

Epigenetik ve Nefroloji

Epigenetics and Nephrology

ÖZ

Akut böbrek yetmezliği, kronik böbrek yetmezliği ve ölümle sonuçlanabilir. Kronik böbrek hastalığı da mortalite, morbitide ve sağlık masrafları açısından ciddi bir halk sağlığı problemidir. Bu hastalıklara yönelik hücrel ve moleküler birçok çalışma yapılsa da bu hastalıklardan dolayı yüksek mortalite oranlarında bir gelişme olmamıştır. DNA diziliminde bir değişiklik olmadan fonksiyonel modifikasyonları içeren epigenetik çalışmalar günümüzde biyolojinin ve genetiğin önemli bir kolu olup, böbrek hastalıklarının anlaşılmasında önemli bilgiler sunmuştur. Bu modifikasyonlar asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon vb. şekilde olabilir. Kronik böbrek yetmezliğinde beslenme vb. çevresel birçok faktör de epigenom üzerinde değişikliğe neden olabilir. KBY hastalarında üremenin eşlik ettiği inflamasyon da bu değişikliklerde rol oynayabilir.

Bu derlemede akut ve kronik böbrek yetmezliğinde epigenetik risk faktörleri, son çalışmalar ışığında özetlenmiştir.

ANAHTAR SÖZCÜKLER: Epigenetik, Nefroloji, Akut böbrek hastalığı, Kronik böbrek hastalığı

ABSTRACT

Acute kidney injury (AKI) is a risk factor for chronic kidney disease and death. Chronic kidney disease (CKD) has become a serious public health problem because of its associated morbidity, mortality, and health care costs. Despite progress made in understanding the cellular and molecular basis of kidney diseases pathogenesis there has been no improvement in the high mortality rate from these diseases. Epigenetics is one of the most intensively studied fields of biology today and represents a new approach for understanding the pathophysiology of diseases. Epigenetics refers to functionally relevant modifications of the genome that do not involve a change in the nucleotide sequence. These modifications include acetylation, methylation, ubiquitylation, phosphorylation. These modifications serve to regulate gene expression without altering the underlying DNA sequence. Nutrient availability and other environmental factors cause changes in the epigenome. In chronic kidney disease (CKD), several features of uraemia, such as inflammation, may contribute to changes in epigenetic gene regulation. This review summarizes recent research and the current status of epigenetic risk factors influencing AKI and CKD.

KEY WORDS: Epigenetics, Nephrology, Acute kidney injury, Chronic kidney disease

GİRİŞ

Diabetes Mellitus (DM), obezite, hipertansiyon, yaşlı popülasyonda artışın yanında, artan ilaç kötüye kullanım gibi birçok neden akut ve kronik böbrek yetmezliğinde artışın nedenleridir. Anne-baba alışkanlıkları ve diyet epigenetik transmisyon mekanizmaları üzerinden sonraki jenerasyonların fenotipini

etkilemektedir. Böbrek hastalıkları hakkında yeni bilgiler kazanmak için, genetik yatkınlık, hastalığın çevresel faktörlerden etkilenmesi gibi birçok nedeni epigenetik mekanizmalar ile tekrar değerlendirmek gerekir. Epigenetik, DNA sekanslarında değişiklik olmaksızın gen ekspresyonunun kontrolünün fenotip ile ilişkisidir.

Hilmi Umut ÜNAL
Murat KARAMAN
Mahmut İlker YILMAZ

Gülhane Askeri Tıp Akademisi,
Nefroloji Bilim Dalı,
Ankara, Türkiye



Geliş Tarihi : 08.04.2016

Kabul Tarihi : 24.06.2016

Yazışma Adresi:
Hilmi Umut ÜNAL
Gülhane Askeri Tıp Akademisi,
Nefroloji Bilim Dalı, Ankara, Türkiye
Tel : +90 312 304 40 80
E-posta : hilmiurut@hotmail.com

Epigenetik modifikasyonlar DNA metilasyonu, kromatin modifikasyonları (Histon proteinlerin asetilasyon, metilasyon ve fosforilasyonu) ve posttranskripsiyonel modifikasyonlar şeklinde olabilir. Bu dinamik epigenetik tabaka, hastalık durumu ile ilişkili genlerin ekspresyonunu çevresel faktörler ile düzenler (1,2).

Akut ve kronik böbrek hastalığı tüm dünyada artmakta dolayısıyla son dönem böbrek hastalığı nedeniyle diyalize giren hastaların oranı da artmaktadır. Artan DM, obezite buna bağlı diabetik nefropati ve son dönem böbrek hastalığına progresyon beklenen sonuçlardır. Kimyasal zehirli maddeler, yaşlanma, aşırı beslenme ya da az beslenme, sedanter hayat tarzı ve diğer çevresel stres faktörleri kronik böbrek yetmezliği (KBY) gibi gen-çevresel hastalık kompleksinin nedenleri arasındadır (2,3). Bu yüzden çevresel faktörler epigenetik transmisyon mekanizmaları üzerinden hastalığa yatkınlığı, fenotipik özellikleri değiştirebilirler, değişik böbrek hastalıklarının başlamasında ve progresyonunda önemli bilgiler verebilir (4,5). Bazı GWAS (Genom Wide Assosiasyon) çalışmalarında böbrek yetmezliği için aday genler bulunmuş fakat bunlar kalıtımla ilgili oldukça küçük bir oranı açıklayabilmiştir (6).

Epigenetik modifikasyonlar; DNA metilasyonu, histonların asetilasyon, metilasyon ve fosforilasyonu üzerinden kromatin modifikasyonları, nonkoding RNA üzerinden posttranskripsiyonel modifikasyonlar (PTM) şeklinde olmaktadır (7-10). Genetik bir tabaka üzerine epigenetik bir tabaka oluşarak çevresel değişikliklere cevap oluştururlar. Böylelikle normal veya hastalık fenotipleri ile ilişkili gen ekspresyonları oluşturulmuş olur. Epigenetik hücre kimlik, gelişim, genomik imprinting, X inaktivasyonu ve monozigot ikizler arasında farklı hastalık eğiliminde önemli bir rol oynar (7,9,11).

Son zamanlarda yeni nesil DNA dizileme teknikleri, GWAS çalışmaları sayesinde epigenetik çalışmalarda önemli ilerlemeler sağlanmıştır (12-14). Fibrozis, inflamasyon ve immünite ile ilişkili değişik böbrek hastalıklarında epigenetik değişiklikler önem taşıdığı gibi böbreğin fizyolojik gelişiminde de ön plana çıkmaktadır (14,15-17).

EPIGENETİK MEKANİZMALAR ve EPIGENOM

Nükleozomlar, kromatin üzerinde bulunan, DNA zincirinin histonlar üzerine sarılmasıyla oluşan 4'lü formda bulunan nükleoprotein yapılarıdır. Nükleozomlar asıl olarak histon proteinlerinden oluşurlar. Nükleozomlar birbirinden linker ya da spacer DNA ile ayrılırlar. Her nükleozomda H2A,H2B,H3 ve H4 histonlarından ikişer tane bulunmaktadır. Nükleozomlar üst üste kıvrılarak nükleozom paketlerini oluşturur, kıvrımların artmasıyla kromatin ipliği yoğunlaşır (7, 18). Epigenom, stabil genom ile değişen çevrenin ara yüzüdür ve genetik DNA sekansındaki benzerliklere rağmen hücre tipi-spesifik gen ekspresyonunu belirler (4, 8, 9, 19).

Sitozinin C-5 pozisyonunda DNA metillenmesi (sitozindeki pirimidin halkasının 5 numaralı karbonuna metil eklenmesi) iyi

bilinen bir epigenetik belirteçtir (9,10). DNA metilasyonu tipik olarak CG dinükleotit dizilerinde meydana gelir. Metillenmemiş CpG'ler CpG adaları olarak adlandırılan kümeler halinde bulunurlar. DNA metilasyonu başlıca CpG dinükleotitlerinin sitozinin C5 pozisyonunda gerçekleşir. Bu kimyasal değişime neden olan enzimler DNA metil transferazlardır (9). Promoter DNA metilasyonu transkripsiyon faktörlerinin bağlanması ya da toplanmasını engelleyerek transkripsiyonu inhibe eder (21). Bununla beraber DNA metilasyonunun regülatuar etkisi genomik içeriğe bağlı olarak, promoter, enhancer ve tekrarlayan sekans olmasına göre gen regresyonundan aktivasyonuna kadar değişir (9,21). Son zamanlarda TET (Ten eleven translocation) enzim ailesi saptanmıştır ki (TET1/TET2/TET3) bu enzimler ve DNA glikozilas enzimleri sitozinin hidroksimetil (5 hmc) üzerinden oksidasyonu ile DNA metilasyonunda rol oynamaktadırlar (22,23). Bütün bu gelişmeler DNA metilasyonunun gen regülasyonu üzerinde ne kadar karmaşık etkilere yol açtığını göstermektedir.

Histonların kovalent posttranslasyonel modifikasyonu histon lizin asetilasyon (HKAc) ve metilasyonu (HKme) şeklinde olur. Bu şekilde gen ekspresyonu ve kromatin yapısı düzenlenmiş olur (7,18). Kromatin yapısında relaksasyon devamında aktif gen ekspresyonu sağlanmış olur. Histon asetil transferaz (HATs) ve histon metil transferaz (HKMe) bu basamaklardaki enzimlerdir. Histon deasetilaz (HDACs) ve histon demetilaz tersi yönde etki gösterirler. Histon modifikasyonları, yerleşim bölgelerine göre ko-aktivatörler, ko-represörler, kromatin remodeling proteinler şeklinde modifiye histonlara bağlanan proteinlere göre etkisini göstermektedir (7). Değişik histon proteinlerinin PTM formuna göre bir histon kod oluşmaktadır, bu sayede relaks yapıda kromatin ya da kompakt yapıda kromatin ile transkripsiyonel sonuçlar değişmektedir (24). Histon H3 lizin 4 trimetilasyon (H3K4me3) promoter bölgelerinde transkripsiyon başlama bölgesi ile ilişkilidir ve H3K36me3 ile birlikte transkripsiyon bölge/gen bölgelerini oluşturmaktadır. H3/H4KAc ve H3K4me2 genel olarak aktif promoter bölgeleri ile ilişkilidir, baskılanmış genlerin promoter bölgeleri ise H3K9me3, H3K27me3, veH4K20me3'den zengindir (1).

Proteine çevirisi yapılmayan işlevsel RNA molekülüne kodlamayan RNA (non-coding RNA) denmektedir. Bunlar kısa mikro RNA (yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda) ve uzun kodlamayan RNAs (4200 nükleotid uzunluğunda) şeklinde alt gruplara ayrılırlar ve epigenetik mekanizmalar üzerinden gen ekspresyonunu yönlendirirler (25-27).

Epigenom, çevresel değişikliklere dinamik olarak cevap vermektedir. Önceki maruz kalınan hastalık koşulları ya da çevresel uyarılara karşı bir hafıza geliştiren epigenomda tetikleyici faktörler ortadan kalksa bile etkisi devam edebilmektedir. Demetilasyon sonrası aynı bölgelerin metilasyona uğramaları, yani epigenetik bilginin nasıl korunup kuşaklara aktarıldığını açıklamaya çalışan bazı modeller mevcuttur. Epigenetik mekanizmaların bilgisinin silinmeyen kromatin modifikasyon-

ları ve bazı siRNA'lar sayesinde aktarıldığına inanılmaktadır. Metabolizmada meydana gelen değişiklikler epigenetik modifikasyonları etkilemektedir, asetil-coA, S-adenozilmetiyonin, α -ketoglutarat vb. metabolitler aynı zamanda histon ve DNA modifiye edici enzimlerin kofaktörü olduğu için bu etki beklenen bir etkidir (9,28,29). Metabolik hastalıklar ile ilişkili sedanter hayat tarzıda epigenetik anormalliklerde rol oynayabilir (30).

EPİGENETİK MODİFİKASYONLARLA ÇALIŞMA YÖNTEMLERİ

Bu yöntemler, DNA metilasyonu (bisülfid dizileme), histon modifikasyonu (kromatin immünopresipitasyonu (ChIP), DNA adenosin metilasyon tayini (DamID), siRNA üretimi)) üzerine odaklanmıştır. Yine NGS yöntemleri de bu alanda önemli bilgiler sağlayabilir. İlk başlarda restriksiyon enzimlerinin kullanımına bağlı "restriction land mark genome scanning" (RLGS) tekniği kullanılmıştır. RLGS, restriksiyon enzim polimorfizmleri ve DNAmetilasyon duyarlı bölgelerini kullanmakta fakat duyarlılığının düşük olması ve zaman alan bir yöntem olmasından dolayı günümüzde tercih edilmemektedir (31-34).

Uzun mesafede enhancer interaksyonları ve promoter bölgelerin regülasyonunda epigenetikte önemlidir. Üç boyutlu olarak promoter bölgesi ile enhancer bölgesinin interaksyonlarını anlamaya yönelik olarak 3C (Chromatin Conformation Capture) ve sonrasında 4C (Circular Chromosome Conformation Capture) yöntemleri önemli bilgiler sağlamıştır. Bu yöntemlerde formaldehit eklenmesi ile DNA segmentlerinin cross-linking olması sağlanmıştır. Sonrasında restriksiyon enzimleri eklenerek cross-linking DNA, cross-linking olmayan DNA'dan ayrılmaktadır. Çok düşük konsantrasyonda DNA kullanılarak ilgili DNA fragmentlerinin ligasyonu sağlanmaktadır. Yüksek ısı cross-link oluşumunu tersine çevirip spesifik restriksiyon sonlanımına sahip linear DNA fragmentlerin oluşumu sağlandıktan sonra restriksiyon enzimi ikinci kez konmaktadır. DNA fragmentlerinin self sirkülasyonu sağlandıktan sonra diğer protein ya da fragmentlere bağlanmamakta ve oluşturulan bait sekansın dış restriksiyon bölgesine karşın primerler dizayn edilmektedir. 4C kütüphanesi multiNA mikroçip elektroforez sistemi ile analiz edilmektedir (35). Epigenom-wide association çalışması ile tek nükleotid polimorfizminin (SNP) kodlanmayan bölgede bile olması kromatin yapısını etkilediği ve hastalıkla ilgili enhancer fonksiyonlarını düzenlediği çalışmalarla gösterilmiştir (36-39). Epigenomik çalışmalarda kullanılan bu yöntemlerin hem kuvvetli hem zayıf yönleri vardır. Fakat bilinen bir gerçek hastalıkların anlaşılmasında ve genetik temelinin ortaya konmasında önemli bilgiler vermektedir.

AKUT BÖBREK YETMEZLİĞİNDE EPİGENETİK MEKANİZMALARIN ÖNEMİ

Akut böbrek yetmezliği (ABY) değişik nedenlere bağlı ortaya çıkan, renal fonksiyonlarda hızlı bir şekilde azalmanın olduğu klinik bir tablodur. Yüksek oranda mortalite ve morbitide

ile birlikte olup kronik böbrek hastalığı ya da son dönem böbrek hastalığına kadar ilerleyici olabilir. ABY için hücresel ve moleküler mekanizmalar suçlanmıştır. ABY renal, vasküler endotelial hücreleri ve tübüloepitel hücreleri etkilemekte tübüler nekroz, apoptozis ve tübüler obstrüksiyon gelişmektedir. Proinflamatuvar sitokinlerin, kemokinlerin (TNF- α , IL-6, IL-10 ve monositkemoatraktan protein-1) artmış salınımına bağlı olarak inflamasyon tetiklenmektedir. Böylelikle dentritik hücreler, lökositler ve monositlerin infiltrasyonuna uğramaktadır (40,41).

Kompakt halden açık duruma geçerek kromatin remodeling olayında transkripsiyon faktörlerin bağlanması ve Polimeraz II aracılı transkripsiyon kolaylaşmaktadır. ATP bağımlı kromatin remodeling kompleksler ve histondeasetilazlar, promoter bölgede aktivatör olarak görev almaktadırlar (42). ATP bağımlı kromatin komplekslerinden biri de SWI/SNF kompleksidir, İki ATPaz alt birimi, insan Brahma (hBRM) ve Brahma-related gene 1 (BRG1) içermektedir. SWI/SNF'nin ATPaz aktivitesiyle elde edilen enerji, histon oktomerinin etrafındaki DNA yolunun değiştirilmesinde kullanıldığı düşünülmektedir. Bu kompleksin histon oktameri etrafındaki DNA'nın yolunu değiştirmesinden sonra transkripsiyon faktörlerinin DNA'ya ulaşması daha kolay olacaktır. SWI/SNF ve histon asetiltransferaz arasındaki kombinasyon ile kromatin yapısında değişim meydana gelebilmektedir (42,43). TNF ve CCL2 vb. inflamasyon genlerinin ABY renal iskemi reperfüzyon (I/R) modelinde önemli olduğuna yönelik çalışmalarda hBRM ve BRG1'inde önemli olduğu çalışmalarla gösterilmiştir (43-46). ATF 3 (Aktive edici transkripsiyon faktörü 3) gen ekspresyonunun I/R koşullarında arttığı görülmüş ve bunun protektif bir rolünün olduğu gösterilmiştir. ATF3 aracılı histon deasetilazların inflamatuvar gen promoter bölgesine toplanarak etkisini gösterdiği düşünülmektedir (47).

Tek taraflı üreteral obstrüksiyon hayvan modelinde H3KAc (histon H3 lizinasetilasyon) hasarlı renal dokuda azalırken histondeasetilazların (HDAC1/2) arttığı izlenmiştir (48). Hayvan modelinde H3KAc düzeylerinde artış olurken H4K5Ac ve H3K12Ac düzeylerinde ise azalma saptanmıştır. Dolayısıyla histon lizinasetilasyonu (HKAc) için renal hasarda dinamik değişikliklerin olduğunu söylemek doğru olacaktır (49). Başka bir çalışma da renal I/R sonrası HKAc düzeylerinde artışın 1 gün sonra başlayıp 3 haftaya kadar devam ettiği saptanmıştır (50). ABY ile başlayan epigenetik kromatin modifikasyonunda ki bu hafıza kronikleşmeyle de ilişkili olabilir.

Belli HKAc modifiye edici ilaçların protektif etkisinin gösterilmesi HKAc'nin böbrek hasarı sonrası devamında KBY gelişiminde anahtar rol oynadığını düşündürmüştür (41). Epigenetik yeni modaliteler insanlarda ABY tedavisinde yeni seçenekler sunabilir. Histondeasetilaz inhibitörü vorinostatın böbrek hasarının deneysel modellerinde koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (51). Deasetile olan Sirt1, hem histon hem histon olmayan proteinlerde hedef olup, stres ve yaşlanma

ile ilgili genleri suprese ederek protektif etki gösterdiği bazı çalışma modellerinde gösterilmiştir. Sirt1 knockdown edilen modellerde renal apoptosizin ve fibrosizin arttığı görülmüştür (52). Fakat Sirt1 kimyasal aktivatörlerin etkisi tartışmalıdır. Yaşlı farelerde bu aktivatörlerin renal I/R sonrası tübüler fonksiyonları koruduğu gösterilmiştir (53). Aksine deasetile Sirt1'in lipopolisakkaritlerin yol açtığı akut böbrek hasarında proinflatuvar etki gösterdiği proksimal tübül epitelinde NF-Kb indüksiyon ve aktivasyonuna neden olduğu gösterilmiştir. Sirt2 eksikliği olan farelerde lipopolisakkaritlerin yol açtığı nötrofil, makrofaj infiltrasyonuna karşı koruyucu etkisi olduğu görülmüştür (54).

Belli doğal ürünlerin de kromatin modülasyonundaki rolü değerlendirilmiştir. Bunlardan curcumin (Ticari adı turmeric / zerdeçöp ekstraktı), histonasetiltransferaz (HAT) üzerinden etki ederek protektif etki gösterdiği deneysel olarak gösterilmiştir. Sisplatinin yol açtığı ABY durumlarında hayvan çalışmalarında TNF vb. inflamatuvar sitokin üretimini azaltıp renoprotektif etki gösterdiği görülmüştür (55).

İlk olarak renal I/R hasarı sonrası C3 kompleman promoter bölgesinde bir sitozin rezidüsünde demetilasyon gösterilmiştir (56). Sonraki hayvan çalışmalarında global olarak 5 hmC düzeylerinin azaldığı görülmüştür. İlginç olarak TET1 ve TET2 düzeylerindeki değişiklikler 5mC-5hmC dönüşümü ile ilişkili bulunmuştur. DNA demetilasyonu ve dinamik 5hmC değişiklikleri ABY sürecinde lokal olduğu düşünülmektedir (57).

ABY ile ilgili Mar ve ark. yaptığı çalışmada TNF, KİM-1, NGAL ve ICAM-1 genleri ve histon modifikasyonları üzerinde durulmuştur. TNF, proinflatuvar sitokin, ICAM-1 adezyon molekülü olarak etki ederken NGAL ve KİM-1 ise protektif etkiye sahiptir. Özellikle bunların artmış mRNA ekspresyonu artmış transkripsiyon histon modifikasyonu ile ilişkilidir. Bu genlerde benzerlikler dışında dikkate değer farklılıklarda izlenmiştir. I/R sonrası 26-74 saat içinde dört genin baskılayıcı histon metilasyonu zayıflarken baskılayıcı histon asetilasyonu sadece TNF geninde izlenmiştir. Histonlarda ki epigenetik cevap I/R sonrası farklı lipopolisakkarit sonrası farklı ortaya çıkmaktadır. I/R sonrası TNF, NGAL ve KİM-1 genlerinde baskılayıcı histon metilasyon ve fosforilasyonu artarken lipopolisakkarid sonrası sadece ICAM-1 geni üzerinde baskılayıcı histon metilasyonu azalmaktadır (58).

KRONİK BÖBREK YETMEZLİĞİNDE EPİGENETİK MEKANİZMALARIN ÖNEMİ

KBY majör bir sağlık problemi olup bazı toplumlarda erişkinlerin yaklaşık %20'sini etkilemektedir. Proteinüri ve azalmış glomerüler filtrasyon oranı ile karakterize olup diyaliz tedavisi gerektirecek son dönem böbrek hastalığına kadar ilerleyebilmektedir. DM, obezite, polikistik böbrek hastalığı, hipertansiyon ve glomerülofritler kronik böbrek yetmezliğinin en sık nedenleri arasındadır. DM bağlı gelişen böbrek

yetmezliğinde glomerüler hipertrofi, mezengial genişleme, tübülointerstisyel fibrozis, ekstraselüler matriks proteinlerin birikimi, bazal membran kalınlaşması ve podosit kaybı gözlenir (59,60). Yüksek glukoz değerleri majör patolojik mediyatör olarak görev alırlar. İleri glikolizasyon son ürünleri , TGF-β (transforming growth faktör beta), anjiyotensin II, inflamatuvar sitokinler aracılığıyla nefropati ilerler (60).TGF-β diabetik nefropatide yüksek glukoz düzeylerine bağlı komplikasyonlarda anahtar rol oynamaktadır. Bu konuda yapılmış çok sayıda çalışma olmakla beraber diabetik nefropatide progresyonu önleyecek klinik uygulamalarda olumlu çalışmalar hâlâ yoktur.

Metabolik hafızanın rolüne yönelik klinik çalışmalar önce-sinde sağlanmış iyi glisemik kontrolün komplikasyon gelişimine karşı koruyucu etkisini ya da glukoz normalizasyonu sağlanana kadar ki hiperglisemik durumun zararlı etkilerini göstermiştir. Diabetes mellitus kontrol ve komplikasyon çalışması (DCCT) yoğun insülin tedavisi ile glukoz normalizasyonunun konvansiyonel tedavilere göre mikrovasküler komplikasyonları daha etkili azalttığı gösterilmiştir. Diabetes mellitus tedavi, epidemiyoloji ve komplikasyon (EDIC) çalışmasında DCCT hasta grubu değerlendirilmiştir. Benzer HbA1c değerlerine ulaşmaya amaçlayan iki tedavi kolu oluşturulmuştur. DCCT kolundaki konvansiyonel tedavi grubunda diabetik nefropati dahil vasküler komplikasyonlar daha yüksek oranda gelişmiştir. İntensif tedavi kolunda metabolik hafızaya bağlı daha düşük komplikasyon gelişmiştir (61). Erken glisemik kontrolün yararlı etkileri “legacy effect” olarak isimlendirilmektedir ve tip 2 DM hastalarını içeren çalışmada da gösterilmiştir (62). Ek olarak vasküler inflamasyon, fibrozis ve ilgili patolojik gen ekspresyonları ile ilgili metabolik hafızanın önemini gösteren hayvan modelleri, hücre kültürleri yapılmıştır (63). Bu çalışmalarda diabetik durumdan dolayı cevap olarak gelişen patolojik gendeki promoter bölgesi ile ilgili histon modifikasyonları başta olmak üzere epigenetik modifikasyonların diabetik durum kontrol altına alınsa bile devam ettiği gösterilmiş olup epigenetik metabolik memory açısından önemlidir. Bu kavram üzerine DCCT/EDIC çalışma grubundaki hastalardan metabolik memory ve insan diabetik komplikasyonlarında epigenomun anlaşılması için tam kan örnekleme yapılmıştır. Komplikasyon kolunda inflamasyon ile ilişkili genlerin promoter bölgesinde H3K9Ac zengin olarak bulunmuştur. Yine monosit H3KAc, ortalama HgA1c değeri ile ilişkili bulunmuştur (64).

DNA metilasyonu ile değişik renal hücrelerde KBY ile ilişkili gen regülasyonu sağlanmaktadır. Fibroblastlarda, profibrotik TGF-β fibrosizi düzenlemektedir, promoter hipermetilasyonu Ras sinyal aktivasyonuna yol açarak RASAL1 ekspresyon inhibisyonu üzerinden etkisini göstermektedir. Normal böbrekte KLF4 podositlerde nefrin ekspresyonunu artırarak DNA metilasyonunu düzenler. Hastalık durumlarında KLF4 ekspresyonunun inhibisyonu ile artmış DNA metilasyonu ve nefrin ekspresyonunun inhibisyonu ile podosit apoptosizi kolaylaşır. KLF4 aşırı ekspresyonunun renoprotektif etkisi

olduğu knock-out hayvan modelinde gösterilmiştir. Normal tubuler epitel hücrelerinde metabolitler tarafından SIRT1 üzerinden promotor hipermetilasyonu ile Claudin-1 (tight junction protein) ekspresyonu baskılanmaktadır. Diabetik koşullarda SIRT1 down regülasyonu ile Claudin-1 baskılanması glomerüler disfonksiyon ile sonuçlanmaktadır (65).

SONUÇ

Mevcut çalışmalar hem akut hem kronik böbrek hasarında epigenetik modifikasyonların önemli rollerinin olduğunu göstermiştir. Bu konudaki gelişmeler erken tanı açısından ve epigenetik ilaçların geliştirilmesi ile tedavi açısından büyük fırsatlar sağlayabilir.

Deneyisel çalışmalar böbrek hasarında epigenetik mekanizmaların tam olarak inhibisyonunu başaramamıştır. Epigenetik ilaçların konvansiyonel tedaviler ile kombinasyonu belli böbrek hastalıklarında etkin sonuçlar alabilmemizi sağlayabilir. HIV bağlı nefropatinin hayvan modelinde benazepril (ACE inhibitörü) ve vorinostat (HDAC inhibitörü) kombinasyonunun tek başına kullanıma göre daha anlamlı bir sonuç sağladığı gösterilmiştir (66).

Böbrek hastalıklarında epigenetik çalışmalar aslında karanlık bir alanda yakılmış yeni ışıklar gibidir. Birçok yeni bilgiler sunmakta, hastalıkların fizyopatolojilerini anlamakta yeni ufuklar kazandırmaktadır. Fakat klinik pratikte uygulamalara geçilmesi için çok daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Reddy MA, Natarajan R: Recent developments in epigenetics of acute and chronic kidney diseases. *Kidney Int* 2015; 88:250-261
2. Jain N, Reilly RF: Effects of dietary interventions on incidence and progression of CKD. *Nat Rev Nephrol* 2014; 10:712-724
3. Leung KC, Tonelli M, James MT: Chronic kidney disease following acute kidney injury-risk and outcomes. *Nat Rev Nephrol* 2013; 9:77-85
4. Kato M, Natarajan R: Diabetic nephropathy-emerging epigenetic mechanisms. *Nat Rev Nephrol* 2014; 10: 517-530
5. Villeneuve LM, Natarajan R: The role of epigenetics in the pathology of diabetic complications. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 299:14-25
6. McKnight AJ, McKay GJ, Maxwell A: Genetic and epigenetic risk factors for diabetic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* 2014; 21:287-296
7. Kouzarides T: Chromatin modifications and their function. *Cell* 2007;128:693-705
8. Murrell A, Hurd PJ, Wood IC: Epigenetic mechanisms in development and disease. *Biochem Soc Trans* 2013;41:697-699
9. Meagher RB, Müsarr KJ: The influence of DNA sequence on epigenome-induced pathologies. *Epigenetics Chromatin* 2012;5:11
10. Peschansky VJ, Wahlestedt C: Non-coding RNAs as direct and indirect modulators of epigenetic regulation. *Epigenetics* 2014; 9:3-12
11. Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME, Mercer TR, Mehler MF: RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays* 2009;31:51-59
12. ENCODE Project Consortium: An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 2012; 489:57-74
13. Mundade R, Ozer HG, Wei H, Prabhu L, Lu T: Role of ChIP-seq in the discovery of transcription factor binding sites, differential gene regulation mechanism, epigenetic marks and beyond. *Cell Cycle* 2014; 13:2847-2852
14. Metzker ML: Sequencing technologies—the next generation. *Nat Rev Genet* 2010; 11:31-46
15. Jin M, Zhu S, Hu P, Liu D, Li Q, Li Z, Zhang X, Xie Y, Chen X: Genomic and epigenomic analyses of monozygotic twins discordant for congenital renal agenesis. *Am J Kidney Dis* 2014; 64:119-122
16. O'Sullivan L, Combes AN, Moritz KM: Epigenetics and developmental programming of adult onset diseases. *Pediatr Nephrol* 2012; 27:2175-2182
17. Beckerman P, Ko YA, Susztak K: Epigenetics: A new way to look at kidney diseases. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29:1821-1827
18. Zhou VW, Goren A, Bernstein BE: Charting histone modifications and the functional organization of mammalian genomes. *Nat Rev Genet* 2011; 12:7-18
19. Reddy MA, Tak Park J, Natarajan R: Epigenetic modifications in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2013; 33:341-353
20. You JS, Jones PA: Cancer genetics and epigenetics: Two sides of the same coin? *Cancer Cell* 2012; 22:9-20
21. Bird AP, Wolffe AP: Methylation-induced repression-belts, braces, and chromatin *Cell* 1999; 99: 451-454
22. Kohli RM, Zhang Y: TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature* 2013; 502: 472-479
23. Song CX, Yi C, He C: Mapping recently identified nucleotide variants in the genome and transcriptome. *Nat Biotechnol* 2012; 30:1107-1116
24. Strahl BD, Allis CD: The language of covalent histone modifications. *Nature* 2000; 403:41-45
25. Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, Huarte M, Zuk O, Carey BW, Cassady JP, Cabili MN, Jaenisch R, Mikkelsen TS, Jacks T, Hacohen N, Bernstein BE, Kellis M, Regev A, Rinn JL, Lander ES: Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 2009; 458: 223-227
26. Marchese FP, Huarte M: Long non-coding RNAs and chromatin modifiers: Their place in the epigenetic code. *Epigenetics* 2014;9:21-26.
27. Bartel DP: MicroRNAs: Target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136:215-233
28. Shen L, Song CX, He C, Zhang Y: Mechanism and function of oxidative reversal of DNA and RNA methylation. *Annu Rev Biochem* 2014; 83:585-614

29. Kaelin WG, McKnight SL: Influence of metabolism on epigenetics and disease. *Cell* 2013; 153:56-69
30. Rönn T, Volkov P, Davegårdh C, Dayeh T, Hall E, Olsson AH, Nilsson E, Tornberg A, Dekker Nitert M, Eriksson KF, Jones HA, Groop L, Ling C: A six months exercise intervention influences the genome-wide DNA methylation pattern in human adipose tissue. *PLoS Genet* 2013;9:e1003572
31. Mortazavi A, Williams BA, McCue K, Schaeffer L, Wold B: Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nat Methods* 2008; 5:621-628
32. Core LJ, Waterfall JJ, Lis JT: Nascent RNA sequencing reveals widespread pausing and divergent initiation at human promoters. *Science* 2008; 322: 1845-1848
33. Zhou L, Li X, Liu Q, Zhao F, Wu J: Small RNA transcriptome investigation based on next-generation sequencing technology. *J Genet Genomics* 2011; 38: 505-513
34. Simon JM, Giresi PG, Davis I, Lieb JD: Using formaldehyde-assisted isolation of regulatory elements (FAIRE) to isolate active regulatory DNA. *Nat Protoc* 2012; 7:256-267
35. Van de Werken HJ, de Vree PJ, Splinter E, Holwerda SJ, Klous P, de Wit E, de Laat W: 4C technology: Protocols and data analysis. *Methods Enzymol* 2012;513:89-112
36. Grundberg E, Meduri E, Sandling JK, Hedman AK, Keildson S, Buil A, Busche S, Yuan W, Nisbet J, Sekowska M, Wilk A, Barrett A, Small KS, Ge B, Caron M, Shin SY: Multiple Tissue Human Expression Resource Consortium, Lathrop M, Dermitzakis ET, McCarthy MI, Spector TD, Bell JT, Deloukas P: Global analysis of DNA methylation variation in adipose tissue from twins reveals links to disease-associated variants in distal regulatory elements. *Am J Hum Genet* 2013; 93: 876-890
37. Gaulton KJ, Nammo T, Pasquali L, Simon JM, Giresi PG, Fogarty MP, Panhuis TM, Mieczkowski P, Secchi A, Bosco D, Berney T, Montanya E, Mohlke KL, Lieb JD, Ferrer J: A map of open chromatin in human pancreatic islets. *Nat Genet* 2010;42: 255-259
38. Leung A, Parks BW, Du J, Trac C, Setten R, Chen Y, Brown K, Lusis AJ, Natarajan R, Schones DE: Open chromatin profiling in mice livers reveals unique chromatin variations induced by high fat diet. *J Biol Chem* 2014; 289: 23557-23567
39. Leung A, Schones DE, Natarajan R: Using epigenetic mechanisms to understand the impact of common disease causing alleles. *Curr Opin Immunol* 2012;24: 558-563
40. Coca SG: Long-term outcomes of acute kidney injury. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010;19: 266-272
41. Bomsztyk K, Denisenko O: Epigenetic alterations in acute kidney injury. *Semin Nephrol* 2013;33: 327-340
42. Mellor J: Dynamic nucleosomes and gene transcription. *Trends Genet* 2006; 22: 320-329
43. Naito M, Zager RA, Bomsztyk K: BRG1 increases transcription of proinflammatory genes in renal ischemia. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 1787-1796
44. Naito M, Bomsztyk K, Zager RA: Endotoxin mediates recruitment of RNA polymerase II to target genes in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 1321-1330
45. Naito M, Bomsztyk K, Zager RA: Renal ischemia-induced cholesterol loading: Transcription factor recruitment and chromatin remodeling along the HMG CoA reductase gene. *Am J Pathol* 2009; 174:54-62
46. Zager RA, Johnson AC: Renal ischemia-reperfusion injury upregulates histone-modifying enzyme systems and alters histone expression at proinflammatory/profibrotic genes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296: F1032-F1041
47. Li HF, Cheng CF, Liao WJ, Lin H, Yang RB: ATF3-mediated epigenetic regulation protects against acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2010;21: 1003-1013
48. Marumo T, Hishikawa K, Yoshikawa M, Hirahashi J, Kawachi S, Fujita T: Histone deacetylase modulates the proinflammatory and -fibrotic changes in tubulointerstitial injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010; 298: 133-141
49. Havasi A, Haegele JA, Gall JM, Blackmon S, Ichimura T, Bonegio RG, Panchenko MV: Histone acetyl transferase (HAT) HBO1 and JADE1 in epithelial cell regeneration. *Am J Pathol* 2013; 182:152-162
50. Zager RA, Johnson AC, Becker K: Acute unilateral ischemic renal injury induces progressive renal inflammation, lipid accumulation, histone modification, and "end-stage" kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011;301: F1334-F1345
51. Zacharias N, Sailhamer EA, Li Y, Liu B, Butt MU, Shuja F, Velmahos GC, de Moya M, Alam HB: Histone deacetylase inhibitors prevent apoptosis following lethal hemorrhagic shock in rodent kidney cells. *Resuscitation* 2011;82:105-109
52. He W, Wang Y, Zhang MZ, You L, Davis LS, Fan H, Yang HC, Fogo AB, Zent R, Harris RC, Breyer MD, Hao CM: Sirt1 activation protects the mouse renal medulla from oxidative injury. *J Clin Invest* 2010;120:1056-1068
53. Kim DH, Jung YJ, Lee JE, Lee AS, Kang KP, Lee S, Park SK, Han MK, Lee SY, Ramkumar KM, Sung MJ, Kim W: SIRT1 activation by resveratrol ameliorates cisplatin-induced renal injury through deacetylation of p53. *Am J Physiol Renal Physiol* 2011 301:427-435
54. Jung YJ, Lee AS, Nguyen-Thanh T, Kim D, Kang KP, Lee S, Park SK, Kim W: SIRT2 Regulates LPS-Induced Renal Tubular CXCL2 and CCL2 Expression. *J Am Soc Nephrol* 2014;27:1549-1560
55. Kuhad A, Pilkhwai S, Sharma S, Tirkey N, Chopra K: Effect of curcumin on inflammation and oxidative stress in cisplatin-induced experimental nephrotoxicity. *J Agric Food Chem* 2007; 55: 10150-10155
56. Pratt JR, Parker MD, Affleck LJ, Corps C, Hostert L, Michalak E, Lodge JP: Ischemic epigenetics and the transplanted kidney. *Transplant Proc* 2006;38: 3344-3346
57. Huang N, Tan L, Xue Z, Cang J, Wang H: Reduction of DNA hydroxymethylation in the mouse kidney insulted by ischemia reperfusion. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 422:697-702
58. Mar D, Gharib SA, Zager RA, Johnson A, Denisenko O, Bomsztyk K: Heterogeneity of epigenetic changes at ischemia/reperfusion- and endotoxin-induced acute kidney injury genes. *Kidney Int* 2015; 88: 734-744

59. Kanwar YS, Sun L, Xie P, Liu FY, Chen S: A glimpse of various pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Annu Rev Pathol* 2011; 6:395-423
60. Forbes JM, Cooper ME: Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013; 93: 137-188
61. Writing Team for the Diabetes Control and Complications Trial/ Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Sustained effect of intensive treatment of type 1 diabetes mellitus on development and progression of diabetic nephropathy the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC) study. *JAMA* 2003;290: 2159-2167
62. Colagiuri S, Cull CA, Holman RR: Are lower fasting plasma glucose levels at diagnosis of type 2 diabetes associated with improved outcomes? U.K. prospective diabetes study 61. *Diabetes Care* 2002; 25: 1410-1417
63. Villeneuve LM, Reddy MA, Lanting LL, Wang M, Meng L, Natarajan R: Epigenetic histone H3 lysine 9 methylation in metabolic memory and inflammatory phenotype of vascular smooth muscle cells in diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 9047-9052
64. Miao F, Chen Z, Genuth S, Paterson A, Zhang L, Wu X, Li SM, Cleary P, Riggs A, Harlan DM, Lorenzi G, Kolterman O, Sun W, Lachin JM, Natarajan R; DCCT/EDIC Research Group: Evaluating the role of epigenetic histone modifications in the metabolic memory of type 1 diabetes. *Diabetes* 2014; 63: 1748-1762
65. Hayashi K, Sasamura H, Nakamura M, Azegami T, Oguchi H, Sakamaki Y, Itoh H: KLF4-dependent epigenetic remodeling modulates podocyte phenotypes and attenuates proteinuria. *J Clin Invest* 2014;124: 2523-2537
66. Zhong Y, Chen EY, Liu R, Chuang PY, Mallipattu SK, Tan CM, Clark NR, Deng Y, Klotman PE, Ma'ayan A, He JC: Renoprotective effect of combined inhibition of angiotensin-converting enzyme and histone deacetylase. *J Am Soc Nephrol* 2013; 24: 801-811