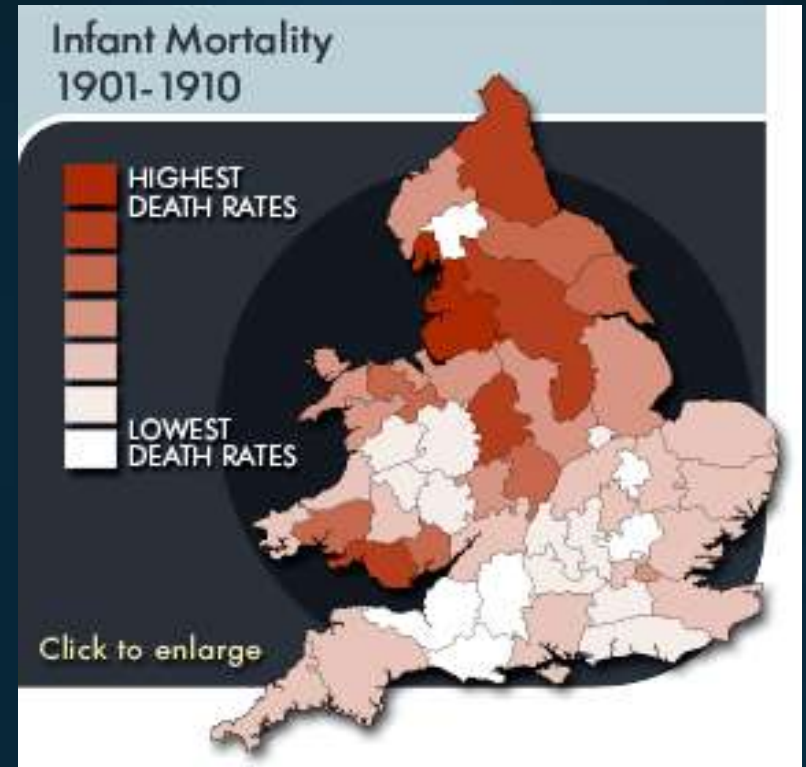
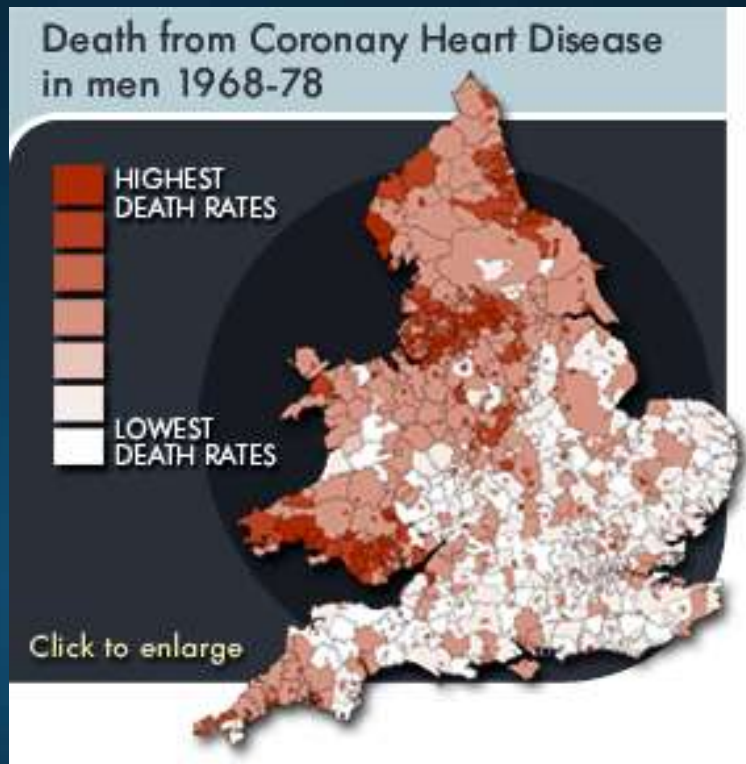


Επιγενετική και Προγραμματισμός Χρονίων Νόσων

Αναστασία Βαρβαρήγου
Καθηγήτρια Παιδιατρικής και
Νεογνολογίας



Βρεφική θνησιμότητα και ισχαιμική καρδιακή νόσος (Αγγλία-Ουαλία)



Barker DJ *et al.* Lancet 1986



Θεωρία «thrifty phenotype» 1992 Hales και Barker

<< Σε ένδεια θρεπτικών ουσιών, το έμβρυο προσαρμόζεται αλλάζοντας το **φαινότυπό** του, χωρίς αλλαγή του γονότυπου δηλ. της αλληλουχίας βάσεων του DNA, με σκοπό την άμεση επιβίωση του στο μη ευνοϊκό ενδομήτριο περιβάλλον.>>



Θεωρία «thrifty phenotype» 1992 Hales και Barker

- Η προσαρμογή του εμβρύου στο πτωχό ενδομήτριο περιβάλλον επιτυγχάνεται με
- μείωση
- του μεταβολισμού,
- των κυτταρικών διαιρέσεων
- της ανάπτυξης των οργάνων,
- της διαφοροποίησης >> και
- τροποποίηση της λειτουργίας των συστημάτων.



Μοντέλα εφαρμογής θεωρίας «thrifty phenotype»

Η αλλαγή του φαινοτύπου πέρα από το άμεσο θετικό αποτέλεσμα για την ενδομήτρια επιβίωση, έχει συνέπειες και στην μετέπειτα ζωή του ατόμου.

Οι συνέπειες αυτές μπορεί να είναι είτε ευεργετικές όταν το εξωμήτριο περιβάλλον προσομοιάζει το ενδομήτριο (**match**),

είτε καταστροφικές σε περίπτωση που το ενδομήτριο περιβάλλον είναι διαφορετικό από το εξωμήτριο (**mismatch**).

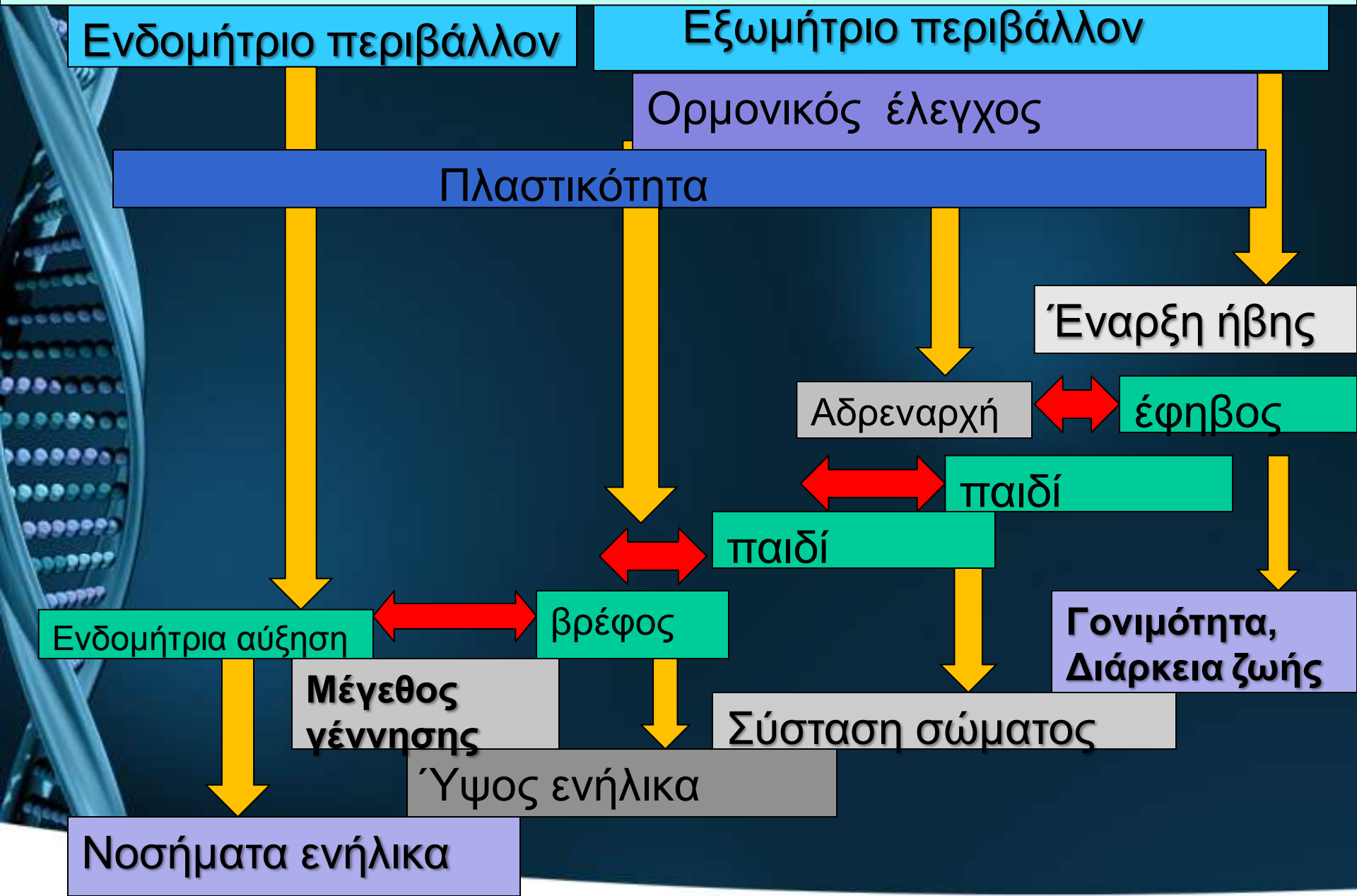
Μακροχρόνια νοσηρότητα προκύπτει όταν το προβλεπόμενο περιβάλλον στην ενήλικη ζωή διαφέρει από το ενδομήτριο περιβάλλον



Η υπόθεση του Barker (BMJ 1995)

- Γεγονότα που σχετίζονται με την ενδομήτρια αύξηση και την αύξηση στην βρεφική ηλικία μπορεί να έχουν σημαντική επίδραση στον κίνδυνο εμφάνισης καρδιαγγειακών νοσημάτων, μεταβολικού συνδρόμου, παχυσαρκίας και διαβήτη τύπου 2
- Η βιολογική βάση για αυτές τις συσχετίσεις στηρίζεται στο φαινόμενο που ονομάζεται *αναπτυξιακή πλαστικότητα*
- Το φαινόμενο αυτό επιτρέπει τη δημιουργία φαινοτύπων που ταιριάζουν στο περιβάλλον που αναπτύσσεται ο οργανισμός (εφόσον τα γεγονότα λαμβάνουν χώρα σε *κριτικές περιόδους* στις οποίες τα όργανα είναι ευαίσθητα και εμφανίζουν πλαστικότητα)

Κρίσιμες περιόδους αναπτυξιακής πλαστικότητας και μεταβατικές φάσεις ανάπτυξης





Επέκταση της θεωρίας του Barker

- Παχυσαρκία προ της κύησης/
 - κέρδος βάρους κατά την κύηση
 - Σακχαρώδης Διαβήτης
- διαταράσσει το ενδομήτριο περιβάλλον κατά την ανάπτυξη του εμβρύου, προκαλώντας μόνιμες αλλαγές
- στον υποθάλαμο,
 - στα νησίδια του παγκρέατος,
 - στις ορμόνες
 - στον λιπώδη ιστό
- και σε άλλα βιολογικά συστήματα ρύθμισης του βάρους.

U-σχήματος συσχέτιση μεταξύ βάρους γέννησης και νοσηρότητας στην ενήλικο ζωή





Μεταβολικός προγραμματισμός

Μεταβολικοί και διατροφικοί παράγοντες αν δράσουν σε σύντομες, ευαίσθητες χρονικές περιόδους της πρώιμης ανάπτυξης έχουν μακροχρόνια επίδραση στη φυσιολογία, λειτουργικότητα, υγεία και αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης χρόνιων νόσων

*Lucas J. The childhood environment and adult ,
1991*



Εμβρυικός Προγραμματισμός

- Το περιβάλλον επιδρά στο γονότυπο του εμβρύου, τροποποιεί την έκφρασή του, παράγει διαφορετικούς φαινότυπους, και προγραμματίζει την μελλοντική υγεία.

Πρώιμος προγραμματισμός: Τεκμηριωμένος όρος στη Βιολογία

- **Κύηση**
- Αυξημένη Φαινυλαλανίνη (Μη θεραπευμένη φαινυλκετονουρία μητέρας)
- **Κύηση**
- Ανεπαρκής πρόσληψη φυλλικού οξέως

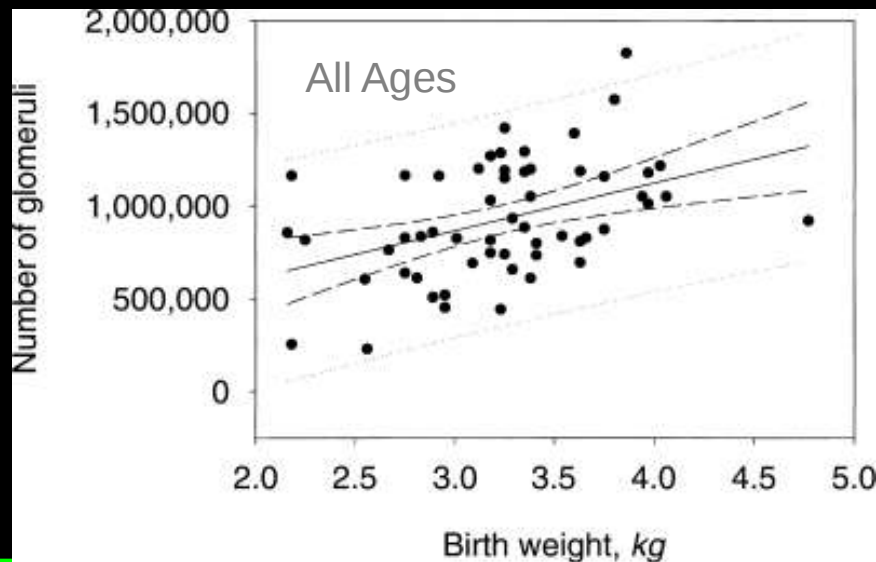
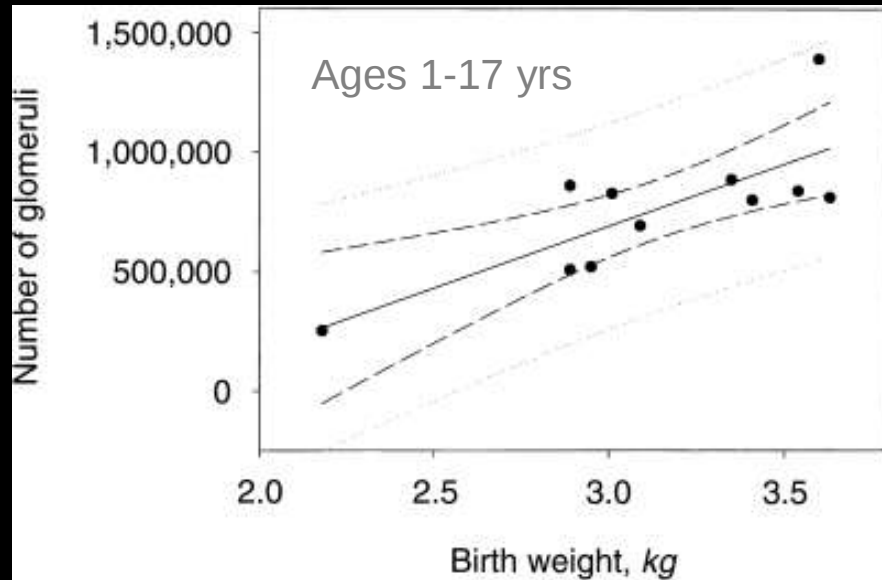




Παράδειγμα εμβρυικού προγραμματισμού

Η μείωση του μεταβολισμού του εμβρύου προκαλεί μείωση του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης κυττάρων συγκεκριμένων ιστών και οργάνων.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η μείωση του αριθμού των νεφρών του εμβρύου



In Term Births:

**Birth Weight
Predicts
Nephron Number**

**$\Delta \approx 230,000$ nephrons
per kg increase
in birth weight**

← **Hughson et al,
Kid Internat (2003) 63, 2113**

**Also:
Merlet-Benichou et al, 1999
Manalich et al, 2000**

Παράδειγμα εμβρυικού προγραμματισμού

Νηστεία
μητέρας

Μειωμένος
αριθμός
νεφρώνων

Αύξηση
GFR ανά
νεφρόνα

Σπειραματο
σκλήρυνση

Υπέρταση



Εκλεκτικότητα εμβρυικής προσαρμογής

- Η ελάττωση του μεταβολισμού (με αντίσταση στην ινσουλίνη) είναι **εκλεκτική** και αφορά συγκεκριμένα όργανα.

Ο οργανισμός δηλαδή προσπαθεί να εξασφαλίσει ενέργεια σε ζωτικά όργανα (**πχ εγκέφαλος-ευαισθησία στην ινσουλίνη**) εις βάρος άλλων οργάνων (**πχ μύες-αντίσταση στην ινσουλίνη**).

Εκλεκτική αντίσταση στην ινσουλίνη

IUGR/ Περιγεννητικός περιορισμός
τροφικών συστατικών/ Αυξημένη
εμβρυική έκθεση σε γλυκοκορτικοειδή

Πάγκρεας

Ήπαρ

Μύες

Λιποκύτταρ

↓ Κυτταρική
μάζα και εκκριτική
ικανότητα β-
κυττάρων

↓ Πρόσληψη
γλυκόζης
↑ γλυκονεογένεση

↑ οξείδωση λιπών
↓ ευαισθησία στην
ινσουλίνη

↓ αναστολή της
λιπόλυσης από
την ινσουλίνη

- ↓ λειτουργική ικανότητα παγκρέατος
- Διαταραγμένη ανοχή στη γλυκόζη
- Αντίσταση στην ινσουλίνη

Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2

Πώς και ποιός είναι
ο μηχανισμός της
αναπτυξιακής
πλαστικότητας???

Πώς αλλάζει ο φαινότυπος
του εμβρύου χωρίς να
αλλάζει ο γονότυπος???



ΓΕΝΕΤΙΚΗ

Από τον Mendel και τον Darwin τον 19^ο αιώνα έως τους Watson και Crick τον 20^ο, μάθαμε ότι

- 1) οι πληροφορίες για την ύπαρξη και ανάπτυξη ενός οργανισμού είναι αποθηκευμένες στα χρωμοσώματα και μεταφέρονται από τους γονείς στα παιδιά.
- 2) Τα χρωμοσώματα αποτελούνται από DNA και πρωτεΐνες (ιστόνες).
- 3) Το DNA αποτελείται από αζωτούχες βάσεις (C,G,T,A) σε αλληλουχία, που ανά 3 κωδικοποιούν ένα γονίδιο (ένα χαρακτηριστικό)
- 4) Τα γονίδια μεταφέρονται αναλλοίωτα στις επόμενες γενιές, και οι μεταβολές των χαρακτηριστικών οφείλονται σε μεταλλάξεις

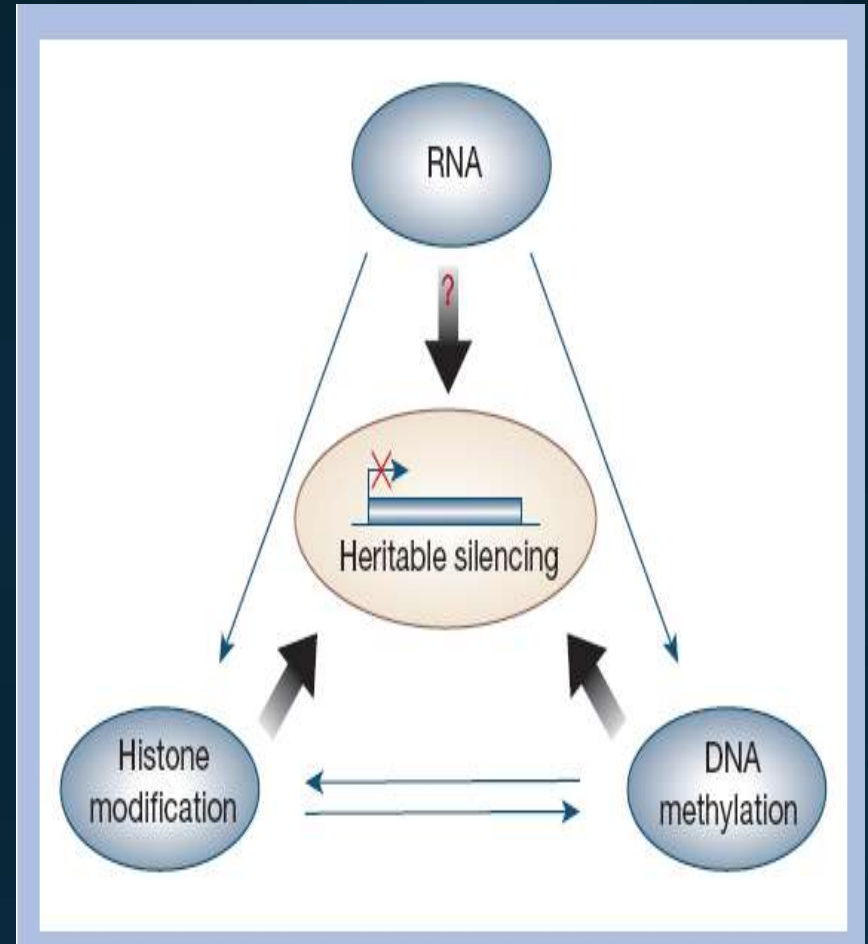


Επιγενετική

- Ο C.H. Waddington έθεσε τον όρο με σκοπό να εξηγήσει διαφορετικότητες που δεν εξηγεί η Γενετική
- Εξερευνά πως η φύση και το περιβάλλον αλληλεπιδρούν στην έκφραση συμπεριφοράς, χαρακτηριστικών και νόσων που η παραδοσιακή γενετική δεν μπορεί να ερμηνεύσει μέσω των γονιδίων, και που εκτείνεται από τον σεξουαλικό προσανατολισμό έως τον αυτισμό και τον καρκίνο.

Κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί

- 1) Μεθυλίωση του DNA -σε θέσεις CpG-
- 2) τροποποίηση των ιστόνων
- 3) παραγωγή ειδικών μορίων RNA



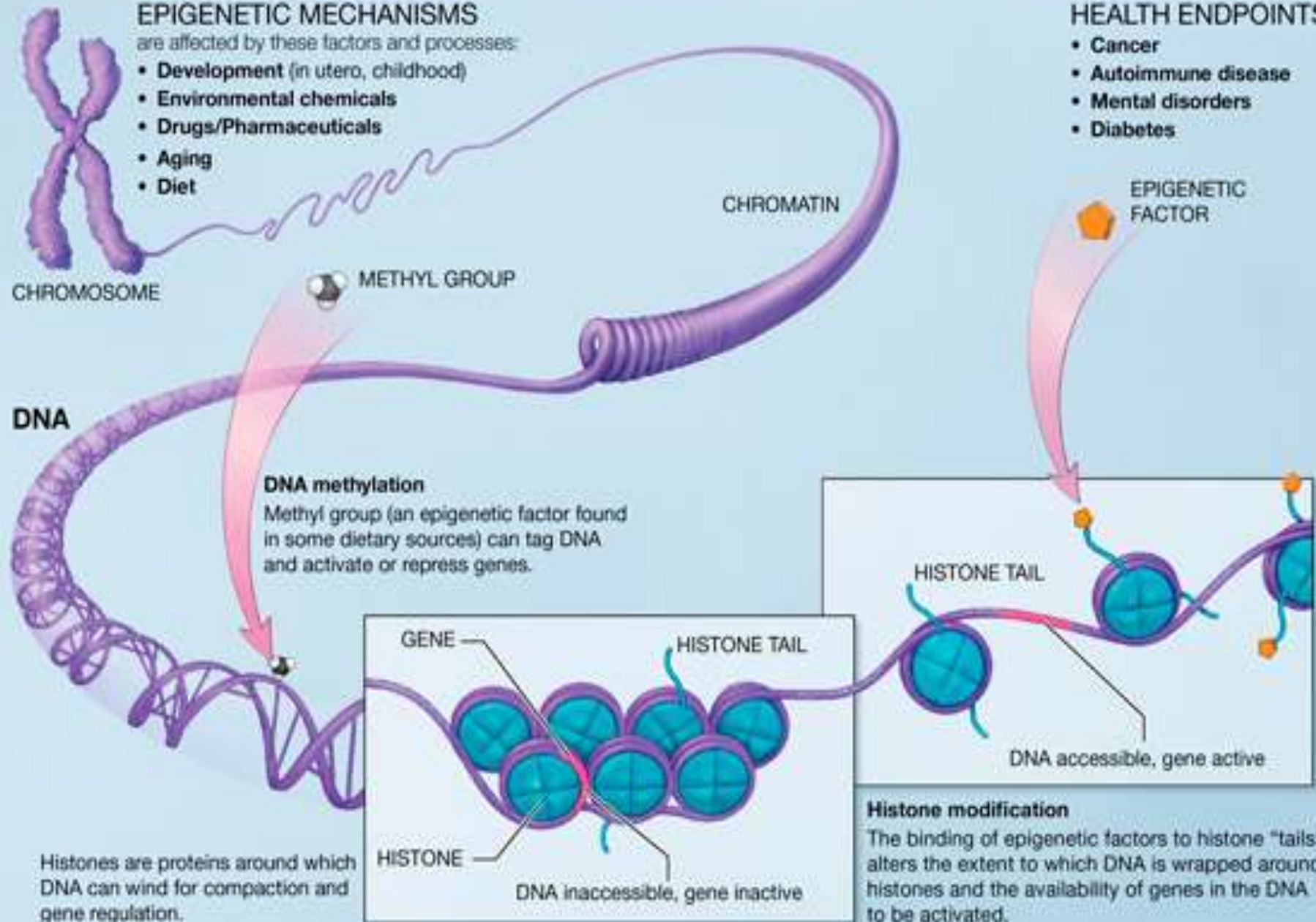
EPIGENETIC MECHANISMS

are affected by these factors and processes:

- Development (in utero, childhood)
- Environmental chemicals
- Drugs/Pharmaceuticals
- Aging
- Diet

HEALTH ENDPOINTS

- Cancer
- Autoimmune disease
- Mental disorders
- Diabetes





Επιγενετικός μηχανισμός τροποποίησης της έκφρασης των γονιδίων

- Η **μεθυλίωση του DNA** είναι η κύρια επιγενετική τροποποίηση του γονιδιώματος
 - Τα **πρότυπα μεθυλίωσης** των σωματικών κυττάρων **είναι σταθερά** (οι μεθυλιώσεις παραμένουν κατά τις μιτώσεις) και **κληρονομούμενα** με εξαίρεση δυο περιόδους της ανάπτυξης.
 - Η πρώτη αφορά τη δημιουργία γεννητικών κυττάρων (μείωση) και
 - η δεύτερη την περίοδο προεμφύτευσης του εμβρύου.
- Στις περιόδους αυτές το πρότυπο μεθυλιώσεων επαναπροσδιορίζεται.*



Επιγενετικός μηχανισμός τροποποίησης έκφρασης γονιδίων

- Οι μεθυλιώσεις του DNA αποτελούν τη βάση της διαδικασίας του **imprinting**.
- **Imprinting** λέμε τη διαδικασία με την οποία ένα από τα δύο αλληλόμορφα γονίδια εκφράζεται πάντα
- Είτε αυτό που προέρχεται από τον πατέρα (**paternal imprinting**)
- είτε το προερχόμενο από την μητέρα (**maternal imprinting**).



Επιγενετική

- Το γονιδίωμα αντιδρά δυναμικά στο περιβάλλον
- Η ανάπτυξη και επιβίωση ενός οργανισμού είναι αποτέλεσμα χημικών αντιδράσεων οι οποίες κλείνουν και ανοίγουν τμήματα του γονιδιώματος σε στρατηγικές χρονικές στιγμές και θέσεις.

Πλήθος μελετών πρόσφατα έχει δείξει ότι:

- Στρές, διατροφή, συμπεριφορά, τοξίνες και άλλοι παράγοντες ενεργοποιούν χημικούς διακόπτες που ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση.
- Επιγενετική είναι η μελέτη αυτών των χημικών αντιδράσεων και των παραγόντων που τις επηρεάζουν.



Επιγενετική και Εμβρυικός Προγραμματισμός



Ο ρόλος της μελατονίνης στον εμβρυικό προγραμματισμό

- Περνά τον πλακούντα και τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό του εμβρύου και ο ρόλος της είναι σημαντικός στην ρύθμιση της ανάπτυξης των οργάνων εξωμητρίως.
- Οι προβληματικές κυήσεις προκαλούν οξειδωτικό στρες στο έμβρυο και επιγενετικές αλλαγές.
- Η Μελατονίνη απομακρύνει τις ελεύθερες ρίζες, έχει ευρεία αντιοξειδωτική δράση και δρα ως επιγενετικός παράγοντας αναστέλοντας τον παθολογικό εμβρυικό προγραμματισμό
- *Int. J. Mol. Sci.* 2013, 14, 5380-5401



Epigenetics of gestational diabetes mellitus and offspring health: the time for action is in early stages of life

- *Ιστός ομφαλίδος και πλακούντα από 250 νεογνά*
- Σύγκριση επιπέδων μεθυλίωσης 7 imprinting γονιδίων ανάπτυξης, 4 μεταβολισμού, 1 πολυδύναμο κ.α.
- Το μητρικά impr MESTene, το μη imprin υποδοχέα των γλυκοκορτοκοειδών NR3C1 και το ALU ήταν **σημαντικά χαμηλότερα στα νεογνά των διαβητικών μητέρων** σε σχέση με τους μάρτυρες.
- Σημαντικά χαμηλά επίπεδα μεθυλίωσης MEST γονιδίου βρέθηκε στο αίμα ενηλίκων με νοσογόνο παχυσαρκία

Nady El Haj ; DIABETES, VOL 62, April 2013



DNA methylation at imprint regulatory regions in preterm birth and infection

- Ομφάλιο λώρο απο 73 πρόωρα
- Μεθυλίωση DNA σε 9 γονιδιακούς τόπους
- Αποτελέσματα
- Δεν υπήρξε διαφορά στα επίπεδα μεθυλίωσης και στους 9 τόπους σε σχέση με το αίτιο προωρότητας
- Σημαντικά αυξημένα τα επίπεδα *PLAGL1* σε νεογνά με χοριοαμνιονίτιδα και ομφαλίτιδα
- Δυσλειτουργία του *PLAGL1* σχετίζεται με διαταραχή της ανάπτυξης και καρκίνο.

Liu H; Am J Obstet and Gynecol: Mar 2013



Folate and fetal programming: a play in epigenomics?

- Το Φυλικό οξύ είναι δότης μεθυλιώσεων και τα επίπεδά του στη μητέρα επηρεάζουν σημαντικότερα τις μεθυλιώσεις στο DNA του εμβρύου.
- Παρεμβαίνει στον εμβρυικό προγραμματισμό με Διαταραχή μεθυλίωσης-ακετυλίωσης των PGC1-α & SIRT1 προκαλώντας λιπώδη εκφύλλιση των σπλάχνων –καρδιάς, ήπατος- και
- Ατροφία του Ιπποκάμπου
με μόνιμα γνωσιακά και μαθησιακά ελλείμματα .

Gueant JL; Trends Endocrinol Metab. Mar 2013



Epigenetics of hypoxic pulmonary arterial hypertension following intrauterine growth retardation rat: epigenetics in PAH following IUGR.

- Η μειωμένη προσφορά θρεπτικών συστατικών ενδομήτρια αυξάνει την ακετυλίωση των ιστονών και των HIF-1α του ET-1 PVEC, και συνεχίζει ως την 6^η βδομάδα ζωής σε ποντίκια.
- Οι ακετυλιώσεις των γονιδίων αυτών σχετίζονται με υπερτροφία του μυικού τοιχώματος των αγγείων και ιδιαίτερα της πνευμονικής αρτηρίας
- Οι επιγενετικές μεταβολές στα IUGR συνδέονται στενά με την ανάπτυξη πνευμονικής υπέρτασης.



The epigenetics of maternal cigarette smoking during pregnancy and effects on child development.

- Το κάπνισμα της μητέρας κατά την διάρκεια της κύησης προκαλεί IUGR, νευροαναπτυξιακές διαταραχές και αυξημένο κίνδυνο νόσων στην ενήλικη ζωή.
- Σήμερα γνωρίζουμε ότι σχετίζεται με διαταραχές μεθυλίωσης του DNA, και διαταραχή έκφρασης του microRNA.

Knopik VS; Dev Psychopathol. Nov 2012



Neonatal DNA methylation profile in human twins is specified by a complex interplay between intrauterine environmental and genetic factors, subject to tissue-specific influence.

- Μελετήθηκε το προφίλ μεθυλίωσης του DNA 20.000 CpG τόπων σε 3 νεογνικούς ιστούς, μονο- και διωγενών ζευγών διδύμων .
- Δεν υπήρχε απόκλιση του επιγονιδιώματος με την αύξηση της ηλικίας μεταξύ των ζευγών, σε σύγκριση με μελέτες μεγαλύτερων διδύμων
- Παρατηρήθηκε αύξηση των μεθυλιώσεων σε γονίδια μεταβολισμού και βιοσύνθεσης σε χαμηλό βάρος γέννησης. Επιβεβαιώνεται η επιγενετική συσχέτιση χαμηλού βάρους γέννησης και μεταβολικού συνδρόμου.



Hypermethylation of the MTHFR gene is common in sperm from couples with unexplained pregnancy loss.

- *Carrelli DT; Epigenomics, Feb 2013*



Gender dimorphic increase in RBP-4 and NGAL in children born after IVF: an epigenetic phenomenon?

Τα IVF παιδιά έχουν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα RBP-4 και NGAL από τους μάρτυρες, υποδηλώνοντας πρώιμες μεταβολικές μεταβολές με επιγενετικά αποτελέσματα.

Sakka SD et al; Eur J Clin Invest, May 2013



ART and health: clinical outcomes and insights on molecular mechanisms from rodent studies.

Η ART έχει συσχετισθεί με επιπλοκές κύησης, χαμηλό βάρος γέννησης, συγγενείς ανωμαλίες, προωρότητα, επιγενετικές μεταβολές & καρκίνο .

Πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα ART-παιδιά έχουν ιδιαίτερο μεταβολικό προφίλ που προδιαθέτει σε παθήσεις του καρδιαγγειακού αργότερα

.....φαίνεται ότι τα καλλιεργητικά υλικά και οι συνθήκες της ART, επιλογής εμβρύου και εμβρυομεταφοράς χρήζουν βελτίωσης.

Fuerer SK', Mol. Hum Repr. 2013



Epigenetics of gestational diabetes mellitus and offspring health: the time for action is in early stages of life

Το επιγονιδίωμα είναι πλέον ευάλωτο στις περιβαλλοντικές επιδράσεις κατά τα πρώιμα στάδια ανάπτυξης. Η αποφυγή επικίνδυνων περιβαλλοντικών παραγόντων κατά την περιγεννητική περίοδο και ιδιαίτερα κατά την ενδομήτρια ζωή είναι πολύ πιο σημαντική από οποιαδήποτε άλλη προσπάθεια πρόληψης ή θεραπείας αργότερα.

Harald Lehnen

Molecular Human Reproduction, April 4, 2013



Epigenetics and Fetal Metabolic Programming:

A Call for Integrated Research on Larger Cohorts

L Bouchard DIABETES, VOL. 62, APRIL 2013