

EPIGENETSKI UTJECAJI NA NASTANAK ALERGIJSKIH BOLESTI

BRANIMIR NESTOROVIĆ, KATARINA MILOŠEVIĆ*

Posljednjih godina je razvoj epigenetike ukazao na potpuno nove mehanizme nastanka pojedinih bolesti, a posebno razvoja pojedinih kliničkih fenotipova. Iako je najveći broj radova vezan za mehanizme autoimunosti i karcinogenezu, u posljednjih pet godina javili su se značajni radovi koji se bave ovim fenomenom u alergijskim bolestima i astmi. U članku su sumirani dosadašnji radovi, kao i njihov klinički značaj.

Deskriptori: ALERGIJSKE BOLESTI, EPIGENETIKA, ASTMA, AUTOIMUNOST

"Naši geni su naša predispozicija, a ne naša sudbina"

Dean Ornish

UVOD

Epigenetika je postala veoma aktualna u tijeku proteklih 10-15 godina. Prefiks *epi* znači "gore", pa pojam označava kontrolu "iznad" gena, a odnosi se na činjenicu da su signali iz okoline ključni čimbenici u regulaciji genske ekspresije. Profesor razvojne biologije sa Univerziteta "Duke", H. Frederik Nijhout ističe da su geni samo planovi, a da njihova realizacija ovisi o sredini (1).

Razvoj epigenetike je bacio novo svjetlo na neprekidnu raspravu da li su u nastanku mnogih kroničnih bolesti od veće važnosti nasljedni čimbenici ili čimbenici sredine. Utjecaj sredine je, po svemu sudeći, presudan za većinu kroničnih bolesti čovjeka. Moderna definicija epigenetike, koja govori da se radi o promjenama u ekspresiji gena koje nisu izazvane promjenama u sekvenci DNK, razlikuje se od originalne definicije Waddington-a (1940), koji se bavio

utjecajem epigenetike na embrionalni razvoj. Najčešći epigenetski mehanizmi su metilacija DNK, modifikacija histona i sinteza nekodirajućih RN. Ove molekularne promjene utječu na transkripciju gena uključenih u odgovor domaćina na antigene iz vanjske sredine, nastanak upalnih reakcija, pa i efikasnost farmakološke terapije. Epigenetske modifikacije mogu biti nasljedne kroz nekoliko generacija. Mogu nastati i postnatalno, dovodeći do produženih učinaka na transkripciju gena (2). Radovi Weaver-a i suradnika su pokazali da je moguće dovesti do reverzije epigenetskih utjecaja u ranom postnatalnom životu, što pruža mogućnosti prevencije mnogih bolesti, među kojima se u ovom kontekstu ističe dječja astma (3). Sasvim ukratko ćemo opisati najčešće molekularne epigenetske mehanizme. Isti su prikazani na Slici 1.

Metilacija DNK

Metilacija DNK je epigenetski mehanizam koji dozvoljava regulaciju transkripcije dodavanjem metil grupa na peti ugljikov atom u citozinu, i to je najčešći opisani mehanizam kovalentnih promjena u DNK (4). Ovo se događa u "GC otocima", repetitivnim mjestima na DNK gdje se citozin-guanin parovi nalaze jedan do drugog u velikom broju. Metilacija "CG otoka" inhibira transkripciju, bilo

sprječavanjem vezivanja transkripcionih čimbenika za DNK, bilo olakšavanjem vezivanja proteina koji inhibiraju transkripciju (5).

Modifikacije histona

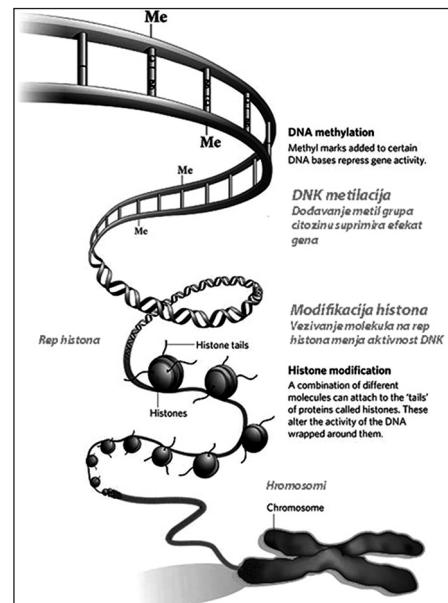
Kromatin u jezgri je organiziran u jedinice koje zovemo nukleosomima, a čine ih oktameri histona oko kojih je obavijena DNK. Post-translacione modifikacije histona (acetilacija, metilacija, fosforilacija) su ključni elementi stanja kromatina u DNK. Gusto pakiranje kromatina onemogućava RNK polimerazu i transkripcijske čimbenike da pristupe određenim dijelovima DNK i započnu transkripciju. Acetilacija "razmotava" DNK i omogućava započinjanje transkripcije, dok uklanjanje acetil grupa ponovo utišava gene. Slično je sa metilacijom histona.

Epigenetski imprint

U tijeku gametogeneze, postojeći obrazac metilacije DNK se briše, a utiskuje se novi, ovisan od pola roditelja, u spermatozoid ili jajnu stanicu (6). Po oplodnji, parovi citozina i gvanina se metiliraju u stanicama u kojima će doći do ekspresije određenih gena. Ekspresija je potpuno nezavisna od strukture DNK i zavisna je od nasljeđa. Tako možda nastaje genetska osnova razvoja nekih bolesti, npr. astme.

*Univerzitetska dječja klinika
Medicinski fakultet, Beograd

Adresa za dopisivanje:
Prof. dr. sc. Branimir Nestorović
Univerzitetska dječja klinika
11000 Beograd, Tiršova 10
E-mail: bane.nestorovic@gmail.com



Slika 1.
Dvije najčešće epigenetske promjene na DNK
Figure 1
Two most common epigenetic modifications
of the DNA

EPIGENETSKA REGULACIJA, PRENATALNI UTJECAJI I ASTMA

Promjenljiv tijekom astme, određen kompleksnim genetskim i čimbenicima sredine, možda u svojoj osnovi ima epigenetske mehanizme. Izlaganje pojedinim čimbenicima sredine u periodima veće osjetljivosti na epigenetske utjecaje može biti mehanizam koji leži u osnovi kliničkih fenotipova astme. Periodi u kojima bi epigenetski mehanizmi igrali najvažniju ulogu su prenatalni period, period ranog djetinjstva i adolescencija. U prenatalnom periodu su epigenetski utjecaji posebno izraženi. Barker-ova hipoteza govori o tome da su organi intrauterino preprogramirani za kasnije fiziološke i metaboličke adaptacije u životu. Kroz epigenetsku regulaciju *in utero* nastaju uvjeti za kasnije kronične bolesti. Epigenetski imprint može utjecati da se genetska predispozicija za neku bolest "utiša" metilacijom ako nasljeđe dolazi s očeve strane, a da se ostvari ako dolazi s majčine strane. Za ovo postoje brojni epidemiološki dokazi, npr., rizik za astmu je visok ako dolazi s majčine strane, a nema ga ako dolazi s očeve strane (7, 8). S druge strane Ferreira i suradnici nisu uspjeli pronaći dokaze za povećanu metilaciju vezanu za nasljeđe od maj-

ke, ali su pronašli uniformno povećanu metilaciju u b-lancu gena za IgE u sve djece s astmom, neovisno o atopijskom statusu roditelja (9). Da učinak imprinta ipak postoji, dokazuje studija Li-ja u kojoj je proučavan utjecaj pušenja cigareta na nastanak astme. Učinak je bio posebno izražen ako su pušile i majka i baka djeteta (10).

Prenatalni folati i rizik od astme i alergije

Utjecaj ishrane majke na nastanak astme i alergijskih bolesti je odavno poznat. Hollingsworth je sa suradnicima pokazao da visok nivo metil grupa u ishrani ženki miševa povećava rizik za nastajanje alergijske astme u potomstva (11). Visok unos metil grupa je također povećavao i stupanj težine bolesti, a ovaj učinak je bio prisutan tijekom više generacija. Na molekularnom nivou prekomjerna metilacija je suprimirala gen odgovoran za aktivaciju CD4 T limfocita. U tom pogledu je izuzetno zanimljiva uloga folne kiseline, čiji unos utječe na nivo metilacije DNK, pa bi njeno davanje moglo spriječiti metilaciju DNK izazvanu aerogagađenjem ili unosom soje. Whitrow sa suradnicima je utvrdio da žene koje su dobivale suplementaciju folnom kiselinom u kasnoj trudnoći imaju češće djecu sa dijagnosticiranom astmom (12). Haberg, međutim, nalazi sličan učinak i kod suplementacije u prvom trimestru, mada povećanje rizika nije bilo izraženo (13). Očigledno da učinak folne kiseline ovisi o vremenu davanja. Po analogiji sa drugim bolestima, posebno malignim, može se reći da je primjena folne kiseline, resveratrola ili holina u prvim mjesecima trudnoće od izuzetne važnosti u prevenciji alergijskih bolesti.

Postnatalni utjecaji i rizik od astme

Postnatalno izlaganje duhanskom dimu povećava rizik za nastajanje astme u kasnijem životu. Slično važi za izlaganje ispušnim česticama dizela, koje olakšavaju sintezu specifičnih IgE antitijela na *Aspergillus* povećavajući metilaciju DNK u promotorskoj regiji gena za IL-4 mišjem modelu, a nivo metilacije je porcionalan stvaranju IgE (14). Rad Cau i

suradnika je pokazao na epitelnim stanicama čovjeka da izlaganje česticama dizela povećava acetilaciju histona u regiji gdje se nalazi promotor gena za ciklooksigenu (COX)-2, što vodi povećanoj produkciji ovog enzima, koji sudjeluje u upalnim procesima kod čovjeka (15). U kohorti dobrovoljaca Baccarelli i suradnici su pokazali da je izlaganje česticama dizela i finim česticama prašine povećavalo metilaciju DNK (16). Tarantini i suradnici su utvrdili da je poslije dva dana odsustva sa posla u radnika čeličane dolazilo do porasta demetilacije promotora za dušik oksid sintetazu (iNOS), a da je dugoročno izlaganje prašini dovodilo do opće metilacije DNK (17). Ove studije ukazuju da postoji epigenetska regulacija u aerogagađenju, kroz DNK metilaciju i modifikaciju histona.

Th1/Th2 polarizacija

Ostaje nejasno kakav je mehanizam perzistencije Th2 odgovora u alergičnih osoba. Postoje dokazi da je za ovo odgovoran specifičan citokinski profil intrauterino. U miševa, Hamada i suradnici su opisali da ukoliko senzibiliziraju majke ovalbuminom i izazovu im bronhijalnu hiperresponzivnost, ovaj učinak će biti prisutan u njihovom potomstvu, a neće ga biti u potomaka nesenzibiliziranih majki (18). Također, postnatalni bronhoprovokativni test u ovih miševa će biti pozitivan i na druge, potpuno različite alergene, dok je tretiranje astmatičnih majki antitijelima na IL-4, potpuno uklanjalo ovu pojavu. Tijekom Th2 polarizacije postoji visok nivo metilacije na promotoru gena za interferon-g, a tijekom polarizacije u Th1 fenotip dolazi do demetilacije u ovoj regiji (19). Sve ovo ukazuje da je transkripcija interferona-g određena aktivnošću histon acetilaza ili deacetilaza.

Sličnih nalaza danas ima mnogo. Metilacija ima veliki značaj i za održavanje Th2 odgovora, pošto postoji demetilacija na genu za IL-4 (20). U naivnih CD4 T limfocita, DNK hipometilacija je bila ograničena na distalni promotor za IL-13, dok je kod diferencijacije u Th2 stanice postojala hipometilacija distalnog promotora (21).

Epigenetska regulacija i alergijske bolesti

Veoma malo se zna o posljedicama epigenetskih modifikacija i njihovoj ulozi u astmi i alergijskim bolestima, dok je literatura o malignim bolestima nasuprot tome prilično obimna. Pokazano je da metilacijski status promotora gena za ACSL3, iz porodice gena odgovornih za sintezu derivata arahidonske kiseline, biva povećan u djece do pet godina pod utjecajem aerogagađenja (22). Ne znamo kakav je točan utjecaj ovih procesa na upalne procese u bronhijama, ali je ovo prva studija koja pokazuje epigenetski učinak na gen koji se smatra važnim u nastanku astme. Kwon i suradnici su u kohorti pacijenata sa astmom utvrdili da postoji povišena metilacija za promotor gena za IL-4 poslije stimulacije sa alergenom dermatophagoideus-a, a nivo metilacije je bio u korelaciji sa nivoom IL-4 (23). Su i suradnici su pokazali da primjena inhibitora histamin deacetilaze (HDAC) pomiče u djece imuni odgovor ka Th2 fenotipu, sa povećanim stvaranjem IL-13 i IL-5 (24). Ovi rezultati ukazuju na značaj enzima histon deacetilaze, čija se uloga, pa samim tim i pozitivni učinci inhibitora ovog enzima, intenzivno proučava u mehanizmima karcinogeneze. Ista grupa autora je pokazala da postoji povišena aktivnost histon acetiltransferaze, a snižena HDAC u djece sa alergijskom astmom u odnosu na atopičnu djecu bez astme. Intenzitet acetilacije histona je rastao progresivno sa povećavanjem bronhijalne hiperresponzivnosti, što ukazuje na važnost epigenetskih mehanizama u fenotipovima astme.

Inhibitori HDAC i astma

Posljednjih godina su ispitivanja enzima HDAC u etiologiji maligniteta i autoimunih bolesti sasvim slučajno ukazala na značaj ovog enzima u astmi i COPD-u. U bronhijalnim biopsijama pacijenata sa astmom postoji izrazito visok nivo histon acetiltransferaze, uz blago sniženje nivoa HDAC 1, dok su nivoi izoenzima 2 i 3 neizmijenjeni (25). Slične promjene su nađene i u alveolarnim makrofagima dobivenim bronhoalveolarnom lavezom u odraslih pacijenata s

astmom (26). Smatra se da u osnovi mehanizma sniženja aktivnosti HDAC stoje oksidativni stres i virusne infekcije. Inhibitori HDAC, npr. valproat ili teofilin, već godinama se koriste zbog učinaka ublažavanja tijeka astme (27).

ZAKLJUČAK

Brzo rastući broj radova potvrđuje važnost epigenetskih modifikacija u nastanku astme i alergijskih bolesti, a posebno je važan negativan utjecaj duhanskog dima i aerogagađenja u nastanku ovih promjena. Neophodne su dalje studije za rasvjetljavanje uloge epigenetskih mehanizama u nastanku alergijskih bolesti, dok postojeća znanja upućuju na neke praktične koristi od spomenutih istraživanja, kao što su suplementacija folatima u prvim mjesecima trudnoće i uključivanje teofilina u terapiju težih oblika astme.

LITERATURA

1. Miner AL, Rosenberg AJ, Nijhout HF. Control of growth and differentiation of the: wing imaginal disks of *Precis coenia* (Lepidoptera: Nymphalidae). *J. Insect Physiol.* 2000; 46: 258-64.
2. Schwartz D. Epigenetics and environmental lung disease. *Proc Am Thorac Soc* 2010; 7: 123-5.
3. Weaver I, Meaney M, Szyf M. Maternal care effects on the hippocampal transcriptome and anxiety-mediated behaviors in the offspring that are reversible in adulthood. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 3480-5.
4. Santos K, Mazzola T, Carvalho H. The prima donna of epigenetics: the regulation of gene expression by DNA methylation. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 1531-41.
5. Isidoro-Garcia M, D'Avila-Gonzalez I, Pascual de Pedro M, Sanz-Lozano C, Lorente-Toledano F. Interactions between genes and the environment. *Epigenetics in allergy. Allergol Immunopathol (Madrid)* 2007; 35: 254-8.
6. Lewin B. *Genes IX*. Sudbury, MA: Jones and Bartlett Publishers; 2008.
7. Litonjua A, Carey V, Burge H, Weiss S, Gold D. Parental history and the risk for childhood asthma. Does mother confer more risk than father? *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 176-81.
8. Lim R, Kobzik L, Dahl M. Risk for asthma in offspring of asthmatic mothers versus fathers: a meta-analysis. *PLoS One* 2010; 5: 1-9.
9. Ferreira M, Oates N, van Vliet J et al. Characterization of the methylation patterns of MS4A2 in atopic cases and controls. *Allergy* 2009; 65: 333-7.
10. Li Y, Langholz B, Salam M, Gilliland F. Maternal and grandmaternal smoking patterns are associated with early childhood asthma. *Chest* 2005; 127: 1232-41.
11. Hollingsworth JW, Maruoka S, Boon K et al. In utero supplementation with methyl donors enhances allergic airway disease in mice. *J Clin Invest* 2009; 118 (10): 3462-9.
12. Whitrow M, Moore V, Rumbold A, Davies M. Effect of supplemental folic acid in pregnancy on childhood asthma: a prospective birth cohort study. *Am J Epidemiol* 2009; 170: 1486-93.
13. Haberg S, London S, Stigum H, Nafstad P, Nystad W. Folic acid supplements in pregnancy and early childhood respiratory health. *Arch Dis Child* 2009; 94: 180-4.
14. Liu J, Ballaney M, Alalem U et al. Combined inhaled diesel exhaust particles and allergen exposure alter methylation of T helper genes and IgE production in vivo. *Toxicol Sci* 2008; 102: 76-81.
15. Cao D, Bromberg P, Samet J. COX-2 expression induced by diesel particles involves chromatin modification and degradation of HDAC1. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37: 232-9.
16. Baccarelli A, Wright R, Bollati V et al. Rapid DNA methylation changes after exposure to traffic particles. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 572-8.
17. Tarantini L, Bonzini M, Apostoli P et al. Effects of particulate matter on genomic DNA methylation content and iNOS promoter methylation. *Environ Health Perspect* 2009; 117: 217-22.
18. Hamada K, Suzaki Y, Goldman A et al. Allergen-independent maternal transmission of asthma susceptibility. *J Immunol* 2003; 170: 1683-9.
19. White G, Hollams E, Yerkovich S et al. CpG methylation patterns in the IFN γ promoter in naive T cells: variations during Th1 and Th2 differentiation and between atopics and non-atopics. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17: 557-64.
20. Lee D, Agarwal S, Rao A. Th2 lineage commitment and efficient IL-4 production involves extended demethylation of the IL-4 gene. *Immunity* 2002; 16: 649-60.
21. Webster R, Rodriguez Y, Klimecki W, Vercelli D. The human IL-13 locus in neonatal CD41 T cells is refractory to the acquisition of a repressive chromatin architecture. *J Biol Chem* 2007; 282: 700-9.
22. Perera F, Tang W, Herbstman J et al. Relation of DNA methylation of 50-CpG island of

- ACSL3 to transplacental exposure to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and childhood asthma. PLoS One 2009; 4: 1-14.
23. Kwon N, Kim J, Lee J, Oh M, Choi D. DNA methylation and the expression of IL-4 and IFN-gamma promoter genes in patients with bronchial asthma. J Clin Immunol 2008; 28: 139-46.
24. Su R, Becker A, Kozyrskyj A, Hayglass K. Epigenetic regulation of established human type 1 versus type 2 cytokine responses. J Allergy Clin Immunol 2008; 121: 57-63.
25. Ito K, Caramori G, Lim S et al. Expression and activity of histone deacetylases (HDACs) in human asthmatic airways. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166: 392-6.
26. Cosio BG, Mann B, Ito K et al. Histone acetylase and deacetylase activity in alveolar macrophages and blood monocytes in asthma. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 141-7.
27. Lomia M, Chapichadze Z, Pruidze M, Platonov P. Efficacy Of Monotherapy With Carbamazepine And Valproic Acid In Patients With Bronchial Asthma: Is Asthma A Neurological Disease? The Internet Journal of Neurology 2005; 4: 1.

Summary

EPIGENETIC IMPACTS ON ORIGIN OF ALLERGIC DISEASES

B. Nestorović, K. Milošević

Recent development of epigenetics has pointed to some novel mechanisms of certain diseases and especially their clinical phenotypes. Although most of the research is related to the mechanisms of autoimmunity and carcinogenesis, several important studies that deal with the phenomenon of epigenetics in allergic diseases and asthma appeared in the last five years. This paper summarizes previous studies on this topic and discusses clinical significance of their findings.

Descriptors: ALLERGIC DISEASES, EPIGENETICS, ASTHMA, AUTOIMMUNITY

Primljeno/Received: 4. 4. 2012.

Prihvaćeno/Accepted: 6. 4. 2012.