслационно ниво. Има доказателства за тяхното участие в патогенезата на онкологични и автоимунни болести чрез механизмите на епигенетична регулация. Те участват в процесите на ДНК метилиране и хистонова модификация. Описани са промени в експресията на микро-РНК, които са свързани с променени нива на цитокини, с функцията на Th 17 и регулаторните Т-клетки, както и с В-клетките [7, 20].

Въпреки че генетичните фактори са важни, те имат малък принос към общия риск за развитието на дадено заболяване.

Известно е, че факторите на околната среда – външна и вътрешна, също вземат участие в етиопатогенезата на ревматичните болести. Към тях спадат вируси, хранене, тютюнопушене, излагане на химикали и радиация и др. Тези фактори влияят върху епигенетичните контролни механизми, които от своя страна повлияват генната експресия, а с това – и функцията на имунната система [10, 16].

Наследствени промени, които не зависят от промени в структурата на ДНК, се наричат **епигенетични**. Могат да засегнат експресията на ген или функцията на неговия краен продукт, т.е. въпреки че терминът епигенетичен означава над генома, той се използва за означаване на промени в генната експресия, които са станали без промени в последователността на базите по хода на веригата на ДНК.

Интересът към епигенетичните промени е значителен, тъй като епигенетичната регулация има отношение към тъканно-специфичната генна експресия и към „заглушаването" на повтарящи елементи, чрез което се потиска тяхната репликация и се предотвратява появата на мутации. Съществено е, че епигенетичните промени могат да се унаследяват при митотичното деление на соматичните клетки. Това е механизъм, чрез който околната среда проявява дългосрочни ефекти върху генната експресия [24].

ЕПИГЕНЕТИЧЕН КОНТРОЛ

Най-задълбочено проучените феномени на **епигенетичната регулация** са инактивацията на Х-хромозомата и геномният импринтинг.

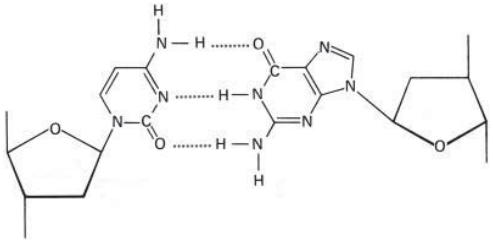
Инактивацията на Х-хромозомата е процес, при който едната от двете Х-хромозоми при жената се пакетира в транскрипционно неактивен хроматин – хетерохроматин. Поради това че Х-хромозомата е богата на гени, а У-хромозомата е бедна, инактивацията на Х-хромозомата е уникален механизъм за балансиране на продукцията на генни продукти при жената и мъжа.

Геномният импринтинг е процес, при който изявата на даден алел зависи от родителския му произход. Обект на геномен импринтинг при човека са около 100 до 30 000 гена.

Епигенетичният контрол на генната експресия се осъществява чрез: **метилиране на ДНК** и **модификация на ядрени белтъци** – хистони (Histones-H).

Метилиране на дезоксирибонуклеинови киселини

Участъкът от ДНК, в който честотата на двойката Cytosine (C)-Guanine (G) (фиг. 1) е по-висока, отколкото в други региони от молекулата на ДНК, се нарича Cytosine-Guanine (C-G) остров, или CpG, където „p" показва, че C и G са свързани с фосфодиестерна връзка. CpG островите най-често са локализирани в промотърните 5' участъци на гените, отговорни за основните клетъчни функции (housekeeping genes), или други гени, с често експресия в клетъчния живот. На всички тези места CpG последователностите не са метилирани. За разлика от това C-G последователности в неактивните гени обикновено са метилирани, с което потискат изявата на съответния ген [13].

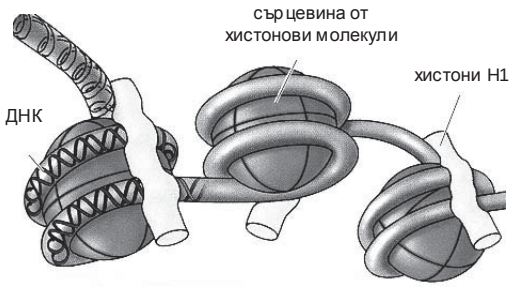


Фиг. 1. Остров Cytosine-Guanine

Около 3-6% от цитозиновите бази при здравия човек са метилирани. Разпределението на достъпните за метилиране CpG динуклеотиди в генома на индивида не е случайно. „Изключването" на гени чрез ДНК метилиране е нормална част от развитието, диференциацията и инактивацията на Х-хромозомата. Метилирането рядко причинява патогенна загуба на функция. Транскрипцията на тумор-супресорните клетки при някои тумори е „изключена" чрез хиперметилация на CpG промотърните области. Този процес е възлов момент в патогенезата на злокачествените заболявания. Метилирането на ДНК е най-широко проучваната епигенетична модификация. Включена е в геномния импринтинг и инактивацията на Х-хромозомата [9, 13].

Посттранслационна модификация на хистони

Доскоро хистоните (фиг. 2) се възприемаха като „опаковъчни" молекули на ДНК. Сега се знае, че те са динамични регулатори на генната активност. Посттранслационното ацетилиране или метилиране на хистоните Н3 и Н4 променя взаимодействието им с ДНК и повлиява генната експресия и репликацията на ДНК. Модификацията на хистоните е ензимозависима и обратима [3]. Проучват се ефектите на хистоновата модификация и метилирането на ДНК в онкологията, тъй като модификацията на хистоните е прогностичен фактор за изява на туморния процес, независимо от фазата на болестта [18].



Фиг. 2. Хистонови молекули

Описаните епигенетични промени при канцерогенезата не само са клинично значими поради тяхната прогностична стойност, но се явяват и като прицели при лечение на болестта, тъй като са потенциално обратими. И на този етап съществуват препарати, които възстановяват експресията на „изключени от функция" тумор-супресорни гени [5].

Освен при онкологичните заболявания, описаните епигенетични механизми, повлияващи генната експресия, вероятно участват и в патогенезата на някои ревматични болести.

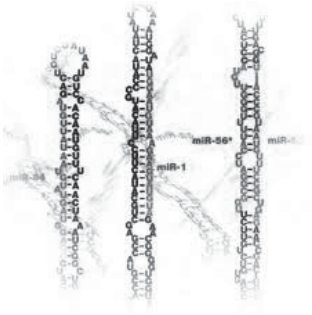
В патогенезата на **СЛЕ** участват генетични фактори и фактори на околната среда. Съвремени проучвания, изследващи метилирането на ДНК, установяват, че хипометилацията ù има значение в етиопатогенезата на болестта [4].

Съществуват доказателства, че околната среда може да повлияе развитието на СЛЕ чрез епигенетични механизми, а именно чрез инхибиране ДНК метилиране по време на митоза. През 1988 г. E. Cornacchia и сътр. установяват, че лекарства, които инхибират ДНК метилирането (хидралазин, прокаинамид и др.) правят CD4+ (позитивните) Т-клетки автореактивни. Оказва се, че автореактивните Т-клетки са достатъчни, за да предизвикат лупус-подобна автоимунност [8]. В други проучвания с лупусно болни се открива хипометилирана ДНК в CD4+ Т-клетки, които са с патогенна роля за развитие на болестта. Счита се, че недостатъчността на механизмите за ДНК метилиране е в основата на патогенезата на СЛЕ [21].

Все още не е ясно как генетичните фактори и факторите на околната среда участват в патогенезата на РА и допринасят за развитието на заболяването при отделните болни. Интересно е предположението, че развитието на РА с късно начало може да се свърже с натрупване на специфични епигенетични промени през време на живота и с натрупване на грешки в процеса на метилиране [23]. Промените в генната експресия и тук са резултат на ДНК метилиране, посттранслационна модификация и хистонова модификация (деацетилиране и метилиране) [12].

Епигенетика и микро-РНК

Ролята на микро-РНК (фиг. 3) като нов клас генни модулатори е обект на усилени проучвания през последното десетилетие. Има данни, че определени микро-РНК могат да се използват като биомаркери при диагноза и прогноза на дадена болест, както и за оценка на ефекта от проведеното лечение. Проучванията доказват, че тези молекули са стабилни и могат да се засичат в телесни течности, вкл. серум, плазма, урина, слюнка, сълзи, амниотична и синовиална течност, което ги прави кандидати за нови диагностични маркери.



Фиг. 3. Микро-РНК

Установено е, че плазмените нива на микро-РНК-146 и микро-РНК-16 корелират с болестната активност при РА, оценена чрез DAS28, както и с броя на болезнените стави. Микро-РНК-155 корелира с цитокиновите нива в синовиалната течност, но има важна роля и при формиране на вродения или придобития имунитет. Нивата на микро-РНК-16, -146, -155 и -223 в синовиална течност при болни от РА са значително по-високи в сравнение с болни от остеоартроза [2].

При синдрома на Sjögren е установено, че експресията на определени микро-РНК може да разграничи болните от здравите, а сред болните – тези с ниска от тези с висока активност. Изследва се ролята на микро-РНК-146 и нейния таргетен протеин IRAK (IL-1R-асоциирана киназа) в патогенезата на псориатичния артрит [6].

Епигенетика и околна среда

Предизвикателство на епигенетиката е изясняването на връзката между факторите на околната среда и развитието на болестите. Ролята на факторите на околната среда и герминативните мутации (генетичните варианти за възникване на мултифакторните заболявания) е съществената.

Така например тютюневата експозиция (продължителност и количество изпушени цигари) е рисков фактор за развитие на РА при наличие, но не и при отсъствие на определени HLA алели, кодиращи общи епитопи. Установено е генно взаимодействие между алелите на общите епитопи и тютюнопушенето при болни от РА с позитивни анти-CCP-антитела (антитела срещу циклични цитрулинирани пептиди) [19].

За пълното изясняване на ролята на факторите на околната среда трябва да се изяснят и техните епигенетични ефекти. Епидемиологични проучвания при хората доказват, че пренатални и постнатални рискови фактори на околната среда повишават риска от развитие на някои хронични болести в напреднала възраст, като кардиоваскуларни болести, затлъстяване и др. Механизмът, при който въздействия в ранния живот могат да предиспозират развитието на болест с късно начало, може да се реализира чрез епигенетични промени. Повечето доказателства за връзката между пре- и постнаталната експозиция и фенотипните промени и болести в късните етапи от живота, дължащи се на промяна в епигенетичните маркери, се базират на проучвания при мишки. При човека не е изяснено кои гени, епигенетично повлияни от фактори на околната среда, предопределят развитието на болести.

Заключение

Епигенетичните механизми могат да обяснят до голяма степен експресията на гените и тяхната фенотипна изява. При повечето мултифакторни заболявания (онкологични, ревматични) може да се приеме, че развитието на болестта е краен етап от акумулиране на генетични рискови фактори в съчетание с определени фактори на околната среда. Изясняването на тези механизми е обект на бъдещи проучвания, резултатите от които вероятно ще предоставят и нови терапевтични възможности при тези заболявания.

Библиография

1. Коларов, Зл. Съвременни аспекти в патогенезата на ревматоидния артрит, 1999, 10-11.
2. Шумналиева, Р., Зл. Коларов и Р. Рашков. Микро-РНК – нови биомаркери при автоимунните ревматични заболявания. – Ревматология, 19, 2011, № 1, 22-31.
3. Allis, C. et al. New nomenclature for chromatin-modifying enzymes. – Cell, 131, 2007, 633-636.
4. Balada, E., J. Ordi-Ros et M. Vilardell. Tarrés DNA methylation and systemic lupus erythematosus. – Ann. NY Acad. Sci., 1108, 2007, 127-136.
5. Biancotto, C., G. Frigè et S. Minucci. Histone modification therapy of cancer. – Adv. Genet., 70, 2010, 341–386.
6. Chatzikyriakidou, A. et P. Voulgari. The role of microRNA-146a (miR-146a) and its target IL-1R-associated kinase (IRAK1) in psoriatic arthritis susceptibility. – Scand. J. Immunol., 71, 2010, № 5, 382-385.
7. Chuang, J. et P. Jones. Epigenetics and MicroRNA. – Pediatr. Res., 61, 2007, № 5, 24-29.
8. Cornacchia, E. et al. Hydralazine and procainamide inhibit T cell DNA methylation and induce autoreactivity. – J. Immunol., 1407, 1988, 2197-2200.
9. Fuks, F. DNA methylation and histone modifications: teaming up to silence genes. – Curr. Opin. Genet. Dev., 15, 2005, № 5, 490-500.
10. Gourley, M. et F. W. Miller. Mechanisms of disease: Environmental factors in the pathogenesis of rheumatic disease. – Nat. Clin. Pract. Rheumatol., 2007, № 3, 172-180.

11. Hollenbach, J. et al. Susceptibility to Crohn's disease is mediated by KIR2DL2/KIR2DL3 heterozygosity and the HLA-C ligand. Immunogentics, 61, 2009, № 10, 663-671.
12. Huber, L. et al. Histone deacetylase/acetylase activity in total synovial tissue derived from rheumatoid arthritis and osteoarthritis patients. – Arthritis Rheum., 56, 2007, 1087-1093.
13. Irizarry, R. et al. The human colon cancer methylome shows similar hypo- and hypermethylation at conserved tissue-specific CpG island shores. – Nat. Genet., 41, 2009, 178-186.
14. Karp, D. et al. Novel sequence feature variant type analysis of the HLA genetic association in systemic sclerosis. – Hum. Mol. Genet., 19, 2010, № 4, 707-719].
15. Kaukinen, K. et al. HLA-DQ typing in the diagnosis of celiac disease. – Am. J. Gastroenterol., 97, 2002, № 3, 695-699.
16. Klareskog, L. et al. Mechanisms of disease: genetic susceptibility and environmental triggers in the development of rheumatoid arthritis. – Nat. Clin. Pract. Rheumatol., 2006, № 2, 425-433.
17. Klein, J. et A. Sato. The HLA system. – N. Engl. J. Med., 343, 2000, 702-709.
18. Kouzarides, T. Chromatin modifications and their function. – Cell, 128, 2007, 693-705.
19. Linn-Rasker, S. et al. Smoking is a risk factor for anti-CCP antibodies only in rheumatoid arthritis patients who carry HLA-DRB1 shared epitope alleles. – Ann. Rheum. Dis., 65, 2006, № 3, 366-371.
20. Maison, C. et al. Higher-order structure in pericentric heterochromatin involves a distinct pattern of histone modification and an RNA component. – Nat. Genet., 30, 2002, 329-334.
21. Richardson, B. et al. Evidence for impaired T cell DNA methylation in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. – Arthritis Rheum., 3311, 1990, 1665-1673.
22. Rioux, J. D. et al.Mapping of multiple susceptibility variants within the MHC region for 7 immune-mediated diseases. – Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 106, 2009, № 44, 18680-18685.
23. Sedivy, J. et al. Aging by epigenetics—a consequence of chromatin damage? – Exp. Cell Res., 314, 2008, 1909-1917.
24. Tian, X. Reprogramming of epigenetic inheritance by somatic cell nuclear transfer. – Reprod. Biomed. Online, 8, 2004, № 5, 501-508.
25. Van der Helm-van Mil, A., R. Toes et T. Huizinga. Genetic variants in the prediction of rheumatoid arthritis. – Ann. Rheum. Dis., 69, 2010, 1694-1696.
26. Van der Helm-van Mil, A. et T. Huizinga. Advances in the genetics of rheumatoid arthritis point to subclassification into distinct disease subsets, – Arthritis Res. Ther., 10, 2008, № 2, 205.

Постъпил за печат на 18 ноември 2011 г.

✉ *Адрес за кореспонденция:*
Д-р Р. Шумналиева
Клиника по ревматология
Медицински университет
ул. "Урвич" № 13
1612 София

✉ *Address for correspondence:*
R. Shumnalieva, M. D.
Clinic of Rheumatology
Medical University
13, Urvitch Str.
Bg – 1612 Sofia