



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ – ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»
(MSc in Human Genetics – Genetic Counseling)

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
«ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ & ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ»

ΧΑΤΖΗΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ

BSc Ιατρικών Εργαστηρίων

ΛΑΡΙΣΑ, 2024

Τριμελής Επιτροπή:

Τραχανά Βαρβάρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας (**Επιβλέπουσα**)

Παπαθανασίου Ιωάννα, Επίκουρη Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας (**Συνεπιβλέπουσα**)

Τσέζου Ασπασία, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής (**Μέλος**)

Παλιά πιστεύαμε πως η μοίρα μας είναι γραμμένη στα άστρα... Τώρα γνωρίζουμε ότι
η μοίρα μας είναι γραμμένη στα γονίδιά μας!

~ James Watson

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου δρ. Τραχανά Βαρβάρα, για την πολύτιμη συμβολή της και βοήθειά της για την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, καθώς επίσης και στα μέλη της τριμελούς επιτροπής και όλους τους διδάσκοντες του ΠΜΣ «Γενετική του ανθρώπου & Γενετική συμβουλευτική». Οι εμπειρίες και οι γνώσεις που αποκόμισα είναι ανεκτίμητης αξίας.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου οι οποίοι για ακόμη μία φορά με στήριξαν σε αυτή μου την προσπάθεια και μου έδωσαν το κίνητρο για αυτό το έξτρα βήμα στην πορεία μου στην επιστήμη.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω φίλους και γνωστούς για τη στήριξή τους, την κατανόηση τους για τις στιγμές που δεν ήμουν διαθέσιμος και την παρέα τους καθώς δημιουργούσαμε όμορφες εμπειρίες μιας ζωής!

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο άνθρωπος είναι το πιο πολύπλοκο και ολοκληρωμένο θηλαστικό της φύσης. Πολλά και διαφορετικά συστήματα οργάνων συνεργάζονται με έναν κοινό σκοπό την επιβίωση. Η ορθή λειτουργία όλων των κυττάρων και κατ' επέκταση των συστημάτων οργάνων συντονίζονται από ένα σύστημα μηχανισμών οι οποίοι κρατούν τον άνθρωπο υγιή και σε μια κατάσταση ισορροπίας. Το σύστημα αυτό αποτελεί την επιγενετική ρύθμιση, ονομάζεται *επιγενετικό ρολόι* και αφορά τις τροποποιήσεις που γίνονται πάνω και πέρα από το γονιδίωμα και τη μετάφραση αυτού σε πρωτεΐνες. Αυτές οι τροποποιήσεις αφορούν τη ρύθμιση έκφρασης των γονιδίων, την τροποποίηση των ιστονών και την παραγωγή μη κωδικών μορίων RNA και συμβαίνουν με σκοπό την εύρυθμη λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού. Όταν αυτή η ισορροπία διαταράσσεται, οδηγούμαστε σε παθολογικές καταστάσεις. Η απορρύθμιση του επιγενετικού ρολογιού είναι συχνά η αιτία για διαταραχές αποτύπωσης, ασθένειες που οφείλονται σε αστάθεια επαναλήψεων, ασθένειες από τη λανθασμένη τροποποίηση ιστονών και ασθένειες που οφείλονται σε δυσλειτουργία του μηχανισμού μεθυλίωσης. Στην παρούσα εργασία αναλύεται το πως συμβαίνει αυτή η απορρύθμιση και συνδυάζοντας τη διεθνή βιβλιογραφία παρουσιάζεται ένας τομέας θεραπειών που βασίζεται στον επαναπρογραμματισμό αυτού του ρολογιού πράγμα που φαίνεται ότι είναι δυνατό να μας βοηθήσει και στην καταπολέμηση πολυπαραγοντικών ασθενειών όπως είναι ο καρκίνος με τη χρήση αναστολών των αποακετυλασών HDACi ή στην καταπολέμηση του γλαυκώματος με την έκτοπη παραγωγή και στοχευμένη αποσιώπηση των γονιδίων Oct4, Sox2 και Klf4. Η επιστήμη της γενετικής έχει μπει σε ρυθμούς ταχείας ανάπτυξης με την ανάπτυξη της τεχνολογίας και αυτό μας κάνει αρκετά αισιόδοξους για το μέλλον της ιατρικής επιστήμης και τις πιθανότητες θεραπείας από ασθένειες που τώρα φαντάζουν ανίκητες.

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ

Επιγενετική, επιγενετικό ρολόι, παθολογία, άνθρωπος, ασθένειες

ABSTRACT

Human is the most complex and complete mammal in nature. Many different organ systems work together with a common goal of survival. The proper functioning of cells and furthermore of organ systems are coordinated by a system of mechanisms that keep humans healthy and keep organization in a state of balance. This system constitutes the mechanism of epigenetic regulation, which is called *the epigenetic clock* and it concerns the modifications that are made above and beyond the genome and the genes translation into proteins. These modifications rule the gene expression, the histone modification and the production of non-coding RNA molecules and occur for the well-being and proper function of the human. Whenever this balance is disturbed, we are led to pathological conditions. Dysregulation of the epigenetic clock is often the cause of imprinting disorders, diseases caused by repeat instability, diseases due to bad histone modification and diseases due to malfunctioning of the DNA methylation. This thesis analyzes how the dysregulation of the clock occurs and through the international bibliography presents an opportunity that arises based on the reprogramming of the epigenetic clock, which seems to be possible to help us fight against multifactorial disorders such as cancer by using deacetylase inhibitors HDACi or even help us fight the glaucoma by silencing the expression of unwanted genes and also ectopic producing Oct4, Sox2 and Klf4 genes to regenerate the cells of the optic nerve. The genetics aspect of science has entered a rapid growing phase in addition with the technological development makes us quite optimistic about the future of medical science and also the possibilities of curing some diseases that now seem invincible.

KEY WORDS

Epigenetics, epigenetic clock, pathology, human, diseases

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : DNA	10
1.1 Η ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΟΥ DNA ΩΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.....	10
1.2 Η ΔΟΜΗ ΤΟΥ DNA	11
1.3 Η ΔΟΜΗ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΟΥ	12
1.4 Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ DNA.....	13
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ	16
2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ.....	16
2.2 ΑΝΑΓΚΗ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ.....	17
2.3 ΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ	18
2.4 ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ DNA.....	19
2.4.1 Μοτίβο μεθυλίωσης DNA με νησίδες CpG	19
2.4.2 Μόρια μεθυλίωσης DNA	19
2.4.3 Μεθυλίωση & Μεταγραφή	20
2.5 ΜΗ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΜΟΡΙΑ RNA	21
2.6 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΙΣΤΟΝΩΝ	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ.....	23
3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ «ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ»	23
3.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΛΟΥΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ.....	24
3.2.1 Ασθένειες	24
3.2.2 Βλάβες στο γονιδίωμα και το επιγένωμα	24
3.2.3 Γήρανση του οργανισμού & εκφυλισμός.....	25
3.3 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ	25
3.3.1 Αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες	26
3.3.2 Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες	27
3.4 ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΝΙΣΤΩΣΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ	27
3.5 ΦΘΟΡΑ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ	28
3.6 ΡΥΘΜΙΣΗ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ	29
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο: ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ.....	31
4.1 ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΚΗ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ	31
4.2 ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΙ	32
4.2.1 Επιγενετικό ρολόι του Horvath	32
4.2.2 Επιγενετικό ρολόι του Hannum	33
4.2.3 DNAm Pheno – Age	33
4.2.4 DNAm Grim – Age.....	34
4.3 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ	35

4.4	ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΡΙΣΚΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ.....	35
4.5	ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟ ΕΝΤΥΠΩΜΑ.....	36
4.6	ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ Χ.....	37
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο: ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ & ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ		40
5.1	ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ	40
5.1.1	Σύνδρομο Prader- Willi.....	40
5.1.2	Σύνδρομο Beckwith – Wiedemann	41
5.1.3	Σύνδρομο Angelman	41
5.2	ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΛΟΓΩ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΙΣΤΟΝΩΝ	42
5.2.1	Σύνδρομο Coffin – Lowry.....	42
5.2.2	Σύνδρομο Rubinstein – Taybi	42
5.2.3	Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα.....	43
5.3	ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ	43
5.3.1	Σύνδρομο ευθραύστου Χ	43
5.3.2	Σύνδρομο Huntington	45
5.4	ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ.....	46
5.4.1	Μεθυλίωση του DNA & καρκίνος.....	46
5.4.2	Μεθυλίωση του DNA & Νευροεκφυλιστικά νοσήματα	48
5.4.3	Μεθυλίωση του DNA & Αυτοανοσία	48
5.5	ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΡΟΛΟΓΙΟΥ	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο: ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ & ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ.....		51
6.1	ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ	51
6.2	ΧΡΗΣΗ HDACi ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ	52
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7^ο: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ		55
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....		57

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το ανθρώπινο σώμα πετυχαίνει το *εὖ ζῆν* όταν όλα βρίσκονται υπό έλεγχο και σε απόλυτη ισορροπία. Η πολυπλοκότητα του ανθρώπινου οργανισμού γίνεται εύκολα αντιληπτή καθώς αυτή η ισορροπία είναι πολύ λεπτή και ευαίσθητη αλλά παρ' όλα αυτά ο οργανισμός καταφέρνει και διατηρεί ακέραιη αυτήν την ισορροπία. Σε περίπτωση που υπάρξει μια μικρή διαταραχή, τότε οδηγούμαστε σε παθολογικές καταστάσεις όπως είναι οι ασθένειες ή ακόμα και στο θάνατο.

Ο άνθρωπος όταν γεννιέται εκτός από τα εξωτερικά του χαρακτηριστικά, κληρονομεί πολλά περισσότερα από τους γονείς του. Στο DNA του το οποίο αποτελεί συνδυασμό των DNA των γονιών του βρίσκονται γραμμένες όλες οι πληροφορίες που είναι απαραίτητες για την επιβίωσή του και τη σωστή ανάπτυξη. Εκτός από τα ίδια τα γονίδια όμως κληρονομεί και ένα σύστημα επιγενετικής ρύθμισης το οποίο ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων που έχει κληρονομήσει. Αυτό το σύστημα επιγενετικής ρύθμισης είναι υπεύθυνο για τη σωστή έκφραση του κάθε γονιδίου στη σωστή στιγμή και στο σωστό μέρος για τη διατήρηση της ισορροπίας και της σωστής λειτουργίας.

Το επιγενετικό ρολόι φέρει όλες τις λεπτομέρειες για τη σωστή λειτουργία του οργανισμού και για το λόγο αυτό η παθολογία του έχει συνδεθεί με πολλές ασθένειες. Όταν αυτό διαταράσσεται, απορρυθμίζεται η έκφραση γονιδίων με αποτέλεσμα αυτά είτε να μην παράγονται καθόλου, είτε να υπερεκφράζονται είτε ακόμη και να εκφράζονται σε άλλο σύστημα οργάνων προκαλώντας διαταραχή σε αυτό.

Η πρόοδος της επιστήμης της γενετικής αλλά και του νέου κλάδου της επιγενετικής μας δίνει τη δυνατότητα να κατανοήσουμε το μηχανισμό αιτιοπαθογένεσης πολλών ασθενειών που μέχρι τώρα μας ήταν άγνωστος και με γνώμονα αυτό να σχεδιάσουμε νέες θεραπείες στοχεύοντας στο ίδιο το επιγενετικό ρολόι καθώς αυτό είναι δυνητικά αναστρέψιμο. Με τη χρήση νέων τεχνολογιών είμαστε σε θέση να αναστρέψουμε μεθυλιώσεις που συμβαίνουν στο γονιδίωμα και οδηγούν για παράδειγμα στην αποσιώπηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και έτσι να μπορέσουμε να νικήσουμε πολυπαραγοντικά νοσήματα όπως είναι ο καρκίνος. Στην παρούσα εργασία θα μελετήσουμε το πως ακριβώς συνδέονται οι παθολογικές καταστάσεις με το επιγενετικό ρολόι και ποιες θεραπείες έχουν ξεκινήσει να εφαρμόζονται ή βρίσκονται στο στάδιο σχεδιασμού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : DNA

1.1 Η ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΟΥ DNA ΩΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Η γνώση την οποία μας παρείχε ο Mendel μέσα από τα πειράματά του, σε συνδυασμό με την ανάπτυξη της τεχνολογίας τα επόμενα χρόνια έθεσαν τα θεμέλια για την πλήρη κατανόηση της κληρονομικότητας των γονιδίων στον άνθρωπο. Παρ' όλο που το DNA είχε εντοπιστεί στον πυρήνα των κυττάρων από το 1869 με τη χρήση των πρώτων μικροσκοπίων, δεν ήταν γνωστό ότι αποτελεί το γενετικό υλικό των οργανισμών. Έως τότε η επιστημονική κοινότητα ήταν στραμμένη στην απόδειξη ότι οι πρωτεΐνες είναι αυτές που φέρουν την πληροφορία η οποία μεταβιβάζεται από γενιά σε γενιά, κυρίως λόγω της ποικιλομορφίας που παρουσίαζαν καθώς αποτελούνται από τον συνδυασμό 20 διαφορετικών αμινοξέων.

Τα πρώτα βήματα για την ανακάλυψη του DNA ως γενετικό υλικό έγιναν από τον Griffith το 1928 ο οποίος χρησιμοποίησε δύο διαφορετικά στελέχη πνευμονιόκοκκου που είχαν διαφορετική ανάπτυξη στο ίδιο θρεπτικό υλικό. Το ένα από αυτά παρουσίαζε θανατηφόρα δράση όταν αυτό μεταφερόταν από το θρεπτικό υλικό σε ποντικούς ενώ το άλλο όχι. Μέσα από μια σειρά πειραμάτων, ο Griffith κατέληξε στο συμπέρασμα ότι: «κάποιος παράγοντας οδήγησε τα στελέχη που υπό κανονικές συνθήκες δεν ήταν θανατηφόρα, στο να μετασχηματιστούν σε θανατηφόρα στελέχη για τους ποντικούς».

Η απάντηση στο *κάποιος παράγοντας* ήρθε λίγα χρόνια αργότερα, όταν δύο επιστήμονες επανέλαβαν τα ίδια πειράματα αλλά αυτή τη φορά *in vitro* έναντι των ζωντανών πειραματοζώων. Μπόρεσαν έτσι να απομονώσουν όλα τα στοιχεία του κυττάρου για να τα μελετήσουν ξεχωριστά και να καταλήξουν στο ποιο από αυτά τα στοιχεία (πρωτεΐνες, λιπίδια, DNA, RNA κτλ.) είναι υπεύθυνο για την ικανότητα του πνευμονιόκοκκου να μετασχηματίζεται υπό διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος. Διαπίστωσαν λοιπόν ότι το συστατικό που προκαλούσε αυτόν το μετασχηματισμό ήταν το DNA και κατ' επέκταση το γενετικό υλικό των οργανισμών το οποίο φέρει όλες τις γενετικές πληροφορίες για την σωστή ανάπτυξη του οργανισμού, την αναπαραγωγή και την επιβίωση κάθε ζώντος οργανισμού. (Mirsky AE., 1968)

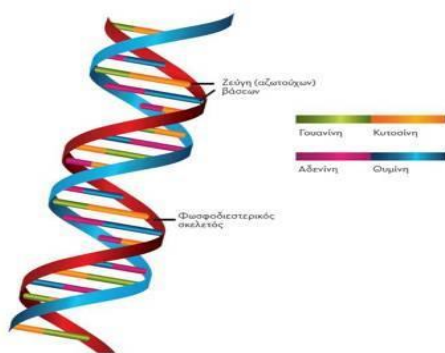
Η οριστική επιβεβαίωση ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό των οργανισμών ήρθε το 1952 όταν οι επιστήμονες Hersey και Chase διεξήγαγαν ένα πείραμα στο οποίο μελέτησαν τον κύκλο ζωής του βακτηριοφάγου T2. Οι ερευνητές ιχνηθέτησαν τις πρωτεΐνες του φάγου με ραδιενεργό Θείο (³⁵S) και το DNA με ραδιενεργό Φωσφόρο

(³²P). Στη συνέχεια αφού μόλυναν τα βακτήρια με αυτούς τους φάγους απέδειξαν ότι μόνο το DNA των φάγων εισέρχεται στα βακτήρια, τα μολύνει και είναι ικανό να «δώσει εντολές» για να πολλαπλασιαστούν και να παραχθούν νέοι φάγοι εκμεταλλευόμενοι τους μηχανισμούς αντιγραφής του βακτηρίου – ξενιστή. Αυτόματα λοιπόν επιβεβαιώθηκε πως το γενετικό υλικό των περισσότερων οργανισμών είναι το DNA -όπως γνωρίζουμε σήμερα υπάρχουν ορισμένοι ιοί που φέρουν RNA ως γενετικό υλικό- .

1.2 Η ΔΟΜΗ ΤΟΥ DNA

Το DNA είναι μακρομόριο το οποίο αποτελείται από πολλά νουκλεοτίδια ενωμένα μεταξύ τους. Το κάθε νουκλεοτίδιο του DNA αποτελείται από μια πεντόζη – τη δεοξυριβόζη- που είναι συνδεδεμένη με μια αζωτούχο βάση και από μια φωσφορική ομάδα. Η πεντόζη και συγκεκριμένα για το DNA η δεοξυριβόζη είναι ένας μονοσακχαρίτης ο οποίος αποτελείται από 5 άτομα άνθρακα συνδεδεμένα μεταξύ τους. Σχετικά με τις αζωτούχες βάσεις, στο DNA η βάση αυτή μπορεί να είναι μια εκ των: Αδενίνη (A), Θυμίνη (T), Γουανίνη (G), Κυτοσίνη (C). Σε κάθε νουκλεοτίδιο, η φωσφορική ομάδα βρίσκεται συνδεδεμένη στο 1' άτομο άνθρακα της πεντόζης, ενώ η φωσφορική ομάδα στο 5' άτομο άνθρακα. (RIS H & Mirsky AE., 1949)

Για το σχηματισμό λοιπόν μιας πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας ενώνονται πολλά τέτοια νουκλεοτίδια με ομοιοπολικό δεσμό μεταξύ τους. Ο δεσμός αυτός σχηματίζεται ανάμεσα στο υδροξύλιο του 3' άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που βρίσκεται στο 5' άτομο άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3'-5' φωσφοδιεστερικός δεσμός και μέσω αυτού ξεκινά να σχηματίζεται το τελικό μόριο του DNA το οποίο φέρει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες για τη ζωή και την ανάπτυξη του κάθε οργανισμού.



Εικόνα 1: Η δομή του μορίου του DNA , (https://www.alysos.com/default.aspx?page_id=10)

Το τελικό μόριο του DNA που σχηματίζεται, αποτελείται από μια τεράστια αλυσίδα νουκλεοτιδίων. Το σύνολο όλων των μορίων DNA που υπάρχουν στον ανθρώπινο οργανισμό ονομάζεται *γονιδίωμα* και αποτελείται συνολικά από 3 δισεκατομμύρια ζεύγη αζωτούχων βάσεων.

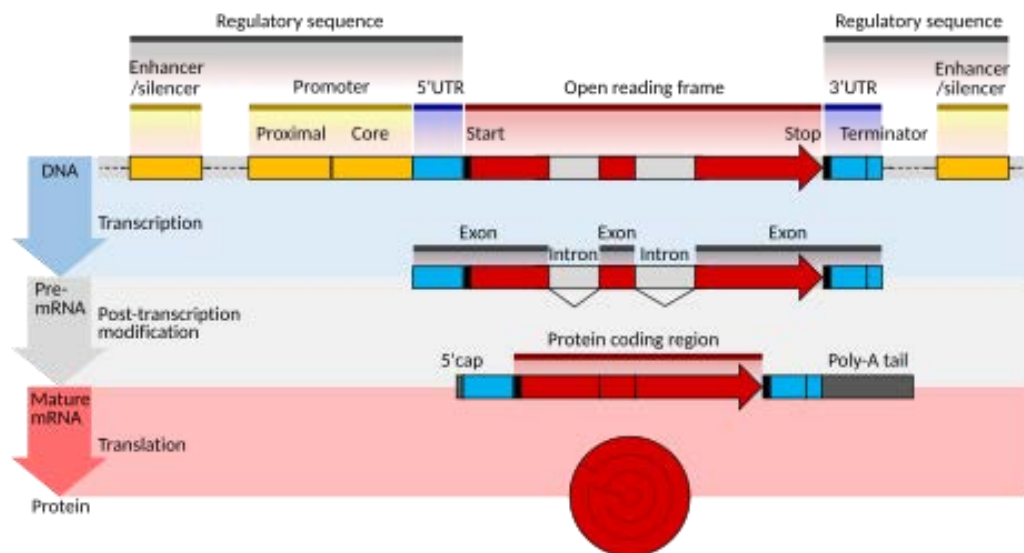
1.3 Η ΔΟΜΗ ΕΝΟΣ ΓΟΝΙΔΙΟΥ

Γονίδιο ονομάζουμε μια αλληλουχία χρωμοσωμικού DNA που απαιτείται για την παραγωγή ενός λειτουργικού τελικού προϊόντος – λειτουργικό μόριο RNA ή πρωτεΐνη.

Στον άνθρωπο υπάρχουν περίπου 20.000 γονίδια και χωρίζονται σε τέσσερις μεγάλες βασικές κατηγορίες.

- Τα Housekeeping γονίδια, τα οποία εκφράζονται συνεχώς ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού σε όλα τα είδη των κυττάρων.
- Τα Χρονοεπαγόμενα γονίδια, τα οποία εκφράζονται σε συγκεκριμένη χρονική στιγμή κατά την ανάπτυξη του οργανισμού.
- Τα Ιστοειδικά γονίδια, των οποίων η έκφραση εξαρτάται από το είδος του ιστού στον οποίο εντοπίζονται.
- Τα Επαγόμενα γονίδια, τα οποία είναι γονίδια που δεν είναι ενεργά υπο φυσιολογικές συνθήκες, αλλά ενεργοποιούνται από κάποιο εξωτερικό ερέθισμα όπως είναι οι ορμόνες.

Σε όποια κατηγορία και αν ανήκουν τα γονίδια, όλα έχουν ένα κοινό χαρακτηριστικό και αυτό είναι η δομή τους. Παρατηρούμε έτσι με κατεύθυνση 5'-3' τον ενισχυτή, μια αλληλουχία ειδική για τον κάθε τύπο ιστού, τον υποκινητή, την 5' αμετάφραστη περιοχή, μια σειρά από εξόνια και ιντρόνια και τέλος την 3' αμετάφραστη περιοχή. Τα εξόνια είναι οι περιοχές οι οποίες φέρουν τις πληροφορίες για την παραγωγή του τελικού προϊόντος, ενώ τα ιντρόνια είναι ενδιάμεσες αλληλουχίες οι οποίες δε φέρουν πληροφορίες για τη λειτουργία της πρωτεΐνης και κατά την ωρίμανση του mRNA αφαιρούνται.



Εικόνα 2: Η ροή της γονιδιακής έκφρασης ([https:// bio-wiki/File:Gene_structure_eukaryote_2_annotated.svg](https://bio-wiki/File:Gene_structure_eukaryote_2_annotated.svg))

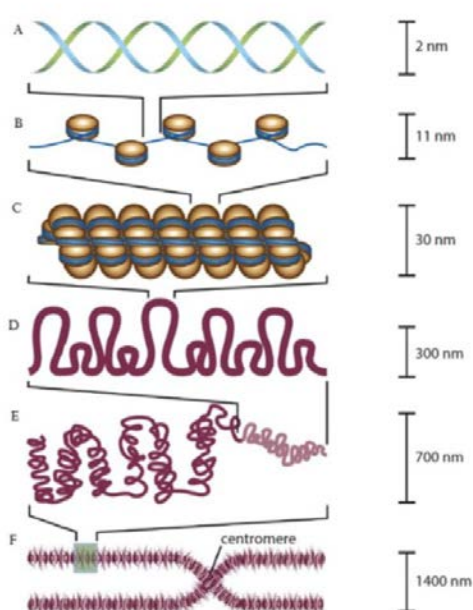
Σύμφωνα έτσι με το Κεντρικό Δόγμα της Βιολογίας η ροή της γονιδιακής έκφρασης έχει ως εξής: DNA □ RNA (mRNA, tRNA, rRNA, snRNA) □ Πρωτεΐνη

1.4 Η ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΟΥ DNA

Στην απλούστερή του μορφή το DNA έχει μήκος περίπου δύο μέτρα αν το απλώναμε σε μια νοητή ευθεία. Οι πυρήνες των ευκαρυωτικών κυττάρων του οργανισμού μας είναι μόλις μερικά μικρόμετρα (μm). Για το λόγο αυτό η συσπείρωση που είναι αναγκαίο να δεχθεί το DNA προκειμένου να χωρέσει στον πυρήνα των κυττάρων ξεπερνά τις 10.000 φορές. Ένας από τους πιο σημαντικούς τρόπους να συσπειρωθεί το DNA είναι το τύλιγμά του σε πολύ σφιχτές σφαίρες οι οποίες ονομάζονται νουκλεοσώματα. Στη φάση αυτή το DNA μοιάζει με κομπολόι του οποίου κάθε μια χάντρα είναι και ένα νουκλεόσωμα. Στη συνέχεια τα ίδια τα νουκλεοσώματα πακετάρονται ακόμη πιο σφιχτά μέσω της τριασδιάστατης αναδίπλωσής τους. Για την αναδίπλωση αυτή πολύ σημαντικό ρόλο παίζουν οι χρωμοσωμικές πρωτεΐνες οι οποίες ονομάζονται ιστόνες. Αυτές παρέχουν τη δυνατότητα αναδίπλωσης στο DNA με σκοπό τη δημιουργία της χρωματίνης. Έχουν μεγάλη αναλογία θετικά φορτισμένων αμινοξέων και έτσι συνδέονται σταθερά και ισχυρά με την αρνητική φορτισμένη διπλή έλικα του DNA δημιουργώντας μια σφιχτή και συσπειρωμένη δομή. (Getzenberg R. et al., 1991)

Κάθε τέτοιο νουκλεόσωμα αποτελείται από 146 ζεύγη βάσεων τυλιγμένα δύο φορές γύρω από ένα οκταμερές που συντίθεται από δύο πανομοιότυπα μόρια που αποτελούνται από τις 4 βασικές ιστόνες (H2A, H2B, H3, H4). Ανάμεσα σε αυτά τα σφαιρίδια από οκταμερή ιστονών βρίσκονται μικρά τμήματα DNA τα οποία ονομάζονται συνδετικά και εξυπηρετούν στην ένωση των νουκλεοσωμάτων μεταξύ τους. Αυτά τα τμήματα συνδέονται με την ιστόνη H1 και έτσι σταθεροποιείται το δίπλωμα της νουκλεοσωματικής πλέον αλυσίδας με απώτερο σκοπό τη δημιουργία μιας συμπαγούς δομής, των ινιδίων χρωματίνης. (Πλαγιάς, Π., Γεροβασίλη, Α. και Παπαϊωάννου, Α., 2012)

Έπειτα, πολλά νουκλεοσώματα παρατάσσονται σε γραμμική σειρά σχηματίζουν μια λεπτή δομή η οποία ονομάζεται *Ινα των 10nm*. Αυτή η ευθεία σειρά συσπειρώνεται περισσότερο στη φάση της μεσόφασης σε μια ελικοειδή συστοιχία η οποία έχει διάμετρο περίπου 30nm.



Εικόνα 3: **A.**Τμήμα DNA, **B.** Νουκλεοσώματα, **C.** Ινίδιο χρωματίνης συσπειρωμένο, **D.** Τμήμα χρωμοσώματος σε ανοικτή μορφή, **E.** Τμήμα χρωμοσώματος συσπειρωμένο, **F.** Ολόκληρο χρωμόσωμα (<https://pmgbiology.com/2015/10/13/chromosomes-a-understanding-for-igcse-biology/>)

Κατά τη διάρκεια του ευκαρυωτικού κύκλου στον άνθρωπο η συμπύκνωση της χρωματίνης μεταβάλλεται ανάλογα με τις ανάγκες του κυττάρου. Για παράδειγμα κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης, η χρωματίνη λαμβάνει το μέγιστο βαθμό συσπείρωσης και σχηματίζει τα μεταφασικά χρωμοσώματα έτοιμα να διαιρεθούν και

να δώσουν δύο νέα πανομοιότυπα κύτταρα. Κατά κύριο λόγο δύο είναι οι καταστάσεις συμπίκνωσης της χρωματίνης η ευχρωματίνη και η ετεροχρωματίνη.

❖ *Ευχρωματίνη*

Στις περιοχές του DNA στις οποίες η χρωματίνη δεν είναι συμπτυκνωμένη και επιτρέπει στους μεταγραφικούς παράγοντες να συνδέονται πάνω της και να κωδικοποιούν τα γονίδια που υπάρχουν εκεί παρατηρούμε τη δομή της ευχρωματίνης. Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται για να καθορίσει ποιές είναι οι ενεργά μεταγραφόμενες περιοχές πάνω στο γονιδίωμα στις οποίες τα νουκλεοσώματα είναι απόντα και η χρωματίνη έχει μια χαλαρή δομή έτοιμη για μεταγραφή.

❖ *Ετεροχρωματίνη*

Σε κάποιες άλλες περιοχές η χρωματίνη βρίσκεται σε υπερβολικό βαθμό συσπείρωσης ανεξάρτητα από το στάδιο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο βρίσκεται. Αυτή η συμπτυκνωμένη δομή ονομάζεται ετεροχρωματίνη και αναφέρεται στις ανενεργές περιοχές του γονιδιώματος όπου τα νουκλεοσώματα είναι πιο συμπτυκνωμένα και δεν επιτρέπουν την πρόσβαση στους μεταγραφικούς παράγοντες να προσδεθούν και να ξεκινήσουν τη δράση τους. Συνήθως τέτοιες περιοχές παρατηρούμε στα κεντρομερίδια των χρωμοσωμάτων καθώς και στις άκρες αυτών τα τελομερή.

Οι περιοχές και στις δύο περιπτώσεις μπορούν να μεταβάλλονται και να μεταπίπτουν από τη μία κατηγορία στην άλλη ανάλογα με το στάδιο της ανάπτυξης του οργανισμού και με το αν χρειάζεται να ενεργοποιηθούν ή να απενεργοποιηθούν συγκεκριμένα γονίδια. Με τον τρόπο αυτό προστατεύεται και το γενετικό υλικό με το πέρασμα των χρόνων καθώς περιοχές με ετεροχρωματίνη έχουν υψηλή συντήρηση και μεταβιβάζονται από γενεά σε γενεά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΡΥΘΜΙΣΗ

2.1 ΒΑΣΙΚΕΣ ΕΝΝΟΙΕΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Ο όρος επιγενετική πλέον αποτελεί μια ολόκληρη επιστήμη από μόνος του καθώς έχουμε ανακαλύψει τόσα πολλά για τη δράση αυτών των μηχανισμών στα γονίδια μας. Οι πρώτες αναφορές έγιναν από τον Conrad Waddington το 1942 ο οποίος εργαζόταν ως κλινικός εμβρυολόγος. Το 1958 ο David Nanney χρησιμοποίησε κι αυτός τον όρο θέλοντας να τονίσει τη διαφορά στη ρύθμιση και έκφραση γονιδίων των διαφόρων κυττάρων. Λίγα χρόνια αργότερα στη δεκαετία του '80 η έρευνα για τον ορισμό της επιγενετικής έχει στραφεί στο τρίπτυχο μεθυλίωση του DNA, κυτταρική διαφοροποίηση και γονιδιακή έκφραση. (Deans & Maggert, 2015)

Καταλήγουμε έτσι ουσιαστικά το 1994 στον ορισμό της επιγενετικής σύμφωνα με τον οποίο «Η επιγενετική είναι η επιστήμη που μελετά τις αλλαγές στην έκφραση των γονιδίων, οι οποίες προκύπτουν στους οργανισμούς από τη διαφοροποίηση των κυττάρων, από την κληρονομικότητα μέσω της μιτωτικής διαίρεσης και από τα προϋπάρχοντα πρότυπα γονιδιακής έκφρασης, χωρίς αλλαγές στην αλληλουχία των βάσεων του DNA». (Wu & Morris, 2001)

Ένα από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα που παρατηρήθηκε το φαινόμενο της επιγενετικής είναι οι επιδράσεις στο γονίδιο του καλαμποκιού το οποίο είναι υπεύθυνο για το χρώμα του. Εξαφανιζόταν για ορισμένα χρονικά διαστήματα, αλλά παρατηρούνταν επανεμφάνισή του μερικές γενεές αργότερα. (Brandeis M. & Ariele M.) Εμπνευσμένοι από αυτό και με την πρόοδο της τεχνολογίας οι επιστήμονες παρατήρησαν κάτι αντίστοιχο μερικά χρόνια αργότερα και στα ζώα. Μελέτησαν έτσι τα φυλετικά χρωμοσώματα και διαπίστωσαν πως στα θηλαστικά τα αρσενικά φέρουν X και Y ενώ τα θηλυκά δύο αντίγραφα του X. Διαπίστωσαν ότι για να μην υπάρχει διπλή ποσότητα των γονιδίων που εδράζονται στο χρωμόσωμα X σε κάθε κύτταρο του εμβρύου ένα από τα δύο X επιλέγεται τυχαία και απενεργοποιείται. Η διαδικασία αυτή γίνεται στα πρώτα στάδια της εμβρυϊκής ζωής και αυτό το πρότυπο απενεργοποίησης μεταβιβάζεται σταθερά σε κάθε κυτταρικό πολλαπλασιασμό κατά την ανάπτυξη του οργανισμού. (Sarget M., 2010)

2.2 ΑΝΑΓΚΗ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΣΜΩΝ

Διαπιστώνει κανείς εύκολα ότι για τη σωστή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού είναι αναγκαίο να βρίσκονται όλα σε μια τέλεια ισορροπία. Από τα ποια γονίδια θα εκφραστούν σε κάθε φάση του κυτταρικού κύκλου, μέχρι τις ακριβείς ποσότητες της πρωτεΐνης που θα παραχθεί. Όλες αυτές οι μικρές φαινομενικά λεπτομέρειες όπως για παράδειγμα είναι η γονιδιακή αποσιώπηση του εντυπώματος από τον πατέρα ή την μητέρα είναι καθοριστικές και υψίστης σημασίας για την οργάνωση των κυττάρων και κατ' επέκταση ολόκληρου του οργανισμού. (Tucci et al., 2019)

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί δρουν με σκοπό την επιβίωση του οργανισμού και προσαρμόζονται άψογα στις συνθήκες του περιβάλλοντος. Χαρακτηριστικό παράδειγμα μιας τέτοιας προσαρμογής είναι το πως αντέδρασε ο οργανισμός των εμβρύων που γεννήθηκαν την περίοδο του 1944 – 1945 στην Ολλανδία, όταν η Γερμανία διαπράττοντας εγκλήματα πολέμου απαγόρευσε την πρόσβαση σε φαγητό στους Ολλανδούς το χειμώνα του '44. (Ramirez D. & Haas S. 2022) Εάν μια υποψήφια μητέρα τρεφόταν φυσιολογικά κατά τη σύλληψη του παιδιού, αλλά οι τελευταίοι μήνες της κύησης συνέπεσαν με το λιμό της Ολλανδίας και υποσιτιζόταν το παιδί που θα γεννιόταν ήταν πολύ πιθανό να γεννηθεί ελλιποβαρές και μικρόσωμο. Αντίθετα αν ένα ζευγάρι συνέλαβε προς την άνοιξη που επήλθε και η κανονικότητα στη σίτιση, και η μητέρα υποσιτιζόταν, μόνο στους πρώτους μήνες της εγκυμοσύνης το παιδί γεννιόταν φυσιολογικό σε βάρος. (Schulz LC., 2010)

Τα μωρά τα οποία γεννήθηκαν μικρά σε βάρος και ανάστημα παρέμειναν μικρά καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους παρόλο που είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε φαγητό. Αυτό οδήγησε τους επιστήμονες στο συμπέρασμα πως ένα γεγονός το οποίο συνέβη στους πρώτους μήνες της ζωής τους, μπορούν να επηρεάσουν έναν άνθρωπο για το υπόλοιπο αυτής. Ερευνώντας περισσότερο αυτήν την κατάσταση διαπίστωσαν πως οι επιγενετικές ρυθμίσεις και συγκεκριμένα η μεθυλίωση που συνέβη στο γονίδιο IGF2 (Insulin-like Growth Factor) κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου λόγω περιορισμένης τροφής, παρέμεινε συντηρημένη σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του παιδιού και δεν επέτρεψε στον οργανισμό να αναπτυχθεί φυσιολογικά. Αυτή ήταν και η πρώτη φορά που χρησιμοποιήθηκε ο όρος *επιγένωμα* θέλοντας να τονίσει ότι υπάρχουν γραμμένες και πληροφορίες που αφορούν την έκφραση των πρωτεϊνών εκτός από τις πληροφορίες για την παραγωγή τους. (Zhou J. et al., 2023)

Καταλαβαίνει κανείς λοιπόν ότι αν η επιγενετική είναι ένας σχετικά νέος κλάδος στην επιστήμη της βιολογίας, έχει πάρα πολλές πτυχές και εφαρμογές καθώς και πολλούς τομείς οι οποίοι είναι ακόμα ανεξερεύνητοι. Η επιγενετική μπορεί να οριστεί και ως η επιστήμη που μελετά τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γονιδίων και των προϊόντων τους που ορίζουν έναν συγκεκριμένο φαινότυπο. Η επιγενετική είναι η απάντηση στο ερώτημα «Πώς εφόσον όλα ξεκινάν από ένα γονιμοποιημένο ωάριο, κάθε κύτταρο γνωρίζει σε ποιο είδος θα διαφοροποιηθεί και αναπτύσσεται τελικά ένας πολυσύνθετος οργανισμός;». Όλα τα κύτταρα τα οποία προκύπτουν από το ζυγωτό φέρουν ακριβώς την ίδια ποσότητα και ποιότητα γενετικής πληροφορίας. Στα επόμενα στάδια της ανάπτυξης του εμβρύου εμπλέκεται η επιγενετική η οποία ορίζει το ποια γονίδια θα εκφραστούν και ποια θα αποσιωπηθούν μέσα από τους κατάλληλους μηχανισμούς όπως για παράδειγμα η μεθυλίωση προκειμένου το κάθε κύτταρο να αποκτήσει τον συγκεκριμένο φαινότυπο. (Franzek EJ. et al., 2008)

2.3 ΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΤΗΣ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

Το σύνολο των διαδικασιών που γίνονται στον οργανισμό μας με σκοπό την τροποποίηση της γενετικής έκφρασης ενός γονιδίου, χωρίς όμως την αλλαγή στην αλληλουχία του DNA αποτελούν το επιγένωμα ή αλλιώς επιγονιδίωμα.

Το γονιδίωμα του ανθρώπου αποτελείται από όλο το σύνολο των γονιδίων που υπάρχουν καταγεγραμμένα στο DNA μας ως γενετικές πληροφορίες σε όλα τα είδη των κυττάρων. Το επιγένωμα από την άλλη αποτελείται από διάφορες και πολύπλοκες τροποποιήσεις οι οποίες σχετίζονται με την έκφραση τμημάτων του γονιδιωματικού DNA και προσδίδει τη διαφοροποίηση στα κύτταρα και τη διαφορετική ανάπτυξη του συνόλου του οργανισμού. Ελέγχει ποια γονίδια είναι αναγκαίο να εκφραστούν σε κάθε φάση και κατάσταση του κυττάρου και ποια χρήζουν άμεση διακοπή έκφρασης. (Li E. et al,1992)

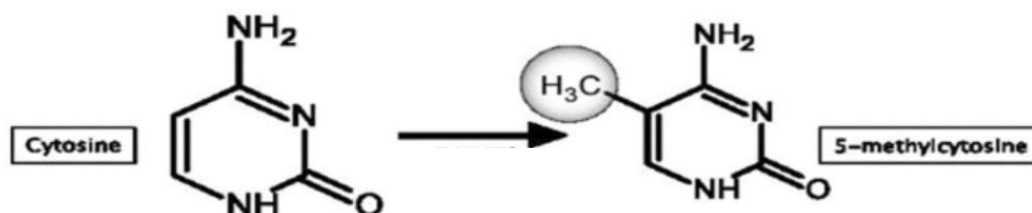
Για παράδειγμα δύο διαφορετικά είδη κυττάρων όπως είναι τα επιθηλιακά και τα νευρικά παρόλο που φέρουν την ίδια ακριβώς γενετική πληροφορία -αν αποκλείσουμε την πιθανότητα μετάλλαξης για τη συγκεκριμένη παραδοχή- έχουν δηλαδή τον ίδιο γονότυπο, μέσα από την επιγενετική ρύθμιση και την ενεργοποίηση διαφορετικών γονιδίων σε κάθε περίπτωση, καταλήγουμε σε δύο πολύ διαφορετικούς φαινότυπους κυττάρων. (Strhul K., 1998)

Κάθε άνθρωπος έχει ένα γονιδίωμα αλλά πολλά επιγενώματα.

2.4 ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ DNA

2.4.1 Μοτίβο μεθυλίωσης DNA με νησίδες CpG

Η κύρια διαδικασία επιγενετικής ρύθμισης σε οποιοδήποτε γονίδιο του οργανισμού είναι η μεθυλίωση του DNA. Η απενεργοποίηση του συγκεκριμένου γονιδίου μέσω της πρόσδεσης μιας μεθυλομάδας $-CH_3$ στην αλληλουχία του DNA η οποία δεν επιτρέπει στους μεταγραφικούς παράγοντες να ξεκινήσουν τη δράση τους προκειμένου από το γονίδιο να παράξουν την τελική πρωτεΐνη. Στον άνθρωπο από τις τέσσερις αζωτούχες βάσεις, μόνο η Κυτοσίνη δύναται να μεθυλωθεί και σχηματίζεται η 5-μεθυλοκυτοσίνη. (Zhou L. et al., 2002)



Εικόνα 4: Προσθήκη μιας μεθυλομάδας στην αζωτούχο βάση Κυτοσίνη (<https://www.ks.uiuc.edu/Research/methylation/>)

Όταν η αμέσως επόμενη αζωτούχος βάση είναι η Γουανίνη, τότε σχηματίζεται ένα δινουκλεοτίδιου που παριστάνεται και ως CpG. Τα δινουκλεοτίδια αυτά CpG εντοπίζονται διάσπαρτα κατά μήκος ολόκληρου του γονιδιώματος. Ένα μέρος αυτών όμως εντοπίζονται συγκεντρωμένα σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA οι οποίες ονομάζονται *Νησίδες CpG*. Πολλά τέτοια ζεύγη γουανίνης-κυτοσίνης τείνουν να συγκεντρώνονται στους υποκινητές των γονιδίων σχηματίζοντας τις νησίδες, φαίνεται όμως ότι δεν επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη μεθυλίωση του DNA που βρίσκεται σε εκείνο το σημείο. (Greer E., Shi Y., 2012)

2.4.2 Μόρια μεθυλίωσης DNA

Η αντίδραση μεθυλίωσης του DNA είναι μια χημική αντίδραση που πραγματοποιείται στα κύτταρά μας από μια κύρια κατηγορία ενζύμων που ονομάζονται Μεθυλοτρανσφεράσες – DNMT. Αυτές είναι που ορίζουν και δημιουργούν το επιγένομα καθώς η δράση τους σε κάθε είδος κυττάρου είναι διαφορετική αλλά άκρως καθοριστική για τη διαφοροποίηση και τη σωστή λειτουργία του κάθε κυττάρου και φυσικά του κάθε διαφορετικού ιστού.

Η διαδικασία της μεθυλίωσης χωρίζεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες ανάλογα με το αν απλά διαβάζουν το επιγένομα και διατηρούν τη μεθυλίωση σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο ή αν δημιουργούν de novo μεθυλίωση σε κάποιο γονίδιο που είναι αναγκαίο να σταματήσει η έκφραση του.

Η De Novo μεθυλίωση είναι η προσθήκη και στη συνέχεια η καθιέρωση στον συγκεκριμένο γενετικό τόπο μιας 5-μεθυλοκυτοσίνης. Συνήθως συναντάται στα πρώτα στάδια της ζωής κατά την ανάπτυξη του εμβρύου. Υπεύθυνο ένζυμο για αυτό το είδος της μεθυλίωσης του DNA είναι το DNMT3 το οποίο αποτελείται από δύο ενεργές υπομονάδες το DNMT3a και το DNMT3b καθώς και ένας ρυθμιστικός παράγοντας που συνοδεύει αυτό το ένζυμο και ονομάζεται DNMT3L ο οποίος αν και δεν είναι αυτούσιος μεθυλοτρανσφεράση, είναι μια πρωτεΐνη απαραίτητη για το σχηματισμό μιας 5-μεθυλοκυτοσίνης.

2.4.3 Μεθυλίωση & Μεταγραφή

Η μεθυλίωση όπως αναφέραμε και παραπάνω είναι ουσιαστικά η απενεργοποίηση ορισμένων γονιδίων. Με ποιόν τρόπο όμως το καταφέρνει αυτό; Από την επιστημονική κοινότητα έχουν προταθεί τρεις βασικοί μηχανισμοί μεθυλίωσης.

Ο πρώτος βασίζεται καθαρά στη στερεοδιάταξη του μορίου καθώς όταν το DNA είναι μεθυλιωμένο η χρωματίνη βρίσκεται σε μια συμπαγή κατάσταση και δεν είναι δυνατό το άνοιγμα των δύο αλυσών του DNA για να προσδεθούν οι μεταγραφικοί παράγοντες και να ξεκινήσει η διαδικασία παραγωγής της πρωτεΐνης. (Adkins RM., et al, 2011)

Ο δεύτερος τρόπος δράσης προτείνει ότι εφόσον το DNA έχει μεθυλωθεί, σε αυτό προσκολλώνται ειδικοί μεταγραφικοί αναστολείς οι οποίοι εμποδίζουν την πρόσδεση των μορίων που είναι απαραίτητα για τη μεταγραφή. Τέτοιες πρωτεΐνες φαίνεται να είναι οι MeCP1 και MeCP2 που προσδένονται σε μεθυλιωμένα σύμπλοκα νουκλεοτιδίων CpG. Η MeCP1 χρειάζεται 12 μεθυλιωμένα CpG δινουκλεοτίδια και συγκεκριμένα τα κατάλοιπα κυτοσίνης για την πρόσδεσή της, ενώ η MeCP2 απαιτεί μόλις 1. (Guil S., Esteller M., 2012)

Ένας τρίτος πιθανός μηχανισμός υποστηρίζει ότι το μεθυλιωμένο DNA είναι δυνατόν να επηρεάζει τον παράγοντα μεταγραφής ο οποίος συνδέεται στη φυσιολογική θέση αναγνώρισης αλληλουχίας ελέγχου. Η παρουσία μεθυλοκυτοσίνης είτε επηρεάζει

τρισδιάστατα στο χώρο και δεν είναι εφικτό να ξεκινήσει η μεταγραφή, είτε χημικά απενεργοποιώντας τον μεταγραφικό παράγοντα ή τμήμα αυτού, παρόλο που έχει προσδεθεί κανονικά.

2.5 ΜΗ ΚΩΔΙΚΟΠΟΙΗΤΙΚΑ ΜΟΡΙΑ RNA

Στον άνθρωπο αν και η γενετική πληροφορία είναι αποθηκευμένη στο DNA και αυτό είναι το γενετικό του υλικό, σημαντικό ρόλο στην επιβίωση και την ανάπτυξη του παίζει και το RNA. Είναι γνωστό ότι το RNA συμμετέχει ενεργά στη μεταγραφή του DNA και στην παραγωγή των πρωτεϊνών από αυτό με τη διαδικασία της μετάφρασης. Τα τρία πιο γνωστά μόρια RNA είναι το αγγελιοφόρο RNA – mRNA, το μεταφορικό RNA – tRNA και το ριβοσωμικό RNA – rRNA. Εκτός όμως από αυτά υπάρχουν πολλά ακόμα είδη RNA τα οποία έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στην επιγενετική ρύθμιση του οργανισμού μας.

Από το σύνολο του ανθρώπινου γονιδιώματος περίπου το 2% είναι αυτό που παράγει τις πρωτεΐνες. Το υπόλοιπο 98% των γονιδιωματικών αλληλουχιών είναι μη κωδικοποιητικές οι οποίες όμως μεταγράφονται σε μεγάλο βαθμό, απλώς δε μεταφράζονται ώστε να παραχθούν πρωτεΐνες. Από τη μεταγραφή αυτή προκύπτουν διάφορα είδη μη κωδικών RNA – ncRNA. Τα non-codingRNA ταξινομούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Τα μικρά τα οποία αποτελούνται από αλυσίδες με λιγότερα από 200 νουκλεοτίδια και τα μεγάλα τα οποία αποτελούνται από αλυσίδες με περισσότερα από 200 νουκλεοτίδια. (Mattick J. et al., 2009)

Στα μικρού μεγέθους ncRNA υπάγονται τα πιο καλά μελετημένα ncRNA τα μικροRNA – miRNA, τα 3' μη μεταφρασμένα RNA και τα ενδογενή RNA με μικρή παρεμβολή. Τα miRNA συγκεκριμένα αποτελούνται από 21 έως 24 νουκλεοτίδια και προέρχονται από επεξεργασία μεγαλύτερων ριβονουκλεασών όπως είναι η Droscha και η Dicer. Αυτά τα miRNA δεσμεύονται σε συμπληρωματικές ρυθμιστικές αλληλουχίες του mRNA και εμποδίζουν τη μετάφραση αυτών ή ακόμη και τα αποικοδομούν μέσω του συμπλόκου σίγασης. (Krol J. et al., 2010)

Η κατηγορία των μεγάλων μη κωδικών RNA περιλαμβάνει τα μακρά διαγονιδιακά ncRNA – lncRNA και τα RNA τα οποία ομοιάζουν με ενισχυτές γονιδίων. (Mercer T. Et al., 2009) Τα lncRNA είναι πιο ευέλικτα μόρια και είναι ικανά να προσελκύσουν μεταγραφικούς και ρυθμιστικούς παράγοντες συμβάλλοντας έτσι στην επιγενετική ρύθμιση των κυττάρων και κατ' επέκταση ολόκληρου του

οργανισμού. Η διαδικασία αυτή έχει τρομερή ακρίβεια καθώς η πρόσδεση αυτή γίνεται σε συγκεκριμένες θέσεις πάνω στο γονιδίωμα όπου και σχηματίζονται πυρηνικοί υποτομείς οι οποίοι σχετίζονται με τη μετα-μεταγραφική τροποποίηση του RNA. (Qureshi I. et al., 2010)

2.6 ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗ ΙΣΤΟΝΩΝ

Ένας άλλος πολύ σημαντικός μηχανισμός επιγενετικής ρύθμισης είναι η τροποποίηση των ιστονών. Αυτές με τη σειρά τους βοηθούν σε βιολογικές διεργασίες μέσω της αλλαγής της σταθερότητας του νουκλεοσώματος και κατ' επέκταση μέσω της αλλαγής προσβασιμότητας της χρωματίνης. Τέτοιες επιγενετικές τροποποιήσεις στις ιστόνες μπορεί να είναι η μεθυλίωση, η ακετυλίωση, ουβικιτινίωση, και η ριβοζυλίωση διφωσφορικής αδενοσίνης – ADP. Ορισμένες από τις ιστόνες μπορούν να εμφανίσουν και συνδυασμό τέτοιων τροποποιήσεων ανάλογα με τη φάση του κυτταρικού κύκλου των κυττάρων που συναντώνται. (Bird A., 2002)

Σε κάθε νουκλεόσωμα το μεγαλύτερο ποσοστό της ιστόνης, έχει σφαιρικό σχήμα και βρίσκεται στο κέντρο της δομής που έχει σχηματιστεί γύρω από την οποία θα τυλιχθεί το DNA. Ένα μικρό αλλά σημαντικό ποσοστό της τάξεως του 15% περίπου της ιστόνης παραμένει ελεύθερο σχηματισμού και δημιουργεί μακριές ουρές από αμινοτελικές ουρές με υπολείμματα λυσίνης και αργινίνης. Συνολικά οκτώ τέτοιες ουρές προεξέχουν από κάθε νουκλεόσωμα καθώς όπως έχουμε αναφέρει πρόκειται για οκταμερές ιστονών. Αυτές οι ελεύθερες ουρές είναι που πραγματοποιούν διαμοριακές επαφές με το περιβάλλον τους και τα άλλα μόρια. (Shilatifard A., 2006)

Οι απλούστερες τροποποιήσεις σε επιγενετικό επίπεδο που δύνανται να δεχτούν αυτά τα άκρα είναι η ακετυλίωση και η μεθυλίωση των καταλοίπων λυσίνης. Αυτές οι δύο αντίθετες ενέργειες επιφέρουν την ισορροπία στη ρύθμιση του γονιδιώματος και στη σωστή έκφραση των πρωτεϊνών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο: ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ «ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ»

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) αναφέρεται στην υγεία ως: *«Η κατάσταση της τέλειαις φυσικής, πνευματικής και κοινωνικής ευεξίας και όχι απλώς η απουσία ασθένειας»*. Ο ορισμός αυτός φαίνεται να είναι ιδανικός και φιλοσοφικός, καθώς στην πραγματικότητα ελάχιστοι είναι οι άνθρωποι οι οποίοι πληρούν και τις τέσσερις αυτές παραμέτρους για να τους ορίσουμε ως υγιείς. Στην πράξη θεωρούμε υγιείς αυτούς που δεν έχουν κάποια φανερή διαταραχή ή ασθένεια. Ο οργανισμός τους δηλαδή μπορεί να προσαρμόζεται και να αντιδρά στις αλλαγές του περιβάλλοντος μέσω της ομοιόστασης.

Ο όρος παθολογία έχει διττή σημασία. Αφενός με την επιστημονική της ερμηνεία αναφέρεται στον κλάδο της ιατρικής ο οποίος ασχολείται με τη μελέτη της φύσης των ασθενειών, τις αιτίες και την εξέλιξη της νόσου καθώς επίσης και με τις επιπτώσεις της νόσου στον ασθενή. Αφετέρου ωστόσο η λέξη παθολογία χρησιμοποιείται για να δηλώσει ότι κάτι απορρυθμίστηκε και δεν λειτουργεί ορθά. Κάτι είναι παθολογικό, χαλασμένο...

Στον άνθρωπο αυτή η αποδιοργάνωση έρχεται είτε λόγω κάποιου εξωτερικού παράγοντα όπως είναι μια ασθένεια που κάποιος κολλάει είτε έρχεται φυσικά με την πάροδο των χρόνων και τη γήρανση του οργανισμού. Με τον όρο γήρανση φυσικά δεν εννοούμε την εμφάνιση ρυτίδων στο πρόσωπό μας. Είναι και αυτά ένα κομμάτι της γήρανσης, αλλά όχι το μοναδικό. Επιστημονικά στον όρο γήρανση περιλαμβάνονται η αργή μείωση των ρυθμών, η προοδευτική απώλεια λειτουργικότητας, η μείωση της γονιμότητας, η φθορά των τελομερών των χρωμοσωμάτων μετά από τόσα χρόνια αντιγραφής και μεταγραφής, η αύξηση των λαθών στην αλληλουχία του DNA καθώς αυτά συσσωρεύονται με το πέρασμα των ετών, τη μυϊκή αποδυνάμωση, την καταπόνηση των ζωτικών οργάνων και άλλα. (Zoghbi H. & Beaudet A., 2016)

Η γήρανση είναι μια διαδικασία η οποία πραγματοποιείται σε όλα τα επίπεδα της βιολογικής οργάνωσης του ανθρώπου, είτε πρόκειται για τα κύτταρα απομονωμένα είτε για το σύνολο αυτών, δηλαδή τον οργανισμό.

Με τα στοιχεία που αναφέρονται παραπάνω, διαπιστώνουμε ότι μια παθολογική κατάσταση είναι πιο πιθανή να συμβεί στον άνθρωπο όσο περνούν τα χρόνια. Εισέρχεται έτσι η παθολογία στην καθημερινότητά μας. Είτε πρόκειται για κάτι

μικρό όπως είναι ένας απαλός πόνος στις αρθρώσεις όταν καθόμαστε είτε πρόκειται για σοβαρή ανεπάρκεια καρδιάς. (De Winter G., 2015)

3.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΣΥΜΒΑΛΟΥΝ ΣΤΗΝ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ

3.2.1 Ασθένειες

Ο πιο βασικός παράγων για την απώλεια της ισορροπίας του οργανισμού είναι οι ασθένειες. Μια ασθένεια προκύπτει όταν οι γραμμές άμυνας του σώματος μας δεν είναι ικανές να προσαρμοστούν και να αντιδράσουν σε κάποιο εξωτερικό βλαπτικό ερέθισμα. Όλες αυτές οι εκδηλώσεις άμυνας είναι μέρος της παθολογίας του ανθρώπου και δείκτης της πορείας της νόσου σύμφωνα με την ένταση και τη διάρκεια αυτών.

Το πρώτο βήμα στην εμφάνιση παθολογίας σε έναν υγιή οργανισμό είναι η εισαγωγή και εγκαθίδρυση του ξένου παράγοντα στο κύτταρο. Σε αυτό το επίπεδο το παθογόνο θέλει να εισέλθει σε ένα κύτταρο και χρησιμοποιώντας τους μηχανισμούς του να εξαπλωθεί και στα υπόλοιπα. Εφόσον έχει εξαπλωθεί σε έναν ικανοποιητικό αριθμό κυττάρων, αρχίζουν και εμφανίζονται τα πρώτα σημάδια αλλοίωσης σε επίπεδο ιστού. Με τροποποιημένη την ανατομία του ιστού ξεκινάει να διαταράσσεται και η συνεργασία και συνάφεια του ιστού με άλλους γειτονικούς ιστούς. Έτσι παρατηρούμε την αποδιοργάνωση ολόκληρου του οργάνου στο οποίο αυτοί οι ιστοί συμμετέχουν. (Haug AB., 2013)

Καταλαβαίνουμε λοιπόν πως οποιαδήποτε ανωμαλία συμβεί σε κάποιον ιστό ή όργανο αυτό επηρεάζει αυτόματα και τα υπόλοιπα συστήματα οργάνων τα οποία προσπαθούν να προσαρμοστούν στη νέα αυτή παθολογική κατάσταση ή ακόμα και να βοηθήσουν στη διόρθωση της βλάβης η οποία προκαλεί αυτή την αναστάτωση. Ο ανθρώπινος οργανισμός είναι ένα αρμονικό σύνολο το οποίο λειτουργεί συντονισμένα με έναν και μοναδικό σκοπό την επιβίωση του ατόμου. (Καραγιάννης, 2014)

3.2.2 Βλάβες στο γονιδίωμα και το επιγένωμα

Η διαταραχή της φυσιολογίας του οργανισμού είναι δυνατόν να έχει και γενετική προέλευση και να υφίσταται από τη μέρα γέννησης ενός ανθρώπου. Η ελαττωματική λειτουργία ορισμένων κυττάρων είναι πιθανόν να έχει αποτυπωθεί από λάθος στη γενετική πληροφορία που κληρονομήθηκε από τους γονείς στον απόγονο συνθέτει τον όρο κληρονομικές γενετικές παθήσεις. Μέσα στο DNA μας είναι καταγεγραμμένες όλες οι πληροφορίες που χρειάζεται ο οργανισμός μας για να

αναπτυχθεί σωστά, να επιτελεί όλες τους τις λειτουργίες όπως πρέπει και να επιβιώνει στο πέρασμα των χρόνων. (Carusillo A. & Mussolino C., 2020) Λάθη κατά την αντιγραφή της γενετικής αυτής πληροφορίας και τη μεταβίβασή της από γενιά σε γενιά οδηγούν τον άνθρωπο σε μια παθολογική κατάσταση εφ' όρου ζωής, είτε πρόκειται για σπάνια και σοβαρά νοσήματα, είτε απλά για μια μικρή διαταραχή που δεν επιτρέπει στον ασθενή να καταναλώνει λακτόζη. (Jackson SP. & Bartek J., 2009)

3.2.3 Γήρανση του οργανισμού & εκφυλισμός

Ένας τρίτος τρόπος που είναι πιθανόν να εμφανιστεί παθολογία στον άνθρωπο είναι με το πέρασμα των χρόνων και τη γήρανση του οργανισμού. Ως γήρανση οι περισσότεροι άνθρωποι φέρουν ως εικόνα στο μυαλό τους τα άσπρα μαλλιά και την εμφάνιση ρυτίδων στο πρόσωπό τους. Στην πραγματικότητα όμως η γήρανση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που γίνεται σε όλα τα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού και κατ' επέκταση στο ίδιο το άτομο.

Με την πάροδο των ετών, τα κύτταρα χάνουν τη φυσική τους ικανότητα να επιδιορθώνουν βλάβες και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι αυτές συσσωρεύονται όλο και πιο γρήγορα οδηγούμαστε σε μια παθολογική κατάσταση. Η ικανότητα επιδιόρθωσης αυτή είναι προκαθορισμένη και βρίσκεται στο DNA μας το χρονικό διάστημα που αυτή θα λειτουργεί ορθά και από ποιο σημείο και μετά θα εμφανίσει βλάβες. Εκτός από τη γενετική συνιστώσα υπάρχει και η ηλικιακή γήρανση, η οποία οδηγεί τα κύτταρα σε σταδιακό εκφυλισμό. Χάνουν σιγά σιγά την ικανότητα τους να επιτελούν κάθε λειτουργία τους στο μέγιστο, εκτροχιάζονται δηλαδή από τον καθορισμένο προγραμματισμό τους με αποτέλεσμα να εμφανίζονται μακροχρόνιες εκφυλιστικές ασθένειες όπως είναι τα συστηματικά νοσήματα, τα κυκλοφοριακά προβλήματα, οι εκφυλίσεις κεντρικού νευρικού συστήματος κ.α. (Yousefzadeh M. et al., 2021)

3.3 ΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΒΛΑΒΕΣ

Όπως αναφέρεται και παραπάνω, ο οργανισμός μας είναι ένα πολύπλοκο σύστημα το οποίο αποτελείται από πολλά μικρότερα συστήματα. Η μικρότερη θεμελιώδης μονάδα είναι το κύτταρο. Στο σύνολο του ανθρώπινου οργανισμού υπάρχουν περίπου 10^{14} κύτταρα. Σε κάθε ένα από αυτά συμβαίνουν περίπου 100.000 βλάβες κάθε μέρα. Για την αντιμετώπιση αυτής της κατάστασης ο οργανισμός μας διαθέτει ένα μεγάλο οπλοστάσιο από επιδιορθωτικά ένζυμα αλλά και μηχανισμούς οι

οποίοι βοηθούν στην αποκατάσταση της βλάβης ή στην απομάκρυνση εκείνου του τμήματος αν δεν είναι δυνατή η επιδιόρθωση. (Bohr V., 1991)

Τέτοιες βλάβες μπορεί να είναι είτε ενδογενείς, να προκαλούνται δηλαδή κατά τη διάρκεια των κυτταρικών διαδικασιών όπως είναι η αντιγραφή του γενετικού υλικού από την DNA πολυμεράση. Είτε είναι πιθανόν τέτοιες βλάβες να είναι εξωγενείς όπως είναι αυτές που προκαλούνται από την UV ακτινοβολία, το κάπνισμα ή τα χημικά.

Οι παραπάνω περιπτώσεις ανήκουν στην κατηγορία των βλαβών οι οποίες ως κύριο χαρακτηριστικό τους έχουν το γεγονός ότι είναι βλάβες στη δομή του DNA και μπορούν να αναγνωριστούν από τα ειδικά ένζυμα και να επιδιορθωθούν. Αντίθετα βλάβες οι οποίες είτε δεν αναγνωρίζονται, είτε δεν δύναται να επιδιορθωθούν ονομάζονται μεταλλάξεις και συμβάλλουν στην παθολογία του ανθρώπου. (Clancy S., 2008)

3.3.1 Αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Κάθε φυσιολογικό ανθρώπινο κύτταρο στον πυρήνα του φέρει 46 χρωμοσώματα. Τα 22 ζεύγη από αυτά είναι τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα, ενώ το 23^ο ζεύγος είναι αυτό που καθορίζει το φύλο και τα χρωμοσώματα ονομάζονται φυλετικά. Όταν αυτός ο αριθμός διαταράσσεται οδηγούμαστε σε παθολογικές καταστάσεις οι οποίες ονομάζονται αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Υπάρχουν δύο περιπτώσεις αριθμητικών ανωμαλιών. Η προσθήκη ενός ή περισσότερων χρωμοσωμάτων, μας οδηγεί σε σύνδρομο τρισωμίας όπως είναι η πιο κοινή τρισωμία 21 με την ονομασία Σύνδρομο Down, η τρισωμία 13 γνωστή και ως Σύνδρομο Patau και η τρισωμία 18 ή αλλιώς Σύνδρομο Edwards. Στην περίπτωση που το επιπλέον χρωμόσωμα είναι φυλετικό, οδηγούμαστε σε σύνδρομο όπως είναι το Klinefelter το οποίο έχει γονότυπο XXY, ή το σύνδρομο Jacobs γνωστό και ως σύνδρομο υπεράρρεν με γονότυπο XYY. (Jackson, S., Bartek, J, 2009)

Αντίθετα η δεύτερη περίπτωση αριθμητικής χρωμοσωμικής ανωμαλίας είναι η έλλειψη ενός χρωμοσώματος από τους πυρήνες των κυττάρων, κάτι το οποίο και αυτό οδηγεί σε παθολογικό φαινότυπο. Οι μονοσωμίες δεν είναι βιώσιμες για τον ανθρώπινο οργανισμό με μοναδική εξαίρεση τη μονοσωμία στα φυλετικά χρωμοσώματα γνωστή και ως Σύνδρομο Turner η οποία παρουσιάζει γονότυπο X0. (Gravholt CH., et. al. 2019)

3.3.2 Δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που εμφανίζονται στον άνθρωπο είναι αποτέλεσμα είτε κάποιου διπλασιασμού ενός χρωμοσωμικού τμήματος, είτε έλλειψης, είτε αναστροφής ή ακόμη και αμοιβαίας μετατόπισης αυτού. Η σοβαρότητα αυτών των αλλαγών ποικίλει ανάλογα με την έκταση της βλάβης και το μέγεθος του χρωμοσωμικού τμήματος που εμπλέκεται. Εν παραδείγματι, είναι πιθανό να συμβεί διπλασιασμός ενός τμήματος με δέκα μόνο ζεύγη βάσεων πράγμα που θα έχει ελάχιστη ή και καθόλου επιρροή στο τελικό προϊόν του γονιδίου. Αντίθετα αν συμβεί μια αναστροφή ή μια διαγραφή ολόκληρου βραχίονα ενός χρωμοσώματος ίσως οδηγηθούμε σε κάποιο σύνδρομο με βαριά παθολογία ή ακόμη και στο θάνατο. (Sulli G., et al. 2012)

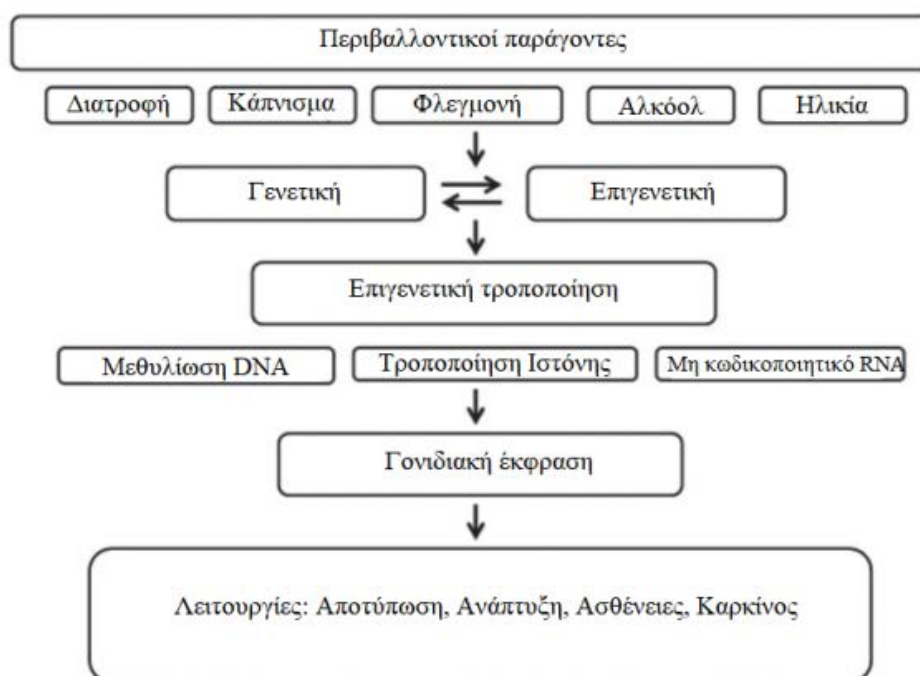
Ένα τέτοιο σύνδρομο είναι και το Σύνδρομο Di George το οποίο οφείλεται σε διαγραφή του τμήματος 11.2 από τον μακρύ (q) βραχίονα του χρωμοσώματος 22 με αποτέλεσμα τη φτωχή ανάπτυξη ορισμένων συστημάτων. Συνήθως βλέπουμε καρδιακά προβλήματα, μαθησιακές δυσκολίες και κακή λειτουργία του ανοσοποιητικού. Το εύρος το συμπτωμάτων είναι τεράστιο ειδικά αν αναλογιστεί κανείς το μικρό μέγεθος της περιοχής του χρωμοσώματος 22 το οποίο διαγράφεται. (McDonald-McGinn DM., et al. 2011)

3.4 ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΝΙΣΤΩΣΑ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Με το πέρασμα των χρόνων και την ανάπτυξη της γενετικής επιστήμης κατανοούμε τη σημασία των επιγενετικών μηχανισμών όλο και περισσότερο. Είναι αποδεδειγμένο πλέον ότι το επιγένωμα και οι γενετικές αυτές αλλαγές είναι δυνατόν να διαμορφωθούν από μια ποικιλία περιβαλλοντικών παραγόντων όπως είναι οι χημικοί παράγοντες, η διατροφή, η γήρανση κ.α. (Rai S. et al., 2021)

Η καθημερινότητα και ο σύγχρονος τρόπος ζωής συμβάλλει ενεργά στην τροποποίηση των επιγενετικών μηχανισμών. Παρατηρούμε έτσι λανθασμένη μεθυλίωση λόγω επίδρασης χημικών παραγόντων σε ζεύγη βάσεων που υπό φυσιολογικές συνθήκες δε μεθυλιώνονται, καθώς έχει αλλάξει η στερεοδιάταξη και η χημική συγγένεια των μορίων αυτών. Ο πιο απλός μηχανισμός μιας τέτοιας διαταραχής είναι το κάπνισμα. Η εισαγωγή τέτοιων χημικών και καρκινογόνων στους πνεύμονες ενός καπνιστή διαταράσσει την επιγενετική ισορροπία καθιστώντας κάποιες βάσεις ικανές να μεθυλιωθούν και άλλες οι οποίες φυσιολογικά συμβάλλουν στη μεθυλίωση

και την απενεργοποίηση γονιδίων ανίκανες να μεθυλιωθούν. Με αυτόν τον τρόπο τα κύτταρα οδηγούνται σε πολλαπλασιασμό χωρίς όριο το οποίο και εν τέλει οδηγεί στη δημιουργία καρκίνου του πνεύμονα. (Thompson R. et al., 2020)



Εικόνα 5: Η συμβολή των περιβαλλοντικών παραγόντων στο επιγενετικό προφίλ (<https://www.nature.com/articles/hdy20102>)

Ένα εύρημα το οποίο φαίνεται να προβληματίζει την επιστημονική κοινότητα είναι το γεγονός ότι οι αλλαγές που προκαλούνται στο επιγένομα από τοξικούς και μεταλλαξιογόνους παράγοντες δεν επηρεάζουν μόνο τους άμεσα εκτεθειμένους αλλά και τους απογόνους αυτών. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις περνούν στο γονιδιωματικό εντύπωμα το οποίο μεταβιβάζουν οι γονείς στους απογόνους με αποτέλεσμα τροποποιήσεις οι οποίες συνέβησαν λόγω ενός περιβαλλοντικού παράγοντα είναι πλέον μόνιμες και αποτελούν μέρος της φυσιολογικής λειτουργίας του οργανισμού.

3.5 ΦΘΟΡΑ ΤΕΛΟΜΕΡΩΝ

Είναι γνωστό ότι τα τελομερή είναι ειδικές δομές στα άκρα των χρωμοσωμάτων και αποτελούνται από πολλές νουκλεοτιδικές επαναλήψεις βάσεων γουανίνης – θυμίνης GT. Τα τελομερή είναι υπεύθυνα για τη διατήρηση της ακεραιότητας του DNA καθώς δρουν ως προστατευτικά στα άκρα των χρωμοσωμάτων ώστε να μην επηρεάζεται η περιοχή που φέρει τα γονίδια από τυχόν αλλαγές στο περιβάλλον. (Rossiello F. et al., 2022)

Σε βάθος χρόνου και σε κάθε κύκλο αντιγραφής τα τελομερή χάνουν ορισμένες βάσεις και σταδιακά συρρικνώνονται. Αυτό συμβαίνει επειδή η πολυμεράση δρα μόνο με κατεύθυνση 5' → 3' και σχηματίζονται τα τμήματα από την ασυνεχή δράση της πολυμεράσης τα οποία για να συντεθούν σε μια ενιαία αλυσίδα και να σχηματίσουν το νεοσυντιθέμενο κλώνο αφαιρούν ορισμένες βάσεις από τα άκρα τους για την σύνδεση τόσο μεταξύ τους όσο και με τη συμπληρωματική αλυσίδα. Τα τμήματα που είναι στην άκρη και ενώνονται τελευταία υφίστανται αυτήν την περικοπή ορισμένων βάσεων με αποτέλεσμα τη φθορά των τελομερών και τη σταδιακή συρρίκνωση αυτών. (Turner et al., 2019)

Όταν το μήκος αυτό των τελομερών είναι πολύ μικρό για να διαιρεθεί περαιτέρω το κύτταρο, λέμε ότι το κύτταρο έχει φτάσει στο ανώτερο όριο των κυτταρικών διαιρέσεων το οποίο είναι γνωστό και ως σημείο Hayflick. Αυτός ο επιγενετικός μηχανισμός θα μπορούσε να χαρακτηριστεί και ως γενετικό ρολόι το οποίο μετράει τις διαιρέσεις. Από αυτό το όριο και μετά ξεκινά μια διαδικασία γνωστή και ως κυτταρική γήρανση κατά την οποία το κύτταρο ετοιμάζεται για αποδόμηση χαρίζοντας τα βασικά θρεπτικά συστατικά που είναι απαραίτητα για τη δημιουργία ενός καινούργιου κυττάρου το οποίο θα λάβει τη θέση του παλιού ανανεώνοντας με αυτόν τον τρόπο και τον ιστό στον οποίο συμμετέχει. (Turner et al., 2019)(Shay, 2018).

3.6 ΡΥΘΜΙΣΗ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΗΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Όλα τα κύτταρα του ανθρώπινου οργανισμού ρυθμίζονται από συγκεκριμένες διεργασίες οι οποίες βασίζονται στην έκφραση πρωτεϊνών. Με σκοπό την ύπαρξη ισορροπίας και αρμονίας στην έκφραση αυτών των πρωτεϊνών υπάρχουν ορισμένοι επιγενετικοί μηχανισμοί οι οποίοι φροντίζουν για τη διατήρηση ενός σταθερού και λειτουργικού συστήματος έκφρασης πρωτεϊνών, γνωστό και ως ομοιόσταση πρωτεϊνών. (Koga et al., 2011)(Kaushik and Cuervo, 2015)(Korovila et al., 2017)(Jung et al., 2009)

Για την επίτευξη αυτής της αρμονίας οι μηχανισμοί αυτοί δρουν μέσα από δύο συστήματα. Το πρώτο είναι ένα πολύπλοκο δίκτυο μοριακών συνοδών το οποίο αποτελείται από πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Heat Shock Proteins – HSP) και είναι υπεύθυνο για τη διατήρηση της διπλωμένης τους δευτεροταγούς δομής. Το δεύτερο σύστημα που συμμετέχει στην ομοιόσταση των πρωτεϊνών είναι το σύστημα πρωτεόλυσης το οποίο αναγνωρίζει και αποικοδομεί τις κατεστραμμένες πρωτεΐνες για

να επανατροφοδοτήσει τον οργανισμό με θρεπτικά στοιχεία και χημικές ενώσεις απαραίτητες για την παραγωγή νέων λειτουργικών πρωτεϊνών. (Koga et al., 2011)(Hartl et al., 2011). Δύο από τα κύρια συστήματα πρωτεόλυσης που αναλαμβάνουν τον μεγαλύτερο όγκο δυσλειτουργικών πρωτεϊνών είναι το σύστημα «ουβικουιτίνης – πρωτεασώματος» και το «αυτοφαγικό σύστημα».

Η ικανότητα διατήρησης μιας λειτουργικής και αποτελεσματικής ομοιόστασης πρωτεϊνών φαίνεται να μειώνεται με την πάροδο των χρόνων και την αύξηση της ηλικίας. Η δυσλειτουργική ομοιόσταση πρωτεϊνών συνδέεται τόσο με την ίδια τη γήρανση όσο και με τη διαταραχή του επιγενετικού ρολογιού το οποίο οδηγείται σε αποσυντονισμό με αποτέλεσμα την εμφάνιση διάφορων ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση. Τέτοιες διαταραχές είναι κυρίως οι νευροεκφυλιστικές όπως είναι το Alzheimer, η νόσος του Huntington, ο καρκίνος, η νόσος Parkinson και άλλες μεταβολικές ασθένειες. (Morimoto and Cuervo, 2014)(Labbadia and Morimoto, 2015)(Vilchez et al., 2014)

Είναι αξιοθαύμαστο το γεγονός ότι η διαταραχή σε έναν μηχανισμό που λίγα χρόνια πριν δε γνωρίζαμε την ύπαρξη του και φυσικά σε κάτι το οποίο δεν μπορούμε να δούμε απτά ότι δυσλειτουργεί όπως για παράδειγμα είναι η καρδιά, οδηγεί έναν ολόκληρο οργανισμό σε παθολογική κατάσταση είτε είναι μικρότερης είτε μεγαλύτερης έκτασης.

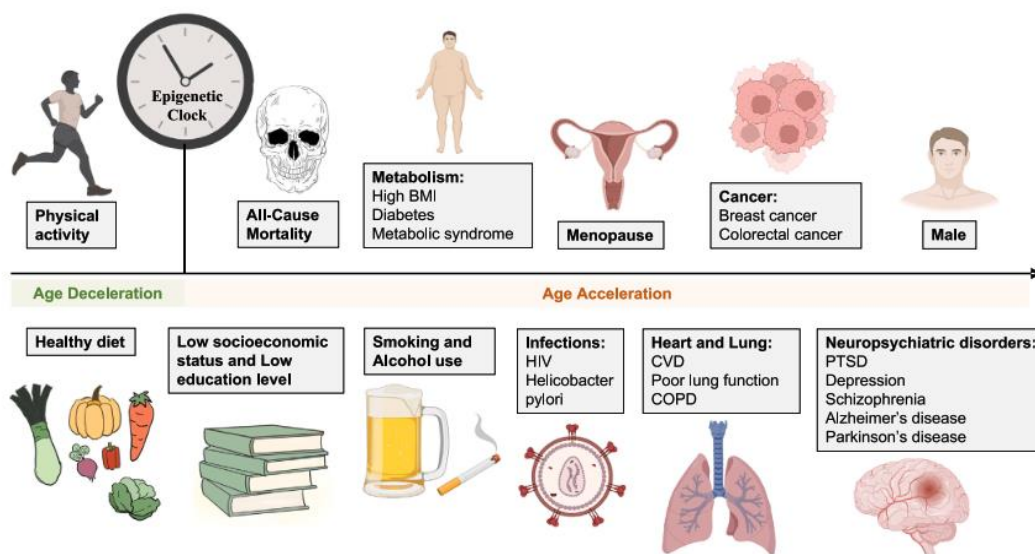
Αρκετές είναι οι αναφορές οι οποίες δείχνουν πως η τροποποίηση επιγενετικών μηχανισμών είναι δυνατόν να επηρεάσει ακόμα και τη διάρκεια ζωής ενός οργανισμού. Με μια απλή ενίσχυση του δικτύου που είναι υπεύθυνο για την ομοιόσταση των πρωτεϊνών μέσω φαρμάκων είναι δυνατόν να κατασταλούν αρκετές ασθένειες οι οποίες σχετίζονται με την ηλικία και τον νευροεκφυλισμό με αποτέλεσμα την μακροβιότερη επιβίωση. (Pérez et al., 2009)(Chondrogianni et al., 2015)(Madeo et al., 2015)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο: ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ

4.1 ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΚΗ & ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ

Εν αρχή είναι αναγκαίο να κατανοήσουμε πως η ηλικία μας χωρίζετε σε δύο επιμέρους ηλικίες και υπάρχει μια ειδοποιός διαφορά ανάμεσά τους. Από τη μία είναι η χρονολογική μας ηλικία η οποία μετριέται αντικειμενικά από την ημέρα που γεννιόμαστε σε έτη, μήνες και ημέρες και είναι ίδια ανάμεσα σε ανθρώπους οι οποίοι έχουν γεννηθεί την ίδια στιγμή. Ο δεύτερος άξονας είναι η βιολογική ηλικία η οποία επηρεάζεται από τις συνθήκες διαβίωσης, την καθημερινότητα, το lifestyle που επιλέγει ο κάθε ένας. Έτσι είναι δυνατόν δύο διαφορετικοί άνθρωποι οι οποίοι έχουν γεννηθεί την ίδια ημερολογιακή ημέρα και έτος να έχουν πολύ διαφορετικές βιολογικές ηλικίες. Η βιολογική ηλικία ενός ανθρώπου δείχνει στην ουσία την κατάσταση που βρίσκονται τα κύτταρά του και το πόσο γρήγορα τα κύτταρα του φτάνουν στη γήρανση. (Jones et al., 2015)

Η βιολογική ηλικία σε σύγχρονες μελέτες χρησιμοποιείται και ως δείκτης για την ακριβή μέτρηση του πόσο καλά λειτουργεί το σώμα κάποιου συγκριτικά με την χρονολογική του ηλικία. (Mitnitski A. et al., 2015) Οι πιο κοινοί βιοδείκτες οι οποίοι έχουν υιοθετηθεί και χρησιμοποιούνται στις μελέτες για τον ορισμό της βιολογικής μας ηλικίας είναι η μεθυλίωση του DNA, το μεταγράφομα, το πρωτέωμα και το μήκος των τελομερών. (Jylhävä J. et al., 2017)



Εικόνα 6: Περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν το επιγενετικό ρολόι μέσω της ηλικίας (Ran D. et al., 2022)

4.2 ΤΟ ΠΡΩΤΟ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΙ

4.2.1 Επιγενετικό ρολόι του Horvath

Τη στιγμή που γράφεται η παρούσα εργασία το ευρέως χρησιμοποιούμενο πρότυπο επιγενετικού ρολογιού είναι αυτό του Horvath. (Horvath S., 2013) Το πρότυπο αυτό συνδυάζει δεδομένα από διάφορους τομείς της ιατρικής συμπεριλαμβανομένων των νευροεκφυλιστικών διαταραχών όπως είναι το Alzheimer και το Parkinson, τον καρκίνο, τη γήρανση και τον γενικότερο τρόπο ζωής. (Ryan J., et al. 2020)

Το ρολόι αυτό δημιουργήθηκε βασιζόμενο σε έναν μαθηματικό αλγόριθμο ο οποίος όρισε ως σημαντικά 353 δινοκυκλοτιδία CpG τα οποία είναι συνδεδεμένα με την ηλικία. Τα μισά περίπου - τα 160 από αυτά – εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση με την ηλικία ενώ τα υπόλοιπα 193 είχαν θετική συσχέτιση με την ηλικία. (Simpson DJ. & Chandra T., 2021)

Το ρολόι αυτό αποτελεί μια πρώτη προσπάθεια να συνδεθεί η ζημιά που έχει προκληθεί στο DNA με το πέρασμα των χρόνων με τη χρονολογική ηλικία όπως αναφέρεται και παραπάνω. Στον απόηχο πολλών μαθηματικών εξισώσεων τα αποτελέσματα έδειξαν μια ταύτιση της χρονολογικής ηλικίας με την φυσιολογική φθορά στο DNA της τάξης του 96%. (Horvath, 2013) Με άλλα λόγια η διαφορά της ηλικίας που υπολογίζεται από αυτό το επιγενετικό ρολόι και της πραγματικής χρονολογικής ηλικίας έχουν απόκλιση κατά μέσο όρο 3.6 χρόνια. (Oblak et al., 2021)

Το μοντέλο το οποίο αναπτύχθηκε χάρει της επιστημονικής εκτίμησης καθώς παρουσιάζει μεγάλη ακρίβεια, μεγάλο εύρος ηλικιών που μπορεί να εφαρμοστεί και μεγάλο εύρος ασθενειών στις οποίες μπορεί να χρησιμοποιηθεί αφού βρίσκει εφαρμογή σε διάφορους ιστούς και τα περισσότερα είδη κυττάρων. Ανάμεσα στους ιστούς και στα όργανα που περιλαμβάνει, ενδεικτικά αναφέρονται το ολικό αίμα, τα νεφρά, το συκώτι, οι πνεύμονες κ.α. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι τα σπερματοζωάρια εμφανίζουν πολύ μικρότερη ηλικία στο επιγενετικό ρολόι του Horvath σε σχέση με τη χρονολογική ηλικία πράγμα που τον οδήγησε στη δημιουργία ενός ξεχωριστού ρολογιού μόνο για αυτόν τον τύπο κυττάρων. Με τον τρόπο αυτόν προσφέρεται μια πρώτη επαφή στην κατανόηση της γονιμότητας και το πως αυτή μεταβάλλεται σε συνάρτηση με την ηλικία. (Horvath et al., 2018)

4.2.2 Επιγενετικό ρολόι του Hannum

Το επιγενετικό ρολόι του Hannum χρησιμοποιεί μια διαφορετική προσέγγιση. Προσδιορίζει την ηλικία στοχεύοντας στη μεθυλίωση του DNA μόνο σε έναν ιστό. Συγκεκριμένα χρησιμοποιεί δεδομένα από δείγμα ολικού αίματος και από αυτά αναλύει τη μεθυλίωση που υφίσταται το DNA. Βασίζεται σε ταυτόχρονη ανάλυση 71 περιοχών με δινουκλεοτίδια CpG τα οποία σχετίζονται με την ηλικία σε πληθυσμούς καυκάσιας και ισπανικής φυλής. (Hannum G. et al., 2013)

Η συσχέτιση ανάμεσα σε χρονολογική ηλικία και στη φθορά του DNA σύμφωνα με το επιγενετικό ρολόι του Hannum αγγίζει το 96% με την απόλυτη διαφορά μέσου όρου να βρίσκεται στα 3.9 έτη. (Andrew J. Simpkin et al., 2017) Το μοντέλο αυτό παρουσιάζει μεγαλύτερη ακρίβεια όσον αφορά τα κύτταρα ολικού αίματος σε σχέση με το ρολόι του Hovarth αλλά αυτό αποτελεί και το μειονέκτημα του καθώς δεν μπορεί να εφαρμοστεί με ασφάλεια σε άλλους ιστούς και άλλα είδη κυττάρων καθώς ούτε και σε παιδιά. (Simpkin et al., 2016)

4.2.3 DNAm Pheno – Age

Η πρώτη γενιά επιγενετικών ρολογιών φαίνεται να υστερεί στο να συμπεριλάβει στους βιοδείκτες πρόβλεψής τους κλινικά στοιχεία όπως είναι τα λιπίδια του αίματος, η αρτηριακή πίεση και τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Με σκοπό να συμπεριληφθούν και αυτοί οι βιοδείκτες το 2018 ο Levine M. και η ομάδα του δημιούργησαν ένα νέας γενιάς επιγενετικό ρολόι το οποίο έγινε γνωστό ως “DNAm PhenoAge”. (Levine et al., 2018)

Η καινοτομία αυτού ήταν το γεγονός ότι αντικαταστάθηκε η χρονολογική ηλικία με έναν νέο όρο την «υποκατάστατη βιολογική ηλικία». Σε αυτή τη νέα βιολογική ηλικία συνδυάζονταν 10 κλινικά χαρακτηριστικά ανάμεσα τους η χρονολογική ηλικία, η γλυκόζη, η αλβουμίνη, το ποσοστό λεμφοκυττάρων κ.α. Στη συνέχεια αυτά τα δεδομένα αναλύθηκαν για τα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο παλινδρόμησης. Το ρολόι αυτό βασίζεται στην ανάλυση 513 δινουκλεοτιδίων CpG τα οποία σχετίζονται με την ηλικία. Αυτά τα δινουκλεοτίδια ήταν χωρισμένα σε 3 chip για τον αναλυτή της Illumina. Πιο συγκεκριμένα ήταν μοιρασμένα στο 27K chip, το 450K και 850. (Levine et al., 2018 & Hovarth and Raj 2018)

Ένα επιπλέον σημαντικό στοιχείο το οποίο ξεχωρίζει το συγκεκριμένο επιγενετικό ρολόι είναι το γεγονός ότι το DNAm Pheno Age είναι σε θέση να ορίσει το ρίσκο σε ποσοστό τόσο για τη νοσηρότητα μιας ασθένειας όσο και για τη θνητότητα αυτής. Επιπλέον διαχωρίζει αυτά τα ποσοστά ανά ασθενή και τα συγκρίνει ανάμεσα σε άτομα ίδιας χρονολογικής ηλικίας. (Levine et al., 2018) Δίνει έτσι τη δυνατότητα πρόβλεψης θνησιμότητας και εξέλιξης της πορείας του κάθε ανθρώπου σε βάθος δεκαετίας ακόμη και σε βάθος εικοσαετίας για ορισμένες περιπτώσεις συνυπολογίζοντας και τις επιλογές της καθημερινότητας του καθενός. (Hovarth and Raj, 2018)

Παρότι το DNAm Pheno – Age είναι ένα αρκετά καινοτόμο σύστημα και συνδυάζει πολλούς κλινικούς βιοδείκτες με την καθημερινότητα και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, δεν έχει πρόθεση να αντικαταστήσει το παρόν σύστημα αξιολόγησης και το σύνολο των κλινικών βιοδεικτών οι οποίοι χρησιμοποιούνται για τη λήψη ιατρικών αποφάσεων και τη χορήγηση κατάλληλης φαρμακευτικής αγωγής.

4.2.4 DNAm Grim – Age

Ένα καινοτόμο επιγενετικό ρολόι αλλά σχετικά περιορισμένο είναι το DNAm Grim Age το οποίο χρησιμοποιείται για την πρόβλεψη παθολογικών καταστάσεων σε ανθρώπους οι οποίοι καπνίζουν. Το ρολόι αυτό συντίθεται από την ανάλυση 7 πρωτεϊνών οι οποίες βρίσκονται στο πλάσμα του αίματος και είναι αποδεδειγμένο ότι σχετίζονται με την μεθυλίωση του DNA (Lu et al., 2019) Ενδεικτικά ορισμένες από αυτές είναι οι β2 μικρογλουβίνη, ο διαφοροποιητικός αυξητικός παράγοντας 15 (GDF15) και ο αναστολέας ενεργοποίησης πλασμινογόνου (PAI1).

Το επιγενετικό ρολόι DNAm Grim Age αν και στοχεύει περισσότερο στην ανάλυση της καθημερινότητας και των συνηθειών του κάθε ανθρώπου και λιγότερο στο κλινικό κομμάτι καθώς περιλαμβάνει μόλις 7 κλινικούς βιοδείκτες, φαίνεται να έχει καλύτερο σύστημα πρόβλεψης για το προσδόκιμο ζωής του ασθενούς σε σχέση με άλλα παρόμοια μοντέλα πρόβλεψης τα οποία χρησιμοποιούν άλλους δείκτες βασιζόμενοι στη μεθυλίωση του DNA.

4.3 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΠΟΣΟΣΤΟΥ ΘΝΗΣΙΜΟΤΗΤΑΣ

«Πεπρωμένο φυγείν αδύνατον»

Η μοίρα του ανθρώπου από τη στιγμή της γέννησής του είναι μία και ίδια για όλους ανεξαρτήτως χρώματος, φυλής, εθνικότητας ή φύλου. Όσο ο καιρός περνάει και η ηλικία αυξάνεται οδεύουμε προς το θάνατο. Αν και μακάβριο ή απότομο για να αποτελεί μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας, ο θάνατος είναι το στατιστικά βέβαιο αποτέλεσμα της διαδικασίας της γήρανσης με ό,τι αυτή συνεπάγεται. Όποιο από τα επιγενετικά ρολόγια – μοντέλα που αναφέρθηκαν παραπάνω και αν χρησιμοποιήσει κανείς θα καταλήξει στο ίδιο συμπέρασμα.

Με γνώμονα και την εικαστική απεικόνιση (Εικόνα 6) όσο «κινείται κανείς προς τα δεξιά» με τις επιλογές του και τον τρόπο ζωής του τόσο περισσότερο «επιταχύνει» την επιγενετική του ηλικία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του ρίσκου να πεθάνει κανείς από φυσικά αίτια με όλους τους γνωστούς επιβαρυντικούς παράγοντες. (Marioni et al., 2016 & Christiansen et al., 2016) Αξίζει να σημειωθεί πως σε μια μετα - ανάλυση τεσσάρων μελετών κοορτής σε γερασμένους πληθυσμούς βρέθηκε πως για κάθε 5 έτη που διαφέρει η χρονολογική ηλικία από την επιγενετική αυξάνεται 21% το ρίσκο ένας ασθενής να υποκύψει στα παθολογικά αίτια. (Marioni et al., 2016)

4.4 ΠΡΟΒΛΕΨΗ ΡΙΣΚΟΥ ΕΜΦΑΝΙΣΗΣ ΑΣΘΕΝΕΙΩΝ

Πολλές είναι οι ασθένειες οι οποίες στη βιβλιογραφία είναι καταγεγραμμένες ως πολυπαραγοντικές ως προς την εκδήλωσή τους. Ανάμεσα σε αυτές τις αιτίες έχει εμφανιστεί και συσχέτιση μεταξύ της επιγενετικής ηλικίας ως παράγοντας που οδηγεί στην εμφάνιση της νόσου. (Ryan J. et al., 2020) Κάτι επίσης αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι το z – score και η στατιστική ανάλυση έδειξαν μια σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην επιγενετική ηλικία και το ρίσκο εμφάνισης καρκίνου. Αυτό ισχύει και για τα τέσσερα επιγενετικά ρολόγια τα οποία αναφέρθηκαν πιο πάνω πράγμα που μας υποδεικνύει και επιβεβαιώνει την πεποίθηση της επιστημονικής κοινότητας ότι η νούμερο ένα αιτία εμφάνισης καρκίνου είναι η απορρύθμιση του επιγενετικού μηχανισμού που επέρχεται με την αύξηση της ηλικίας. (Oblak et al., 2021)

Η απορρύθμιση αυτή γίνεται φανερή και στην εμφάνιση άλλων παθολογικών καταστάσεων. Η εμφάνιση μεταβολικών συνδρόμων όπως για παράδειγμα ο Σακχαρώδης Διαβήτης είναι μια κατηγορία στην οποία υπάρχει ισχυρή συσχέτιση

ανάμεσα στην επιγενετική ηλικία και την εμφάνιση τέτοιων συνδρόμων. (Oblak et al., 2021) Ένας άλλος τομέας είναι τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα. Ασθένειες όπως η άνοια ή το Parkinson εμφανίζουν ισχυρή συσχέτιση με την αποδιοργάνωση του επιγενετικού μηχανισμού. (Zhang et al., 2017)

Αξίζει να σημειωθεί ότι, αν και οι μελέτες ακόμα τρέχουν, πως φαίνεται να υπάρχουν κάποια επιγενετικά ρολόγια τα οποία εμφανίζουν μια αναπάντεχη συσχέτιση ανάμεσα στην αύξηση της επιγενετικής ηλικίας ενός ανθρώπου και την εμφάνιση συχνών μολύνσεων ή ακόμη και την εμφάνιση ψυχιατρικών νοσημάτων. Το γεγονός αυτό μας επιβεβαιώνει τη σχέση που έχει η ηλικία με την επιγενετική φθορά που υφίσταται το γενετικό μας υλικό και επιπλέον υποδεικνύει ότι γενικότερα τα μοντέλα πρόβλεψης μέσω επιγενετικών ρολογιών πρόκειται να καθιερωθούν σε καθημερινή κλινική πράξη καθώς όλο και περισσότερες ασθένειες μπορούν να μελετηθούν υπό το πρίσμα των επιγενετικών μηχανισμών για την εμφάνισή τους.

4.5 ΓΟΝΙΔΙΩΜΑΤΙΚΟ ΕΝΤΥΠΩΜΑ

Ένα από τα πιο σημαντικά επιγενετικά φαινόμενα το οποίο ρυθμίζεται από το επιγενετικό ρολόι του κάθε ανθρώπου είναι το γονιδιωματικό εντύπωμα. Το φαινόμενο κατά το οποίο η έκφραση ενός γονιδίου εξαρτάται από την προέλευσή του, δηλαδή το αν είναι πατρικής ή μητρικής προέλευσης. (Tucci V. et al., 2019) Ορισμένα γονίδια είναι σε κατάσταση αδράνειας όταν τα κληρονομούμε από τον πατέρα ενώ το ίδιο γονίδιο είναι ενεργοποιημένο όταν το κληρονομούμε από τη μητέρα και φυσικά ισχύει και το αντίστροφο. Οι δύο βασικοί μηχανισμοί με τους οποίους το σώμα μας καταφέρνει αυτήν την κατ' επιλογή ενεργοποίηση και απενεργοποίηση είναι η μεθυλίωση του DNA και η φωσφορυλίωση των ιστονών. (Rocha St & Ferguson – Smith, 2004)

Από τη δημιουργία του ζυγωτού και του νέου εν δυνάμει οργανισμού ξεκινάει ο πολλαπλασιασμός και η ανάπτυξη των κυττάρων. Αυτά από τα αρχέγονα ολοδύναμα βλαστοκύτταρα μέσω της διαδικασίας της διαφοροποίησης θα δώσουν εν τέλει όλους τους κυτταρικούς τύπους που χρειάζεται ένας οργανισμός για να ζήσει. Το γονιδιωματικό εντύπωμα πρόκειται ουσιαστικά για τη διαδικασία που η κάθε βλαστική σειρά κυττάρων – μητρική και πατρική – αποκτά διαφορετικό πρότυπο μεθυλίωσης του DNA και ένα πρότυπο τροποποιημένων ιστονών για κάθε συγκεκριμένη γονιδιακή περιοχή. Στόχος αυτής της διαδικασίας είναι η ρύθμιση του επιγενετικού ρολογιού και

του προγράμματος του οργανισμού ώστε να γνωρίζει ποιο αλληλόμορφο του εντυπωμένου γονιδίου είναι απαραίτητο να μείνει ενεργό και ποιο πρέπει να απενεργοποιηθεί. (Smith ZD, et al., 2012)

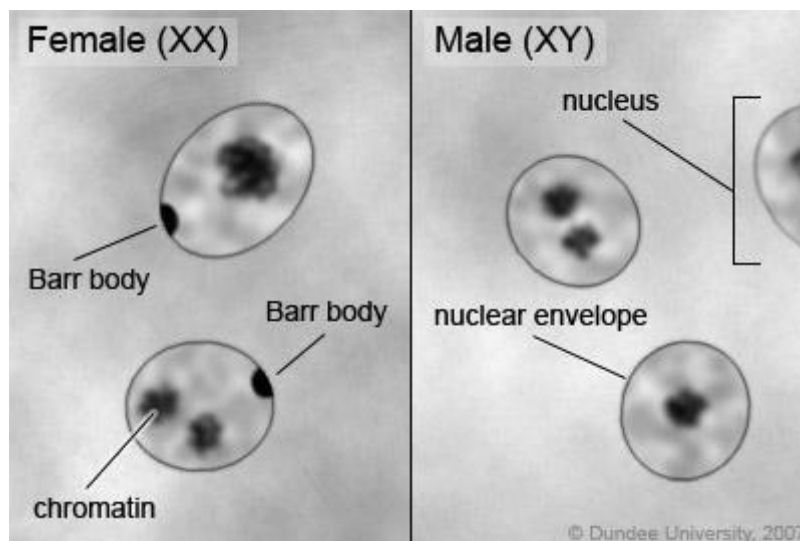
Τα πρώτα χρόνια της ζωής όλα τα κύτταρα έχουν παρόμοιο επιγένομα. Μόλις ο νέος οργανισμός φτάσει σε αναπαραγωγική ηλικία, στη διαδικασία της γαμετογένεσης λαμβάνει χώρα μια διαδικασία η οποία αποτελείται από δύο στάδια. Αρχικά διαγράφεται το προϋπάρχον πρότυπο μεθυλίωσης από ολόκληρο το γονιδίωμα μέσω της απομεθυλίωσης του DNA και στη συνέχεια εντυπώνεται στο καθαρό πλέον γενετικό υλικό το ειδικό πρότυπο μεθυλίωσης για το κάθε φύλο. Αυτό το ειδικό για το κάθε φύλο πρότυπο μεθυλίωσης το οποίο εντυπώνεται στα αναπαραγωγικά κύτταρα είναι υπεύθυνο για το φαινόμενο του γονιδιωματικού εντυπώματος. Εν ολίγοις περιγράφεται μέσω αυτού η διαφορετική συμπεριφορά των αλληλομόρφων τα οποία κληρονομούνται από τους δύο γονείς. (Smith Z. & Meissner A., 2013)

Το εντύπωμα καθορίζεται από τη μεθυλίωση ή όχι μια δραστηρικής περιοχής που βρίσκεται συνήθως κοντά στα γονίδια στόχους. Η περιοχή αυτή είναι γνωστή και αποτελεί ειδική ρυθμιστική θέση που φέρει την ονομασία «Περιοχές διαφορικής μεθυλίωσης» ή «περιοχές ελέγχου εντυπώματος» η οποία εν συντομία στην παρούσα διπλωματική θα αναφέρεται ως DMS (= Differentially Methylated Domains). Παθολογικές καταστάσεις σε αυτές τις περιοχές έχουν ως αποτέλεσμα τη διαγραφή του εντυπώματος και κατά συνέπεια οι γενετικοί τόποι οι οποίοι ρυθμίζονται υπό φυσιολογικές συνθήκες από το γονιδιωματικό εντύπωμα τώρα συμπεριφέρονται με τον ίδιο ακριβώς τρόπο είτε πρόκειται για πατρικό είτε για μητρικό γονιδίωμα προέλευσης.

4.6 ΑΔΡΑΝΟΠΟΙΗΣΗ ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΟΣ X

Μόλις γίνει η γονιμοποίηση του ωαρίου από το σπερματοζώαριο και το ζυγωτό ξεκινήσει να αναπτύσσεται για ένα μικρό χρονικό διάστημα όταν πρόκειται για άτομο θηλυκού φύλου και τα δύο χρωμοσώματα X είναι ενεργά (ένα από το σπερματοζώαριο και ένα από το ωάριο). Αυτό όμως μέχρι την τρίτη ημέρα ζωής του ζυγωτού αλλάζει καθώς στα οκτώ πρώτα κύτταρα το ένα από τα δύο επιπλέον χρωμοσώματα X απενεργοποιείται τυχαία στο κάθε κύτταρο συμπυκνώνεται σε πολύ μεγάλο βαθμό και σχηματίζει το γνωστό σωματίο Barr. (Dixon M., et al., 2015). Όλα τα κύτταρα τα οποία θα προκύψουν από ένα κύτταρο εκ των οκτώ πρώτων θα έχουν πάντα το ίδιο χρωμόσωμα X απενεργοποιημένο. Φυσικά να σημειωθεί πως όταν αναφερόμαστε στο

χρωμόσωμα X ως απενεργοποιημένο, εννοούμε ότι η πλειονότητα των γονιδίων του δεν εκφράζεται και όχι πως είναι άχρηστο ή ότι καταργείται με το πέρασμα των ετών.



Εικόνα 7: Το σωματίο Barr στα κύτταρα θηλυκού ατόμου (<https://rwu.pressbooks.pub/bio103/chapter/meiosis-and-sexual-reproduction/>)

Πρώτο βήμα για την αδρανοποίηση του χρωμοσώματος X, είναι η συμύκνωση της δομής του DNA η οποία ξεκινάει από το XIC (X inactivation center). Όπως έχει βρεθεί το XIC αποτελείται από έναν γενετικό τόπο ο οποίος περιέχει το γονίδιο Xist. Το γονίδιο αυτό έχει ένα ειδικό μετάγραφο το οποίο εκφράζεται μόνο στο αδρανοποιημένο X. (Meyer Bj., 2022)

Η τυχαία δράση του Xist σε ένα από τα δύο χρωμοσώματα οδηγεί στη μεθυλίωση του DNA, στη μεθυλίωση ή την αποακετυλίωση των ιστονών και στην τοπική μετατροπή της χρωματίνης σε ετεροχρωματίνη και κατά συνέπεια την μεταγραφική αποσιώπηση των γονιδίων της περιοχής. (Lentini A. et al., 2022) Στη συνέχεια πραγματοποιείται η μεθυλίωση των CpG αλληλουχιών η οποία ακολουθείται από τη μεθυλίωση μιας συγκεκριμένης περιοχής της ιστόνης H3. Σε αυτές τις διαδικασίες προστίθενται συγκεκριμένες αλληλουχίες επαναλαμβανόμενου DNA οι οποίες είναι κάποιοι επιπλέον παράγοντες αποσιώπησης. Οι αλληλουχίες αυτές εντοπίζονται κυρίως στο κεντρομερίδιο και στα τελομερή των χρωμοσωμάτων. Αυτές έχουν την ικανότητα να μετατρέπονται σε ετεροχρωματίνη με αποτέλεσμα την αποσιώπηση των γονιδίων που βρίσκονται σε αυτήν την περιοχή. (Sawada I. et al., 1986)

Τέτοιες αλληλουχίες οι οποίες επαναλαμβάνονται δεν άργησαν να συνδεθούν με ορισμένες παθολογικές καταστάσεις. Ο αριθμός των επαναλήψεων σε αυτές τις αλληλουχίες ορίζει ένα κατώφλι, πάνω από το οποίο οι επαναλήψεις αυτές αποδιοργανώνουν το επιγενετικό ρολόι του οργανισμού και έχουν σημαντικές επιπτώσεις στον ανθρώπινο οργανισμό. Από τις πρώτες ασθένειες οι οποίες συνδέθηκαν με τις ανώμαλες επαναλήψεις τρινουκλεοτιδίων ως αιτιολογικός παράγοντας είναι η μυοτονική δυστροφία, η νόσος Huntington, και το σύνδρομο ευθραύστου X. (Assis R. et al., 2022)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο: ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ & ΑΝΘΡΩΠΙΝΑ ΣΥΝΔΡΟΜΑ

Στο παρόν κεφάλαιο θα ασχοληθούμε με τις κατηγορίες ασθενειών που προκύπτουν από την απορρύθμιση του επιγενετικού ρολογιού του ανθρώπου. Τέσσερις είναι οι βασικές αυτές κατηγορίες νοσημάτων:

- ✓ Οι διαταραχές αποτύπωσης – Imprinting disorders
- ✓ Τα ανθρώπινα σύνδρομα που οφείλονται σε τροποποίηση ιστονών
- ✓ Τα σύνδρομα τα οποία εξαρτώνται από την αστάθεια των επαναλήψεων
- ✓ Τα σύνδρομα που οφείλονται σε δυσλειτουργία του μηχανισμού μεθυλίωσης

5.1 ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΑΠΟΤΥΠΩΣΗΣ

Στον άνθρωπο είναι αρκετές οι παθολογικές καταστάσεις οι οποίες προκαλούνται από μεταβολή στο γονιδιακό εντύπωμα. Οι περισσότερες ασθένειες εμφανίζουν κυρίως νοητικά προβλήματα στους ασθενείς. Αιτία των διαταραχών αυτών είναι οι θραύσεις, οι μετατοπίσεις, ή οποιαδήποτε άλλη χρωμοσωμική ανωμαλία η οποία συμβαίνει στις εντυπωμένες γενετικές περιοχές. Είναι σημαντικό να ξεκαθαριστεί πως αυτές οι αλλαγές δεν είναι μεταλλάξεις. Δεν είναι δηλαδή αλλαγές στην αλληλουχία του γενετικού μας υλικού αλλά είναι αλλαγές στο επιγενετικό επίπεδο.

Οι ασθένειες που προκύπτουν από τις διαταραχές αποτύπωσης οφείλονται σε απορρύθμιση του επιγενετικού ρολογιού όπως για παράδειγμα είναι η εγκατάσταση ενός διαφοροποιημένου προτύπου μεθυλίωσης του DNA. Η γονεϊκή αποτύπωση μπορεί να οδηγήσει σε γενετικές παθήσεις είτε μέσω πλήρους απώλειας της αποτύπωσης, είτε μέσω μονογονεϊκής δισωμίας ή ακόμα και από κάποιο έλλειμμα χρωμοσωμικής περιοχής. Τα πιο κοινά σύνδρομα τα οποία οφείλονται σε διαταραχή της γονιδιακής αποτύπωσης είναι το Prader – Willi, το Beckwith – Wiedemann και το Angelman.

5.1.1 Σύνδρομο Prader- Willi

Το Prader – Willi (εν συντομία PWS) είναι ένα γενετικό σύνδρομο με συχνότητα εμφάνισης 1 στις 20.000 γεννήσεις. (Classidy S. et al., 2011) Χαρακτηρίζεται από εμμονή με το φαγητό λόγω έλλειψης της αίσθησης κορεσμού, μαθησιακές δυσκολίες, διαταραχές ύπνου, συναισθηματικές εξάρσεις και χαμηλό μυϊκό τόνο. Σύμφωνα με τα καταγεγραμμένα περιστατικά το 74% των περιπτώσεων

φέρουν ένα έλλειμμα πατρικής προέλευσης στο χρωμόσωμα 15 ενώ ένα 25% των περιστατικών φέρουν δύο αλληλόμορφα μητρικής προέλευσης. (Butler M. et al., 2019)

5.1.2 Σύνδρομο Beckwith – Wiedemann

Το σύνδρομο Beckwith – Wiedemann - ή όπως έχει χαρακτηριστεί το σύνδρομο υπερανάπτυξης – είναι μια ασθένεια η οποία οφείλεται σε επιγενετικές αλλαγές σε μια συγκεκριμένη γενετική περιοχή του μικρού βραχίονα του χρωμοσώματος 11 οι οποίες οδηγούν τελικά στην υπερλειτουργία του γονιδίου IGF-2. Ο επιπολασμός της ασθένειας αυτής υπολογίζεται σε 1 στις 14.000 γεννήσεις ανά τον κόσμο με ίση πιθανότητα εμφάνισης ανάμεσα σε γυναίκες και άνδρες. (Engström W. et al., 1988)

Κατά τη βρεφική ηλικία τα μωρά παρουσιάζουν μακροσωμία, οργανομεγαλία ανωμαλίες στην ανατομία των αυτιών υπογλυκαιμία και μέχρι τα πρώτα στάδια της παιδικής ηλικίας εμφανίζουν δυσλειτουργία στα νεφρά. Επιπλέον παρατηρείται μια αυξημένη προδιάθεση εμβρυϊκών κακοηθειών στα 8 πρώτα έτη της ζωής των ασθενών. Σε ασθενείς οι οποίοι επιβιώνουν την παιδική ηλικία η πρόγνωση είναι γενικά καλή με το προσδόκιμο ζωής αυτών των ανθρώπων να αγγίζει το φυσιολογικό. (Mishra D & Chakole V., 2023) Ορισμένα κλινικά χαρακτηριστικά αποτελούν η παραμόρφωση των οστών και ο γενικευμένος πόνος αλλά σε γενικές γραμμές η ποιότητα ζωής είναι καλή αν ρυθμιστούν προβλήματα όπως η υπογλυκαιμία. (Weksberg R. et al., 2010)

5.1.3 Σύνδρομο Angelman

Το σύνδρομο Angelman είναι μια νευρογενετική διαταραχή η οποία χαρακτηρίζεται από σοβαρή νοητική καθυστέρηση και ορισμένα διακριτά χαρακτηριστικά προσώπου. Το σύνδρομο αυτό έχει επιπολασμό 1 στις 20.000 περίπου γεννήσεις σε όλον τον κόσμο ενώ τα μωρά που γεννιούνται έχουν φυσιολογικό φαινότυπο κατά τον τοκετό. (Margolis S. et al., 2015)

Τα πρώτα συμπτώματα εμφανίζονται στους 6 περίπου μήνες όταν και προκύπτουν δυσκολίες στη σίτιση και υποτονία. Μέχρι το χρονικό διάστημα των 2 ετών έχει αρχίσει η καθυστέρηση στην ανάπτυξη και πρωτοεμφανίζονται κάποια από τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά του συνδρόμου. Τέτοια συμπτώματα είναι οι διαταραχές στο λόγο, το τρέμουλο των άκρων, η μικροκεφαλία, το έντονο και διαρκές χαμόγελο και η υπερκινητικότητα. Σε ορισμένα περιστατικά έχουν αναφερθεί επιληπτικές

κρίσεις οι οποίες είχαν όλες σχεδόν ίδιο εγκεφαλογράφημα κατά τη διάρκεια των επεισοδίων. (Maranga C. et al., 2020)

5.2 ΑΣΘΕΝΕΙΕΣ ΛΟΓΩ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΗΣ ΙΣΤΟΝΩΝ

Οι ιστόνες του ανθρώπου είναι πολύτιμες για την οργάνωση του γενετικού υλικού και κατ' επέκταση τη σωστή λειτουργία του οργανισμού. Οποιαδήποτε αλλαγή συμβεί εκτός από τις φυσιολογικές τροποποιήσεις έχει σημαντικές συνέπειες. Η τροποποίηση των ιστονών είτε πρόκειται για ακετυλίωση είτε για φωσφορυλίωση οδηγούν το επιγενετικό ρολόι σε απορρύθμιση και κατ' επέκταση σε παθολογικές καταστάσεις με τον οργανισμό να νοσεί.

5.2.1 Σύνδρομο Coffin – Lowry

Το σύνδρομο αυτό είναι ένα σπάνιο γενετικής φύσης σύνδρομο το οποίο χαρακτηρίζεται κυρίως από νοητική υστέρηση και ανωμαλίες στη μορφολογία της κεφαλής. Ο επιπολασμός τους ποικίλει ανάλογα με τη φυλή και κυμαίνεται από 1 στις 40.000 γεννήσεις έως 1 στις 50.000 γεννήσεις. (Ahuja S. et al., 2003) Προκαλείται από μετάλλαξη στο γονίδιο RSK2 το οποίο είναι υπεύθυνο για τη σωστή φωσφορυλίωση των ιστονών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του επιγενετικού προφίλ με αντίκτυπο στο φαινότυπο. Κληρονομείται με X-linked επικρατή τρόπο ενώ το 70% των περιστατικών εμφανίζονται de novo χωρίς κάποιο προηγούμενο οικογενειακό ιστορικό. (Young I., 1988)

Πρόκειται για ένα βαρύ γενετικό νόσημα με μεγάλο εύρος συμπτωμάτων τα οποία όμως συσσωρεύονται σε κάθε περιστατικό. Τα πιο σοβαρά συμπτώματα αφορούν τις νοητικές δυσλειτουργίες όπως είναι η πνευματική καθυστέρηση, η καθυστέρηση ομιλίας, η αργοπορημένη ή και καθόλου ανάπτυξη από ενός σημείου και έπειτα καθώς και οι επιληπτικές κρίσεις. Τα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά έχουν και αυτά μεγάλες διαφοροποιήσεις από ασθενή σε ασθενή και μπορεί να είναι από μεγαλοκεφαλία, μεγάλα αυτιά και φαρδύ στόμα μέχρι κοντό ανάστημα, μεγάλα και μαλακά χέρια. (Pereira P. et al., 2010)

5.2.2 Σύνδρομο Rubinstein – Taybi

Πρόκειται για ένα σύνδρομο με επιγενετική αιτιοπαθογένεια το οποίο χαρακτηρίζεται ως αρκετά σπάνιο καθώς εμφανίζεται 1 στις 125.000 γεννήσεις. (Hennekam R., 2006) Χαρακτηρίζεται από κοντό ανάστημα, δυσμορφίες στο πρόσωπο

και από ήπια ή σοβαρότερη νοητική υστέρηση. Η μετάλλαξη του γονιδίου CREB – binding protein η οποία ρυθμίζει την ακετυλίωση των ιστονών στο επιγενετικό προφίλ είναι υπεύθυνη για το νόσημα αυτό. Κατά το στάδιο της εγκυμοσύνης είναι πολύ δύσκολο να εντοπιστεί το σύνδρομο αυτό εκτός από κάποιες σπάνιες περιπτώσεις που χρησιμοποιείται τρισδιάστατος υπέρηχος για να εντοπιστούν ορισμένες λεπτομέρειες που προδίδουν την δυσμορφική ανάπτυξη του προσώπου των νεογνών. (Van Gils J. et al., 2021)

5.2.3 Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα

Οι τροποποιήσεις των ιστονών φαίνεται πως εμπλέκονται με πολλούς τρόπους με την απορρύθμιση του επιγενετικού ρολογιού και με την καρκινογένεση. Σε μια παθολογική κατάσταση όπως είναι ο καρκίνος έμμεσα πολλά είναι τα γονίδια εκείνα τα οποία επηρεάζουν τη μεταγραφική έκφραση προσελκύοντας ένζυμα τα οποία τροποποιούν τις ιστόνες. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η χιμαιρική πρωτεΐνη PML-RAR α στην οξεία προμυελοκυτταρική λευχαιμία η οποία προσελκύει και χρησιμοποιεί τις αποακετυάσεις των ιστονών για να αποσιωπήσει την έκφραση γονιδίων, πράγμα το οποίο μας οδηγεί στην σε νεοπλασματικό φαινότυπο. (Lehrmann H. et al., 2002)

5.3 ΣΥΝΔΡΟΜΑ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΣΤΑΘΕΙΑ ΕΠΑΝΑΛΗΨΕΩΝ

Στον ανθρώπινο οργανισμό υπάρχει μια ομάδα ασθενειών που προκαλούνται από λανθασμένα αντίγραφα μιας πολυμορφικής τρινουκλεοτιδικής αλληλουχίας σε συνδυασμό με την υπερμεθυλίωση του γενετικού μας υλικού. Το πλήθος των αλληλουχιών αυτών – δηλαδή ο αριθμός των επαναλήψεων – καθορίζει το φυσιολογικό και διαβαθμίζει το παθολογικό. Εφόσον ξεπεραστεί το πλήθος επαναλήψεων το οποίο μας δίνει φυσιολογικό φαινότυπο, η κλινική εικόνα τους ασθενούς βαραίνει όσο περισσότερες επαναλήψεις υπάρχουν στο γονιδίωμά του.

5.3.1 Σύνδρομο ευθραύστου X

Χαρακτηριστικό σύνδρομο αυτής της κατηγορίας αποτελεί το Σύνδρομο του Ευθραύστου X. Πρόκειται για ένα γενετικό κληρονομικό νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από μέτρια έως μεγάλη νοητική υστέρηση, προβλήματα συμπεριφοράς καθώς και υπερκινητικότητα. Η αιτία του είναι η επέκταση της πολυμορφικής τρινουκλεοτιδικής αλληλουχίας CGG σε συνδυασμό με την υπερμεθυλίωση CpG νησίδας στον υποκινητή του γονιδίου FMR-1. Η εκδήλωση της νόσου είναι ανάλογη

με τον αριθμό επαναλήψεων που θα συναντήσουμε την τριπλέτα CGG. (Hirst M. et al., 1993)

Ενδεικτικά να αναφέρουμε ότι:

- ❖ Από 6 έως 44 επαναλήψεις το δείγμα μας είναι φυσιολογικό. Συχνότερα απαντώνται 30 επαναλήψεις στο γονιδίωμα υγιούς ενήλικα.
- ❖ Από 45 έως 54 επαναλήψεις το δείγμα φέρει ενδιάμεση μετάλλαξη
- ❖ Από 55 έως 200 επαναλήψεις το δείγμα φέρει προμετάλλαξη. Συναντάται κυρίως στους φορείς του συνδρόμου οι οποίοι αν το μεταβιβάσουν στους απογόνους θα εξελιχθεί σε πλήρη μετάλλαξη και εκδήλωση του νοσήματος.
- ❖ Άνω των 200 επαναλήψεων το δείγμα έχει την πλήρη μετάλλαξη. Τέτοιοι αριθμοί αντιγράφων εντοπίζονται σε δείγματα ασθενών στους οποίους προκαλείται υπερμεθυλίωση και μεταφραστική απενεργοποίηση του γονιδίου FMR-1 η οποία τελικά οδηγεί στη διακοπή της παραγωγής της πρωτεΐνης FMRP. (Snow K. et al., 1994)

Ο επιπολασμός της νόσου υπολογίζεται διεθνώς περίπου 1 στις 3.600 γεννήσεις σε αγόρια και 1 στις 6.000 γεννήσεις σε κορίτσια. Κληρονομείται με φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τρόπο. Τα αρσενικά τα οποία προσβάλλονται από το σύνδρομο χαρακτηρίζονται από μέτρια προς υψηλή νοητική υστέρηση ενώ τα θηλυκά άτομα που θα εκδηλώσουν τη νόσο εμφανίζουν ελαφρά νοητική υστέρηση. Υπάρχουν αρκετά φαινοτυπικά χαρακτηριστικά τα οποία ομοιάζουν με αυτά του αυτισμού όπως είναι η συμπεριφορά ή η γλωσσική καθυστέρηση και η υπερκινητικότητα. Στατιστικά το Σύνδρομο Ευθραύστου X αναφέρεται ως η δεύτερη αιτία νοητικής καθυστέρησης σε αγόρια μετά το Σύνδρομο Down. (Wiebe A. & Wiebe E., 1994)

Ορισμένα από τα συμπτώματα του συνδρόμου περιλαμβάνουν ήπιο μυϊκό τόνο, στραβισμό, υψηλή αψίδα ουρανίσκου, μεγάλα αυτιά και μακρύ πρόσωπο. Κάποια από τα χαρακτηριστικά που εμφανίζονται στο Σύνδρομο Down και επικαλύπτονται με το Σύνδρομο Ευθραύστου X είναι το «φτερούγισμα» των χεριών, η κακή βλεμματική επαφή, το δάγκωμα των χεριών καθώς και οι περίεργες χειρονομίες. (Garber K. et al., 2008)

5.3.2 Σύνδρομο Huntington

Η νόσος του Huntington είναι μια νευροεκφυλιστική διαταραχή που επηρεάζει το συντονισμό των μυών. Στις περισσότερες περιπτώσεις η ασθένεια γίνεται αισθητή σε μέση ηλικία περίπου που ξεκινάει η γνωστική εξασθένηση και σε αρκετά περιστατικά η άνοια. Η νόσος οφείλεται σε αστάθεια επαναλήψεων μιας τρινουκλεοτιδικής αλληλουχίας η οποία προκαλείται από βλάβη σε επιγενετικούς μηχανισμούς.

Το υπεύθυνο γονίδιο ονομάζεται htt και εδράζεται στο βραχύ σκέλος του χρωμοσώματος 4 και συγκεκριμένα στη θέση 4p16.3. Το γονίδιο αυτό φέρει μια αλληλουχία τριών αζωτούχων βάσεων οι οποίες κατά σειρά είναι Κυτοσίνη – Αδενίνη – Γουανίνη (CAG) η οποία επαναλαμβάνεται πολλές φορές και δημιουργεί την τρινουκλεοτιδική επανάληψη. Η αντιστοιχία του κωδικονίου αυτού σύμφωνα με τον Γενετικό Κώδικα είναι το αμινοξύ *γλουταμίνη* κατά την πρωτεϊνσύνθεση. Φυσιολογικά στον άνθρωπο υπάρχουν λιγότερες από 36 επαναλαμβανόμενες γλουταμίνες στην περιοχή αυτή του γονιδίου και οδηγούμαστε στην παραγωγή της πρωτεΐνης Χάντινγκτον. Στην περίπτωση όμως που οι γλουταμίνες σε αυτήν την περιοχή ξεπεράσουν τις 36, παράγεται μια πρωτεΐνη η οποία έχει διαφορετικά χαρακτηριστικά και μάλιστα αυξάνει το ρυθμό φθοράς ορισμένων τύπων νευρικών κυττάρων. (Walker F., 2007)

Ο αριθμός των επαναλήψεων είναι υπεύθυνος για τη μεγάλη διακύμανση που εμφανίζει τόσο η ηλικία έναρξης όσο και η ίδια η νόσος. Εν παραδείγματι μεγάλος αριθμός επαναλήψεων του τρινουκλεοτιδίου CAG μας οδηγεί όχι μόνο στην εμφάνιση αλλά και σε πλήρη διεισδυτικότητα της νόσου, ενώ ακόμη είναι πιθανό η ηλικία έναρξης να είναι κάτω των 20 ετών. Τέτοιες περιπτώσεις αποτελούν την εξαίρεση και χαρακτηρίζονται ως νεανική Νόσος Χάντινγκτον με το ποσοστό να μην ξεπερνά το 7% των συνολικών περιπτώσεων με HD. (Stoker T. et al., 2021)

Αρχικά τα συμπτώματα εμφανίζονται ως μια γενικευμένη έλλειψη συντονισμού ενώ έπειτα ξεκινούν ορισμένες ασυντόνιστες και σπασμωδικές κινήσεις των άκρων. Σε επόμενο στάδιο της νόσου ο ασθενής εμφανίζει μια μείωση των νοητικών του ικανοτήτων και αλλαγή στη συμπεριφορά του. Έχουν καταγραφεί και επιπλοκές στη νόσο αυτήν όπως καρδιαγγειακά προβλήματα, πνευμονία και σοβαρούς τραυματισμούς από πτώσης λόγω κακού συντονισμού του σώματος οι οποίες μειώνουν

το προσδόκιμο ζωής των ασθενών καθώς προς το παρόν δεν υπάρχει κάποια θεραπεία για τη νόσο Huntington που να σταματά ή να αναστρέφει την πορεία της. Η υπάρχουσα θεραπεία περιορίζεται σε υποστηρικτική και αφορά τη μείωση ορισμένων συμπτωμάτων της ασθένειας όπως είναι η αποφυγή κατάθλιψης, η μερική βελτίωση κινητικότητας και ο περιορισμός στην αλλαγή της συμπεριφοράς. (Ghosh R. & Tabrizi S., 2018)

5.4 ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΥ ΜΕΘΥΛΙΩΣΗΣ

Η σωστή λειτουργία του ανθρώπινου οργανισμού είναι άρρηκτα συνδεδεμένη με την ορθή λειτουργία του επιγενετικού ρολογιού. Όλες οι διεργασίες οι οποίες γίνονται στο γενετικό μας υλικό από την απλή αντιγραφή του έως τη μετα-μεταφραστική τροποποίηση των πρωτεϊνών ελέγχονται πολύ αυστηρά και πραγματοποιούνται με εκπληκτική ακρίβεια στις περισσότερες περιπτώσεις. Στις περιπτώσεις που κάτι διαφεύγει από αυτόν τον έλεγχο έχουμε την εμφάνιση παθολογικών καταστάσεων για τον άνθρωπο. Η διαδικασία συγκεκριμένα της μεθυλίωσης του DNA είναι εξαιρετικά σημαντική για την ανάπτυξη και την ορθή λειτουργία του οργανισμού. Όταν αυτός ο μηχανισμός αποδιοργανώνεται οδηγούμαστε σε πλήθος ασθενειών και πολλές φορές στην καρκινογένεση. (Esteller M., 2007)

5.4.1 Μεθυλίωση του DNA & καρκίνος

Η επιστήμη της γενετικής τα τελευταία χρόνια έχει κάνει πολλά άλματα τόσο σε γνώσεις όσο και σε ανακαλύψεις. Αποτελεί δεδομένο πλέον για τη διεθνή επιστημονική κοινότητα το γεγονός ότι η καρκινογένεση σχετίζεται άμεσα με τη μεθυλίωση του γενετικού μας υλικού αφού η τελευταία αποτελεί το μέσο ρύθμισης για την έκφραση των γονιδίων στον άνθρωπο. Από τις αρχές τις δεκαετίας του '80 οι επιστήμονες Feinberg και Vogelstein διαπίστωσαν ότι το γονιδίωμα των φυσιολογικών κυττάρων που τείνουν να γίνουν καρκινικά είναι αρκετά πιο μεθυλιωμένα σε σχέση με τα τελείως φυσιολογικά ενώ τα κύτταρα που έχουν ήδη γίνει καρκινικά εμφανίζουν υπομεθυλίωση στο γονιδιώμα τους. (Feinberg A. & Vogelstein B., 1983)

Τα επίπεδα μεθυλίωσης του γονιδιώματος πλέον αποτελούν, σε συνδυασμό με τα σύγχρονα επιγενετικά ρολόγια, δείκτη κινδύνου εμφάνισης του καρκίνου. Επίσης η μεταβολή στα μοτίβα μεθυλίωσης έχει σε αρκετούς τύπους καρκίνου προγνωστική αξία. (Issa J., 2004) Κατά την καρκινογένεση η υπομεθυλίωση αποτελεί ένα πρώτο στάδιο το οποίο προκύπτει από τη μείωση της μεθυλίωσης σε περιοχές του DNA που

ονομάζονται παρασιτικές. Υπό κανονικές συνθήκες οι περιοχές αυτές είναι μεθυλιωμένες και κατ' επέκταση ανενεργές. Όταν το κύτταρο αρχίζει να εμφανίζει χαρακτηριστικά καρκινικού κυττάρου οι περιοχές αυτές απομεθυλώνονται λόγω της γενικευμένης αποδιοργάνωσης του κυττάρου. (Greco M. et al., 2010) Αυτές με τη σειρά τους ενεργοποιούν γονίδια τα οποία δε θα έπρεπε να εκφράζονται και έτσι φτάνουμε σε χρωμοσωμική αστάθεια καθώς το κύτταρο δε γνωρίζει ποιες περιοχές πρέπει να είναι ενεργές και ποιες όχι. Αυτό με τη σειρά του πυροδοτεί μια σειρά αντιδράσεων που έχουν ως τελικό στάδιο την ενεργοποίηση επιπλέον ογκογονιδίων πράγμα που σηματοδοτεί τη μεταστροφή του κυττάρου από φυσιολογικό σε καρκινικό. (Keshet I. et al., 2006)

Πέραν των συμπαγών όγκων, ενδιαφέρον παρουσιάζει και ο ρόλος της μεθυλίωσης του DNA σε Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. Δεν είναι λίγα τα γονίδια τα οποία έχουν βρεθεί απενεργοποιημένα λόγω της μεθυλίωσης των υποκινητών τους σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. (Aggerholm A. et al., 2006) Τα περισσότερα από αυτά τα γονίδια είναι ογκοκατασταλτικά τα οποία συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου όπως είναι το CDKN2B, στην κυτταρική προσκόλληση όπως το CDH1, στην απόπτωση όπως είναι το DAPK με αποτέλεσμα τη μη αποτελεσματική αιμοποίηση. (Boumber Y. et al., 2007) Φαίνεται ότι η μεθυλίωση του DNA σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση στα μυελοδυσπλαστικά νοσήματα όπως και στον καρκίνο του παχέος εντέρου και αυξημένο κίνδυνο μετάπτωσης σε οξεία λευχαιμία και διαφέρει ανάλογα με το στάδιο της νόσου. (Figuerola M. et al., 2009)

Η μελέτη των ανώμαλων προτύπων μεθυλίωσης στον καρκίνο συνεχίζει να έχει τεράστιο ενδιαφέρον. Αν και ακόμα δεν έχουμε κατανοήσει πλήρως το πως η γενικευμένη υπομεθυλίωση συνυπάρχει με την στοχευμένη σε συγκεκριμένες περιοχές υπερμεθυλίωση και αυτή η συνύπαρξη οδηγεί στην καρκινογένεση, το γεγονός ότι ο επιγενετικός κώδικας είναι δυνητικά αντιστρέψιμος μας δίνει αρκετές ελπίδες για το μέλλον. Οι ελπίδες αυτές δεν αφορούν μόνο την πλήρη κατανόηση του μηχανισμού δημιουργίας ώστε να μπορούμε να σχεδιάσουμε μια στρατηγική προφύλαξης, αλλά μας δίνει και τη δυνατότητα να αναζητήσουμε θεραπείες που θα βασίζονται σε αυτή τη αντιστροφή της μεθυλίωσης.

5.4.2 Μεθυλίωση του DNA & Νευροεκφυλιστικά νοσήματα

Μια από τις πιο σύνθετες κατηγορίες πολυπαραγοντικών νοσημάτων είναι και τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα. Με τις έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι και σήμερα δεν έχει βρεθεί μια ξεκάθαρη γενετική βάση για τις πιο κοινές ασθένειες αυτής της κατηγορίας όπως είναι το Alzheimer ή το Parkinson. Όλα δείχνουν πως τα νοσήματα αυτά οφείλονται σε μια μεγάλη ομάδα αιτιών που ανάμεσά τους βρίσκεται το περιβάλλον, η γενετική, ο τρόπος ζωής αλλά και οι επιγενετικές τροποποιήσεις που συμβαίνουν στο σώμα ενός ανθρώπου, ειδικά με το πέρασμα των ετών. Αν και πολύ σύνθετα νοσήματα, όλα φαίνεται να έχουν ένα κοινό γνώρισμα και αυτό δεν είναι άλλο από τη δυσλειτουργία των επιγενετικών μηχανισμών. (Mehler M., 2008)

Οι επιγενετικές διεργασίες που πραγματοποιούνται σε ομάδες κυττάρων ή ακόμα και σε επίπεδο ιστών, όπως είναι η μεθυλίωση του DNA ή η τροποποίηση των ιστονών, εμπλέκονται άμεσα στη γονιδιακή ρύθμιση αυτών των ιστών. Η γενωμική δομή και η σωστή λειτουργία των κυττάρων αυτών και κατ' επέκταση των ιστών κατά την ανάπτυξη του οργανισμού είναι πολύ σημαντική. Με το πέρασμα των ετών και την επίδραση του περιβάλλοντος σε αυτούς τους μηχανισμούς αλλά και στα γονίδια απευθείας παρατηρούμε μια συσσώρευση αλλοιώσεων στο επιγενετικό ρολόι του κάθε ιστού με τελικό αποτέλεσμα την εμφάνιση παθολογικών καταστάσεων. Στην περίπτωση που έχει απορρυθμιστεί ο επιγενετικός μηχανισμός των νευρικών κυττάρων, οδηγούμαστε σταδιακά στην παρακμή του ιστού ολόκληρου και εν τέλει στον εκφυλισμό του με εμφάνιση χρόνιων νοσημάτων όπως είναι το Alzheimer ή το Parkinson. (Liang W. et al., 2022)

5.4.3 Μεθυλίωση του DNA & Αυτοανοσία

Στον άνθρωπο υπάρχει ένα σύστημα το οποίο βοηθά στην καταπολέμηση των ξένων και βλαβερών για την υγεία μας ιών και βακτηρίων. Πρόκειται ουσιαστικά για την άμυνα του οργανισμού μας σε ασθένειες που οφείλονται σε εξωτερικό παράγοντα. Το σύστημα αυτό ονομάζεται ανοσολογικό και είναι υπεύθυνο για την ανοσιακή απάντηση σε περίπτωση προσβολής του οργανισμού από κάτι ξένο. Η πιο συχνή και γενική άμυνα του συστήματος αυτού είναι ο πυρετός που «ανεβάζουμε» όταν έχουμε προσβληθεί από κάποιο ιό ή βακτήριο ή έχουμε κρυολογήσει.

Ένα μέρος αυτού του συστήματος αποτελεί και ο μηχανισμός ανοσολογικής ανοχής. Πρόκειται για ένα σύστημα το οποίο προλαμβάνει την καταστροφική δράση

των αντισωμάτων εναντίων των κυττάρων και των ιστών του ίδιου του οργανισμού. Τι γίνεται όμως όταν διαταράσσεται το σύστημα μέσω της λανθασμένης μεθυσίωσης της περιοχής και αυτό δεν είναι σε θέση να ξεχωρίσει το «εαυτό» από το «ξένο» ; Τότε λέμε ότι έχουμε διαταραχή της ανοσολογικής ανοχής με δημιουργία αυτοαντισωμάτων και αυτοαντιδραστικών T-λεμφοκυττάρων και οδηγούμαστε στην εμφάνιση μια κατάστασης γνωστής και ως *αυτοανοσία*. Τα μέχρι τώρα δεδομένα έχουν δείξει ότι πάνω από 40 νοσήματα έχουν αυτοάνοση αιτιολογία, αφορούν περίπου το 6% των ενηλίκων και εμφανίζονται με συχνότητα 2/3 σε γυναίκες. (Wang L. et al., 2015)

Από τα πιο κοινά αυτοάνοσα νοσήματα είναι η Ρευματοειδής Αρθρίτιδα (ΡΑ) με επιπολασμό περίπου στο 1% και συχνότερη εμφάνιση στις γυναίκες με αναλογία 3/1. Πρόκειται για ένα συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα το οποίο χαρακτηρίζεται από την παρουσία αυτοαντισωμάτων και αυτοδραστικών T-λεμφοκυττάρων στο περιφερικό αίμα και στο αρθρικό υγρό με ηλικία έναρξης τα 30 έτη. Αυτοαντισώματα είναι πιθανό να υπάρχουν στο αίμα του ασθενούς για πολλά έτη πριν την κλινική εκδήλωση της νόσου. (Kolarz k. et al., 1980)

Σε αυτήν την κατηγορία ανήκει και ο ρευματοειδής παράγοντας RF ο οποίος είναι αυτοαντίσωμα έναντι του τμήματος Fc της ανοσοσφαιρίνης IgG. Εμφανίζεται στο 80% των περιπτώσεων Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας. Υψηλός τίτλος IgG-RF έχει μεγάλη προγνωστική και διαγνωστική αξία καθώς συσχετίζεται με βαρύτερη εκδήλωση της νόσου όπως είναι οι διαβρώσεις και οι εξωαρθρικές εκδηλώσεις. (Díaz F. & Hernández M., 2023)

5.5 ΒΕΛΤΙΩΣΗ ΤΟΥ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΡΟΛΟΓΙΟΥ

Η κάθε ασθένεια ή παθολογική κατάσταση στον άνθρωπο είναι μια διαδικασία η οποία τον αποσυντονίζει και τον καταβάλλει τόσο σωματικά όσο και ψυχικά. Όσο περνάνε τα έτη ο άνθρωπος γίνεται και πιο επιρρεπής στις ασθένειες ή εμφανίζονται νοσήματα τα οποία είναι εξ' ορισμού αποτέλεσμα της γήρανσης του οργανισμού. Με την πρόοδο που έχει γίνει τα τελευταία χρόνια στο χώρο της γενετικής δύο παραδοχές είναι εύκολο να πραγματοποιηθούν. Η μία είναι πως η χρονολογική ηλικία δεν είναι αναστρέψιμη, δηλαδή η γήρανση είναι μια διαδικασία η οποία είναι αναπόφευκτη με την μέχρι τώρα γνώση της επιστήμης και τεχνολογία. Η δεύτερη παραδοχή είναι ότι το επιγενετικό ρολόι και οι επιγενετικές τροποποιήσεις που έχουν γίνει στο γονιδίωμα του κάθε οργανισμού είναι αναστρέψιμες. Αυτό ενθαρρύνει τις μελέτες τόσο για την

αντιμετώπιση αυτών των ασθενειών όσο και για τα μέτρα τα οποία μπορούμε να λάβουμε με αποτέλεσμα την πρόληψη μελλοντικών άλλων τέτοιων ασθενειών. (Maeda Y. et al., 2023)

Δεν είναι λίγες οι ασθένειες οι οποίες σχετίζονται με το επιγενετικό μας ρολόι και τις μετατροπές που υφίσταται από την καθημερινότητά μας και τον τρόπο ζωής. Τέτοιες ασθένειες είναι τα καρδιαγγειακά προβλήματα, τα εγκεφαλικά επεισόδια, τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα όπως η άνοια και ο καρκίνος. Μόλις το 2022 ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας δημιούργησε μια νέα κατηγορία νοσημάτων η οποία φέρει τον κωδικό «*σχετιζόμενη με τη γήρανση ασθένεια*». Έκτοτε πολλές μελέτες έχουν ξεκινήσει και εστιάζουν στη μεταστροφή του επιγενετικού ρολογιού και τη μείωση της βιολογικής ηλικίας. (World Health Organization, 2024)

Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα μιας τέτοιας μελέτης η οποία χρησιμοποίησε πίτουρο ρυζιού και κεφίρ, συστατικά τα οποία δεν επιλέχθηκαν τυχαία. Είναι γνωστό ότι το κεφίρ βελτιώνει την χλωρίδα του εντέρου μας και φαίνεται να έχει και αντιγηραντική δράση, ενώ το πίτουρο από ρύζι έχει μεγάλη αντιοξειδωτική δράση καθώς επίσης βελτιώνει και τη λειτουργία του ήπατος. Στη μελέτη αυτή έγινε χρήση του επιγενετικού ρολογιού του Horvath ως ποσοτικό μέτρο γήρανσης το οποίο μας προσδιορίζει τον κίνδυνο εμφάνισης ασθενειών. Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ασυμφωνία μεταξύ χρονολογικής και βιολογικής ηλικίας με τη δεύτερη να εμφανίζεται μειωμένη – βελτιωμένη. Αυτό και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι σύμφωνα με τη Διεθνή Ταξινόμηση Νοσημάτων στην 11^η έκδοση (ICD-11), η γήρανση ξεκίνησε να αντιμετωπίζεται ως ασθένεια τα αποτελέσματα θεωρούνται χρήσιμα για τη χάραξη νέων στρατηγικών θεραπείας και κυρίως πρόληψης της γήρανσης με χρήση αυτών των ουσιών. (Kawakami S. et al., 2024)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6^ο: ΘΕΡΑΠΕΙΕΣ & ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟ ΡΟΛΟΪ

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ο επιγενετικός κώδικας και όλες του οι διεργασίες στον ανθρώπινο οργανισμό είναι δυνητικά αναστρέψιμος. Αυτό μας δίνει τη δυνατότητα, εφόσον έχουμε βρει την παθολογία του μηχανισμού αυτού να μπορέσουμε να επαναπρογραμματίσουμε τα κύτταρα τα οποία έχουν τη βλάβη αλλάζοντας τους το επιγένομα με σκοπό να γίνουν και πάλι φυσιολογικά και η παθολογική κατάσταση να εξαφανιστεί. Ανοίγεται έτσι ένα τεράστιο παράθυρο στον τομέα των θεραπειών για πολλές ασθένειες που προκαλούνται από κάποιο σφάλμα επιγενετικού μηχανισμού και ακόμα και για τον καρκίνο. (Kane A. & Sinclair D., 2019)

Με την άνθιση που παρατηρείται στην επιστήμη της γενετικής την τελευταία δεκαετία έχουν εμπλουτιστεί σε μεγάλο βαθμό οι γνώσεις που έχουμε για τον ανθρώπινο οργανισμό. Αν και το βάρος έχει πέσει στην ανάλυση γονιδίων και το πως οι ασθένειες δημιουργούνται, τα τελευταία χρόνια η έρευνα έχει και ένα ξεχωριστό μονοπάτι. Η επιστήμη της επιγενετικής είναι αυτή η οποία απασχολεί αρκετούς ερευνητές ώστε να μπορέσουν να βρουν μια λύση αναστροφής ως θεραπεία για πολλές ασθένειες. Ήδη από το 2006 έχει εγκριθεί από τον αμερικάνικο οργανισμό φαρμάκων FDA (= Food & Drug Administration) ένα σκεύασμα το οποίο χρησιμοποιείται ως φάρμακο για το T – λέμφωμα του δέρματος και θεραπεύει μέσω της αύξησης της ακετυλίωσης των κυττάρων που σχετίζονται. (Grant S.et al., 2007)

Χαρακτηριστικά είναι τα λόγια του Dr. Timothy Crook κορυφαίου Άγγλου ογκολόγου με εξειδίκευση στον καρκίνο του μαστού : *«Η επιγενετική μας δίνει ολοκληρωμένα έναν νέο τρόπο να μελετήσουμε τη διάγνωση, τη θεραπεία και την αξιολόγηση των στερεών όγκων!»* . Φαίνεται λοιπόν πως η επιστημονική κοινότητα είναι έτοιμη να εξερευνήσει τις δυνατότητες που προσφέρονται μέσα από την ανάπτυξη της επιγενετικής επιστήμης και να χρησιμοποιήσει τις γνώσεις αυτές προς όφελος των ασθενών.

6.1 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΟΥ ΓΛΑΥΚΩΜΑΤΟΣ

Το γλαύκωμα περιλαμβάνει μια ομάδα οφθαλμικών παθήσεων οι οποίες προκαλούν εκφυλισμό και εν τέλει βλάβη στο οπτικό νεύρο το οποίο μεταφέρει την εικόνα που βλέπει ο οφθαλμός στον εγκέφαλο ώστε να μπορούμε να αντιληφθούμε το τί βλέπουμε. Στις περισσότερες περιπτώσεις η πάθηση εμφανίζεται και στα δύο μάτια ταυτόχρονα αλλά δεν είναι απίθανο να εμφανιστεί με χρονική διαφορά. Αποτελεί τη

δεύτερη αιτία τύφλωσης παγκοσμίως μετά τον καταρράκτη. Στην Ελλάδα η επίπτωση του φτάνει το 2% του γενικού πληθυσμού.

Αιτία του γλαυκώματος είναι η διαταραχή της ισορροπίας ανάμεσα στην παραγωγή και στην αποβολή του υγρού το οποίο κυκλοφορεί μέσα στο μάτι με αποτέλεσμα την αύξηση της ενδοφθάλμιας πίεσης. Η πίεση αυτή διογκώνει τα αγγεία τα οποία με τη σειρά τους εφαρμόζουν μηχανική πίεση στο οπτικό νεύρο. Σε περίπτωση που αυτή η κατάσταση συνεχιστεί για μεγάλο χρονικό διάστημα καταστρέφονται τα νευρικά κύτταρα και ξεκινά να περιορίζεται το οπτικό πεδίο που βλέπει ο ασθενής με τελική κατάληξη αν δε λάβει την κατάλληλη θεραπεία ακόμα και την τύφλωση. (Weinber R. et al., 2014)

Το Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ) με την πάροδο των ετών δεν έχει τη δυνατότητα αναγέννησης των κυττάρων του και έτσι χάνει σταδιακά ορισμένες από τις λειτουργίες του. Η κατάσταση αυτή η οποία επέρχεται και φυσιολογικά μέσω της γήρανσης, όταν συνδυάζεται με παθολογικές καταστάσεις όπως αυξημένη πίεση οφθαλμών η οποία οδηγεί στο γλαύκωμα έχει ως αποτέλεσμα την περεταίρω καταστροφή του ΚΝΣ. Μια λύση η οποία έχει τρομερά αποτελέσματα σε προκλινικό επίπεδο για τη θεραπεία του γλαυκώματος και την αποκατάσταση εν μέρει της φθοράς του ΚΝΣ είναι η έκτοπη παραγωγή των γονιδίων Oct 4, Sox2, Klf4 (Flores – Sánchez B. & Tatham A., 2019) γαγγλιακά κύτταρα του αμφιβληστροειδούς. Η έκφραση αυτής της ομάδας γονιδίων αποκαθιστά τα πρότυπα μεθυλίωσης του DNA και τα μεταγραφώματα και επίσης προάγει την αναγέννηση του οπτικού νεύρου. Με τον τρόπο αυτό αναστρέφεται η απώλεια όρασης σε μοντέλο ποντικών με προχωρημένη ηλικία και ποντικούς με γλαύκωμα. (Lu Y et al., 2020)

Εμφανίζονται έτσι πολύ θετικά σημάδια στο μέλλον της θεραπείας του γλαυκώματος. Μένει να συνεχιστούν οι προκλινικές δοκιμές και μόλις η θεραπεία λάβει έγκριση να περάσουν σε πειραματικές κλινικές φάσεις με απώτερο σκοπό την τελική καθιέρωση αυτής της θεραπείας έναντι της κλασσικής αντιμετώπισης με σταγόνες και χειρουργική επέμβαση ως έσχατη λύση καθώς γίνεται πιο εύκολη, ανώδυνη και οικονομική τόσο για τον ασθενή όσο και για το σύστημα υγείας.

6.2 ΧΡΗΣΗ HDACi ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Προς το παρόν – τη στιγμή που συντάσσεται η παρούσα εργασία- έχουν λάβει έγκριση για κλινικές δοκιμές φάρμακα τα οποία είναι παράγοντες που μεταβάλλουν τη

δομή της χρωματίνης κι έτσι μια περιοχή η οποία είναι υπερμεθυλιωμένη και συνεπώς ανενεργή δηλαδή σε μορφή ετεροχρωματίνης είναι πιθανό να μπορεί να αναστραφεί η μεθυλίωση και να έχουμε και πάλι μια λειτουργική περιοχή. (Dawson M. & Kouzarides T., 2022)

Οι ουσίες αυτές ανήκουν σε μια ευρύτερη οικογένεια φαρμάκων που είναι γνωστή με την ονομασία επιγενετικοί αναστολείς. Τέτοιοι αναστολείς είναι για παράδειγμα οι αναστολείς αποακετυλασών των ιστονών. Οι αποακετυλιωμένες ιστόνες διατηρούν τη χρωματίνη που βρίσκεται γύρω τους συσπειρωμένη με αποτέλεσμα τη μετατροπή εκείνης της περιοχής σε ετεροχρωματίνη και ως επακόλουθο οι μεταγραφικοί παράγοντες δεν είναι σε θέση να μεταφράσουν τα γονίδια που βρίσκονται σε εκείνη την περιοχή και να δημιουργήσουν το τελικό προϊόν. Η ομάδα φαρμάκων η οποία έχει αρχίσει και μελετάται είναι οι αναστολείς αυτών των αποακετυλασών εν συντομία HDACi (=Histone de – acetylase inhibitor). (Li G. et al., 2020)

Πίνακας 1 : Οι κατηγορίες των αποακετυλασών των ιστονών και η δράση τους στα κύτταρα (Parveen R. et al., 2023)

Classes of HDAC	Role in cellular functions
HDAC1, HDAC2, HDAC6, HDAC8, SIRT2	Differentiation
HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9, SIRT1, SIRT7	Proliferation
HDAC1, HDAC2, HDAC3, class IIB HDACs, SIRT1, SIRT6, SIRT7	Metastasis
HDAC2, HDAC3, class II HDACs, SIRT1, SIRT3, SIRT6, SIRT7	Angiogenesis
Class I HDACs, HDAC5, HDAC6, HDAC9, SIRT1, SIRT6	Apoptosis
Class I HDACs, HDAC5, class IIB HDACs, SIRT1, SIRT2	Cell cycle
HDAC3, HDAC6, SIRT1, SIRT6	Inflammation

Οι αποακετυλάσες ανάλογα με το ρόλο που έχουν στο κύτταρο χωρίζονται και στις αντίστοιχες κατηγορίες. Έτσι ο τρόπος δράσης τους, καθιστά τους αντίστοιχους αναστολείς εξειδικευμένους ως φάρμακα καθώς θα επιτεθεί μόνο εκεί που υπάρχει πρόβλημα και οδηγούμαστε στην καρκινογένεση. (Hu Z. et al., 2023)

Πίνακας 2 : Τα φάρμακα – αναστολείς (HDACi) με βάση το μηχανισμό δράση τους ανάλογα σε ποια κατηγορία HDAC ανήκουν και σε ποιους τύπους καρκίνου χρησιμοποιούνται ή αναμένουν έγκριση για να χρησιμοποιηθούν. (Parveen R. et al., 2023)

Drug name	Classification criteria		FDA Approved	Patents	Cancer type(s)
	HDAC class	Mechanism of action			
Vorinostat	I, II, IV	Binds to active sites	Yes	CN109758443A	Cervical cancer
Romidepsin	I, II	Interactions near active site	Yes	CN111187337A	Lymphoma, breast cancer
Panobinostat	I, II, IV	Disrupts the cell cycle	Yes	WO2021154976A1	Brain cancer
				JP2018521058A5	Solid tumors
Tucidinostat	I, II, III, X	Increases acetylation	No	CN109106720A	Breast cancer
				EP4023212A1	Cancer: PTCL
Belinostat	I, II, IV	Prevents removal of acetyl group	Yes	CN109336788A	PTCL, liver, colorectal
				EP3490973A1	PTCL/thymoma

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7ο: ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με το πέρασμα των ετών γίνεται όλο και πιο συχνό φαινόμενο μια ασθένεια να αποδίδεται στο επιγενετικό ρολόι και στην απορρύθμιση αυτού. Η επιγενετική αν και νέος κλάδος στην επιστήμη της Ιατρικής, ήρθε για να εδραιωθεί με τις νέες τεχνολογίες και γνώσεις να την καθιστούν εργαλείο της καθημερινής πρακτικής. Υπό το πρίσμα της επιγενετικής έχουμε διαπιστώσει μέσω μελετών το πόσο σημαντικό ρόλο παίζει η καθημερινότητα του σύγχρονου ανθρώπου στην εμφάνιση πολλών ασθενειών των οποίων η αιτία ήταν δυσνόητη.

Ορίζοντας το επιγενετικό ρολόι, γίνεται αναφορά σε όλες τις διαδικασίες στις οποίες συμμετέχει η επιγενετική ρύθμιση για τη διατήρηση της ισορροπίας του οργανισμού. Με το επιγένομα ρυθμίζεται η τροποποίηση των ιστονών για τη σωστή περιέλιξη του γενετικού υλικού κατά το πακετάρισμα για την αντιγραφή, η παραγωγή των μη κωδικών RNAs και η μεθυλίωση τμημάτων γονιδίων ή ακόμα και ολόκληρων γονιδίων σε χρονικές περιόδους που τα γονίδια αυτά δεν είναι αναγκαίο να εκφράζονται. (Wu & Morris, 2001)

Συνδυάζοντας τη διεθνή βιβλιογραφία για τη συγγραφή της παρούσας εργασίας διαπίστωσα το πόσο σημαντικό ρόλο παίζει το επιγενετικό ρολόι του ανθρώπου στην ορθή λειτουργία του οργανισμού. Βλάβες σε αυτό μας οδηγούν σε πλήθος παθολογικών καταστάσεων. Τέτοιες μπορεί να είναι οι διαταραχές αποτύπωσης όπως είναι το Prader – Willi (Classidy S. et al., 2011), η λανθασμένη τροποποίηση ιστονών η οποία οδηγεί σε μυελοδυσπλαστικά νοσήματα (Lehrmann H. et al., 2002), η αστάθεια επαναλήψεων όπως για παράδειγμα το Σύνδρομο ευθραύστου X (Hirst M. et al., 1993) και τέλος τα νοσήματα που οφείλονται στη δυσλειτουργία του μηχανισμού μεθυλίωσης όπως τα αυτοάνοσα και ο καρκίνος. (Feinberg A. & Vogelstein B., 1983)

Προσωπικά θεωρώ ότι η χρήση του επιγενετικού ρολογιού έχει πολλές προοπτικές και πολλά θετικά στοιχεία και είναι κάτι το οποίο αξίζει να επενδυθεί χρόνος και χρηματικό κεφάλαιο για την περεταίρω ανάλυση αυτού. Πρόκειται για ένα εργαλείο το οποίο είναι ικανό να μας βοηθήσει και σε επίπεδο πρόληψης και σε επίπεδο διάγνωσης αλλά και σε επίπεδο θεραπείας και μάλιστα μας δίνει τη δυνατότητα πρόβλεψης εμφάνισης ορισμένων νοσημάτων.

Το πιο μεγάλο κεφάλαιο στο οποίο βρίσκει εφαρμογή το επιγενετικό ρολόι είναι η καρκινογένεση στην οποία έχουν ήδη γίνει πολλά βήματα για την πλήρη κατανόηση

της έναρξης μιας κακοήθειας αλλά και για το θεραπευτικό κομμάτι όπως είναι η χρήση αναστολέων της αποακετυλάσης HDACi που χρησιμοποιούνται σε στερεούς όγκους όπως είναι ο καρκίνος του μαστού (Romidepsin, HDACi class I & II)και ο όγκος στον εγκέφαλο (Panobinostat, HDACi class I, II & IV).

. Το μέλλον προβλέπεται ιδιαίτερα αισιόδοξο με ολοένα και περισσότερα φάρμακα να παίρνουν έγκριση για κλινική χρήση με τρόπο δράσης την τροποποίηση του επιγενετικού ρολογιού, ενώ η πλήρης κατανόηση ακόμα περισσότερων ασθενειών ανοίγει πολλές πόρτες τόσο στη διάγνωση αλλά και στην πρόληψη πολλών νοσημάτων για έναν υγιέστερο κόσμο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8^ο: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Adkins RM, Thomas F, Tylavsky FA, Krushkal J (2011) Parental ages and levels of DNA methylation in the newborn are correlated. BMC Med. Genet. 12, 47, (Dell'Orco and Whittle 1982, Ishimi et al., 1987).
2. Aggerholm A, Holm MS, Guldberg P, Olesen LH, Hokland P. Promoter hypermethylation of p15INK4B, HIC1, CDH1, and ER is frequent in myelodysplastic syndrome and predicts poor prognosis in early-stage patients. Eur J Haematol. 2006 Jan;76(1):23-32. doi: 10.1111/j.1600-0609.2005.00559.x. PMID: 16343268.
3. Ahuja SR, Upadhye S, Kulkarni HV, Kulkarni MV. Coffin-Lowry syndrome. Indian J Pediatr. 2003 Dec;70(12):1001-2. doi: 10.1007/BF02723830. PMID: 14719793.
4. Andrew J Simpkin, Laura D Howe, Kate Tilling, Tom R Gaunt, Oliver Lyttleton, Wendy L McArdle, Susan M Ring, Steve Horvath, George Davey Smith, Caroline L Relton, The epigenetic clock and physical development during childhood and adolescence: longitudinal analysis from a UK birth cohort, *International Journal of Epidemiology*, Volume 46, Issue 2, April 2017, Pages 549–558, doi.org/10.1093/ije/dyw307
5. Anway, M.D., et al., 2005. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. Science 308, 1466–1469
6. Assis R, Gonçalves LSA, Guyot R, Vanzela ALL. Abundance of distal repetitive DNA sequences in *Capsicum* L. (Solanaceae) chromosomes. Genome. 2023 Oct 1;66(10):269-280. doi: 10.1139/gen-2022-0083. Epub 2023 Jun 26. PMID: 37364373.
7. Ashapkin VV, Kutueva LI, Vanyushin BF. Epigenetic Clock: Just a Convenient Marker or an Active Driver of Aging? Adv Exp Med Biol. 2019;1178:175-206. doi: 10.1007/978-3-030-25650-0_10. PMID: 31493228
8. Bin-Bing S., Zhou & Stephen J. Elledge (2000) “The DNA damage response: putting checkpoints in perspective”, Nature 408, 433-439

9. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev.* 2002 Jan 1;16(1):6-21. doi: 10.1101/gad.947102. PMID: 11782440.
10. Brandeis M., Ariel M., Cedar H., (1993) Dynamics of DNA methylation during development. *Bioessays* 15:709-713
11. Bird A. P., Wolffe A. P., (1999) Methylation induced repression – belts, braces, and chromatin. *Cell* 99:451-454
12. Bohr VA. Gene specific damage and repair after treatment of cells with UV and chemotherapeutical agents. *Adv Exp Med Biol.* 1991;283:225-33. doi: 10.1007/978-1-4684-5877-0_22. PMID: 2068987.
13. Bumber YA, Kondo Y, Chen X, Shen L, Gharibyan V, Konishi K, Estey E, Kantarjian H, Garcia-Manero G, Issa JP. RIL, a LIM gene on 5q31, is silenced by methylation in cancer and sensitizes cancer cells to apoptosis. *Cancer Res.* 2007 Mar 1;67(5):1997-2005. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3093. PMID: 17332327.
14. Brunet A., Berger S. L., Epigenetics of aging and aging-related disease. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 69 (Suppl I), S17-S20 (2014)
15. Butler MG, Miller JL, Forster JL. Prader-Willi Syndrome - Clinical Genetics, Diagnosis and Treatment Approaches: An Update. *Curr Pediatr Rev.* 2019;15(4):207-244. doi: 10.2174/1573396315666190716120925. PMID: 31333129; PMCID: PMC7040524
16. Carusillo A, Mussolino C. DNA Damage: From Threat to Treatment. *Cells.* 2020 Jul 10;9(7):1665. doi: 10.3390/cells9071665. PMID: 32664329; PMCID: PMC7408370.
17. Cassidy SB, Schwartz S, Miller JL, Driscoll DJ. Prader-Willi syndrome. *Genet Med.* 2012 Jan;14(1):10-26. doi: 10.1038/gim.0b013e31822bead0. Epub 2011 Sep 26. PMID: 22237428.
18. Chahrour, M., et al., 2008. MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science* 320, 1224–1229
19. Chatzidoukaki O, Goulielmaki E, Schumacher B, Garinis GA. DNA Damage Response and Metabolic Reprogramming in Health and Disease. *Trends Genet.* 2020 Oct;36(10):777-791. doi: 10.1016/j.tig.2020.06.018. Epub 2020 Jul 17. PMID: 32684438.
20. Cheng, X., 1995b. Structure and function of DNA methyltransferases. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 24, 293–318.

- 21.Chondrogianni, N., Georgila, K., Kourtis, N., Tavernarakis, N., and Gonos, E.S. (2015). 20S proteasome activation promotes life span extension and resistance to proteotoxicity in *Caenorhabditis elegans*. *FASEB J.* 29, 611–622.
- 22.Christensen BC, Houseman EA, Marsit CJ, Zheng S, Wrensch MR, Wiemels JL, Nelson HH, Karagas MR, Padbury JF, Bueno R, Sugarbaker DJ, Yeh RF, Wiencke JK, Kelsey KT. Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context. *PLoS Genet.* 2009 Aug;5(8):e1000602. doi: 10.1371/journal.pgen.1000602. Epub 2009 Aug 14. PMID: 19680444; PMCID: PMC2718614.
- 23.Christiansen L, Lenart A, Tan Q, Vaupel JW, Aviv A, McGue M, Christensen K. DNA methylation age is associated with mortality in a longitudinal Danish twin study. *Aging Cell.* 2016 Feb;15(1):149-54. doi: 10.1111/accel.12421. Epub 2015 Nov 17. PMID: 26594032; PMCID: PMC4717264.
- 24.Clancy S., (2008), “DNA damage and repair: mechanisms for maintaining DNA integrity” *Nature* edition 1(1): 103
- 25.Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy. *Cell.* 2012 Jul 6;150(1):12-27. doi: 10.1016/j.cell.2012.06.013. PMID: 22770212.
- 26.De Winter G. Aging as disease. *Med Health Care Philos.* 2015 May;18(2):237-43. doi: 10.1007/s11019-014-9600-y. PMID: 25240472.
- 27.Deans C, Maggert KA. What do you mean, "epigenetic"? *Genetics.* 2015 Apr;199(4):887-96. doi: 10.1534/genetics.114.173492. PMID: 25855649; PMCID: PMC4391566.
- 28.Delaval, K., Feil, R., 2004. Epigenetic regulation of mammalian genomic imprinting. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14, 188–195.
- 29.Díaz-González F, Hernández-Hernández MV. Rheumatoid arthritis. *Med Clin (Barc).* 2023 Dec 22;161(12):533-542. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medcli.2023.07.014. Epub 2023 Aug 9. PMID: 37567824.
- 30.Dixon-McDougall T, Brown C. The making of a Barr body: the mosaic of factors that eXIST on the mammalian inactive X chromosome. *Biochem Cell Biol.* 2016 Feb;94(1):56-70. doi: 10.1139/bcb-2015-0016. Epub 2015 Jun 24. PMID: 26283003.

- 31.Duan R, Fu Q, Sun Y, Li Q. Epigenetic clock: A promising biomarker and practical tool in aging. *Ageing Res Rev.* 2022 Nov;81:101743. doi: 10.1016/j.arr.2022.101743. Epub 2022 Oct 4. PMID: 36206857.
- 32.Dugué PA, Bassett JK, Joo JE, Baglietto L, Jung CH, Wong EM, Fiorito G, Schmidt D, Makalic E, Li S, Moreno-Betancur M, Buchanan DD, Vineis P, English DR, Hopper JL, Severi G, Southey MC, Giles GG, Milne RL. Association of DNA Methylation-Based Biological Age With Health Risk Factors and Overall and Cause-Specific Mortality. *Am J Epidemiol.* 2018 Mar 1;187(3):529-538. doi: 10.1093/aje/kwx291. PMID: 29020168.
- 33.Eden S., Hashimshony T., Keshet I., Cedar H., Thorne A. W., (1998) DNA methylation models histone acetylation. *Nature* 394:842
- 34.Engström W, Lindham S, Schofield P. Wiedemann-Beckwith syndrome. *Eur J Pediatr.* 1988 Jun;147(5):450-7. doi: 10.1007/BF00441965. PMID: 3044795.
- 35.Esteller M. Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet.* 2007 Apr;8(4):286-98. doi: 10.1038/nrg2005. Epub 2007 Mar 6. PMID: 17339880.
- 36.Fan, G., Hutnick, L., 2005. Methyl-CpG binding proteins in the nervous system. *Cell. Res.* 15, 255–261.
- 37.Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature.* 1983 Jan 6;301(5895):89-92. doi: 10.1038/301089a0. PMID: 6185846.
- 38.Figueroa ME, Skrabanek L, Li Y, Jiemjit A, Fandy TE, Paietta E, Fernandez H, Tallman MS, Greally JM, Carraway H, Licht JD, Gore SD, Melnick A. MDS and secondary AML display unique patterns and abundance of aberrant DNA methylation. *Blood.* 2009 Oct 15;114(16):3448-58. doi: 10.1182/blood-2009-01-200519. Epub 2009 Aug 3. PMID: 19652201; PMCID: PMC2765680.
- 39.Flores-Sánchez BC, Tatham AJ. Acute angle closure glaucoma. *Br J Hosp Med (Lond).* 2019 Dec 2;80(12):C174-C179. doi: 10.12968/hmed.2019.80.12.C174. PMID: 31822188.
- 40.Franzek EJ, Sprangers N, Janssens AC, Van Duijn CM, Van De Wetering BJ. Prenatal exposure to the 1944-45 Dutch 'hunger winter' and addiction later in life. *Addiction.* 2008 Mar;103(3):433-8. doi: 10.1111/j.1360-0443.2007.02084.x. Epub 2008 Jan 8. PMID: 18190668.

41. Garber KB, Visootsak J, Warren ST. Fragile X syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2008 Jun;16(6):666-72. doi: 10.1038/ejhg.2008.61. Epub 2008 Apr 9. PMID: 18398441; PMCID: PMC4369150.
42. Getzenberg RH, Pienta KJ, Ward WS, Coffey DS. Nuclear structure and the three-dimensional organization of DNA. *J Cell Biochem*. 1991 Dec;47(4):289-99. doi: 10.1002/jcb.240470402. PMID: 1795013.
43. Ghosh R, Tabrizi SJ. Clinical Features of Huntington's Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1049:1-28. doi: 10.1007/978-3-319-71779-1_1. PMID: 29427096.
44. Gong P, Wang Y, Jing Y. Apoptosis Induction by Histone Deacetylase Inhibitors in Cancer Cells: Role of Ku70. *Int J Mol Sci*. 2019 Mar 30;20(7):1601. doi: 10.3390/ijms20071601. PMID: 30935057; PMCID: PMC6480544.
45. Grant S, Easley C, Kirkpatrick P. Vorinostat. *Nat Rev Drug Discov*. 2007 Jan;6(1):21-2. doi: 10.1038/nrd2227. PMID: 17269160.
46. Gravholt CH, Viuff MH, Brun S, Stochholm K, Andersen NH. Turner syndrome: mechanisms and management. *Nat Rev Endocrinol*. 2019 Oct;15(10):601-614. doi: 10.1038/s41574-019-0224-4. Epub 2019 Jun 18. PMID: 31213699
47. Greco M, D'Alò F, Scardocci A, Criscuolo M, Fabiani E, Guidi F, Di Ruscio A, Migliara G, Pagano L, Fianchi L, Chiusolo P, Hohaus S, Leone G, Voso MT. Promoter methylation of DAPK1, E-cadherin and thrombospondin-1 in de novo and therapy-related myeloid neoplasms. *Blood Cells Mol Dis*. 2010 Oct 15;45(3):181-5. doi: 10.1016/j.bcmd.2010.05.008. Epub 2010 Jul 24. PMID: 20655775.
48. Greer EL, Shi Y. 2012. Histone methylation: A dynamic mark in health, disease and inheritance. *Nat Rev Genet* 13: 343–357. , (Feser and Tyler 2011, Fraga και Esteller 2007, Lazarus et al. «Sullivan και Karlseder 2012 • Pal και Tyler 2016)., (Bochkis et al., 2014, Dell'Orco and Whittle 1982, Gaubatz et αϊ., 1979, Ishimi et αϊ. 1987, Thakur et αϊ., 1999, Zongza and Mathias 1979).
49. Guil S, Esteller M. 2012. Cis-acting noncoding RNAs: Friends and foes. *Nat Struct Mol Biol* 19: 1068–1075., (Gaubatz et αϊ., 1979, Zongza and Mathias 1979).
50. Hagerman RJ, Berry-Kravis E, Hazlett HC, Bailey DB Jr, Moine H, Kooy RF, Tassone F, Gantois I, Sonenberg N, Mandel JL, Hagerman PJ. Fragile X

- syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Sep 29;3:17065. doi: 10.1038/nrdp.2017.65. PMID: 28960184.
51. Hannum G, Guinney J, Zhao L, Zhang L, Hughes G, Sada S, Klotzle B, Bibikova M, Fan JB, Gao Y, Deconde R, Chen M, Rajapakse I, Friend S, Ideker T, Zhang K. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol Cell*. 2013 Jan 24;49(2):359-367. doi: 10.1016/j.molcel.2012.10.016. Epub 2012 Nov 21. PMID: 23177740; PMCID: PMC3780611.
 52. Haug AB. Sykdommer på fremmarsj [Emerging diseases]. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2013 Feb 19;133(4):431; discussion 431. Norwegian. doi: 10.4045/tidsskr.13.0066. PMID: 23423212.
 53. Hartl, F.U., Bracher, A., and Hayer-Hartl, M. (2011). Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature* 475, 324–332.
 54. Hennekam RC. Rubinstein-Taybi syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2006 Sep;14(9):981-5. doi: 10.1038/sj.ejhg.5201594. Epub 2006 Jul 26. PMID: 16868563.
 55. Hesieh C. L. (1999) Evidence that protein binding specifies sites of DNA demethylation. *Mol. Cell. Biol.* 19:46–56
 56. Hirst MC, Knight SJ, Christodoulou Z, Grewal PK, Fryns JP, Davies KE (1993) Origins of the fragile X syndrome mutation. *J Med Genet* 30(8):647–650
 57. Holliday, R., Pugh, J.E., 1975. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 187, 226–232
 58. Horvath S. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*. 2013;14(10):R115. doi: 10.1186/gb-2013-14-10-r115. Erratum in: *Genome Biol*. 2015 May 13;16:96. doi: 10.1186/s13059-015-0649-6. PMID: 24138928; PMCID: PMC4015143.
 59. Horvath S, Raj K. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet*. 2018 Jun;19(6):371-384. doi: 10.1038/s41576-018-0004-3. PMID: 29643443.
 60. Hu Z, Wei F, Su Y, Wang Y, Shen Y, Fang Y, Ding J, Chen Y. Histone deacetylase inhibitors promote breast cancer metastasis by elevating NEDD9 expression. *Signal Transduct Target Ther*. 2023 Jan 6;8(1):11. doi: 10.1038/s41392-022-01221-6. PMID: 36604412; PMCID: PMC9816171.

- 61.Hutchinson DT, Sullivan R. Rubinstein-Taybi Syndrome. J Hand Surg Am. 2015 Aug;40(8):1711-2. doi: 10.1016/j.jhssa.2014.08.043. Epub 2015 Jul 1. PMID: 26143027.
- 62.Issa JP. CpG island methylator phenotype in cancer. Nat Rev Cancer. 2004 Dec;4(12):988-93. doi: 10.1038/nrc1507. PMID: 15573120.
- 63.Jackson, S., Bartek, J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature* 461, 1071–1078 (2009). <https://doi.org/10.1038/nature08467>
- 64.Jayaram H, Kolko M, Friedman DS, Gazzard G. Glaucoma: now and beyond. Lancet. 2023 Nov 11;402(10414):1788-1801. doi: 10.1016/S0140-6736(23)01289-8. Epub 2023 Sep 21. PMID: 37742700.
- 65.Jones, M.J., et al., 2015. DNA methylation and healthy human aging. *Aging Cell* 14 (6), 924–932. <https://doi.org/10.1111/accel.12349>
- 66.Jung, T., Catalgol, B., and Grune, T. (2009). The proteasomal system. *Mol. Aspects Med.* 30, 191–296.
- 67.Jylhävä J, Pedersen NL, Hägg S. Biological Age Predictors. *EBioMedicine*. 2017 Jul;21:29-36. doi: 10.1016/j.ebiom.2017.03.046. Epub 2017 Apr 1. PMID: 28396265; PMCID: PMC5514388.
- 68.Kane AE, Sinclair DA. Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2019 Feb;54(1):61-83. doi: 10.1080/10409238.2019.1570075. Epub 2019 Mar 1. PMID: 30822165; PMCID: PMC6424622.
- 69.Kaushik, S., and Cuervo, A.M. (2015). Proteostasis and aging. *Nat. Med.* 21, 1406–1415.
- 70.Kawakami S, Ninomiya R, Maeda Y. Improvement in Epigenetic Aging Clock Induced by BioBran Containing Rice Kefiran in Relation to Various Biomarkers: A Pilot Study. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024; 25(12):6332. <https://doi.org/10.3390/ijms25126332>
- 71.Keshet I, Schlesinger Y, Farkash S, Rand E, Hecht M, Segal E, Pikarski E, Young RA, Niveleau A, Cedar H, Simon I. Evidence for an instructive mechanism of de novo methylation in cancer cells. *Nat Genet.* 2006 Feb;38(2):149-53. doi: 10.1038/ng1719. PMID: 16444255.
- 72.Klutstein M, Nejman D, Greenfield R, Cedar H. DNA Methylation in Cancer and Aging. *Cancer Res.* 2016 Jun 15;76(12):3446-50. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3278. Epub 2016 Jun 2. PMID: 27256564.

- 73.Kolarz K, Targońska-Stępnia B, Majdan M. [Early reumatoid arthritis]. *Wiadomosci Lekarskie* (Warsaw, Poland : 1960). 2018;71(5):1061-1065. PMID: 30176641.
- 74.Korovila, I., Hugo, M., Castro, J.P., Weber, D., Höhn, A., Grune, T., and Jung, T. (2017). Proteostasis, oxidative stress and aging. *Redox Biol.* 13, 550–567
- 75.Koga, H., Kaushik, S., and Cuervo, A.M. (2011). Protein homeostasis and aging: The importance of exquisite quality control. *Ageing Res. Rev.* 10, 205– 215.
- 76.Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet.* 2010 Sep;11(9):597-610. doi: 10.1038/nrg2843. Epub 2010 Jul 27. PMID: 20661255.
- 77.Kulis M, Esteller M. DNA methylation and cancer. *Adv Genet.* 2010;70:27-56. doi: 10.1016/B978-0-12-380866-0.60002-2. PMID: 20920744.
- 78.Labbadia, J., and Morimoto, R.I. (2015). The Biology of Proteostasis in Aging and Disease. *Annu. Rev. Biochem.* 84, 435–464
- 79.Lehrmann H, Pritchard LL, Harel-Bellan A. Histone acetyltransferases and deacetylases in the control of cell proliferation and differentiation. *Adv Cancer Res.* 2002;86:41-65. doi: 10.1016/s0065-230x(02)86002-x. PMID: 12374280.
- 80.Lentini A, Cheng H, Noble JC, Papanicolaou N, Coucoravas C, Andrews N, Deng Q, Enge M, Reinius B. Elastic dosage compensation by X-chromosome upregulation. *Nat Commun.* 2022 Apr 6;13(1):1854. doi: 10.1038/s41467-022-29414-1. PMID: 35388014; PMCID: PMC8987076.
- 81.Levine ME, Lu AT, Quach A, Chen BH, Assimes TL, Bandinelli S, Hou L, Baccarelli AA, Stewart JD, Li Y, Whitsel EA, Wilson JG, Reiner AP, Aviv A, Lohman K, Liu Y, Ferrucci L, Horvath S. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY).* 2018 Apr 18;10(4):573-591. doi: 10.18632/aging.101414. PMID: 29676998; PMCID: PMC5940111.
- 82.Liang WS, Goetz LH, Schork NJ. Assessing brain and biological aging trajectories associated with Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2022 Oct 28;16:1036102. doi: 10.3389/fnins.2022.1036102. PMID: 36389222; PMCID: PMC9650396.
- 83.Li E., Bestor T. H., Jaenisch R. (1992) Targeted mutation of the DNA methyltransferase gene results in embryonic lethality. *Cell* 69:915–926.

- 84.Li G, Tian Y, Zhu W-G. The roles of histone deacetylases and their inhibitors in cancer therapy. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:576946. doi:10.3389/fcell.2020.576946
- 85.Lu AT, Quach A, Wilson JG, Reiner AP, Aviv A, Raj K, Hou L, Baccarelli AA, Li Y, Stewart JD, Whitsel EA, Assimes TL, Ferrucci L, Horvath S. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY).* 2019 Jan 21;11(2):303-327. doi: 10.18632/aging.101684. PMID: 30669119; PMCID: PMC6366976.
- 86.Lu Y, Brommer B, Tian X, Krishnan A, Meer M, Wang C, Vera DL, Zeng Q, Yu D, Bonkowski MS, Yang JH, Zhou S, Hoffmann EM, Karg MM, Schultz MB, Kane AE, Davidsohn N, Korobkina E, Chwalek K, Rajman LA, Church GM, Hochedlinger K, Gladyshev VN, Horvath S, Levine ME, Gregory-Ksander MS, Ksander BR, He Z, Sinclair DA. Reprogramming to recover youthful epigenetic information and restore vision. *Nature.* 2020 Dec;588(7836):124-129. doi: 10.1038/s41586-020-2975-4. Epub 2020 Dec 2. PMID: 33268865; PMCID: PMC7752134.
- 87.Madeo, F., Zimmermann, A., Maiuri, M.C., and Kroemer, G. (2015). Essential role for autophagy in life span extension. *J. Clin. Invest.* 125, 85–93.
- 88.Mager, J., Bartolomei, M.S., 2005. Strategies for dissecting epigenetic mechanisms in the mouse. *Nat. Genet.* 37, 1194–1200
- 89.Maranga C, Fernandes TG, Bekman E, da Rocha ST. Angelman syndrome: a journey through the brain. *FEBS J.* 2020 Jun;287(11):2154-2175. doi: 10.1111/febs.15258. Epub 2020 Mar 14. PMID: 32087041.
- 90.Margolis SS, Sell GL, Zbinden MA, Bird LM. Angelman Syndrome. *Neurotherapeutics.* 2015 Jul;12(3):641-50. doi: 10.1007/s13311-015-0361-y. PMID: 26040994; PMCID: PMC4489961.
- 91.Marioni RE, Shah S, McRae AF, Chen BH, Colicino E, Harris SE, Gibson J, Henders AK, Redmond P, Cox SR, Pattie A, Corley J, Murphy L, Martin NG, Montgomery GW, Feinberg AP, Fallin MD, Multhaup ML, Jaffe AE, Joehanes R, Schwartz J, Just AC, Lunetta KL, Murabito JM, Starr JM, Horvath S, Baccarelli AA, Levy D, Visscher PM, Wray NR, Deary IJ. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. *Genome Biol.* 2015 Jan 30;16(1):25. doi: 10.1186/s13059-015-0584-6. PMID: 25633388; PMCID: PMC4350614.

92. Mattick JS, Taft RJ, Faulkner GJ. A global view of genomic information--moving beyond the gene and the master regulator. *Trends Genet.* 2010 Jan;26(1):21-8. doi: 10.1016/j.tig.2009.11.002. Epub 2009 Nov 26. PMID: 19944475.
93. Matzke, M.A., Birchler, J.A., 2005. RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nat. Rev. Genet.* 6, 24–35.
94. McDonald-McGinn DM, Sullivan KE. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome (DiGeorge syndrome/velocardiofacial syndrome). *Medicine (Baltimore).* 2011 Jan;90(1):1-18. doi: 10.1097/MD.0b013e3182060469. PMID: 21200182.
95. Mehler MF. Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease. *Prog Neurobiol.* 2008 Dec 11;86(4):305-41. doi: 10.1016/j.pneurobio.2008.10.001. Epub 2008 Oct 17. PMID: 18940229; PMCID: PMC2636693.
96. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet.* 2009 Mar;10(3):155-9. doi: 10.1038/nrg2521. PMID: 19188922.
97. Meyer BJ. The X chromosome in *C. elegans* sex determination and dosage compensation. *Curr Opin Genet Dev.* 2022 Jun;74:101912. doi: 10.1016/j.gde.2022.101912. Epub 2022 Apr 28. PMID: 35490475; PMCID: PMC9462529.
98. Mirsky AE. The discovery of DNA. *Sci Am.* 1968 Jun;218(6):78-88. doi: 10.1038/scientificamerican0668-78. PMID: 5648255.
99. Mishra D, Chakole V. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Pan Afr Med J.* 2023 May 5;45:17. doi: 10.11604/pamj.2023.45.17.38741. PMID: 37426460; PMCID: PMC10323809.
100. Mitnitski A, Collerton J, Martin-Ruiz C, Jagger C, von Zglinicki T, Rockwood K, Kirkwood TB. Age-related frailty and its association with biological markers of ageing. *BMC Med.* 2015 Jul 13;13:161. doi: 10.1186/s12916-015-0400-x. PMID: 26166298; PMCID: PMC4499935.
101. Morimoto, R.I., and Cuervo, A.M. (2014). Proteostasis and the aging proteome in health and disease. *Journals Gerontol. - Ser. A Biol. Sci. Med. Sci.* 69, S33–S38.
102. Oblak L, van der Zaag J, Higgins-Chen AT, Levine ME, Boks MP. A systematic review of biological, social and environmental factors associated with

- epigenetic clock acceleration. *Ageing Res Rev.* 2021 Aug;69:101348. doi: 10.1016/j.arr.2021.101348. Epub 2021 Apr 28. PMID: 33930583.
- 103.Parveen R, Harihar D, Chatterji BP. Recent histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *Cancer.* 2023 Nov 1;129(21):3372-3380. doi: 10.1002/cncr.34974. Epub 2023 Aug 10. PMID: 37560925.
 - 104.Pereira PM, Schneider A, Pannetier S, Heron D, Hanauer A. Coffin-Lowry syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2010 Jun;18(6):627-33. doi: 10.1038/ejhg.2009.189. Epub 2009 Nov 4. PMID: 19888300; PMCID: PMC2987346.
 - 105.Pérez, V.I., Buffenstein, R., Masamsetti, V., Leonard, S., Salmon, A.B., Mele, J., Andziak, B., Yang, T., Edrey, Y., Friguet, B., et al. (2009). Protein stability and resistance to oxidative stress are determinants of longevity in the longestliving rodent, the naked mole-rat. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 3059–3064.
 - 106.Perna L, Zhang Y, Mons U, Holleczeck B, Saum KU, Brenner H. Epigenetic age acceleration predicts cancer, cardiovascular, and all-cause mortality in a German case cohort. *Clin Epigenetics.* 2016 Jun 3;8:64. doi: 10.1186/s13148-016-0228-z. PMID: 27274774; PMCID: PMC4891876.
 - 107.Qureshi IA, Mattick JS, Mehler MF. Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. *Brain Res.* 2010 Jun 18;1338:20-35. doi: 10.1016/j.brainres.2010.03.110. Epub 2010 Apr 7. PMID: 20380817; PMCID: PMC2883659.
 - 108.Ramirez D, Haas SA. Windows of Vulnerability: Consequences of Exposure Timing during the Dutch Hunger Winter. *Popul Dev Rev.* 2022 Dec;48(4):959-989. doi: 10.1111/padr.12513. Epub 2022 Sep 14. PMID: 37063488; PMCID: PMC10087479.
 - 109.Ran Duan, Qiaoyu Fu, Yu Sun, Qingfeng Li,Epigenetic clock: A promising biomarker and practical tool in aging, *Ageing Research Reviews*, Volume 81, 2022, 101743, ISSN 1568-1637, <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101743>.
 - 110.RIS H, MIRSKY AE. The state of the chromosomes in the interphase nucleus. *J Gen Physiol.* 1949 Mar 20;32(4):489-502. doi: 10.1085/jgp.32.4.489. PMID: 18114562; PMCID: PMC2147170.
 - 111.Reches A. Fragile X Syndrome: Introduction. *Methods Mol Biol.* 2019;1942:3-10. doi: 10.1007/978-1-4939-9080-1_1. PMID: 30900171.

- 112.Rocha ST, Ferguson-Smith AC. Genomic imprinting. *Curr Biol*. 2004 Aug 24;14(16):R646-9. doi: 10.1016/j.cub.2004.08.007. PMID: 15324678.
- 113.Rossiello F, Jurk D, Passos JF, d'Adda di Fagagna F. Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nat Cell Biol*. 2022 Feb;24(2):135-147. doi: 10.1038/s41556-022-00842-x. Epub 2022 Feb 14. PMID: 35165420; PMCID: PMC8985209.
- 114.Ryan J, Wrigglesworth J, Loong J, Fransquet PD, Woods RL. A Systematic Review and Meta-analysis of Environmental, Lifestyle, and Health Factors Associated With DNA Methylation Age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2020 Feb 14;75(3):481-494. doi: 10.1093/gerona/glz099. PMID: 31001624; PMCID: PMC7328212.
- 115.Sarget M., Why twins are different. *Nature* 464,1130-1131 (2010)
- 116.Sawada I, Schmid CW, Deka N, Paulson KE, Willard C. Repetitive human DNA sequences. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 1986;51 Pt 1:471-7. doi: 10.1101/sqb.1986.051.01.057. PMID: 3034485.
- 117.Scarano, E., 1971. The control of gene function in cell differentiation and in embryogenesis. *Adv. Cytopharmacol*. 1, 13–24.
- 118.Schulz LC. The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 Sep 28;107(39):16757-8. doi: 10.1073/pnas.1012911107. Epub 2010 Sep 20. PMID: 20855592; PMCID: PMC2947916.
- 119.Shelbie G Turner, Karen Hooker, G John Geldhof, Self-Perceptions of Aging: Factorial Structure and Invariance by Gender, *The Gerontologist*, Volume 61, Issue 3, April 2021, Pages 425–429, <https://doi.org/10.1093/geront/gnaa059>
- 120.Shilatifard A. Chromatin modifications by methylation and ubiquitination: implications in the regulation of gene expression. *Annu Rev Biochem*. 2006;75:243-69. doi: 10.1146/annurev.biochem.75.103004.142422. PMID: 16756492.
- 121.Simpkin AJ, Hemani G, Suderman M, Gaunt TR, Lyttleton O, Mcardle WL, Ring SM, Sharp GC, Tilling K, Horvath S, Kunze S, Peters A, Waldenberger M, Ward-Caviness C, Nohr EA, Sørensen TI, Relton CL, Smith GD. Prenatal and early life influences on epigenetic age in children: a study of mother-offspring pairs from two cohort studies. *Hum Mol Genet*. 2016 Jan 1;25(1):191-201. doi:

- 10.1093/hmg/ddv456. Epub 2015 Nov 5. PMID: 26546615; PMCID: PMC4690495.
- 122.Simpson DJ, Chandra T. Epigenetic age prediction. *Aging Cell*. 2021 Sep;20(9):e13452. doi: 10.1111/ace1.13452. Epub 2021 Aug 20. PMID: 34415665; PMCID: PMC8441394.
 - 123.Smith ZD, Chan MM, Mikkelsen TS, Gu H, Gnirke A, Regev A, Meissner A. A unique regulatory phase of DNA methylation in the early mammalian embryo. *Nature*. 2012 Mar 28;484(7394):339-44. doi: 10.1038/nature10960. PMID: 22456710; PMCID: PMC3331945.
 - 124.Smith ZD, Meissner A. DNA methylation: roles in mammalian development. *Nat Rev Genet*. 2013 Mar;14(3):204-20. doi: 10.1038/nrg3354. Epub 2013 Feb 12. PMID: 23400093.
 - 125.Snow K, Tester DJ, Kruckeberg KE, Schaid DJ, Thibodeau SN (1994) Sequence analysis of the fragile X trinucleotide repeat: implications for the origin of the fragile X mutation. *Hum Mol Genet* 3(9):1543–1551
 - 126.Stoker TB, Mason SL, Greenland JC, Holden ST, Santini H, Barker RA. Huntington's disease: diagnosis and management. *Pract Neurol*. 2022 Feb;22(1):32-41. doi: 10.1136/practneurol-2021-003074. Epub 2021 Aug 19. PMID: 34413240.
 - 127.Struhl K. (1998) Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms. *Genes Dev*. 12:599–606.
 - 128.Sulli G, Di Micco R, d'Adda di Fagagna F. Crosstalk between chromatin state and DNA damage response in cellular senescence and cancer. *Nat Rev Cancer*. 2012 Oct;12(10):709-20. doi: 10.1038/nrc3344. Epub 2012 Sep 6. PMID: 22952011.
 - 129.Thompson RP, Nilsson E, Skinner MK. Environmental epigenetics and epigenetic inheritance in domestic farm animals. *Anim Reprod Sci*. 2020 Sep;220:106316. doi: 10.1016/j.anireprosci.2020.106316. Epub 2020 Feb 18. PMID: 32094003.
 - 130.Tiina Föhr, Timo Törmäkangas, Hannamari Lankila, Anne Viljanen, Taina Rantanen, Miina Ollikainen, Jaakko Kaprio, Elina Sillanpää, The Association Between Epigenetic Clocks and Physical Functioning in Older Women: A 3-Year Follow-up, *The Journals of Gerontology: Series A*, Volume 77, Issue 8, August 2022, Pages 1569–1576, <https://doi.org/10.1093/gerona/glab270>

131. Tucci V, Isles AR, Kelsey G, Ferguson-Smith AC; Erice Imprinting Group. Genomic Imprinting and Physiological Processes in Mammals. *Cell*. 2019 Feb 21;176(5):952-965. doi: 10.1016/j.cell.2019.01.043. PMID: 30794780.
132. Vaiserman A, Krasnienkov D. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet*. 2021 Jan 21;11:630186. doi: 10.3389/fgene.2020.630186. PMID: 33552142; PMCID: PMC7859450
133. Van Gils J, Magdinier F, Fergelot P, Lacombe D. Rubinstein-Taybi Syndrome: A Model of Epigenetic Disorder. *Genes (Basel)*. 2021 Jun 24;12(7):968. doi: 10.3390/genes12070968. PMID: 34202860; PMCID: PMC8303114.
134. Waddington, C.H., 1942. The epigenotype. *Endeavour* 1, 18–20
135. Walker FO. Huntington's disease. *Lancet*. 2007 Jan 20;369(9557):218-28. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60111-1. PMID: 17240289.
136. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *J Intern Med*. 2015 Oct;278(4):369-95. doi: 10.1111/joim.12395. Epub 2015 Jul 25. PMID: 26212387.
137. Wassenegger, M., 2005. The role of the RNAi machinery in heterochromatin formation. *Cell* 122, 13–16.
138. Weinreb RN, Aung T, Medeiros FA. The pathophysiology and treatment of glaucoma: a review. *JAMA*. 2014 May 14;311(18):1901-11. doi: 10.1001/jama.2014.3192. PMID: 24825645; PMCID: PMC4523637.
139. Weksberg R, Shuman C, Beckwith JB. Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2010 Jan;18(1):8-14. doi: 10.1038/ejhg.2009.106. PMID: 19550435; PMCID: PMC2987155.
140. Wen KX, Milić J, El-Khodori B, Dhana K, Nano J, Pulido T, Kraja B, Zaciragic A, Bramer WM, Troup J, Chowdhury R, Ikram MA, Dehghan A, Muka T, Franco OH. The Role of DNA Methylation and Histone Modifications in Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review. *PLoS One*. 2016 Dec 14;11(12):e0167201. doi: 10.1371/journal.pone.0167201. PMID: 27973581; PMCID: PMC5156363.
141. Wiebe E, Wiebe A. Fragile X syndrome. *Can Fam Physician*. 1994 Feb;40:290-5. PMID: 8130676; PMCID: PMC2380034.

142. Pereira PM, Schneider A, Pannetier S, Heron D, Hanauer A. Coffin-Lowry syndrome. *Eur J Hum Genet.* 2010 Jun;18(6):627-33. doi: 10.1038/ejhg.2009.189. Epub 2009 Nov 4. PMID: 19888300; PMCID: PMC2987346.
143. Yousefzadeh M, Henpita C, Vyas R, Soto-Palma C, Robbins P, Niedernhofer L. DNA damage-how and why we age? *Elife.* 2021 Jan 29;10:e62852. doi: 10.7554/eLife.62852. PMID: 33512317; PMCID: PMC7846274.
144. Yu M, Hazelton WD, Luebeck GE, Grady WM. Epigenetic Aging: More Than Just a Clock When It Comes to Cancer. *Cancer Res.* 2020 Feb 1;80(3):367-374. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-19-0924. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31694907; PMCID: PMC7002254.
145. Zhang M, Tartaglia MC, Moreno D, Sato C, McKeever P, Weichert A, Keith J, Robertson J, Zinman L, Rogaeva E. DNA methylation age-acceleration is associated with disease duration and age at onset in C9orf72 patients. *Acta Neuropathol.* 2017 Aug;134(2):271-279. doi: 10.1007/s00401-017-1713-y. Epub 2017 Apr 24. PMID: 28439722; PMCID: PMC5508035
146. Zhou A, Wu Z, Zaw Phyto AZ, Torres D, Vishwanath S, Ryan J. Epigenetic aging as a biomarker of dementia and related outcomes: a systematic review. *Epigenomics.* 2022 Sep;14(18):1125-1138. doi: 10.2217/epi-2022-0209. Epub 2022 Sep 26. PMID: 36154448.
147. Zhou J, Indik CE, Kuipers TB, Li C, Nivard MG, Ryan CP, Tucker-Drob EM, Taeubert MJ, Wang S, Wang T, Conley D, Heijmans BT, Lumey LH, Belsky DW. Genetic analysis of selection bias in a natural experiment: Investigating in-utero famine effects on elevated body mass index in the Dutch Hunger Winter Families Study. *medRxiv [Preprint].* 2023 Oct 24:2023.10.23.23297381. doi: 10.1101/2023.10.23.23297381. PMID: 37961592; PMCID: PMC10635168.
148. Zhou L, Cheng X, Connolly BA, Dickman MJ, Hurd PJ, Hornby DP (2002). Zebularine: a novel DNA methylation inhibitor that forms a covalent complex with DNA methyltransferases. *J Mol Biol* 321: 591–599.
149. Zoghbi HY, Beaudet AL. Epigenetics and Human Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2016 Feb 1;8(2):a019497. doi: 10.1101/cshperspect.a019497. PMID: 26834142; PMCID: PMC4743078.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

150. Αλεπόρου Β., Αργυροκαστρίτης Α., 2016. *ΒΙΟΛΟΓΙΑ ομάδας προσανατολισμού θετικών σπουδών*, Αθήνα: Γραβάννης Ε.Π.Ε.
151. Πλαγεράς, Π., Γεροβασίλη, Α. και Παπαϊωάννου, Α., 2012. *Εφαρμογές μοριακής διαγνωστικής*, Αθήνα: Π.Χ. Πασχαλίδης