

Agnieszka Stelmaszyk, Marzena Dworacka

Katedra i Zakład Farmakologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Znaczenie czynników epigenetycznych w diagnostyce i leczeniu cukrzycy typu 2

The importance of epigenetic factors for the diagnostics and treatment of type 2 diabetes mellitus

Artykuł jest tłumaczeniem pracy:

Stelmaszyk A, Dworacka M. The importance of epigenetic factors for the diagnostics and treatment of type 2 diabetes mellitus. Clin Diabetol 2018; 7, 3: 164–170. DOI: 10.5603/DK.2018.0013.

Należy cytować wersję pierwotną.

STRESZCZENIE

Stopień ekspresji specyficznych genów, poprzez wpływ na fenotyp organizmu, może mieć znaczenie zarówno dla rozwoju cukrzycy, jak i jej powikłań. Ekspresja genów podlega modyfikacji epigenetycznej na skutek oddziaływania czynników wewnątrzkomórkowych oraz bodźców środowiskowych, jak np. sposób odżywiania i aktywność fizyczna. Są to procesy zachodzące podczas rozwoju organizmu, od jego poczęcia aż do śmierci, silnie związane z różnicowaniem, mechanizmami naprawy DNA oraz stresem wewnątrzkomórkowym. W przyszłości ich znajomość może być wykorzystywana w leczeniu cukrzycy jako element terapii spersonalizowanej.

Niniejszy artykuł stanowi próbę podsumowania mechanizmów modyfikacji epigenetycznych, najważniejszych dla etiopatogenezy i patofizjologii cukrzycy typu 2.

Słowa kluczowe: epigenetyka, cukrzyca typu 2, pamięć metaboliczna, międzypokoleniowe dziedziczenie cukrzycy

ABSTRACT

The level of expression of a certain genes, modifying the phenotype, may affect both the progression of dia-

betes mellitus and its complications. Gene expression is controlled by epigenetic modification, influenced by intracellular and environmental factors, e.g. nutrition model and physical activity. These modifications appear throughout whole life, from conception till the time of death, and they are closely dependent on cell differentiation, DNA repair and cellular stress. Hopefully, the knowledge of epigenetics might be used in the future as an element of personalized treatment of diabetes.

The following article aims on reviewing the most important mechanisms of epigenetic modifications in context of pathogenesis and pathophysiology of type 2 diabetes mellitus.

Key words: epigenetics, type 2 diabetes mellitus, metabolic memory, intergenerational transmission

Wstęp

Epigenetyka to termin, który pojawił się w latach 40. XX wieku, a pojęcie to zyskało na popularności wraz z rozwojem metod biologii molekularnej. W oryginalnym znaczeniu epigenetyka to dziedzina biologii zajmująca się związkami przyczynowo-skutkowymi pomiędzy genami a ich produktami, od których zależy fenotyp organizmu [1]. Dziedzinę zainteresowań epigenetyki stanowią zarówno mechanizm modulacji ekspresji genów, jak i możliwość dziedziczenia wzorców ekspresji przez komórki potomne, powstające po podziale mitotycznym lub mejotycznym [1]. Stąd też bierze się inna popularna definicja epigenetyki, podkreślająca, że centrum zainteresowania badań epigenetycznych

Adres do korespondencji:

mgr farm. Agnieszka Stelmaszyk

Katedra i Zakład Farmakologii

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Rokietnicka 5A, 60-806 Poznań

Tel.: 61 854 72 62, faks: 61 854 72 52

e-mail: stelmaszyk.agnieszka@gmail.com

Nadesłano: 14.01.2018

Przyjęto do druku: 20.02.2018

są zmiany w funkcjonowaniu genów nabyte wskutek procesów mitozy i/lub mejozy, których nie można wyjaśnić i uzasadnić zmianami w sekwencji DNA [2, 3].

Czynniki, które mogą wpływać na ekspresję genów, to zarówno czynniki wewnątrzkomórkowe, jak i bodźce środowiskowe (odżywianie, aktywność fizyczna). Są to procesy zachodzące podczas rozwoju organizmu, od jego poczęcia aż do śmierci, silnie związane z różnicowaniem, mechanizmami naprawy DNA oraz stresem wewnątrzkomórkowym [3, 4].

Na poziomie komórkowym informacja epigenetyczna bywa odzwierciedlana przede wszystkim poprzez modyfikację histonów, stopień metylacji DNA oraz ekspresję mikro-RNA (miRNA) [1, 5, 6].

Funkcja silnie zasadowych białek histonowych wewnątrz komórki jest związana przede wszystkim z formowaniem nukleosomów stanowiących strukturalne podjednostki chromatyny w jądrze komórkowym. Histony ulegają postranslacyjnej odwracalnej modyfikacji, np. wskutek acetylacji. Epigenetyczne modyfikacje histonów mają charakter krótkoterminowy [7].

Acetylacji lub deacetylacji podlegają najczęściej reszty lizyny N-końca histonu. Acetylacja jest związana z utratą ładunków dodatnich na powierzchni cząsteczki histonu, co prowadzi do zmniejszenia oddziaływania pomiędzy białkami histonowymi a ujemnie naładowanymi grupami fosforanowymi DNA, do rozluźnienia struktury chromatyny, a w końcowym efekcie — do ułatwienia procesu transkrypcji [7].

Zmiany w obrębie histonów nie ograniczają się wyłącznie do acetylacji bądź deacetylacji — mogą być bardziej różnorodne. Obejmują one także fosforylację

i defosforylację, izomeryzację oraz przyłączenie i odłączenie ubikwityny bądź białek SUMO (*small ubiquitin-like modifier*). Kowalencyjna modyfikacja histonu decyduje o zdolności chromatyny do przejścia w stan aktywny transkrypcyjnie. Za modyfikację histonów odpowiadają pary specyficznych enzymów [8]. Wybrane z nich zostały scharakteryzowane w tabeli 1.

Metylacja DNA, w przeciwieństwie do modyfikacji białek histonowych, jest zmianą o charakterze bardziej trwałym, powoduje odległe efekty, a także może być dziedziczona przez komórki potomne [8]. Wybrane DNA-metylotransferazy, katalizujące przyłączenie grupy metylowej, najczęściej w pozycji C-5 cytozyny w cząsteczce DNA, wymieniono w tabeli 2. Proces metylacji dotyczy najczęściej dwunukleotydowych sekwencji DNA, zwanych wyspami CpG (*Cytosine-phosphate-Guanine*). Metylacja wysp CpG prowadzi do zmniejszenia ekspresji genów — ich „wyciszenia” [9].

MiRNA to jednoniciowe, zwykle 22-nukleotydowe cząsteczki RNA biorące udział w posttranslacyjnym wygaszaniu ekspresji genów. Powodują represję mRNA poprzez bezpośrednie wiązanie się z niepodlegającymi translacji sekwencjami regionu 3' mRNA [6].

Warto wspomnieć, że krążące miRNA odpowiadają za przekazywanie sygnałów pomiędzy komórkami i pomiędzy tkankami, a są wytwarzane w odpowiedzi na bodźce fizjologiczne i patologiczne jako czynniki inicjujące modulację ekspresji genów [5, 6]. Należy podkreślić, że miRNA są wytwarzane m.in. w związku z metylacją DNA, a z drugiej strony cząsteczki te mogą mieć wpływ na translację enzymów katalizujących modyfikację histonów oraz metylację DNA [6].

Tabela 1. Wybrane enzymy wprowadzające modyfikacje epigenetyczne w obrębie histonów

Grupa enzymów	Przykłady enzymów	Rodzaj modyfikacji
Acetylotransferazy (HAT, <i>histone acetyltransferases</i>)	Superrodzina GNAT: Gcn5, PCAF, Hat1, Elp3, Hpa2 [36] Superrodzina MYST: Sas2, Sas3, Esa1, MOF, Tip60, MOZ, MORE, HBO1 [36] p300/CBP [36]	Acetylacja lizyny [37], zachowanie struktury euchromatyny, wzrost ekspresji genów [38]
Deacetylazy (HDAC, <i>histone deacetylases</i>)	Klasa I: HDAC1–3, HDAC8 [39] Klasa II: HDAC4–7, HDAC9–10 [39] Klasa III: SIRT1–7 [39] Klasa IV: HDAC11 [39]	Deacetylacja lizyny, zachowanie struktury heterochromatyny, zmniejszenie ekspresji genów [38]
Metylotransferazy	Białko receptora jądrowego zawierające domenę SET 7 [24]	Metylacja lizyny, np.: • Lys9 w histonie H3 — zmniejszenie ekspresji genów • Lys4 w histonie H3 — wzrost ekspresji genów [38]
Demetylazy histonów (HMT, <i>histone demethylases</i>)	Lizynowa demetylaza histonowa 1 [28] Jumonji C [28]	Demetylacja lizyny [28]

Tabela 2. Wybrane enzymy wprowadzające modyfikacje epigenetyczne w obrębie DNA

Grupa enzymów	Przykłady enzymów	Rodzaj modyfikacji
DNA-metylotransferazy (DNMT)	DNMT1 — „rozpoznaje” wzorec metylacji macierzystej nici DNA i odtwarza go na nici syntetyzowanej <i>de novo</i> [38] DNMT3a oraz DNMT3b — metylotransferazy wprowadzające reszty metylowe do wcześniej niezmodyfikowanych wysp CpG [38]	Metylacja zasad azotowych, najczęściej cytozyny [37]

Rola zmian epigenetycznych nabytych w różnych okresach rozwoju w powstawaniu zaburzeń metabolicznych Status metaboliczny matki a zmiany epigenetyczne u płodu związane z ryzykiem rozwoju chorób metabolicznych i sercowo-naczyniowych

Wiadomo, że czynniki zewnętrzne, oddziałujące na organizm matki bezpośrednio przed poczęciem oraz w okresie ciąży, mogą wywierać trwały wpływ na organizm dziecka. Stan odżywienia kobiety w okresie ciąży ma znaczenie dla rozwoju u potomstwa takich chorób przewlekłych, jak cukrzyca typu 2, otyłość i schorzenia układu sercowo-naczyniowego [10].

W jednym z badań oceniono metylację DNA komórek krwi obwodowej potomstwa matek, których okres poczęcia lub ciąży przypadał w okresie holenderskiej głodowej zimy w latach 1944/1945. U potomstwa kobiet niedożywionych w okresie poczęcia stwierdzono zmniejszoną o około 5% metylację *IGF2-H19* [11]. Insulinopodobny czynnik wzrostu 2 (*IGF-2*, *insulin-like growth factor 2*) jest białkiem odpowiedzialnym głównie za wzrost łożyska i tkanek płodu, ale u ludzi podlega ekspresji tkankowej także w dorosłym życiu. H19 podlega intensywnej transkrypcji, ale nie translacji. Właściwym dla H19 produktem jest zatem RNA, które może pełnić funkcję supresora onkogenezy, jak również wpływać na procesy wzrostu i różnicowania — samodzielnie bądź współdziałając z *IGF-2*. W toku prawidłowego rozwoju na wczesnych etapach ciąży *IGF2-H19* podlega metylacji, przy czym w allelu matczynym wyciszeniu przez metylację podlega *IGF-2*, a w ojcowskim allelu — H19 [12]. Zmniejszenie metylacji u osób poczętych w czasie głodowej zimy stwierdzono w ich dorosłym wieku (około 60 lat). Świadczy to z jednej strony o trwałości modyfikacji epigenetycznych nabytych na wczesnym etapie rozwoju, z drugiej strony jednak nie pozwala wykluczyć powstania omawianych zmian w dowolnym etapie życia po narodzinach [11]. U rodzeństwa badanych osób, a także w grupie potomków kobiet, które w okresie głodowej zimy były w III trymestrze ciąży, nie stwierdzono obniżonej metylacji DNA, co sugeruje, że

modyfikacje epigenetyczne zostały nabyte właśnie na wczesnym etapie rozwoju prenatalnego [11].

Modyfikacje epigenetyczne prześlędzono także w szczurzym modelu restrykcji kalorycznej w okresie ciąży. Zaobserwowano wzrost aktywności deacetylaz histonowych HDAC1 i 4 oraz wzrost dimetylacji histonów H3 w rejonie DNA kodującym transporter glukozy 4. Zmiany te są na tyle trwałe, że obserwuje się je nadal u dorosłych osobników i mogą się one przyczynić do insulinooporności mięśni szkieletowych, a w konsekwencji — do rozwoju cukrzycy typu 2 [13].

Warto wspomnieć o wynikach długoterminowych badań, w których oceniano stopień metylacji ponad 200 genów u osób będących rodzeństwem, w którym starsze z dzieci urodziło się przed zabiegiem, a drugie po operacji ominięcia żołądkowo-jelitowego u matki [14]. Szczegółnej analizie poddano geny regulujące gospodarkę węglowodanową i kaskadę przekaźnictwa insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (*IGF-1*), których aktywność może prowadzić do rozwoju cukrzycy typu 2. Spośród badanych genów w przypadku sześciu wykazano znamienne różnicę w stopniu metylacji pomiędzy grupami rodzeństwa urodzonego przed i po operacji u matki, a także korelację pomiędzy metylacją, ekspresją i insulinemią na czczo. Były to geny: *CD28*, *CD247*, *CD3E*, *HLA-DM beta*, *HLA-DQ beta 1* oraz *STAT1* [14]. Zatem zarówno narażenie matki na głód [11], jak i jej nadmierna otyłość [14] mogą skutkować powstaniem trwałych modyfikacji epigenetycznych, polegających na zwiększeniu lub zmniejszeniu stopnia metylacji DNA.

Należy podkreślić, że metylacja specyficznych *loci* może być spowodowana także hiperglikemią w okresie ciąży, która ma miejsce w przebiegu cukrzycy ciężarnych [10].

Interesujących obserwacji dostarczyły badania, których przedmiotem był stopień metylacji genów kandydujących, mających wpływ na rozwój schorzeń metabolicznych. Za geny kandydujące uznano gen *LEP* dla leptyny i *ADIPOQ* dla adiponektyny. Leptyna powoduje zmniejszenie wrażliwości na insulinę, a jej zwiększoną ekspresję obserwuje się w otyłości i cukrzycy. Adiponektyna natomiast zwiększa insulinowrażliwość, działa przeciwzapalnie i przeciwmiążdżycowo [15, 16].

Określono stopień metylacji *LEP* i *ADIPOQ* zarówno w matczynych, jak i w płodowych tkankach łożyska u ciężarnych z zaburzeniami tolerancji glukozy. Stwierdzono, że wskaźnik insulinooporności HOMA-IR matki pozostaje w odwrotnej relacji ze stopniem metylacji *ADIPOQ* w matczynych tkankach łożyska. Natomiast glikemia u matki koreluje dodatnio z metylacją *LEP* w matczynych i ujemnie z metylacją *LEP* oraz *ADIPOQ* w płodowych tkankach łożyska. Oznacza to, że może istnieć związek między czynnikami epigenetycznymi a nietolerancją glukozy u ciężarnej. Co więcej, cukrzyca ciążowa u matki wpływa na stopień metylacji genów adipokin kluczowych dla regulacji metabolizmu płodu, zatem odmienna metylacja *LEP* i *ADIPOQ* może mieć odległe skutki, które ujawnią się dopiero po urodzeniu [15, 16].

Międzypokoleniowe dziedziczenie cukrzycy na bazie mechanizmów epigenetycznych

Zagadnienie dziedziczności cukrzycy pozostaje do tej pory nierozstrzygnięte. Z jednej strony obserwowany w ostatnich latach na całym świecie wzrost liczby nowych zachorowań jest zbyt duży, by przyczyniały się do niego jedynie czynniki genetyczne. Z drugiej zaś strony u 50% osób z cukrzycą typu 2 stwierdza się w wywiadzie występowanie tej choroby także wśród najbliższej rodziny [17].

Rozpoznano ponad 60 polimorfizmów genetycznych dotyczących pojedynczego nukleotydu, które mogą się przyczynić do rozwoju cukrzycy typu 2 w określonych warunkach środowiskowych. Jednak wpływ każdego z nich z osobna jest niewielki, a podłoże genetyczne cukrzycy można w zadowalający sposób uzasadnić jedynie u co dziesiątego chorego. Stąd w dziedziczeniu cukrzycy sugeruje się znaczenie nie tyle klasycznych czynników genetycznych, co właśnie mechanizmu epigenetycznego [17].

W modelu zwierzęcym zaobserwowano, że stres psychologiczny występujący w pokoleniu F0 (ojcowski) u myszy wpływa na występowanie zaburzeń gospodarki węglowodanowej w pokoleniu F1 [18]. Potomstwo zestresowanych myszy charakteryzuje się hiperglikemią spowodowaną zwiększoną glukoneogenezą na skutek nadekspresji karboksykinazy fosfoenolopirogronianowej (PEPCK), a czynnikiem sprawczym nadekspresji PEPCK w pokoleniu F1 jest hipermetylacja promotora genu *Sfmbt2* w wątrobie i związany z nią niedobór mikroRNA miR-466b-3p, będącego negatywnym regulatorem ekspresji PEPCK. Co więcej, hipermetylację *Sfmbt2* zaobserwowano także w nasieniu zestresowanych myszy F0. Badania te sugerują, że cukrzyca może się rozwijać u potomstwa rodziców niewykazujących zaburzeń gospodarki

węglowodanowej, ale podlegających przewlekłemu stresowi [18].

Modyfikacje epigenetyczne a przebieg cukrzycy typu 2

Enzymy odpowiedzialne za acetylację i deacetylację histonów mogą wpływać na wybrane wykładniki stanu zapalnego [19], co ma znaczenie dla przebiegu cukrzycy ze względu na towarzyszący cukrzycy typu 2 i otyłości przewlekły metaboliczny stan zapalny o niewielkim nasileniu, obserwowany w wielu tkankach chorego [20, 21]. Zaobserwowano bowiem, że HDAC 1, 2 i 3 negatywnie regulują ekspresję NFκB [19], czynnika transkrypcyjnego odpowiedzialnego za aktywację procesu zapalnego na wielu szlakach wewnątrzkomórkowych.

Interesujący jest fakt, że zarówno acetylotransferazy (HAT), jak również deacetylazy histonów (HDAC) podlegają ekspresji w tkance mózgowej, przy czym ekspresja HDAC zmienia się zależnie od zaopatrzenia energetycznego [19]. Odmienny profil ekspresji deacetylaz może być przyczyną zmodyfikowanej ekspresji genów podwzgórza, towarzyszącej skrajnym zmianom w sposobie żywienia. Do hormonów odmiennie wydzielanych przez podwzgórze w okresie głodzenia należą m.in. proopiomelanokortyna, neuropeptyd Aguti i tyreoliberyny — hormony mające ogromne znaczenie dla regulacji metabolizmu [22].

Należąca do HDAC sirtuina 1 podlega regulacji przez grelinę. W odpowiedzi na stymulację greliną kaskada SIRT1/p53 podlega aktywacji w podwzgórzu, co powoduje pobudzenie głodu [19]. Inna sirtuina, SIRT6, wykazuje związek ze wzrostem organizmu, regulacją glikemii i rozwojem otyłości. SIRT6 wpływa na acetylację H3 w różnych regionach mózgu, także tych pełniących funkcje endokryne [19].

Sirtuiny odpowiadają również za regulację transkrypcji genów wpływających na metabolizm wątrobowy. Restrykcja kaloryczna i głodzenie zwiększają deacetylację histonów przez SIRT1, czemu towarzyszy aktywacja PPARα oraz receptora wątrobowego X i farnesoidowego X. W rezultacie poprawiają się homeostaza glukozy i utlenianie kwasów tłuszczowych, zmniejszają się lipogeneza, otluszczenie wątroby i stan zapalny, a zwiększa zwrotny transport cholesterolu [19, 23].

Oprócz ośrodkowego układu nerwowego i wątroby HDAC mogą modyfikować także funkcję tkanki tłuszczowej i trzustki. HDAC 1 i 2 są pozytywnymi regulatorami adipogenezy, czego dowodzi obserwacja, że ich delecja zmniejsza spichrzanie tłuszczu. HDAC 9 i SIRT 1 oraz 2 są zaś regulatorami negatywnymi, ponieważ zwiększona ekspresja HDAC 9, SIRT1 lub SIRT2 powoduje hamowanie różnicowania preadipocytów

i zmniejsza adipogenezę, natomiast wyłączenie tych deacetylaz nasila różnicowanie i wzmacnia adipogenezę. SIRT1 nasila lipolizę przez represję PPAR γ , a SIRT2 reguluje liczne geny związane z adipogenezą, w tym *GLUT4* i gen dla syntazy kwasów tłuszczowych [19].

Dodatkowo, odkryto, że jedna z metylotransferaz histonowych — białko zawierające domenę SET 7 (Set7) — jest związana z wydzielaniem insuliny w odpowiedzi na zwiększenie stężenia glukozy. Set7 zawiera fragment działający specyficznie w komórkach β wysp trzustki i wywołujący w nich odpowiedź zbliżoną do wzbudzonej przez czynnik transkrypcyjny specyficzny dla trzustki i komórek β (Pdx1). Wyciszenie Set7 w komórkach β powoduje zaburzenie mobilizacji kanałów wapniowych i zaburzenie wydzielania insuliny w odpowiedzi na glukozę [24].

„Pamięć metaboliczna”. Znaczenie zmian epigenetycznych nabytych w przebiegu cukrzycy dla skuteczności terapii i rozwoju odległych powikłań

Wiele lat temu, na podstawie wyników badań DCCT/EDIC (*The Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group*) i UKPDS (*UK Prospective Diabetes Study Group*) [25, 26], zaobserwowano, że u chorych z dobrze wyrównaną cukrzycą, u których w przeszłości występowały epizody hiperglikemii, wciąż istnieje znaczne ryzyko rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy, w tym powikłań sercowo-naczyniowych [27, 28].

Oceniane z perspektywy czasu dane uzyskane w późniejszych badaniach klinicznych, takich jak ACCORD (*The Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes*), ADVANCE (*Action in Diabetes and Vascular disease: PreterAx and DiamicroN Controlled Evaluation*), VADT (*Veterans Affairs Diabetes Trial*) i Steno-2, zdają się potwierdzać istnienie zjawiska *legacy effect* — „spuścizny terapeutycznej” — zaobserwowanego w badaniu UKPDS. Okazało się bowiem, że większą korzyść ze ścisłej kontroli glikemii, ciśnienia tętniczego, lipidemii i leczenia przeciwzakrzepowego odnieśli ci uczestnicy, u których wcześniej nie występowały znaczna hiperglikemia ani schorzenia układu sercowo-naczyniowego. Natomiast wśród uczestników, u których już w chwili zakwalifikowania do udziału w badaniu występowały powikłania w obrębie układu sercowo-naczyniowego, ścisła kontrola glikemii nie przyniosła spodziewanych efektów, m.in. w zakresie redukcji częstości mikro- i makroangiopatii. Zatem warunkiem skutecznego zapobiegania powikłaniom cukrzycy powinno być wczesne wdrożenie intensywnej i wielokierunkowej terapii — na tyle wczesne, by zapobiec nagromadzeniu

zmian metabolicznych powodowanych przez hiperglikemii i hiperlipidemię [29].

Aktualny stan wiedzy potwierdza, że epizod hiperglikemii, po którym występuje długotrwały okres normalizacji glikemii, wywiera trwały efekt, istotny dla funkcjonowania organizmu [27], a samo zjawisko określa się najczęściej jako „pamięć metaboliczną”. Zaobserwowano, że przebyta hiperglikemia może m.in. trwale zwiększyć ekspresję genu dla fibronektyny, jednego ze składników macierzy zewnątrzkomórkowej, którego nagromadzenie odpowiada za liczne powikłania w obrębie nerek i serca u chorych na cukrzycę typu 2 [30]. Ponadto, zmiany powstające na skutek przemijającej hiperglikemii, które mogą prowadzić do powikłań sercowo-naczyniowych, obejmują także zwiększoną produkcję wolnych rodników i nagromadzenie produktów zaawansowanej glikacji (AGE, *advanced glycation end-products*) w obrębie mitochondriów, lipidów komórki, a nawet kwasów nukleinowych [31].

Co więcej, zachodzi także odwrotna zależność pomiędzy okresowym występowaniem lub niewystępowaniem hiperglikemii a rozwojem przewlekłych powikłań cukrzycy. Dowiedziono, że włączenie, nawet na krótki czas, intensywnej insulinoterapii przy wykorzystaniu pompy insulinowej z uzyskaniem dobrej kontroli glikemii, nawet jeśli później stosowano konwencjonalne leczenie, wiąże się ze zmniejszeniem częstości występowania retinopatii, a efekt ten jest istotny statystycznie nawet po 10 latach prowadzenia leczenia [32].

Uważa się, że podłożem opisanych zależności są właśnie mechanizmy epigenetyczne leżące u podłoża zjawiska określanego mianem „pamięci metabolicznej” [28]. Do poparcia tej tezy przyczyniają się niedawno opublikowane wyniki badania, które przeprowadzili Chen i wsp. [33]. Badacze oceniali stopień metylacji wybranych *loci* w obrębie całego genomu wśród uczestników badania EDIC w odstępie ponad 16 lat. Wykazano, że profil metylacji DNA uczestników badania, którzy byli poddani terapii konwencjonalnej i u których rozwinęła się retinopatia bądź mikroalbuminuria, różni się od profilu metylacji DNA uczestników, u których wdrożono intensywną kontrolę glikemii. Wyłącznie w grupie leczonej konwencjonalnie, w której nie osiągnęto prawidłowej kontroli glikemii, stwierdzono m.in. trwałą hipometylację genu dla białka reagującego z tioredoksyną (TXNIP, *thioredoxin-interacting protein*), której konsekwencją może być zwiększona ekspresja tego białka [33].

TXNIP jest białkiem proapoptotycznym i prooksydacyjnym, indukowanym przez stres komórkowy związany z hiperglikemią, a nadmierna ekspresja TXNIP ma związek z występowaniem powikłań cukrzycy. Ponadto wykazano, że zwiększona ekspresja TXNIP wiedzie także

do wzmożonej modyfikacji posttranslacyjnej w obrębie histonów. Na tej podstawie można wnioskować o bezpośrednim związku między hiperqlikemią, modyfikacjami epigenetycznymi w obrębie DNA i prawdopodobnie także w obrębie histonów a występowaniem powikłań cukrzycy — retinopatii i nefropatii.

Regulacja epigenetyczna, decydująca o powstaniu pamięci metabolicznej, obejmuje nie tylko podwójną nić DNA, ale także miRNA. Hiperqlikemia powoduje m.in. zmiany w miRNA powodującym długotrwałą aktywację NFκB, utrzymującą się nawet po normalizacji glikemii. Na skutek jednoczesnego zmniejszenia ekspresji SIRT1 przeważa NFκB w postaci acetylowanej. Acetylowany NFκB zakłóca procesy naprawcze w organizmie i wpływa na pogorszenie interakcji między komórkami [31]. Efekty modyfikacji w obrębie miRNA są długotrwałe, ponieważ większość miRNA tworzy kompleks z białkiem Ago2, odporny na działanie zarówno proteaz, jak i nukleaz [5].

Regulacja epigenetyczna odgrywa zatem istotną rolę w odniesieniu do rozwoju przewlekłych powikłań cukrzycy typu 2, wpływając na częstość występowania powikłań sercowo-naczyniowych, neuropatii, nasilenia stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego, a także na zakłócanie komunikacji międzykomórkowej i procesów naprawczych.

W konsekwencji powyższych obserwacji i wniosków kluczowe znaczenie wydaje się mieć odpowiedź na pytanie, czy leki stosowane w terapii cukrzycy wywierają jakikolwiek wpływ na czynniki epigenetyczne. Jednym z lepiej poznanych pod tym względem leków jest metformina — silny aktywator SIRT1, przywracający zaburzoną na skutek hiperqlikemieii równowagę między acetylazami i deacetylazami. Metformina odwraca zmiany związane ze starzeniem się komórek w warunkach hiperqlikemieii i zmniejsza aktywację wolnorodniową oraz stan zapalny. Niestety, protekcyjne działanie metforminy obejmuje tylko tkanki obwodowe, nie jest natomiast jasne, czy wywiera ona także korzystny wpływ na ośrodkowy układ nerwowy [31].

Inną grupę leków, które mogą korzystnie modyfikować przebieg cukrzycy typu 2, wpływając na czynniki epigenetyczne, stanowią analogi inkretyn i inhibitory dipeptydylopeptydazy 4 (DPP-4) [31]. Wykazano, że endogenne inkretyny zmniejszają ekspresję genu *Fxyd3* poprzez metylację jego promotora, a nadmierna ekspresja *Fxyd3*, występująca w przebiegu cukrzycy typu 2, wiąże się ze zmniejszeniem wydzielania insuliny przez komórki β wysp trzustki w odpowiedzi na glukozę [34]. Można zatem przypuszczać, że poprawa czynności komórek β u chorych na cukrzycę typu 2, obserwowana pod wpływem leków naśladujących działanie endogennych inkretyn (analogów) bądź leków hamujących

degradację natywnych inkretyn (inhibitory DPP-4), jest w dużej mierze związana z wpływem tych leków na czynniki epigenetyczne [31].

Zaobserwowano też, że fenofibrat, stosowany w leczeniu hipertriglicerydemii u chorych na cukrzycę, modyfikuje pamięć metaboliczną w mechanizmie podobnym do działania metforminy, działając przeciwnie, zwiększając aktywację SIRT1 i zacierając ślady komórkowej pamięci hiperqlikemieii [35].

Podsumowanie

Modyfikacje epigenetyczne mogą wpływać na fenotyp, a w związku z tym na przebieg cukrzycy typu 2. Nie tylko stanowią one czynniki ryzyka rozwoju cukrzycy oraz rozwoju i progresji jej powikłań, ale w przyszłości ich znajomość może być wykorzystywana w leczeniu cukrzycy jako element terapii spersonalizowanej.

PIŚMIENNICTWO

1. Deans C, Maggert KA. What do you mean, Genetics. 2015; 199(4): 887–896, doi: [10.1534/genetics.114.173492](https://doi.org/10.1534/genetics.114.173492), indexed in Pubmed: [25855649](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25855649/).
2. Russo V, Martienssen RA, Riggs AD. Epigenetic Mechanisms of Gene Regulation. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press 1996.
3. Probst AV, Dunleavy E, Almouzni G. Epigenetic inheritance during the cell cycle. Nat Rev Mol Cell Biol. 2009; 10(3): 192–206, doi: [10.1038/nrm2640](https://doi.org/10.1038/nrm2640), indexed in Pubmed: [19234478](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19234478/).
4. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals. Nat Genet. 2003; 33 Suppl: 245–254, doi: [10.1038/ng1089](https://doi.org/10.1038/ng1089), indexed in Pubmed: [12610534](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12610534/).
5. Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, et al. Characterization of extracellular circulating microRNA. Nucleic Acids Res. 2011; 39(16): 7223–7233, doi: [10.1093/nar/gkr254](https://doi.org/10.1093/nar/gkr254), indexed in Pubmed: [21609964](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21609964/).
6. Chuang JC, Jones PA. Epigenetics and microRNAs. Pediatr Res. 2007; 61(5 Pt 2): 24R–29R, doi: [10.1203/pdr.0b013e31804557684](https://doi.org/10.1203/pdr.0b013e31804557684), indexed in Pubmed: [17413852](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17413852/).
7. McGee SL, Hargreaves M. Histone modifications and exercise adaptations. J Appl Physiol (1985). 2011; 110(1): 258–263, doi: [10.1152/jappphysiol.00979.2010](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00979.2010), indexed in Pubmed: [21030677](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21030677/).
8. Cencioni C, Spallotta F, Martelli F, et al. Oxidative stress and epigenetic regulation in ageing and age-related diseases. Int J Mol Sci. 2013; 14(9): 17643–17663, doi: [10.3390/ijms140917643](https://doi.org/10.3390/ijms140917643), indexed in Pubmed: [23989608](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23989608/).
9. Klose RJ, Bird AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators. Trends Biochem Sci. 2006; 31(2): 89–97, doi: [10.1016/j.tibs.2005.12.008](https://doi.org/10.1016/j.tibs.2005.12.008), indexed in Pubmed: [16403636](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16403636/).
10. El Hajj N, Schneider E, Lehnen H, et al. Epigenetics and life-long consequences of an adverse nutritional and diabetic intrauterine environment. Reproduction. 2014; 148(6): R111–R120, doi: [10.1530/REP-14-0334](https://doi.org/10.1530/REP-14-0334), indexed in Pubmed: [25187623](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25187623/).
11. Heijmans BT, Tobi EW, Stein AD, et al. Persistent epigenetic differences associated with prenatal exposure to famine in humans. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008; 105(44): 17046–17049, doi: [10.1073/pnas.0806560105](https://doi.org/10.1073/pnas.0806560105), indexed in Pubmed: [18955703](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18955703/).
12. Nordin M, Bergman D, Halje M, et al. Epigenetic regulation of the Igf2/H19 gene cluster. Cell Prolif. 2014; 47(3): 189–199, doi: [10.1111/cpr.12106](https://doi.org/10.1111/cpr.12106), indexed in Pubmed: [24738971](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24738971/).
13. Raychaudhuri N, Raychaudhuri S, Thamocharan M, et al. Histone code modifications repress glucose transporter 4 expression in the intrauterine growth-restricted offspring. J Biol Chem. 2008;

- 283(20): 13611–13626, doi: [10.1074/jbc.M800128200](https://doi.org/10.1074/jbc.M800128200), indexed in Pubmed: [18326493](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18326493/).
14. Guénard F, Deshaies Y, Cianflone K, et al. Differential methylation in glucoregulatory genes of offspring born before vs. after maternal gastrointestinal bypass surgery. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013; 110(28): 11439–11444, doi: [10.1073/pnas.1216959110](https://doi.org/10.1073/pnas.1216959110), indexed in Pubmed: [23716672](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23716672/).
 15. Bouchard L, Thibault S, Guay SP, et al. Leptin gene epigenetic adaptation to impaired glucose metabolism during pregnancy. *Diabetes Care*. 2010; 33(11): 2436–2441, doi: [10.2337/dc10-1024](https://doi.org/10.2337/dc10-1024), indexed in Pubmed: [20724651](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20724651/).
 16. Bouchard L, Hivert MF, Guay SP, et al. Placental adiponectin gene DNA methylation levels are associated with mothers' blood glucose concentration. *Diabetes*. 2012; 61(5): 1272–1280, doi: [10.2337/db11-1160](https://doi.org/10.2337/db11-1160), indexed in Pubmed: [22396200](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22396200/).
 17. Rathmann W, Scheidt-Nave C, Roden M, et al. Type 2 diabetes: prevalence and relevance of genetic and acquired factors for its prediction. *Dtsch Arztebl Int*. 2013; 110(19): 331–337, doi: [10.3238/arztebl.2013.0331](https://doi.org/10.3238/arztebl.2013.0331), indexed in Pubmed: [23762204](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23762204/).
 18. Wu L, Lu Y, Jiao Y, et al. Paternal Psychological Stress Reprograms Hepatic Gluconeogenesis in Offspring. *Cell Metab*. 2016; 23(4): 735–743, doi: [10.1016/j.cmet.2016.01.014](https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.01.014), indexed in Pubmed: [26908462](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26908462/).
 19. Iyer A, Fairlie DP, Brown L. Lysine acetylation in obesity, diabetes and metabolic disease. *Immunol Cell Biol*. 2012; 90(1): 39–46, doi: [10.1038/icb.2011.99](https://doi.org/10.1038/icb.2011.99), indexed in Pubmed: [22083525](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22083525/).
 20. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol*. 2011; 29: 415–445, doi: [10.1146/annurev-immunol-031210-101322](https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322), indexed in Pubmed: [21219177](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21219177/).
 21. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006; 116(7): 1793–1801, doi: [10.1172/JCI29069](https://doi.org/10.1172/JCI29069), indexed in Pubmed: [16823477](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16823477/).
 22. Funato H, Oda S, Yokofujita J, et al. Fasting and high-fat diet alter histone deacetylase expression in the medial hypothalamus. *PLoS One*. 2011; 6(4): e18950, doi: [10.1371/journal.pone.0018950](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018950), indexed in Pubmed: [21526203](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21526203/).
 23. Schug TT, Li X. Sirtuin 1 in lipid metabolism and obesity. *Ann Med*. 2011; 43(3): 198–211, doi: [10.3109/07853890.2010.547211](https://doi.org/10.3109/07853890.2010.547211), indexed in Pubmed: [21345154](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21345154/).
 24. Siebel AL, Fernandez AZ, El-Osta A. Glycemic memory associated epigenetic changes. *Biochem Pharmacol*. 2010; 80(12): 1853–1859, doi: [10.1016/j.bcp.2010.06.005](https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.06.005), indexed in Pubmed: [20599797](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20599797/).
 25. Lachin JM, Genuth S, Cleary P, et al. Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications Research Group. Retinopathy and nephropathy in patients with type 1 diabetes four years after a trial of intensive therapy. *N Engl J Med*. 2000; 342(6): 381–389, doi: [10.1056/NEJM200002103420603](https://doi.org/10.1056/NEJM200002103420603), indexed in Pubmed: [10666428](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10666428/).
 26. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ*. 1998; 317(7160): 703–713, doi: [10.1136/bmj.317.7160.703](https://doi.org/10.1136/bmj.317.7160.703), indexed in Pubmed: [9732337](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9732337/).
 27. Cencioni C, Spallotta F, Greco S, et al. Epigenetic mechanisms of hyperglycemic memory. *Int J Biochem Cell Biol*. 2014; 51: 155–158, doi: [10.1016/j.biocel.2014.04.014](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.04.014), indexed in Pubmed: [24786298](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24786298/).
 28. Brasacchio D, Okabe J, Tikellis C, et al. Hyperglycemia induces a dynamic cooperativity of histone methylase and demethylase enzymes associated with gene-activating epigenetic marks that coexist on the lysine tail. *Diabetes*. 2009; 58(5): 1229–1236, doi: [10.2337/db08-1666](https://doi.org/10.2337/db08-1666), indexed in Pubmed: [19208907](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19208907/).
 29. Bianchi C, Del Prato S. Metabolic memory and individual treatment aims in type 2 diabetes — outcome-lessons learned from large clinical trials. *Rev Diabet Stud*. 2011; 8(3): 432–440, doi: [10.1900/RDS.2011.8.432](https://doi.org/10.1900/RDS.2011.8.432), indexed in Pubmed: [22262079](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22262079/).
 30. Roy S, Sala R, Cagliero E, et al. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990; 87(1): 404–408, doi: [10.1073/pnas.87.1.404](https://doi.org/10.1073/pnas.87.1.404), indexed in Pubmed: [2296596](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2296596/).
 31. Berezin A. Metabolic memory phenomenon in diabetes mellitus: Achieving and perspectives. *Diabetes Metab Syndr*. 2016; 10(2 Suppl 1): S176–S183, doi: [10.1016/j.dsx.2016.03.016](https://doi.org/10.1016/j.dsx.2016.03.016), indexed in Pubmed: [27025794](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27025794/).
 32. Nathan DM, Genuth S, Lachin J, et al. Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993; 329(14): 977–986, doi: [10.1056/nejm199309303291401](https://doi.org/10.1056/nejm199309303291401), indexed in Pubmed: [8366922](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8366922/).
 33. Chen Z, Miao F, Paterson AD, et al. DCCT/EDIC Research Group. Epigenomic profiling reveals an association between persistence of DNA methylation and metabolic memory in the DCCT/EDIC type 1 diabetes cohort. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016; 113(21): E3002–E3011, doi: [10.1073/pnas.1603712113](https://doi.org/10.1073/pnas.1603712113), indexed in Pubmed: [27162351](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27162351/).
 34. Vallois D, Niederhäuser G, Ibberson M, et al. Gluco-incretins regulate beta-cell glucose competence by epigenetic silencing of Fxyd3 expression. *PLoS One*. 2014; 9(7): e103277, doi: [10.1371/journal.pone.0103277](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103277), indexed in Pubmed: [25058609](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25058609/).
 35. Zhao S, Li J, Wang Na, et al. Fenofibrate suppresses cellular metabolic memory of high glucose in diabetic retinopathy via a sirtuin 1-dependent signalling pathway. *Mol Med Rep*. 2015; 12(4): 6112–6118, doi: [10.3892/mmr.2015.4164](https://doi.org/10.3892/mmr.2015.4164), indexed in Pubmed: [26238659](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26238659/).
 36. Sterner DE, Berger SL. Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000; 64(2): 435–459, indexed in Pubmed: [10839822](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10839822/).
 37. Wegner M, Pioruńska-Stolzmann M, Jagodziński PP. Wpływ modyfikacji struktury chromatyny na rozwój przewlekłych powikłań cukrzycowych. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2015; 69: 964–968, doi: [10.5604/17322693.1165198](https://doi.org/10.5604/17322693.1165198), indexed in Pubmed: [26400882](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26400882/).
 38. Chen M, Zhang L. Epigenetic mechanisms in developmental programming of adult disease. *Drug Discov Today*. 2011; 16(23–24): 1007–1018, doi: [10.1016/j.drudis.2011.09.008](https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.09.008), indexed in Pubmed: [21945859](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21945859/).
 39. Seto E, Yoshida M. Erasers of histone acetylation: the histone deacetylase enzymes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014; 6(4): a018713, 1–26, doi: [10.1101/cshperspect.a018713](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018713), indexed in Pubmed: [24691964](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24691964/).