

Spontan Preterm Doğum

Genetik Yatkınlığın (polimorfizm) Değerlendirilmesi

“Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), selenoprotein S (SEPS1), antimicrobial peptides (DEFB1 and MBL2) and “Jun N-Terminal kinase (JNK)/Caspase 3(CASP3)”

Dr.Oya Demirci

SBÜ, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Perinatoloji Kliniği

Perinatal Medicine 2019

9-11 May 2019, Hilton Hotel • İzmir, Turkey



- **Preterm doğumda genetik yatkınlığı destekleyen kanıtlar:**

Preterm doğumun belirli ailelerde toplanması

Preterm doğum oranında ırksal eşitsizlik

Preterm doğumla ilişkili duyarlılık genlerinin saptanması

Kalıtımın ölçülebilirliği

- **Ailesel ve ikiz bazlı çalışmalar, maternal ve fetal genetiğin doğum zamanlaması ve spontan preterm doğumla ilişkili olduğunu göstermiştir.**

- Gen-çevre etkileşimlerinin spesifik allellerin etkisini arttırdığına dair kanıtlar artmaktadır

- Preterm doğum risk faktörlerinin % 30'u genetik faktörler ile ilişkilidir.

ACOG, 2018 Clinical Opinion

Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition

- Preterm doğumla ilişkili genlerin bulunmasında genetik ve genomik teknolojideki gelişmelere rağmen istenen düzeyde başarı elde edilememiştir.

- Buna karşılık;

“Yetişkinlerde ve çocuklarda inflamatuvar yanıtın doğasının ve yoğunluğunun genetik kontrol altında olduğunu gösteren çok güçlü kanıtlar vardır.”

***İnflamasyon preterm doğumda önemli etyolojik faktörlerden biridir. → Spontan preterm doğumda patolojik inflamasyonun genetik bir yatkınlığa bağlı olup olmadığına yönelik araştırmalar başlamıştır.**

ACOG, 2018 Clinical Opinion
Spontaneous preterm birth: advances toward the discovery of genetic predisposition

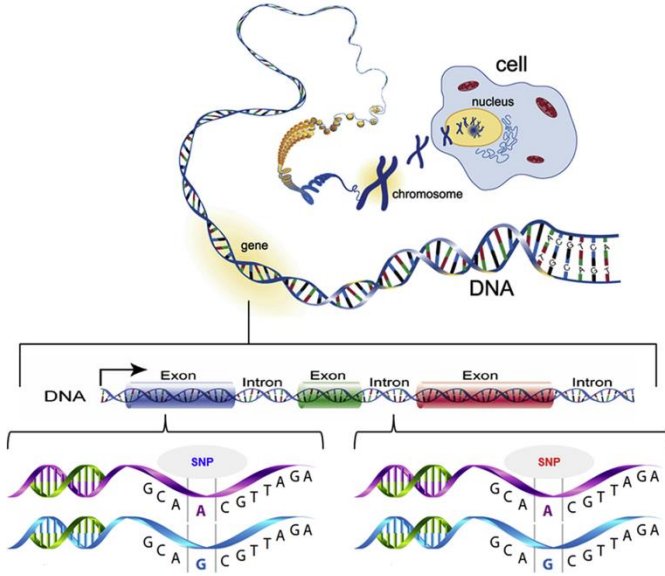
Genetik Yaklaşımlar

- Aday gen yaklaşımı (candidate gene approach)
- Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS)
- Whole genome/ Whole-Exome Sequencing Approach

Kompleks hastalıkların genetik belirleyicilerini anlamakta ve aynı biyolojik yolağa sahip olduğu düşünülen hastalıklardaki genetik mekanizmaları belirlemede kullanılır.

Candidate Gene Approach

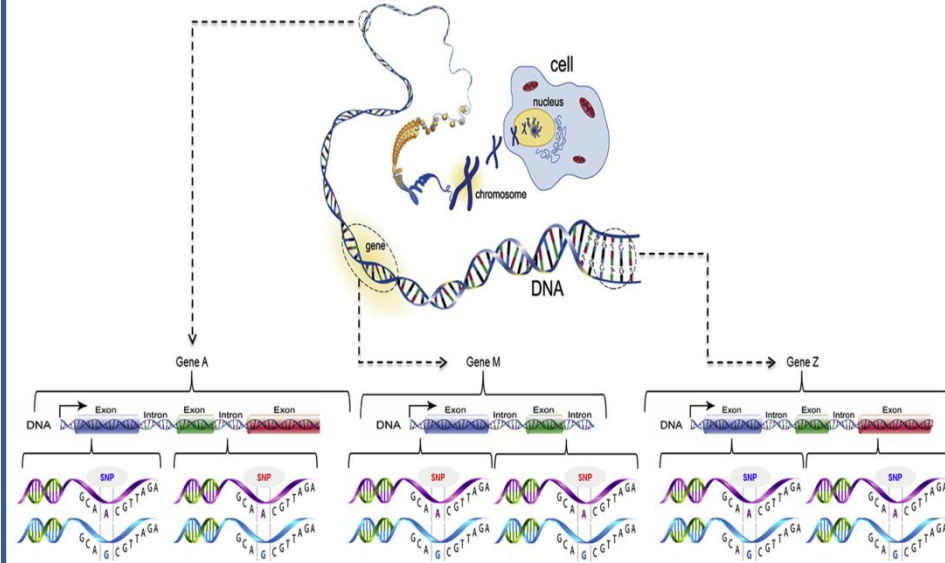
SNPs surveyed in one specific gene



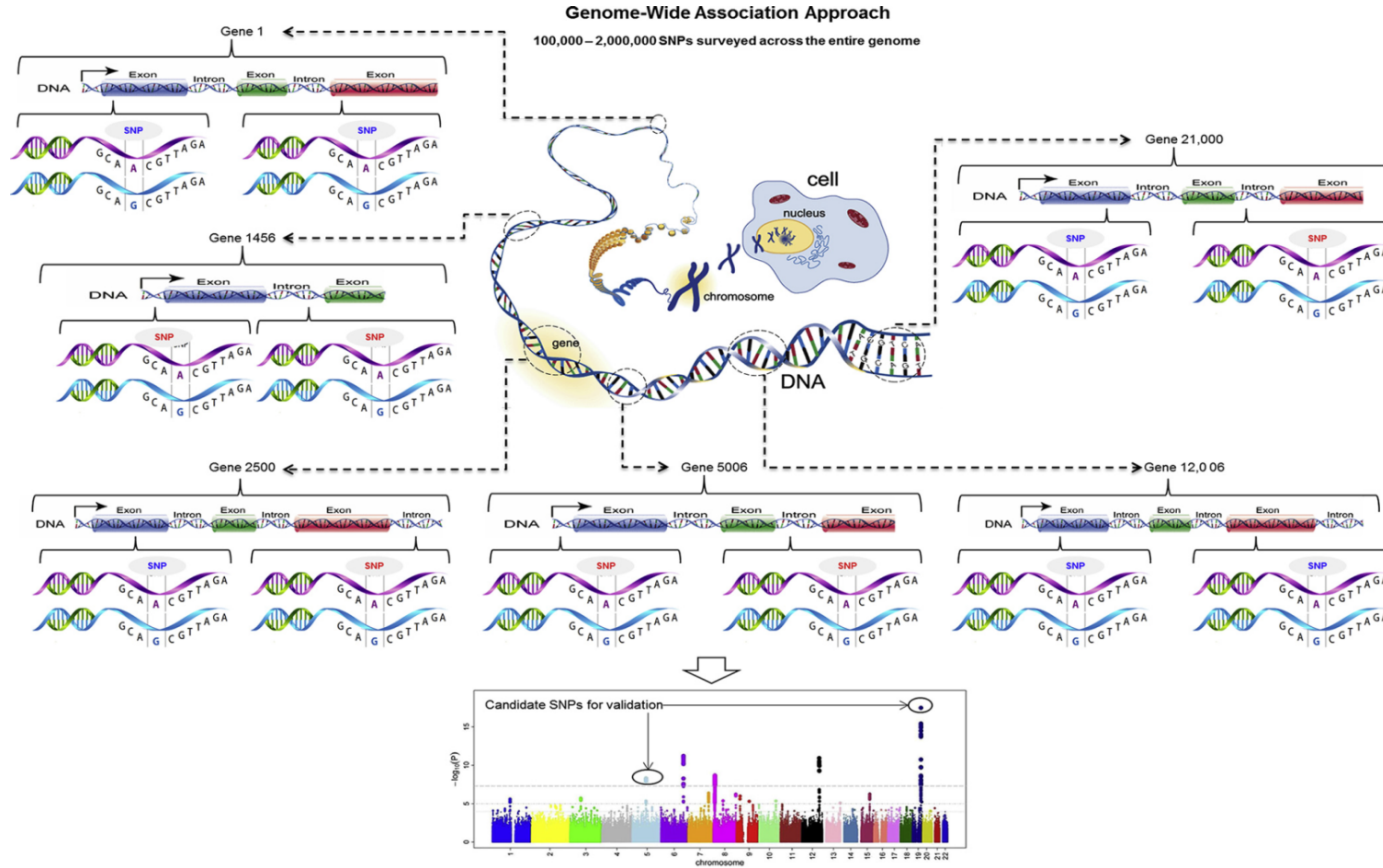
Bu teknik genetik varyantların (tek nükleotid polimorfizmleri) genom içindeki tek bir gende tespitini içerir. Tek nükleotid polimorfizmler, genlerin kodlama dizileri (eksonlar; mavi), genlerin kodlanmayan bölgeleri veya intergenik bölgelerde (intronlar; kırmızı) olabilir.

Multiple Candidate Gene Approach

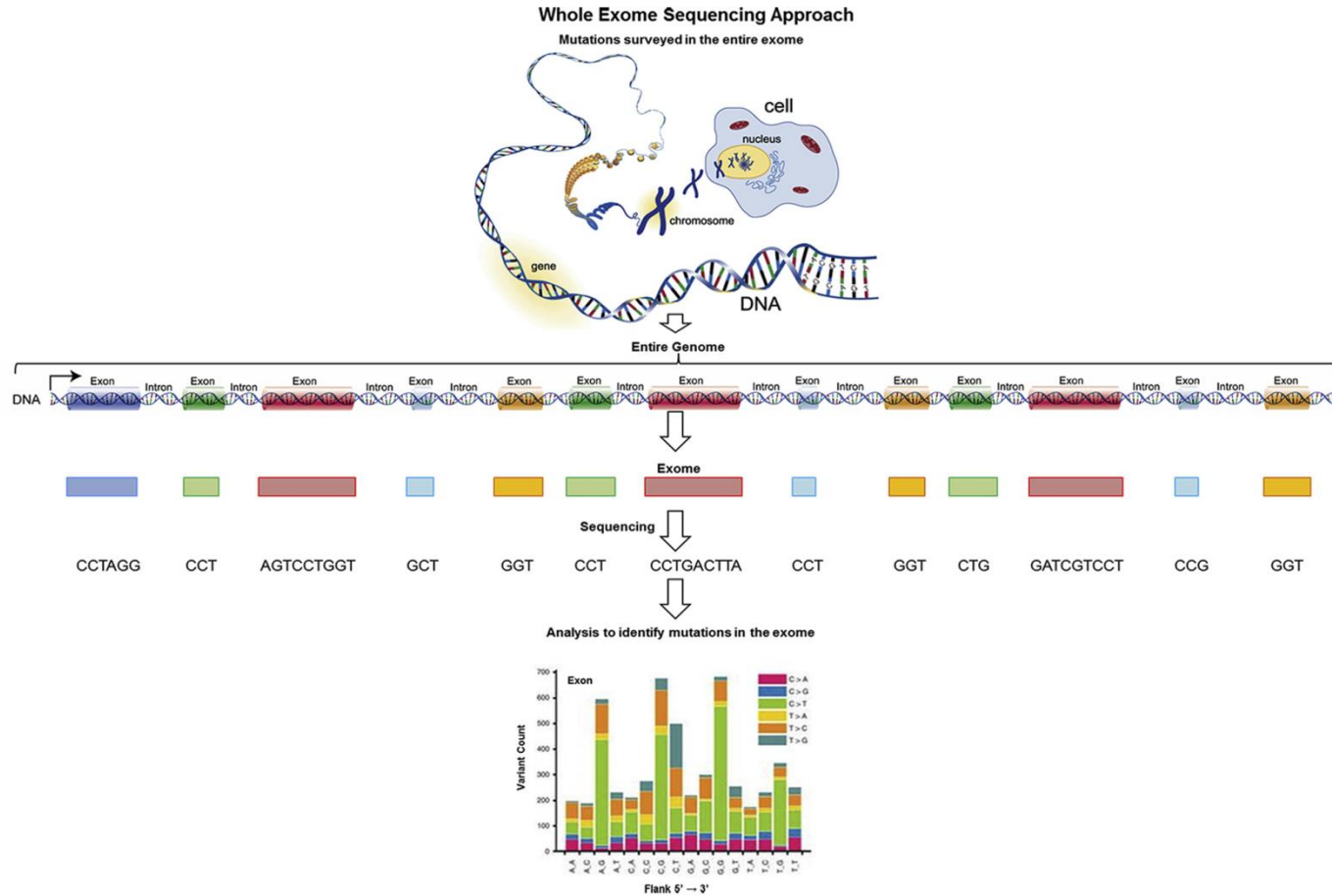
SNPs surveyed in several specific genes



Bu teknik, genom içindeki çoklu genlerde genetik varyantların (tek nükleotid polimorfizmleri) tespitini içerir. Tek nükleotid polimorfizmler, genlerin kodlama dizileri (eksonlar; mavi), genlerin kodlanmayan bölgeleri veya intergenik bölgelerde (intronlar; kırmızı) olabilir.



Bu teknik, genomun genelinde yüz binlerce tek nükleotid polimorfizminin analizini içerir. Önceden var olan genetik değişkenleri ve daha önce göz önünde bulundurulmamış yeni genleri, düzenleyici yerleri ve yolakları tanımlama fırsatı sunar. Tek nükleotid polimorfizmler, genlerin kodlama dizileri (eksonlar; mavi), genlerin kodlanmayan bölgeleri veya intergenik bölgelerde (intronlar; kırmızı) olabilir.



Bu teknik, protein kodlayan genlerin (ekzom) bir genomdaki tam karakterizasyonunu (nükleotit kompozisyonu) gerektirir. Ekzom bölgeleri genomun <% 2'si oluşturur ancak hastalık ile ilgili bilinen değişkenlerin% 85'i bu bölgelerdedir. Veri analizi eksomdaki mutasyonların tanımlanmasına yol açar. **Kompleks hastalıkların kalıtımı ile ilişkili nadir değişkenlerin bulunmasına olanak sağlar.**

Aday Gen Yaklaşımı (Candidate gen approach)

SEPS1 G-105A promotör polimorfizm

- **Selenoprotein S (SEPS1):** İnflamatuar yanıtın düzenlenmesinde rol oynayan yeni bir proteindir. ER membranında bulunarak ER lümeninden yanlış katlanmış proteinlerin atılımını sağlar, antiapoptotik rolü vardır ve periferik makrofajlarda ER stresini azaltır.
- SEPS1 ekspresyonu, interlökin-1 β , interlökin-6, interlökin-8 ve monosit kemotaktik protein-1'i içeren TNF-a kaynaklı enflamatuar faktörleri düzenler .
- **SEPS1 G-105A promotör polimorfizmi** sonucu Selenoprotein S ekspresyonu azalır ve TNF α , IL-6, IL1 β gibi pro-enflamatuar sitokin ekspresyonunu artır.
- SEPS1 G-105A polimorfizmi spontan preterm doğum riski ile ilişkilendirilmiştir.

The SEPS1 G-105A polymorphism is associated with risk of spontaneous preterm birth in a Chinese population.

Yan Wang et al. PLoS One 2013

Aday Gen Yaklaşımı (Candidate gen approach)

MCP-1 G-2518A polymorphism

- **Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1):** Spontan preterm doğumun patogenezinde rol oynayan önemli bir kemokindir. İnflamasyonun başlamasında ve progresyonunda rol oynar. Preterm doğurmuş kadınlardan alınan amniotik sıvı ve servikovajinal sıvıda yüksek miktarda bulunur (enf. olsun ya da olmasın)
- ***MCP-1 G-2518A promotör polymorphism***
AA genotipli kişilerde daha fazla MCP-1 ekspresyonu olmaktadır. **2518AA genotipinin** <32 gebelik haftalarında spontan preterm doğum riskini arttırdığı görülmüştür.

Aday Gen Yaklaşımı (Candidate gen approach)

Jun N-Terminal Kinase (JNK)/Caspas 3(CASP3)

- Reaktif oksijen türleri ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik, **trofoblast apoptozu tetikleyen JNK/ CASP3** genlerinin ekspresyonunu etkileyip doğumu başlatabilir. JNK apoptoziste killit rol oynayan regülatör gendir.
- Bakteriyel lipopolisakkaritler → JNK'yı aktive eder → prostaglandin sentezinde rol olan PLA2 ve COX-2'nin artışına ve ayrıca myometriumda doğumla ilişkili sitokinlerin uyarılmasına yol açar.

Pirianov et al. Reproduction 2015;150: 269–277

- JNK / CASP3'ün (**Kr14: 59504321 /Kr4: 184628935**) TT / GA genotipini taşıyan gebe kadınlar sPTD'a karşı GT / GA (referansımız) genotipini taşıyan kadınlardan daha duyarlı olarak saptanmıştır.

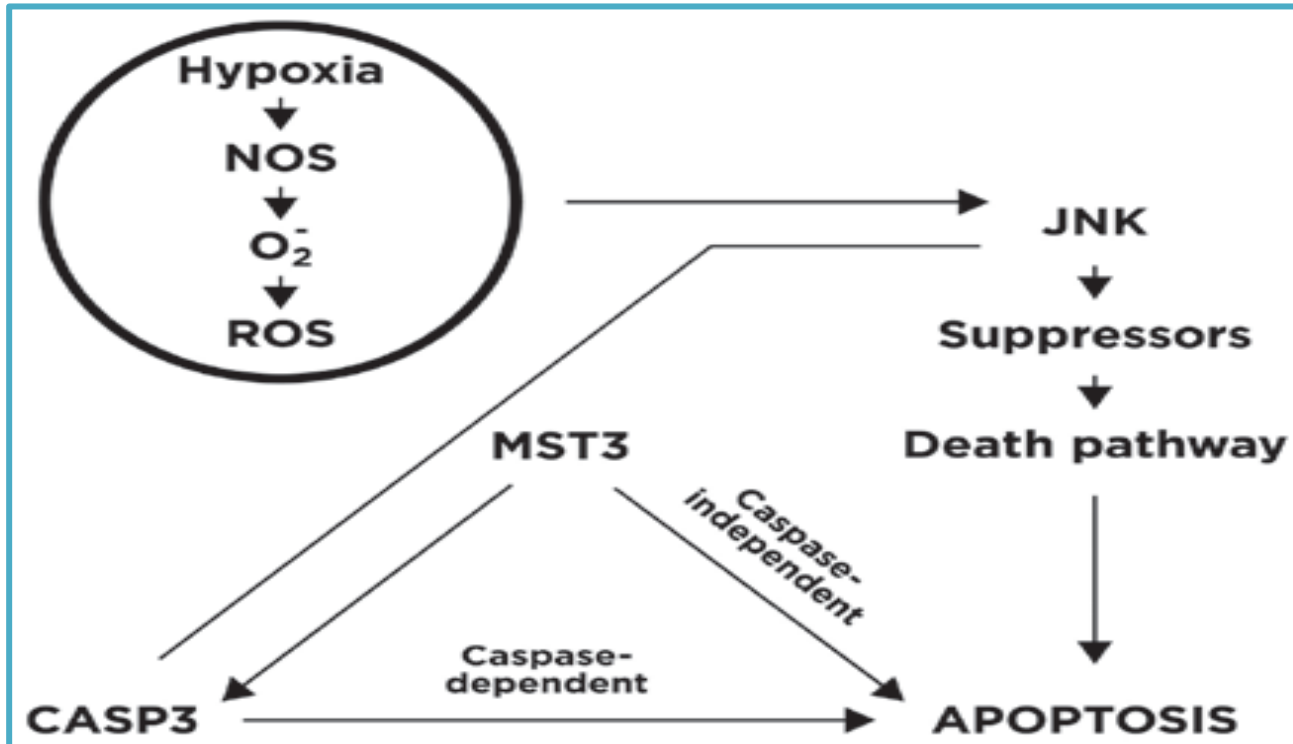


Figure 2. Schematic diagram detailing the hypoxia-induced signaling pathway in placental apoptosis. NOS, nitric oxide synthase; ROS, reactive oxygen species; JNK, c-Jun N-terminal kinase; MST3, mammalian STE20-like protein kinase 3, CASP3, caspase 3.

Genom apında İlişkilendirme alışmaları

Genome-wide association studies/GWAS

- İstatistiksel olarak önemli bir gen lokusunun belirlenmesi için çok sayıda vaka ve kontrol gereklidir.
- Bugüne kadar bildirilen GWAS preterm doğum için bilgilendirici olmamıştır ve doğuştan gelen immün aday genlerin önemini doğrulamamıştır.
- 43568 kadın nüfusunu inceleyen çok yeni bir GWAS da, <37 haftada doğum yapmış gebelerde 14 aday gen lokusu gebelik süresi ile ilişkili bulunmuş.
- * Bulunan bu lokuslar 3 İskandinav doğum çalışmasında yer alan erken doğum yapmış 8643 kadın ve 4090 bebek te çalışılmış.
- *Altı genetic lokus (EBF1, EEFSEC, AGTR2, WNT4, ADCY5 ve RAP2C) gebelik süresi ile anlamlı şekilde ilişkili bulunmuştur.
- ***EBF1, EEFSEC, AGTR2** lokuslarındaki değişkenler preterm doğum ile ilişkili bulunmuştur

Genom Çapında İlişkilendirme Çalışmaları Genome-wide association studies/GWAS



EBF1 (Early B-cell Faktör 1): B-hücre gelişiminde yer alan bir proteini kodlar.

EEF-SEC (Eukaryotic Elongation Factor, Selenocysteine-tRNA-specific) :
Selenoproteinlerin üretiminde rol alan bir proteini kodlar

AGTR2 (Angiotensin II Receptor, Type 2) : Tip 2 anjiyotensin-II reseptörünü kodlar. Uteroplasental dolaşımı modüle eder.

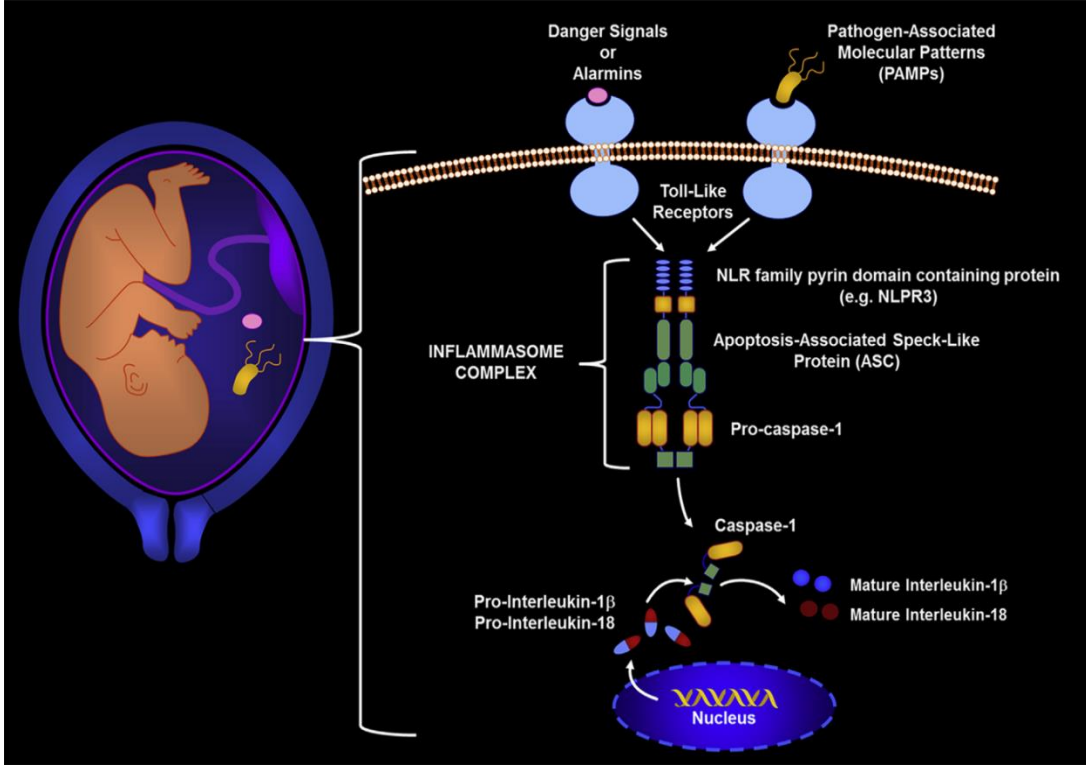
Whole-Exome Sequencing Approach

- Son zamanlarda yapılan WES çalışmasında, **doğal immün cevabı ve anti-mikrobiyal proteinleri** negatif yönde etkileyen nadir gen mutasyonları bulunmuştur.
- Bu bulgular, preterm doğum eyleminin, en azından kısmen, patojenler (intraamniyotik enfeksiyon) veya hücrel stres veya nekroz (steril intraamniyotik inflamasyon) sırasında salınan tehlike sinyaller tarafından tetiklenebilen bir enflamatuvar etiyolojiye sahip olduğu kavramını desteklemektedir.

* **Doğal immün cevap:** CARD6, CARD8, NLRP10, NLRP12, NOD2, TLR10

Antimikrobiyal proteinler: Defensin (DEFB1), Mannose binding lectin (MBL)

Korioamniyotik membranlarda inflammasome aktivasyonunun temel mekanizması



CARD: Caspase Recruitment Domain Family

NLRP10: NLR Family pyrin domain containing 10

NOD2: Nucleotide oligomerization domain

TLR10: Toll-Like Receptor

Amniyotik kavitedeki patojen ile ilişkili moleküler paternler ve / veya tehlike sinyalleri amniotik membrandaki inflammasome kompleksinin aktivasyonunu / düzeneğini tetikleyebilir. Inflammasome kompleksi (nucleotide oligomerization domain family pyrin domain containing protein [ör. NLRP3] + adaptor protein [ASC or apoptosis-associated speck-like protein] + procaspase-1)

- **DEFB1 ve MBL2:** Antimikrobiyal proteinleri kodlayarak fetal membranları enfeksiyon ajanlarına karşı korurlar. Bu genlerde nonsense mutasyon aktif peptid oluşumunu azaltıyor. Bu mutasyonlar Afrika popülasyonunda Avrupa popülasyonuna göre >10 kat daha fazla saptanmıştır.

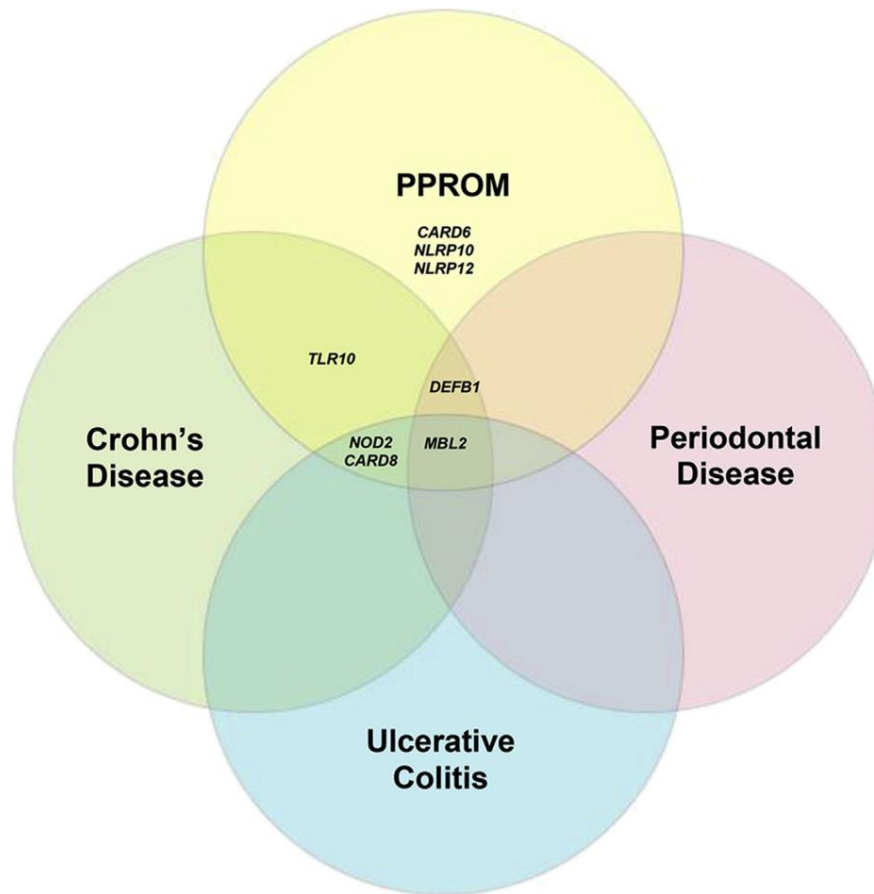
- **TLR-10** nu kodlayan gende polimorfizm sonucu TLR inflamatuvar yolağı negatif yönde etkilemektedir.

- **NOD2:** İntraselüler bir molekül, bakteriyel peptidoglikanı inflammasome kompleksi oluşmadan tanır → nükleer faktör kappa yı aktive eder → pro-IL1 β ve pro-IL18 ekspresyonunu indükler.

- **CARD-6, CARD-8:** Bu proteinin, NFKB aktivasyonunu, CASP1'e bağlı IL1B sekresyonunu negatif yönde düzenler. Nonsense ve frame-shift mutasyonu bu peptidin oluşumunu bozar.

PPROM vakalarında bulunan inflamasyonla ilişkili bu mutasyonların daha önceden inflamatuvar barsak hastalığı (CARD8, NOD2,TLR10, DEFB1, MBL2) ve periodontal hastalıklarla (DEFB1, MBL2) ilişkisi saptanmıştır.

- * İnflamatuvar barsak hastalığı (Crohn's hastalığı, Ülseratif Kolit) preterm doğum ile ilişkili bulunmuştur.
- * Periodontal hastalıklar preterm doğumla ilişkili bulunmuştur.
- * İnflamatuvar barsak hastalığı artmış periodontal hastalık riski ile ilişkilidir.
- * İki hastalık arasındaki ilişki kompleks, bu hastalıklarda biri mikrobiyatayı değiştirerek diğer hastalık için inflamatuvar cevaba tesir etmektedir.



Overlapping gene mutations, damaging missense variants, and other polymorphisms in preterm premature rupture of the membranes, Crohn's disease, ulcerative colitis, and periodontal disease.

Gen ekspresyonunun epigenetik kontrolü

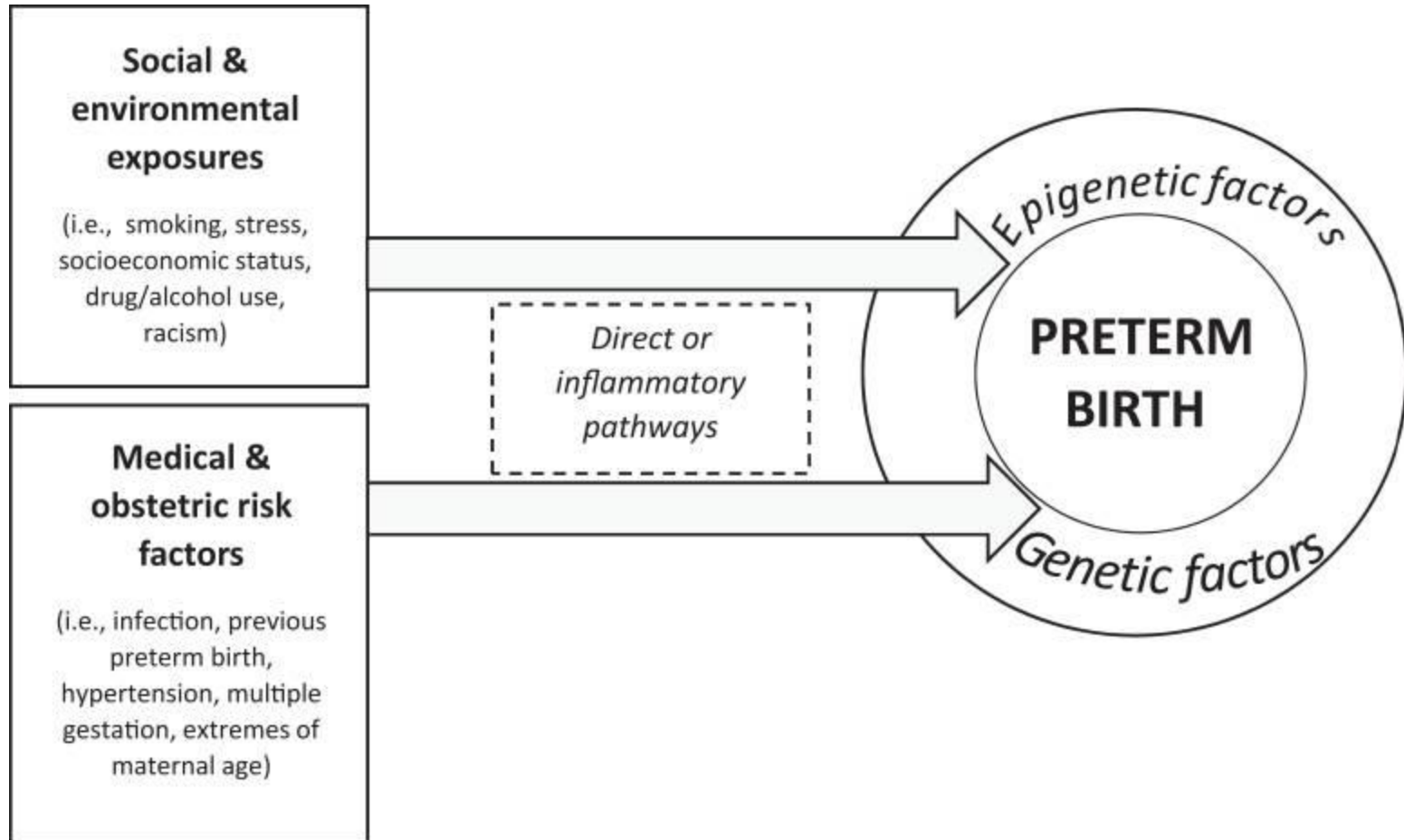
Epigenetik, genetik yapıda ki değişikliklerden kaynaklanmayan, ancak kalıtsal olan gen ekspresyonlarında ki değişiklikleri incelemektedir. **Epigenetik gen dizileri ile değil, genlerin dokuladaki ifadeleri ile ilgilenir.**

**** Genlerimizin ne zaman, nasıl çalışacağını belirleyen, bazı genleri susturan, aktivitlerine engel olan epigenetiktir.**

- **Gen transkripsiyonunu düzenleyen DNA promotör elementlerinin metilasyonu transkripsiyon faktörlerinin kontrol elementlerine erişimini önleyerek gen ekspresyonu baskılamaktadır.**

- *Gen ekspresyonu ayrıca, kromatin modifikasyonu veya microRNA etkisi ile, microRNA'ya bağlanan ve mRNA'nın translasyonu önleyen küçük non-coding RNA moleküllerinin etkisiyle baskılanabilir.*

- **Epigenetik durumun çevresel faktörlerin etkisiyle değişebileceği gösterilmiştir.**



SONUÇ

- Aday genlerin, yolakların, gen-çevre etkileşimlerinin ve altta yatan epigenetik düzenlemenin araştırılması, bazı bireylerin spontan preterm doğuma neden daha duyarlı olduğunu açıklayacaktır.
- Tüm exome veya tüm genom dizilimi ile erken doğuma katkıda bulunan genlerin tanımlanması, spontan preterm doğum riskini belirlemek için popülasyona özgü biyobelirteçlerin ve bu riski azaltmak için potansiyel tedavi stratejilerinin bulunması açısından umut vericidir.



தென்கு
ரூர