

KANSERDE VE KANSER EPİGENOMUNDA DNA METİLYASYONU VE ÖNEMİ

27.

BÖLÜM

Nail ÖZHAN¹

GİRİŞ

Epigenetik terimi ilk olarak 1942 yılında Waddington tarafından, benzer genetik alt yapıya sahip bireylerde ortaya çıkan farklı fenotiplerin sebebini açıklayabilmek için ortaya konmuştur. Epigenetik mekanizmalar son yılların popüler çalışma konusu olup kanser dahil bir çok hastalıkla ilişkisi gösterilmiştir.^(1,2) Genetik alt yapıda yani dna diziliminde herhangi bir değişiklik olmadan gen ifadesinde farklılıklar ortaya çıkabilmekte ve bunlar sonraki nesillere mayotik ve/veya mitotik olarak aktarılabilmektedir. Epigenetik değişiklikler bir genin ne zaman hangi koşullarda ve ne düzeyde aktifleneceğini ve ya baskılanacağını belirlemektedir.⁽³⁾ DNA metilasyonu ön planda olmak üzere, histon modifikasyonu ve rna ile gen ifadesi kontrolü başlıca epigenetik mekanizmaları oluşturmaktadır. Bu sayede DNA transkripsiyon protein aktiviteleri kontrol edilmekte ve aynı zamanda DNA kromatin yapısının modifiye edilerek gen ekspresyonları düzenlenebilmektedir.^(4,5,6)

DNA METİLYASYONU

Araştırmacılar tarafından ilk tespit edilen ve son yıllarda yapılan çalışmalar ile hakkında en çok bilgi sahibi olunan epigenetik mekanizma DNA metilasyonudur. Bu epigenetik faktör insan vücudunda bir çok fizyolojik sürecin sağlıklı ilerlemesinden sorumludur. Örneğin embriyonik dönemdeki kök hücrelerin belirli bir aşamadan sonra farklı dokulara dönüşebilmesi için DNA metilasyonun gerçekleşmesi gerekmektedir. Bu

nun yanında fizyolojik olarak gen susturma, kadının cinsiyette ikincil X kromozomunun inaktive edilmesi, genomik imprintlenmenin düzenlenmesi, kromatin kararlılığının korunması, yaşlanma ve testis spesifik genlerin susturulması bir çok fizyolojik süreçte önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle DNA metilasyonu sırasında oluşabilecek anormal durumlar metilasyon dengesini bozmakta ve kanser başta olmak üzere çeşitli hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. DNA metilasyonu sitozin (C) bazının 5. karbonuna bir metil grubunun (-CH₃) kovalent olarak bağlanması ile meydana gelir. Metilasyon sonucu 5-metil sitozin (5m-C) yapısı oluşur.⁽⁷⁾ Reaksiyon sonrası meydana gelen epigenetik işaretler kalıcı değildir. İnsan genomunda, normal somatik hücrelerde yaklaşık % 70'i metillenmiş halde 28 milyona yakın CpG dizisi bulunmaktadır. Buradaki C sitozin bazını, p fosfodiester bağı ve G ise guanin bazını temsil etmektedir.⁽⁸⁾ CpG dizilerinin genomdaki dağılımı homojen olmayıp beklenen sıklığın sadece dörtte bir oranında gerçekleşmektedir. Bu oran genomun yaklaşık %1'ine denk gelmektedir.⁽⁹⁾ CpG dizilerinin yaklaşık %15'lik kısmı ise 'CpG adacıkları' olarak isimlendirilmiş özel bölgelerde yoğunlaşmıştır.

CpG adacıkları ise genomun yaklaşık %2'lik gibi küçük bir kısmını oluşturmaktadır.⁽¹⁰⁾ Bu bölgeler sitozin ve guanin dinükleotidlerince zenginler. CpG içerikleri %50'nin üzerindedir ve 0.5 ile 3 kilobaz uzunluğundadır. CpG adacıkları housekeeping genlerde, genlerin 3'- bölgelerinde, ekzonik bölgelerde ve özellikle daha yoğun olarak genlerin promotör bölgelerinde bulunurlar. İn-

¹ Uzm. Dr. Kayseri Şehir Hastanesi, nail_ozhan@outlook.com ORCID iD: 0000-0002-7159-6521

miştir. Örneğin prostat kanserinde glutatyon S transferaz P (GSTP1), akciğer kanserinde p191n-k4A, meme ve over kanserinde ise BRCA1 tümör süpresyon genlerinin hipermetilasyon ile baskılanmakta ve kansere neden olmaktadır⁽⁴²⁾. Ayrıca P16 ve GSTP1 deki metilasyon seviyesinin kanser progresyonu süresince artış gösterdiği saptanmış ve bu sebeple araştırmacılar tarafından bu genlerdeki metilasyon ölçümünün hastalık progresyonunu predikte etmede ve erken tanıda potansiyel bir marker olarak kullanılabileceği fikri ortaya sürülmüştür^(43,44). Başka bir örnek akciğer kanserinde görülen oligodendrosit transkripsiyon faktör (OLIG1) gen hipermetilasyonudur, gen metilasyon düzeyi ile hastalık progresyonu arasında korelasyon bildirilmiştir⁽⁴⁵⁾.

Toyota ve arkadaşları tarafından ilk olarak tanımlanan CpG adası metilatör fenotipi (CIMP), promoter bölgelerini çevreleyen çok sayıda CpG adasının eşzamanlı hipermetilasyonu ile karakterizedir.⁽⁴⁶⁾ Kanser Genom Atlası konsorsiyumu tarafından glioblastoma ve kolon kanserinde CpG adacık metilatör fenotiplerinin (CIMP) varlığı gösterilmiş ve bu iki kanser türü metilasyon durumlarına göre alt gruplara ayrılmıştır.^(46,47) Ailesel olmayan kolon kanseri CIMP varlığına göre sınıflandırıldığında hem klinik olarak hem de tedavi yanıt açısından farklılıklar göstermektedir.⁽⁴⁸⁾

SİTOZİN TİMİN MUTASYONU

Metilasyon ilişkili öne sürülen kanser gelişim mekanizmarından bir diğeri ise metile sitozinin timine mutasyonudur. Hücre genomunda sitozin bazının deaminasyon sonucu oluşmuş olan timin bazı DNA tamir mekanizmaları tarafından düzeltilmemekte ve nokta mutasyonlara yol açmaktadır. CpG adacıkları okogenler ve tümör süpresör genlerde mutasyon riski yüksek alanlardır ve germline nokta mutasyonlarının üçte birinden fazlası bu bölgelerde görülür.⁽⁴⁹⁾ Sitozin timin mutasyonu CpG dinükleotidlerine diğerlerine nazaran daha sıklıkta görülür. Bunun nedeni bu bölgedeki metile guanin bazının kısa zamanda deaminasyon yoluyla timine dönüşebilmesidir. Bir çok kanser türünün %50'sinden fazlasında p53 geninde farklı mutasyonlar görülür ve mutasyonların yaklaşık %24'ü CpG bölgelerindeki sitozin timin mutasyonudur.⁽⁵⁰⁾

SONUÇ

DNA metilasyonundaki anormal değişiklikler birçok aşamada ve farklı mekanizmalar ile kanser gelişiminde önemli rol oynamaktadır. Özellikle karsinogenezin başlangıç evrelerinden itibaren gözlenebilmesi kanserin erken tanısı hakkında önemli ip uçları vermektedir. Bu sebeple erken tanının, hayati öneme sahip olduğu kanser tedavisinde tanısal bir belirteç olarak umut vadetmektedir. Yine aynı kanser türlerinde farklı metilasyon paternlerinin tespiti ve bunların klinik yansımalarının farklı olduğunun keşfi hastaların sınıflandırmasında ve bireysel tedavilerin uygulanması konusunda destekleyici olacaktır. Hastalık progresyonu sırasında metilasyonun dinamik olarak değiştiğinin gösterilmesi tedavi takibinde klinisyenlere önemli ipuçları sağlayacaktır. DNA metilasyonu ve kanser epigenomu arasındaki ilişki her geçen yıl daha da aydınlatılmakta beraber bilinmeyenlerin sayısı çok daha fazla durumdadır. Keşfedilmeyi bekleyen bu alanlar gelecekte kanser hastalarının tanı ve tedavisine ışık tutacaktır.

KAYNAKÇA

1. Waddington CH. The epigenotype.1942. *Int J Epidemiol.* 2012;41:10-3.
2. Bird A. Perceptions of epigenetics. *Nature* 2007;447:396-8.
3. Novik K, Nimmrich I, Genc B Maier S, Piepenbrock C, Olek A, Beck S. Epigenomics: genome-wide study of methylation phenomena. *Current Issues In Molecular Biology.* 2002;4:111-128.
4. Hoffman AM, Cairns P. Epigenetics of kidney cancer and bladder cancer. *Epigenomics* 2011;3:19-34.
5. Harb-De La Rosa A, Acker M, Kumar Ra, Manoharan M. Epigenetics application in the diagnosis and treatment of bladder cancer. *Can J Urol* 2015;22:7947-7951.
6. You JS, Jones PA. Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin. *Cancer Cell.* 2012;22: 9-20.
7. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 2002;16:6-21.
8. Jabbari K, Bernardi G. Cytosine methylation and CpG, TpG (CpA) and TpA frequencies. *Gene.* 2004;333:143-9.
9. Stevens M, Cheng J, Li D, Xi M, Hong C, Maire C, et al. Estimating absolute methylation levels at single-CpG resolution from methylation enrichment and restriction enzyme sequencing methods. *Genome Research.* 2013;23:1541-53.
10. Zhu J, Yao X. Use of DNA methylation for cancer detection and molecular classification. *J Biochem Mol Biol* 2007;40:135-41.
11. Eroğlu P. Non-Hodgkin Lenfomalı Olgularda P15ink4b Promotör Bölgesindeki DNA Metilasyonunun Araştır-

- rilması. Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Mersin 2007:108.
12. Pehlivan M. Kronik Miyeloid Lösemi (KML) Hastalarında SFRP1 Geninin Promotör Bölgesinin Epigenetik ve Genetik Değişikliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İzmir 2008:135.
 13. Nan X, Campoy FJ, Bird A. MeCP2 is a transcriptional repressor with abundant binding sites in genomic chromatin. *Cell* 1997;88:471–481.
 14. Güler C, Balcı Peynircioğlu B. DNA metilasyonu ve hastalıklarla ilişkisi. *ACU Sağlık Bil Dergisi* 2016;2:61-68
 15. Bestor TH. Cloning of a mammalian DNA methyltransferase. *Gene*. 1988;74:9–12
 16. Robertson KD. DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web. *Oncogene* 2002; 21:5361-79
 17. Gruenbaum, Y, Cedar H, Razin, A. Substrate and sequence specificity of a eukaryotic DNA methylase. *Nature* 1982;295:620-622.
 18. Spada F, Haemmer A, Kuch D, Rothbauer U, Schermelleh L, Kremmer E, Carell T, Langst G, Leonhardt H. DNMT1 but not its interaction with the replication machinery is required for maintenance of DNA methylation in human cells. *J Cell Biol* 2007;176:565-571.
 19. Denis H, Ndlovu MN, Fuks F. Regulation of mammalian DNA methyltransferases: a route to new mechanisms. *EMBO reports* 2011;12:647-56.
 20. 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.
 21. Vineis P, Chatziioannou A, Cunliffe VT, et al. Epigenetic memory in response to environmental stressors. *FASEB J* 2017;31:2241-2251.
 22. Ehrlich M. DNA methylation in cancer: too much, but also too little. *Oncogene*. 2002;21:5400–5413.
 23. Varley KE, Gertz J, Bowling KM, et al. Dynamic DNA methylation across diverse human cell lines and tissues. *Genome Res*. 2013 Jan 16;23:555–567.
 24. Rauscher GH, Kresovich JK, Poulin M, et al. Exploring DNA methylation changes in promoter, intragenic, and intergenic regions as early and late events in breast cancer formation. *BMC Cancer*. 2015;15:816.
 25. Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer* 2004;4:1-11
 26. Nishiyama R, Qi L, Lacey M, et al. Both hypomethylation and hypermethylation in a 0.2-kb region of a DNA repeat in cancer. *Molec Cancer Res*. 2005;3:617–626.
 27. Rodriguez J, Frigola J, Vendrell E, et al. Chromosomal instability correlates with genome-wide DNA demethylation in human primary colorectal cancers. *Cancer Res*. 2006;66:8462-8468
 28. Ehrlich, M, Lacey, M. DNA hypomethylation and hemimethylation in cancer. *Adv. Exp. Med. Biol.*2013;754:31-56.
 29. Narayan A, Ji W, Zhang XY, Marrogi A, Graff JR, Baylin SB, et al. Hypomethylation of pericentromeric DNA in breast adenocarcinomas. *Int. J. Cancer* 1998;77:833–838.
 30. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell* 2007;128:683–692.
 31. Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications. *Nat. Rev. Cancer* 2011;11:726–734.
 32. Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat. Rev. Genet.* 2002;3:415–428.
 33. Ballestar E, Esteller M. The impact of chromatin in human cancer: linking DNA methylation to gene silencing. *Carcinogenesis* 2002;23:1103-1109.
 34. Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation of ras oncogenes in primary human cancers. *Biochem Biophys Res Commun* 1983;111:47.
 35. Ehrlich M, Woods C, Yu M, et al. Quantitative analysis of association between DNA hypermethylation, hypomethylation, and DNMT RNA levels in ovarian tumors. *Oncogene*. 2006;25:2636–2645.
 36. Qu G, Dubeau L, Narayan A, Yu M, Ehrlich M. Satellite DNA hypomethylation vs. overall genomic hypomethylation in ovarian epithelial tumors of different malignant potential. *Mut Res*. 1999;423:91–101.
 37. Roman-Gomez J, Jimenez-Velasco A, Agirre X, et al. Repetitive DNA hypomethylation in the advanced phase of chronic myeloid leukemia. *Leuk Res*. 2008;32:487–490.
 38. Shen L, Fang J, Qiu D, Zhang T, Yang J, Chen S, Xiao S. Correlation between DNA methylation and pathological changes in human hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology*. 1998;45:1753-1759.
 39. Villalba M, Diaz-Lagares A, Redrado M, de Aberasturi AL, Segura V, Bodegas ME, Pajares MJ, Pio R, Freire J, Gomez-Roman J, Montuenga LM, Esteller M, Sandoval J, Calvo A. Epigenetic alterations leading to Tmprss4 promoter hypomethylation and protein overexpression predict poor prognosis in squamous lung cancer patients. *Oncotarget*. 2016; 7:22752-22769
 40. Majumder S, Ghoshal K, Datta J, Bai SM, Dong XC, Quan N, Plass C, Jacob ST. Role of de novo DNA Methyltransferases and methyl CpG-binding proteins in gene silencing in a rat hepatoma. *J Biol Chem* 2002;277:16048-16058.
 41. Robertson KD, Keyomarsi K, Gonzales FA, Velicescu M, Jones PA. Differential mRNA expression of the human DNA methyltransferases (DNMTs) 1, 3a and 3b during the G(0)/G(1) to S phase transition in normal and tumor cells. *Nucleic Acids Res* 2000;28:2108-2113.
 42. Esteller, M., Silva, J.M., Dominguez, G., Bonilla, F., Matias-Guiu, X., Lema, E. et al. Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors. *J. Natl. Cancer Inst.* 2000;92:564–569.
 43. Mahon KL, Qu, W, Devaney J, Paul C Castillo L, Wykes R.J. et al. Methylated Glutathione S-transferase 1 (mGSTP1) is a potential plasma free DNA epigenetic marker of prognosis and response to chemotherapy in castrate-resistant prostate cancer. *Br. J. Cancer* 2014;111:1802–1809.
 44. Belinsky SA, Nikula KJ Palmisano WA, Michels R, Saccomanno G, Gabrielson E, et al. Aberrant methylation of p16(INK4a) is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1998;95:11891–11896.
 45. Brena RM, Morrison C, Liyanarachchi S, Jarjoura D, Davuluri RV, Otterson GA, et al. Aberrant DNA methylation of OLIG1, a novel prognostic factor in non-small cell lung cancer. *PLoS Med* 2007;4:e108.
 46. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa J. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:8681-6.

47. Noshmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, Phillips HS, Pujara K, Berman BP, et al. Identification of a CpG island methylator phenotyp that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell* 2010;17: 510–522.
48. Weisenberger DJ, Liang G, Lenz HJ. DNA methylatio aberrancies delineate clinically distinct subsets of colorectal cancer and provide novel targets for epigenetic therapies. *Oncogene*. 2018;37:566–577.
49. Bird A. P. The relationship of DNA methylation to cancer. *Cancer Surveys*. 1996;28:87-101.
50. Sumei Wang, Wanyin Wu Dna methylation alterations in human cancers. In: *Epigenetics in Human Disease*. Ed: Trygve O.Tollefsbol. Academic Press. 2nd Edition. 2018;6:118-119