

DIE EPIGENETIK – EINE LEBENSWISSENSCHAFT IM WANDEL

BACHELORARBEIT

von

Daniela Egger

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	2
2. Definition wichtiger Begrifflichkeiten im Forschungsfeld der Genetik und Epigenetik.....	5
3. Epigenetik und Vererbung	11
3.1 Die Överkalix Studie	11
3.2 Moderne Zwillingsforschung	15
3.3 Das Humanepigenomprojekt und moderne Krebsforschung.....	19
4. Epigenetik und Einflüsse aus der Umwelt.....	24
4.1 Einfluss der Nahrung auf die Ausprägung eines Organismus	24
4.2 Einfluss der Nahrung auf die Gesundheit	28
4.3: Einfluss von epigenetischer Medikation am Beispiel des Gene Silencing.....	32
5. Fazit.....	36
6. Literatur	38
7. Abbildungsverzeichnis.....	42

1. Einleitung

Auf dem Planeten Erde herrscht eine kaum zu erfassende Artenvielfalt verschiedener Organismen, die in Form, Farbe, Konsistenz, Verhalten und vielen anderen Merkmalen variieren. Aber alle lebende Materie hat eine Gemeinsamkeit – den zellulären Bauplan, der zur Beschaffenheit führt, die diesem Plan folgt. Namen dafür sind Gene, Erbgut, DNA, u.v.m. 1865 begann durch Gregor Mendel die Geburtsstunde der Genetik, dessen Vererbungsregeln auch im Schulunterricht des 21. Jahrhunderts gelehrt werden (NGFN, 2014). Etwa ein Jahrhundert später (1953), entdeckten James Watson und Francis Crick die Struktur der Baupläne – die DNA liegt in Form einer Doppelhelix vor (NGFN, 2014). 1965 schließlich, 22 Jahre später entschlüsselten Heinrich Mathaei und Severo Orchoa den genetischen Code dieser Doppelhelix und der Grundstein für weitere genetische Forschungen wurde somit gelegt (NGFN, 2014).

Genetik ist im Bereich der Lebenswissenschaften, auch *Life Sciences* genannt, das Fundament, aus dessen Perspektive ein Blick auf den Menschen mit seinen Erbanlagen und weiteren Entwicklungen gebildet wird. Epigenetik wird in diesem Zusammenhang als „außerhalb der konventionellen Genetik“ (Graw, 2006, S. 510) bezeichnet. Die Fachbereiche der Lebenswissenschaften bestehen aus Biomedizin, Biochemie, Ernährungswissenschaften, Medizin, Pharmakologie, u.v.a. (Deutsche UNESCO-Kommission e.V., 2016). In Zusammenarbeit mit der WHO werden Themen zur Gesundheit des Menschen und die Ernährungsversorgung behandelt (Deutsche UNESCO-Kommission e.V., 2016). Bei den Gesundheitsthemen spielt die Untersuchung der genetischen Anlagen menschlicher Organismen als Quelle von Gesundheit und Krankheit eine herausragende Rolle. Was den neuen Bereich der Lebenswissenschaften charakterisiert und welche Erkenntnisse aus den aktuellen Forschungen gewonnen werden können, folgt in den nächsten Kapiteln.

In dieser Arbeit ist Wandel mit Veränderung zu umschreiben, die sich in und durch die relativ junge Lebenswissenschaft vollzieht. Es werden anhand verschiedener Experimente namhafter Forscher¹ auch auf molekularer Ebene Kenntnisse und Beweise beschrieben, wie dynamisch epigenetische Programme und Prozesse sind und inwiefern die Umwelteinflüsse auf verschiedene Organismen einwirken. Aber auch die Vererbung beeinflusst die genetische Ausstattung durch Weitergabe von ´Schaltplänen´ von Vorfahren auf ihre Nachkommen. *Nature vs nurture* ist in der Epigenetik genauso das Grundthema,

¹ Zu Gunsten der besseren Lesbarkeit der Arbeit, wird auf das Hinzufügen der weiblichen Formen (z.B. durch das Binnen-I) verzichtet. Selbstverständlich schließt die Nennung der männlichen Form die weibliche mit ein. Wenn es sich um eine explizit weibliche Form handelt, wird diese kenntlich gemacht.

wie in der herkömmlichen Genetik. Jedoch werden ergänzend zur Genetik durch neue Entdeckung in der Epigenetik einige Erklärungen und Beweise zu verschiedenen Phänomenen ermittelt, die sich durch die bloße Genetik bisher nicht erklären ließen. Als Beispiel wird in Kapitel 3.2.1 erläutert, wieso sich aus zwei völlig erbgleichen Bienenlarven zwei sehr unterschiedliche Individuen entwickeln können.

Die menschliche Sehnsucht nach der vollständigen Entschlüsselung des eigenen Ursprungs und nach der Selbsterkenntnis, den eigenen Organismus physisch und psychisch vollkommen zu durchdringen befeuert die natur- und geisteswissenschaftlichen Disziplinen heute genauso intensiv, wie zu deren Entstehung. Nun hat sich ein essentieller Teilbereich der Genetik gebildet, um die beiden Komponenten miteinander zu vereinbaren: Die Epigenetik, die Körper und Geist als Gesamtorganismus verbindet und Einfluss auf alle Bereiche eines menschlichen Wesens zu haben scheint. Das bedeutet, dass epigenetische Programme sowohl auf die Gesundheit des menschlichen Körpers und/oder dessen Psyche Einwirkungen haben können. Beispielsweise sollen Traumata den epigenetischen Code so verändern, dass Betroffene an Depressionen leiden und gar suizidal werden könnten (Carey, 2011). Natürlich hängt die psychische Gesundheit auch vom physischen Stoffwechsel im Gehirn ab, aber dass Dispositionen zur geistigen Befindlichkeit auch vor allem im Hinblick auf Stressresistenz durch die epigenetische Codierung variabel veränder- und vor allem vererbbar sind, ist hoch aktuell. Dies wurde bereits in einigen Experimenten mit Ratten und Mäusen nachgewiesen (Carey, 2011) und es besteht für Wissenschaftler die Vermutung, dass sich dies auch auf den menschlichen Organismus übertragen ließe. Mit herkömmlicher Genetik wäre diese (De-)Aktivierung einzelner Komponenten eines Schaltplanes nicht erklärbar gewesen.

In Abschnitt zwei dieser Arbeit wird eine begriffliche Einführung vorgeschaltet, um den Leser mit einigen Grundbegriffen und Prozessen im Bereich der Genetik und Epigenetik vertraut zu machen, auf den er während des Lesens der Arbeit zurückgreifen kann. Anschließend ist die Arbeit in zwei große Themenbereiche geteilt, die die Vererbung in Abschnitt drei thematisiert. Zunächst wird die Vererbung in der Överkalix-Studie dargestellt. Die Studie beweist, dass der eigene Organismus unter Fehlernährung und dem Zuführen von Noxen² geschädigt wird. Dafür existieren schon vielfältige Belege: Die Muster unseres ungesunden Verhaltens werden als eine Art Blaupause der Codierung auf die nächsten und übernächsten Generationen wie eine Art Schaltplan übertragen (Kegel, 2012). Es folgt eine epigenetische Thematisierung der Zwillingsforschung und daran anschließend wird das Humanepigenomprojekt vorgestellt. Im Weiteren soll der aktuelle Stand der Forschung

² Noxen = Schadstoffe

präsentiert werden, auf dessen Grundlage ein Ausblick gegeben wird, z.B. welche Möglichkeiten sich daraus für die weitere medizinische Forschung ergeben.

Der zweite große Themenblock beschäftigt sich mit Epigenetik und dem Einfluss der Umwelt am Beispiel der Honigbiene, der Vererbung durch ein Experiment mit dem *agouti*-Gen an Mäusen und der Wirkung von epigenetischer Medikation auf epigenetische Prozesse. Diese werden durch den aktuellen Stand der Forschung zur Methode des Gene-Silencing anhand der neurodegenerativen Krankheit *Chorea Huntington* dargestellt. Außerdem werden die ersten Ansätze, diese bisher nicht heilbare Erbkrankheit medikamentös zu therapieren, vorgestellt.

Abgerundet wird die Arbeit durch ein Fazit über den Wandel des Bewusstseins in Bezug auf die Auswirkungen menschlichen Handelns auf das Erbgut und dass bereits in der Schule begonnen werden sollte, die Epigenetik nachhaltig zu thematisieren und bisherige Themen, wie die Mendel'sche Erblehre, aus dem Lehrplan zu streichen, um Raum für aktuelleres zu schaffen.

2. Definition wichtiger Begrifflichkeiten im Forschungsfeld der Genetik und Epigenetik

Zu Beginn ist es von Vorteil, den Unterschied zwischen Epigenetik und Genetik darzustellen, um den Wandel und die Veränderung seit der Entdeckung der Epigenetik nachvollziehen zu können. Epigenetik ist die Änderung in der Genexpression, bei der die Basensequenzen unverändert bleiben (Henderson, 2010). Diese Änderung geschieht durch die chemische Modifikation von DNA und Chromatin. Auf Basis dieser Erkenntnisse unterscheidet sich das epigenetische Forschungsfeld von der herkömmlichen Genetik. Die Genetik beschäftigt sich im Wesentlichen mit der Vererbung. In der Epigenetik (griech. auf), wird die Änderung der Genfunktion untersucht, die auf Tochterzellen weitergegeben werden kann (Wikipedia, 2016).

Im Feld der Genetik und der Epigenetik bedarf es der Erklärung einiger Begrifflichkeiten und Vorgänge im Rahmen dieser Arbeit, die auf molekularer Ebene angesiedelt sind, um einige grundlegende Prozesse, Veränderungen und Neuentdeckungen in diesem Bereich der Lebenswissenschaften zu verstehen und logisch nachvollziehen zu können. Wichtige Grundbegriffe werden erklärt, um die verschiedenen dargestellten biochemischen und molekulargenetischen Prozesse im Rahmen der später vorgestellten exemplarischen Studien besser verstehen zu können. Die Begriffe sind alphabetisch geordnet, da die Wichtigkeit gleichwertig zu betrachten ist. Mit 'Organismen' werden in dieser Arbeit ausschließlich eukaryotische Lebewesen bezeichnet.

Chromatin: „Die Gesamtheit der DNA und die daran gebundenen Proteine wird als Chromatin bezeichnet.“ (Graw, 2006, S. 216). Die spezielle Verpackungsweise von DNA besteht aus demselben Material wie die Chromosomen – DNA und spezielle Proteine, die Strukturproteine und vor allem Histone enthalten, um die sich die DNA doppelt windet und sich im Zellkern befindet (Westphalen, 2016). Die kleinste Einheit des Chromatins wird als Nucleosom bezeichnet, das aus acht Histonproteinen besteht und so einen Histonkomplex bildet. Diese Komplexe bilden eine Kette und in ihrer Gesamtheit einen Chromatinstrang, der mehrfach gewunden und verdichtet das Chromosom bildet und in den unterschiedlichen Phasen eines Zellzyklus in verschieden verdichteter Form vorliegt. Chromatin wird in zwei Typen unterteilt: Euchromatin und Heterochromatin. Im Euchromatin ist die DNA aktiv und Gene werden transkribiert. Heterochromatin ist stärker verdichtet und die inaktive Form, in der keine Genaktivität stattfindet, sondern der Transport.

DNA: Als Träger der Erbsubstanz liegt Desoxyribonukleinsäure in Form einer Doppelhelix vor (Henderson, 2010), deren beide Stränge antiparallel verlaufen (Graw, 2006). Sie

besteht aus den Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin. Jeder menschliche, gesunde Organismus enthält 46 Chromosomen.

Epigenom: Alle epigenetischen Markierungen eines Genoms werden als Epigenom bezeichnet. Ein menschlicher Organismus besitzt nur ein Genom, aber verschiedene Epigenome, deren Entwicklung in der Embryonalzeit stattfinden und die Funktion haben, die Zelldifferenzierung zu steuern (Kegel, 2012).

Exon: Dieser Begriff bezieht sich auf die sogenannte 'expressed sequence'. Expression bedeutet das Umsetzen genetischer Informationen in Proteine, wie in Abbildung 1 dargestellt ist. Exons sind informationstragende Einheiten aus der mRNA, die von Introns unterbrochen werden. Beim Prozess des Splicing werden die Introns entfernt und die Exons zu sinnvollen Abschnitten zusammengefügt. Diese begeben sich zu den Ribosomen, wo die sich dort befindenden rRNA von tRNA Molekülen abgelesen werden. Diese fügen daraufhin – resultierend aus der Information der mRNA aus der rRNA – Aminosäuren in die Proteinkette ein (Henderson, 2010).

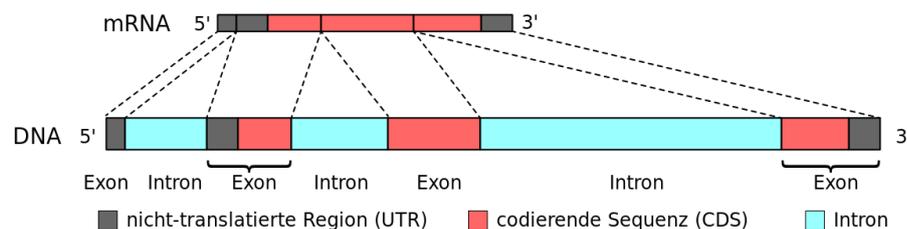


Abbildung 1: Funktion von Exons in DNA und mRNA (Wikipedia, 2015).

Genexpression: Dieser Begriff bezeichnet die Genexprimierung zur Bildung eines Genproduktes, bzw. die Ausprägung von genetischer Information, die sich im Phänotyp eines Organismus zeigt (Chemgapedia, 2016). Der dafür nötige Prozess wird in zwei Schritte unterteilt: Zuerst wird die DNA-Sequenz in RNA transkribiert. Anschließend wird das Protein anhand reifer mRNA-Sequenzen an den Ribosomen ausgebildet, was durch Translation geschieht. Insgesamt wird die Ausprägung eines Phänotyps durch mehrere Gene gesteuert, die miteinander im Austausch stehen und welche durch die Umwelt beeinflusst werden können.

Histone: Diese stark basischen Proteine sind in fünf Hauptvertreter eingeteilt: H1, H2A, H2B, H3 und H4 (Graw, 2006). Alle Histone außer H1 bilden ein Oktamer. H1 befindet sich im inneren Kern und stabilisiert die DNA. Daher ist es auf der Abbildung 2 nicht zu sehen. Ihre Modifikation bei wichtigen Prozessen, wie z.B. der Methylierung, spielt eine

Schlüsselrolle in der Epigenetik. Acht Histone bilden ein Nucleosom, welches die DNA umwickelt und wiederum durch die DNA Stränge untereinander verbunden sind (Linker DNA), sodass das gesamte Gebilde an zusammenhängende Kabeltrommeln erinnert (Spork, 2009) (s. Abb. 2).

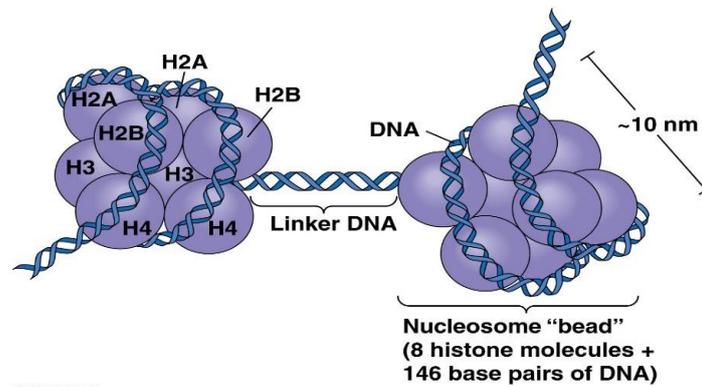


Abbildung 2: Positionierung von DNA und Histonen (Pearson, 2012).

Imprinting: Ein wichtiger, umfassender Begriff, der ursprünglich eine genetische Prägung bezeichnet, ist das sog. 'Imprinting', welches sich auf die epigenetische Veränderung eines Genoms bezieht (Graw, 2006). Generationen von Schülern werden die Mendel'schen Vererbungsregeln im Fach Biologie als geltendes Erbgesetz übermittelt. Beim dominanten und rezessiven Erbgang wird das dominante Merkmal ausgeprägt (Spork, 2009). Doch bereits im Jahr 1983 testeten zwei Genetiker – Davor Solter und James McGrath – an Mäusen die Möglichkeit, ob das mütterliche oder väterliche Gen beliebig austauschbar sei, wenn es laut Mendel lediglich auf die Art des Merkmales ankam (dominant oder rezessiv) (Graw, 2006). Laut den Erbgängen nach Mendel wäre es möglich, aus jeweils zwei mütterlichen oder zwei väterlichen Pronuklei³ innerhalb einer befruchteten Eizelle einen neuen Organismus erzeugen zu können (Graw, 2006). Widerlegt wurde die These dadurch, dass alle auf diese Art erzeugten Mäuseembryonen in frühen Präimplantationsstadien nicht mehr wuchsen und sich auch nicht weiter entwickelten (Graw, 2006). Daraus folgerten die Wissenschaftler, dass Genome von zwei verschiedenen Elternteilen unterschiedlich programmiert sein müssen und dieser Regulationsprozess mütterliches und väterliches Genom unterscheidet (Graw, 2006). In diesem Punkt ist also die klassische Erblehre nach Mendel weitestgehend widerlegt und genau an dieser Stelle knüpft die Epigenetik an. Das lässt sich auch an Beispielen aus der Natur belegen: Paart sich ein männlicher Löwe mit

³ Pronuklei wird auch als „Vorkern“ bezeichnet: Beim Prozess der Befruchtung besitzt jede Eizelle zwei Pronuklei, Graw (2006).

einem Tigerweibchen, hat der Nachwuchs das doppelte Gewicht eines normalen Nachkommen der jeweiligen Gattung und wird viel größer als die Eltern (Spork, 2009). Bei einer gegenteiligen Kombination ist der Nachwuchs kleiner und normalwüchsig (Spork, 2009). Insgesamt kann also daraus geschlossen werden, dass ein Nachkomme die Geninformationen von beiden Elternteilen benötigt, die jeweils ihren eigenen Schaltplan vererben, sodass „[...] es eine auf chromosomaler Ebene niedergelegte Information geben muss, die sich in folgenden Differenzierungsprozessen in der Regulation differenzieller Genaktivität auswirkt.“ (Graw, 2006, S. 511).

Introns: Nach Hendersons Definition sind Introns nicht-codierte DNA-Sequenzen zwischen den Exons in proteincodierten Genen (Henderson, 2010), welche in Abbildung 1 auf S. 6 dargestellt sind. Diese haben dort eine Platzhalterfunktion und werden aus dem primären Transkript durch Spleißen (engl. Splicing) herausgeschnitten, sodass eine ablesbare Struktur entsteht und nun die Synthese von Proteinketten möglich ist (Graw, 2006).

Methylierung: Wenn Methylgruppen an Nukleotide der DNA angefügt werden, dem Cytosin (Antwerpes, 2016b), wird es am C-Atom 5 methyliert und deshalb als 'fünfte Base' bezeichnet (Nellen, 2014). Ist das Gen methyliert, ist es inaktiv und somit ausgeschaltet und kann nicht mehr abgelesen werden. Es entwickelt sich ein spezieller Schaltplan aus an- und abgeschalteten Genen, die die Genexpression im Phänotyp entscheidend beeinflussen. Dieser Vorgang ist ein Kernpunkt in der epigenetischen Forschung. In Abbildung 3 wird der Vorgang dargestellt. Cytosin-Reste in der DNA werden an CpG⁴-Dinukleotiden zu 5-Methylcytosin (5mC) umgewandelt. Die Methylgruppe (Me) wird durch DNA-Methyltransferasen (DNMTs) von S-Adenosylmethionin (SAM) auf die Position 5 des Pyrimidinrings im Cytosin übertragen; SAM wird dadurch zu S-Adenosylhomocystein (SAH) hydrolysiert (Graw, 2006).

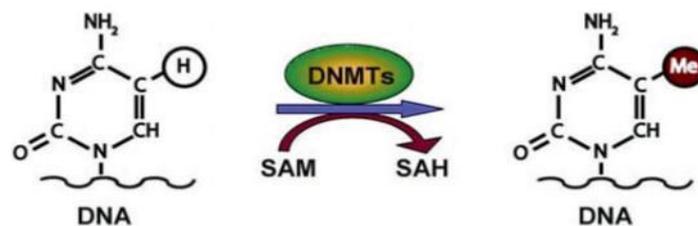


Abbildung 3: Methylierung von Cytosin (Graw, 2006, S. 296).

⁴ Werden auch als CpG-Inseln (= Base Cytosin, getrennt durch ein Phosphat von der Base Guanin) in der DNA bezeichnet, die für die Regulation der Genexpression essentiell sind; Hönscher (2016b).

mRNA: Der Buchstabe m steht für messenger, also 'Boten-RNA' und bezeichnet eine Zwischenspeicherung genetischer Informationen von der DNA und eine Übertragung dieser an die Ribosomen (Graw, 2006). Nach der Übertragung findet die Proteinsynthese auch an diesem Teil der RNA statt.

miRNA: Diese Abkürzung steht für microRNA, über die bis jetzt wenig bekannt ist. Sie ist an vielen Prozessen beteiligt, z.B. an der Genexpression und die Translation von mRNA blockieren kann (Hutvagner et al., 2004). Es wird vermutet, dass die miRNA an Steuerungsprozessen mitwirkt, die beeinflussen, wie Gene im Körper wirken und kann dabei nicht nur einzelne Gene codieren, sondern auch Gruppen und andere RNA-Moleküle (Henderson, 2010).

Promoter: Die Transkription eines Genes wird durch den Promoter gestartet, der Proteinkomplexe bindet, die die DNA kopieren, um mRNA zu bilden (Carey, 2011). Die Promoter können in zwei Bereiche aufgeteilt werden: Der Kern-Promoter (core-promoter) wird am Startpunkt der Transkription lokalisiert und umfasst etwa 35 Nukleotide. Im Abschnitt des proximalen Promoters befinden sich Erkennungsstellen für DNA-bindende Transkriptionsfaktoren (Graw, 2006).

Proteinbiosynthese: Proteine sind Eiweiße und bestehen aus Aminosäuren, die kettenförmig vorliegen und immer verschieden kombinierbar sind (Spork, 2009). Sie werden nach einer Gencodierung zusammengebaut, die aus den vier Basen Adenin, Cytosin, Guanin und Thymin besteht. Der Code wird von der mRNA zu den einzubauenden Aminosäuren von der tRNA geliefert. Die Übersetzung eines Gens in ein identisches Protein ist daraus folgend die Proteinbiosynthese.

RNA: Die Ribonukleinsäure besteht aus Einzelsträngen, die Ansätze zur Doppelsträngigkeit ausbilden (Graw, 2006). Sie ist in verschiedene Formen und in spezifische Aufgaben zu differenzieren, z.B. mRNA, rRNA und tRNA.

RNA-Interferenz: Das Wort 'Interferenz' steht für 'Unterbrechung' und beschreibt den Mechanismus (RNAi). Diese Methode hemmt die Genexpression mit Hilfe von RNA-Molekülen (Graw, 2006). Die Funktion dieser doppelsträngigen Moleküle (siRNA⁵) dient vermutlich auch dem zelleigenen Schutz vor Viren und wird in Laboratorien für gentechnische Verfahren genutzt, für die diese Moleküle zur Blockade von krankmachenden Genen genutzt werden. In dem Kapitel 3.2.3 über den Einfluss von epigenetisch wirksamen Medikamenten und in 3.2.4 zum Thema Gene Silencing, spielt dieses Verfahren eine Schlüsselrolle (Antwerpes, 2016d).

⁵ siRNA = small interfering RNA, Antwerpes (2016d).

rRNA: Die rRNA, auch ribosomale RNA genannt, nimmt den Hauptanteil der gesamten RNA ein und liegt bei ca. 85% RNA Anteil (Graw, 2006). Sie ist ein bedeutender Bestandteil der Funktionen des Ribosoms.

siRNA: Small interference RNA, also kleine Interferenz RNA, ist in der RNAi wirksam und steuert die Aufspaltung von mRNA (Hutvagner et al., 2004).

Splicing: Aus dem Englischen, auch 'Spleißen' genannt, bedeutet 'zusammenfügen' und beschreibt das Entfernen von Introns und darauf folgend das direkte Verbinden von Exons zu mRNA (Graw, 2006). Diese dient der Vorlage zur Bildung von Proteinen.

Transkription: Übertragung genetischer Information von DNA auf RNA im Zellkern (Graw, 2006).

Translation: Übersetzung und Übertragung genetischer Informationen von mRNA auf die Aminosäuresequenz eines Polypeptids (Graw, 2006). Dafür muss die gespeicherte Information vom Ort der Transkription im Zellkern in das Cytoplasma transportiert werden.

tRNA: Die 'Transfer-RNA' überträgt gespeicherte Aminosäuren in der vorgesehen Reihenfolge im Prozess der Proteinsynthese (Graw, 2006). Ihr Anteil an der gesamten RNA beträgt ca. 5-10%.

Auf diese Liste von Begriffen und die damit verbundenen Prozessen in Kurzform, kann während des Lesens dieser Arbeit immer zurückgegriffen werden, falls Unklarheiten entstehen.

3. Epigenetik und Vererbung

Die folgenden drei Unterkapitel geben einen Überblick über das Thema Epigenetik und Vererbung. Insgesamt lässt sich der Einfluss der Epigenetik – ob durch Vererbung oder Umwelt – nicht trennscharf aufteilen. In 3.1 wird das Thema der Erbanlagen und vor allem der Weitervererbung unter epigenetischen Gesichtspunkten erläutert, das die Perspektive auf die Genetik verändern und neue Erkenntnisse auf diesem Feld zulassen. Die moderne Zwillingsforschung unter 3.2 ist eine weitere Säule, wie die vorhandenen Erbanlagen sich weiterentwickeln und eine Differenz in den epigenetischen Programmen zweier erbgleicher Individuen ergibt. Abgerundet wird dieses Kapitel durch 3.3, das das Humanepigenomprojekt vorstellt und zeigt, wie sich der Blick und die Möglichkeiten der Genetik gewandelt haben und wie wichtig es ist, die ererbten Eigenschaften nicht nur genomisch zu erfassen, sondern nun auch epigenomisch in Bezug auf Krankheitsentstehung und -entwicklung, die aus dem ererbten Genpool von Schaltplänen resultiert.

3.1 Die Överkalix Studie

Överkalix ist ein Ort im nordschwedischen Norrbotten, dessen Einwohner bis ins 20. Jahrhundert aufgrund der geographischen Lage eher isoliert und wegen der durchschnittlichen Jahrestemperatur von ca. 1,3°C entbehrensreich gelebt haben (Kegel, 2012). Die Aufzeichnungen durch die Gemeinde Överkalix gaben den beiden Sozialmedizinern Gunnar Kaati und Lars Olov Bygren eine solide Datengrundlage für die Zufallsstichproben ihrer Forschung (Kegel, 2012). Beide Forscher untersuchten zunächst den Einfluss der Ernährung auf Kinder und Jugendliche im Hinblick auf das Sterberisiko an kardiovaskulären Erkrankungen, indem sie die ausgewählten Geburtenjahrgänge 1890, 1905 und 1920 mit den Sterbedaten und der Erntestatistik verbanden (Kegel, 2012). Zusätzlich wurden Altersperioden von Mädchen (0-2, 3-7, 8-10 und 11-15 Jahre) und Jungen (0-2, 3-8, 9-12, 13-16 Jahre) festgelegt und ebenfalls mit der Nahrungsversorgung gekoppelt. Dabei ist ausschlaggebend, ob minimal ein Jahr innerhalb dieser Perioden besonders entbehrensreich oder gut versorgt – im Kontext mit dem Ernteertrag – gelebt wurde (Kegel, 2012). Mit dem Vorliegen einer repräsentativen Datenmenge, setzten die Forscher den möglichen Einfluss der Ernährung von Eltern und Großeltern auf die Folgegenerationen in einen Zusammenhang. In den Ergebnissen zeigte sich signifikant der Einfluss vom Lebensstil des Großvaters väterlicherseits auf die Enkel (Kegel, 2012). Ungewöhnlich hierbei ist, dass die stärksten sich Effekte generationsübergreifend auf die

Enkel auswirken und zusätzlich nur von dem männlichen Vorfahren väterlicherseits ausgehen (Kaati et al., 2002). Hinzu kommt, dass sich der Einfluss des Großvaters auch nur auf die männlichen Enkelkinder auswirkte (Kegel, 2012). Entgegen der Annahme, dass sich eine Hungersnot negativ auf den Gesundheitszustand der Nachkommen niederschlagen würde, haben Kaati und Bygren in ihrer Studie einen Beweis erbracht, dass sich ein Überfluss an Nahrungsangebot und ein hoher, bzw. übermäßiger Konsum nachweislich negativ in Bezug auf die Lebensspanne und die Gesundheit der Enkel auswirkt (Kaati et al., 2002):

„[...] if the paternal grandfathers had access to a surfeit of food during their SGP, the probands (their grandchildren) had a fourfold over-risk for death of diabetes mellitus [...].“ (Kaati et al., 2002, S. 687).

Die Nachkommen waren vor Diabetes mellitus und kardiovaskulären Erkrankungen geschützt, wenn der Großvater väterlicherseits nicht unbegrenzt Nahrung zur Verfügung hatte, sondern eher ein sehr begrenztes Nahrungsangebot vorhanden war. Diese SGP (= slow growth period), also 'langsame Wachstumsphase', ist eine Stagnationsphase kurz vor dem Wachstumshoch in der präpubertären Phase Jugendlicher. Bei Mädchen ist dies das Alter von 8-10 und bei Jungen 9-12 Jahre (Kaati et al., 2002). Diese Phase nimmt einen Kernbereich der Studie ein, da bei männlichen Individuen nur in dieser Zeitspanne die Nahrung einen besonders starken positiven oder negativen Einfluss auf die Weitervererbung von Diabetes mellitus und Herz-Kreislauf-Krankheiten zu haben scheint. Als Ursache wird die Bildung von Spermien vermutet – Marcus Pembrey nennt diesen Zusammenhang in Bezug auf den von Kaati et al. publizierten Artikel *„[...] a nutrition linked sperm-mediated transgenerational effect.“* (Pembrey, 2002, S. 671), also einen nahrungszusammenhängenden, durch Spermien übertragenen, generationsübergreifenden Effekt. In seinem 2002 veröffentlichten Artikel *„Time to take epigenetic inheritance seriously“* (Pembrey, 2002), appelliert er an die Leserschaft, den mit Nahrungsmiteleinahme verbundenen Effekt auf die Folgegenerationen ernst zu nehmen. Die während der SGP gebildeten primären Spermatozyten durchlaufen den ca. 24 Tage dauernden Prozess der Meiose und werden dort zu sekundären Spermatozyten, die einen haploiden Chromosomensatz enthalten und sich zu Spermatiden teilen, die schließlich zu Spermien heranreifen (Antwerpes, 2016f). Entscheidend ist, was in den primären Spermatozyten vor der Meiose passiert und wo der Nahrungsmiteleinfluss nach Pembrey auf molekularbiologischer Ebene epigenetisch greift. Verantwortlich für die Veränderungen

in den männlichen Geschlechtszellen könnten die beiden Faktoren CTCF⁶ und BORIS (= Brother of the Regulator of Imprinted Sites) sein (Pembrey, 2002).

CTCF wird auch als CCCTC-Bindungsfaktor bezeichnet, ist ein Zink-Finger-Protein, und wirkt als Transkriptionsfaktor. Das CTCF-Protein ist in allen Körperzellen zu finden und wirkt in die Genregulation im Zusammenhang mit epigenetischen Prozessen ein (Knippers et al., 2015). Zusätzlich hat es limitierende Auswirkungen auf die Ausbreitung von Heterochromatin. BORIS (Pembrey, 2002) – auch als CTCFL bezeichnet (Hoffmann, 2016) – ist ausschließlich in den männlichen Geschlechtszellen lokalisiert, weshalb eine Funktion epigenetischer Reprogrammierung während der Entwicklung dieser Zellen vermutet wird (Schwab, 2011). Auffällig ist, dass das CTCF-Protein dann ausgeschaltet ist, wenn das BORIS-Protein aktiv wird – in den ersten Spermatozyten, welche schon ab einem Alter von fünf Jahren gebildet werden (Pembrey, 2002). Während der Meiose wird BORIS ausgeschaltet und CTCF wird in den postmeiotischen Keimzellen aktiv, welches durch eine Löschung und Wiederaktivierung von 'methylation marks' gesteuert wird (Pembrey, 2002). Dieser Prozess ist in Abbildung 4 dargestellt.

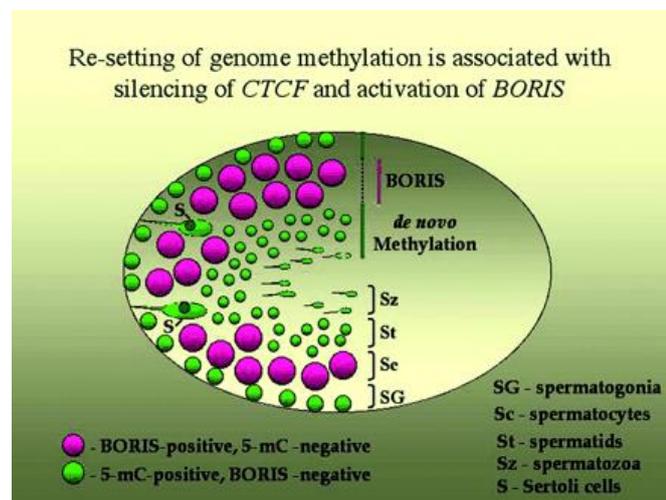


Abbildung 4: Ausschalten CTCF und Aktivierung BORIS in der Spermatogenese (Loukinov, 2016).

Die Menge der Nahrungsmittelversorgung und der daraus resultierenden Menge der aufgenommenen Nahrung kann in dem Übergang von der sensiblen Phase der Deaktivierung von BORIS und der Aktivierung von CTCF besonderen Einfluss haben. Das würde laut Pembrey zu der Konsequenz führen, dass

⁶ Für CTCF, CTCFL und CCCTC wurde keine Entsprechung gefunden, deshalb ist dies vermutlich eine in der Genetik gängige Bezeichnung von Proteinen.

„[p]hysiological metabolic and hormonal changes in response to nutritional stress could plausibly effect signalling pathways of modifying enzymes, which could alter the posttranslational state of the CTCF/BORIS proteins leading to a change in their function.“ (Pembrey, 2002, S. 670).

Diese Funktionsveränderung führt schließlich zur Aktivierung von Genexpressionen, die Diabetes mellitus und kardiovaskuläre Erkrankungen begünstigen.

Als Pendant zur väterlichen Seite, hatte die Menge der zur Verfügung stehenden Nahrungsmittel bei den Großmüttern genau den gegenteiligen Effekt (Kegel, 2012). Die sensible und für Veränderungen empfängliche Zeitspanne liegt in dem Alter 0-3 Jahre. Bereits in der Fetalzeit, die mit der neunten Schwangerschaftswoche beginnt (Antwerpes, 2016e) und mit dem Eintritt ins Kleinkindalter endet, scheint die Ernährung einen besonderen Einfluss zu besitzen. In dieser Phase der Entwicklung des weiblichen Körpers findet die Oogenese statt, in der sich die weiblichen Gameten – die Oozyten – entwickeln und heranreifen (Prinz, 2016). Deshalb wird der Einfluss der Ernährung auf die Keimzellenentwicklung der Großmutter ebenso in dem Stadium der Geschlechtszellreifung vermutet, wie bei den Großvätern. In diesen drei Jahren der Entwicklung war in der Studie signifikant, dass eine sichere und ausreichende Ernährungssituation sich sehr positiv für die Enkelinnen auswirkte, was im genauen Gegensatz für den männlichen Teil der Großeltern gilt (Kaati et al., 2002). Der Grund für diese Divergenz ist jedoch noch nicht bekannt. Ebenfalls bleibt schwer zu interpretieren, warum die Anzahl der Enkel geringer war, wenn der Großvater väterlicherseits über ein ausreichendes Nahrungsangebot verfügte und warum die Anzahl der Enkel höher war, wenn der Großvater hungern musste (Kegel, 2012). Den Einfluss jeweils von dem Großvater auf den Sohn und somit auf den Enkel, wird vermutlich durch die Weitergabe durch Y-Chromosom erfolgen, welches nur im Spermium enthalten sein kann und bei den Großmüttern durch das X-Chromosom auf die Tochter und somit auf die Enkelin. Da ein direkter männlicher Nachkomme von der Großmutter jeweils nur das von der Mutter ererbte X-Chromosom auf eine Tochter übertragen kann, bleibt der männliche Enkel unbeeinflusst. Denn das Spermium des Vaters muss bei der Zeugung eines männlichen Nachkommens ein Y-Chromosom enthalten (Kegel, 2012). In Abbildung 5 ist im Überblick ein Erbgang mit Einbezug von epigenetischen Einflüssen zu sehen.

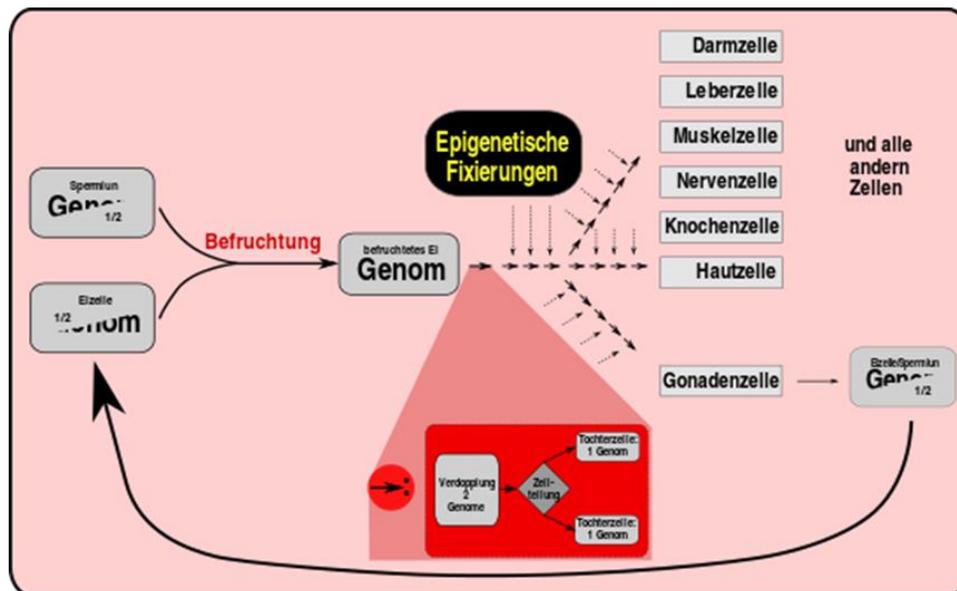


Abbildung 5: Vererbung und Zellentwicklung (Wikipedia, 2016).

Zusammenfassend gibt die Överkalix-Studie wichtige Anhaltspunkte für einen zu Lebzeiten erworbenen Einfluss durch Nahrung auf die Geschlechtszellen sowohl von Männern, als auch von Frauen und die darauf folgenden Konsequenzen für die Vererbung auf die Nachkommenschaft. Damit hängen Vererbung und Lebenserwartung von Vor- und Nachfahren zusammen.

Nicht nur die Vererbung von Eltern auf Kinder, sondern auch die Entwicklung von eineiigen Zwillingen aus einem identischen Erbgut steht im Fokus der Epigenetik.

3.2 Moderne Zwillingforschung

Die Zwillingforschung eineiiger Geschwister ist genetisch sehr wichtig und interessant, da durch den gemeinsamen genetischen Ursprung Einflüsse im Lauf der Lebenszeit der beiden Individuen festgestellt werden können. Das stellt im Wesentlichen den Kern der Epigenetik dar: Änderungen der Genexpression durch eine chemische Modifikation von DNA und Chromatin, bei der die Sequenz der Basen unverändert bleibt (Henderson, 2010). Zwillinge können entweder aus zwei verschiedenen Zellen heranreifen (heterozygot) oder teilen sich eine Eizelle und werden deshalb als monozygot, also eineiig bezeichnet. Diese Zwillingspaare stehen im besonderen Interesse von Genetikern und Epigenetikern, da Zwillinge „natürliche Klone“ (Kegel, 2012, S. 208) sind. Denn obwohl zwei Menschen aus einer Zelle entstanden – also genetisch identisch – sind entwickeln sich beide individuell und unterscheiden sich im Laufe ihres Lebens epigenetisch immer mehr voneinander

(Fraga et al., 2005). Durch die genetische Gleichheit, haben beide dieselben Anteile der Erbanlagen von den Eltern geerbt. Dieses gilt für Dispositionen zu Krankheiten wie z.B. Multiple Sklerose, Rheuma, Schizophrenie und Alzheimer (Kegel, 2012). Jedoch ist der Ausbruch dieser genetischen Erkrankungen bei Zwillingspaaren zeitlich sehr unterschiedlich. Auch sind Fälle bekannt, bei denen ein Zwilling zeitlebens nicht erkrankte, aber der andere von der Krankheit betroffen war. Es liegt nahe, allein Umwelteinflüsse als entscheidende Komponente für eine Erklärung heranzuziehen. Einer Studie zufolge, die genau diesen Umstand bei über 100 Testzwillingen untersuchte, zeigten sich aber bei getrennt oder zusammen aufgewachsenen, bzw. zusammen lebenden Zwillingen kaum Unterschiede in der Anfälligkeit, an derselben Krankheit zu leiden (Bouchard, T. J. et al., 1990). Außer Genen und Umwelteinflüssen, die nach den damaligen Kenntnissen ausschlaggebend hätten sein müssen, wurde keine Antwort auf diese paradoxen Ergebnisse der Studie gefunden, bis sich sechzehn Jahre später die Perspektive wandelte und epigenetische Untersuchungen Aufschluss gaben.

Die Untersuchung eines weiblichen Säuglings mit einem schweren körperlichen Defekt, dem caudal duplication syndrome (Oates, N. A. et al., 2006), das zu Missbildungen der Wirbelsäule und in seltenen Fällen zu einer Verdopplung der unteren Körperhälfte führt, ist deshalb so besonders, weil die Zwillingsschwester gesund auf die Welt kam und das Syndrom bei ihr nicht vorhanden war. Mit den damaligen Möglichkeiten im Bereich der Genetik, hätte es keine Erklärung für dieses Phänomen gegeben, aber die Forschung mit dem epigenetischen Ansatz lieferte Antworten. Die Erbanlagen sind zwar identisch und die Umwelteinflüsse im Mutterleib ebenfalls, aber das Epigenom in jedem der beiden Individuen entwickelte sich unterschiedlich. Wie aus demselben Erbgut als Ausgangspunkt eine Auseinanderentwicklung zweier identischer Organismen stattfindet, ist also verschiedenen epigenetischen Programmierungen in den Zellen zuzuordnen. Für den offenen Rücken, dem Tumor an der Lendenwirbelsäule und einigen Organschäden ist eine Mutation des Axin-Gens ursächlich. Die Analyse des Gens war allerdings unauffällig, sodass nach einer anderen Ursache geforscht wurde, die die Forscher im Promotor⁷ lokalisierten (Oates, N. A. et al., 2006). Der Defekt ist bei einem der Zwillinge aufgetreten, weil eine CpG-Insel inklusive ihrer fünfzehn Methylierungs-Orten abgeschaltet war, also in methylierter Form vorlag, die normalerweise unmethyliert sein müsste. Bereits diese eine molekulare Veränderung bewirkte eine Verdopplung der Wirbelsäule ab dem unteren Rücken und die anderen genannten schwerwiegenden Veränderungen.

Ein Jahr zuvor lieferte eine Studie mit 40 Zwillingspaaren – 30 Männer, 50 Frauen zwischen 3-74 Jahren in Madrid – viele entscheidende Erkenntnisse und Ergebnisse über die

⁷ Promotor = vorgeschaltete Region eines Gens, das steuert, wie ein Gen eingeschaltet ist, Carey (2011).

Veränderung epigenetischer Prozesse in den Zellen genetisch identischer Zwillinge (Fraga et al., 2005). Die Wissenschaftler stellten die These auf, dass epigenetische Unterschiede bei monozygotischen Zwillingen (MZ) während deren Lebenszeit größer würden, beeinflusst durch den Lebenswandel der Individuen. Ein Teil der Studie wurde anhand von Interviews durchgeführt, bei denen speziell geschultes Personal den Probanden Fragen zu den Ernährungsgewohnheiten, der sportlicher Betätigung, Tabak-, Alkohol- und weiterem Drogenkonsum, Gesundheits- und Krankheitsstatus inklusive eingenommener Medikation, stellten. Der andere Teil war die physische Untersuchung auf zellulärer Ebene. Um den Status quo der Zellen zu ermitteln und später vergleichen zu können, entnehmen die Forscher den Probanden Lymphozyten⁸, Epithelzellen⁹ aus der Haut mittels Speichelprobe, Muskelgewebe via Muskelbiopsie aus dem musculus vastus lateralis¹⁰ und Gewebe aus dem subkutanen¹¹ Abdominalbereich. Mit verschiedenen wissenschaftlichen Verfahren werden die Zellen von den Zwillingspaaren in den Bereichen DNA-Methylierung (mit high-performance capillary electrophoresis¹²) und der Histonmodifikation der Histone H3 und H4 (mit high-performance liquid chromatography¹³/HPLC) untersucht. Die Ergebnisse sind Abbildung 6 auf Seite 17 zu entnehmen. Die ersten beiden Grafiken untereinander auf der linken Seite zeigen die 5mC Methylierung. Oben wird zuerst unmethyliertes Cytosin (C) gezeigt und dann der Ausschlag nach sieben Minuten das methylierte 5mC. Dazu gehörig zeigt die untere Tabelle die Methylierung in Prozent und den Grad der Methylierung von Zwillingspaaren im Alter von drei und im Alter von 50 Jahren. Ein Zwilling wird durch eine weiße Säule, der andere durch die schwarze Säule symbolisiert. Alle untersuchten Vorgänge wurden im inaktivierten X-Chromosom durchgeführt, indem der Methylierungsgrad und die Histonmodifikation gemessen werden kann (Fraga et al., 2005). Das jüngste Zwillingspaar zeigt keinen signifikant großen Unterschied in ihrem prozentualen Anteil des 5mC. Bei den älteren Zwillingspaaren differiert die Säule um ca. ein Prozent und dort sind auch insgesamt mehrere und stärkere Methylierungen vorhanden. Bei den beiden Grafiken in der Mitte wird die Acetylierung¹⁴ des H4 angezeigt. Die Acetylierung von Histonen zeigt an, dass eine Transkriptionsaktivität im Chromatin stattfindet (Graw, 2006). In dem Säulendiagramm darunter wird dargestellt, dass es bei den

⁸ Lymphozyten = Abwehrzellen

⁹ Epithelzellen = Zellen aus dem Deckgewebe der Haut

¹⁰ Musculus vastus lateralis= vorderer Oberschenkelmuskel

¹¹ Subkutan = sich in der unteren Hautschicht befindend

¹² Capillary electrophoresis = Kapillarelektrophorese: Ionen bewegen sich durch elektrische Spannung beeinflusst, in einem flüssigen Medium (z.B. Gel). Hier findet die Ionenwanderung in einem Kapillarrohr (Volumen auf 10 nl begrenzt) in einer Elektrolytlösung statt. Der Vorteil ist eine hohe Effizienz beim Trennungsvorgang, ; Römer (2016) Römer (2016).

¹³ High-performance liquid chromatography = Hochleistungsflüssigkeits-Chromatographie: biochemische Analyseverfahren (Quantifizierung, Reinigung, Trennung, Identifikation von Substanzen). Probe wird in Flüssigkeit (flüssige Phase) durch hohen Druck über eine Trennsäule transportiert und lagert sich an dieser an (stationäre Phase) und wird daran gebunden, Antwerpes (2016g).

¹⁴ Acetylierung = bei der Acetylierung findet eine Veränderung an den Histonchwänzen im Chromatin statt, die die Transkription begünstigen, Kegel (2012).

dreijährigen Zwillingen keine Unterscheide gibt, bei dem älteren Zwillingpaar liegt die Differenz bei ca. 15%. Im Diagramm rechts unten von H3 ist bei den jüngeren Zwillingen in H3-Acetylierung in höherem Maß vorhanden, als bei den älteren. Hierbei sollte beim Ablesen der Ergebnisse beachtet werden, dass die Skalen bei H4 und H3 an unterschiedlichen Zahlenwerten starten und dies den ersten Eindruck etwas verfälschen könnte.

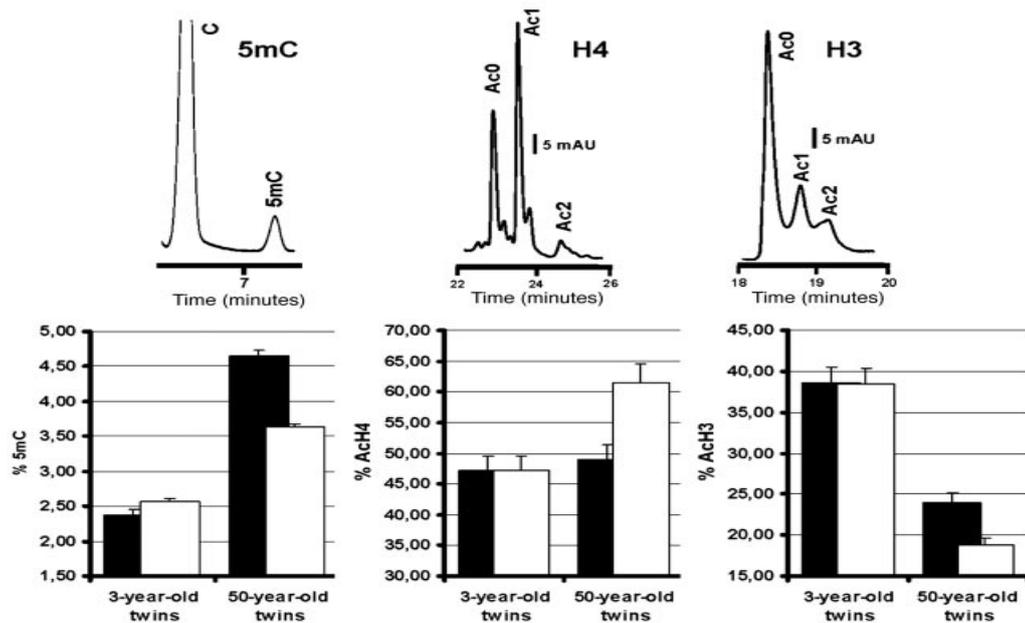


Abbildung 6: Ergebnisse der Zwillingsstudie (Fraga, Ballestar et al, 2005, S. 10606).

Im Gesamtergebnis zeigen die Durchführenden dieser Studie, dass eine Auseinanderentwicklung von epigenetischen Mustern und Markierungen deutlich sicht- und messbar sind. Weitere Einflussgrößen in einer Verstärkung der Differenzen sind der gesundheitliche Hintergrund in Bezug auf die medizinische Geschichte und das Maß an zusammen verbrachter Lebenszeit der Zwillingspaare. Diese Aussage wiederum lässt sich eindeutig auf den Einfluss verschieden gearteter Lebensbedingungen übertragen, die für alle Menschen allgemein gelten. Welcher Einfluss aus Erbanlagen oder Umwelt was genau in welcher Weise beeinflusst, ist noch nicht bekannt und in der Entwicklung moderner Forschung. Ein weiterer wichtiger Schritt in der epigenetischen Forschung wurde mit der Begründung des Humanepigenomprojektes unternommen, das auch im Zusammenhang mit der modernen Krebsforschung im folgenden Unterkapitel erläutert wird.

3.3 Das Humanepigenomprojekt und moderne Krebsforschung

Schon in den vergangenen Jahrzehnten forschten Genetiker, um Krankheiten wie Krebs in ihrer Entstehung nachvollziehen und heilen zu können, bzw. die Sterblichkeitsrate durch Krebserkrankungen zu senken und diese irgendwann von einem tödlichen zu einem chronischen Verlauf umwandeln zu können. Hierfür liefern die neuesten Ergebnisse in der Krebsforschung durch das Erschließen und Verstehen von epigenetischen Prozessen neue Erkenntnisse. Da epigenetische Schaltpläne sowohl vererbt, als auch durch Umwelteinflüsse verändert werden können, steht dieses Unterkapitel an der Schnittstelle zwischen Vererbung und Umwelteinfluss. Vor allem bei Krebserkrankungen lässt sich nur ein Teil als vererbte Disposition durch Familienanamnese identifizieren. Andere bösartige Tumorbildungen sind Mutationen durch andere Einflüsse geschuldet. Nichtsdestotrotz ist das Humanepigenomprojekt vor allem für die Krankheits- und Krebsforschung von größter Wichtigkeit.

Um den Wandel und den enormen Fortschritt in der Genforschung und die Relevanz der Entdeckung epigenetischer Programme in den Zellen nachvollziehen zu können, wird ein kurzer Blick in das Jahr 2000 geworfen und mit dem aktuellen Forschungsstand und den sich medizinisch eröffnenden Möglichkeiten im Laufe des 21. Jahrhundert verglichen.

Am 26.06.2000 präsentierten Francis Collins und Craig Venter ihre Ergebnisse der Kartierung des gesamten menschlichen Genoms (Spork, 2009). Collins war der Sprecher des Projektes von der amerikanischen Regierung und Venter der Konkurrent Collins und Direktor seiner eigenen Firma Celera Genomics, die an der Entschlüsselung des 3,3 Milliarden Buchstaben-Textes der Doppelhelix maßgeblich beteiligt waren (Spork, 2009). Dennoch fand eine erhebliche Desillusionierung der Forscher statt, die folgende These aufgestellt hatten: Die Komplexität eines Organismus würde sich proportional mit der entsprechenden Anzahl der verschiedenen Gene verhalten (Spork, 2009). Diese These wurde falsifiziert, da die Länge eines Amöben DNA-Stranges 200-fach länger ist, als der eines Menschen und mit 'C value paradox' (Spork, 2009) bezeichnet wird. Die Anzahl der Gene wurde mittlerweile von 100000 auf etwa 21500 herunterkorrigiert (Henderson, 2010). Das Projekt ist seit 2003 für endgültig beendet erklärt. Jedoch markiert die Desillusionierung der Genetiker die Entstehung der „Postgenomik“ (Spork, 2009) und somit den Anfangspunkt der Epigenetik. Dieser Wendepunkt ist ein wichtiger Meilenstein, der den Wandel, bzw. die Veränderung und den Übergang von ursprünglichen genetischen Forschungen zur Epigenetik anzeigt. Vieles, das früher nicht erforschbar war und nur vermutet werden konnte, wird heute vor allem durch den Fortschritt der Technik möglich gemacht und ist nun auch grundsätzlich als Voraussetzung für die Entdeckung und

Auswertung epigenetischer Forschungsprozesse notwendig. Die Verbesserung der Sequenzierungstechnik ist im Rahmen des Humangenomprojektes entstanden und sequenziert ein menschliches Genom in nur ca. acht Wochen (Spork, 2009).

Das Ziel des Humanepigenomprojektes (HEP) ist das Suchen und Finden der Ursachen für Gesundheit und Krankheit des Menschen – insbesondere Krebs – und eine Erklärung für innerzelluläre Prozesse zu finden, wie z.B. für das Altern von Zellen (Esteller, 2006). Hierfür ist der Verstehensprozess von der Funktion eines gesunden Organismus wichtig, um herauszufinden, welche chemischen Veränderungen und Zusammenhänge in den Bestandteilen des Chromatins vorhanden sind, welche die Funktionsweise der DNA regulieren. Einige epigenetische Prozesse sind schon bekannt: Die Methylierung von DNA, die Histonmodifikation, die Entdeckung von miRNA und die Umbauprozesse im Chromatin. Wie diese Prozesse zusammenspielen, kann Abbildung 7 entnommen werden. Links sind die Verpackungsweise und die einzelnen Bestandteile aufgeführt. Rechts ist zu sehen, wie die miRNA in die mRNA durch die beiden Prozesse mRNA cleavage und Unterbrechung der Proteinbiosynthese eingefügt wird.

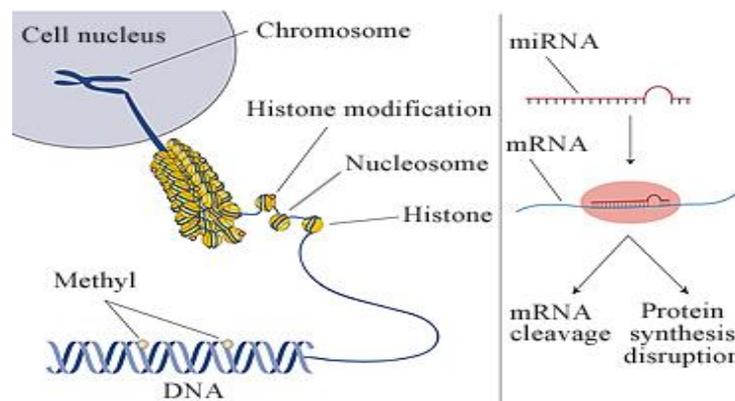


Abbildung 7: Zusammenspiel epigenetischer Prozesse (Mansuy und Mohanna, 2011)¹⁵.

Die Sequenzierung der Epigenome sehr aufwendig, da nicht nur – wie beim Genom – eines pro Organismus in dem Zellen vorhanden ist, sondern mehrere Epigenome kommen auf ein Genom (Kegel, 2012). Die Forscher von Epigenomics, Centre National de Génotypage und dem Wellcome Trust Sanger Institute gründeten das Pilotprojekt und setzten sich das Ziel, innerhalb von fünf Jahren sämtliche Methylierungsmuster im menschlichen Genom zu sequenzieren und zu dokumentieren. Dieses stellte sich als zu umfangreich heraus, da epigenetische Markierungen sich auf zellulärer, histologischer und geschlechtlicher Ebene

¹⁵ mRNA cleavage = Ausschnitt aus der mRNA; Protein synthesis disruption = Proteinsynthese Unterbrechung

unterscheiden und von Individuum zu Individuum sehr verschieden sind (Kegel, 2012). Es wurden lediglich die Chromosomen 6, 20 und 22 analysiert und danach das Projekt an Kollegen von der Harvard Universität und dem Massachusetts Institute of Technology (MIT) in den USA übergeben (Spork, 2009). Die Firma Epigenomics arbeitet weiter an der Entwicklung von Tests zur Früherkennung verschiedener Krebsarten, z.B. Darmkrebs (Kegel, 2012). Vor allem die Krebsforschung ist eines der wichtigsten Themen in der epigenetischen Krankheitsforschung, da davon ausgegangen wird, dass Krebserkrankungen und die damit verbundene Bildung von Karzinomen rein epigenetische Ursachen haben (Spork, 2009). Im Gegensatz zur damaligen genetischen Forschung, die die Entstehung von Krebs lediglich mit dem Vorhandensein krankhafter Gene in den Zellen erklärte, die daraufhin entartet, liefert die Epigenetik ausführliche Ergebnisse (Kegel, 2012).

Um die Funktion kranker Zellen im epigenetischen Bereich verstehen zu können, müssen zuerst die Funktionsweise von innerzellulären, epigenetischen Prozesse in gesunden Zellen verstanden und nachvollzogen werden. Die Erfassung verschiedener Epigenome ist daher für die Krankheitsforschung des Menschen ein Thema größter Wichtigkeit, denn epigenetische Programme wurden bereits als ursächlich für Krebs, psychische Krankheiten, verschiedene Autoimmunerkrankungen und das Metabolische Syndrom identifiziert. Für die Erforschung gibt es verschiedene Ansatzpunkte, z.B. bei der Methylierung der DNA: Hier wird die Histonmodifikation und verschiedene epigenetische wirksame RNA Arten genauer untersucht (Spork, 2009). Der Vorgang der Epigenomanalyse in den Zellen unterteilt sich in mehrere Schritte: Mindestens hundert verschiedene Gewebearten, die eindeutig dem entsprechenden Gewebe zuordnungsbar sind (Bauchspeicheldrüse, Haut, Gehirn, Niere, usw.) und von vielen Menschen stammen, werden isoliert und dieses Vorgehen wird immer wieder wiederholt. Nach der Isolation erfolgen eine biochemische Präparation und die Analyse des epigenetischen Codes in mehreren tausend Zellen pro speziellem Gewebetyp. Danach wird von Robotern berechnet, welche epigenetischen Verschaltungen jeweils pro Gewebetypen signifikant sind. In die mathematische Berechnung und die Erstellung einer Statistik müssen verschiedene epigenetische Eigenschaften und Prozesse mit einbezogen werden: Methylgruppenaufbau, chemische Beschaffenheit der Histonschwänze und erzeugte, aktive RNAs der jeweilig untersuchten Zelle. Die Kartierung von Epigenomen schreitet voran und führt zu einigen aufschlussreichen Erkenntnissen. Zum Beispiel sind künstlich erzeugte, pluripotente¹⁶ Stammzellen Krebszellen sehr ähnlich, die Epigenome unterscheiden sich aber zwischen gesunden und kranken Zellen sehr stark. In einer Zelle, die sich zur Krebszelle entwickelt, vollzieht sich eine wesentliche Veränderung in der Methylierung der DNA und der

¹⁶ Pluripotent = aus diesen Zellen kann potentiell jede Art von differenzierte Zelle entstehen

Histonmodifikation. Tumorsuppressorgene werden durch die Promoter der CpG-Inseln hypermethyliert, die Codierung der Histone für kritische Gene ist verändert und das Histon H4 wird abgebaut (Esteller, 2006). Dies stellt einen wesentlichen Fortschritt in der Krebsforschung dar, da es wichtige Erkenntnisse in Bezug auf den Entartungsprozess und die damit verbundenen Programmierungen im Chromatin liefert (Spork, 2009). Durch epigenetische Marker entstehen aus Krebszellen weitere entartete Zellen, wie auch aus Hautzellen neue Hautzellen und nicht etwa Leberzellen entstehen (Henderson, 2010). Zusätzlich ist mittlerweile bekannt, dass krebserregende Substanzen die epigenetische Bildung von Onkogenen¹⁷, also krebserzeugenden Genen stimuliert und die Entstehung von Tumorsuppressorgenen¹⁸, die krebshemmend wirken, hemmt, bzw. sogar deaktiviert, (Henderson, 2010). Allerdings ist diese Erkenntnis nur ein Bruchteil von den Veränderungen auf zellulärer Ebene in der Tumorgenese.

Es sind bereits erste große Erfolge zu verzeichnen, wie in der bereits erwähnten Darmkrebsdiagnostik vom Epigenomics Labor, das einen Test zur Früherkennung für diese Krebsart hergestellt hat – den „mSEPT9 Detection Assay“ (Kegel, 2012, S. 263). Entwickelt wurde der Test basierend auf der Erkenntnis, dass Tumore DNA-Spuren im Blut hinterlassen, diese allerdings bloß schwer zu finden sind. Daher wurde ein Gen isoliert, das in ca. 90% von Darmtumoren methyliert vorkommt und dem Test seinen Namen gegeben hat – das Septin-9-Gen (Kegel, 2012). Dieser Biomarker ist im Blut zu finden und wird anhand von Stuhltests bei 30-40% der Tumorerkrankungen ermittelt. Eine Erkennungsquote von 70% liefern z.B. Bluttests. Weitere Tests für die Früherkennung von Prostata- und Lungenkrebs sind seit dem Jahr 2012 in der Entwicklung. Auch die bessere Wirksamkeit von Chemotherapie wurde erkannt, wenn bestimmte Gene abgeschaltet sind, die Krebszellen nach dem medikamentösen Angriff regenerieren, bzw. reparieren würden (Spork, 2009).

Das amerikanische NIH (National Institutes of Health) stellte für verschiedene Projekte insgesamt 190 Millionen Dollar zur Verfügung, um viele der offenen Fragen klären zu können. Forscher arbeiten daran, weiterhin Epigenome zu kartieren und epigenetische Programme zu identifizieren, welche gesunde Zellen zu pathologische Veränderungen mutieren lassen und versuchen zu ermitteln, wie eine Stammzelle sich zu spezialisierten Zellen entwickeln kann. Stammzellen unterscheiden sich auf die DNA-Sequenz bezogen, nicht von bereits ausdifferenzierten adulten Zellen (Henderson, 2010). Das gesamte Erbgut ist vorhanden, aber verschiedene Eigenschaften sind je nach Zelltyp methyliert, also inaktiv

¹⁷ Onkogene = Zellen, die bei einer Zellmutation Tumoren entstehen lassen können, Graw (2006)

¹⁸ Tumorsuppressorgene = die darin codierten Proteine erkennen krebserregende Veränderungen und versuchen diese zu reparieren und falls dies nicht möglich ist, wird die Apoptose, also der programmierte Zelltod ausgelöst und die Zelle wird zerstört, Spork (2009)

oder nicht methyliert, also aktiv. Zusätzlich wird bereits versucht, spezialisierte Zellen, die im Überschuss vorhanden sind, wie z.B. Hautzellen, zu selteneren Zellen zu verändern, die Defekte im Körper reparieren könnten, wie beispielsweise Nervenzellen (Spork, 2009). Daraus kann Gewebe gezüchtet werden, das zerstörtes Gewebe ersetzen könnte und trotzdem körpereigen und so besser verträglich wäre.

Das gemeinsame Ziel für alle Vorhaben, ist die Identifikation verschiedener epigenetischer Schalter und ihrer Funktions- und Wirkungsweise in einem gesunden eukaryotischen Organismus, um sie von krankmachenden Schaltern unterscheiden und somit auch in die Codierung des epigenetischen Programms eingreifen zu können. Daher ist die Erforschung von Krankheitsentstehung im Rahmen eines Epigenom-Projektes essentiell wichtig, um Krankheiten medizinisch entgegenwirken zu können. Denn im Fall einer medikamentösen Therapie ist es leichter, Methylierungen zu entfernen, als die Gene an sich zu verändern (Henderson, 2010). Hier ist der Vergleich von Wolfgang Nellen sehr treffend, der das Genom als 'Hardware' und die verschiedenen Epigenome als 'Software' bezeichnet (Nellen, 2014, S. 2).

Wie vielseitig sich die Software der Epigenome gestaltet und wie sehr sie auf die Entstehung und Veränderung eines Organismus einwirkt, wird anhand von äußeren Einflüssen der Umwelt im nächsten Kapitel mit einiger Beispiele erläutert.

4. Epigenetik und Einflüsse aus der Umwelt

Dieses Kapitel beleuchtet den Einfluss der Umwelt auf die Entwicklung eines Organismus. Die Ernährung steht innerhalb der Unterkapitel 4.1 und 4.2 im Fokus. Der Unterschied ergibt sich daraus, dass bei 4.1 die Ausprägung des äußeren Erscheinungsbildes durch Ernährung thematisiert wird, wohingegen in 4.2 die Folgen der Ernährung in Bezug auf die Vererbung von krankmachenden Genen am Beispiel der Agouti-Maus erläutert wird. Geschlossen wird das Kapitel durch ein Beispiel der direkten Einflussnahme auf die epigenetischen Prozesse einer Zelle im Zusammenhang mit medizinisch-therapeutischen Maßnahmen, um Krankheiten zu heilen im Punkt 4.3.

4.1 Einfluss der Nahrung auf die Ausprägung eines Organismus

In der Natur gibt es zahlreiche Beispiele dafür, wie vielfältig und schnell sich verschiedene Organismen durch veränderte Umwelteinflüsse anpassen können. Vor allem die Veränderung des Phänotyps der Nachkommen durch spezifische Umweltsignale (Kegel, 2012) ist epigenetisch interessant. Dieses Phänomen wird von West-Eberhard als phänotypische Plastizität bezeichnet und beschreibt die phänotypische Anpassung und Veränderung eines Organismus in Reaktion auf ein Signal aus der Umwelt, welche bei den Nachkommen ohne Veränderung des Genmaterials eintritt (West-Eberhard, 2003). Exemplarisch dafür kann der Wasserfloh *Daphnia lumholtzi* angeführt werden, dessen Nachkommen bei der Anwesenheit von Fressfeinden bei Bedarf eine Art Helm wächst (Kegel, 2012). Auch andere Signale können eine Veränderung in einem tierischen oder pflanzlichen Organismus auslösen.

Am Beispiel der Honigbiene *Apis mellifera* fanden die Biologen Robert Kucharski und Ryszard Maleska heraus, dass epigenetische Prozesse für das Ausdifferenzieren von Arbeiterinnen und Königinnen verantwortlich sind und im Zusammenhang mit der Ernährung mit Gelée Royale stehen (Kucharski und Maleszka, 2006). Auch wenn in einem Bienenstaat die weiblichen Bienen je nach Aufgabe unterschiedlich ausdifferenziert sind (z.B. Arbeiterinnen, Ammenbienen, Königin), sind diese zu Beginn im Ei und als Larve genetisch völlig identisch, sodass Carey die Brut aus einem Gelege in ihrem Buch als Klone bezeichnet, natürlich nur die befruchteten Eier, die von den Spermien derselben Drohne stammen (Carey, 2011). Während der Entwicklung über das Larvenstadium hinaus, werden diese ehemals identischen und unfruchtbaren weiblichen Bienen sich körperlich und in ihrem Sozialverhalten sehr verschieden ausbilden. Die Ursache wurde früher in unterschiedlichen Erbanlagen vermutet, ist aber durch die Kenntnis des identischen

Genoms widerlegt, weshalb die Wissenschaftler begannen, nach epigenetischen Prozessen zu suchen, die sie schließlich in der unterschiedlichen Ernährungsweise der Brut fanden. Die Veränderung des Phänotyps beginnt im Larvenstadium beim Fütterungsverhalten von spezialisierten Arbeiterinnen - den Ammenbienen (Carey, 2011). Bis zum dritten Tag erhalten alle Larven Gelée Royale, das aus den Kopfdrüsen der Ammen gewonnen wird. Danach erhält der Großteil der Brut Pollen und Nektar, lediglich einige ausgewählte Larven erhalten bis zu ihrer vollständigen Entwicklung weiterhin diesen speziellen Futtersaft (Carey, 2011). Nach welchen Kriterien die zukünftigen Königinnen ausgewählt werden, ist noch weitgehend unbekannt.

Im Vergleich zu den Larven, die sich zu Arbeiterinnen entwickeln, ist die Königin (ca. eine pro Bienenstaat) bis zu zweimal größer, wird ungefähr zehnmal älter (Gesamalter zwischen einem und zwei Jahre), legt ca. 2000 Eier pro Tag und kann das Sperma vom Hochzeitsflug mit den Drohnen für Jahre in sich aufbewahren (Kucharski und Maleszka, 2006). Im Gegensatz zur Königin besitzen die Arbeiterinnen keine funktionsfähigen Ovarien, haben jedoch einen Stachel mit Widerhaken, Pollensäcken, Wachsdrüsen und zangenartige Mundwerkzeuge, die unter anderem für den Bau von Waben eingesetzt werden (Carey, 2011). Zu den physischen Unterschieden kommen verhaltensbiologische hinzu: Die Königin verlässt – bis auf den Hochzeitsflug, bei dem sie auch ihren glatten Stachel gegen Rivalinnen einsetzen kann – den Bienenstock nicht mehr (Carey, 2011). Die Arbeiterinnen hingegen schon, um Nahrung und Baumaterial für den Staat zu sammeln. Also auch der Habitus ist unterschiedlich, was sich ergänzend dadurch zeigt, dass Arbeiterinnen mit Schwänzeln- und Rundtänzen anzeigen können, wo sich auf den Meter genau, eine lohnende Futterquelle befindet.

Die Basis von Gelée Royale sind Zucker und Wasser, zusätzlich sind vor allem Aminosäuren, B-Vitamine (z.B. Thiamin (B₁), Riboflavin (B₂) und Niacin (B₃)), Eiweiße, Folsäure und Spurenelemente enthalten (Spork, 2009). Diese Stoffe sind in epigenetische Prozesse involviert. Bienenlarven besitzen ein Organ, das ähnlich wie unsere Leber funktioniert, wenn sie also durchgehend Gelée Royal zugeführt bekommen, bewirkt die Verstoffwechslung eine Aktivierung des „insulin pathway“ (Carey, 2011, S. 285), den ‚Insulin Pfad‘. Das führt dazu, dass die Produktion des „Juvenile Hormone“ (Carey, 2011, S. 285), zu Deutsch etwa ‚jugendliches Hormon‘ erhöht wird, welches die Bildung von fruchtbaren Eierstöcken stimuliert. Auch andere „Insulin/insulin-like growth factor signalling pathways“ (Kucharski und Maleszka, 2006, S.939), ‚Insulin ähnliche, Wachstumsfaktor auslösende Pfade‘ beeinflussen das Altern, den Energiestoffwechsel und andere biologische Vorgänge.

Wie der Prozess der Ausdifferenzierung auf molekularbiologischer Ebene verlief, fanden Forscher durch die Sequenzierung des Genoms von *A. mellifera* folgendes heraus: Das Genom enthielt DNA-Methyltransferasen (DNMT-1 und DNMT-3), die denen von höheren Organismen, z.B. der Vertebraten, sehr ähnlich sind (Kucharski und Maleszka, 2006). Dieses Enzym montiert Methylgruppen an die DNA und bestimmt somit den Grad der DNA-Methylierung (Spork, 2009). Dass die Gene der Honigbiene ein Methylierungssystem besitzen überraschte die Forscher, da dies bei vielen Insekten nicht der Fall war. Beispielsweise befindet sich in der schwarzbauchigen Taufliege *Drosophila melanogaster* kein Methylierungssystem in der DNA (Carey, 2011). Nach Kucharski führten auch Forscher um Shi Yuan der Michigan State University folgendes Experiment durch (Shi et al., 2011): Sie maßen die Aktivität des DNMT-3 und stellten fest, dass in Bienenköniginnen eine niedrige und in Arbeiterinnen eine hohe Methylierungsaktivität im Gen Dynactin p62 stattfand. Der Effekt der unterschiedlichen Fütterung wurde durch die Injektion doppelsträngiger DNMT-3 RNA imitiert, die eine höhere Methylierung zur Folge hatte und unabhängig von der Ernährung der Larven, Arbeiterinnen hervorbrachte (Shi et al., 2011). Zusätzlich erforschten sie, ob die Zellengröße im Zusammenhang mit der Selektion von Larven zu späteren Königinnen oder Arbeiterinnen steht. Bei der Kucharski Studie wurde den Larven DNMT-3 entzogen, das auch unabhängig von der Ernährung zu der Bildung von mehr Königinnen führte (Spork, 2009). Die Differenzierung im Kastensystem der Bienen findet also durch einen verschiedenen Grad an Methylierung statt. Eine Hypothese, dass Gelée Royal eindeutig die DNA-Methyltransferase hemmt, konnte bis jetzt nicht nachgewiesen werden, jedoch dass dies indirekt geschieht z.B. durch das Aktivieren von Hormonen, die eben zur Ausbildung der Fertilität von Bienenköniginnen führen (Carey, 2011). Die Arbeiterinnen haben weniger aktivierbare Gene, bei der Königin ist der Methylierungsgrad schwächer und sie besitzt somit mehr ablesbare Gene, die für die Ausprägung ihres Phänotyps verantwortlich sind. Es wurden insgesamt ca. 550 Gene gefunden, in denen ein unterschiedlicher Methylierungsgrad zwischen Königin und Arbeiterin festgestellt wurde (Kucharski et al., 2010). In Abbildung 8 auf Seite 27 können die verschiedenen Ergebnisse dem Säulendiagramm entnommen werden, die in Königin, Arbeiterin und Zwischenkaste aufgeteilt sind.

Aber nicht nur das äußere Erscheinungsbild der Honigbiene unterscheidet sich durch den Einfluss der Ernährung. Der Forscher Dr. Ryszard Maleszka vermutete – bedingt durch die unterschiedlichen Verhaltensweisen je nach Aufgabe der Honigbiene – dass die Angehörigen von verschiedenen Kasten in einem Bienenstock auch ihrer Aufgabe angepasst, unterschiedliche Prozesse im Verarbeiten von Informationen in ihrem Gehirn haben (Carey, 2011). In ihrem Aufsatz „Involvement of DNA methylation in memory processing in the honey bee“ (Lockett et al., 2010) beschreibt das Forscherteam, wie sie

durch gezielte Trainieren von Honigbienen eine Veränderung der epigenetischen Programmierung erreicht haben. Sie zeigten, dass nicht nur bei höheren Wirbeltieren, sondern auch bei niederen Arten, wie z.B. bei der Vertreterin *A. mellifera* Lern-, Erinnerungs- und Vergessensprozesse in deren Gehirn vorhanden sind und gefördert werden kann. Arbeiterinnen und Königin unterscheiden sich auch in diesen genannten

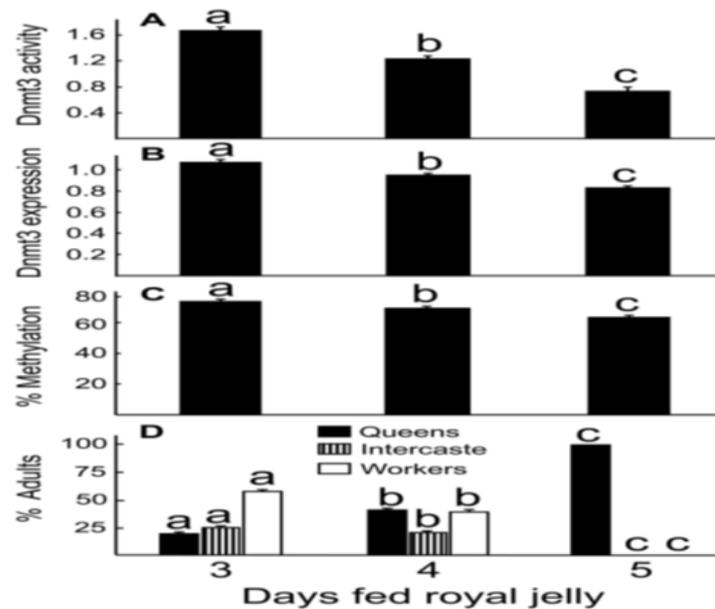


Abbildung 8: Dauer Fütterung mit Gelée Royal der Bienenlarven, Grad der Methylierung und Expression und Aktivität von DNMT3 (Shi et. al, 2011, S. 4).

Prozessen. Um diese Hypothese auf molekulargenetischer Ebene zu testen und somit nachzuweisen - vor allem in Bezug auf der Basis der unterschiedlichen Ernährungsweise - bestimmten sie die Verteilung von Methylcytosin (mC) in den Gehirnen von Königinnen und Arbeiterinnen durch „shotgun bisulfite sequencing technology“¹⁹ (Kucharski et al., 2010, S. 1). Dafür wird die DNA eines gesamten Genoms fragmentiert und neu ausgerichtet, sodass sie parallel für einen Sequenzierungscomputer ablesbar ist. Bisulfit dient der Aufbereitung der DNA für die anschließende Sequenzierung²⁰, wie sie in Abbildung 9 auf Seite 28 gezeigt wird. Cytosin wird durch Zugabe von Bisulfit in Uracil, eine Base, umgewandelt. So kann nun unmethyliertes Cytosin (blaues C) von methyliertem C (rotes C^m) differenziert werden. Ersteres wird in Uracil umgewandelt, zweiteres bleibt Cytosin (von Watson/Crick zu BSW/BSC). Das Ergebnis zeigte, dass in 561 Genen ein unterschiedlicher Methylierungsgrad vorliegt.

¹⁹ WGSBS = Whole genome shotgun bisulfite sequencing, Anderson (2016).

²⁰ Bisulfit-Sequenzierung = Molekularbiologisches Analyseverfahren zur Entschlüsselung des Genoms von einem Organismus, Antwerpes und Hönscher (2016).

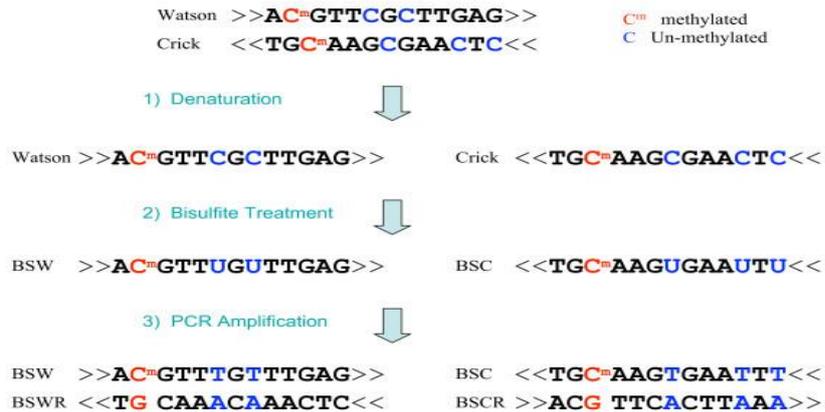


Abbildung 9: Sequenzierung von DNA-Abschnitten (Xi und Li, 2009)²¹.

Die Ernährung beeinflusst also insgesamt nicht nur die Ausprägung des Phänotyps bei niederen Arten, sondern auch Verstehens-, Merk- und Vergessensprozesse im Gehirn. Dieses dient der Ausprägung unterschiedlichen Verhaltens und zur Entwicklung spezifischer Fähigkeiten, wie beispielsweise der Mitteilung von Art und Lage von Futterquellen durch Rund- und Schwänzeltanz bei Arbeiterinnen oder das Eiablageverhalten und die Durchführung des Hochzeitsfluges bei Königinnen. Wie bereits beschrieben, ist dieses Methylierungssystem nur bei einigen Insektenarten vorhanden, diese gleichen damit den Vertebraten²². Damit können auch Rückschlüsse darauf gezogen werden, welche Rolle gesunde oder ungesunde Ernährungsgewohnheiten bei höheren Arten spielen und wie durch deren Einfluss sowohl Krankheit als auch Gesundheit determiniert werden kann. Anders als im Kapitel 3.1.1 wird nicht die geschlechtliche Komponente untersucht, sondern die spezielle Aktivierung eines Gens, unabhängig vom Geschlecht, aber abhängig von der Ernährungsweise, dem Agouti-Gen.

4.2 Einfluss der Nahrung auf die Gesundheit

Als wesentliche Einflussgrößen – zusätzlich zu den Erbanlagen – wurden für die Gesundheit eines Individuums zu dessen Lebzeiten verschiedene Faktoren ermittelt: Regelmäßige Bewegung, der Verzicht auf Zuführung verschiedener schädlicher Substanzen wie Alkohol, Nikotin usw. und eine gesunde und ausgewogene Ernährung (Spork, 2009). Vor allem die Ernährung spielt in Bezug auf epigenetische Regulation eine

²¹ Abbildung 9: Denaturation = Denaturierung, strukturelle Veränderung von Biomolekülen; PCR (Polymerase Chain Reaction) Amplification = Polymerase Kettenreaktion Vermehrung, Vervielfältigung von DNA-Fragmenten

²² Vertebraten = Wirbeltiere

herausragende Rolle, welche in diesem Kapitel am Beispiel einer Studie mit Agouti-Mäusen durch Jirtle und Waterland erläutert wird (Jirtle und Waterland, 2003).

Wie hoch die Gesundheit, bzw. vor allem die Krankheitsanfälligkeit des Menschen ist, wird vermutlich bereits durch die Ernährungsweise des mütterlichen Organismus determiniert (Spork, 2009). Im Fokus steht dabei die pränatale und frühe postnatale Ernährung der Nachkommen (Jirtle und Waterland, 2003). Randy Jirtle – Toxikologe und Krebsforscher – und sein Kollege Robert Waterland (Spork, 2009), zeigten diesen Kausalzusammenhang anhand einer Studie mit Agouti-Mäusen (Jirtle und Waterland, 2003). Das Haar einer normalen Maus, die in den Experimenten verwendet und untersucht wurde, ist gestreift: schwarz an Spitze und Wurzel und in der Mitte gelb (Carey, 2011). Während des Wachstums der schwarzen Haaranteile ist das Agouti-Gen ausgeschaltet, beim gelben Mittelteil ist es aktiv (Carey, 2011). Dabei gibt es zwei Besonderheiten: Eine Mutation des Agouti-Gens in rezessiver Form (a)²³, das eine ausschließlich schwarze Fellfarbe der Maus bewirkt (Carey, 2011). Das Tier ist schlank und weist einen normalen, nicht krankheitsauffälligen Phänotyp auf (Jirtle und Waterland, 2003). Der Effekt, der durch die zweite vorliegende Besonderheit ausgelöst wird, ist für die Forschung von Jirtle und Waterland von besonderer Bedeutung: Die moderate Form des Agouti-Gens, das nur in einer Wachstumsphase angeschaltet ist, kodiert unter anderem ein Signalprotein (ASIP = agouti signalling peptide), das für die Ausprägung des Merkmals der gelben Fellfarbe verantwortlich ist und durch das Pigment Phaeomelanin gebildet wird (Jirtle und Waterland, 2003). Liegt aber ein dominantes, heterozygoten²⁴ Agouti-Gen (A^{vy})²⁵ vor, ist dieses permanent aktiviert und es wird ausschließlich Phaeomelanin erzeugt, dessen vermehrte Produktion die Ausprägung der schwarzen Fellfarbe durch das Pigment Eumelanin verhindert (Jirtle und Waterland, 2003). Das Haar ist komplett gelb und somit lässt sich ein permanent aktives Agouti-Gen sofort an der gelben Fellfarbe der Maus feststellen, woraus weitere Schlüsse für den Methylierungsgrad und den Gesundheitsstatus des Tieres gezogen werden können (siehe Abbildung 11, S.31). Agouti-Mäuse haben nachweislich ein stark erhöhtes Risiko für Adipositas, Tumorbildung und Diabetes Typ 2 durch eine verminderte Glukosetoleranz (Arnold und Kircher, 2014). Zusammenfassend wird diese Kombination aus verschiedenen Krankheitsbildern als 'lethal yellow syndrome' bezeichnet, das sich in einem generell kränklichem Phänotyp der Agouti-Mäuse äußert (Arnold und Kircher, 2014). Die Entstehung wird durch das Agouti-Signalpeptid²⁶ verursacht, welches sich in der kompetitiven Blockierung des MC4-R (Melanocortinrezeptor) manifestiert

²³ a = Nonagouti-Allel; Jirtle und Waterland (2003).

²⁴ Heterozygot = mischerbig: Auf beiden Chromosomen befinden sich jeweils unterschiedliche Allele, also Kopien eines bestimmten Gens; Antwerpes (2016c).

²⁵ A^{vy} = Agouti-viable yellow Allel; Carey (2011).

²⁶ Signalpeptid = definiert Ziel- und Wirkungsort eines Proteins; Campbell und Reece (2012).

(Arnold und Kircher, 2014). Die Bindung von Melanocortin an den Rezeptor steuert das Fressverhalten und den Metabolismus des Säugetierorganismus (Arnold und Kircher, 2014). Melanocortin reguliert das Fressverhalten in Bezug auf Menge und Frequenz der Mahlzeiten, daher hebt eine Blockade des Rezeptors die Wirkung des Botenstoffes auf, was unkontrolliertes Essverhalten und daraus resultierende Fettleibigkeit zur Folge hat (Adan, 2006). Bei Mäusen mit dunkler Fellfarbe ist das Agouti-Gen größtenteils deaktiviert, bzw. methyliert und somit abgeschaltet (Arnold und Kircher, 2014). Die Blockierung des Rezeptors findet ebenfalls nicht statt. Diese Mäuse sind in der Regel schlank und besitzen einen gesünderen Phänotyp, als diejenigen Tiere, deren Agouti-Gen sich in einer permanent nicht methylierten Form befindet (Arnold und Kircher, 2014).

Jirtle und Waterland stellten die Hypothese auf, dass durch die Ernährung der Mutter während der Schwangerschaft, die Methylierung des Agouti-Gens bei der Frühentwicklung der Nachkommen beeinflusst werden könne (Jirtle und Waterland, 2003): Eine Gruppe gesunder Weibchen mit dunkler Fellfarbe wurde für die Studie mit heterozygoten Agouti-Männchen gepaart (Arnold und Kircher, 2014). Die daraufhin trächtigen Weibchen bekamen Substanzen zur Nahrungsergänzung (Folsäure, Vitamin B₁₂, Cholin und Betain), die sich förderlich auf die Bildung von Enzymen auswirkten, welche potentiell Methylgruppen an die DNA montieren (Spork, 2009). Diese methylspendenden Stoffe und Cofaktoren sind notwendig für die Synthetisierung des S-Adenosylmethionin²⁷, welches ein Methylgruppendonator ist (Hircin, 2016). Dieses Methionin wird für die CpG-Methylierung benötigt, die in diesem Experiment nachweislich das krankmachende Agouti-Gen stumm schaltet (Jirtle und Waterland, 2003). Die Methylierung mit der darauf folgenden Modifikation der Gene kann Abbildung 10 auf Seite 31 entnommen werden. Je mehr dieser Stoffe durch die Ernährung synthetisiert werden können, desto wahrscheinlicher ist die Methylierung des schädlichen Gens. Bei der zweiten Gruppe war die Vorgehensweise der Paarung exakt gleich, nur die Weibchen bekamen kein Spezialfutter (Spork, 2009).

²⁷ S-Adenosylmethionin = wird aus Adenosintriphosphat (ATP) und der essentiellen Aminosäure Methionin unter Abspaltung von Pyrophosphat und Phosphat gebildet. Es ist der wichtigste Methylgruppendonator im Stoffwechsel, Hircin (2016).

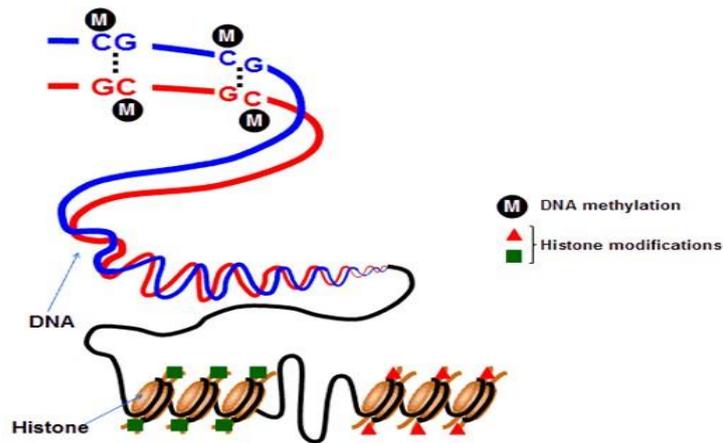


Abbildung 10: Histonmodifikation mit CpG-Inseln (Mayer, 2014).

Das Ergebnis dieses Experiments verifiziert die aufgestellte Hypothese der Forscher: Die Weibchen der ersten Gruppe gebären größtenteils schlanke braun- bis schwarzhaarige Jungtiere, die Weibchen der zweiten Gruppe nur gelbe Agouti-Mäuse (Spork, 2009). Die Nachkommen beider Gruppen erbten das Agouti-Gen, aber nur bei der zweiten Gruppe ohne die Zuführung zusätzlicher enzyymbildender Stoffe, kam es zur Genexpression im Phänotyp mit den bekannten Folgen: Übergewicht und kränklicher Phänotyp der Mäuse mit ausschließlich gelber Fellfarbe (Spork, 2009). In Abbildung 11 ist der Methylierungsgrad und die damit verbundene Fellfarbe und Figur der Mäuse dargestellt, zusätzlich zum schematisch dargestellten Erbgang.

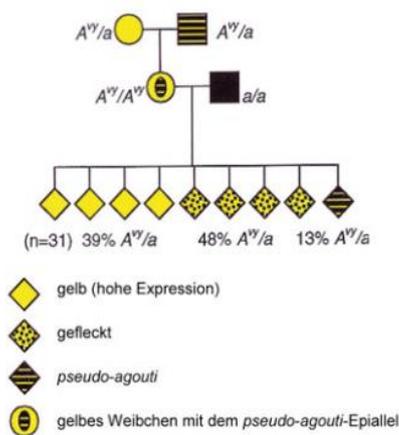


Abbildung 11: Methylierungsgrad Agouti-Maus (Graw, 2006, S. 332).

Die erworbenen Kenntnisse aus der Jirtle und Waterland Studie lassen sich auch auf den menschlichen Körper übertragen. Die oben vorgestellten Prozesse der Methylierung finden auch im menschlichen Organismus statt, wodurch Parallelen möglich sind.

Für Jirtle und Waterland ist im Auswertungs- und Diskussionsteil ihrer Arbeit klar, dass es immer mehr Beweise für die Krankheitsentstehung im menschlichen Organismus gibt, denen epigenetischen Genregulationsmechanismen vorausgehen (Jirtle und Waterland, 2003). Diese werden, wie bereits dargestellt, durch Ernährung maßgeblich beeinflusst und steuern die genetische Programmierung in einem Embryo (Jirtle und Waterland, 2003). Als Beispiel nennen die Autoren die deutliche Reduktion des Risikos für Neuralrohrdefekte²⁸ während der Embryonalentwicklung durch eine erhöhte Zuführung von Folsäure während der Schwangerschaft (Jirtle und Waterland, 2003). Dieser Defekt entsteht durch einen Mangel an Folsäure, weshalb Frauen während der Schwangerschaft prophylaktisch Folsäurepräparate zu sich nehmen sollten.

Wenn die Änderung, bzw. Verbesserung zur Gesundheit hin im Phänotyp während der Entwicklung eines Menschen bereits durch die Zuführung weniger Substanzen beeinflusst werden kann, bietet das ein großes Spektrum in der Entwicklung von Medikamenten, die epigenetische Programme beeinflussen und so zu einem gewünschten Ergebnis hin verändern können. Die Bekämpfung von – bisher unheilbaren - Krankheiten mit Hilfe von epigenetischer Medikation wird im folgenden Unterkapitel erläutert.

4.3: Einfluss von epigenetischer Medikation am Beispiel des Gene Silencing

Da Krebs sehr vielfältig auftritt und es bereits einige wirkungsvolle Ansätze zur Bekämpfung von bösartigen Tumoren gibt, wird hier das Beispiel einer Krankheit genannt, gegen die Mediziner bisher keine Therapiemöglichkeiten zur Verfügung stehen. Durch die epigenetische Methode des Gene Silencing entstehen jedoch völlig neue und vielversprechende Ansätze, um Krankheiten wie die neurologische Erkrankung Chorea Huntington heilen oder gar verhindern zu können.

Chorea Huntington (auch Huntington's Disease, kurz HD) ist eine bisher unheilbare, neurodegenerative Erkrankung, die entweder aus einer spontanen Mutation entsteht oder zu 50% aus dem autosomal-dominanten Erbgang von Vater oder Mutter auf Sohn oder Tochter (Antwerpes, 2016a). Die Mutation ist im Allel des Chromosom 4 lokalisiert und wird

²⁸ Neuralrohrdefekte = Fehlbildung bei der Schließung von Hautfalten entlang der Wirbelsäule, an der ein Vorläufer vom Teil des Nervensystems gebildet wird, das Neuralrohr. Ein Beispiel dafür ist Spina bifida (offener Rücken), Hönscher (2016).

als Huntingtin-Gen (Htt) bezeichnet. Diese Mutation führt zu dem Defekt, dass die CAG²⁹-Basentriplets Wiederholungen außerhalb des Normbereiches aufweisen (mehr als 35 Repeats) (Harper et al., 2005). Je größer die Anzahl der Wiederholungen, desto früher und stärker bricht die Krankheit aus. Durch Ablagerungen im Gehirn kommt es – ähnlich wie bei Parkinson – zu unkontrollierten Muskelbewegungen und Sprechstörungen, die im Verlauf der Krankheit irreversibel zunehmen und schließlich den Verlust von gesteuerter Motorik und der Sprechfähigkeit verursachen. Vollständige Demenz und den Ausfall der Fähigkeit Essen kontrolliert zu schlucken, machen den Betroffenen unter Umständen in jungen Jahren zu einem Pflegepatienten.

Da die Krankheit bisher als unheilbar gilt und nur die Milderung der Symptome möglich ist, bemühen sich Forscher in der Genetik und Medizin um ein wirksames Therapeutikum zur Bekämpfung oder sogar Prävention und Heilung dieser Erbkrankheit. Hier setzt die Methode des Gene Silencing an. Der Ausdruck bedeutet eine Stilllegung oder Unterdrückung der Genexpression (Nicolay, 2016). Dies geschieht entweder ohne Beeinflussung als Eigenschutz der Zelle z.B. vor Viren oder durch gezielte Beeinflussung von Medikamenten als Umwelteinfluss zur Ausschaltung unerwünschter Genexpressionen, die im aktiven Zustand Krankheiten begünstigen und/oder auslösen könnten. Mittlerweile können Gene auch künstlich aktiviert werden, was als Gene Enhancing bezeichnet wird (Nicolay, 2016). Gene Silencing kann entweder auf translationaler oder transkriptionaler Ebene verlaufen (siehe Kapitel 2).

Im Oktober 2015, nach vielen Studien an Mäusen und Menschenaffen, wurde an 36 Teilnehmern aus Kanada, Deutschland und Großbritannien die erste Testphase eines epigenetisch wirksamen Medikaments gegen HD an Menschen durchgeführt. Bis heute sind keine außergewöhnlichen oder schwere Nebenwirkungen bekannt und das Medikament ist wirksam (Carroll, 2015). Vereinfacht soll das Medikament wie in Abbildung 12 wirken.

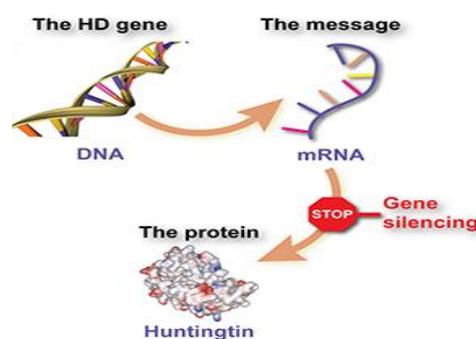


Abbildung 12: Gene silencing des Huntingtin Gens (Carroll, 2015).

²⁹ CAG = Cytosin, Adenin, Guanin

Das Medikament mit dem Namen 'IONIS-HTT_{Rx}' von der US-amerikanischen Firma Ionis Pharmaceuticals ist ein Gene Silencing/Antisense³⁰-Präparat (Ionis Pharmaceuticals, 2016). Es soll die Produktion des Huntingtin Proteins – verursacht durch die verlängerte CAG-Triplett-Sequenz – reduzieren und somit verhindern, dass die oben genannten Symptome entstehen und die Krankheit ausbricht. Das Medikament zielt dabei speziell auf das die mRNA des Huntingtin Gens, bzw. das 'huntingtin message molecule' (Tabrizi, 2015) ab, das produziert wird, wenn das Huntingtin Gen aktiv wird. Diese sogenannten Antisense Oligonucleide (ASOs) bewirken die Deaktivierung des Moleküls und reduzieren bzw. verhindern so die Produktion des mutierten Huntingtin Proteins, das toxisch auf die Neuronen im Gehirn wirkt und diese zerstört (Kordasiewicz et al., 2012). Als Resultat wurde bereits eine Reduktion des Huntingtins im Gehirn gemessen. In Abbildung 13 können in den Diagrammen Konzentration, und Auswirkung auf die mRNA des Htt abgelesen werden. Versuche an Mäusen ergaben, dass bei Unterdrückung der Huntingtin RNA die Produktion des toxischen Proteins um 75% zurück ging (Kordasiewicz et al., 2012).

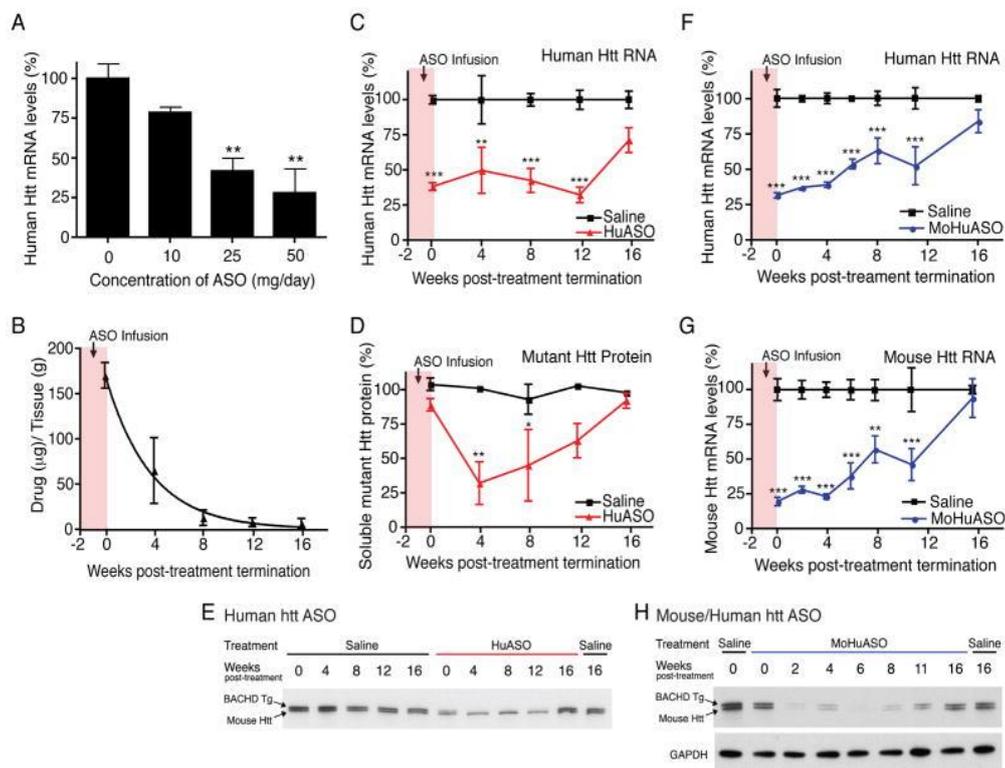


Abbildung 13: Ergebnisse ASO in Rückenmarksflüssigkeit (Kordasiewicz et al., 2012)³¹.

³⁰ Antisense = unterdrückt das Ablesen von genetischer Information der Zelle, Duden (2016).

³¹ Abbildung 13: HuASO: human huntingtin targeting ASO; Saline: Salzlösung Trägerflüssigkeit, Kordasiewicz et al. (2012).

Um den Wirkstoff zum Wirkungsort zu bringen, wird ersterer in den Spinalkanal injiziert und so zum Gehirn transportiert. Für die Wirkung ist ein konstantes Level in der Rückenmarksflüssigkeit (Liquor) nötig. Die Leiterin der klinischen Studien zu diesem Wirkstoff und Direktorin des Huntington's Disease Centre an der Londoner Universität im Institut für Neurologie Sarah Tabrizi bezeichnet nach den ersten Studien an Menschen das Medikament als sicher und die Entwicklung desselben als Meilenstein in der der HD Forschung (Tabrizi, 2015).

Durch die Nutzung der RNAi (siehe Kapitel 2) als epigenetisches Werkzeug, wird das Gene Silencing möglich gemacht. Das Verstehen der epigenetischen Prozesse hilft den Forschern insbesondere beim Verständnis der Funktionsweise pathologisch veränderter Zellen und deren therapeutisch-medizinische Modifikation. Eine Änderung der Gene wäre unmöglich, deshalb wird die epigenetische Programmierung durch das Injizieren RNA wirksamer Stoffe verändert und so wahrscheinlich bald eine Heilung bzw. Prävention einer Krankheit möglich sein, die bis vor Kurzem noch als unheilbar galt.

5. Fazit

Auf dem Deckblatt dieser Arbeit ist das Bild „Die epigenetische Landschaft“ (Waddington, 1957) zu sehen, das von dem Briten Conrad Waddington entworfen wurde. Er prägte bereits in den 1940er Jahren den Begriff des Epigenoms, das aber auf der Suche nach dem genetischen Code und anderen genetischen Schlüsseln nicht valide genug galt und in Vergessenheit geriet. Heute ist dieses Bild mit Waddingtons Interpretationen wieder hochaktuell. Die Murmel in der Mitte am oberen Rand des Bildes, stellt das Individuum dar, das am Anfang seines Lebens steht (Spork, 2009). Während dessen Lebenszeit rollt die Murmel in verschiedene Täler, beeinflusst durch genetische Anlagen und Umwelteinflüsse. Auch kann das die Murmel eine Zelle darstellen, die sich im Laufe ihrer Lebenszeit verändert und den Phänotyp eines Lebewesens entscheidend prägen kann. Im Unterschied zur Blütezeit der Genetik ist nun die tiefgreifende Erkenntnis neu, dass unsere Erbanlagen nicht starr, sondern im Gegenteil – äußert variabel, dynamisch und veränderbar sind. Der Wandel, bzw. die Veränderung dieses Blickwinkels auf uns und unsere Nachfahren sollte auch im Rahmen dieser Bachelorarbeit erreicht werden: Genau wie auf dem Bild, können wir entscheidend mit beeinflussen, ob die Murmel in Täler der Krankheit oder in Täler der Gesundheit gleitet. Ein gesundes Lebenskonzept aus vollwertiger Kost, viel Bewegung und dem Vermeiden von Alkohol und anderer schädlichen Substanzen, wirken auf die epigenetischen Programme der Zellen ein und verlängern das Leben um einige wertvolle Jahre – allerdings mit der Einschränkung, dass die ererbten Schaltpläne nicht gravierend auf eine Krankheitsentstehung einwirken. Genauso wie unsere Eltern ihre Gene und ihre Epigene an uns weitergegeben haben, können sich unsere Lebensentscheidungen auf unsere Epigene und somit auf das Leben unser Kinder, Enkel und Urenkel auswirken. Daher ist es nicht verwunderlich, dass Zivilisationskrankheiten wie Diabetes mellitus und kardio-vaskuläre Erkrankungen immer noch stark auf dem Vormarsch sind.

Im Bereich der Medizin sind große Fortschritte zu verzeichnen, wie das Unterkapitel über den Einfluss von Medikamenten und deren Einsatz im therapeutischen Bereich gezeigt hat. Jedoch sollte an dieser Stelle erwähnt werden, dass noch keine Langzeitstudien existieren, die eventuelle Konsequenzen dokumentieren, die aus dem Verstellen von epigenetischen Schaltern zu Gunsten einer momentanen Gesundheit entstehen können. Daher ist vor einer allzu großen Euphorie Vorsicht geboten, epigenetisch wirksame Medikamente wären der Schlüssel zur Heilung von allen Krankheiten. Nichtsdestotrotz gibt diese neue Möglichkeit der Medikation vielen Betroffenen, wie z.B. denen, die an Chorea Huntington erkrankt sind oder erkranken werden, viel Hoffnung.

Mit immer neuen Erkenntnissen, die die Erforschung der Epigenetik mit sich bringt, verändert sie den Blick auf die Eigenverantwortung des Menschen im Hinblick auf seinen Lebensstil und die Weitergabe der eigenen epigenetischen Programmierungen an seine Nachkommen nachhaltig. Dennoch sind die Ergebnisse dieser bahnbrechenden neuen und dennoch sehr etablierten Wissenschaft in Ergänzung zur herkömmlichen Genetik weitgehend unbekannt. Weder in den Medien, noch in Wirtschaft und Politik ist dieser essentielle Themenbereich der neuen Lebenswissenschaften im Mittelpunkt des breiten Interesses. Als Ansatz zur Aufklärungsarbeit steht hier die Schule in der Pflicht, alte und überholte Lehrpläne im Fach Biologie in Bezug auf die herkömmliche Genetik grundlegend zu erneuern. Selbst die Mendel'schen Erbgelgesetze werden den Schülern noch als Fakt übermittlekt, obgleich sie doch längst als nicht ganzheitliches und unmodernes Konzept abgelöst und durch wesentlich relevantere und modernere Lerninhalte ersetzt werden könnten. Vor allem im Fach Biologie sollte ein moderner Unterricht am Puls der Zeit und auf aktuellen Forschungsergebnissen basierend das Ziel jeder Lehrkraft sein. Durch das Konzept der Epigenetik als Unterrichtsgegenstand, wird das Bewusstsein der Schüler zu Themen wie Ernährung, Schadstoffe in Umwelt und Nahrungsmitteln und der modernen Form der Erblehre nachhaltig geschult, vor allem im Hinblick auf die neu erkannte Dynamik der Zellen und ihre Programmierung, die großes Interesse und eine hohe Motivation wecken könnten, anstatt veraltete Inhalte einüben zu lassen. Die Schülervorstellungen zu den Erbanlagen eines Menschen als starres Gerüst sollten nachhaltig erneuert und verändert werden.

Die Epigenetik als junges Forschungsfeld ist vielversprechend und verdient die Verbreitung ihrer Inhalte und deren Integration in eigene Lebensentwürfe. Durch diese Arbeit wurde ein Versuch unternommen, einen breiten Überblick über die verschiedenen Themen zu bieten und auch kompliziertere Vorgänge auf molekularer und biochemischer Ebene zu erläutern und für den Leser gut verständlich aufzubereiten. Das Ziel, dem Leser den Wandel von den eigenen Vorstellungen zur Genetik durch die Präsentation der Vielfältigkeit von Epigenetik und ihrer Dynamik selbst nachvollziehen zu lassen, ist hoffentlich gelungen und ein erster Schritt zu einer Anregung der Auseinandersetzung mit einer Lebenswissenschaft, die durch ihre Entdeckung im Wandel zur Postgenomik hin, eine große Chance und viele Möglichkeiten verspricht.

6. Literatur

- Adan, R. A. H. (2006): The MC4 receptor and control of appetite. Abrufbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2014686/>.
- Anderson, S. (2016): Shotgun DNA sequencing using cloned DNase I-generated fragments. Abrufbar unter <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6269069>.
- Antwerpes, F. (2016a): Chorea Huntington. Abrufbar unter http://flexikon.doccheck.com/de/Chorea_Huntington.
- Antwerpes, F. (2016b): DNA-Methylierung. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/DNA-Methylierung>.
- Antwerpes, F. (2016c): Heterozygot. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Heterozygot>.
- Antwerpes, F. (2016d): RNA-Interferenz. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/RNA-Interferenz>.
- Antwerpes, F. (2016e): Embryonalzeit. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Embryonalzeit>.
- Antwerpes, F. (2016f): Spermatozyt. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Spermatozyt>.
- Antwerpes, F. (2016g): HPLC. Abrufbar unter http://flexikon.doccheck.com/de/HPLC?utm_source=www.doccheck.flexikon&utm_medium=web&utm_campaign=DC%2BSearch.
- Antwerpes, F., C. Hönscher (2016): DNA-Sequenzierung. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/DNA-Sequenzierung>.
- Arnold, J., S. Kircher (2014): Essen für das Erbgut. *Unterricht Biologie* 38, 400/2014, S. 12–17.
- Bouchard, T. J. et al. (1990): Sources of human psychological differences: the Minnesota Study of Twins Reared Apart. *Science*, 250/1990, S. 223–228.
- Campbell, N. A., J. B. Reece (2012): *Biologie*. Pearson Studium, München.
- Carey, N. (2011): *The epigenetics revolution. How modern biology is rewriting our understanding of genetics, disease and inheritance*. Icon, London.
- Carroll, J. (2015): Liftoff: First humans treated with gene silencing drugs. Abrufbar unter <http://en.hdbuzz.net/204>.
- Chemgapedia (2016): Genexpression. Abrufbar unter <http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossary/de/genexpression.glos.html>.

- Deutsche UNESCO-Kommission e.V. (2016): Lebenswissenschaften. Abrufbar unter <https://www.unesco.de/wissenschaft/ingenieur-naturwissenschaften/lebenswissenschaften.html>.
- Duden (2016): Duden | An-ti-sense-Tech-no-lo-gie | Rechtschreibung, Bedeutung, Definition, Herkunft. Abrufbar unter http://www.duden.de/rechtschreibung/Antisense_Technologie.
- Esteller, M. (2006): The necessity of a human epigenome project. *Carcinogenesis* 27, 6/2006, S. 1121–1125.
- Fraga, M. F., E. Ballestar, M. F. Paz, S. Ropero, F. Setien, M. L. Ballestar, D. Heine-Suner, J. C. Cigudosa, M. Urioste, J. Benitez, M. Boix-Chornet, A. Sanchez-Aguilera, C. Ling, E. Carlsson, P. Poulsen, A. Vaag, Z. Stephan, T. D. Spector, Y.-Z. Wu, C. Plass, M. Esteller (2005): Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 30/2005, S. 10604–10609.
- Graw, J. (2006): Genetik. Mit 72 Tabellen und 30 Technik-Boxen. Springer, Berlin, Heidelberg.
- Harper, S. Q., P. D. Staber, X. He, S. L. Eliason, I. H. Martins, Q. Mao, L. Yang, R. M. Kotin, H. L. Paulson, B. L. Davidson (2005): RNA interference improves motor and neuropathological abnormalities in a Huntington's disease mouse model. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 16/2005, S. 5820–5825.
- Henderson, M. (2010): 50 Schlüsselideen Genetik. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, s.l.
- Hircin, E. (2016): S-Adenosylmethionin. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/S-Adenosylmethionin>.
- Hoffmann, R. (2016): CTCFL - CCCTC-binding factor (zinc finger protein)... Abrufbar unter <https://www.wikigenes.org/e/gene/e/140690.html>.
- Hönscher, C. (2016): Neuralrohrdefekt. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Neuralrohrdefekt>.
- Hutvagner, G., M. J. Simard, C. C. Mello, P. D. Zamore (2004): Sequence-specific inhibition of small RNA function. *PLoS biology* 2, 4/2004, E98.
- Ionis Pharmaceuticals (2016): Pipeline - Ionis Pharmaceuticals. Abrufbar unter <http://www.ionispharma.com/pipeline/>.
- Jirtle, R. L., R. A. Waterland (2003): Transposable Elements: Targets for Early Nutritional Effects on Epigenetic Gene Regulation. *Molecular and Cellular Biology* 23, 15/2003, S. 5293–5300.

- Kaati, G., L. O. Bygren, S. Edvinsson (2002): Cardiovascular and diabetes mortality determined by nutrition during parents' and grandparents' slow growth period. *European journal of human genetics* : EJHG 10, 11/2002, S. 682–688.
- Kegel, B. (2012): *Epigenetik. Wie Erfahrungen vererbt werden*. DuMont, Köln.
- Knippers, R., A. Nordheim, P. Dröge, G. Meister, E. Schiebel (2015): *Molekulare Genetik*. Thieme.
- Kordasiewicz, H. B., L. M. Stanek, E. V. Wancewicz, C. Mazur, M. M. McAlonis, K. A. Pytel, J. W. Artates, A. Weiss, S. H. Cheng, L. S. Shihabuddin, G. Hung, C. F. Bennett, D. W. Cleveland (2012): Sustained therapeutic reversal of Huntington's disease by transient repression of huntingtin synthesis. *Neuron* 74, 6/2012, S. 1031–1044.
- Kucharski, R., R. Maleszka (2006): Insights into social insects from the genome of the honeybee *Apis mellifera*. *Nature* 443, 7114/2006, S. 931–949.
- Kucharski, R., S. Wolf, C. Falckenhayn, R. Maleszka, F. Lyko (2010): The honey bee epigenomes: differential methylation of brain DNA in queens and workers. *PLoS biology* 8, 11/2010, e1000506.
- Lockett, G. A., P. Helliwell, R. Maleszka (2010): Involvement of DNA methylation in memory processing in the honey bee. *Neuroreport* 21, 12/2010, S. 812–816.
- Mansuy, I. M., S. Mohanna (2011): *Epigenetics and the Human Brain: Where Nurture Meets Nature*. Abrufbar unter http://dana.org/Cerebrum/2011/Epigenetics_and_the_Human_Brain__Where_Nurture_Meets_Nature/.
- Nellen, W. (2014): *Epigenetik*. *Unterricht Biologie* 38, 400/2014, S. 2–9.
- NGFN (2014): *Geschichte der Genomforschung*. Abrufbar unter http://www.ngfn.de/index.php/den_dna_code_knacken.html.
- Nicolay, N. (2016): *Gene silencing*. Abrufbar unter http://flexikon.doccheck.com/de/Gene_silencing?utm_source=www.doccheck.flexikon&utm_medium=web&utm_campaign=DC%2BSearch.
- Oates, N. A. et al. (2006): Increased DNA Methylation at the Axin1 Gene in a Monozygotic Twin from Pair Discordant for an Caudal Duplication Anomaly. *Am. J. Human Genetics*, 79/2006, S. 155–162.
- Pembrey, M. E. (2002): Time to take epigenetic inheritance seriously. *European journal of human genetics* : EJHG 10, 11/2002, S. 669–671.
- Prinz, D. (2016): *Oogenese*. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Oogenese>.
- Römer, G. (2016): *Kapillarelektrophorese*. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Kapillarelektrophorese>.

- Schwab, M. (2011): Encyclopedia of Cancer. Springer Berlin Heidelberg.
- Shi, Y. Y., Z. Y. Huang, Z. J. Zeng, Z. L. Wang, X. B. Wu, W. Y. Yan (2011): Diet and cell size both affect queen-worker differentiation through DNA methylation in honey bees (*Apis mellifera*, Apidae). PloS one 6, 4/2011, e18808.
- Spork, P. (2009): Der zweite Code. Epigenetik - oder Wie wir unser Erbgut steuern können. Rowohlt, Reinbek bei Hamburg.
- Tabrizi, S. J. (2015): UCL Huntington's Disease Research. 19th October, 2015 - First patients dosed with 'gene silencing' drug, IONIS-HTTRx, for Huntington's disease. Abrufbar unter <http://hdresearch.ucl.ac.uk/>.
- Waddington, C. H. (1957): The strategy of the Genes. Geo Allen&Unwin, London.
- West-Eberhard, M. J. (2003): Developmental Plasticity and Evolution. Oxford University Press.
- Westphalen, G. von (2016): Chromosom. Abrufbar unter <http://flexikon.doccheck.com/de/Chromosom>.
- Wikipedia (2016): Epigenetik. Abrufbar unter <https://de.wikipedia.org/w/index.php?oldid=157416810>.
- Wikipedia (2015): Exon. Abrufbar unter <https://de.wikipedia.org/w/index.php?oldid=144129427>.
- Xi, Y., W. Li (2009): BSMAP: whole genome bisulfite sequence MAPping program. BMC Bioinformatics 10:232 10, 1/2009, S. 232.

7. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Funktion von Exons in DNA und mRNA (Wikipedia, 2015).</i>	6
<i>Abbildung 2: Positionierung von DNA und Histonen (Pearson, 2012).</i>	7
<i>Abbildung 3: Methylierung von Cytosin (Graw, 2006, S. 296).</i>	8
<i>Abbildung 4: Ausschalten CTCF und Aktivierung BORIS in der Spermatogenese (Loukinov, 2016).</i>	13
<i>Abbildung 5: Vererbung und Zellentwicklung (Wikipedia, 2016).</i>	15
<i>Abbildung 6: Ergebnisse der Zwillingsstudie (Fraga, Ballestar et al, 2005, S. 10606).</i>	18
<i>Abbildung 7: Zusammenspiel epigenetischer Proesse (Mansuy und Mohanna, 2011).</i>	20
<i>Abbildung 8: Dauer Fütterung mit Gelée Royal der Bienenlarven, Grad der Methylierung und Expression und Aktivität von DNMT3 (Shi et. al, 2011, S. 4).</i>	27
<i>Abbildung 9: Sequenzierung von DNA-Abschnitten (Xi und Li, 2009).</i>	28
<i>Abbildung 10: Histonmodifikation mit CpG-Inseln (Mayer, 2014).</i>	31
<i>Abbildung 11: Methylierungsgrad Agouti-Maus (Graw, 2006, S. 332).</i>	31
<i>Abbildung 12: Gene silencing des Huntingtin Gens (Carroll, 2015).</i>	33
<i>Abbildung 13: Ergebnisse ASO in Rückenmarksflüssigkeit (Kordasiewicz et al., 2012).</i> ..	34