

تأثیر اپی ژنتیک بر سبک زندگی و بیماری‌های انسانی

● فرشته خلیل زاده

کارشناس ارشد سلولی مولکولی، کلینیک ژنتیک



● دکتر داریوش فرهود

متخصص ژنتیک پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم پایه/اخلاق، فرهنگستان علوم پزشکی ایران، کلینیک ژنتیک



چکیده

تقریباً همه بیماری‌ها، ریشه ژنتیکی دارند. با این حال، شرایط محیطی در بروز بیماری‌ها، بسیار مؤثر هستند. در مطالعه حاضر، پایگاه‌های اطلاعاتی PubMed، Scopus و Google Scholar جستجو و بررسی شدند و آن دسته از مطالعات که ارتباط بین عوامل محیطی و ژنتیکی را با بروز بیماری‌ها بررسی می‌کردند استخراج شدند و مورد استفاده قرار گرفتند. در مرحله پایانی، نتیجه‌گیری می‌شود که در بسیاری از موارد، اختلالات دارای علت چند عاملی هستند. داشتن یک ژن مرتبط با یک اختلال خاص تنها دلیل ابتلا به این بیماری نیست. هر موردی خارج از DNA، ممکن است بر سلامتی تأثیر بگذارد و حتی در بسیاری از افراد با سابقه خانوادگی مثبت یک اختلال خاص، عوامل محیطی می‌توانند باعث تسهیل یا پیشگیری از بروز بیماری شوند. بنابراین، داشتن یک سبک زندگی سالم در کاهش قرار گرفتن در معرض بیماری‌ها و امید به زندگی طولانی، مهم است. مدت‌هاست که دانشمندان سعی کرده‌اند اختلالات را فقط با عوامل ژنتیکی یا محیطی توصیف کنند. با این حال، نقش اپی ژنتیک در بیماری‌های انسانی از نیم قرن پیش مورد توجه قرار گرفته است. در دهه اخیر، این موضوع به خصوص در اختلالات پیچیده‌ای مانند شکل پذیری رفتار، حافظه، سرطان، بیماری خودایمنی و اعتیاد و همچنین اختلالات عصبی و روانی، مورد توجه قرار گرفته است.

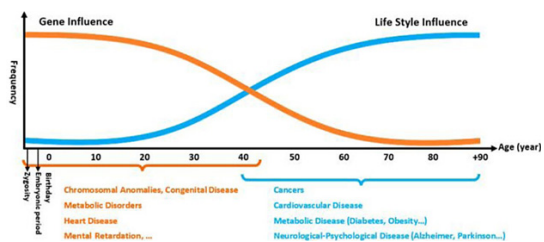
این بررسی ابتدا تاریخچه و طبقه‌بندی تغییرات اپی ژنتیکی و سپس نقش اپی ژنتیک در زیست‌شناسی و ارتباط بین اپی ژنتیک و محیط را توضیح می‌دهد. همچنین

نقش اپی ژنتیک در بیماری‌های انسان با تمرکز بر برخی بیماری‌ها با برخی ویژگی‌های پیچیده، مورد توجه قرار گرفته و در پایان به چشم‌انداز آینده این حوزه پرداخته شد. بیمه‌های زندگی و سلامت در تلاش هستند تا با پرسیدن سؤالات کمتر، روند درخواست را ساده کنند. آزمایش اپی ژنتیک یکی از فناوری‌هایی است که برای ارزیابی وضعیت سلامت متقاضی بررسی شده است. مقاله مروری حاضر مفاهیمی را همراه با چند مثال ارائه می‌کند تا دید وسیعی از جنبه‌های مختلف اپی ژنتیک در زیست‌شناسی و بیماری‌های انسانی نشان دهد.

کلمات کلیدی: اپی ژنتیک، متیلاسیون، سبک زندگی، آزمایش‌ها، اندازه‌گیری متیلاسیون

مقدمه

شرایط ژنتیکی بخش قابل توجهی از اختلالات را در جمعیت جهان شامل می‌شود که شامل تک ژنی، وراثت چند عاملی و میتوکندریایی و ناهنجاری‌های کروموزومی می‌باشد. (شکل ۱)



شکل ۱: تأثیر ژنتیک و سبک زندگی بر بیماری‌های همراه با افزایش سن (۱)



پرخطر و استفاده بیش از حد از فناوری می باشد. این عادات خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن و غیرواگیر را افزایش می‌دهد. بیماری‌های مزمن شامل بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان‌ها، اختلالات متابولیک و روانی تقریباً ۸۰ درصد از تمام سال‌های ناتوانی و بیش از ۸۵ درصد هزینه‌های مراقبت‌های بهداشتی را تشکیل می‌دهند و مسئول ۷۷ درصد مرگ‌ومیرها در سراسر جهان هستند (۵). مطالعات مختلف مدت‌ها ثابت کرده‌اند که چندین بیماری مزمن مرتبط با استعداد ژنتیکی و خطاهای سیستماتیک مختلف در تفسیر ژنوم به بیماری‌های مزمن کمک می‌کنند (۶).

□ اپی ژنتیک و بیماری‌های انسانی

متیلاسیون مکانیسم رایج و پرکاربرد برای تغییرات اپی ژنتیکی در سلول‌ها است. این بیماری با بسیاری از بیماری‌های انسانی، از جمله سرطان‌های مختلف، اختلالات خود ایمنی و اختلالات عصبی (سندرم X شکننده و همچنین هانتینگتون، آلزایمر، بیماری پارکینسون و اسکیزوفرنی) مرتبط است. همچنین پیشنهاد شده است که متیلاسیون را می‌توان برای بیماری‌های پیچیده تحت تأثیر برخی عوامل ثانویه مانند تفاوت‌های جنسی و سن در نظر گرفت که می‌تواند شدت اختلال را تغییر دهد (۷).

□ بیماری‌های قلبی عروقی

بیماری‌های قلبی عروقی^۱ (CVDs) علت اصلی مرگ و میر هستند. انواع مختلف تحقیقات نشان داده‌اند که چندین اختلال قلبی، تأثیر جهش‌های ژنتیکی و نقش وراثت را نشان می‌دهند که می‌تواند منجر به علائم نارسایی قلبی، فشار خون بالا و افزایش پلاک شریانی شود یا بر ساختار عضله قلب، نحوه ارتباط سلول‌های قلب، ساختار و عملکرد یک پروتئین خاص در سیستم گردش خون و کلسترول تأثیر بگذارد. بنابراین، عوامل ژنتیکی به دلیل اهمیت ژن‌ها در هر جنبه از سیستم قلبی عروقی، می‌تواند بر احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی تأثیر بگذارد.

در میان بسیاری از اختلالات ژنتیکی که افراد را از اولین روزها یا سال‌های زندگی تحت تأثیر قرار می‌دهند، بیماری‌های چندعاملی تحت تأثیر عوامل محیطی و ژن‌ها نمایان می‌شوند. از بدو تولد تا اوایل دهه ۴۰، بیماری‌ها را می‌توان بر اساس بروز به سه دسته تقسیم کرد: شروع زودرس، میانی و شروع دیررس. سندرم‌های ارثی آن دسته از اختلالات ژنتیکی هستند که اغلب با شروع علائم، معمول در هفته‌ها یا ماه‌های اول زندگی پس از زایمان همراه هستند. رویکردهای نوظهور مختلفی در ژنتیک پزشکی برای شناسایی جهش‌ها در بیماران مبتلا به بیماری‌های ژنتیکی زودرس، به‌ویژه جهش‌هایی که قبلاً گزارش نشده‌اند یا در گروه‌های کنترل جمعیت وجود نداشتند، به کار گرفته شده‌اند. بروز چندین بیماری غیرواگیر مانند سندرم‌های متابولیک، بیماری‌های روانی و نقایص قلبی زودرس نیز در سنین کودکی یا نوجوانی رخ می‌دهد (۲). زندگی مدرن تغییرات گسترده‌ای را در زندگی همه افراد و وضعیت سلامت عمومی ایجاد کرده است (۳). روش‌ها و تکنیک‌های تشخیصی بهبود یافته در تشخیص بیماری‌های ارثی و ژنتیکی به متخصصان در تشخیص زودهنگام، تصمیم‌گیری و مدیریت این اختلالات کمک می‌کند و همچنین برای پیشگیری از بیماری‌ها، برنامه‌ریزی می‌کند. این پیشرفت‌ها در زندگی مردم و سیستم مراقبت‌های بهداشتی باعث کاهش مرگ و میر نوزادان و بهبود امید به زندگی شده است. با این حال، این تغییرات در زندگی مدرن، بسته به سبک زندگی، خطر ابتلا به بیماری‌های دیگر را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهد (۴). در واقع، کیفیت زندگی ممکن است منجر به بروز آن دسته از بیماری‌هایی شود که استعداد ابتلا به آن‌ها حداقل تا سنین میانسالی یا پیری خفته و تحت تأثیر ترکیبی از عوامل ژنتیکی و محیطی قرار می‌گیرد.

برخی از این عوامل به ویژه شامل رژیم غذایی نامناسب، مصرف الکل، سیگار کشیدن، سوء مصرف مواد، عدم فعالیت بدنی، کم‌خوابی یا پر خوابی، رفتارها و عادات جنسی

1-Cardiovascular Diseases



این بیماری‌ها از طریق خانواده‌ها منتقل می‌شوند و به آنها بیماری‌های قلبی ارثی می‌گویند (۸). جدا از صدها ژن درگیر در بیماری قلبی، چندین عامل محیطی پرخطر نیز وجود دارد که بر خطر، بروز و شدت CVD تأثیر می‌گذارد. جمعیت سالمندان نسبت به افراد جوان در برابر بیماری‌های قلبی عروقی آسیب پذیرتر هستند زیرا افزایش سن به طور مداوم با افزایش احتمال قرار گرفتن در معرض عوامل خطر مرتبط است و سیستم قلبی عروقی را مختل می‌کند (۹). فعالیت بدنی ناکافی، اضافه وزن، افزایش سطح کلسترول، فشار خون بالا، استعمال دخانیات، آفت کش‌ها، سطوح آلودگی و صدا و درجه حرارت زیاد از عوامل خطر اصلی برای CVD در افراد دارای سابقه خانوادگی مثبت هستند (۱۰).

□ سرطان‌ها

اگرچه سرطان یک بیماری ژنتیکی رایج است، اما تنها ۵ تا ۱۰ درصد از همه سرطان‌ها ارثی هستند. جهش در برخی از ژن‌های خاص ممکن است افراد را مستعد ابتلا به سرطان کند. بر اساس مطالعات، درصد سرطان‌های مشاهده شده در بزرگسالان جوان کمتر از افراد مسن است، اما میزان بروز آن در حال افزایش است. تحقیقات در ایالات متحده نشان می‌دهد که تعداد جوانانی که بین سنین ۲۰ تا ۴۰ سال به سرطان مبتلا می‌شوند، حدود ۸۰۰۰۰ نفر در سال است. این در حالی است که آخرین داده‌ها و آمار سرطان نشان می‌دهد که شیوع سرطان‌های سینه، رحم، روده بزرگ، کلیه و پانکراس در گروه‌های سنی جوان رو به افزایش است (۱۱).

بنابراین، جدای از تأثیر سن به عنوان عامل اصلی در افزایش پیوسته و کلی نرخ بروز سرطان، می‌توان فهمید که عوامل محیطی و سبک زندگی در ابتلا به اکثر سرطان‌ها، به‌ویژه در میان بزرگسالان کمتر از ۵۰ سال، اهمیت زیادی دارند. به عبارت ساده، سبک زندگی ناسالم نه تنها منجر به شروع زودرس سرطان در افراد مستعد این بیماری می‌شود، بلکه می‌تواند خطر ابتلا به سرطان را در افراد عادی با سابقه خانوادگی منفی نیز افزایش دهد. شرایط بد زندگی، از جمله سیگار کشیدن، آلودگی، استرس زیاد، رژیم غذایی ناسالم

مانند مصرف گوشت قرمز، غذاهای فرآوری شده و مصرف کم سبزیجات میوه، الکل، قرار گرفتن در معرض عفونی، چاقی و ورزش بدنی ناکافی از عوامل محیطی اصلی هستند که باعث سرطان می‌شوند و ریسک ابتلا را بالا می‌برند (۱۲).

□ اختلالات متابولیک (دیابت و چاقی)

دیابت هم توسط عوامل محیطی و هم به دلیل عوامل ارثی قوی ایجاد می‌شود. بر اساس تحقیقات مختلف، ژنتیک و اصل و نسب نقش حیاتی در دیابت نوع ۲ و ایجاد دیابت نوع ۱ دارند. چندین ژن با این بیماری مرتبط هستند. در سطح مولکولی، تقریباً بیش از ۸۰ ژن مرتبط با عوارض شناسایی شده است (۱۳). با این حال، جهش به تنهایی باعث دیابت نمی‌شود. محیط و سبک زندگی می‌تواند شروع این بیماری را تسریع کند. طبق نظرسنجی ملی سلامت و تغذیه، رژیم غذایی چاقی و کمبود فعالیت بدنی به عنوان عامل اصلی چاقی و دیابت نوع دو در بیشتر موارد مبتلا شناخته شده است (۱۴). تحقیقات جدید توضیح می‌دهند که چگونه محیط در طول دوره‌های بحرانی رشد و تکامل انسان بر چاقی و دیابت به دلیل تأثیرات اپی ژنتیکی بر بیان ژن مانند تغییرات شیمیایی DNA و RNA و بیان پروتئین بعدی یا تغییرات متابولیکی ناشی از آن تأثیر می‌گذارد.

بنابراین با توجه به اهمیت سبک زندگی و افزایش سن در بروز این بیماری به شدت ارثی، پیشگیری و درمان آن، داشتن رژیم غذایی سالم برای کاهش سطح گلوکز خون، افزایش فعالیت بدنی روزانه برای ارتقای عملکردهای قلبی عروقی و تنفسی و از بین بردن رفتارهای ناسالم مانند سیگار کشیدن، مصرف بیش از حد الکل و خواب ناکافی ضروری است (۱۵).

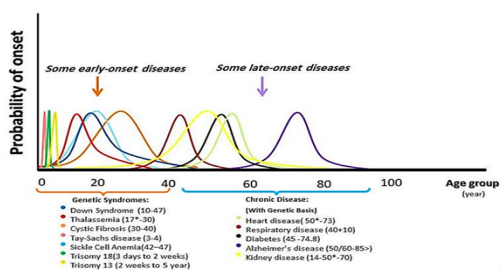
□ اختلالات عصبی و روانی

در حال حاضر به طور گسترده پذیرفته شده است که برای عملکرد طبیعی و ویژگی‌های رشد عصبی مغز، ثابت بودن متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون ضروری است و اختلال در تنظیم آن‌ها ممکن است منجر به فنوتیپ‌های بیماری شود. نقش مهم اپی ژنتیک در رشد مغز و بیماری ناشی از عوامل زیر است: (۱) شکل پذیری اپی ژنتیک در تمام دوره‌های رشد و پیری مغز و همچنین تنظیم پویا در نورون‌ها،



ایجاد آلزایمر در اواخر زندگی می‌شود، برخلاف $\epsilon 4$ APOE، که مسئول ایجاد آلزایمر در سنین پایین‌تر است. با این حال، به دلیل به ارث بردن این ژن‌ها از والدین، افراد به طور قطع به این بیماری مبتلا نمی‌شوند. برخی از عوامل محیطی، از جمله قرار گرفتن در معرض آلودگی، آلاینده‌های آلی پایدار، سیگار کشیدن، عفونت‌ها، ورزش کمتر و آلومینیوم و سلنیوم موجود در آب آشامیدنی با افزایش خطر ابتلا به آلزایمر مرتبط هستند. از سوی دیگر، محققان از طریق متآنالیز به این نتیجه رسیدند که ارتباط معنی‌داری بین غلظت کم ویتامین D و آلزایمر وجود دارد. بنابراین، این بیماری مزمن ناشی از انحطاط وابسته به سن، عوامل ژنتیکی و سبک زندگی است.

به طور خلاصه، سبک زندگی بر سلامت افراد تأثیر می‌گذارد و اتخاذ یک سبک زندگی سالم می‌تواند از ابتلای افراد به بیماری با افزایش سن جلوگیری کند. عوامل خطرزای محیطی نقش حیاتی در پاتوژنز بسیاری از بیماری‌ها به ویژه بیماری‌های مزمن دارند. شرایط متعدد، از جمله بیماری‌های متابولیکی، عصبی شناختی و عصبی قلبی عروقی و بیماری‌های خودایمنی را نمی‌توان تنها به یک عامل نسبت داد. بنابراین داشتن یک ژن مرتبط با یک بیماری خاص و جهش تنها دلیل ابتلا به یک بیماری نیست. حتی در بسیاری از افراد با سابقه خانوادگی مثبت اختلالات ژنتیکی، عوامل محیطی می‌توانند بروز یک اختلال را تسهیل کرده یا از آن جلوگیری کنند (شکل ۲).



شکل ۲: شروع برخی بیماری‌ها (۱)

اختلال در سازماندهی کروماتین در اختلالات عصبی اولیه کودکی و بزرگسالان و ۳) افزایش سریع داروهای اصلاح‌کننده کروماتین نشان داد که پتانسیل درمانی غیرمنتظره‌ای برای اختلالات زوال عصبی و عملکردی سیستم عصبی دارند. این عوامل علاقه زیادی به مکانیسم‌های مرتبط با کروماتین در بیماری‌های عصبی به خود جلب کرده‌اند و یک زمینه مطالعاتی جدید به نام «اپی ژنتیک عصبی» ایجاد شده است. گزارش‌های متعددی به ارتباط متیلاسیون DNA با بیماری‌های عصبی اشاره کرده‌اند (۱۶). تنظیم پروتئین‌های متیلاسیون H3K4 به‌عنوان یک عامل تأثیرگذار در بیماری‌های زوال عصبی در نظر گرفته می‌شود و غیرفعال شدن آنزیم‌های هیستون‌دی‌متیلاز می‌تواند منجر به اختلالات مختلفی مانند اوتیسم، سندرم رت^۲ و عقب‌ماندگی ذهنی مرتبط با X شود (۱۷). مطالعات قبلی در مورد بیماری آلزایمر^۳ (AD) دو نوع را گزارش کرده‌اند: شروع زودرس و دیررس. علت اصلی شروع زودرس آلزایمر ژنتیکی است که بین ۳۰ سالگی تا اواسط ۶۰ سالگی فرد رخ می‌دهد و حدود ۶-۰.۵٪ جمعیت بیماران آلزایمر را تشکیل می‌دهد (۱۸). جهش‌های تک ژنی شامل پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید (APP) در کروموزوم ۲۱، پرسنیلین ۱ (PSEN1) در کروموزوم ۱۴ و پرسنیلین ۲ (PSEN2) در کروموزوم ۱، مشاهده شده است که با شروع زودرس آلزایمر مرتبط هستند و به تولید غیرطبیعی پروتئین منجر می‌شوند. از سوی دیگر، مهم‌ترین و شناخته شده‌ترین عامل خطر ابتلا به آلزایمر دیررس، افزایش سن است و اکثر بیماران شناسایی شده با این بیماری در اواسط ۶۰ سالگی به بعد هستند. اگرچه هیچ ژن خاصی با آلزایمر دیررس مرتبط نیست، شناسایی انواع ژنتیکی به دانشمندان کمک کرده است تا آلزایمر را بهتر درک کنند و عامل خطر ژنتیکی را پیدا کنند. بنابراین، با توجه به یافته‌های آن‌ها، داشتن یک نوع ژنتیکی ژن آپولیپوپروتئین (APOE) $\epsilon 2$ با افزایش خطر ابتلا به آلزایمر دیررس مرتبط است. APOE $\epsilon 2$ معمولاً باعث

2-Rett syndrome

از اختلالات نادر پسرفت رشد نوزادان می‌باشد که ناشی از مشکلات رشد مغزی است. نوزاد تا سن ۵ ماهگی از هر لحاظ رشدی طبیعی دارد. بین ۶ ماهگی تا ۴۸ ماهگی کودک دچار مشکلات تنفسی پیشرونده شده و تکلمات و آموخته‌های قبلی از بین می‌رود. این اختلال «فقط در دختران» رخ می‌دهد.

3-Alzheimer's Disease

بیماری‌های اتوایمیون

عملکرد طبیعی سیستم ایمنی به تحمل بدن بستگی دارد و کمبود تحمل سیستم ایمنی بدن می‌تواند منجر به خودایمنی شود. مطالعات تطابق بیماری خودایمنی در دوقلوهای تک تخمکی و دو تخمکی نقش عوامل اپی ژنتیک را پیشنهاد کرده است. شکست هموستاز اپی ژنتیک، به عنوان پاسخی به عوامل محیطی، می‌تواند منجر به تغییرات بیان ژن در سلول‌های تمایز یافته خاص شود که منجر به عدم تنظیم تحمل خود می‌شود. سیستم ایمنی و اندام هدف نقش اصلی را در فرآیند بیماری خودایمنی دارند و تغییرات اپی ژنتیکی می‌تواند در توسعه بیماری نقش داشته باشد. بسیاری از عملکردهای سلول‌های ایمنی، بازآرایی گیرنده آنتی ژن، حذف آلی و پاسخ‌های ایمنی القایی در برابر پاتوژن‌ها به طور اپی ژنتیکی کنترل می‌شوند. تغییر در مکانیسم‌های اپی ژنتیکی که سیستم ایمنی را تنظیم می‌کنند می‌تواند باعث شیوع بیماری‌های خودایمنی شود. شایان ذکر است که فراوانی بروز بیماری‌های خودایمنی به طور قابل توجهی در زنان بیشتر است و دلیل آن ممکن است به دلیل هورمون‌های جنسی زنانه باشد. دخالت کروموزوم X دوم در پاسخ ایمنی و استعداد ژنتیکی به خودایمنی مشکوک است. با توجه به فقدان دانش کافی در مورد علت دقیق این بیماری‌های ایمنی، نقش مکانیسم‌های تنظیمی اپی ژنتیک بسیار امکان‌پذیر است. علاوه بر این، نمونه‌های زیادی از همبستگی بین تغییرات اپی ژنتیکی و بیماری‌های خودایمنی وجود دارد. (۲۰) به عنوان مثال، در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، هیپومتیللاسیون DNA HDAC1 (هیستون دی استیلاز ۱) و سطوح HDAC2، هیپر استیلاسیون هیستون‌های H3 و H4 و هیپومتیللاسیون هیستون H3 در لیزین ۹ در بافت‌های سینوویال^۴ مشاهده شده است. علاوه بر این، در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس، هیپومتیللاسیون DNA در ماده سفید سیستم عصبی مرکزی در مقایسه با افراد سالم

تشخیص داده شده است. در لوپوس اریتماتوز سیستمیک، هدف اصلی اتوآنتی بادی‌ها DNA آپوپتوز هیپومتیله و هیستون‌های اصلاح شده هستند. مطالعات متعددی نقش اپی ژنتیک را در شرایط آلرژیک تأیید کرده‌اند و آسم یکی از پیچیده‌ترین بیماری‌ها در این دسته محسوب می‌شود. شواهد نشان می‌دهد که هم مکانیسم‌های آسم و هم مکانیسم‌های اپی ژنتیک ارثی هستند و ۳۶ تا ۷۹ درصد موارد آسم خانوادگی وراثتی دارای الگوهای ارثی غیر مندلی در بیش از ۱۰۰ ژن هستند که تنها بخش کوچکی از علت بیماری را پوشش می‌دهد. جالب توجه است که آسم و تغییرات اپی ژنتیکی از مادر آسیب دیده بیشتر از پدر مبتلا در ویژگی‌های منشأ والدین منتقل می‌شود که می‌تواند نتیجه تعاملات ایمنی بین جنین و مادر باشد. قرار گرفتن در معرض رحم می‌تواند بر آسم و همچنین تغییرات اپی ژنتیکی تأثیر بگذارد و هر دو ویژگی می‌توانند تحت تأثیر عوامل محیطی قرار گیرند. به طور کلاسیک، آلرژن‌ها عواملی مانند رفتار سیگار کشیدن در نظر گرفته می‌شوند و مطالعات تأیید کرده‌اند که این عوامل می‌توانند علائم اپی ژنتیکی در آسم را تغییر دهند. (۲۱)

اعتیاد

برآورد جهانی مصرف مواد افیونی (مواد شبه تریاک) حدود ۱۳/۵ میلیون نفر است که از این تعداد ۹/۲ میلیون نفر از هروئین استفاده می‌کنند. مطالعات خانواده، دوقلوها و فرزندخواندگی شواهد زیادی ارائه کرده‌اند که نشان می‌دهد پیشینه ژنتیکی نقش مهمی در بیماری اعتیاد دارد. تفاوت دو تا چهار برابری در انواع اختلالات سوء مصرف مواد در تک تخمکی در مقایسه با دوقلوهای دو تخمکی گزارش شده است و تغییرات ژنتیکی مختلف با انواع مختلف وابستگی به مواد مرتبط است. تصویر جالبی از اکثر مطالعات ژنتیکی اعتیاد به مواد مخدر به دست آمد که بر اهمیت عوامل محیطی علاوه بر عوامل ژنتیکی تأکید می‌کند.

۴-بافت سینوویوم بافت اختصاصی مفاصل متحرک است و وظیفه اصلی آن تولید مایع سینوویال است که نقش کاهش دهنده اصطکاک بین سطوح غضروف مفصلی

را برعهده دارد.



□ تأثیر سبک زندگی بر اپی ژنتیک و آزمایش‌های مرتبط با آن

اپی ژنتیک یک زمینه پویا در زیست‌شناسی مولکولی است که چگونگی تأثیر عوامل محیطی بر بیان ژن را بررسی می‌کند. این شامل فرآیندهای برگشت پذیر و ارثی است که عملکرد ژن را بدون تغییر توالی DNA تنظیم می‌کند (۲۵).

بر خلاف ژنتیک، که بر صفات ارثی رمزگذاری شده در DNA تمرکز دارد، اپی ژنتیک تحت تأثیر عوامل محیطی مختلف مانند سیگار کشیدن است. برخی از علائم اپی ژنتیکی می‌توانند میزان پیری و خطرات سلامتی آینده را نشان دهند. عواملی مانند BMI، سیگار کشیدن، مصرف الکل و بیماری‌هایی مانند دیابت نوع ۲ و سرطان سینه ممکن است بر تغییرات اپی ژنتیک مربوط به بیمه نامه تأثیر بگذارند. آیا آزمایشات بزاق اپی ژنتیک می‌تواند جایگزین روش‌های سنتی پذیره نویسی شود؟ مطالعات نشان می‌دهد که بین نشانگرهای اپی ژنتیک و عوامل سبک زندگی ارتباط وجود دارد، اما قابلیت اطمینان استفاده از تست‌های اپی ژنتیک برای ارزیابی ریسک به شناسایی دقیق عوامل خطر قابل ارزیابی بستگی دارد (۲۶).

□ روند پیری

سن یک عامل کلیدی در برنامه‌های بیمه است، اما تجزیه و تحلیل اپی ژنتیک می‌تواند به ساده‌سازی این فرآیند کمک کند. علائم اپی ژنتیکی مانند DNAmGrimAge^v می‌توانند با استفاده از نمونه‌های بیولوژیکی مانند بزاق که حاوی DNA با کیفیت بالا هستند، سن را پیش‌بینی کنند. ساعت‌های اپی ژنتیک می‌توانند سن تقویمی، بیولوژیکی و شتاب‌داده فرد را تخمین بزنند. با این حال، استفاده از ساعت‌های اپی ژنتیک برای پذیره‌نویسی دارای محدودیت‌هایی است، زیرا هدف آزمایش‌های در

اپی ژنتیک پاسخ به نیازهای یک موجود زنده را در شرایط محیطی متنوع از طریق تغییرات تطبیقی تغییر می‌دهد. رویدادها و فرآیندهای اپی ژنتیک معمولاً برای ترکیب حفظ تغییرات نوروپلاستیک، که با یادگیری و حافظه مرتبط هستند، استفاده می‌شوند. عدم تنظیم دستگاه اپی ژنتیک، در نتیجه قرار گرفتن در معرض مواد، می‌تواند منجر به رفتار موادمخدر و بازگشت مجدد وابستگی به مواد شود. به عنوان مثال، فعال‌سازی عصبی می‌تواند متیلایسیون DNA پروموتور فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز (BDNF⁺) را در محل‌های اتصال عناصر پاسخ (CRE¹) cAMP تغییر دهد و بیان ژن را القا کند. نقش مهم BDNF در انعطاف پذیری عصبی و رفتاری در مواجهه مزمن با مواد افیونی از طریق کاهش مداوم بیان BDNF خاص اگزون در ناحیه تگمنتال شکمی برجسته شد. (۲۲)

تغییرات اپی ژنتیکی خاص، مانند تغییرات هیستون، به واسطه فعالیت ژن BDNF در مواجهه مزمن با مورفین گزارش شده است. مشاهدات دیگر در موش‌ها در طول پرهیز اجباری از مورفین، افزایش قابل توجه استیلایسیون H3 در پروموتور BDNF II و تغییرات متیلایسیون هیستون H3 در ناحیه تگمنتال شکمی را نشان داده است (۲۳). مطالعات دیگر نشان داده‌اند که قرار گرفتن طولانی‌مدت در معرض دارو منجر به تغییرات رونویسی گسترده در ژن‌هایی با عملکردهای سلولی متنوع می‌شود. این نوع تغییر با تغییرات مشاهده شده در مراحل اولیه فرآیندهای تطبیقی عصبی ناشی از دارو همراه با تغییرات خاص در ژن‌های پاسخ اولیه و مسیرهای انتقال سیگنال متفاوت است. در مجموع، مطالعات نشان داده‌اند که علت شروع، ادامه و عود وابستگی به مواد با توجه به عوامل اپی ژنتیکی که مسیرهای سیگنالینگ عصبی متقابل متعددی را تنظیم می‌کنند که نوع زیادی در مغز در حال رشد ایجاد می‌کند، بهتر درک می‌شود (۲۴).

5- Brain-derived neurotrophic factor

6- cAMP response elements

۷-اولین نسخه GrimAge به عنوان یک نشانگر زیستی مرکب (ترکیب خطی وزنی) از هفت جایگزین DNAm از پروتئین‌های پلاسما، یک تخمینگر مبتنی بر

DNAm متناسب با سال سیگار کشیدن، سن و جنس تعریف شد.



حال انجام بهینه‌سازی اثربخشی، کارایی، مقیاس‌پذیری و مقرون‌به‌صرفه بودن آن‌ها است (۲۷).

□ شاخص توده بدنی (BMI)^۱

چاقی عامل اصلی مشکلات سلامتی مانند بیماری قلبی و سرطان است. یک مطالعه در سال ۲۰۲۱ نشان داد که چاقی می‌تواند بر متیلاسیون DNA تأثیر بگذارد و به طور بالقوه بر التهاب و سطح لیپوپروتئین در افراد چاق تأثیر بگذارد. مطالعه دیگری که شامل ۹۹۱ فرد سالم بود، ارتباط بین چاقی و متیلاسیون DNA را برجسته کرد و بر اهمیت استفاده از اپی‌ژنتیک برای تشخیص چاقی و خطرات مربوط به سلامت تاکید کرد. متیلاسیون DNA مرتبط با BMI نقش مهمی در ایجاد بیماری‌های قلبی متابولیک مرتبط با چاقی ایفا می‌کند. درک این الگوهای متیلاسیون می‌تواند به ارزیابی خطر برای افراد با BMI بالا کمک کند (۲۸). دیابت نوع ۲ یک بیماری شایع به خصوص در بین افراد چاق است و با مسائل مختلف سلامتی مانند بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است. در پذیره نویسی به دلیل تأثیری که بر سلامتی دارد به دقت مورد بررسی قرار می‌گیرد. مطالعات تفاوت‌هایی را در الگوهای اپی‌ژنتیکی (متیلاسیون DNA و بیان ژن) در بافت‌های مختلف افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد بدون این بیماری نشان داده‌اند. الگوهای اپی‌ژنتیک مختص سلول‌ها و بافت‌های مختلف است. برای ارزیابی دقیق وضعیت دیابتیک فرد، نمونه برداری از بافت‌های مربوطه تحت تأثیر این بیماری ضروری است. با این حال، به دست آوردن نمونه‌های بافت خاص، علاوه بر خون یا بزاق، برای تجزیه و تحلیل اپی‌ژنتیکی دقیق‌تر برای شرایطی مانند دیابت نوع ۲ و چاقی ممکن است برای اهداف بیمه عملی نباشد (۲۹).

□ سیگار کشیدن

سیگار کشیدن می‌تواند الگوهای متیلاسیون DNA را تغییر دهد، با سایت‌های خاص CpG که تغییرات مرتبط

با وضعیت سیگار کشیدن را نشان می‌دهد. این تغییرات برگشت پذیر هستند، همانطور که در سیگاری‌های سابق مشاهده می‌شود که سطح متیلاسیون آن‌ها در طول زمان عادی می‌شود. با این حال، مدت زمان ترک سیگار و سال‌های بسته بندی سیگار می‌تواند بر این روند تأثیر بگذارد. تحقیقات بیشتری برای درک رابطه بین شدت سیگار کشیدن و سطوح متیلاسیون DNA مورد نیاز است (۳۰).

□ مصرف الکل

تحقیقات ارتباط بین الگوهای متیلاسیون DNA و وابستگی به الکل را نشان داده است. تغییرات سبک زندگی، مانند ورزش منظم، متیلاسیون DNA مرتبط با نوشیدن زیاد را معکوس می‌کند. این نشان می‌دهد که آزمایش اپی‌ژنتیک می‌تواند به طور بالقوه برای تشخیص سوء مصرف الکل در گذشته مورد استفاده قرار گیرد. با تجزیه و تحلیل نمونه‌های بزاق برای الگوهای متیلاسیون خاص، بیمه‌گران می‌توانند بینش‌هایی در مورد سابقه اعتیاد یا نوشیدن سنگین یک فرد به دست آورند. این رویکرد نوآورانه می‌تواند به جلوگیری از سوء مصرف الکل و بهبود ارزیابی ریسک در صنعت بیمه کمک کند (۳۱).

□ سؤالات اجتماعی و اخلاقی

اپی‌ژنتیک یک راه ساده برای تعیین تغییرات در بیان ژن از طریق آزمایش بزاق یا خون ارائه می‌دهد که تأثیر انتخاب‌های سبک زندگی و عوامل محیطی را آشکار می‌کند. در پذیره نویسی بیمه، ارزش‌های آزمایشگاهی مشخصی برای ارزیابی وضعیت سلامت متقاضی مورد نیاز است. با این حال، استفاده از اپی‌ژنتیک نگرانی‌های اخلاقی را در مورد حریم خصوصی و تبعیض ایجاد می‌کند.

افشای اطلاعات سلامتی غیرمنتظره از آزمایش‌های اپی‌ژنتیک، چالش‌هایی را در نحوه انتقال آن به افراد ایجاد می‌کند. شرکت‌های بیمه ممکن است در استفاده

8- Body Mass Index



روش‌های اختصاصی مکان برای تشخیص متیلاسیون DNA

روش‌های مبتنی بر هیبریداسیون و توالی‌یابی برای تعیین وضعیت متیلاسیون سیتوزین‌ها در جایگاه‌های خاص استفاده می‌شوند. گروه متیل ۵- متیل سیتوزین در شیار اصلی ستون فقرات DNA قرار دارد و امکان جفت شدن بازها را بدون تداخل فراهم می‌کند. تکنیک‌های هیبریداسیون سنتی برای ارزیابی متیلاسیون سیتوزین کافی نیست. روش‌های کنونی برای تشخیص متیلاسیون DNA شامل ایجاد تغییرات وابسته به متیلاسیون در توالی DNA، مانند رسوب ایمنی، هضم آنزیم محدود کننده و تیمار بی سولفیت سدیم است. توالی‌یابی بی سولفیت به عنوان استاندارد طلایی برای تجزیه و تحلیل متیلاسیون DNA در جایگاه‌های خاص در نظر گرفته می‌شود (۳۶).

توالی‌یابی بی سولفیت

توالی‌یابی بی سولفیت روشی دقیق برای تعیین محتوای ۵ متیل سیتوزین در سطح تک نوکلئوتیدی است. بی سولفیت سدیم سیتوزین متیله نشده را به اوراسیل تبدیل می‌کند و سیتوزین متیله را بدون تغییر باقی می‌گذارد. سپس ناحیه تقویت شده برای شناسایی سیتوزین‌های متیله توالی‌یابی می‌شود. پرایمرهای PCR برای الگوهای DNA تبدیل شده به بی سولفیت برای جلوگیری از سوگیری نیاز به طراحی دقیق دارند. محدودیت‌ها شامل تبدیل ناقص، کاهش پیچیدگی در طول PCR، تخریب DNA و چالش‌های بیوانفورماتیک است. فن‌آوری توالی‌یابی فعلی، طول منطقه مورد بررسی را محدود می‌کند و به منابع محاسباتی گسترده برای تجزیه و تحلیل داده‌ها نیاز دارد. با ظهور فن‌آوری‌های جدید، تقویت جایگاه ویژه ممکن است برای پوشش کل ژنوم غیر ضروری شود (۳۷).

ریزآرایه جزیره CpG

برای تجزیه و تحلیل مناطق بزرگتر DNA با پوشش

از این اطلاعات جدید برای تصمیمات پذیره نویسی با دوراهی مواجه شوند. زمینه اپی ژنتیک با درک محدودی از مکانیسم‌های آن و تأثیر عوامل محیطی هنوز در حال تکامل است. مطالعات اغلب در مقیاس کوچک و متمرکز بر جمعیت‌های خاص هستند که بر قابلیت اطمینان یافته‌ها تأثیر می‌گذارد (۳۲،۳۳).

اندازه‌گیری وضعیت متیلاسیون DNA

روش‌های رایج برای ارزیابی متیلاسیون DNA شامل کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، توالی‌یابی بی‌سولفیت و ریزآرایه‌های جزیره‌ای CpG است. HPLC بی‌سولفیت کلی متیلاسیون را در DNA کمیت می‌کند، در حالی که توالی‌یابی بی‌سولفیت و ریزآرایه‌های جزیره‌ای CpG ارزیابی خاصی از متیلاسیون در جایگاه‌های فردی را امکان پذیر می‌کند (۳۴).

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

HPLC یک روش متداول برای جداسازی پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچک از طریق کروماتوگرافی ستونی است. این کروماتوگرام تولید می‌کند که مولکول‌ها را در کسری کمی می‌کند و امکان اندازه‌گیری سیتوزین متیله در نمونه‌های DNA را فراهم می‌کند. برای تعیین کمیت سطح سیتوزین متیله، DNA دناتوره شده، به نوکلئوتیدهای منفرد هضم می‌شود و بر اساس اندازه توسط HPLC جدا می‌شود. ارتفاع پیک در کروماتوگرام با مقدار نوکلئوتید موجود در DNA مطابقت دارد و یک اندازه‌گیری با توان بالا از متیلاسیون کل DNA را ارائه می‌دهد. HPLC می‌تواند تفاوت‌های متیلاسیون بین انواع سلول‌ها یا بافت‌ها را تشخیص دهد اما نمی‌تواند مکان‌های متیلاسیون را در ژنوم مشخص کند. روش‌های دیگری برای تعیین وضعیت متیلاسیون ژن‌ها یا آلل‌های خاص مورد نیاز است (۳۵).

9- High-performance liquid chromatography



گسترده ژنوم و رفع محدودیت‌های توالی‌یابی بی سولفیت، محققان معمولاً از ریزآرایه‌های جزیره‌ای CpG استفاده می‌کنند. این ریزآرایه‌ها ارزیابی بازده بالا وضعیت متیلاسیون را در صدها هزار سایت CpG به طور همزمان از طریق هیبریداسیون امکان‌پذیر می‌سازند. ریزآرایه‌ها مزایایی مانند نیاز به مقدار کمی DNA و پوشش کل ژنوم را ارائه می‌دهند. ابزارهای نرم افزاری برای تجزیه و تحلیل داده‌ها این روش را کاربردی‌تر از توالی‌یابی گسترده می‌کند. با این حال، ریزآرایه‌ها در مقایسه با توالی‌یابی وضوح کمتری دارند و پروب‌های خاص باید برای مناطق ژنومی هدف طراحی شوند. دقت نتایج ریزآرایه به ویژگی پروب‌ها بستگی دارد، زیرا جفت پایه ناقص می‌تواند منجر به خطا شود. علاوه بر این، توانایی بررسی توالی‌های تکراری به دلیل منحصر به فرد بودن مکان هدف محدود شده است (۳۸).

نتیجه‌گیری

امید به زندگی تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، اپی ژنتیکی و محیطی است. سبک زندگی مانند رفتار انسان، تغذیه، استرس، عادات کاری، فعالیت بدنی، سیگار کشیدن و مصرف الکل می‌تواند بر اپی ژنتیک تأثیر بگذارد. به نظر می‌رسد که تغییرات مناسب سبک زندگی ممکن است به افزایش طول عمر انسان در سراسر جهان در آینده کمک کرده باشد. در این بررسی، نتایج بسیاری از مطالعات را ارائه و مورد بحث قرار دادیم که نشان می‌دهد مکانیسم‌های اپی ژنتیک بیان ژن را در مدل‌های مختلف و در سطوح مختلف تنظیم می‌کنند. اهمیت اپی ژنتیک در اختلالات مختلف انسان در دهه اخیر توجه بسیاری را به خود جلب کرده است، به ویژه در اختلالات پیچیده‌ای مانند شکل

پذیری رفتار، حافظه، سرطان، بیماری خودایمنی، اعتیاد و همچنین اختلالات عصبی و روانی.

اینکه چرا بسیاری از رویکردهای درمانی در گذشته شکست خورده‌اند، آشکارتر می‌شود. امید است که با درک مکانیسم‌های اپی ژنتیک درگیر در اختلالات عصبی و روانی، به زودی درمان‌های موثرتری در دسترس قرار گیرند. داده‌ها و دانش جدید اخیر در رابطه با اهمیت اپی ژنتیک در اختلالات مختلف انسانی، آینده پر جنب و جوشی را برای تحقیقات اپی ژنتیک نوید می‌دهد. تحقیقات جدید فناوری‌های توالی‌یابی و الگوریتم‌های پیچیده برای تجزیه و تحلیل حجم زیادی از داده‌های تولید شده توسط اپی ژنوم‌های توالی‌شده ادغام شده است.

اطلاعات اپی ژنومیک فرصتی برای کشف علائم اپی ژنتیکی جدید و عملکرد آن‌ها در انواع مختلف بافت‌ها، رشد اولیه و وضعیت‌های بیماری فراهم می‌کند. ارتباط علائم اپی ژنتیک با بیماری‌های خاص می‌تواند به توسعه ابزارهایی برای تشخیص بیماران و اندازه‌گیری شدت بیماری کمک کند. تحقیقات بیشتر برای تأیید صحت علمی اپی ژنتیک ضروری است، به ویژه زمانی که کاربرد آن در بیمه و شیوه‌های پذیره نویسی در نظر گرفته می‌شود. مهم است که اطمینان حاصل شود که اطلاعات مبتنی بر شواهد از آزمایش اپی ژنتیک، قبل از اینکه به عنوان مبنایی برای ارزیابی بیمه‌استفاده شود، قوی و قابل اعتماد است. اگرچه مشکلاتی در خصوص ویژگی و اثربخشی بسیاری از داروهایی که در مدل‌های حیوانی آزمایش می‌شوند وجود دارد، بررسی‌های بیشتر در مورد مکانیسم‌های اپی ژنتیکی مطمئناً به توسعه مسیرها و عوامل درمانی بهتر در آینده نزدیک کمک خواهد کرد.



References:

- 1- DFarhud D. Hypothetical Strategies of Gene and Environmental Influence on Life Expectancy: A Brief Review. *Iran J Public Health*. 2022 Nov;51(11):2382-2387. doi: 10.18502/ijph.v51i11.11156. PMID: 36561271; PMCID: PMC9745412.
- 2- Jackson M, Marks L, May GHW, et al (2018). The genetic basis of disease. *Essays Biochem*, 62(5):643-723.
- 3- Hernandez LM, Blazer DG (2006). Genes, Behavior, and the Social Environment: Moving Beyond the Nature/Nurture Debate. *The National Academies Collection: Reports funded by National Institutes of Health*. DOI: 10.17226/11693.
- 4- Farhud DD (2017). Life Style and Sustainable Development. *Iran J Public Health*, 46(1):1-3.
- 5- Becker F, Van EC, Ibarreta, D, et al (2011). Genetic testing and common disorders in a public health framework: how to assess relevance and possibilities. *Eur J Hum Genet*, 19 Suppl 1(Suppl 1):S6-44.
- 6- HortonRH, Lucassen AM. Recent developments in genetic/genomic medicine (2019). *Clin Sci (Lond)*, 133(5):697-708.
- 7- Farhud DD (2015). Impact of Lifestyle on Health, *Iran J Public Health*, 44(11):1442-4.
- 8- Tengilimoğlu D, Gönüllü U, Işık Q, et al (2022). The Problems Experienced by Employees with Chronic Disease during the COVID-19 Pandemic. *Int J Environ Res Public Health*, 19(1): 578.
- 9- Delcuve GP, He S, Davie JR. Mitotic partitioning of transcription factors. *Journal of cellular biochemistry*. 2008;105(1):1-8.
- 10-Holman HR (2020). The Relation of the Chronic Disease Epidemic to the Health Care Crisis. *ACR Open Rheumatol*, 2(3):167-173.
- 11- Ng R, Sutradhar R, Yao Z, et al (2020). Smoking, drinking, diet and physical activity-modifiable lifestyle risk factors
- 12- Vrablik M, Dlouha D, Todorovova V, et al (2021). Genetics of Cardiovascular Disease: How Far Are We from Personalized CVD Risk Prediction and Management? *Int J Mol Sci*, 22(8):4182.
- 13- North BJ, Sinclair DA (2012). The intersection between aging and cardiovascular disease. *Circ Res*, 110(8):1097-108.
- 14- Bhatnagar A (2017). Environmental Determinants of Cardiovascular Disease. *Circ Res*, 121(2):162-80.
- 15- Martino E, Smith L, Bradley SH, et al (2022). Incidence trends for twelve cancers in younger adults—a rapid review. *Br J Cancer*, 126(10):1374-86.
- 16- White MC, Holman DM, Boehm JE, et al (2014). Age and cancer risk: a potentially modifiable relationship. *Am J Prev Med*, 46(3Suppl 1):S7-15.
- 17- Taylor KH, Kramer RS, Davis JW, Guo J, Duff DJ, Xu D, Caldwell CW, Shi H. Ultra-deep bisulfite sequencing analysis of DNA methylation patterns in multiple gene promoters by 454 sequencing. *Cancer research*. 2007;67(18):8511-8518.
- 18- van Eijk KR. Quantitative studies of DNA methylation and gene expression in neuropsychiatric traits. 2014.
- 19- Lu C, Thompson CB. Metabolic regulation of epigenetics. *Cell metabolism*. 2012;16(1):9-17.
- 20- Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME, Mercer TR, Mehler MF. RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays*. 2009;31(1):51-59.
- 21- Wang Z, Yao H, Lin S, Zhu X, Shen Z, Lu G, Poon WS, Xie D, Lin MCm, Kung Hf. Transcriptional and epigenetic regulation of human microRNAs. *Cancer letters*. 2013;331(1):1-10.
- 22- Lim LP, Lau NC, Garrett-Engle P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, Bartel DP, Linsley PS, Johnson JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*. 2005;433(7027):769-773.
- 23- Friedman RC, Farh KKH, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome research*. 2009;19(1):92-105.
- 24- D Farhud D. Hypothetical Strategies of Gene and Environmental Influence on Life Expectancy: A Brief Review. *Iran J Public Health*. 2022 Nov;51(11):2382-2387. doi: 10.18502/ijph.v51i11.11156. PMID: 36561271; PMCID: PMC9745412.
- 25- Berdasco, M., & Esteller, M. (2019). Clinical epigenetics: Seizing opportunities for translation. *Nature Reviews. Genetics*, 20 (2), 109127.
- 26- Center for Disease Control and Prevention. (2022). What is epigenetics? <https://www.cdc.gov/genomics/disease/epigenetics.htm>.
- 27- Lu, A. T., Quach, A., Wilson, J. G., et al. (2019). DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging*, 11 (2), 303327.
- 28- Aslibekyan, S., Demerath, E. W., Mendelson, M., et al. (2015). Epigenome-wide study identifies novel methylation loci associated with body mass index and waist circumference. *Obesity (Silver Spring, Md.)*, 23 (7), 14931501.
- 29- Ling, C., & Rönn, T. (2019). Epigenetics in human obesity and type 2 diabetes. *Cell Metabolism*, 29 (5), 10281044.
- 30- Zeilinger, S., Kühnel, B., Klopp, N., et al. (2013). Tobacco smoking leads to extensive genome-wide changes in DNA methylation. *PLoS One*, 8 (5), e63812.
- 31- Ciafrè, S., Carito, V., Ferraguti, G., et al. (2019). How alcohol drinking affects our genes: An epigenetic point of view. *Biochemistry and Cell Biology*, 97 (4), 345356.
- 32- Bodelon, C., Ambatipudi, S., Dugué, P. A., et al. (2019). Blood DNA methylation and breast cancer risk: A meta-analysis of four prospective cohort studies. *Breast Cancer Research: BCR*, 21 (1), 62.
- 33- Dupras, C., Song, L., Saulnier, K. M., & Joly, Y. (2018). Epigenetic discrimination: Emerging applications of epigenetics pointing to the limitations of policies against genetic discrimination. *Frontiers in Genetics*, 9, 202.
- 34- Laird PW. Principles and challenges of genome-wide DNA methylation analysis. *Nature Reviews Genetics*. 2010;11(3):191-203. doi: 10.1038/nrg2732.
- 35- Ramsahoye BH. Measurement of genome wide DNA methylation by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Methods*. 2002;27(2):156-161.
- 36- Clark SJ, Harrison J, Paul CL, Frommer M. High sensitivity mapping of methylated cytosines. *Nucleic Acids Research*. 1994;22(15):2990-2997.
- 37- Laird PW. Principles and challenges of genome-wide DNA methylation analysis. *Nature Reviews Genetics*. 2010;11(3):191-203. doi: 10.1038/nrg2732.
- 38- Gitani RS, Shi H, Chen C-M, Yan PS, Huang TH-M. Methylation-specific oligonucleotide microarray: a new potential for high-throughput methylation analysis. *Genome Research*. 2002;12(1):158-164. doi: 10.1101/gn.202801.

