ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ»

ΣΕΡΑΦΕΙΜ ΚΑΛΑΜΠΟΚΑΣ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τραχανά Βαρβάρα Επίκουρη Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας , Επιβλέπων/ουσα

Τσέζου Ασπασία Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής , Μέλος

Δήμας Κωνσταντίνος Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, 2021

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE

POSTGRADUATE MASTER PROGRAM

“HUMAN GENETICS –GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS

«EPIGENETIC DRUGS AND CANCER»

SERAFEIM KALAMPOKAS

MEDICAL LABORATORY TECHNICIAN

THREE MEMBERSHIP COMITTEE

……

……

…..

LARISSA, 2021

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η επιγενετική περιλαμβάνει τις τροποποιήσεις που συμβαίνουν στο γονιδίωμα. Αυτές είναι ανεξάρτητες από την αλληλουχία του DNA, είναι δυναμικές, κληρονομούμενες και αντιστρέψιμες. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί στηρίζονται σε αλληλεπιδράσεις ποικίλων ενζύμων, πρωτεϊνών και του DNA ή των ιστονών, που αυτό βρίσκεται περιτυλιγμένο. Στις επιγενετικές τροποποιήσεις συμπεριλαμβάνονται η μεθυλίωση του DNA, οι τροποποιήσεις των ιστονών με τις δυο σημαντικότερες να είναι η ακετυλίωση και η μεθυλίωση, αλλά και τα μη κωδικά RNAs. Παρεκκλίνουσες επιγενετικές αλλαγές μπορούν να οδηγήσουν σε μεταβολές στην γονιδιακή έκφραση και να προωθήσουν την ογκογένεση, απορυθμίζοντας ογκογονίδια και ογκοκατασταλτικά γονίδια. Επίσης, μεταλλάξεις στους επιγενετικούς ρυθμιστές μπορούν να διαταράξουν το ρόλο τους. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις επηρεάζονται από σήματα του περιβάλλοντος και είναι αντιστρέψιμες. Για τους λόγους αυτούς είναι μόρια με υψηλό ενδιαφέρον για τη χρήση τους ως βιοδείκτες και ως θεραπευτικοί στόχοι για αντικαρκινική θεραπεία. Η ανάπτυξη επιγενετικών φαρμάκων έχει ξεκινήσει πολλές δεκαετίες και πλέον αρκετά από αυτά βρίσκονται σε κλινικές μελέτες ή έχουν ήδη εγκριθεί από τον FDA για τη θεραπεία ποικίλων αιμοτολογικών κακοηθειών αλλά και συμπαγών όγκων. Η χρήση των επιγενετικών φαρμάκων μπορεί να γίνει ως μονοθεραπεία ή ως πολυθεραπεία με άλλα επιγενετικά φάρμακα, χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία. Η συνδυαστική θεραπεία μπορεί να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα αλλά και να μειώσει τις ανεπιθύμητες ενέργειες που μπορεί να παρουσιάζει η κάθε κατηγορία φαρμάκων ως μονοθεραπεία.

Λέξεις- Κλειδιά: επιγενετική, καρκίνος, τροποποίησεις ιστονών και DNA, ncRNAs, επιγενετικά φάρμακα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ABSTRACT

Epigenetics involve the alterations that happen in the genome. These alterations are independent from the DNA sequence, there are dynamic, heritable and reversible. The epigenetic mechanisms are supported from the interactions of many enzymes, proteins and DNA or histones, to which DNA is wrapped. The epigenetic modificattions include DNA methylation, histone modifications with the most important to be acetylation and methylation, as well as noncoding RNAs. Abnoranl epigenetic alterations can lead to changes in gene expression and promote oncogenesis, via disrupting of oncogenes and tumor-suppressor genes. Moreover, mutations on epigenetic regulators can perturb their role. Epigenetic modifications are vulnerable to environments stimuli and there are reversible. For those reasons there are molecules of high significance for the use as biomarkers and as therapeutic targets for anticancer therapy. The development of epi-drugs was stared many decades ago and nowadays many of them are implicated on clinical trials or have already been approved by FDA for the treatment of plenty of hematological malignancies but also for solid tumors. The use of epi-drugs can be as monotherapy or as polytherapy with other epi-drugs, chemotherapy, or radiotherapy. The combination use can enhance the effectiveness but also can ameliorate the unwanted effects that each single category of drugs can develop as monotherapy.

Keywords: epigenetic, cancer, modifications of DNA and histones, ncRNAs, epigenetic drugs

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

AGO	Argonaute
ALL	Acute lymphoblastic leukemia
AML	Acute myeloid leukemia
BC	Breast cancer
BET	bromo- and extra-terminal
BLBCL	Diffuse large B-cell lymphoma
BRDs	Bromodomains
CD	Cytidine deaminase
CLL	Chronic lymphocytic leukemia
CRC	Colorectal cancer
CTCL	Cutaneous T-cell lymphoma
DNMTIs	Inhibition of DNMTs
DNMTs	DNA methyltransferases
EATL-II	Enteropathy-associated T cell lymphoma
EPICUP	Epigenetic diagnostic test cancer unknown prognosis
ESCs	Embryonic stem cells
ESSC	Supraglottic squamous cell cancer
EZH2	Enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit
FL	Follicular lymphoma
GC	Gastric cancer
HATs	Histone lysine acetyltransferases
HCC	Hepatocellular carcinoma
HDACs	Histone deacetyltransferases
HDMs	Histone demethylases
HOTAIR	Hox transcript antisense intergenic RNA
HSCs	Hematopoietic stem cells
IDH1/2	Isocitrate dehydrogenase 1 and 2
LAC	Lung adenocarcinoma
lncRNAs	Long non-coding RNAs
MBPs	DNA methyl-binding proteins
MDS	Myelodysplastic syndrome
MLD	Manual ly lymphatic drainage
MM	Multiple Myeloma
MPN	Myeloproliferative neoplasm
ncRNAs	non coding RNAs
NSCLC	Non-small cell lung cancer
PGCs	Primordial germ cells
piRNAs	PIWI-interacting RNAs
PRC2	Polycomb repressive complex 2
PTCL	Peripheral T-cell lymphoma
snoRNA	small nucleolar RNA
TET	Ten-eleven translocation

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΓΕΝΙΚΑ ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΕΡΙ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΡΥΘΜΙΣΗΣ

Το σύνολο των κυττάρων ενός οργανισμού φέρει εν πολλοίς τον ίδιο αριθμό γονιδίων, ωστόσο στην πράξη οι επιγενετικές πληροφορίες ρυθμίζουν τον τρόπο «ανάγνωσης» του γονιδιώματος, καθώς επίσης και τον τρόπο «συμπεριφοράς» κατά την διάρκεια των διαφόρων σταδίων ανάπτυξης, κυτταρικής διαφοροποίησης και προσαρμογής σε ενήλικες ιστούς. Όπως προκύπτει και από τον όρο επιγενετική οι αλλαγές που προκύπτουν είναι επί, δηλαδή πάνω, από την αλληλουχία του DNA, χωρίς όμως να την επηρεάζουν. Οι εν λόγω επιγενετικές πληροφορίες αποθηκεύονται ως ομοιοπολικές τροποποιήσεις των συστατικών της χρωματίνης, μεταβάλλοντας το υποκείμενο περιβάλλοντα χώρο και επηρεάζοντας την πρόσβαση του γενετικού υλικού. Παρέχοντας σημεία πρόσδεσης για τις διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες, επηρεάζουν την διαδικασία της μετάφρασης και της λειτουργίας των γονιδίων, με τρόπο που να μην επηρεάζεται η νουκλεοτιδική αλληλουχία του ιδίου του γονιδίου. Συγκεντρωτικά λοιπόν, η επιγενετική είναι η γέφυρα μεταξύ γενότυπου και φαινότυπου, ένα φαινόμενο δηλαδή που αλλάζει το τελικό αποτέλεσμα ενός τόπου ή χρωμοσώματος χωρίς να αλλάζει την υποκείμενη αλληλουχία του DNA (Goldberg et al., 2007).

Οι διάφορες επιγενετικές τροποποιήσεις κληρονομούνται με τρόπο μιτωτικό και/ή μειωτικό, επιτρέποντας τη μεταφορά γενετικών πληροφοριών από τη μία κυτταρική γενιά στην επόμενη, διασφαλίζοντας την ακεραιότητα της κυτταρικής ταυτότητας και πιστότητας της γενεαλογίας, αντίστοιχα. Ωστόσο, εάν και στη περίπτωση της μεθυλίωσης του DNA διατηρείται η μιτωτική κληρονομικότητα, δεν φαίνεται να ισχύει κάτι ανάλογο στη περίπτωση ορισμένων μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων όπως είναι η ακετυλίωση των ιστονών (Alabert et al., 2015, Budhavarapu et al., 2013). Ο επαναπρογραμματισμός των επιγενετικών τροποποιήσεων λαμβάνει χώρα στα αρχέγονα γεννητικά κύτταρα (primordial germ cells, PGCs), τα οποία αποτελούν τα πρόδρομα κύτταρα του σπέρματος και των ωαρίων και τα οποία αναλαμβάνουν την προετοιμασία τους σε επίπεδο κυτταρικής διαφοροποίησης για τις μελλοντικές γενιές (Feil and Fraga, 2012). Με αυτό τον τρόπο ο επιγενετικός προγραμματισμός διασφαλίζει πως οι γενετικές πληροφορίες που κληρονομούνται από τους γονείς παραμένουν άθικτες. Παρόλα αυτά στον όρο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

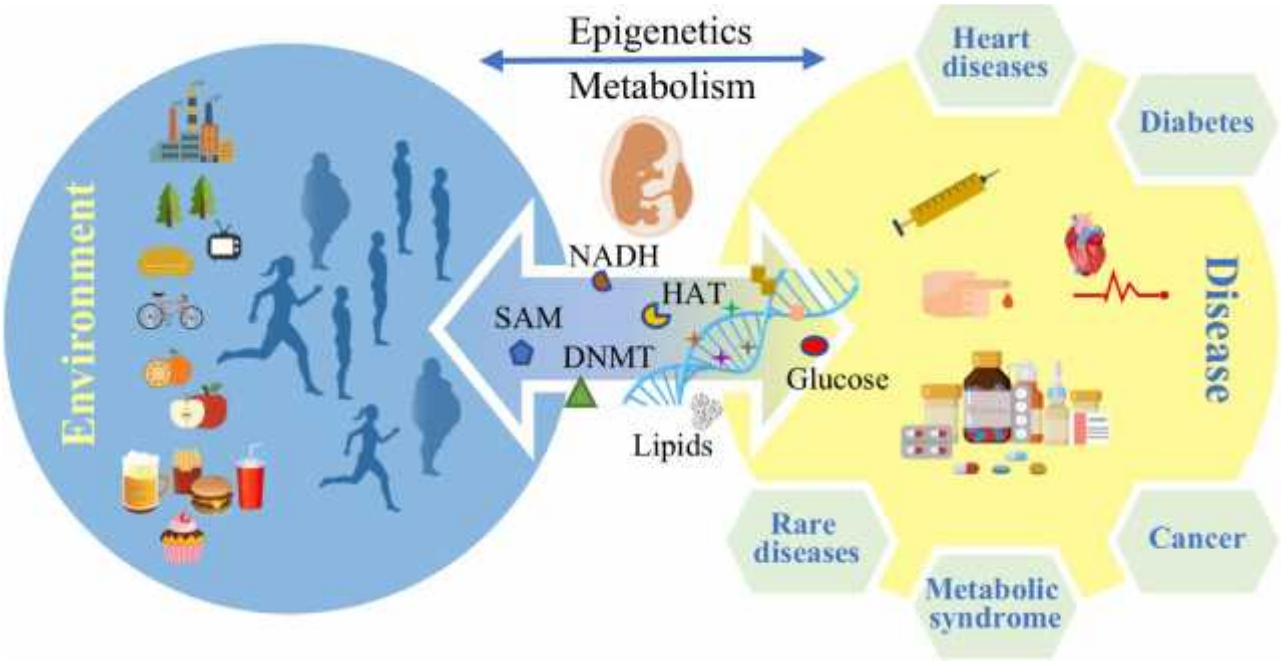
επιγενετική έχουν ενταχθεί και παρεμβάσεις που δεν είναι κληρονομούμενες μιτωτικά, αλλά έχουν προκύψει σε βάθος χρόνου στο μεταγραφικό δυναμικό του κυττάρου και δεν είναι απαραίτητα κληρονομούμενες (Gibney and Nolan, 2010). Υπάρχουν γνωστοί παράγοντες, αλλά και παράγοντες που είναι πιθανό να οδηγούν σε επιγενετικές τροποποιήσεις όπως είναι τα βαριά μέταλλα, τα εντομοκτόνα, τα παράγωγα πετρελαίου, ο καπνός, οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες, οι ορμόνες, η ραδιενέργεια, οι ιοί, τα βακτήρια και κάποια θρεπτικές ουσίες (Weinhold, 2006).

Η γονιδιακή έκφραση είναι μια πολύπλοκη διαδικασία πολλών βημάτων. Αρχικά, η διαδικασία περιλαμβάνει τη μεταγραφή του DNA σε ένα ακριβές αντίγραφο RNA. Για να ξεκινήσει η μεταγραφή, η RNA πολυμεράση συνδέεται με τον υποκινητή του γονιδίου και δημιουργεί μια αλυσίδα mRNA συμπληρωματική με την DNA αλυσίδα. Μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις είναι απαραίτητες για το βήμα αυτό όπως είναι η προσθήκη ενός καλύμματος μεθυλ-γουανίνης στο 5΄άκρο του μετάγραφου RNA, αλλά και το μάτισμα το οποίο λαμβάνει χώρα για την παραλαβή του ώριμου mRNA. Έπειτα προστίθεται η πολύ-Α ουρά στο 3’ άκρο του mRNA και αυτό μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα. Εκεί το mRNA εμπλέκεται στην μετάφραση στα ριβοσώματα όπου τελική προκύπτει η συντιθέμενη πρωτεϊνική αλυσίδα. Η παραγόμενη πρωτεΐνη μπορεί να υποστεί συμπληρωματικές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις, πριν την καθορισμένη δράση της. Αρκετά ρυθμιστικά βήματα απαιτούνται για να διατηρήσουν την ακεραιότητα αυτής της διαδικασίας. Οι περισσότεροι από τους επιγενετικούς μηχανισμούς μπορούν να επηρεάζουν την μεταγραφή του DNA, αλλά κάποιοι, όπως είναι οι μηχανισμοί που διαμεσολαβούνται από τα ncRNAs, μπορούν να επηρεάσουν και τη μετάφραση (Gibney and Nolan, 2010).

Συγκεντρωτικά, το επιγένωμα εσωκλείει τις πληροφορίες που περιέχονται στο γονιδίωμα μαζί με μοριακές και χημικές ενδείξεις κυτταρικής, εξωκυτταρικής και περιβαλλοντικής προέλευσης. Μαζί με το γονιδίωμα, το επιγένωμα οδηγεί σε ένα συγκεκριμένο πρόγραμμα γονιδιακής έκφρασης για κάθε κύτταρο ώστε να καθορίσει τις λειτουργίες του κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης ή εκδήλωσης ασθενειών (Rivera and Ren, 2013). Το επιγένωμα αντικατοπτρίζει επίσης την ικανότητα ενός οργανισμού να προσαρμόζεται και να εξελίσσεται μέσα από την έκφραση μιας ομάδας χαρακτηριστικών ή φαινοτύπων που αναπτύσσονται ως απάντηση σε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

περιβαλλοντικά ερεθίσματα. Έτσι, σε αντίθεση με το γονιδίωμα, το επιγένωμα χαρακτηρίζεται από μια δυναμική και ευέλικτη απάντηση σε ενδο- και εξω-κυτταρικά ερεθίσματα. Κυτοκίνες, αυξητικοί παράγοντες, αλλαγές στα επίπεδα ορμονών όπως επίσης και έκκριση νευροτροφικών παραγόντων και παραγόντων στρες είναι μερικά παραδείγματα μορίων που μπορούν να αλλάξουν από το περιβάλλον και να επηρεάσουν τους επιγενετικούς μηχανισμούς (Tzika et al., 2018).



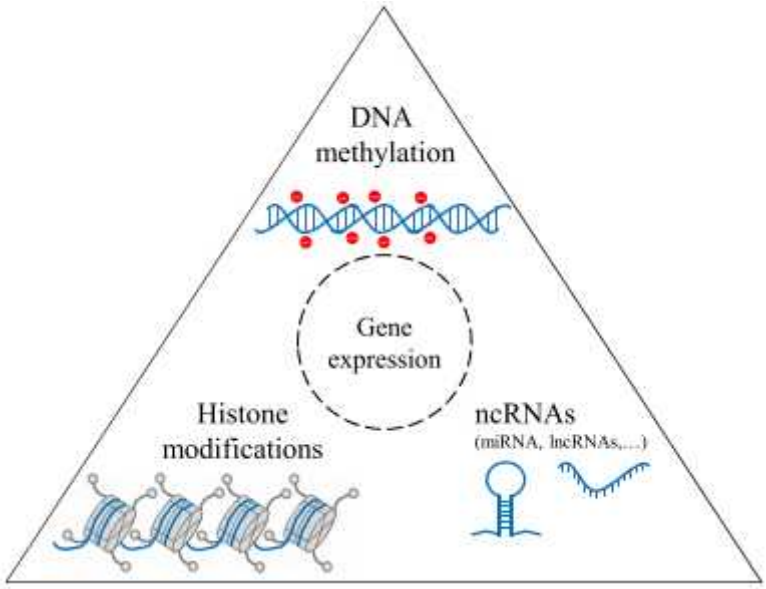
Εικόνα 1. Το επιγένωμα μπορεί να επηρεαστεί από μια πληθώρα καταστάσεων. Εκτός από την κληρονομικότητα, το επιγένωμα μπορεί να καθοριστεί από διάφορα ερεθίσματα του περιβάλλοντος, όπως είναι η διατροφή, οι καιρικές συνθήκες, το οικονομικό προφίλ και άρα το επίπεδο διαβίωσης, η φυσική άσκηση, η έκθεση σε τοξικές, ναρκωτικές, φαρμακευτικές ουσίες, σε σκευάσματα εναλλακτικής ιατρικής αλλά και καταστάσεις του κάθε οργανισμού όπως είναι το μικροβίωμα, η προηγούμενη έκθεση σε ασθένειες, αλλά και υποκείμενες νόσους

Πηγή: Tzika et al., 2018.

Το επιγενετικό οπλοστάσιο αποτελείται από τρία βασικά και αλληλοεπικαλυπτόμενα συστατικά, τη μεθυλίωση του DNA, τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών και τα μη-κωδικοποιητικά μόρια RNA (non coding RNAs, ncRNAs) (Εικόνα 2) (Roberti et al., 2019). Σε συνεργασία μπορούν να ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση και άρα την διαφοροποίηση, την ανάπτυξη αλλά και την εκδήλωση ασθενειών (Gibney and Nolan, 2010). Οι επιγενετικές τροποποιήσεις είναι σημαντικές για κρίσιμα αναπτυξιακά γεγονότα όπως είναι η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

απενεργοποίηση του Χ χρωμοσώματος, η γονιδιωματική αποτύπωση, η ρύθμιση των υποσυνόλων των γονιδίων Homeobox που έχουν μέγιστη σημασία κατά τη μορφογένεση. και η νευρωνική ανάπτυξη (Kiefer, 2007).



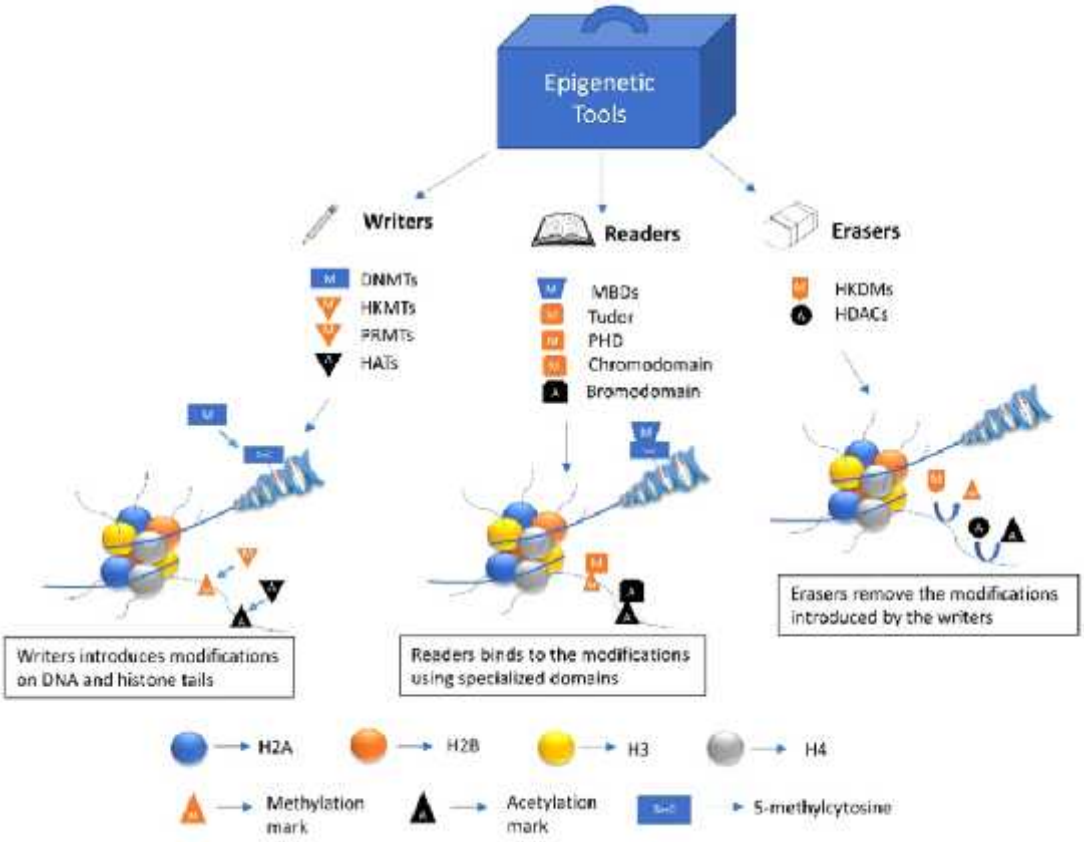
Εικόνα 2. Επιγενετικοί μηχανισμοί που συμβάλλουν στη διαδικασία της ρύθμισης των γονιδίων: μεθυλίωση του DNA, τροποποιήσεις των ιστονών και μη-κωδικοποιητικά RNAs

Πηγή: Roberti et al., 2019

Οι ρυθμιστές του επιγενετικού μηχανισμού μπορούν να διαχωριστούν σε ένζυμα που προσθέτουν την επιγενετική τροποποίηση (writers), σε πρωτεΐνες που αφαιρούν αυτή την πληροφορία (erasers) και σε πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν και συνδέονται με αυτές τις τροποποιήσεις και διευκολύνουν το επιγενετικό αποτέλεσμα (readers). Επίσης, υπάρχουν και τα σύμπλοκα που εντοπίζονται στα νουκλεοσώματα κατά μήκος του γονιδιώματος και ονομάζονται movers (Yan et al., 2016) (Εικόνα 3).

Στους writers συγκαταλέγονται ένζυμα όπως οι DNA μεθυλοτρανσφεράσες, οι μεθυλοτρανσφεράσες ιστονών λυσίνης, οι μεθυλοτρανσφεράσες αργινίνης και οι ακετυλοτρανσφεράσες ιστονών. Στους readers περιλαμβάνονται οι πρωτεΐνες που αναγνωρίζουν την DNA μεθυλίωση όπως είναι οι πρωτεΐνες που συνδέονται στις μεθυλιωμένες CpG (MBPs), τους readers που αναγνωρίζονται τη μεθυλίωση των ιστονών αλλά και την ακετυλίωση. Στους erasers περιλαμβάνονται τα ένζυμα που σχετίζονται με την απαλλαγή από την μεθυλίωση του DNA και των ιστονών, αλλά και των αποακετυλασών των ιστονών (Biswas and Rao, 2018) (Εικόνα 3).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52



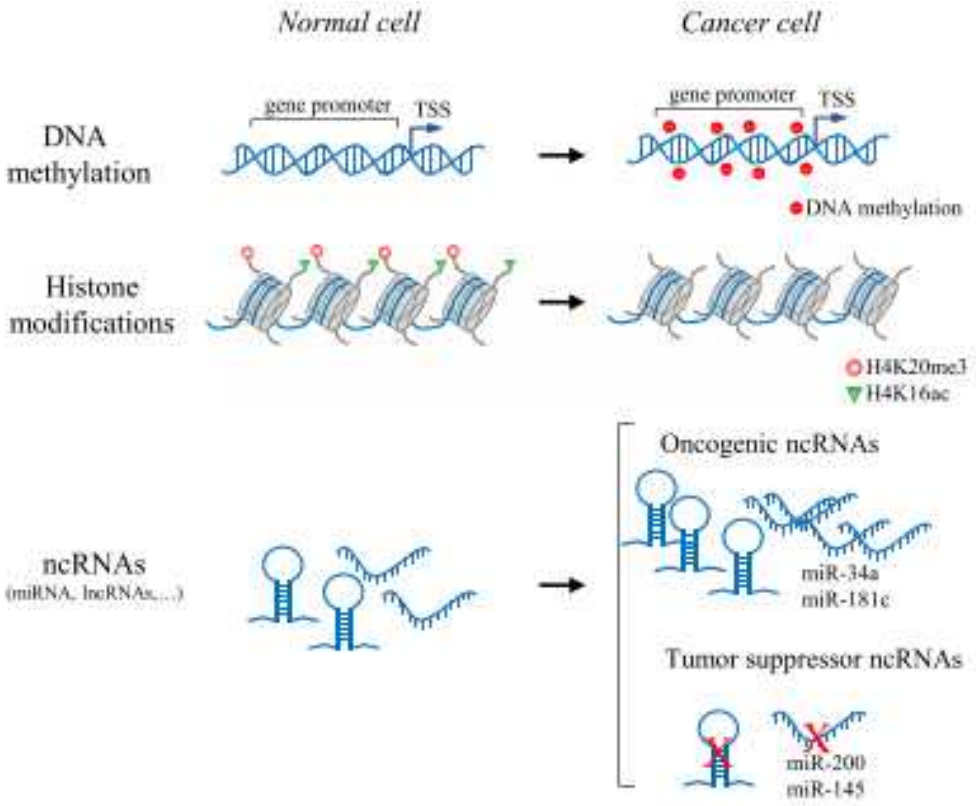
Εικόνα 3. Αναπαράσταση των επιγενετικών εργαλείων: writers, readers και erasers. Αναφέρονται τα ένζυμα και οι πρωτεϊνικές περιοχές που πραγματοποιούν τις περισσότερες επιγενετικές τροποποιήσεις στο DNA και στις ουρές των ιστονών. Πηγή: (Biswas and Rao, 2018)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Οι επιγενετικές τροποποιήσεις λαμβάνουν χώρα φυσικά και είναι απαραίτητες για τις λειτουργίες ποικίλων οργανισμών, όμως εάν προκύψουν διαταραχές, μπορούν να καταλήξουν σε δυσμενή αποτελέσματα και αλλαγές. Η πολυπλοκότητα της βιολογίας του καρκίνου δύναται να εξηγηθεί ως η αλληλεπίδραση μεταξύ γενετικών και επιγενετικών ανωμαλιών, η εκδήλωση των οποίων προωθεί την έναρξη και εξέλιξη της καρκινικής διαδικασίας. Η σημασία των επιγενετικών μεταβολών ως κινητήριες δυνάμεις έναρξης του καρκίνου αναδείχθηκε από μελέτες σε παιδιατρικούς καρκινοπαθείς ασθενείς και κυρίως σε ασθενείς με όγκο στον εγκέφαλο. Στις εν λόγω περιπτώσεις, το χαρακτηριστικό γνώρισμα είναι πως επικρατεί το εκάστοτε τυχαίο επιγενετικό προφίλ, ενώ οι εκάστοτε επαναλαμβανόμενες μεταλλάξεις καταγράφονται με εξαιρετικά μειωμένη συχνότητα ή/και καθόλου (Feinberg et al., 2016, Mack et al., 2014). Κατά την διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας έχουν πραγματοποιηθεί συνεχόμενες προσπάθειες αλληλούχισης του γονιδιώματος διαφορετικών καρκινικών τύπων στον άνθρωπο, οι οποίες και έχουν διευκρινίσει την συχνή παρουσία μεταβολών σε διαφορετικά ρυθμιστικά επιγενετικά μόρια, αναδεικνύοντας αναμφίβολα το βασικό ρόλο της επιγενετικής απορρύθμισης στη διαδικασία της καρκινογένεσης (Dawson, 2017, Jones et al., 2016). Πιο συγκεκριμένα, το επιγένωμα υφίσταται πολλαπλές τροποποιήσεις, συμπεριλαμβανομένων απώλεια του γονιδιώματος ως απόρροια μεθυλίωσης του DNA και τοπικής υπερμεθυλίωσης. Το εν λόγω φαινόμενο καταγράφεται κυρίως στις νήσους CpG των ογκοκατασταλτικών γονιδίων (Baylin and Jones, 2016, Fernandez et al., 2012) μεταβολών στα σημεία τροποποίησης των ιστονών (Kanwal and Gupta, 2012, Fraga et al., 2005) καθώς επίσης και απορρύθμισης των δικτύων παρέμβασης των ncRNAs (Liz and Esteller, 2016, Kanwal and Gupta, 2012, Esteller, 2011) (Εικόνα 4).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52



Εικόνα 4. Παραδείγματα επιγενετικών μεταβολών σε καρκινικά κύτταρα

Πηγή: Roberti et al., 2019

Η διεξαγωγή ανάλυσης υψηλού επιπέδου διαφοροποίησης αναφορικά με τη γονιδιωματική μεθυλίωση του DNA έχει δείξει πως τόσο συγκεκριμένα γονίδια, όσο και συγκεκριμένες επιγενετικές «υπογραφές» (epigenetic signatures), εντοπίζονται με επαναληψιμότητα σε σχεδόν όλα τα είδη των καρκινικών τύπων. Επιπρόσθετα, σχετίζονται με συγκεκριμένο τρόπο με το εκάστοτε καρκινικό στάδιο, καθώς επίσης και τον εκάστοτε καρκινικό τύπο, αντίστοιχα (Hao et al., 2017, Rodríguez-Rodero et al., 2013, Fernandez et al., 2012). Ως εκ τούτου, αρκετές ερευνητικές ομάδες επικεντρώνονται στη δημιουργία επιγενετικών υπογραφών, με απώτερο στόχο τη χρήση τους ως βιοδείκτες πρώιμης ανίχνευσης, μη-επεμβατικού ελέγχου, πρόγνωσης, καθώς επίσης και πρόβλεψης της θεραπευτικής απόκρισης (Moran et al., 2016, Carmona et al., 2013, Heyn and Esteller, 2012). Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί το πρώτο επιγενετικό διαγνωστικό τεστ (epigenetic diagnostic test cancer unknown prognosis, EPICUP) που βασίζεται στην ανάλυση προφίλ γενετικού υλικού με μεθυλίωση, προκειμένου να εντοπισθούν πρωτογενείς όγκοι σε ασθενείς με καρκίνο αγνώστου αιτιολογίας. Το εν λόγω διαγνωστικό σύστημα αξιοποιεί το εκάστοτε προφίλ μεθυλίωσης του DNA, το οποίο και διαφοροποιείται μεταξύ των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

διαφόρων καρκινικών τύπων. Είναι γνωστό πως οι καρκίνοι αγνώστου αιτιολογίας χαρακτηρίζονται ως επιθετικής μορφής και εξελίσσονται ταχέως σε μεταστάσεις. Επομένως, ο καθορισμός της πρωτογενούς καρκινικής εστίας είναι κομβικής σημασίας στην έναρξη στοχευμένης ογκολογικής θεραπείας. Το σύστημα EPICUP χαρακτηρίζεται από υψηλά επίπεδα ευαισθησίας και ειδικότητας και κατηγοριοποιεί τις εκάστοτε περιπτώσεις μέσα από μία βάση δεδομένων που περιλαμβάνει 38 καρκινικούς τύπους και 85 κατηγορίες μεταλλάξεων (Moran et al., 2016, Fernandez et al., 2012).

Κατά την διάρκεια της καρκινογένεσης, τα κύτταρα επίσης υφίστανται σημαντικές αλλαγές που σχετίζονται με μεταβολές στις ιστόνες, η εκδήλωση των οποίων συμβάλλει σε παρεκκλίνουσα γονιδιακή έκφραση (Kanwal and Gupta, 2012, Fraga et al., 2005). Ευρήματα μελετών έχουν δείξει πως τα ένζυμα τροποποίησης των ιστονών, αναλόγως του εκάστοτε ιστού προέλευσης χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερα επίπεδα έκφρασης και δύνανται να διαφοροποιήσουν φυσιολογικά κύτταρα σε καρκινικά. Επιπρόσθετα, δύνανται να κατηγοριοποιήσουν τα καρκινικά κύτταρα αναλόγως του κυτταρικού τύπου, υποδηλώνοντας πως η μη φυσιολογική έκφραση των εν λόγω πρωτεϊνών διαδραματίζει ένα καρκινικά-σχετιζόμενο ρόλο στη διαδικασία του νεοπλασματικού μετασχηματισμού (Ozdağ et al., 2006). Υπό αυτή την έννοια, αποτελεί πρόκληση η δημιουργία υπογραφών σε συγκεκριμένες θέσεις ιστονών, οι οποίες και θα σχετίζονται με εξειδικευμένους καρκινικούς τύπους. Με αυτό τον τρόπο, αναμένεται να ανοίξει ο δρόμος αναφορικά με τον σχεδιασμό και την αξιολόγηση πιθανής θεραπευτικής αποτελεσματικότητας διαφορετικών επιγενετικών φαρμακευτικών σκευασμάτων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

3.1. Μεθυλίωση DNA

Η διαδικασία μεθυλίωσης του DNA έχει αναγνωρισθεί ως βασικός ρυθμιστικός μηχανισμός κατά την διάρκεια της ανάπτυξης, κυτταρικής διαφοροποίησης και ομοιόστασης. Σχετίζεται με διαφορετικές φυσιολογικές και παθολογικές διεργασίες, μεταξύ των οποίων η γονιδιωματική αποτύπωση, η απενεργοποίηση του Χ χρωμοσώματος, η γονιδιακή έκφραση, η χρωμοσωμική σταθερότητα, η καταστολή μεταθετών στοιχείων, η γήρανση, καθώς επίσης και διάφορα νοσήματα όπως ο καρκίνος (Bernstein et al., 2007, Smith and Meissner, 2013). Η μεθυλίωση του DNA ορίζεται ως η ομοιοπολική μεταφορά μίας μεθυλ-ομάδας (CH_3) στο άτομο άνθρακα της θέσης 5’ του δακτυλίου κυτοσίνης του DNA και καταλύεται από τις DNA μεθυλ-τρανσφεράσες (DNA methyltransferases, DNMTs). Περίπου το 3% των κυτοκινών είναι μεθυλιωμένες στο ανθρώπινο DNA (Nafee et al., 2008). Η μεθυλίωση του DNA διεξάγεται σχεδόν αποκλειστικά στα θηλαστικά εντός των CpG δινουκλεοτιδίων, όπου το “p” αναφέρεται στον φωσφοδιεστερικό δεσμό που συνδέει την κυτοσίνη με την γουανίνη, με τις περισσότερες περιπτώσεις γονιδιωμάτων να χαρακτηρίζονται από εξάντληση του αριθμού των CpG και μεθυλίωση. Λιγότερο από 10% του συνολικού αριθμού CpGs ευρίσκεται εντός των νήσων CpG και χαρακτηρίζονται ως μη-μεθυλιωμένες ή λίγο μεθυλιωμένες GC-πλούσιες περιοχές. Οι εν λόγω περιοχές φέρουν αυξημένη CpG συχνότητα και εντοπίζονται στο 5′ άκρο των περισσοτέρων γονιδίων στον άνθρωπο (Bird, 2002). Τα μισά από όλα τα γονίδια που μεταγράφονται έχουν CpG νησίδες στις κωδικές περιοχές τους, και αυτά περιλαμβάνουν όλα τα γονίδια που εκφράζονται ευρέως στους ιστούς και λιγότερα από τα μισά γονίδια που έχουν συγκεκριμένη ιστική έκφραση (Nafee et al., 2008). Εκτός από την πλειοψηφία των νήσων CpG που παραμένει μη-μεθυλιωμένη στο σύνολο των σταδίων κυτταρικής ανάπτυξης, υπάρχει και μία υποομάδα που υπόκειται σε προγραμματισμένη μεθυλίωση. Η διαδικασία της *de novo* μεθυλίωσης παραμένει ενεργή όχι μόνο στα γεννητικά κύτταρα και τα πρώιμα στάδια εμβρυϊκής ανάπτυξης, αλλά και στα ενήλικα σωματικά κύτταρα. Η

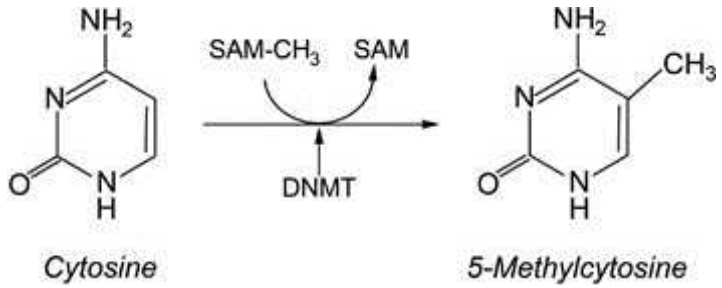
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

συγκεκριμένη διαπίστωση προέρχεται από ευρήματα ανάδειξης προοδευτικής μεθυλίωσης σε ομάδα νήσων CpG κατά την διάρκεια της γήρανσης (Issa, 2000) ή σε περιπτώσεις μη-φυσιολογικών κυττάρων (Baylin and Jones, 2016, Bird, 2002). Οι προστιθέμενες μεθυλ-ομάδες προστίθενται με δεσμό υδρογόνου και λειτουργούν με διττό ρόλο: είτε αναστέλλουν την αναγνώριση του DNA από μερικές πρωτεΐνες είτε διευκολύνουν την πρόσδεση μερικών πρωτεϊνών στο DNA. Πιο συγκεκριμένα, μεθυλιωμένη κυτοσίνη δύναται να επάγει ή να αποκλείσει μεταγραφική αναστολή μέσω αντιδράσεων με ιστόνες αποακετυλίωσης, αποκλεισμού μεταγραφικών παραγόντων ή λοιπών μεταγραφικών ρυθμιστικών παραγόντων, αντίστοιχα. Το αποτέλεσμα είναι είτε η γονιδιακή επαγωγή είτε η γονιδιακή αποσιώπηση, με το δεύτερο να συναντάτε πιο συχνά στην περίπτωση της μεθυλίωσης (Bernstein et al., 2007). Μιας και η μεθυλίωση του DNA μπορεί να διατηρηθεί έπειτα από την αντιγραφή του DNA και την μίτωση, η επιγενετική αυτή τροποποίηση μπορεί να σχετιστεί με την κληρονομικότητα της γονιδιακής αποσιώπησης (Gibney and Nolan, 2010).

Τρία (3) διαφορετικά ένζυμα εμπλέκονται στη διαδικασία δημιουργίας και διατήρησης των προτύπων μεθυλίωσης του DNA. Η DNMT1 εμφανίζει ισχυρή τάση για ημι-μεθυλιωμένα CpG δινουκλεοτίδια, επομένως μπορεί να επάγει μεθυλίωση CpG στη νέα συντιθέμενη DNA αλυσίδα βασιζόμενη στη παρουσία μεθυλίωσης στη συμπληρωματική αλυσίδα. Από την άλλη πλευρά, οι DNMT3A και DNMT3B εμπλέκονται σε *de novo* μεθυλίωση του DNA, στοχεύοντας σε μη-CpG μεθυλιωμένες δινουκλεοτίδια. Ταυτόχρονα, συνεργάζεται και με την DNMT1 για να εξασφαλίσει τη διατήρηση του προφίλ μεθυλίωσης κατά την αντιγραφή του DNA. Υπάρχει και ένα τέταρτο ένζυμο, η DNMT2, η οποία όμως παρουσιάζει αδύναμη ικανότητα μεθυλίωσης του DNA *in vitro* και φαίνεται πως εμπλέκεται κυρίως στην μεθυλίωση του RNA (Goll et al., 2006). Σχετικά με την απομεθυλίωση, μπορεί να προκύψει αργή παθητική απομεθυλίωση του DNA εάν οι μεθυλιωμένες CpGs νησίδες δεν διατηρούνται έπειτα από την αντιγραφή του DNA. Μπορεί να υπάρχει και μια πιο ενεργή και γρήγορη διαδικασία απομεθυλίωσης, όμως ο ακριβώς μηχανισμός δεν είναι απόλυτα καθορισμένος (Gibney and Nolan, 2010). Για παράδειγμα, κατά την διάρκεια της ανάπτυξης στα θηλαστικά, η μεθυλίωση του DNA δύνανται να χαθεί ως ιδιότητα ή να ρυθμίζεται από μία ενζυματική διεργασία που περιλαμβάνει την TET (ten-eleven translocation) οικογένεια διοξυγονασών. Η οικογένεια αυτή αποτελείται από 3 μέλη, τις TET1, TET2 και TET3 και χρησιμοποιεί συμπαράγοντες όπως είναι ο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

δισθενής σίδηρος και το α-κετογλουταρικό ώστε να καταλύσει την οξείδωση της μεθυλ-κυτοσίνης σε υδροξυμεθυλ-κυτοσίνη, σε φορμυλο-κυτοσίνη ή σε καρβοξυλο-κυτοσίνη (Ito et al., 2011). Η υδροξυμεθυλ-κυτοσίνη μπορεί να διευκολύνει την άπομεθυλίωση του DNA μέσω αναστολής του συμπλόκου UHRF1/DNMT1 το οποίο εντοπίζεται στο DNA για να διατηρήσει τα πρότυπα μεθυλίωσης. Η φορμυλο- και καρβόξυλο- κυτοσίνη μπορούν να αποκοπούν από το εξειδικευμένο ένζυμο TDG και να πραγματοποιηθεί γλυκοζυλίωση και αντικατάσταση με μία μη-μεθυλιωμένη βάση κυτοσίνης (Tahiliani et al., 2009). Οι πρωτεΐνες TET συνδέονται με μη-μεθυλιωμένες CpGs εντός των νησίδων, ώστε να τις διατηρήσουν σε μια υπομεθυλιωμένη κατάσταση, μιας και ηυδροξυμεθυλ-κυτοσίνη σχετίζεται με ενεργή μεταγραφή (Zhang et al., 2010). Υποέκφραση των TET πρωτεϊνών και απώλεια της υδροξυμεθυλ-κυτοσίνης έχουν παρατηρηθεί ως νέα επιγενετικά βήματα στον καρκίνο (Huang and Rao, 2014). Η ισοκιτρική δευδρογενάση (IDH) είναι από τα κύρια μεταβολικά ένζυμα που συμμετέχουν στον κύκλο του τρικαρβοξυλικού οξέος και μετατρέπουν το ισοκιτρικό σε α-κετογλουταρικό χρησιμοποιώντας NADP+/NADPH ως συμπαράγοντες. Το α-κετογλουταρικό είναι απαραίτητος συμπαράγοντας για τις διοξυγονάσες όπως είναι οι TET πρωτεΐνες και η οικογένεια JmjC των διμεθυλασών λυσίνης. Ανάμεσα στα 3 ένζυμα IDH, η IDH1 και IDH2 είναι συχνά μεταλλαγμένα στο γλοίωμα και σε αιματολογικούς καρκίνους (Dang et al., 2010).



Εικόνα 5. Η μετατροπή της κυτοσίνης σε 5-μεθυλ-κυτοσίνη από τις DNA μεθυλ-τρανσφεράσες (DNMTs). Η διαδικασία περιλαμβάνει τη μεταφορά μεθυλικής ομάδας από την S-αδενοσυλμεθειονίνη στη 5’ θέση του άνθρακα της κυτοσίνης

Πηγή: Gibney and Nolan, 2010

Η μεθυλίωση του DNA όπως αναφέρθηκε προηγουμένως συνδέεται κυρίως με μεταγραφική αποσιώπηση μέσω αρκετών μηχανισμών. Ένας από αυτούς περιλαμβάνει την εξειδικευμένη αλληλεπίδραση των DNMTs με μεταγραφικούς

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

παράγοντες, με αποτέλεσμα την εξειδικευμένη μεθυλίωση περιοχών στους υποκινητές των γονιδίων (Hervouet et al., 2009). Αυτή η εξειδικευμένη μεθυλίωση είναι τελικά υπεύθυνη για την συγκέντρωση σε αυτές τις περιοχές πρωτεϊνών που αναγνωρίζουν το μεθυλιωμένο DNA. Τα δημιουργούμενα σύμπλοκα μπορούν να επηρεάσουν άμεσα τον μεταγραφικό μηχανισμό (Wade, 2001) ή να δημιουργήσουν αλλαγές στη δομή της χρωματίνης, η οποία με τη σειρά της επηρεάζει τους μηχανισμούς φυσιολογικής γονιδιακής έκφρασης (Prokhortchouk and Defossez, 2008). Για παράδειγμα, η p53 φαίνεται να στρατολογεί την DNMT1 και να επάγει την μεθυλίωση του DNA εξαρτώμενη από την DNMT1 και τελικά την καταστολή της p21 και άρα την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Άλλα παραδείγματα περιλαμβάνουν την αλληλεπίδραση της DNMT1 με την Sp1 και την Stat3, της DNMT3a με τους v-myc, c-myc, ATF2 και ATF4, και της DNMT3b με την Stat-1, v-myc, Sp1, ATF2 και ATF4 (Hervouet et al., 2009). Παρατηρούμε λοιπόν πως η διπλή ικανότητα των μεταγραφικών παραγόντων να συνδέονται στο DNA μέσω ειδικών αλληλουχιών αλλά και να αλληλεπιδρούν με τις DNMTs μπορεί να προωθήσει εκτεταμένη αλλά τοπικά εξειδικευμένη μεθυλίωση σε περιοχές των υποκινητών. Επιπρόσθετα υπάρχουν αρκετές πρωτεΐνες που συνδέονται με το μεθυλιωμένο DNA (DNA methyl-binding proteins, MBDs) και κατηγοριοποιούνται σε οικογένειες, ανάλογα με την δομική ομοιότητα. Για παράδειγμα, οι MBD 1 έως 3 πρωτεΐνες είναι μεταγραφικοί καταστολείς και δρουν μέσω αρκετών μηχανισμών, με αποτέλεσμα την στρατολόγηση συν-καταστολέων και αποακετυλασών των ιστονών. Η στρατολόγηση των αποακετυλασών των ιστονών οδηγεί σε μια συμπύκνωση του DNA και χαρακτηριστική αναδιαμόρφωση της χρωματίνης (Wade, 2001). Η πιο καλά χαρακτηρισμένη MBD οικογένεια είναι η MECP2. Η MECP2 προσδένεται σε μεθυλιωμένες CpG μέσω της περιοχής MBD και δρα κατασταλτικά στη μεταγραφική διαδικασία σε απόσταση αρκετών εκατομμυρίων βάσεων μέσω μιας δεύτερης λειτουργικής περιοχής (Newell-Price et al., 2000). Αυτή η δεύτερη λειτουργική κατασταλτική περιοχή μπορεί να στρατολογήσει άλλους συν-καταστολείς όπως είναι το σύμπλοκο Sin3, που περιλαμβάνει της αποακετυλάσες των ιστονών 1 και 2, αλλά και άλλα σύμπλοκα. Εναλλακτικά, η MECP2 μπορεί να αλλάζει τη συμπύκνωση της χρωματίνης μέσω αλληλεπίδρασης με το συνδετικό DNA και τα νουκλεοσώματα, σχηματίζοντας ένα φυσικό φραγμό για την μεταγραφική μηχανή (Delcuve et al., 2009). Η δεύτερη οικογένεια των MBDs περιέχει ένα κοινό μοτίβο δακτυλίου ψευδαργύρου και περιέχει τις πρωτεΐνες Kaiso, ZBTB4 και ZBTB38. Οι πρωτεΐνες

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

αυτές έχουν κατανομή στον πυρήνα και στο κυτταρόπλασμα και είναι υπεύθυνες για ενδοκυτταρικά μονοπάτια, όπως είναι το μονοπάτι του Wnt (Prokhortchouk and Defossez, 2008). Για παράδειγμα, η Kaiso μπορεί να ρυθμίζει την μεταγραφική δραστηριότητα μέσω διαμόρφωσης της αποακετυλάσης των ιστονών 1 και τον σχηματισμό του συμπλόκου της β-κατενίνης, και να αλληλεπιδρά με μεταγραφικούς παράγοντες, όπως είναι ο LEF1 και τα ομολογά του (Iioka et al., 2009).

3.1.1. Μεθυλίωση DNA και καρκίνος

Η έναρξη και η ανάπτυξη του καρκίνου ακολουθείται από αλλαγές στην μεθυλίωση του DNA, οι οποίες ήταν και οι πρώτες επιγενετικές τροποποιήσεις που χαρακτηρίστηκαν στον καρκίνο (Feinberg and Vogelstein, 1983) (Εικόνα 7). Το καρκινικό επιγένωμα χαρακτηρίζεται από ευρεία υπομεθυλίωση αλλά και από κατά τόπους ειδικές υπερμεθυλιώσεις σε CpG νησίδες που εντοπίζονται στους υποκινητές (Jones and Baylin, 2002). Οι υποκείμενοι μηχανισμοί ανάπτυξης είναι υπό διερεύνηση, όμως μελέτες υποστηρίζουν πως αυτές οι αλλαγές παρατηρούνται νωρίς στην εξέλιξη του καρκίνου για αυτό ίσως συμβάλλουν στην καρκινογένεση (Feinberg et al., 2006). Η γενική υπομεθυλίωση του DNA παίζει σημαντικό ρόλο στην καρκινογέννεση και μπορεί να συμβεί σε ποικίλες αλληλουχίες όπως είναι στο επαναλαμβανόμενο DNA, σε υποκινητές φτωχούς σε CpG νησίδες, σε ιντρόνια, σε ρετροτρανσποζόνια και σε μεγάλες ερήμους γονιδίων (Rodriguez et al., 2006). Η υπομεθυλίωση του DNA σε επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες οδηγεί σε αυξημένη γενομική αστάθεια μέσω χρωμοσωμικών ανακατανομών. Η υπομεθυλίωση των τρανσποζονίων μπορεί να καταλήξει στην ενεργοποίηση και την μετατόπιση σε άλλες γενομικές περιοχές, αυξάνοντας έτσι την γενομική αστάθεια (Howard et al., 2008). Συμπληρωματικά, η υπομεθυλίωση του DNA μπορεί να οδηγήσει σε ενεργοποίηση γονιδίων που σχετίζονται με την ανάπτυξη, όπως είναι το R-Ras και η MAPSIN στον γαστρικό καρκίνο, η S-100 στον καρκίνο του παχέος εντέρου και η MAGE στο μελάνωμα αλλά και η απώλεια της αποτύπωσης γενικά στους όγκους. Η απώλεια αποτύπωσης του IGF2 έχει συνδεθεί με τον όγκο Wilms και τον καρκίνο του παχέος εντέρου (Cui et al., 2003).

Σε αντίθεση με την υπομεθυλίωση που αυξάνει την γενομική αστάθεια, η κατά τόπους ειδική υπερμεθυλίωση συμβάλλει στην καρκινογένεση μέσω

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

αποσιώπησης ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Η πρώτη ανακάλυψη αφορούσε την υπερμεθυλίωση των νήσων CpG του υποκινητή του Rb, που σχετίζεται με το ρετινοβλάστωμα (Greger et al., 1989), ενώ στη συνέχεια συσχετίστηκε το ογκογόνο αποτέλεσμα της ειδικής υπερμεθυλιώσης και με τα p16, MLH1 και BRCA1 (Baylin and Jones, 2016, Jones and Baylin, 2007, Baylin, 2005). Επιπρόσθετα, η υπερμεθυλίωση μπορεί να οδηγήσει σε έμμεση αποσιώπηση άλλων γονιδίων μέσω αποσιώπησης μεταγραφικών παραγόντων και γονιδίων ενζύμων που επιδιορθώνουν το DNA. Η υπερμεθυλίωση των υποκινητών οδηγεί σε αποσιώπηση μεταγραφικών παραγόντων όπως είναι η RUNX3 στον καρκίνο του οισοφάγου (Long et al., 2007), και οι GATA-4 και GATA-5 στον καρκίνο του παχέος εντέρου και του γαστρικού καρκίνου (Akiyama et al., 2003), με αποτέλεσμα να απενεργοποιούνται οι κατωφερείς στόχοι. Η αποσιώπηση γονιδίων υπεύθυνων για την επιδιόρθωση του DNA (πχ MLH1, BRCA1, κα) επιτρέπει στα κύτταρα την περαιτέρω γενετική αλλοίωση που οδηγεί στην ταχεία ανάπτυξη του καρκίνου. Ακόμα και σε αρχικά στάδια, έχει παρατηρηθεί μεθυλίωση του DNA σε φυσιολογικό ιστό ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα (Guo et al., 2004). Ένα άλλο παράδειγμα είναι πως ογκοκατασταλτικά γονίδια εντοπίζονται μεθυλιωμένα σε αρχικά στάδια οισοφαρυγικού πλακώδους καρκινώματος έχει συσχετιστεί με την εξέλιξη του καρκίνου (Guo et al., 2008, Guo et al., 2006). Παρεκκλίνουσα DNA μεθυλίωση εμπλέκεται σε σημαντικά κυτταρικά γεγονότα, όπως είναι ο κυτταρικός κύκλος, η επιδιόρθωση του DNA, το μονοπάτι Wnt, TGF-β, NF-κB και άλλα μονοπάτια σχετιζόμενα με τον καρκίνο (Cao et al., 2016, Yan et al., 2014, Yang et al., 2017). Αντίστοιχα παραδείγματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

Είναι πιθανό η αποσιώπηση συγκεκριμένων γονιδίων με υπομεθυλίωση να δίνει ένα πλεονέκτημα ανάπτυξης στα κύτταρα με αποτέλεσμα την επιλογή κλώνου και τον πολλαπλασιασμό. Η συγκεκριμένη ογκογόνος στόχευση των CpG νησίδων μπορεί να συμβεί μέσα από συγκεκριμένους μηχανισμούς όπου οι DNMTs στοχεύουν ειδικά γονίδια λόγω της σύνδεσης τους με ογκογόνους μεταγραφικούς παράγοντες. Παρεκκλίνων υπομεθυλίωση και αποσιώπηση υποκινητών συγκεκριμένων γονιδίων-στόχων από την PML-RAR πρωτεΐνη στην οξεία προμυελωτική λευχαιμία είναι ένα παράδειγμα τέτοιου μηχανισμού (Di Croce et al., 2002). Αντίθετα, μεγάλες περιοχές του DNA έχουν βρεθεί ασυνήθιστα μεθυλιωμένες στον καρκίνο (Frigola et al., 2006), με αποτέλεσμα μερικές νησίδες CpG να είναι υπερμεθυλιωμένες ως αποτέλεσμα του εντοπισμού τους μέσα σε αυτές τις γενομικές περιοχές που υπόκεινται σε εκτεταμένο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

επιγεντικό αναπρογραμματισμό. Συνδυαστικά, οι περιοχές που είναι υπερμεθυλιωμένες στον καρκίνο είναι συχνά προ-επισημασμένες με το σήμα polycomb H3K27me3 στα εμβρυικά βλαστικά κύτταρα (Schlesinger et al., 2007, Widschwendter et al., 2007, Ohm et al., 2007) κάτι που υποδηλώνει τη σύνδεση μεταξύ της ρύθμισης της ανάπτυξης και της καρκινογέννεσης.

Ο εντοπισμός μεταλλάξεων σε συγκεκριμένα μόρια που εμπλέκονται στη διαδικασία μεθυλίωσης του DNA αποτελεί το σημείο έναρξης στη δημιουργία διαγνωστικών και προγνωστικών εργαλείων διαχείρισης καρκινικών τύπων με υψηλό επίπεδο ακρίβειας (Rodríguez-Paredes and Esteller, 2011). Μεταλλάξεις της DNMT3A συχνά εντοπίζονται στην οξεία μυελογενή λευχαιμία και σε Τ-κυτταρικά λεμφώματα, καθώς επίσης και στα αιμοποιητικά βλαστικά κύτταρα ασθενών με AML (acute myeloid leukemia). Οι εν λόγω μεταλλάξεις εξυπηρετούν στην αυτο-ανανέωση και διεύρυνση των προ-λευχαιμικών HSCs (hematopoietic stem cells), από τα οποία και εξελίσσεται η AML (αξιοποιώντας τις ήδη υπάρχουσες και δημιουργώντας καινούριες μεταλλάξεις). Οι συγκεκριμένοι κυτταρικοί πληθυσμοί δύνανται να επιβιώσουν των χορηγηθέντων χημειοθεραπευτικών κύκλων και να αποτελέσουν ως εκ τούτου μία δεξαμενή εκδήλωσης υποτροπών της νόσου (Shlush et al., 2014). Υπάρχουν επίσης και περιπτώσεις μεταλλάξεων, όπως οι TET2, οι οποίες και σχετίζονται με δυσμενή πρόγνωση στην AML και σχετίζονται με αυξημένη απόκριση υπομεθυλιωμένων παραγόντων σε ασθενείς με μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (Bejar et al., 2014, Weissmann et al., 2012). Τέτοιες περιπτώσεις αναφέρονται στον Πίνακα 2.

3.2. Τροποποιήσεις ιστονών

Μία πρόσθετη μορφή επιγενετικής πληροφορίας που σχετίζεται στενά με το μηχανισμό της μεθυλίωσης του DNA είναι η μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ιστονών των νουκλεοσωμάτων (Εικόνα 2). Η βασική μονάδα της χρωματίνης είναι το νουκλεόσωμα και περιλαμβάνει ένα οκταμερές με δύο μόρια από κάθε μια από τις τέσσερις κατηγορίες κανονικών ιστονών (H2A, H2B, H3 και H4), το οποίο είναι τυλιγμένο γύρω από 147 ζευγάρια βάσεων DNA. Ένα άλλο είδος ιστόνης (συνδετική ιστόνη, H1) συνδέεται με το DNA που εντοπίζεται μεταξύ των νουκλεοσωμάτων. Οι ιστόνες εμπλέκονται στην συμπύκνωση του DNA και στην χωροταξία του στον

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

πυρήνα, όμως πρόσφατα αποκαλύφθηκε πως μπορούν να μεταβάλλουν την γονιδιακή έκφραση (Alberts et al., 2003). Οι ιστόνες του πυρηνικού σωματίου του νουκλεοσώματος είναι υψηλά διατηρημένες πρωτεΐνες με σφαιρικές περιοχές γύρω στις οποίες τυλίγεται το DNA και συγκρατείται από την ευέλικτες άκρες των ιστονών που προεξέχουν από το νουκλεόσωμα (Kouzarides, 2007). Η πλειοψηφία των επιγενετικών τροποποιήσεων επισυμβαίνει σε μία συγκεκριμένη θέση εντός του αμινο- ή καρβοξυ-τελικού άκρου των ιστονών, εάν και έχουν αναφερθεί και τροποποιήσεις εντός των κεντρικών περιοχών των ιστονών. Λαμβάνοντας υπ' όψη πως η χρωματίνη αποτελεί το φυσιολογικό υπόστρωμα για το σύνολο των γενετικών πληροφοριών, κάθε τροποποίηση δύναται να παράγει διαφορετικές λειτουργικές συνέπειες, μέσα από τη διαδικασία αλληλεπίδρασης με τη δομή της χρωματίνης και διαφορετικές λειτουργικές περιοχές. Οι ιστόνες υπόκεινται σε περισσότερες από 200 γνωστές τροποποιήσεις, συμπεριλαμβανομένων της ακετυλίωσης, μεθυλίωσης, φωσφορυλίωσης, ουβικουϊτιλίωσης, σιμοϊλίωσης και ριβοσυλίωσης. Η εν λόγω κατάσταση περιπλέκεται πρόσθετα από το γεγονός πως το κάθε κατάλοιπο δύναται να δεχθεί μία ή περισσότερες τροποποιήσεις, με αποτέλεσμα το τελικό αποτέλεσμα να διαμορφώνεται αναλόγως του καταλοίπου που θα τροποποιηθεί (Peterson and Laniel, 2004). Έχουν εντοπισθεί και χαρακτηρισθεί αρκετές περιπτώσεις ενζύμων που κατευθύνουν τροποποιήσεις ιστονών, βάση των κριτηρίων της δραστικότητας και των τροποποιημένων καταλοίπων. Οι περισσότερες από τις τροποποιήσεις είναι δυναμικές και έχουν εντοπισθεί ένζυμα που αντιστρέφουν μία συγκεκριμένη τροποποίηση. Πιο συγκεκριμένα, οι ακετυλοτρανσφεράσες και αποακετυλάσες των ιστονών ρυθμίζουν την ακετυλίωση των ιστονών, οι μεθυλοτρανσφεράσες και διμεθυλάσες ρυθμίζουν την μεθυλίωση των ιστονών, οι κινάσες σερίνης/θρεονίνης επάγουν την φωσφορυλίωση των ιστονών και οι λιγάσες ουβικουϊτίνης επάγουν ουβικουϊτιλίωση των ιστονών, αντίστοιχα. Έχουν επίσης χαρακτηρισθεί ένζυμα που επάγουν την σουμουλίωση των ιστονών, την ADP-ριβοζυλίωση, την αποαμίνωση και τον ισομερισμό προλίνης που λαμβάνει χώρα στην ιστόνη H3 (Kouzarides, 2007). Τα κατάλοιπα λυσίνης μπορούν να δεχτούν μία έως τρείς μεθυλομάδες, ενώ η αργινίνη έως δύο. Σε μερικές συγκεκριμένες περιπτώσεις οι ιστόνες του πυρηνικού σωματίου μπορούν να αντικατασταθούν με λιγότερο άφθονες ιστόνες, όπως είναι ισομορφές των H2A και H3, αλλά όχι των H2B και H4 (Henikoff and Smith, 2015). Οι τροποποιήσεις των ιστονών φαίνεται να περιλαμβάνουν τρεις γενικές αρχές: 1) επηρεάζουν άμεσα τη δομή της χρωματίνης, ρυθμίζοντας την διαμόρφωσή της και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

άρα δρουν ως cis παράγοντες στη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, 2) διαταράσσουν την αλληλεπίδραση των πρωτεϊνών που προσδένονται στην χρωματίνης (trans αποτέλεσμα) και 3) προσελκύουν εξειδικευμένες πρωτεΐνες-τελεστές στην χρωματίνη (trans αποτέλεσμα).

3.2.1 Ακετυλίωση ιστονών

Η ακετυλίωση των ιστονών Η3 και Η4 σχετίζεται θετικά με την μεταγραφή, σε αντίθεση με τα χαμηλά επίπεδα ακετυλίωσης που σχετίζονται με μεταγραφική αποσιώπηση της χρωματίνης. Οι ενεργοποιητές της μεταγραφής που συνδέονται με το DNA στρατολογούν ακετυλάσες των ιστονών (HATs) ώστε να ακετυλιωθούν οι ιστόνες των νουκλεοσωμάτων, ενώ οι μεταγραφικοί παράγοντες που δρουν κατασταλτικά στρατολογούν αποακετυλάσες των ιστονών (HDACs) ώστε να αποακετυλιωθούν. Αρκετοί συν-ενεργοποιητές ή συν-καταστολείς έχουν επίσης παρόμοια δράση ή συνδέονται με τα αντίστοιχα ένζυμα, ώστε να ρυθμίσουν την μεταγραφική διαδικασία. Τα ένζυμα ακετυλίωσης και αποακετυλίωσης των ιστονών είναι συχνά μέρος ευρύτερων συμπλόκων που έχουν συμπληρωματικές λειτουργίες για την τροποποίηση των ιστονών, όπως είναι η στρατολόγηση των πρωτεϊνών που συνδέονται με το TATA (Berger et al., 2009).

Η ακετυλίωση των καταλοίπων λυσίνης εξουδετερώνει το θετικό φορτίο των πλευρικών αλυσίδων των ιστονών, μειώνοντας το δυναμικό σύνδεσης των ουρών των ιστονών με το αρνητικά φορτισμένο DNA, χαλαρώνοντας έτσι τη δομή της χρωματίνης και διευκολύνοντας την μεταγραφή ή/και την έκθεση σε θέσεις στο DNA. Αρκετές αποακετυλάσες των ιστονών εντοπίζονται ως συστατικά σε σύμπλοκα που στοχεύουν στην μεταγραφική αποσιώπηση (Berger et al., 2009). Η τοπική ακετυλίωση των ιστονών έχει παρατηρηθεί στους υποκινητές και στους ενισχυτές των γονιδίων, αλλά μπορεί και να εντοπίζεται και σε άλλες περιοχές του DNA αλλά και σε περιοχές υπερευαίσθητες στην DNase I στον πυρήνα, υποστηρίζοντας το γεγονός ότι η ακετυλίωση των ιστονών διευκολύνει την αλληλεπίδραση πρωτεϊνών με το DNA μέσα στο πλαίσιο της χρωματίνης (Litt et al., 2001).

3.2.2. Μεθυλίωση ιστονών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

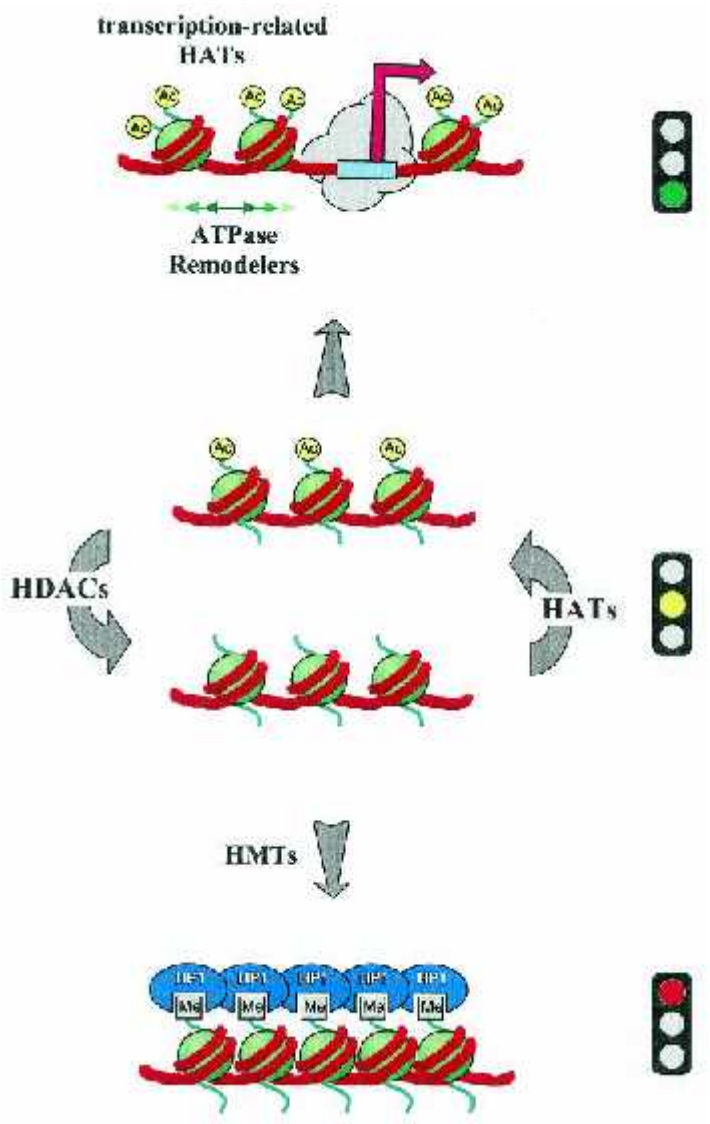
Η μεθυλίωση των ιστονών μπορεί να συμβεί στα βασικά κατάλοιπα αργινίνης, λυσίνης και ιστιδίνης. Οι λυσίνες μπορεί να είναι μόνο, δι ή τρι μεθυλιωμένες στην ε αμινική ομάδα, ενώ οι αργινίνες μπορεί να είναι μόνο, συμμετρικά ή ασυμμετρικά δι μεθυλιωμένες στην γουανιδυλ ομάδα. Τέλος οι ιστιδίνες στις σπάνιες περιπτώσεις που φέρουν τροποποίηση είναι μονο μεθυλιωμένες. Οι πιο καλά μελετημένες μεθυλιώσεις ιστονών είναι στην ιστόνη Η3 στην λυσίνη 4 (H3K4), H3K9, H3K27, H3K36, H3K79 και H4K20. Μεθυλιώσεις της αργινίνης έχουν εντοπισθεί στα H3R2, H3R8, H3R17, H3R26 και H4R3. Παρόλα αυτά και άλλα κατάλοιπα ιστονών (H1, H2A, H2B, H3 και H4) έχουν επίσης βρεθεί μεθυλιωμένα (Greer and Shi, 2012).

Μια πληθώρα μεθυλτρασφερασών (HMTs) και απομεθυλασών (HDMs) έχουν αναγνωριστεί να διαμεσολαβούν την προσθήκη και την απομάκρυνση, αντίστοιχα, μεθυλ-ομάδων στα διάφορα κατάλοιπα λυσίνης των ιστονών. Εξαρτώμενο από το βιολογικό περιεχόμενο, κάποια γεγονότα μεθυλίωσης μπορεί να χρειάζεται να διατηρούνται, όπως είναι για παράδειγμα η μεθυλίωση που σχετίζεται με την κληρονομικότητα κατά τη διάρκεια της μίτωσης για περιοχή αποσιώπησης σε μορφή ετεροχρωματίνης, ενώ κάποιες άλλες μεθυλιώσεις μπορεί να υπάγονται σε αλλαγές, όπως για παράδειγμα σε κύτταρα που διαφοροποιούνται ή έπειτα από κάποιο ερέθισμα από περιβαλλοντικούς παράγοντες (Taverna et al., 2007). Ανεξαρτήτως του προς τροποποίηση καταλοίπου ιστόνης, η ακετυλίωση λυσίνης σχεδόν πάντα σχετίζεται με πρόσβαση στη χρωματίνη και μεταγραφική ενεργοποίηση. Από την άλλη πλευρά, η μεθυλίωση λυσίνης εμφανίζει αντίθετα αποτελέσματα αναλόγως του καταλοίπου που θα τροποποιηθεί. Ως εκ τούτου, η μεθυλίωση των H3K9, H3K27 και H4K20 σχετίζεται με κατασταλμένη κατάσταση χρωματίνης, ενώ η μεθυλίωση των H3K4, H3K79 και H3K36 σχετίζεται με τις διαδικασίες μεταγραφής της χρωματίνης και γονιδιακής δραστικότητας (Peterson and Laniel, 2004, Bernstein et al., 2007). Ένας τρόπος να αλλάξει η κατάσταση της χρωματίνης πιο μόνιμα είναι η αποφυγή της ακετυλίωσης λόγω μεθυλίωσης των κατάλληλων καταλοίπων λυσίνης. Η μεθυλίωση σε συγκεκριμένες θέσεις μπορεί να προσελκύσεις την πρωτεΐνη ετεροχρωματίνης 1 (HP1) ώστε να κλειδώσει την χρωματίνη σε μια κατεσταλμένη, μη προσβάσιμη διαμόρφωση (Εικόνα 6) (Eberharter and Becker, 2002).

Έχουν αναγνωριστεί συγκεκριμένες περιοχές DNA που είναι υπεύθυνες για την στρατολόγηση ποικίλων ενζύμων υπεύθυνων για την τροποποίηση των ιστονών. Τα μακρά μη-κωδικά RNAs έχουν επίσης προταθεί να κατέχουν ρόλο στην σύνδεση συγκεκριμένων μεθυλτρασνφερασών και αποακετυλασών και να τις κατευθύνουν σε

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA. Η προσθήκη των μεθυλομάδων αυξάνει το θετικό φορτίο και την υδροφοβικότητα των καταλοίπων λυσίνης και αργινίνης (Greer and Shi, 2012). Η μεθυλίωση των ιστονών μπορεί να επηρεάζει ποικίλα στάδια της μεταγραφής, όπως είναι η αρχιτεκτονική της χρωματίνης μέσω της στρατολόγησης συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων και αλληλεπιδράσεων με παράγοντες έναρξης και επιμήκυνσης. Επίσης, η μεθυλίωση των ιστονών μπορεί να επηρεάζει την επεξεργασία του RNA (Greer and Shi, 2012).



Εικόνα 6. Η ακετυλίωση του ιστονών από τις HATs σηματοδοτεί την επαγωγή της μεταγραφικής διαδικασίας. Η διαδικασία αυτή μπορεί να αντιστραφεί από τις HDACs. Η μεθυλίωση των ιστονών μπλοκάρει την ακετυλίωση τους και άρα επάγει καταστολή της γονιδιακής έκφρασης

Πηγή: Eberharter and Becker, 2002

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

3.2.3. Άλλες τροποποιήσεις

Η μεταγωγή σήματος είναι γνωστό πως απαιτεί την τροποποίηση πρωτεϊνών, κυρίως μέσω φωσφορυλίωσης, ώστε να μεταβάλλει την γονιδιακή έκφραση. Συμπληρωματικά, αυτά τα σηματοδοτικά μονοπάτια φωσφορυλίωσης μπορούν να επηρεάσουν την οργάνωση της χρωματίνης. Η δραστικότητα των ακετυλασών των ιστονών μπορεί να ενεργοποιηθεί ή να κατασταλεί από την φωσφορυλίωση ή την ακετυλίωση (Kouzarides, 2000). Πιο έμμεσα, η φωσφορυλίωση των ιστονών των νουκλεοσωμάτων στο N-άκρο έχει σημαντικές αλλαγές στη δομή της χρωματίνης. Η φωσφορυλίωση της ιστόνης H3, στην σερίνη 10, έχει συνδεθεί επίσης με τη ρύθμιση της μεταγραφής. Το αυξημένο αρνητικό φορτίο που προσφέρει η φωσφορυλίωση στις ιστόνες μπορεί να αλλάξει τη δομή του νουκλεοσώματος, ενώ επίσης η φωσφορυλίωση μπορεί να εκτοπίζει πρωτεΐνες που συνδέονται με την χρωματίνη ή να προσελκύσουν πρωτεΐνες που ενισχύουν την μεταγραφή (Berger et al., 2009). Η φωσφορυλίωση αρκετών καταλοίπων σερίνης και θρεονίνης των ιστονών επάγει συμπύκνωση της χρωματίνης κατά την διάρκεια της μίτωσης και μεταγραφικής ενεργοποίησης άμεσων-πρώιμων γονιδίων, ενώ εμπλέκεται επίσης στις διαδικασίες επιδιόρθωσης του DNA και απόπτωσης (Rossetto et al., 2012, Pérez-Cadahía et al., 2010, Cohen et al., 2011). Μία χαρακτηριστική τροποποίηση περιλαμβάνει την φωσφορυλίωση της H2AX στη σερίνη 139 σε περιπτώσεις πρόκλησης βλαβών του DNA. Η νέα φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη που ονομάζεται γ-H2AX αποτελεί το πρώτο βήμα στη διαδικασία στρατολόγησης και εντοπισμού πρωτεϊνών επιδιόρθωσης του DNA (Kuo and Yang, 2008).

Η κιτρουλινίωση των ιστονών περιλαμβάνει την αντικατάσταση της αργινίνης από την κιτρουλίνη με την αφαίρεση μιας ομάδας ιμίνης και καταλύεται από τα αντίστοιχα ένζυμα. Εάν η αργινίνη είναι μονομεθυλιώμενη, η αφαίρεση της ιμίνης καταλήγει σε ανταγωνισμό της μεθυλίωσης της αργινίνης, καθώς η μεθυλική ομάδα απομακρύνεται από την κατάλοιπο ιμίνης (Cuthbert et al., 2004). Ένα παράδειγμα είναι η ρύθμιση της μεταγραφής του PS2, στα πλαίσια ρύθμισης των οιστρογόνων, όπου το ένζυμο PAD4 καταστέλλει την έκφραση του PS2, μέσω συσσώρευσης κιτρουλινών στις ιστόνες. Αυτή η καταστολή στην γονιδιακή έκφραση συντονίζεται από την αποακετυλάση των ιστονών 1 (Denis et al., 2009).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Επιπρόσθετα, οι διαδικασίες ουβικουϊτιλίωσης ή σουμοϋλίωσης συγκεκριμένων καταλοίπων έχει σχετισθεί με τη μεταγραφική αναστολή της μίτωσης, την ευχρωματίνη και την σπερματογένεση, αντίστοιχα.

Ο βαθμός αλληλοεξάρτησης μεταξύ διαφορετικών τροποποιήσεων και το γεγονός πως παρακείμενες τροποποιήσεις δύνανται να επηρεάσουν η μία την άλλη, συνθέτουν μία πρόσθετη παράμετρο δυσκολίας. Όπως αναφέρθηκε και ανωτέρω, κάθε μεμονωμένη επιγενετική τροποποίηση σχετίζεται με μία συγκεκριμένη κατάσταση στη δομή της χρωματίνης και ως εκ τούτου μία συγκεκριμένη βιολογική λειτουργία. Ωστόσο, στα πολυδύναμα κύτταρα οι εκάστοτε τροποποιήσεις των ιστονών δύνανται να εστιασθούν στην ίδια περιοχή, η οποία και φέρει τον όρο ‘δισθενής περιοχή’. Στα εμβρυϊκά βλαστικά κύτταρα (embryonic stem cells, ESCs) οι υποκινητές πολλών γονιδίων σχετίζονται με ενεργές (π.χ. H3K4me3) και ανασταλτικές (π.χ. H3K27me3) περιοχές χρωματίνης. Οι εν λόγω περιοχές διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη διατήρηση της πολυδυναμίας και διατήρησης αναπτυξιακών γονιδίων (σε φάση αδρανοποίησης ή έκφρασης σε μειωμένα επίπεδα) (Matsumura et al., 2015, Voigt et al., 2013). Ευρήματα μελετών υποδεικνύουν πως η δισθενής κατάσταση της χρωματίνης δεν είναι μοναδική στην περίπτωση των ESCs και πως η μετάβαση από την ευχρωματίνη στην ετεροχρωματίνη μπορεί να αποτελεί το αίτιο καταγραφής μεταβολών στη γονιδιακή έκφραση κατά την διάρκεια ενεργοποίησης των Τ κυττάρων. Επιπρόσθετα, η διαταραχή της δισθενούς κατάστασης της χρωματίνης δύναται να σχετίζεται άμεσα με την διαδικασία της καρκινογένεσης (Bernhart et al., 2016).

3.2.4. Τροποποιήσεις ιστονών και καρκίνος

Μελέτες αλληλούχησης υψηλής ανάλυσης αποκάλυψαν αλλαγές στην χρωματίνη σε μεγάλο εύρος του γονιδιώματος να συμβαίνουν κατά την διάρκεια την καρκινογένεσης. Αυτές οι μελέτες έδειξαν μια καθολική απώλεια της ακετυλίωσης της ιστόνης Η4 στην λυσίνη 16 (H4K16ac) και στην τριμεθυλιωμένη στην λυσίνη 20 ιστόνη Η4 (H4K20me3) (Fraga et al., 2005). Αυτή η απώλεια στην ακετυλίωση, που διαμεσολαβείτε από τις HDACs, είναι αποτέλεσμα γονιδιακής καταστολής. Οι HDACs συχνά εντοπίζονται να υπερ-εκφράζονται σε ποικίλους καρκίνους (Halkidou et al., 2004, Song et al., 2005), και για αυτό έχουν γίνει στόχοι της επιγενετικής

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

θεραπείας. Οι HATs έχουν παρατηρηθεί και αυτές να μεταβάλλονται στον καρκίνο. Ανώμαλος σχηματισμός συντηγμένης πρωτεΐνης λόγω χρωμοσωμικών μετατοπίσεων των HAT και των σχετιζόμενων με τις HAT ενζύμων, όπως είναι η MOZ, MORF, CBP και p300 έχουνε εντοπιστεί στην λευχαιμία (Yang, 2004). Μεταλλάξεις στα βλαστικά κύτταρα και υπερέκφραση των HDACs έχει καταγραφεί σε διαφορετικούς καρκινικούς τύπους, με το τελικό αποτέλεσμα να περιλαμβάνει πλήρη απώλεια της ικανότητας ακετυλίωσης των ιστονών και την ακόλουθη αποσιώπηση των διαφόρων ογκοκατασταλτικών γονιδίων (You and Jones, 2012). Λόγος θα πρέπει επίσης να γίνει για τα SETD2 και MLL2 γονίδια που περιλαμβάνουν την μεθυλτρανσφεράση λύσινης και τα οποία καταγράφονται με μεταλλάξεις στο 93% περιστατικών με EATL-II (enteropathy-associated T cell lymphoma) και 89% περιστατικών με FL (follicular lymphomas), αντίστοιχα (Roberti et al., 2016, Morin et al., 2011). Οι SEDT2 μεταλλάξεις αδρανοποίησης έχουν επίσης καταγραφεί σε καρκινώματα νεφρικών κυττάρων (Dalgliesh et al., 2010) και παιδιατρικά περιστατικά με AML και σχετίζονται με δυσμενές προσδόκιμο επιβίωσης και συχνές υποτροπές της νόσου (Mar et al., 2014).

Ο ρόλος του τροποποιητικού μορίου ιστονών με την επωνυμία EZH2 (enhancer of zeste 2 polycomb repressive complex 2 subunit) εμφανίζει ιδιαιτερότητες, καθώς δύναται να λειτουργήσει τόσο ως ογκοκατασταλτικό γονίδιο, όσο και ως ογκογονίδιο, αναλόγως του καρκινικού τύπου. Αποτελεί την ενζυματική υπομονάδα του PRC2 (polycomb repressive complex 2) συμπλόκου, το οποίο εμπλέκεται στη διατήρηση της κατάστασης μεταγραφικής αναστολής γονιδίων μέσα από την διαδικασία της μεθυλίωσης της ιστόνης Η3 και πιο συγκεκριμένα στη λυσίνη 27. Υπερέκφραση του EZH2 έχει καταγραφεί σε συμπαγείς όγκους (π.χ. μαστού, ωοθηκών, πνεύμονα κ.ά), καθώς επίσης και σε λεμφώματα non-Hodgkin, μέσα από τη διαδικασία τριμεθυλίωσης της H3K27. Από την άλλη πλευρά, επαναλαμβανόμενες απαλοιφές, μεταλλάξεις μετατόπισης του πλαισίου ανάγνωσης, καθώς επίσης και μεταλλάξεις με παράλειψη βάσεων στο EZH2 μόριο επισυμβαίνουν σε ορισμένες περιπτώσεις με MDS (myelodysplastic syndrome), MPN (myeloproliferative neoplasm), καθώς επίσης και Τ-κυτταρική ALL (acute lymphoblastic leukemia), αντίστοιχα. Τα προαναφερθέντα ευρήματα επισημαίνουν πως μεταλλάξεις στο EZH2 μόριο σχετίζονται τόσο με διατήρηση, όσο και με απώλεια λειτουργικότητας,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

επάγοντας και στις δύο περιπτώσεις την εξέλιξη ενός καρκινικού τύπου και την ακόλουθη μεταβολή του μοτίβου γονιδιακής έκφρασης.

Η αποδόμηση του επιγενετικού μηχανισμού δύναται επίσης να επισυμβεί με τρόπο έμμεσο, μέσω εκδήλωσης μεταλλάξεων σε επιγενετικούς ρυθμιστές. Οι ετερόζυγες σωματικές μεταλλάξεις που λαμβάνουν χώρα σε γονιδιακούς τόπους που περιλαμβάνουν το ένζυμο IDH1/2 (isocitrate dehydrogenase 1 and 2) επισυμβαίνουν περίπου στο 20% ασθενών με AML. Σχετίζονται με υπερμεθυλίωση και γονιδιακά εξειδικευμένες υπογραφές μεθυλίωσης. Οι εν λόγω επιδράσεις αποδίδονται εν μέρει στην αναστολή των TET2, που αναφέρθηκαν ανωτέρω. Προκαλεί ενδιαφέρον πως οι IDH1/2 και TET2 μεταλλάξεις είναι αμοιβαία αποκλειστικές και εκφυλισμένες από βιολογική άποψη. Η μεταλλαγμένη μορφή της IDH1/2 επάγει την αναστολή των TET2 και ακολούθως τη μεταβολή της γονιδιακής έκφρασης, μέσα από την τυχαία λειτουργία ενός μηχανισμού μεθυλίωσης. Οι εν λόγω παρατηρήσεις επιβεβαιώνουν τον τρόπο με τον οποίο μεταβολές σε κυτταρικά μεταβολικά μονοπάτια μπορούν να οδηγήσουν σε λευχαιμική μετατροπή, μέσω της απορρύθμισης του επιγενετικού μηχανισμού (Figueroa et al., 2010).

Συμπληρωματικά των αλλαγών στην ακετυλίωση των ιστονών, τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν επίσης εκτεταμένες αλλαγές στην μεθυλίωση των ιστονών (Εικόνα 7). Αλλαγές στα μοτίβα μεθύλιωσης των H3K9 και H3K27 έχουν συνδεθεί με παρεκκλίνουσα γονιδιακή αποσιώπηση σε ποικίλες μορφές καρκίνου (Nguyen et al., 2002, Valk-Lingbeek et al., 2004). Απορρύθμιση των HMTs που είναι υπεύθυνες για τα σήματα καταστολής έχουν ως αποτέλεσμα μεταβολές στην κατανομή των σημάτων αυτών με αποτέλεσμα την αποσιώπηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Για παράδειγμα, η EZH2 που αναφέρθηκε και προηγουμένως που είναι η HMT της H3K27 υπερεκφράζεται στον καρκίνο του μαστού και του προστάτη (Valk-Lingbeek et al., 2004). Αυξημένα επίπεδα της G9a, της HMT της H3K9, έχουν βρεθεί αυξημένα στον καρκίνου του ήπατος και εμπλέκεται στη διαιώνιση του κακοήθους φαινότυπου πιθανώς μέσω διαμόρφωσης της δομής της χρωματίνης (Kondo et al., 2008, Kondo et al., 2007). Χρωμοσωμικές μετατοπίσεις του MLL, την HMT της H3K4, μπορούν να οδηγήσουν σε έκτοπη έκφραση ποικίλων Hox γονιδίων και να έχουν σημαντικό ρόλο στην προώθηση της λευχαιμίας (Krivtsov and Armstrong, 2007). Συμπληρωματικά με τις HMTs, ειδικές διμεθυλάσες λυσίνης που δουλεύουν σε συνεργασία με τις HMTs (HDMs) για να διατηρήσουν το ολικό μοτίβο μεθυλίωσης των ιστονών εμπλέκονται επίσης στην προώθηση του καρκίνου (Cloos et

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

al., 2008). Η LSD1, η πρώτη χαρακτηρισμένη διμεθυλάση λυσίνης, μπορεί να απομακρύνει ενεργοποιητικά και ανασταλτικά σημαδία (H3K4 και H3K9 μεθυλιώσεις, αντίστοιχα), και εξαρτώμενη από ειδικούς προσδέτες (Shi et al., 2004, Metzger et al., 2005), να μπορεί να δρα ως συν-αναστολεάς ή ως συν-ενεργοποιητής. Και άλλα ένζυμα HDMs, όπως η LSD1, μπορούν να δράσουν ενεργοποιητικά ή κατασταλτικά, αλλά είναι απαραίτητο να ξεκαθαριστεί πρώτα ο ακριβής ρόλος τους πριν την θεραπευτική αναστολή στα πλαίσια στρατηγικής θεραπευτικής αντιμετώπισης του καρκίνου. Παρόλα αυτά, υπάρχει μια υποσχόμενη μελέτη, στην οποία η αναστολή του LSD1 σε νευροβλάστωμα προκάλεσε μείωση του πολλαπλασιασμού *in vitro* και αναστολή της ανάπτυξης όγκων σε ξενογραφικά μοντέλα (Schulte et al., 2009).

Πίνακας 1. Επιγενετικές αλλαγές που έχουν βρεθεί σε σημαντικά για την ογκογέννεση σηματοδοτικά μονοπάτια

Σηματοδοτικό Μονοπάτι	Γονίδιο	Κύριος ρόλος	Αλλαγή	Τύπος όγκου
Ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου	p16 (CDK2A)	Μετάβαση G1/S	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Στοματικός και στοματοφαρρυγικός καρκίνος, HCC, GC, CRC, οισοφάγου, πνεύμονα και καρκίνου των ωοθηκών
	CHFR	Μετάβαση από G2/M	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLC, GC, CRC, BC, HCC, ρινοφάρρυγας, μήτρας, οισοφάγου, ουροδόχου κύστης και ενδομήτριος καρκίνος
	RASSF1A	Εξέλιξη της φάσης M	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	BC, καρκίνος κεφαλής και τραχήλου, γυναικολογικοί, πνεύμονα, προστάση, ουροδόχου κύστης, εγκεφάλου, γαστρεντερικός καρκίνος, κακρίνος των νεφρών, σάρκωμα, μελάνωμα
	Chk2	Κινάση σημείου ελέγχου 2, αισθητήρας βλάβης	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Γλοίωμα, λέμφωμα Hodgkin's, NSCLC
	ATM	Κινάση σημείου ελέγχου κυτταρικού κύκλου	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	BC, γαστρικό λέμφωμα, γλοίωμα, καρκίνος του παχέως εντέρου, αδένωμα
Επιδιόρθωση βλαβών DNA	BRCA1	Επιδιόρθωση ομόλογου ανασυνδυασμού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLC, CRC, καρκίνος του μαστού, των ωοθηκών, της ουροδόχου κύστης και παγκρεατικός
	BRCA1	Επιδιόρθωση ομόλογου ανασυνδυασμού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLC, BC και καρκίνος των ωοθηκών
	FANCF	FA ομάδα πρωτεϊνών F	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Καρκίνος κεφαλής και τραχήλου, NSCLC, καρκίνος ωοθηκών, μαστού

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

				και μήτρας
	XRCC5	Συστατικό του NHEJ μονοπατιού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLSC, γλοίωμα
	WRN	Συστατικό του BER	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLC, CRC, GC, καρκίνος του προστάτη και του θυρεοειδούς, λέμφωμα non-Hodgkin, χονδροσάρκωμα
	MSH2	MMR ATPάση	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Κληρονομικός καρκίνος του παχέως εντέρου χωρίς πολύποδες, HCC
	RAD23B (hHR23B)	NER πρωτεΐνη	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	μυέλομα
Wnt μονοπάτι	WNT5A	προσδέτης	Υπερμεθυλίωση υποκινητή, τροποποίηση ιστονών	CRC
	WNT2	προσδέτης	Τροποποίηση ιστονών	CRC
	WIF1	Συγκεντρώνει τις πρωτεΐνες Wnt	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	HCC, GC, BC, CRC, καρκίνος του πνεύμονα
	DKK	Ανταγωνιστής του LRP5/6	Υπερμεθυλίωση υποκινητή, τροποποίηση ιστονών	NSCLC, BC, CRC, GC, HCC
	Cadherin	Μετατόπιση της β-κατενίνης	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	BC, NSCLC, CRC, GC, HCC, ESSC, CLL, καρκίνος του παγκρέατος, της ουροδόχου κύστης και του προστάτη
	APC	Σύνδεση της β-κκατενίνης στο σύμπλοκο μεταφοράς της	Υπερμεθυλίωση υποκινητή, τροποποίηση ιστονών	GC, CRC, ESCC. BC, NSCLS, HCC και καρκίνος του προστάτη
	GSK3β	Φωσφορυλιώνει την β-κατενίνη	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC
TGF-β μονοπάτι	RUNX3	Αλληλεπιδρά με τις SMADs	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	GC, HCC, CRC, BC, καρκίνος του πνεύμονα, της ουροδόχου κύστης και του παγκρέατος
	SMAD6/7	Αναστέλλει την ενεργοποίηση της SMAD3 από τον TGFβ	Υπερμεθυλίωση υποκινητή, τροποποίηση ιστονών	Καρκίνος του πνεύμονα
	DACH1	Αλληλεπιδρά με τις NCoR και SMAD4	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	GC, ESS, CRC, HCC, καρκίνος του ενδομητρίου, του πνεύμονα και των νεφρών
	FBXO32	Στόχος του TGFβ σηματοδοτικού μονοπατιού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	ESSC, GC και καρκίνος των ωοθηκών
Μονοπάτι NF-κB	p65 (RelA)	Κύρια λειτουργική υπομονάδα του NF-κB	Τροποποίηση ιστονών	CRC, οστεοσάρκωμα
	ZNF382	Αναστολέας του NF-κB	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	GC, ESCC, CRC, BC και ρινοφαρυγγικός καρκίνος

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

	ZNF545	Αναστολέας του NF-κB	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	HCC
	CXCL14	Αναστολέας του NF-κB	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC
Μονοπάτι Akt	ADAMTS9	Αναστολέας του μονοπατιού Akt	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC
	RAI2	Αναστολέας του μονοπατιού Akt	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC
	HIN-1	Αναστολέας του μονοπατιού Akt	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLC
Μονοπάτι p53	RASSF10	Αγωνιστής του p53 μονοπατιού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC, HCC, θηλώδης καρκίνος του θυρεοειδούς
	BCL6B	Αγωνιστής του p53 μονοπατιού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	HCC, CRC, GC
	DLEC1	Στόχος του p53 μονοπατιού	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	ESCC, καρκίνος του ρινοφάρυγα και του πνεύμονα
Μονοπάτι του ρετινοϊκού οξέος	CRBP1	Πρωτεΐνη σύνδεσης στην ρετινόλη	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC, ESSC, γαστρεντερικός καρκίνος, λέμφωμα, καρκίνος του προστάτη
	RARbeta2	Υποδοχέας του ρετινοϊκού οξέος	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	BC, λέμφωμα, γαστρεντερικός καρκίνος και καρκίνος της ουροδόχου κύστης
Μονοπάτι Hedgehog	PTCH1	Κύριος υποδοχέας	Υπερμεθυλίωση υποκινητή, τροποποίηση ιστονών	GC, BC, μυελοβλάστωμα, επιθηλιακά καρκινώματα
	SHH	Πρόσδεμα	Υπομεθυλίωση υποκινητή, τροποποίηση ιστονών	GC, BC
	HHIP	Συγκεντρώνει τα προσδέματα	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	LAC, GC, HCC, μυελοβλάστωμα, παγκρεατικός καρκίνος
	GLI1	Ενεργοποιητής της μεταγραφής	Τροποποίηση ιστονών	BC
	GLI3	Καταστοέας της μεταγραφής	Υπομεθυλίωση υποκινητή	GC

Πηγή: [Προσαρμογή από (Guo et al., 2019)]

Πίνακας 2. Η αλληλεπίδραση της γενετικής και της επιγενετικής στους όγκους

Γονίδιο	Κύριος ρόλος	Αλλαγές	Τύπος όγκου
Η γενετική επηρεάζει την επιγενετική			
DNMT1	DNA μεθυλτρασνφεράση	Μετάλλαξη	CRC
DNMT3A	DNA μεθυλτρασνφεράση	Μετάλλαξη	Αιματολογικές κακοήθειες, κυρίως AML
DNMT3B	DNA μεθυλτρασνφεράση	Μετάλλαξη, SNPs	Σύνδρομο ICF
TET1	5΄μεθυλκυτοσίνη υδροξυλάση	Χρωμοσωμική μετατόπιση	CRC, CLL
TET2	5΄μεθυλκυτοσίνη υδροξυλάση	Μετάλλαξη	Μυελογενής κακοήθειες
IDH1/2	Ισοκιτρική	Μετάλλαξη	AML, γλοίωμα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ALKBH3	δευδρογενάση Αλκυλιωτικό έζνυμο επιδιόρθωσης DNA	Μετάλλαξη	θηλώδης καρκίνος του θυρεοειδούς
SETD2	Μεθυλοτρανσφεράση λυσίνης ιστονών	Μετάλλαξη	Πλευρικό μεσοθηλίωμα, καρκίνος του πνεύμονα, λευχαιμία, καρκίνος των νεφρών, γλοίωμα
CREBBP	Ακυλοτρανσφεράση ιστονών	Μετάλλαξη, ενίσχυση	ALL, CRC, GC, λέμφωμα
MLL1	Μεθυλοτρανσφεράση λυσίνης H3K4	Πρωτεΐνη σύντηξης	ALL, AML, Β-κυτταρικό λέμφωμα, καρκίνος του προστάτη και της ουροδόχου κύστης
EP300	Απόακετυλάση ιστονών	Μετάλλαξη	Μυελοπολλαπλασιαστικά νεοπλάσματα, GC, λέμφωμα, καρκίνος του θυρεοειδούς
DOT1L	Μεθυλοτρανσφεράση λυσίνης ιστονών	Μετάλλαξη, ενίσχυση	GC, καρκίνος των ωοθηκών
EZH2	Μεθυλοτρανσφεράση ιστόνης H3K27	Μετάλλαξη	Μελάνωμα, αιματολογικές κακοήθειες, κυρίως στο Β-κυτταρικό λέμφωμα
NSD1	Πυρηνικός υποδοχέας	Μετάλλαξη, αλλαγή πλαισίου ανάγνωσης, μετατόπιση	CRC, GC, νεφρικός καρκίνος καθαρών κυττάρων, καρκίνος κεφαλής και τραχήλου, AML, HCC, κακοήθες περιτονιακό μεσοθηλίωμα
HDAC10	Απόακετυλάση ιστονών	Απαλοιφή πλαισίου ανάγνωσης	Καρκίνος του θυρεοειδούς
JMJD1C	Απομεθυλάση των ιστονών H3K4/H3K9	Μετάλλαξη	Νεφρικός καρκίνος καθαρών κυττάρων, ενδοκρανιακοί όγκοι από γεννητικά κύτταρα
ATRX	Μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών SWI/SNF	Μετάλλαξη	Διάχυτοι αστροκυτταρικοί όγκοι ενηλίκων, παγκρεατικοί νευροενδοκρινικοί όγκου, μυξοινοσάρκωμα, παιδιατρικό οστεοσάρκωμα
CHD5	ATPάση του NURD	Μετάλλαξη	BC, CRC, νευροβλάστωμα, γλοίωμα, καρκίνος του πνεύμονα, των ωοθηκών και του προστάτη
HELLS	Ελικάση που εμπλέκεται στον διαχωρισμό των αλυσίδων DNA	Μετάλλαξη	CRC, GC, NSCLC
SMARCB1	Υπομονάδα BAF	Υπομονάδα BAF	Κακοήθης ραβδοειδής όγκος, επιθηλιοειδές σάρκωμα, μικροκυτταρικό καρκίνωμα της ωοθήκης
ARID1A	Υπομονάδα BAF	Μετάλλαξη, γενωμική ανακατανομή	HCC, GC, CRC, BC, καρκίνος του ενδομητρίου, καρκίνος καθαρών κυττάρων της ωοθήκης, μελάνωμα, καρκίνος της ουροδόχου κύστης, του πνεύμονα και του παγκρέατος
SMARCA4	ATPάση του BAF	Μετάλλαξη	Ραβδοειδής όγκοι, επιθηλιοειδές σάρκωμα, , μικροκυτταρικό καρκίνωμα της ωοθήκης
Η επιγενετική επηρεάζει την γενετική			
SAT2	Δορυφορικό επαναλαμβανόμενο στοιχείο 2	Υπομεθυλίωση	BC, GC, HCC, παγκρεατικός καρκίνος, γλοιοβλάστωμα
ALU	Επαναλαμβανόμενο στοιχείο	Υπομεθυλίωση	BC, CRC, GC, γλοίωμα
LINE-1	Μεταφερόμενο στοιχείο	Υπομεθυλίωση	CRC, BC, καρκίνος του πνεύμονα, του προστάτη, του ήπατος, των ωοθηκών και της κεφαλής και του τραχήλου
MBD4	Πρωτεΐνη που συνδέεται με	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC, καρκίνος των ωοθηκών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

	μεθυλομάδες		
MGMT	Ο6-μεθυλογουανινή ακυλτρανσφεράση	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	NSCLC, CRC, GC, γλοίωμα, διάχυτο Β-μεγαλοκυτταρικό λέμφωμα, καρκίνος του οισοφάγου και της κεφαλής και του τραχήλου
TDG	Γλυκοζυλάση θυμίνης του DNA	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Πολλαπλό μυέλωμα
NEIL1	Αφαιρεί την γλυκολ-ομάδα της θυμίνης	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC, NSCLC, καρκίνος της κεφαλής και του τραχήλου
OGG1	Γλυκοζυλάση 8-οξογουανίνης του DNA	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	BC, CRC
XPC	Συνδέεται σε παραμορφώσεις του DNA	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Καρκίνος της ουροδόχου κύστης
XPG	Υπομονάδα του ERCC5/XPG/Rad2 NER συμπλόκου	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	CRC, καρκίνος των ωοθηκών
MLH1	MMR ATPάση, σχηματισμός ετεροδιμερών	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	ESCC, GC, CRC, NSCLC, καρκίνος των ωοθηκών, του παγκρέατος, της κεφαλής και του τραχήλου, πλακώδης στοματικός καρκίνος, Τ-κυτταρική λευχαιμία/ λέμφωμα ενηλίκων

Πηγή: [Προσαρμογή από (Guo et al., 2019)]

3.3. Μη κωδικά RNAs

Η περίπτωση των ncRNAs χρήζει ιδιαίτερης αναφοράς καθώς εάν και δεν πληρούν τις κατάλληλες προϋποθέσεις επιγενετικών ρυθμιστικών μορίων, η ικανότητά τους σε επίπεδο ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης σε μετα-μεταγραφικό και μεταγραφικό επίπεδο και επηρεασμού της οργάνωσης και τροποποίησης της χρωματίνης αναδεικνύει το ρόλο τους ως επιγενετικούς ρυθμιστές (Εικόνα 2). Αποτελούν σύμπλεγμα RNAs που δεν μεταφράζονται σε λειτουργικές πρωτεΐνες, εάν και τα ίδια εκδηλώνουν λειτουργικότητα ως μόρια. Βάση μεγέθους τα ncRNAs χωρίζονται σε δύο ομάδες: τα έχοντα βραχεία αλυσίδα (π.χ. siRNAs, miRNAs, piRNAs) και τα έχοντα μακρά αλυσίδα (long non-coding RNAs, lncRNAs) με μικρότερα ή περισσότερα από 200 νουκλεοτίδια σε μέγεθος, αντίστοιχα (Wei et al., 2017). Στον Πίνακα 3 αναφέρονται αυτές οι κύριες κατηγορίες μη κωδικών RNAs και η δράση τους στην επιγενετική.

Πίνακας 3. Οι κύριες κατηγορίες μη κωδικών RNA στη ρύθμιση της επιγενετικής

Όνομα	Μέγεθος (bp)	Πηγή	Κύριες λειτουργίες
siRNA	19-24	Διπλή αλυσίδα RNA	Αποσιώπηση γονιδιακής μεταγραφής

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

miRNA	19-24	pri-miRNA	Αποσιώπηση γονιδιακής μεταγραφής
piRNA	26-31	Μεγάλη μονή πρόδρομη αλυσίδα	Αποσιώπηση τρανποζονίων, μεθυλίωση DNA
lncRNA	> 200	Ποικίλες πηγές	Γενομική αποτύπωση για την απενεργοποίηση του X-χρωμοσώματος

Πηγή: [Προσαρμογή από (Wei et al., 2017)]

Η πρώτη κατηγορία περιλαμβάνειτα siRNAs και miRNAs, με παρόμοιο μέγεθος (19-24 νουκλεοτίδια) και βιογένεση μέσω του ενζύμου Dicer, τα οποία και σχετίζονται με την αναστολή της διαδικασίας της μετάφρασης και την αποδόμηση του RNA με τη δράση αυτή να διαμεσολαβείται με την βοήθεια των πρωτεϊνών Argonaute (AGO) (Ferreira and Esteller, 2018). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν πως τα siRNA μπορούν να οδηγήσουν σε μεταγραφική αποσιώπηση στα κύτταρα μέσω μεθυλίωσης του DNA και τροποποίηση των ιστονών (Morris et al., 2004, Bayne and Allshire, 2005). Το ίδιο αποδείχτηκε και σε cisplatin-ανθεκτικά ανθρώπινα κύτταρα μη μικροκυτταρικού και γαστρικού καρκίνου, όπου τα siRNA οδήγησαν σε αποσιώπηση της μεθυλοτρανσφεράσης ιστονών EZH2 (Zhou et al., 2015). Αρκετές μελέτες απέδειξαν πως με η αποσιώπηση των Dicer, Argonaute και την RNA-εξαρτώμενη ομόλογη RNA πολυμεράση Rdp1, που είναι το κύριο συστατικό του συμπλόκου RISC, οδηγεί σε παρεκκλίνουσα συσσώρευση ncRNAs, με αποτέλεσμα την απώλεια της H3K9me και άρα διαταραγμένη λειτουργία των κεντρομερών (Hall et al., 2002, Volpe et al., 2002).

Τα miRNAs διαθέτουν την ικανότητα ρύθμισης της έκφρασης περισσοτέρων του ενός διαφορετικών RNA μορίων, χαρακτηριστικό που τα διαχωρίζει από τα siRNAs. Το 50% αυτών εντοπίζεται σε χρωμοσωμικές περιοχές που είναι επιρρεπής σε δομικές αλλαγές. Ο ρυθμιστικός μηχανισμός των miRNAs αντικατοπτρίζει το βαθμό συμπληρωματικότητας μεταξύ μιας συγκεκριμένης πρωτεΐνης AGO, ένα συγκεκριμένο miRNA και το mRNA-στόχος (Bartel, 2009). Συνήθως ένας μικρός αριθμός των miRNAs είναι ολοκληρωτικά συμπληρωματικά με τους RNA- στόχους τους, οπότε σε αυτή την περίπτωση το mRNA μπορεί άμεσα να διασπαστεί και να αποικοδομηθεί. Παρόλα αυτά η πλειοψηφία των miRNAs είναι μερικώς συμπληρωματικά με τους mRNA στόχους τους και αυτό δίνει την δυνατότητα ένα miRNA να ρυθμίζει εκατοντάδες διαφορετικά γονίδια (Bartel, 2009, Rajewsky, 2006, Lewis et al., 2005). Μέσα από την ανάλυση περισσότερων από 13000 ανθρώπινων

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

γονιδίων, προέκυψε πως μεθυλοτρανσφεράσες ιστονών, πρωτεΐνες που προσδένονται σε μεθυλιωμένες CpG, πρωτεΐνες που προσδένονται στην χρωματίνη και αποακετυλάσες ιστονών είναι εν δυνάμει στόχοι των miRNAs (Lewis et al., 2005). Περαιτέρω μελέτες έχουν επιβιώσει πως τα miRNAs μπορούν να επάγουν την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης μέσω ρύθμισης της τροποποίησης των ιστονών. Για παράδειγμα, η HDAC4 φαίνεται να είναι συγκεκριμένος στόχος για το miR-140 σε εμβρυικά χονδροκύτταρα ποντικού (Tuddenham et al., 2006). Επίσης, έχει βρεθεί πως η υποέκφραση των DNMT3A και DNMT3B εξαρτάται από την οικογένεια των miR-29 σε εμβρυικά βλαστικά κύτταρα ποντικών που παρουσιάζουν έλλειψη στην Dicer. Σε αυτή την περίπτωση, ο κύριος μηχανισμός για την απουσία της DNA μεθυλίωσης είναι πως η Rbl2 αναστέλει την δράση της DNMT3A και DNMT3B. Η Rbl2 μπορεί να αναστέλλεται από την οικογένεια miR-29, η οποία όμως ήταν κατεσταλμένη λόγω της απουσίας δραστικότητας της Dicer (Benetti et al., 2008, Sinkkonen et al., 2008). Αυτή η παρατήρηση δημιουργεί την πιθανότητα τα miR-29 να μπορούν να αναστείλουν την ανάπτυξη των όγκων μέσω ενίσχυσης της έκφρασης ογκοκατασταλτικών γονιδίων.

Τα piRNAs (PIWI-interacting RNAs) έχουν μέγεθος 26-31 νουκλεοτίδια και είναι μονόκλωνα ενδογενή ncRNAs που μεταγράφονται σε γεννητικά κύτταρα. Παράγονται σε σύμπλοκα και ακολούθως αποδομούνται σε μεμονωμένες υπομονάδες, προσδένονται σε PIWI πρωτεΐνες και επάγουν επιγενετική ρύθμιση και τον έλεγχο μεταθετών στοιχείων (Lau et al., 2006, Grivna et al., 2006). Ο ρόλος τους είναι σημαντικός καθώς διασφαλίζουν την ακεραιότητα του γονιδιώματος και τη ρύθμιση της μετα-μεταγραφικής αποσιώπησης στόχων RNA μορίων όπου συνήθως πρόκειται για μεταθετά στοιχεία. Υπάρχουν ευρήματα σύμφωνα με τα οποία τα Piwi/piRNA σύμπλοκα δύναται να χρησιμεύσουν ως οδηγοί που κατευθύνουν τη *de novo* μεθυλίωση του DNA σε μεταθετά στοιχεία (Aravin et al., 2008). Οι Piwi πρωτεΐνες αποσιωπούν τα HOX γονίδια μέσω πρόσδεσης στα γενομικά PcG στοιχεία απόκρισης μαζί με τις PcGs, τις πρωτεΐνες της polycomb ομάδας. Για το λόγο αυτό, θεωρείται ότι τα piRNAs που συνδέονται με τις Piwi πρωτεΐνες έχουν σημαντικούς ρόλους στην επιγενετική ρύθμιση (Lin, 2007). Αρχικά, τα piRNAs είχαν βρεθεί να επάγουν τροποποιήσεις ιστονών στην ευχρωματίνη στην *Drosophila melanogaster* (Yin and Lin, 2007). Πιο πρόσφατα, τα piRNAs και οι πρωτεΐνες Piwi συσχετίστηκαν ισχυρά με την ρύθμιση της χρωματίνης και πως τα piRNAs μπορούν αποτελεσματικά να στρατολογήσουν την HP1a πρωτεΐνη σε συγκεκριμένους γονιδιακούς τόπους με

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

αποτέλεσμα να μπορούν να αναστείλουν την έκφραση της RNA πολυμεράσης II (Huang et al., 2013). Επίσης, το σύμπλοκο Piwi/piRNA μπορεί να διαμεσολαβήσει στην μεθυλίωση των τρανσποζονιών και τα piRNA είναι σημαντικοί καθοριστές της DNA μεθυλίωσης στα γεννητικά κύτταρα (Kuramochi-Miyagawa et al., 2008).

Η δεύτερη ομάδα των lncRNAs αναφέρεται σε μία ετερογενή τάξη RNA μεταγράφων, η οποία περιλαμβάνει πέντε κατηγορίες: τα ενισχυτικά μόρια RNAs, τα μικρά πυρηνικά μόρια RNA (small nucleolar RNA, snoRNA), τα ενδογενή μετάγραφα και τα μετάγραφα που υπερκαλύπτουν έτερα μετάγραφα (Batista and Chang, 2013). Εκτός από τον καλά διαμορφωμένο ρόλο τους στην απενεργοποίηση του Χ χρωμοσώματος, συμμετέχουν σε διαφορετικές κυτταρικές διεργασίες όπως είναι η γονιδιωματική αποτύπωση, η διαφοροποίηση και η ανάπτυξη. Τα lncRNAs μπορούν να ρυθμίσουν τη διαδικασία της μεταγραφής, μέσω αλληλεπίδρασης με τροποποιημένα σύμπλοκα χρωματίνης ή το μεταγραφικό μηχανισμό. Επιπρόσθετα, ορισμένα lncRNAs δρουν μετα-μεταγραφικά ως ρυθμιστές συρραφής, σταθεροποίησης του mRNA, μετάφρασης πρωτεϊνών και σταθερότητας πρωτεϊνών. Διαμορφώνουν χρονικά και χωρικά τη γονιδιακή δραστικότητα και ρυθμίζουν βιολογικές διεργασίες όπως είναι ο μηχανισμός απόκρισης σε περίπτωση βλαβών του DNA, η επιδιόρθωση του DNA και ο πολλαπλασιασμός του DNA (Marchese et al., 2017).

3.3.1 Μη κωδικά RNAs και καρκίνος

Τα ncRNAs αποτελούν επίσης σημαντικούς ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, με την απορρύθμισή τους να σχετίζεται με ένα μεγάλο αριθμό διαφορετικών καρκινικών τύπων. Έχουν εντοπιστεί εν δυνάμει ογκογόνα miRNAs όπως είναι το miR-21, miR-155, miR-210 και miR-221, τα οποία είναι συνήθως υπερκεφρασμένα στον καρκίνο και αποδίδουν στα καρκινικά κύτταρα πλεονεκτήματα επιβίωσης μέσω της ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης. Αντίθετα, υπάρχουν τα ογκοκατασταλτικά miRNAs όπως είναι η οικογένεια miR-34 και miR-200 όπου εμφανίζουν αντίθετη λειτουργία στον καρκίνο. Μερικά όμως miRNAs μπορεί να έχουν διττό ρόλο, ακόμα και στον ίδιο τύπο καρκίνου (Lu et al., 2020). Για παράδειγμα, η οικογένεια miR-181 αποτελείται από τέσσερα μέλη και παρουσιάζει ασυνεπής έκφραση σε ποικίλους συμπαγής καρκίνους, δρώντας ή ογκοπροωθητικά ή

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ογκοκατασταλτικά (Rezaei et al., 2020) (Εικόνα 7). Επίσης είναι ενδιαφέρον πως αυτά τα μέλη της miR-181 οικογένειας εντοπίζονται σε διαφορετικές δέσμες χρωμοσωμάτων και υπόκεινται σε διαφορετικές επιγενετικές τροποποιήσεις, υποδηλώντας ότι η βιογένεση των miRNAs μπορεί να τροποποιείται από επιγενετικές τροποποιήσεις. Επίσης, η αλληλεπίδραση μεταξύ των διαφορετικών επιγενετικών μηχανισμών μπορεί είτε συνεργατικά είτε ανταγωνιστικά να αλλάξει την γονιδιακή έκφραση. Ένα άλλο παράδειγμα είναι πως η οικογένεια miR-200 μπορεί να στοχεύσει τους ZEB1 και ZEB2 και να αναστείλει την μεταγραφή γονιδίων που σχετίζονται με το EMT (Hurteau et al., 2007, Gregory et al., 2008, Park et al., 2008).

Σε ασθενείς με CLL (chronic lymphocytic leukemia) συχνά καταγράφεται μία μετάλλαξη απαλοιφής στην 13q14 περιοχή, η οποία περιλαμβάνει τα miR-15 και miR-16 μόρια που εμπλέκονται στη διαδικασία της απόπτωσης (Calin et al., 2002). Εάν και ένα μεμονωμένο miRNA μόριο μπορεί να συνοδεύεται από αυξημένο ή μειωμένο αντίστοιχα ρυθμό έκφρασης, η συνολική miRNA έκφραση στα καρκινικά κύτταρα καταγράφεται κατεσταλμένη. Ομοίως, οι Drosha και Dicer1 ριβονουκλεάσες καταγράφονται σε καταστολή στους καρκίνους του πνεύμονα, των ωοθηκών και του νευροβλαστώματος, με τα συνοδά επίπεδα να σχετίζονται με το εκάστοτε καρκινικό στάδιο και την κλινική έκβαση (Lin et al., 2010, Merritt et al., 2008).

Ο βαθμός αλληλεπίδρασης ανάμεσα στα ncRNAs και το επιγένωμα περιπλέκει περαιτέρω την υφιστάμενη κατάσταση, καθώς τα ncRNAs δύνανται να επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση μέσω ρύθμισης του επιγενετικού μηχανισμού, ενώ ταυτόχρονα έχουν την ικανότητα επιγενετικής αυτορύθμισης. Αρκετές είναι οι περιπτώσεις σε καρκινικούς τύπους όπου διαφορετικά miRNAs υφίστανται μεταγραφική αδρανοποίηση, έπειτα από υπερμεθυλίωση της περιοχής γονιδιακής έκφρασης. Το τελικό αποτέλεσμα είναι η υπερενεργοποίηση των εκάστοτε ογκογονικών στόχων. Πιο συγκεκριμένα, η αδρανοποίηση λόγω μεθυλίωσης των miR-34b/c, miR-148 και miR-9-3 σχετίζεται με την απώλεια ρύθμισης συγκεκριμένων ογκογονικών στόχων (π.χ. C-MYC, E2F3, CDK6, TGIF2) και την ενεργοποίηση σήμανσης, μέσω της οποίας επάγεται η τάση διεισδυτικότητας και μετάστασης των διαφόρων καρκινικών τύπων (Lujambio et al., 2008).

Η αλληλεπίδραση μεταξύ επιγενετικής και ncRNAs έχει καταγραφεί στο καρκίνο του πνεύμονα (Fabbri et al., 2007), καθώς επίσης και στην AML (Garzon et al., 2009a). Συγκεκριμένα, έχει βρεθεί πως η έκφραση των μορίων της οικογένειας miR-29 είναι μειωμένη σε αντίθεση με την αυξημένη έκφραση των DNMT3A και

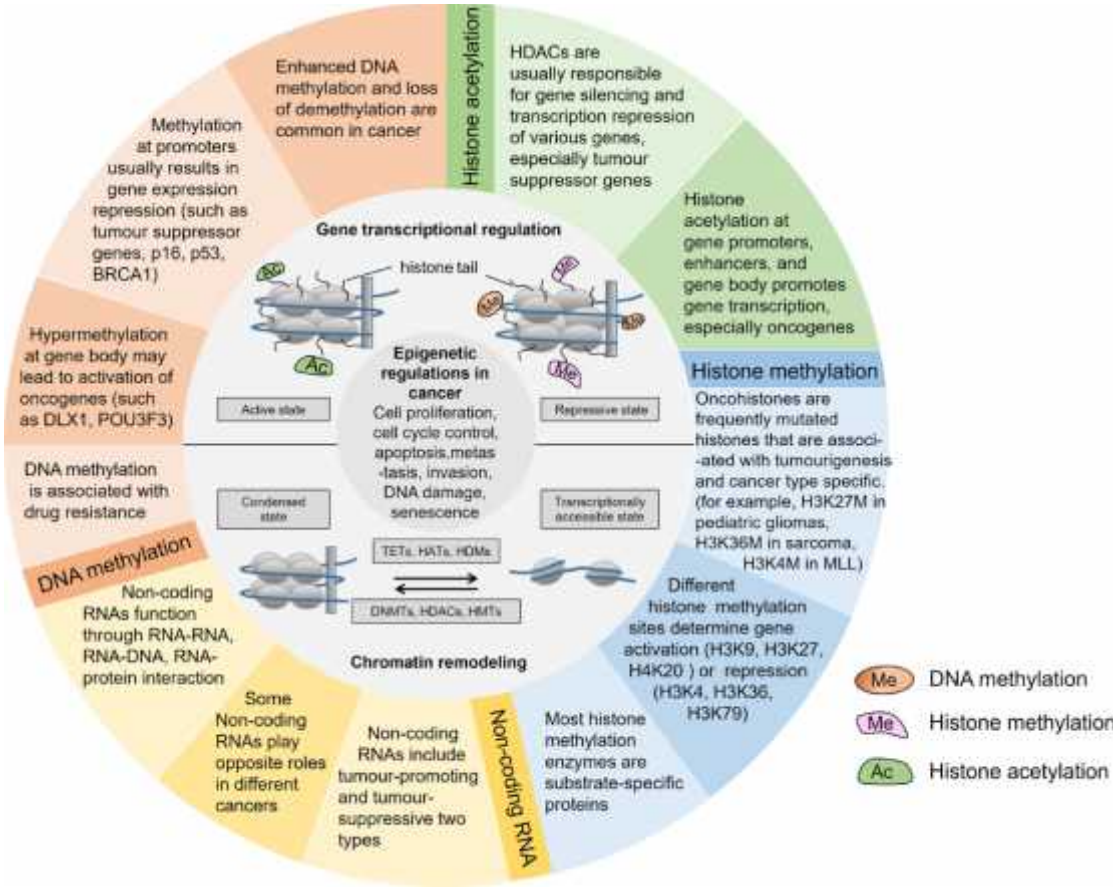
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

DNMT3B που εκφράζονται υψηλά στο μη-μικροκυτταρικό καρκίνωμα (Fabbri et al., 2007). Η εν λόγω συσχέτιση φαίνεται να σχετίζεται με την παραγωγή συνθετικού miR-29b σε θεραπευτικό επίπεδο, ως αποτελεσματικό υπομεθυλιωμένο παράγοντα του DNA (Garzon et al., 2009b). Επίσης τα ογκογόνα miR17-5p και miR-20a έχουν την ικανότητα να επάγουν τον σχηματισμό της ετεροχρωματίνης, προτείνοντας ένα άλλο παράδειγμα για την ύπαρξη μηχανισμών του αναδιαμορφώνουν την χρωματίνη και ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση (Gonzalez et al., 2008).

Επιπλέον, η οικογένεια miR-200 μπορεί να υποστεί μεθυλίωση από τις DNMTs μαζί με την τριμεθυλιώση των H3K27 και να εξασθενίσει τον EMT φαινότυπο (Davalos et al., 2012, Vrba et al., 2010, Wiklund et al., 2011). Έχει δειχθεί πως τα lncRNAs και τα circRNAs μπορούν να προσελκύουν miRNAs μέσω άμεσης πρόσδεσης τους σε αυτά και άρα μερικώς να ακυρώνουν τη δράση τους (Guil and Esteller, 2015). Μια πρόσφατη μελέτη σον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού έδειξε πως το lncRNA FAM83H-AS1 μπορεί να προσελκύει το miR-136-5p το οποίο αναστέλλει τις επαγόμενες από το MTDH λειτουργικές κυτταρικές ιδιότητες, όπως είναι ο πολλαπλασιασμός, η μετανάστευση και η διήθηση των τριπλά αρνητικών κυττάρων του μαστού (Han et al., 2020). Το circRNA circFUT8 υποεκφράζεται και έχει βρεθεί να δρα ογκοκατασταλτικά στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης μέσω του άξονα miR-570-3p/KLF10 (He et al., 2020). Επιπρόσθετα, η απορύθμιση της τροποποίησης της N-6 μεθυλαδενοσίνης στην επεξεργασία των pri-miRNAs και mRNAs έχει ανακαλυφθεί σε πολλούς καρκίνους. Τα μόρια “writers” METL3 και METL14 έχουν βρεθεί να είναι συσσωρευμένα σε αρκετούς τύπους καρκίνου, και εμφανίζουν τον ογκογόνο ρόλο τους μέσω προώθησης της μετάφρασης mRNA στόχων μέσω της τροποποίησης της N-6 μεθυλαδενοσίνης (Pan et al., 2018). Επιπλέον, μπορούν να αλλάξουν την επεξεργασία των pri-miRNA μέσω στρατολόγησης της DGCR8 με τρόπο εξαρτώμενο από την N-6 μεθυλαδενοσίνης στον HCC (Alarcón et al., 2015).

Σχετικά με την αλληλεπίδραση των lncRNAs με τα miRNAs στον κακρίνο, η HOTAIR (Hox transcript antisense intergenic RNA) κατέχει ογκογόνο ρόλο στον σχηματισμό του όγκου μέσω υπερέκφρασης του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών 1 και τη βοήθεια του miR-326, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του P13K/Akt και MEK1/2 μονοπάτι (Ke et al., 2015).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52



Εικόνα 7. Οι αλλαγές που μπορεί να προκύψουν στις επιγενετικές τροποποιήσεις σε κακοήθειες. Οι αλλαγές αυτές μπορούν να ρυθμίσουν ποικίλες κυτταρικές αποκρίσεις όπως είναι ο πολλαπλασιασμός, η απόπτωση, η διήθηση και η γήρανση

Πηγή: Cheng et al., 2019

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Οι επιγενετικές αλλαγές έχουν σημαντικές λειτουργίες στην εξάπλωση του καρκίνου και μπορούν να είναι αντιστρέψιμες και ευαίσθητες σε εξωτερικούς παράγοντες. Για το λόγο αυτό είναι αναδυόμενες ως υποσχόμενοι στόχοι για αντικαρκινική θεραπεία. Τα φάρμακα που στοχεύουν το επιγένωμα ονομάζονται επι-φάρμακα, και αναπτύσσονται τα τελευταία 40 χρόνια. Τα επι-φάρμακα είναι χημικές ενώσεις που αλλάζουν τη δομή του DNA και της χρωματίνης, προωθώντας μεταγραφικές και μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις, κυρίως μέσω ρύθμισης των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για την καθιέρωση και την διατήρηση τους, με αποτέλεσμα την επιγενετική επανα-ενεργοποίηση των αποσιωπημένων γονιδίων που συμμετέχουν στην ογκοκαταστολή και στην επιδιόρθωση του DNA (Rodríguez-Paredes and Esteller, 2011). Τα επι-φάρμακα στοχεύουν στο καρκινικό επιγένωμα για να αναπτυχθούν φαρμακολογικές ενώσεις που μπορούν να επαναφέρουν ένα φυσιολογικό επιγενετικό περιβάλλον. Η στόχευση επιγενετικών τροποποιήσεων παρουσιάζει σημαντικό δυναμικό για τη χρήση τους ως βιοδείκτες πρόγνωσης αλλά και χρήση τους ως αντικαρκινική θεραπεία, καθώς συνδέονται αυστηρά με τον τύπο και το στάδιο του όγκου, καθώς επίσης και στο ατομικό γενετικό προφίλ, δίνοντας τη δυνατότητα εξατομικευμένης θεραπείας (Jones et al., 2016).

Μελέτες *in vitro* έχουν δείξει πως υπάρχουν αρκετές εφαρμογές στη ρύθμιση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και των ενζύμων επιδιόρθωσης του DNA (Alcazar et al., 2012). Πιο πρόσφατα αποδείχτηκε το μεγάλο δυναμικό της χρήσης συνδυασμού επιγενετικών φαρμάκων σε *in vitro* μελέτες (Jones et al., 2016, Alcazar et al., 2012, Pan et al., 2016, Hsu et al., 2016) αλλά και σε κλινικές μελέτες στα πλαίσια χημειοθεραπευτικής θεραπείας (Xia et al., 2014, Voso et al., 2009). Η επιγενετική θεραπεία έχει συνδεθεί με την κυτταρική διαφοροποίηση, την αναστολή του κυτταρικού κύκλου, τον μεταβολισμό της ενέργειας και άλλες κυτταρικές λειτουργίες που περιλαμβάνουν ποικίλα γονίδια και πρωτεΐνες (Pan et al., 2016, Hsu et al., 2016, Wasim and Chopra, 2016, Staberg et al., 2017). Αρκετά επιγενετικά φάρμακα έχουν εγκριθεί από τον FDA και χρησιμοποιούνται ως αντικαρκινική

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

θεραπεία Παρόλα αυτά νέα επιγενετικά σκευάσματα βρίσκονται υπο συνεχή αξιολόγηση για την κυτταροτοξικότητα, τις φαρμακολογικές παραμέτρους και την καλύτερη κατανόηση του μηχανισμού δράσης σε προκλινικές μελέτες τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*, καθώς επίσης και σε κλινικές μελέτες για την ανάπτυξη και εγκαθίδρυση νέων θεραπειών (Miranda Furtado et al., 2019).

4.1. Μεθυλίωση DNA & Φάρμακα

Οι αναστολείς των DNMTs (DNMTIs) είναι ικανά αντικαρκινικά φάρμακα που αντιστρέφουν την υπερμεθυλιώση του DNA. Σύμφωνα με τον ρυθμιστικό μηχανισμό του νουκλεοτιδίου, οι DNMTIs μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες: οι αναστολείς που είναι ανάλογα κυτοσίνης και οι αναστολείς μη-νουκλεοτιδικών αναλόγων. Γενικά, τα ανάλογα κυτοσίνης μπορούν να ενσωματώνονται στο DNA ή στο RNA και να αντικαθιστούν τον 5 άνθρακα της κυτοσίνης με άζωτο και να διαταράσσουν την μεθυλίωση, καθώς επίσης και να επάγουν την αποικοδόμηση των DNMTs. Τέτοια φάρμακα είναι τα η 5-αζακυτιδίνη ή απλώς αζακυτιδίνη, η 5-αζα-2΄δεοξυκυτιδίνη ή δεσιταβίνη, η zebularine, το SGI-110, η fazaradine, η pseudois cytidine, κα (Lu et al., 2020).

Η αζακυτιδίνη και η δεσιταβίνη είναι αναστολείς ανάλογα κυτοσίνης που έχουν εγκριθεί από τον FDA για την θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών, ειδικά για το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο και την οξεία μυελογενή λευχαιμία (Silverman et al., 2002, Kantarjian et al., 2006). Παρόλα αυτά χρησιμοποιούνται και για ποικίλους συμπαγής όγκους. Η αζακυτιδίνη σε μεγάλο βαθμό ενσωματώνεται στο RNA, ενώ η δεσιταβίνη ενσωματώνεται μόνο στο DNA. Αφού ενσωματωθεί η δεσιταβίνη, σχηματίζει δινουκλεοτίδια με την αχακυτοσίνης-γουανίνης και εγκλωβίζει DNMTs με αποτέλεσμα να απομακρύνεται η μεθυλίωση του DNA στους υποκινητές των ογκοκατασταλτικών γονιδίων (Stresemann and Lyko, 2008). Επιπλέον, η απόκριση στην βλάβη του DNA ενεργοποιείται και οδηγεί σε αναστολή του κυτταρικού κύκλου, αναστολή της ανάπτυξης και απόπτωση. Όσο αναφορά την αζακυτιδίνη, λόγω της ικανότητας της να ενσωματώνεται στο RNA, πρόσφατες μελέτες έδειξαν πως μπορεί να μπλοκάρει την μετάφραση των γονιδίων μέσω διατάραξης της αλληλεπίδρασης tRNA-rRNA και να αναστείλει την μετατροπή των

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

δεοξυριβονουκλεοτιδίων (Schaefer et al., 2009). Οι αντικαρκινικές ιδιότητες αυτών των δύο φαρμάκων έχουν χαρακτηριστεί σε κλινικές μελέτες σε σχετικά χαμηλές δόσεις, καθώς υψηλές δόσεις μπορούν να οδηγήσουν σε υψηλή τοξικότητα (Lu et al., 2020).

Εκτός από τα δύο παραπάνω φάρμακα, υπάρχουν και άλλοι αναστολείς παράγωγα της κυτοσίνης που δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς, όπως είναι η zevularine (ZEB), η 6-θειογουανίνη και η 4-θειο-2 δεοξυκυτιδίνη. Η ZEB περιέχει έναν δακτύλιο 2-(1H)-πυριμιδινόνης ο οποίος οδηγεί σε αποικοδόμηση των DNMTs Μέσω σχηματισμού ενός ομοιοπολικού συμπλόκου με τις DNMTs στη θέση 6 του πυριμιδινονικού δακτυλίου έπειτα από την ενσωμάτωση του DNA (Zhou et al., 2002). Σε αντίθεση με την αζακυτιδίνη και την δεσιταβίνη που μπορούν να απενεργοποιηθούν από την απαμινάση κυτιδίνης (CD), ο αναστολέας ZEB είναι πιο σταθερός με μεγαλύτερης διάρκειας ημιζωής που επιτρέπει την δια στόματος χορήγηση (Holleran et al., 2005). Επίσης, η ZEB έχει μια εξειδικευμένη απόκριση στα καρκινικά κύτταρα καθώς μπορεί να ενσωματώνεται στο DNA πιο άμεσα και με μεγαλύτερη απόδοση (Cheng et al., 2004b, Tan et al., 2013). Η χρήση του ZEB μπορεί να διευκολύνει την αποφυγή επανα-μεθυλίωσης των γονιδίων έπειτα από την θεραπεία με άλλους DNMTIs και να ελαττώσει τη δόση χορήγησης των DNMTIs (Cheng et al., 2004a). Για παράδειγμα, η έκφραση του p16 μπορεί να υποστεί επανα-αποσιώπηση λόγω μεθυλίωσης του DNA έπειτα από την θεραπεία με δεσιταβίνη σε καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης. Παρόλα αυτά, με την επιπλέον χορήγηση του ZEB, το αποτέλεσμα της απομεθυλίωσης μπορεί να διατηρηθεί (Peng et al., 2015). Επίσης, ο συνδυασμός του με την αζακυτιδίνη και την δεσιταβίνη μπορεί να αποβεί πιο ασφαλής σε ποικίλες θεραπείες καρκίνων, όπως είναι η AML και το EBV-θετικό Burkitt’s λέμφωμα (Takemura et al., 2018).

Στην κατηγορία των αναστολέων μη-νουκλεοτιδικών αναλόγων, υπάρχουν μικρά μόρια που αποτρέπουν την σύνδεση με τις DNMTs στις αλληλουχίες-στόχους είτε μέσω πρόσδεσης στο καταλυτικό κέντρο των DNMTs ή μέσω σύνδεσης με αλληλουχίες πλούσιες σε CpG. Αυτή η κατηγορία περιλαμβάνει ενώσεις όπως η υδραλαζίνη, η EGCG, RG108, MG98, disulfiram, κα. Αυτά τα επιγενετικά φάρμακα έχουν μικρό ανασταλτικό αποτέλεσμα σε ποικίλα κακοήθη κύτταρα συγκρινόμενα με τους αναστολείς των αναλόγων κυτοσίνης. Ο MG98 είναι ένα αντινοηματικό ολιγονουκλεοτίδιο που στοχεύει στην 3’UTR της DNMT1 και επάγει την

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

απομεθυλίωση *in vitro* και *in vivo* (Yang et al., 2010). Η σημαντική αναστολή της έκφρασης της DNMT1 έχει παρατηρηθεί σε φάση I κλινικής μελέτης. Παρόλα αυτά, σε φάση II κλινικής μελέτης σε ασθενείς που υπέφεραν από μεταστατικό νεφρικό καρκίνωμα δε παρουσιάστηκε ανιχνεύσιμο αποτέλεσμα (Lu et al., 2020).

Πίνακας 4. Επιγενετικά φάρμακα που στοχεύουν στον μηχανισμό της μεθυλίωσης του DNA που έχουν εισαχθεί σε κλινικές μελέτες για αντικαρκινική θεραπεία

Φάρμακο	Θεραπευτική στρατηγική	Καρκίνος/Ασθένεια	Φάση
Αζακυτιδίνη (Vidaza®)	Μονοθεραπεία	MDS, AML	Εγκεκριμένο από τον FDA
	Πολυθεραπεία (κυτταραβίνη)	AML	III
Δεσιταβίνη (Dacogen®)	Μονοθεραπεία	MDS, AML	Εγκεκριμένο από τον FDA
	Πολυθεραπεία (talacotuzumab)	AML	III
Disulfiram	Πολυθεραπεία (χηλικός ψευδάργυρος)	Μελάνωμα	II
EGCG	Πολυθεραπεία (πράσινο τσάι)	PC	II
Hydralazine	Πολυθεραπεία (magnesium valproate)	Υποτροπή συμπαγών όγκων	II
SGI-110	Μονοθεραπεία	HCC	II
	Πολυθεραπεία (pemetrexed, cisplatin, gefitinid)	NSCLC	II
6-thioguanine	Πολυθεραπεία (dexamethasone, cyclophosphamide, vincristine, κα)	Λέμφωμα	IV
4-thio-2-deoxycytidine	Μονοθεραπεία	Συμπαγής όγκοι	I
MG98	Μονοθεραπεία	Συμπαγής όγκοι	I

Πηγή: [Προσαρμογή από (Lu et al., 2020)].

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

4.2. Τροποποιήσεις ιστονών & Φάρμακα

Σε σύγκριση με την μεθυλίωση του DNA, οι τροποποιήσεις των ιστονών έχουν διερευνηθεί σε μεγαλύτερο εύρος ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων των συμπαγών όγκων, τις αιματολογικές κακοήθειες ακόμα και τις φλεγμονώδεις νόσους όπως είναι η ιική μόλυνση, ο διαβήτης και η φλεγμονώδης νόσος των πνευμόνων. Κατά τη διάρκεια της αποσιώπησης γονιδίων, η αποακετυλίωση της λυσίνης και η απομεθυλίωση της H3K4 είναι πιθανό να έχει κυριότερο ρόλο σε σύγκριση με την απομεθυλίωση της H3K9 και την μεθυλίωση της κυτοσίνης (Mutskov and Felsenfeld, 2004). Όπως αναλύθηκε και στα προηγούμενα κεφάλαια, οι HATs κατέχουν ρόλο “writer” μιας και προσθέτουν την ακετυλ-ομάδα, ενώ οι HDACs κατέχουν ρόλο “eraser” αφού είναι υπεύθυνες για την απομάκρυνση των ακετυλ-ομάδων. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης γίνεται από τις bromodomains (BRDs) καθώς αυτές αναγνωρίζουν το σήμα της ακετυλ-ομάδας που υπάρχει στις ουρές των ιστονών και είναι υπεύθυνο για την στόχευση ενζύμων που τροποποιούν την χρωματίνη και άλλων εξειδικευμένων πρωτεϊνών. Οι BRDs είναι γνωστοί ως “readers” καθώς εξειδικευμένα αναγνωρίζουν το σήμα της ακετυλομάδας στις λυσίνες. Η οικογένεια πρωτεϊνών bromo- and extra-terminal (BET) περιλαμβάνει τις ευρέως εκφραζόμενες BRD2, BRD3, BRD4 και την εκφραζόμενη στους όρχεις BRDT. Η BET στρατολογεί μεταγραφικά ρυθμιστικά σύμπλοκα για να ακετυλιώσει την χρωματίνη και να ρυθμίζει συγκεκριμένα δίκτυα γονιδίων που εμπλέκονται στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τον κυτταρικό κύκλο (Muddassir et al., 2021). Για τους λόγους αυτούς οι τροποποιήσεις ιστονών κατέχουν σημαντικό ρόλο στην θεραπευτική αντιμετώπιση.

4.2.1 Αναστολείς των HATs και BETs

Οι αναστολείς τω HATs και BETs είναι δύο στρατηγικές για να αποφευχθεί η αποκλίνουσα ακετυλίωση των ιστονών, μέσω αλλαγών στην αλληλεπίδραση μεταξύ των ενεργών κέντρων των HATs ή μέσω της χρήσης μιμητικών προϊόντων των ενζυμικών υποστρωμάτων. Μέχρι στιγμής, αρκετοί αναστολείς που στοχεύουν στις BRD πρωτεΐνες έχουν εμπλακεί σε κλινικές μελέτες, ενώ δεν υπάρχουν κλινικές μελέτες που να διερευνούν την αναστολή των HATs (Cheng et al., 2019).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Διυποστρωματικοί αναστολείς είναι εξειδικευμένοι αναστολείς για τα PCAF, p300 και TIP60. Μιμούνται δύο υποστρώματα των HATs: τον συμπαράγοντα ακέτυλο συνένζυμο A (Ac-CoA) και ένα πεπτίδιο που προσομοιάζει το υπόστρωμα λυσίνη (Lau et al., 2000, Yang et al., 2014). Παρόλα αυτά, λόγω της πεπτιδικής φύσης και του μεγέθους, δεν είναι διαπερατά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και απαιτείται κάποιο σύστημα μεταφοράς τους. Έχουν αναπτυχθεί και μη-πεπτιδικοί αναστολείς ως θεραπευτικοί παράγοντες. Αρκετοί μικροί μοριακοί αναστολείς είναι φυσικά προϊόντα και περιλαμβάνουν την garcinol, την κουρκουμίνη και το ανακαρδικό οξύ (Balasubramanyam et al., 2003, Balasubramanyam et al., 2004b, Balasubramanyam et al., 2004a). Αυτοί οι φυσικοί αναστολείς των HAT δεν έχουν εξειδίκευση ως προς αυτές και συνήθως εμπλέκονται στην αναστολή άλλων στόχων. Για το λόγο αυτό έχουν προταθεί τροποποιημένα και συνθετικά ανάλογα. A-methylene-g-butyr-olactones είναι μικροί μοριακοί αναστολείς των HATs με εξειδίκευση είτε στο GCN5L2 ή το PCAF (Biel et al., 2004). Isothiazolone είναι ένας άλλος αναστολέας των HAT που στοχεύει τις p300 και PCAF (Stimson et al., 2005). Παρόλα αυτά η υψηλή αντιδραστικότητα έναντι των θειολικών περιορίζει την εφαρμογή των αναστολέων των HAT σε βιολογικά συστήματα. Άλλοι αναστολείς των HATs, όπως είναι τα thiazide sulfonamide και C646 έχουν αρχίσει να δίνουν υποσχόμενα αποτελέσματα σε αρκετές κακοήθειες.

Μια άλλη στρατηγική αναστολής της ενεργότητας των HAT είναι η στόχευση της αλληλεπίδρασης μεταξύ πρωτεϊνών που αλληλεπιδρούν με τις HATs και τις HATs. Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα τέτοιου είδους αναστολέων είναι τα ICG-001 και PRI-724. Τέλος, η σωστή εφαρμογή αγωνιστών των HAT είναι επίσης σημαντική για την διόρθωση της αποκλίνουσας ακετυλίωσης κατά τη διάρκεια ασθενειών. Ο CTPB προέρχεται από το ανακαρδικό οξύ και εξειδικευμένα ενεργοποιεί την p300, με αποτέλεσμα την γονιδιακή μεταγραφή (Balasubramanyam et al., 2003). TTK21 και SPV106 είναι δύο άλλη αγωνιστές που στηρίζονται στο ανακαρδικό οξύ (Cheng et al., 2019).

Η σύνδεση στις πρωτεΐνες BRDs και το μπλοκάρισμα της αναγνώρισης της ακετυλίωσης της λυσίνης είναι ένα άλλος μηχανισμός ώστε να ανασταλεί η ακετυλίωση. Τα μόρια JQ1 και I-BET762 είναι δύο αντιπροσωπευτικοί αναστολείς της οικογένειας BET. JQ1 είναι ένα διαπερατό μικρό μόριο και μπορεί συναγωνιστικά να προσδεθεί στις BRD4 συντηγμένες ογκοπρωτεΐνες, όπως είναι η

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

BRD4-NUT, με αποτέλεσμα την καρκινική διαφοροποίηση και την απόπτωση (Filippakopoulos et al., 2010). Παρομοίως, ένα συνθετικό παράγωγο που συναγωνίζεται την BRD4 είναι το I-BET762 (Nicodeme et al., 2010). Επίσης, στη βιβλιογραφία αναφέρονται και οι παρακάτω αναστολείς των BET: MS417, OTX-015, RVX-208, OXFBD, I-BET151, PFI-1, MS436 και XD14 (Brand et al., 2015). Αρκετοί μη-BET BRD αναστολείς βασίζονται σε μια δομή που ονομάζεται «WFP shelf" και ένα κατάλοιπο-φύλακας (gatekeeper) το οποίο εντοπίζεται στην αρχή της C έλικας (Romero et al., 2016). Αρκετές HATs έχουν BRD όπως είναι οι Gcn5, PCFA, p300 και CBP. Αναστολείς των CBP περιλαμβάνουν τους MS2126, MS7972, ischemin, SGS-CBP30 και I-CBP112. Βελτιωμένα παράγωγα του 1-(1H-indol-1-yl) ethanone έχουν δείξει επίσης υποσχόμενα αποτελέσματα στην αναστολή των CBP και p300 (Xiang et al., 2018). Οι BRD αναστολείς BAZ2A/B περιλαμβάνουν τους BAZ2-ICR και GSK2801. Η LP99 ήταν ο πρώτος συνθετικός ειδικός αναστολέας των BRD9, ο οποίος παρουσιάζει 200 φορές υψηλότερη εκλεκτικότητα για τον BRD9 από ότι για τον BRD7, και 700 φορές εκλεκτικότητα για τον BRD9 σε σύγκριση με άλλα μέσω των BET (Theodoulou et al., 2016). Ο PFI-3 είναι ένας δυνητικός αναστολέας των SMARCA4 και PB1, με μια υψηλότερη συγγένεια με τον πρώτο. Η πρωτεΐνη BRPF1 είναι μέλος της οικογένειας BRPF, που είναι συστατικό της οικογένειας συμπλόκων MYST. Οι αναστολείς της BRPF1 περιλαμβάνει τους PFI-4, OF-1 και NI-57. Η 1,3-dimethyl benzimidazolones είναι ο πρώτος εξειδικευμένος της BRPF1. Οι PFI-4 και OF-1 είναι δύο κοντινά ανάλογα της 1,3-dimethyl benzimidazolone. Οι NI-57 και OF-1 πιστεύεται ότι αλληλεπιδρούν με τις BRPF1 έως 3 και δρουν ως αναστολείς και για τις τρεις. Ο IACS-9571 είναι ένας διπλός αναστολέας για τις TRIM24 και BRPF1 (Palmer et al., 2016). Τέλος, η bromosporine είναι ένας αναστολέας όλων των BRD με καλή κυτταρική δραστικότητα, ενώ φαίνεται πως έχει μεγαλύτερη εξειδίκευση για την οικογένεια BET (Picaud et al., 2016).

Πίνακας 5. Επιγενετικά φάρμακα που στοχεύουν στον μηχανισμό της τροποποίησης των ιστονών και έχουν εισαχθεί σε κλινικές μελέτες για αντικαρκινική θεραπεία

Φάρμακο	Θεραπευτική στρατηγική	Καρκίνος/Ασθένεια	Φάση
	HDAC		
Abexinostat (PCI-24781)	Μονοθεραπεία	Λέμφωμα	I & II

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

	Πολυθεραπεία (doxorubicin)	Σάρκωμα, λέμφωμα	I & II
CUDC-101	Μονοθεραπεία	Συμπαγής όγκοι	I
Belinostat (Beleodaq /PXD101)	Μονοθεραπεία	PTCL, HCC, λέμφωμα Burkitt, DLBCL	Εγκεκριμένο από τον FDA
		MDS, θυμικό καρκίνωμα	II
	Πολυθεραπεία (paclitaxel, carboplatin)	Καρκίνος των ωοθηκών, των σαλπίγγων και της ουροδόχου κύστης,	I & II
Entinostat (SNDX-275)	Πολυθεραπεία (entinostat, exemestane, placebo)	BC	II
Givinostat (ITF2357)	Μονοθεραπεία	Αληθής πολυκυτταραιμία	I & II
Mocetinostat (MGCD0103)	Πολυθεραπεία	Μεταστατικό λειομυοσάρκωμα	II
Panobinostat (LBH-589)	Μονοθεραπεία	MM, θυμικό καρκίνωμα, RCC, BC, AML	Εγκεκριμένο από τον FDA
	Πολυθεραπεία (Placebo)	Λέμφωμα Hodgkin’s, MM	III
Pracinostat (SB939)	Μονοθεραπεία	MLD	II
	Πολυθεραπεία (ruxolitinib)	MLD	II
Romidepsin (Depsipeptide/FK228)	Μονοθεραπεία	CTCL, PTCL	Εγκεκριμένο από τον FDA
	Πολυθεραπεία (alisertib, pralatrexate, gemcitabine)	Υποτροπιάζων PTCL	III
Valproic acid (VPA)	Πολυθεραπεία (azacytidine, all-trans retinoic acid)	MDS, AML	II
Vorinostat (SAHA)	Μονοθεραπεία	CTCL	Εγκεκριμένο από τον FDA
	Πολυθεραπεία (KW-0761)	AML	III
BET			

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

I-BET762 (GSK525762/molibresib)	Μονοθεραπεία	Νεοπλάσματα	II
	Πολυθεραπεία (abiraterone, enzalutamide, prednisone)	Συμπαγής όγκοι	I
OTX-015 (MK-8628)	Μονοθεραπεία	AML, DLBCL, ALL, MM	I
TEN-010 (RO6870810)	Μονοθεραπεία	Προχωρημένοι συμπαγείς όγκοι	I
	Πολυθεραπεία (atezolizumab, daratumumab, venetoclax, rituximab)	Προχωρημένο MM	I
CPI-0610	Πολυθεραπεία (ruxolitinib)	Μυελοϊνωση, AML, MDS	I &II
FT-1101	Πολυθεραπεία (azacytidine)	AML, non-Hodgkin λέμφωμα	I
ZEN003694	Πολυθεραπεία (talazoparib)	Τριπλά αρνητικός BC	II
BMS-986158	Μονοθεραπεία	Λέμφωμα, όγκοι εγκεφάλου	I
	Πολυθεραπεία (nivolumab)	Προχωρημένοι όγκοι	I
ABBV-075	Πολυθεραπεία (vnenetolaclx)	Συμπαγείς όγκοι και αιματολογικές κακοήθειες	I
GS-5829	Πολυθεραπεία (exemestane, fulvestrant)	Συμπαγείς όγκοι, λέμφωμα	I
PLX51107	Πολυθεραπεία (azacitidine, BRD4 αναστολέας)	AML, MDS	I

Πηγή: [Προσαρμογή από (Lu et al., 2020)]

4.2.2. Αναστολείς των HDACs

Οι αναστολείς των HDACs έχουν μακροχρόνια ιστορία καθώς ο πρώτο αναστολέας ανακαλύφθηκε τη δεκαετία του 70 και είναι το βουτυρικό οξύ, το οποίο βρέθηκε να επάγει την συσσώρευση ακετυλιωμένων ιστονών σε κακοήθη κύτταρα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

και θεωρήθηκε ότι σχετίζεται με την αναστολή της αποακετυλίωσης (Riggs et al., 1977). Στη συνέχεια, ένα φυσικό παράγωγο, η τριχοστατίνη Α (TSA) έχει αναγνωριστεί ως αναστολέας μερικώς καθαρών HDACs, ενώ επάγει την κακοήθη διαφοροποίηση και την απόπτωση (Yoshida et al., 1990). Σταδιακά αναπτύχθηκαν περισσότερα φυσικά και συνθετικά παράγωγα που αναστέλλουν την αποακετυλίωση των ιστονών. Ο συνδυασμός δύο αναστολέων των HDACs, οι SAHA και TSA μπορούν να επάγουν την αναστολή της ανάπτυξης κυττάρων μελανώματος μέσω υπερέκφρασης των p21, p27 και NF-κB, ενώ ο αναστολέας MG132 μπορεί να ενισχύει το αποτέλεσμα του TSA (Fandy et al., 2005). Η αναστολή των HDACs έχει διερευνηθεί σε ποικίλους καρκίνου με υποσχόμενα αντικαρκινικά αποτελέσματα (Fang, 2005, Singh et al., 2005). Με βάση την χημική δομή των αναστολέων HDAC αυτοί μπορούν να διαχωριστούν σε 5 κατηγορίες: κοντές αλυσίδες λιπαρών οξέων, υδροξαμικό οξύ, βενζαμίδες, κυκλικά πεπτίδια και υβριδικά μόρια. Τέλος, νέα καινούργια συνθετικά μόρια συμπληρωματικά από τις 5 αυτές κατηγορίες μπορούν να δρουν ως αναστολείς των HDACs.

Η κατηγορία αναστολέων κοντής αλυσίδας λιπαρών οξέων περιλαμβάνει το άλας νατρίου του βουτυρικού, το valproic acid (VPA), το άλας νατρίου του φαινυλβουτυρικού και το AN-9 (pivaloyloxymethyl butyrate). Η αποτελεσματική συγκέντρωση του βουτυρικού είναι συνήθως μερικά mM (micromolar). Η ομάδα των υδροξαμικών οξέων περιλαμβάνει περισσότερα από 10 μέλη και είναι η πιο καλά μελετημένη τάξη. Δομική ανάλυση των TSA Και SAHA έδειξε πως είναι μη-συναγωνιστική αναστολείς των HDACs καθώς μοιράζονται μια σημαντική ομολογία με την τάξη I και II των HDACs, με αποτέλεσμα να μιμούνται τα υποστρώματα λυσίνης (Finnin et al., 1999). Συμπληρωματικά, δημιουργούν χηλικά σύμπλοκα με ιόντα ψευδαργύρου, τα οποία είναι σημαντικά για την ενζυμική δραστικότητα (Yoshida et al., 1990). Ο HMBA (hexamethylene bisacetamide) είναι ένα αντιπροσωπευτικό παράδειγμα υβριδικών πολικών ενώσεων (HPCs), ενώ 2^{ης} γενιάς HPCs όπως είναι οι oxamflatin, SAHA, suberic bishydroxamic acid (SBHA) και m-carboxycinnamic acid bishydroxamide (CBHA) έχουν δείξει καλύτερη αναστολή των HDACs και αντικαρκινικά αποτελέσματα έναντι της 1^{ης} γενιάς παραγόντων (Richon et al., 1998). Oxamflatin, scriptaid και amide είναι ανάλογα της TSA και παρουσιάζουν αντικαρκινικά αποτελέσματα (Jung et al., 1999, Kim et al., 1999, Su et al., 2000). Αναστολείς βενζαμίδης όπως είναι οι MS-275, MGCD0103 και CI-994

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

έχουν μελετηθεί καλά και παρουσιάζουν υποσχόμενα αποτελέσματα στη θεραπεία ασθενειών και ειδικά καρκίνων. Αναστέλλουν την αποακετυλίωση των ιστονών μέσω σύνδεσης με το καταλυτικό ιόν ψευδαργύρου των HDACs μέσω καρβόνυλο και άμινο ομάδων. Η αναστολή των HDACs μέσω αναστολέων βενζαμίδης θεωρείται ότι είναι αντιστρέψιμη ίσως με χρόνο-εξαρτώμενο τρόπο (Bressi et al., 2010, Ito et al., 2011). Παρόλα αυτά οι αναστολείς βενζαμίδης παρουσιάζουν μικρότερη ενεργότητα από τα μέλη των αναστολέων hydroxamate και κυκλικών πεπτιδίων, με μια αποτελεσματική συγκέντρωση να είναι στην κλίμακα mM (Suzuki et al., 1999). Οι αναστολείς κυκλικών πεπτιδίων μπορούν να διακριθούν σε δύο κατηγορίες: τα κυκλικά τετραπεπτίδια που περιέχουν 2-amino-8-oxo-9, 10-epoxy-decanoyl (AOE) αλληλουχία όπως είναι τα HC-toxin και trapoxin και τα κυκλικά πεπτίδια χωρίς την AOE αλληλουχία που είναι τα apicidin και romidepsin. Η ομάδα epoxyketone είναι απαραίτητη για τους αναστολείς ώστε να δεσμυετούν σε ενεργά ιόντα ψευδαργύρου, όμως αυτού του τύπου ο δεσμός που δημιουργείται είναι μη αντιστρέψιμος. Το κυκλικό πεπτίδιο trapoxin μπορεί επίσης να αναστείλει την δραστικότητα των HDACs μη-αντιστρεπτά (Kijima et al., 1993). Ο αναστολέας romidepsin ή FK228 κυρίως στηρίζεται σε μία από την ομάδες θειόλης για να συντονιστεί με το ενεργό κέντρο ψευδαργύρου (Furumai et al., 2002). Παράγωγα όπως είναι τα diallysulfide και allylmercaptan είναι επίσης ικανά να παράγουν μια ομάδα θειόλης για αυτό καθίστανται πιθανοί αναστολείς των HDACs (Lea et al., 1999). Πιθανοί άλλοι αναστολείς των HDACs είναι ο K-trap, που είναι ένα ανάλογο της trapoxin, άλλα παράγωγα της όπως η 9-acyloxyapicidins και 9-hydroxy, καθώς και τα φυσικά παράγωγα depudecin και psammaplins (Cheng et al., 2019).

Οι αρχικοί αναστολείς των HDACs ήταν μη εκλεκτικοί λόγω της υψηλής αναλογίας με τη δομή και τον καταλυτικό μηχανισμό των HDACs κάθε τάξης. Ο πρώτος ειδικός αναστολέας των HDACs είναι η tubacin, η οποία στοχεύει την HDAC6 με αυξημένη ακετυλίωση της τουμπουλίνης αλλά όχι την ακετυλίωσης των ιστονών (Haggarty et al., 2003). Ο ειδικός αναστολέας της HDAC8 PCI-34051 μπορεί να επάγει την εξαρτώμενη από τις κασπάσες απόπτωση του λεμφώματος T-κυττάρων αλλά δεν αυξάνει την ακετυλίωση των ιστονών (Balasubramanian et al., 2008). Ένας άλλος αναστολέας βενζαμίδης, ο SHI-1:2 δείχνει κατασταλτική δραστικότητα ειδικοί για τις HDAC1/HDAC2, 100 φορές περισσότερο από ότι για άλλες HDACs (Methot et al., 2008). Νέοι συνθετικοί αναστολείς όπως είναι οι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

SK7041 και splitomicin είναι ειδικοί στόχοι για την τάξη I των HDACs και την sir2-like οικογένεια, αντίστοιχα. Αντίστοιχη προσπάθεια έχει υπάρξει ώστε να αναπτυχθούν αναστολείς για τις sirtuins, που είναι η τάξη III HDACs. Η nicotinamide που είναι ένα παραπροϊόν της αντίδρασης των sirtuin ενζύμων χρησιμοποιείται ευρέως ως αναστολέας όλων των sirtuins. Ο αναστολέας αυτός λειτουργεί μέσω αλληλεπίδρασης με το NAD+ μέσα στο ενεργό κέντρο των sirtuins ή μέσω σύνδεσης σε ακετυλιωμένη λυσίνη. Έχουν αναφερθεί και άλλες ενώσεις όπως είναι οι cambinol, salermide, tenovin, EX-527, suramin και AGK2 ως αναστολείς των sirtuins (Cheng et al., 2019).

Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως η 2ης γενίας HDACs όπως είναι τα υδροξαμικά οξέα [vorinostat (SAHA), belinostat (PXD101), LAQ824 και panobinostat (LBH589)] αλλά και βενζαμίνες [entinostat (MS-275), tacedinaline(CI-994) και mocetinostat (MGCD0103)] έχουν εισαχθεί σε κλινικές μελέτες και κάποια από αυτά έχουν ήδη εγκριθεί ως θεραπεία. Η επιτυχία της romidepsin στη φάση I κλινικών μελετών στο περιφερικό λέμφωμα Τ-κυττάρων επιτάχυνε την ανάπτυξη αναστολέων των HDACs ως αντικαρκινικά φάρμακα. Το 2006, ο αναστολέας SAHA ήταν ο πρώτος που εγκρίθηκε από τον FDA για την θεραπεία δερματικού λεμφώματος Τ-κυττάρων (Mann et al., 2007). Το 2009, η romidepisn ήταν ο 2^{ος} εγκεκριμένος αναστολέας των HDAC. Τρία μέλη της οικογένειας βενζαμίδης έχουν επίσης κλινική σημασία στην ανάπτυξη αντικαρκινικών φαρμάκων. Η belinostat (Beleodaq ή αλλιώς PXD101) εγκρίθηκε το 2014 από τον FDA για την θεραπεία του περιφερικού λεμφώματος Τ-κυττάρων. Ένας άλλος αναστολέας, ο panobinostat, είναι ένας μη-εκλεκτικός HDAC αναστολέας. Έχει δείξει υποσχόμενα αποτελέσματα στην αντικαρκινική θεραπεία και ο FDA επιτάχυνε την έγκριση του στην θεραπεία ασθενών με πολλαπλό μυέλωμα. Σημαντική σημείωση αποτελεί το γεγονός πως σε αρκετούς καρκίνους έχουν αναφερθεί μεταλλάξεις στην HDAC2, οι οποίες οδηγούν σε ανθεκτικότητα στους παραδοσιακούς αναστολείς των HDACs (Cheng et al., 2019, Daigle et al., 2011). Για το λόγο αυτό είναι σημαντικό να υπάρχει έλεγχος των μεταλλάξεων στις κακοήθειας ώστε να βελτιωθεί η αποτελεσματικότητα της χρήσης των HDAC αναστολέων.

4.2.3. Αναστολείς των HMTs και HDMTs

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Ο πρώτος εκλεκτικός αναστολέας της DOT1L που χαρακτηρίστηκε ήταν ο EPZ004777, ενώ εξειδικευμένα μπορεί να σκοτώνει κύτταρα με μετατόπιση του MLL έναντι αυτόν χωρίς μετατόπιση (Daigle et al., 2011). Παρόλα αυτά λόγω των φτωχών φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων του, ένας 2^{ης} γενιάς αναστολέας αναπτύχθηκε. Ο EPZ-5767 αναπτύχθηκε με ένα κυκλο-βουτυλ δακτύλιο να αντικαθιστά την αλληλουχία ριβόζης (Daigle et al., 2013). Ο EPZ-5767 έδειξε συνεργιστικά αποτελέσματα με την cytarabine, daunorubicin και τον DNMT αναστολέα αζακυτιδίνη στην θεραπεία της ALL με μετατόπιση του MLL. Ο EPZ-5767 ενώ παρουσιάζει χαμηλή δια στόματος βιοδιαθεσιμότητα έχει διερευνηθεί σε κλινικές μελέτες για την θεραπεία την λευχαιμίας με μετατόπιση του MLL (Basavapathruni et al., 2014).

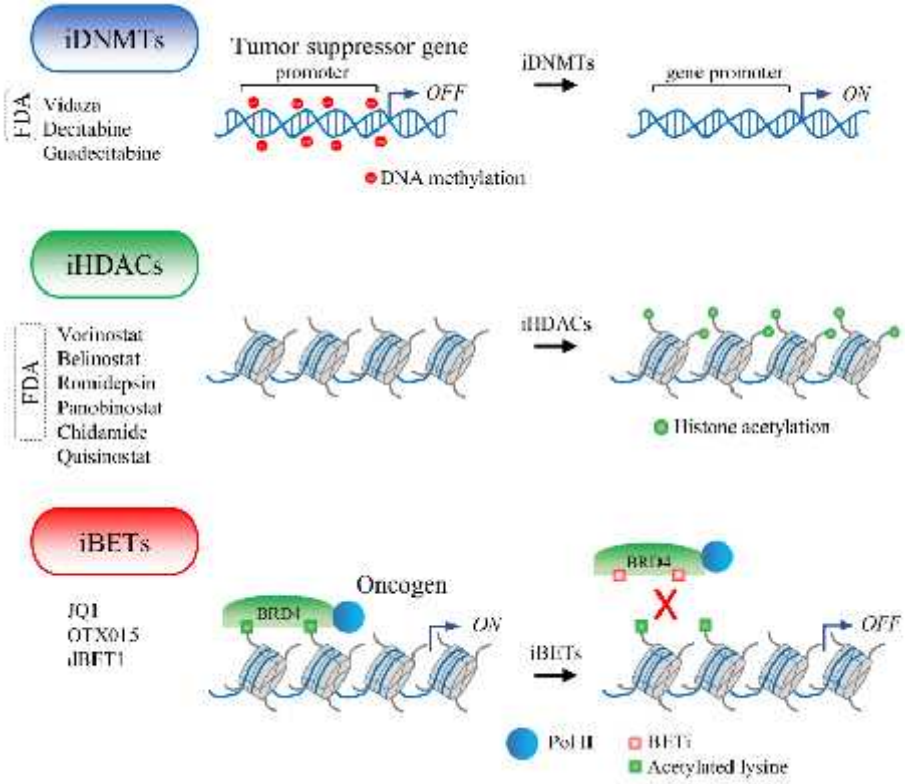
Επίσης, υπάρχουν αρκετοί αναστολείς του EZH2, με τον καλύτερα μελετημένο να είναι ο 3-deazaneplanocin A (DZNep), ένα ανάλογο του αντιβιοτικού neplanocin-A. Συγκεκριμένα, ο DZNep είναι ένας αναστολέας του SAH και αναστέλλει την έκφραση του EZH2 Μέσω υπερέκφρασης του SAH, που οδηγεί στην αποικοδόμηση του PRC2 με έναν αναυτοφοδοτικό μηχανισμό (Miranda et al., 2009, Glazer et al., 1986). Ένα άλλο είδος αναστολέων είναι οι ανταγωνιστικοί αναστολείς του SAM. Το SAM είναι υπεύθυνο για την μεθυλομάδα των μεθυλοτρασφερασών λυσίνης. Ο EI1 είναι ένας μικρός μοριακός αναστολέας του EZH2, που αναστέλλει την δραστικότητα του EZH2 μέσω άμεσης σύνδεσης σε αυτόν και τον ανταγωνισμό με το SAM (Qi et al., 2012). Οι GSK343 και GSK126 είναι δύο άλλοι ανταγωνιστικοί αναστολείς του SAM και έχουν διερευνηθεί σε κλινικές μελέτες (Verma et al., 2012, McCabe et al., 2012). Ο EPZ005687 είναι ένας δυνητικός αναστολέας του EZH2, και μειώνει σημαντικά την μεθυλίωση της H3K27 σε κύτταρα λεμφώματος με σημειακές μεταλλάξεις στα κατάλοιπα Tyr641 και Ala677 της EZH2 χωρίς εμφανές αποτέλεσμα στον πολλαπλασιασμό άγριου τύπου κυττάρων (Qi et al., 2012). Στη συνέχεια αναπτύχθηκε ο EPZ6438, ο οποίος παρουσιάζει παρόμοια αποτελέσματα και αυξημένη δια στόματος βιοδιαθεσιμότητα (Knutson et al., 2014). Ο CPI-1205 είναι ένας καινοτόμος αναστολέας του EZH2 που ανήκει στην οικογένεια πυριδόνης. Η χορήγηση TCP σε MLL-AF9 λευχαιμία επάγει την κακοήθη διαφοροποίηση και την απόπτωση (Harris et al., 2012). Ο TCP είναι επίσης ικανός να επαναευσθητοποιεί κύτταρα μη οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας στη θεραπεία με all-trans ρετινοικό οξύ (ATRA) μέσω αύξησης της H3K4me2 και την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την μυελογενή διαφοροποίηση (Schenk et al., 2012) . Αρκετά παράγωγα του TCP έχουν αναπτυχθεί ώστε να επιτευχθεί καλύτερη βιοδιαθεσιμότητα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

και εξειδίκευση, συμπεριλαμβανομένου των OG-002, RN-1, SP2509 και GSK690 (Liang et al., 2013, Neelamegam et al., 2012, Fiskus et al., 2014). Ένας άλλος εκλεκτικός αναστολέας του LSD1, ο OPY-1001 μπορεί επίσης να επάγει την διαφοροποίηση κυτταρικών σειρών λευχαιμίας, ειδικά αυτών που παρουσιάζουν μετατόπιση του MLL, ενώ έχει καλή δια στόματος βιοδιαθεσιμότητα (Maes et al., 2015). Εκτός από τους TCR και OPY-1001 υπάρχει και ο αναστολέας του LSD1 GSK2879552, ενώ και οι τρεις έχουν εμπλακεί σε κλινικές μελέτες για τη θεραπεία ασθενών με κακοήθειες. Daminozide [N-(dimethylamino succinamic acid)] είναι ένας ρυθμιστής της ανάπτυξης φυτών και είναι εξειδικευμένος αναστολέας των KDM2/7 λόγω δημιουργίας χημικών συμπλόκων με το ενεργό κέντρο μετάλλου (Rose et al., 2012).

Daminozide και siRNA μπορούν να ελαττώσουν την έκφραση της KDM7 και να ρυθμίσουν την ανάπτυξη κακοηθών κυττάρων μέσω απομεθυλίωσης της H3K9 (Tan et al., 2014). Η GSK-J1 είναι ο $1^{ος}$ χαρακτηρισμένος KDM6 αναστολέας με περιορισμένη κυτταρική διαπερατότητα που προκύπτει από την υψηλά πολική δομή της λόγω της ύπαρξης εστερικού δεσμού (Kruidenier et al., 2012). Παρόλα αυτά έχει βρεθεί να είναι συμβατός με την οικογένεια των KDM6 όσο και με την KDM5, ενώ ο GSK-J4 είναι επίσης ένας δυνητικός αναστολέας των KDM5B και KDM4C (Heinemann et al., 2014). Ένας άλλος αναστολές της KDM5B, ο EPT 103182, έχει δείξει υποσχόμενα αποτελέσματα όσο αναφορά το αντιπολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα σε αιματολογικούς και συμπαγής όγκους. KDM8 και JMJD6 μοιράζονται ομολογία και μπορούν να ανασταλθούν από έναν ευρύ αναστολέα, τον NOG (Maes et al., 2015). Ειδικοί αναστολείς έχουν συνήθως παρόμοια εκλεκτικότητα σε μόρια με παρόμοια ομολογία, κάτι το οποίο χρειάζεται να ληφθεί υπόψη όταν χρησιμοποιούνται ενώσεις που δεν έχουν υψηλή εκλεκτικότητα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52



Εικόνα 8. Παραδείγματα επιγενετικών φαρμάκων που σχετίζονται με την μεθυλίωση του DNA και τις τροποποιήσεις ιστονών και τον γενικό μηχανισμό δράσης τους

Πηγή: Roberti et al., 2019

4.3. Μη κωδικά RNAs & Φάρμακα

Όλο και περισσότερες μελέτες έχουν δείξει πως τα miRNAs έχουν χρήση ως βιοδείκτες σε ποικίλους καρκίνους καθώς τα παρεκκλίνων επίπεδα τους ίσως σχετίζονται με το στάδιο της παθολογίας και την πρόγνωση. Η εφαρμογή των miRNAs και τον anti-miRNAs έχει δείξει πολύ υποσχόμενα αποτελέσματα *in vitro*, υποδεικνύοντας πως τα φάρμακα που σχετίζονται με τα miRNA είναι αναδυόμενα ως καινοτόμα στρατηγική για αντικαρκινική θεραπεία. Το 1^{ο} siRNA η patisiran έχει εγκριθεί από τον FDA το 2018 για την θεραπεία της σπάνια πολυνευροπάθειας μέσω στόχευσης και αποικοδόμησης του mRNA της transthyretin (Wood, 2018). Αρκετά άλλα φάρμακα που στηρίζονται στα miRNA είναι υπό κλινικές δοκιμές όπως το μιμητικό miR-34a (MRX34), MRG-201, MRG-106, RG-012, RGLS5579 και το targomiRs. Δρουν είτε ως μιμητές miRNA είτε ως ανταγωνιστές miRNA στη θεραπεία ποικίλων καρκίνων. Για παράδειγμα, η έκφραση του ογκοκατασταλτικού miRNA-34a είναι συνήθως σχετική σε ποικίλους καρκίνους όπως είναι οι PC,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

NSCLC και ALL και έχουν αναγνωριστεί ποικίλοι στόχοι όπως είναι οι CD44, PD-L1, ZEB1 και BCL-2. Ο MRX34 έχει αναπτυχθεί ως μια καινούργια στρατηγική για να αυξήσει τα επίπεδα του miR-34a για την θεραπεία του καρκίνου και έχει εισαχθεί σε κλινικές μελέτες φάσης II (Hanna et al., 2019). Σχετικά με την υψηλότερη έκφραση των ογκογόνων miRNAs σε συγκεκριμένες κακοήθειες, η αναστολή μέσω antagomiR ειδικών miRNAs προτείνεται σε μεγάλο βαθμό σε κλινικές μελέτες. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε πως το antagomiR-24 μειώνει την σοβαρότητα της ασθένειας στην CTCL, δίνοντας μια νέα προοπτική για τη θεραπεία της. Παρόλο που η JQ1 μπορεί να μειώνει το miR-214, υποδεικνύοντας πως η ανωρύθμιση του miR-214 οφείλεται σε παρεκκλίνουσα ακετυλίωση των ιστονών (Kohnken et al., 2019). Ποικίλα lncRNAs έχουν βρεθεί με αυξημένη έκφραση σε ποικίλες κακοήθειες. Λόγω των ποικίλων ρυθμίσεων και των πολύπλοκων μηχανισμών των lncRNAs, λίγα από αυτά έχουν εμπλακεί σε κλινικές θεραπείες. Παρόλα αυτά μπορούν να δράσουν ως δείκτες της σοβαρότητας της ασθένειας σε συγκεκριμένους καρκίνους καθώς είναι σταθερά στα σωματικά υγρά. Για παράδειγμα, τα υψηλά ποσοστά του lncRNA PCA3 στα ούρα μπορεί να αντιστοιχούν στη σοβαρότητα του καρκίνου του προστάτη (Lee et al., 2014). Τα lncRNA MALAT1, NEAT1, UCA1 και ANRIL φαίνεται να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τον μεταστατικό καρκίνο του πνεύμονα (Gutschner et al., 2013). Παρόμοια με τις στρατηγικές που σχετίζονται με τα miRNA, η antisense διαμεσολαβούμενη lncRNA στόχευση δείχνει επίσης υποσχόμενα αποτελέσματα για τη θεραπεία μερικών καρκίνων (Arun et al., 2018). Παρόλα αυτά υπάρχουν αρκετά εμπόδια σχετικά με την κλινική εφαρμογή των ncRNAs, καθώς απαιτείται η εισαγωγή τους σε αποτελεσματικό σύστημα μεταφοράς.

Πίνακας 6. Επιγενετικά φάρμακα που στοχεύουν στον μηχανισμό των μη-κωδικών RNAs και έχουν εισαχθεί σε κλινικές μελέτες για θεραπεία ασθενειών όπως ο καρκίνος

Φάρμακο	Θεραπευτική στρατηγική	Καρκίνος/Ασθένεια	Φάση
MesomiR-1 (miR-16)	Μονοθεράπεια	NSCLC, κακοήθες πλευρικό μεσοθηλίωμα	I
Miravirsen (miR-122)	Μονοθεράπεια	Ηπατίτιδα C	II
MRX34	Μονοθεράπεια	Πρωτογενής καρκίνος του ήπατος, SCLC, λέμφωμα,	I

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

		MM, RCC	
MRG110 (anti-miR-92)	Πολυθεραπεία (Placebo)	Επούλωση πληγής	I
MRG201 (miR-29)	Πολυθεραπεία (Placebo)	Ινώδης σχηματισμός πληγής	I
MRG106 (miR-155)	Πολυθεραπεία (cobomarsen, SAHA)	CTCL	II
Patisiran	Μονοθεράπεια	Σπάνια πολυνευροπάθεια	Εγκεκριμένο από τον FDA
	Πολυθεραπεία (vutrisiran)	Αμυλοείδωση	III
RG-012 (anti-miR-21)	Μονοθεράπεια	Σύνδρομο alport	I
TargomiRs (miR-15/17)	Μονοθεράπεια	Κακοήθες πλευρικό μεσοθηλίωμα, NSCLC	I

Πηγή: [Προσαρμογή από (Lu et al., 2020)]

4.4. Συνδυαστική θεραπεία

Η επιγενετική ρύθμιση στην καρκινογένεση είναι πολύπλοκη και περιλαμβάνει ποικίλα στάδια. Η θεραπεία μπορεί να περιλαμβάνει συνδυασμό επιγενετικών φαρμάκων με χημειοθεραπεία και ανοσοθεραπεία καθώς παρουσιάζεται σημαντικό αντικαρκινικό αποτέλεσμα και μπορεί να παρακαμφθεί η φαρμακευτική αντίσταση. Ο συνδυασμός δύο ή περισσοτέρων θεραπειών που στοχεύουν διάφορα επιγενετικά γεγονότα φαίνεται να είναι βοηθητικός. Αυτός ο συνδυασμός συνεργατικά μπορεί να αναστείλει την έκφραση ογκοπροωθητικών γονιδίων και να επιταχύνει την επανέκφραση ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Για παράδειγμα, ο συνδυασμός SAHA και panobinostat μπορεί να εμφανίσει ισχυρή αντι-καρκινική δραστηριότητα σε αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου και στην λευχαιμία μέσω επαγωγής ανοσολογικού κυτταρικού θανάτου (West et al., 2013). Η θεραπεία του SAHA με panobinostat έχει αναφερθεί πως επιγενετικά αποσιωπεί το γονίδιο AR και καταστέλλει την μεταγραφή του AR μέσω στόχευσης των γονιδίων PSA και tMPRSS2 (Welsbie et al., 2009). Ο συνδυασμός των αναστολέων των JQ1 ή EZH2 με το panobinostat παρουσιάζει συνεργατικά αποτελέσματα *in vitro* και *in vivo*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

(Shahbazi et al., 2016, Harding et al., 2018). Μέχρι στιγμής, η χημειοθεραπεία είναι ο παραδοσιακός τρόπος αντιμετώπισης των προχωρημένων καρκίνων που στερούνται τη δυνατότητα χειρουργικής αφαίρεσης. Παρόλα αυτά αυτοί οι χημειοθεραπευτικοί παράγοντες μπορεί να καταλήξουν σε παρεκκλίνουσες επιγενετικές αλλαγές έπειτα από την θεραπεία. Για παράδειγμα, η θεραπεία με cisplatin στον καρκίνο των ωοθηκών μπορεί να επάγει υπερμεθυλίωση ποικίλων γονιδίων όπως είναι τα MLH1, MEST και MDK και να οδηγήσει στην απόκτηση ανθεκτικού φαινοτύπου (Zeller et al., 2012). Η προσθήκη δεσιταβίνης μπορεί να μειώσει και ακόμα και να αντιστρέψει την αντίσταση στην cisplatin μέσω επανα-ενεργοποίησης αυτών των επιγενετικά αποσιωπημένων γονιδίων, προτείνοντας ότι ο συνδυασμός των επιγενετικών φαρμάκων με άλλους χημειοθεραπευτικούς παράγοντες μπορεί όχι μόνο να προωθήσει την καταστολή της καρκινογένεσης αλλά και να επανα-ευασιθητοποιήσει τα καρκινικά κύτταρα στην ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία. Μελέτες στον HCC έδειξαν πως το mRNA των HDAC3 και HDAC5 βρέθηκε αυξημένο. Με την αναστολή αυτών των HDACs με τον LBH-589 μπορεί να αυξηθεί η ακετυλίωση των ιστονών H3 και HSP90 και να αυξηθεί η CDH1, το γονίδιο της e-cadherin (Zeller et al., 2012). Μια μελέτη πρότεινε πως ο συνδυασμός του sorafenib, ενός εγκεκριμένου από τον FDA συστημικού φαρμάκου, και του resminostat, ενός δια στόματος γενικό αναστολέα του HDACi με κύρια δραστικότητα έναντι των HDAC1/2/3, έδειξε μια αξιοσημείωτη αύξηση της ολικής επιβίωσης σε δεύτερης γραμμής θεραπεία προχωρημένου HCC, συγκρινόμενη με μονοθεραπεία με resminostat (Bitzer et al., 2016). Οι αναστολείς των σημείων ελέγχου της ανοσολογικής απόκρισης (ICIs) έχουν δειχθεί σημαντικοί σύμμαχοι στην θεραπεία κακοηθειών. Οι αναστολείς PD-1/PD-L1 και CTLA-4 είναι οι πιο υποσχόμενοι ICIs και κάποιοι από αυτούς έχουν εγκριθεί για τη θεραπεία μερικών κακοηθειών, παρόλο που μπορεί να παρουσιαστεί έλλειψη δεικτών επιφανείας για το αντιγόνο, διαταραγμένη απόκριση των T-κυττάρων και αλλαγές στο καρκινικό μικροπεριβάλλον. Ως ένα βαθμό, αυτές οι αλλαγές μπορούν να ξεπεραστούν από τον επιγενετικό προγραμματισμό. Στον καρκίνο του μαστού, τα γονίδια που είναι υπεύθυνα για τον MHC-I είναι μεθυλιωμένα και διατηρούν ένα προφίλ αποσιώπησης της έκφρασης τους. Η θεραπεία με guadecitabine, έναν DNMTI, μπορεί να ενισχύσει την έκφραση του MHC-I και να αυξήσει την διήθηση των CD8+ T κυττάρων στο καρκινικό μικροπεριβάλλον (Luo et al., 2018). Αυτές οι αντιδράσεις μπορούν να ενισχύσουν την επακόλουθη απάντηση στα PD-1 αντισώματα. Ένα άλλο παράδειγμα είναι το

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

αποτέλεσμα της δεσιταβίνης στην ευαισθητοποίηση CD8+ Τ-κυττάρων στα PD-L1 αντισώματα μέσω διαταραχής της διαμεσολαβούμενης από την DNMT3 μεθυλίωση σε εξαντλημένα Τ-κύτταρα (Ghoneim et al., 2017). Αρκετά άλλα επιγενετικά φάρμακα σε συνδυασμό με anti-PD1 θεραπεία, έχουν αποκαλύψει πως μπορούν να αυξήσουν την αντικαρκινική ανοσοαπόκριση μέσω βελτίωσης της δράσης των Τ-κυττάρων σε ποικίλους καρκίνους, όπως είναι ο καρκίνος των πνευμόνων, ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού, το λέμφωμα, κα (Ghoneim et al., 2017, Zhu et al., 2016). Τέλος, ένας επιγενετικός συνδυασμός είναι η χρήση του αναστολέα 4SC-202, ένα μικρό μοριακό φάρμακο με διπλό ρόλο, όπου αναστέλλει τις HDAC1 έως 3 και την LSD1 με παρόμοιο δυναμικό της τάξης των mM, ενώ έχει διερευνάτε η κλινική σημασία του (Cheng et al., 2019).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΘΕΩΡΗΣΕΙΣ

Η διαδεδομένη άποψη ότι ο καρκίνος είναι μια ασθένεια που χαρακτηρίζεται από γενετικές ανωμαλίες έχει παρακαμφθεί, και παρόλο που αλλαγές στο DNA παραμένουν ένα εμφανές βήμα που οδηγεί στην καρκινογένεση, η συμμετοχή επιγενετικών παραγόντων στη διαδικασία αυτή, δε μπορεί να παραλειφθεί. Οι ευρείες αλλαγές στο επιγένωμα συμπεριλαμβανομένου των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στην τροποποίηση των ιστονών και στην αναδιαμόρφωση της χρωματίνης είναι βασικές επιγενετικές αλλαγές που σχετίζονται με τον καρκίνο. Η ταυτοποίηση αυτών των επιγενετικών τροποποιήσεων μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην ιατρική ακριβείας όσο αναφορά την διάγνωση, την πρόγνωση, ακόμα και την αξιολόγηση της απόκρισης στην θεραπεία.

Μέσω τεχνολογίας αλληλούχισης επόμενης γενιάς οι ερευνητές είναι σε θέση να αναγνωρίσουν πως στους ανθρώπινους καρκίνους, τα γονίδια που ρυθμίζουν το επιγένωμα είναι υψηλά μεταλλαγμένα, υποδεικνύοντας πως έχουν επίπτωση σε ποικίλα μονοπάτια που σχετίζονται με τον καρκινικό φαινότυπο. Το πλήθος των γενετικών μεταλλάξεων που συμβαίνουν στα επιγενετικά ρυθμιστικά σύμπλοκα και στις πρωτεΐνες δίνουν ένα σύνολο στόχων στον τομέα της ανακάλυψης επιγενετικών φαρμάκων. Οι περισσότεροι επιγενετικοί στόχοι είναι ένζυμα και η ανάπτυξη ικανών αναστολέων που διαγράφουν αυτά τα επιγενετικά σημάδια δίνει υποσχόμενα αποτελέσματα, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και άλλοι στόχοι όπως είναι τα μόρια που αναγνωρίζουν τις επιγενετικές τροποποιήσεις “readers” και οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης.

Ένα σημαντικό θέμα σχετικά με την ανάπτυξη επιγενετικών στόχων είναι η εκλεκτικότητα. Οι εγκεκριμένοι HDAC αναστολείς είναι μη εδικοί έναντι των HDAC ενζύμων με αποτέλεσμα να παρουσιάζονται αρκετά ανεπιθύμητα αποτελέσματα (Biswas and Rao, 2017). Αρκετές επιγενετικές ενώσεις βρίσκονται υπό εργαστηριακή ανάπτυξη, καθώς η μετάβαση από την αποτελεσματικότητα *in vitro* και σε νανομοριακές συγκεντρώσεις σε καλά ανεχόμενη και αποτελεσματική κλινική χρήση είναι δύσκολη. Το μη στοχευμένο αποτέλεσμα των επιγενετικών φαρμάκων είναι

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

επίσης ένα προβληματικό σημείο. Πρόσφατα, κάποια κοινά χρησιμοποιούμενα επιγενετικά φάρμακα όπως είναι το VPA, έδειξαν συσσώρευση ανεπιθύμητων επιγενετικών τροποποιήσεων (Finsterer and Zarrouk Mahjoub, 2012, Chen et al., 2012). Επίσης, έχουν αναφερθεί και μερικές περιπτώσεις ανθεκτικότητας στους BETIs στην AML και στον τριπλά αρνητικό καρκίνο του μαστού (Rathert et al., 2015, Alqahtani et al., 2019). Φαίνεται επίσης από τις κλινικές μελέτες ότι οι αιματολογικές κακοήθειες είναι πιο επιρρεπής στην επιγενετική θεραπεία. Ο συνδυασμός της χρήσης επιγενετικών θεραπειών με χημειοθεραπεία μπορεί να είναι μια στρατηγική για την αντιμετώπιση συμπαγών όγκων (Biswas and Rao, 2017).

Εν κατακλείδι, η επιγενετική αντιπροσωπεύει μια σειρά από δυναμικές αλλαγές που είναι ανεξάρτητες από τις γενετικές αλλαγές. Συμμετέχουν στην έναρξη και στην ανάπτυξη των κακοηθειών μέσω ρύθμισης της ενεργοποίησης και της απενεργοποίησης ογκογονιδίων και ογκοκατασταλτικών γονιδίων, καθώς επίσης και αλλάζοντας το καρκινικό μικροπεριβάλλον. Οι επιγενετικές αλλαγές έχουν κληρονομικές ιδιότητες και αντιστρεπτή ρύθμιση, γεγονότα που στηρίζουν την υποσχόμενη στόχευση τους ως αντικαρκινική θεραπεία. Τα επιγενετικά φάρμακα χρησιμοποιούνται σε ποικίλους τύπους καρκίνου είτε ως μονή θεραπεία είτε ως συνδυασμός με άλλου αντικαρκινικούς παράγοντες. Μιας όμως και οι ανθρώπινοι καρκίνοι παρουσιάζουν στοιχεία ετερογένειας και πλαστικότητας, είναι απαραίτητη η ανάγκη για μια ακριβής και αποτελεσματική προσωποποιημένη θεραπεία με επιγενετικά φάρμακα. Έχουν αναπτυχθεί τεχνολογίες όπως είναι η επιγενετική και γενετική χαρτογράφηση που μπορούν να βοηθήσουν στον προσδιορισμό της ευαισθησίας και της διαλογής των φαρμάκων. Με αυτό τον τρόπο, οι θεραπείες θα μπορούσαν να βελτιστοποιηθούν για κάθε ασθενή και να παρουσιάζουν καλύτερη αποτελεσματικότητα και λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Akiyama, Y., Watkins, N., Suzuki, H., Jair, K. W., van Engeland, M., Esteller, M., Sakai, H., Ren, C. Y., Yuasa, Y., Herman, J. G. and Baylin, S. B. (2003) 'GATA-4 and GATA-5 transcription factor genes and potential downstream antitumor target genes are epigenetically silenced in colorectal and gastric cancer', *Mol Cell Biol,* 23(23), pp. 8429-39. doi: 10.1128/mcb.23.23.8429-8439.2003

Alabert, C., Barth, T. K., Reverón-Gómez, N., Sidoli, S., Schmidt, A., Jensen, O. N., Imhof, A. and Groth, A. (2015) 'Two distinct modes for propagation of histone PTMs across the cell cycle', *Genes Dev,* 29(6), pp. 585-90. doi: 10.1101/gad.256354.114

Alarcón, C. R., Lee, H., Goodarzi, H., Halberg, N. and Tavazoie, S. F. (2015) 'N6-methyladenosine marks primary microRNAs for processing', *Nature,* 519(7544), pp. 482-485. doi: 10.1038/nature14281

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. (2003) 'Molecular biology of the cell', *SCANDINAVIAN JOURNAL OF RHEUMATOLOGY,* 32(2), pp. 125-125. doi: 10.1093/aob/mcg023

Alcazar, O., Achberger, S., Aldrich, W., Hu, Z., Negrotto, S., Saunthararajah, Y. and Triozzi, P. (2012) 'Epigenetic regulation by decitabine of melanoma differentiation in vitro and in vivo', *Int J Cancer,* 131(1), pp. 18-29. doi: 10.1002/ijc.26320

Alqahtani, A., Choucair, K., Ashraf, M., Hammouda, D. M., Alloghbi, A., Khan, T., Senzer, N. and Nemunaitis, J. (2019) 'Bromodomain and extra-terminal motif inhibitors: a review of preclinical and clinical advances in cancer therapy', *Future Sci OA,* 5(3), pp. Fso372. doi: 10.4155/fsoa-2018-0115

Aravin, A. A., Sachidanandam, R., Bourc'his, D., Schaefer, C., Pezic, D., Toth, K. F., Bestor, T. and Hannon, G. J. (2008) 'A piRNA pathway primed by individual transposons is linked to de novo DNA methylation in mice', *Mol Cell,* 31(6), pp. 785-99. doi: 10.1016/j.molcel.2008.09.003

Arun, G., Diermeier, S. D. and Spector, D. L. (2018) 'Therapeutic Targeting of Long Non-Coding RNAs in Cancer', *Trends Mol Med,* 24(3), pp. 257-277. doi: 10.1016/j.molmed.2018.01.001

Balasubramanian, S., Ramos, J., Luo, W., Sirisawad, M., Verner, E. and Buggy, J. (2008) 'A novel histone deacetylase 8 (HDAC8)-specific inhibitor PCI-34051 induces apoptosis in T-cell lymphomas', *Leukemia,* 22(5), pp. 1026-1034. doi: 10.1038/leu.2008.9

Balasubramanyam, K., Altaf, M., Varier, R. A., Swaminathan, V., Ravindran, A., Sadhale, P. P. and Kundu, T. K. (2004a) 'Polyisoprenylated benzophenone, garcinol, a natural histone acetyltransferase inhibitor, represses chromatin transcription and alters global gene expression', *Journal of Biological Chemistry,* 279(32), pp. 33716-33726. doi: 10.1074/jbc.M402839200

Balasubramanyam, K., Swaminathan, V., Ranganathan, A. and Kundu, T. K. (2003) 'Small molecule modulators of histone acetyltransferase p300', *Journal of Biological Chemistry,* 278(21), pp. 19134-19140. doi: 10.1074/jbc.M301580200

Balasubramanyam, K., Varier, R. A., Altaf, M., Swaminathan, V., Siddappa, N. B., Ranga, U. and Kundu, T. K. (2004b) 'Curcumin, a novel p300/CREB-binding protein-specific inhibitor of acetyltransferase, represses the acetylation of histone/nonhistone proteins and histone acetyltransferase-dependent chromatin transcription', *Journal of Biological Chemistry,* 279(49), pp. 51163-51171. doi: 10.1074/jbc.M409024200

Bartel, D. P. (2009) 'MicroRNAs: target recognition and regulatory functions', *Cell,* 136(2), pp. 215-33. doi: 10.1016/j.cell.2009.01.002

Basavapathruni, A., Olhava, E. J., Daigle, S. R., Therkelsen, C. A., Jin, L., Boriack-Sjodin, P. A., Allain, C. J., Klaus, C. R., Raimondi, A., Scott, M. P., Dovletoglou, A., Richon, V. M., Pollock, R. M., Copeland, R. A., Moyer, M. P., Chesworth, R., Pearson, P. G. and

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Waters, N. J. (2014) 'Nonclinical pharmacokinetics and metabolism of EPZ-5676, a novel DOT1L histone methyltransferase inhibitor', *Biopharm Drug Dispos,* 35(4), pp. 237-52. doi: 10.1002/bdd.1889

Batista, P. J. and Chang, H. Y. (2013) 'Long noncoding RNAs: cellular address codes in development and disease', *Cell,* 152(6), pp. 1298-307. doi: 10.1016/j.cell.2013.02.012

Baylin, S. B. (2005) 'DNA methylation and gene silencing in cancer', *Nat Clin Pract Oncol,* 2 Suppl 1, pp. S4-11. doi: 10.1038/ncponc0354

Baylin, S. B. and Jones, P. A. (2016) 'Epigenetic Determinants of Cancer', *Cold Spring Harb Perspect Biol,* 8(9). doi: 10.1101/cshperspect.a019505

Bayne, E. H. and Allshire, R. C. (2005) 'RNA-directed transcriptional gene silencing in mammals', *Trends Genet,* 21(7), pp. 370-3. doi: 10.1016/j.tig.2005.05.007

Bejar, R., Lord, A., Stevenson, K., Bar-Natan, M., Pérez-Ladaga, A., Zaneveld, J., Wang, H., Caughey, B., Stojanov, P., Getz, G., Garcia-Manero, G., Kantarjian, H., Chen, R., Stone, R. M., Neuberg, D., Steensma, D. P. and Ebert, B. L. (2014) 'TET2 mutations predict response to hypomethylating agents in myelodysplastic syndrome patients', *Blood,* 124(17), pp. 2705-12. doi: 10.1182/blood-2014-06-582809

Benetti, R., Gonzalo, S., Jaco, I., Muñoz, P., Gonzalez, S., Schoeftner, S., Murchison, E., Andl, T., Chen, T., Klatt, P., Li, E., Serrano, M., Millar, S., Hannon, G. and Blasco, M. A. (2008) 'A mammalian microRNA cluster controls DNA methylation and telomere recombination via Rbl2-dependent regulation of DNA methyltransferases', *Nat Struct Mol Biol,* 15(9), pp. 998. doi: 10.1038/nsmb0908-998b

Berger, S. L., Kouzarides, T., Shiekhattar, R. and Shilatifard, A. (2009) 'An operational definition of epigenetics', *Genes & development,* 23(7), pp. 781-783. doi: 10.1101/gad.1787609

Bernhart, S. H., Kretzmer, H., Holdt, L. M., Juhling, F., Ammerpohl, O., Bergmann, A. K., Northoff, B. H., Doose, G., Siebert, R., Stadler, P. F. and Hoffmann, S. (2016) 'Changes of bivalent chromatin coincide with increased expression of developmental genes in cancer', *Scientific reports*, 6, pp. 37393. PubMed. DOI: 10.1038/srep37393.

Bernstein, B. E., Meissner, A. and Lander, E. S. (2007) 'The mammalian epigenome', *Cell,* 128(4), pp. 669-81. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.033

Biel, M., Kretsovali, A., Karatzali, E., Papamatheakis, J. and Giannis, A. (2004) 'Design, synthesis, and biological evaluation of a small‐molecule inhibitor of the histone acetyltransferase Gcn5', *Angewandte Chemie International Edition,* 43(30), pp. 3974-3976. doi: 10.1002/anie.200453879

Bird, A. (2002) 'DNA methylation patterns and epigenetic memory', *Genes Dev,* 16(1), pp. 6-21. doi: 10.1101/gad.947102

Biswas, S. and Rao, C. M. (2017) 'Epigenetics in cancer: Fundamentals and Beyond', *Pharmacol Ther,* 173, pp. 118-134. doi: 10.1016/j.pharmthera.2017.02.011

Biswas, S. and Rao, C. M. (2018) 'Epigenetic tools (The Writers, The Readers and The Erasers) and their implications in cancer therapy', *European Journal of Pharmacology,* 837, pp. 8-24. doi: https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.08.021

Bitzer, M., Horger, M., Giannini, E. G., Ganten, T. M., Wörns, M. A., Siveke, J. T., Dollinger, M. M., Gerken, G., Scheulen, M. E., Wege, H., Zagonel, V., Cillo, U., Trevisani, F., Santoro, A., Montesarchio, V., Malek, N. P., Holzapfel, J., Herz, T., Ammendola, A. S., Pegoraro, S., Hauns, B., Mais, A., Lauer, U. M., Henning, S. W. and Hentsch, B. (2016) 'Resminostat plus sorafenib as second-line therapy of advanced hepatocellular carcinoma - The SHELTER study', *J Hepatol,* 65(2), pp. 280-8. doi: 10.1016/j.jhep.2016.02.043

Brand, M., Measures, A. M., Wilson, B. G., Cortopassi, W. A., Alexander, R., Höss, M., Hewings, D. S., Rooney, T. P., Paton, R. S. and Conway, S. J. (2015) 'Small molecule

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

inhibitors of bromodomain–acetyl-lysine interactions', *ACS chemical biology,* 10(1), pp. 22-39. doi: 10.1021/cb500996u

Bressi, J. C., de Jong, R., Wu, Y., Jennings, A. J., Brown, J. W., O'Connell, S., Tari, L. W., Skene, R. J., Vu, P. and Navre, M. (2010) 'Benzimidazole and imidazole inhibitors of histone deacetylases: Synthesis and biological activity', *Bioorganic & medicinal chemistry letters,* 20(10), pp. 3138-3141. doi: 10.1016/j.bmcl.2010.03.092

Budhavarapu, V. N., Chavez, M. and Tyler, J. K. (2013) 'How is epigenetic information maintained through DNA replication?', *Epigenetics & Chromatin,* 6(1), pp. 32. doi: 10.1186/1756-8935-6-32

Calin, G. A., Dumitru, C. D., Shimizu, M., Bichi, R., Zupo, S., Noch, E., Aldler, H., Rattan, S., Keating, M., Rai, K., Rassenti, L., Kipps, T., Negrini, M., Bullrich, F. and Croce, C. M. (2002) 'Frequent deletions and down-regulation of micro- RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 99(24), pp. 15524-15529. doi: 10.1073/pnas.242606799

Cao, B., Yang, W., Jin, Y., Zhang, M., He, T., Zhan, Q., Herman, J. G., Zhong, G. and Guo, M. (2016) 'Silencing NKD2 by Promoter Region Hypermethylation Promotes Esophageal Cancer Progression by Activating Wnt Signaling', *J Thorac Oncol,* 11(11), pp. 1912-1926. doi: 10.1016/j.jtho.2016.06.015

Carmona, F. J., Azuara, D., Berenguer-Llergo, A., Fernández, A. F., Biondo, S., de Oca, J., Rodriguez-Moranta, F., Salazar, R., Villanueva, A., Fraga, M. F., Guardiola, J., Capellá, G., Esteller, M. and Moreno, V. (2013) 'DNA methylation biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer', *Cancer Prev Res (Phila),* 6(7), pp. 656-65. doi: 10.1158/1940-6207.capr-12-0501

Chen, H., Dzitoyeva, S. and Manev, H. (2012) 'Effect of valproic acid on mitochondrial epigenetics', *European journal of pharmacology,* 690(1-3), pp. 51-59. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.06.019

Cheng, J. C., Weisenberger, D. J., Gonzales, F. A., Liang, G., Xu, G.-L., Hu, Y.-G., Marquez, V. E. and Jones, P. A. (2004a) 'Continuous zebularine treatment effectively sustains demethylation in human bladder cancer cells', *Molecular and cellular biology,* 24(3), pp. 1270-1278. doi: 10.1128/MCB.24.3.1270-1278.2004

Cheng, J. C., Yoo, C. B., Weisenberger, D. J., Chuang, J., Wozniak, C., Liang, G., Marquez, V. E., Greer, S., Orntoft, T. F. and Thykjaer, T. (2004b) 'Preferential response of cancer cells to zebularine', *Cancer cell,* 6(2), pp. 151-158. doi: 10.1016/j.ccr.2004.06.023

Cheng, Y., He, C., Wang, M., Ma, X., Mo, F., Yang, S., Han, J. and Wei, X. (2019) 'Targeting epigenetic regulators for cancer therapy: mechanisms and advances in clinical trials', *Signal Transduct Target Ther,* 4, pp. 62. doi: 10.1038/s41392-019-0095-0

Cloos, P. A., Christensen, J., Agger, K. and Helin, K. (2008) 'Erasing the methyl mark: histone demethylases at the center of cellular differentiation and disease', *Genes Dev,* 22(9), pp. 1115-40. doi: 10.1101/gad.1652908

Cohen, I., Poręba, E., Kamieniarz, K. and Schneider, R. (2011) 'Histone modifiers in cancer: friends or foes?', *Genes Cancer,* 2(6), pp. 631-47. doi: 10.1177/1947601911417176

Cui, H., Cruz-Correa, M., Giardiello, F. M., Hutcheon, D. F., Kafonek, D. R., Brandenburg, S., Wu, Y., He, X., Powe, N. R. and Feinberg, A. P. (2003) 'Loss of IGF2 imprinting: a potential marker of colorectal cancer risk', *Science,* 299(5613), pp. 1753-5. doi: 10.1126/science.1080902

Cuthbert, G. L., Daujat, S., Snowden, A. W., Erdjument-Bromage, H., Hagiwara, T., Yamada, M., Schneider, R., Gregory, P. D., Tempst, P. and Bannister, A. J. (2004) 'Histone deimination antagonizes arginine methylation', *Cell,* 118(5), pp. 545-553. doi: 10.1016/j.cell.2004.08.020

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Daigle, S. R., Olhava, E. J., Therkelsen, C. A., Basavapathruni, A., Jin, L., Boriack-Sjodin, P. A., Allain, C. J., Klaus, C. R., Raimondi, A., Scott, M. P., Waters, N. J., Chesworth, R., Moyer, M. P., Copeland, R. A., Richon, V. M. and Pollock, R. M. (2013) 'Potent inhibition of DOT1L as treatment of MLL-fusion leukemia', *Blood,* 122(6), pp. 1017-25. doi: 10.1182/blood-2013-04-497644

Daigle, S. R., Olhava, E. J., Therkelsen, C. A., Majer, C. R., Sneeringer, C. J., Song, J., Johnston, L. D., Scott, M. P., Smith, J. J., Xiao, Y., Jin, L., Kuntz, K. W., Chesworth, R., Moyer, M. P., Bernt, K. M., Tseng, J.-C., Kung, A. L., Armstrong, S. A., Copeland, R. A., Richon, V. M. and Pollock, R. M. (2011) 'Selective killing of mixed lineage leukemia cells by a potent small-molecule DOT1L inhibitor', *Cancer cell,* 20(1), pp. 53-65. doi: 10.1016/j.ccr.2011.06.009

Dalgliesh, G. L., Furge, K., Greenman, C., Chen, L., Bignell, G., Butler, A., Davies, H., Edkins, S., Hardy, C., Latimer, C., Teague, J., Andrews, J., Barthorpe, S., Beare, D., Buck, G., Campbell, P. J., Forbes, S., Jia, M., Jones, D., Knott, H., Kok, C. Y., Lau, K. W., Leroy, C., Lin, M. L., McBride, D. J., Maddison, M., Maguire, S., McLay, K., Menzies, A., Mironenko, T., Mulderrig, L., Mudie, L., O'Meara, S., Pleasance, E., Rajasingham, A., Shepherd, R., Smith, R., Stebbings, L., Stephens, P., Tang, G., Tarpey, P. S., Turrell, K., Dykema, K. J., Khoo, S. K., Petillo, D., Wondergem, B., Anema, J., Kahnoski, R. J., Teh, B. T., Stratton, M. R. and Futreal, P. A. (2010) 'Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes', *Nature,* 463(7279), pp. 360-3. doi: 10.1038/nature08672

Dang, L., Jin, S. and Su, S. M. (2010) 'IDH mutations in glioma and acute myeloid leukemia', *Trends Mol Med,* 16(9), pp. 387-97. doi: 10.1016/j.molmed.2010.07.002

Davalos, V., Moutinho, C., Villanueva, A., Boque, R., Silva, P., Carneiro, F. and Esteller, M. (2012) 'Dynamic epigenetic regulation of the microRNA-200 family mediates epithelial and mesenchymal transitions in human tumorigenesis', *Oncogene,* 31(16), pp. 2062-74. doi: 10.1038/onc.2011.383

Dawson, M. A. (2017) 'The cancer epigenome: Concepts, challenges, and therapeutic opportunities', *Science,* 355(6330), pp. 1147-1152. doi: 10.1126/science.aam7304

Delcuve, G. P., Rastegar, M. and Davie, J. R. (2009) 'Epigenetic control', *Journal of cellular physiology,* 219(2), pp. 243-250. doi: 10.1002/jcp.21678

Denis, H., Deplus, R., Putmans, P., Yamada, M., Métivier, R. and Fuks, F. (2009) 'Functional connection between deimination and deacetylation of histones', *Molecular and cellular biology,* 29(18), pp. 4982-4993. doi: 10.1128/MCB.00285-09

Di Croce, L., Raker, V. A., Corsaro, M., Fazi, F., Fanelli, M., Faretta, M., Fuks, F., Lo Coco, F., Kouzarides, T., Nervi, C., Minucci, S. and Pelicci, P. G. (2002) 'Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor', *Science,* 295(5557), pp. 1079-82. doi: 10.1126/science.1065173

Eberharter, A. and Becker, P. B. (2002) 'Histone acetylation: a switch between repressive and permissive chromatin. Second in review series on chromatin dynamics', *EMBO reports,* 3(3), pp. 224-229. doi: 10.1093/embo-reports/kvf053

Esteller, M. (2011) 'Non-coding RNAs in human disease', *Nature Reviews Genetics,* 12(12), pp. 861-874. doi: 10.1038/nrg3074

Fabbri, M., Garzon, R., Cimmino, A., Liu, Z., Zanesi, N., Callegari, E., Liu, S., Alder, H., Costinean, S., Fernandez-Cymering, C., Volinia, S., Guler, G., Morrison, C. D., Chan, K. K., Marcucci, G., Calin, G. A., Huebner, K. and Croce, C. M. (2007) 'MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B', *Proc Natl Acad Sci U S A,* 104(40), pp. 15805-10. doi: 10.1073/pnas.0707628104

Fandy, T. E., Shankar, S., Ross, D. D., Sausville, E. and Srivastava, R. K. (2005) 'Interactive effects of HDAC inhibitors and TRAIL on apoptosis are associated with changes in

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

mitochondrial functions and expressions of cell cycle regulatory genes in multiple myeloma', *Neoplasia,* 7(7), pp. 646-657. doi: 10.1593/neo.04655

Fang, J. Y. (2005) 'Histone deacetylase inhibitors, anticancerous mechanism and therapy for gastrointestinal cancers', *Journal of gastroenterology and hepatology,* 20(7), pp. 988-994. doi: 10.1111/j.1440-1746.2005.03807.x

Feil, R. and Fraga, M. F. (2012) 'Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications', *Nat Rev Genet,* 13(2), pp. 97-109. doi: 10.1038/nrg3142

Feinberg, A. P., Koldobskiy, M. A. and Göndör, A. (2016) 'Epigenetic modulators, modifiers and mediators in cancer aetiology and progression', *Nat Rev Genet,* 17(5), pp. 284-99. doi: 10.1038/nrg.2016.13

Feinberg, A. P., Ohlsson, R. and Henikoff, S. (2006) 'The epigenetic progenitor origin of human cancer', *Nat Rev Genet,* 7(1), pp. 21-33. doi: 10.1038/nrg1748

Feinberg, A. P. and Vogelstein, B. (1983) 'Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts', *Nature,* 301(5895), pp. 89-92. doi: 10.1038/301089a0

Fernandez, A. F., Assenov, Y., Martin-Subero, J. I., Balint, B., Siebert, R., Taniguchi, H., Yamamoto, H., Hidalgo, M., Tan, A. C., Galm, O., Ferrer, I., Sanchez-Cespedes, M., Villanueva, A., Carmona, J., Sanchez-Mut, J. V., Berdasco, M., Moreno, V., Capella, G., Monk, D., Ballestar, E., Ropero, S., Martinez, R., Sanchez-Carbayo, M., Prosper, F., Agirre, X., Fraga, M. F., Graña, O., Perez-Jurado, L., Mora, J., Puig, S., Prat, J., Badimon, L., Puca, A. A., Meltzer, S. J., Lengauer, T., Bridgewater, J., Bock, C. and Esteller, M. (2012) 'A DNA methylation fingerprint of 1628 human samples', *Genome Res,* 22(2), pp. 407-19. doi: 10.1101/gr.119867.110

Ferreira, H. J. and Esteller, M. (2018) 'Non-coding RNAs, epigenetics, and cancer: tying it all together', *Cancer Metastasis Rev,* 37(1), pp. 55-73. doi: 10.1007/s10555-017-9715-8

Figueroa, M. E., Abdel-Wahab, O., Lu, C., Ward, P. S., Patel, J., Shih, A., Li, Y., Bhagwat, N., Vasanthakumar, A., Fernandez, H. F., Tallman, M. S., Sun, Z., Wolniak, K., Peeters, J. K., Liu, W., Choe, S. E., Fantin, V. R., Paietta, E., Löwenberg, B., Licht, J. D., Godley, L. A., Delwel, R., Valk, P. J. M., Thompson, C. B., Levine, R. L. and Melnick, A. (2010) 'Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation', *Cancer cell,* 18(6), pp. 553-567. doi: 10.1016/j.ccr.2010.11.015

Filippakopoulos, P., Qi, J., Picaud, S., Shen, Y., Smith, W. B., Fedorov, O., Morse, E. M., Keates, T., Hickman, T. T. and Felletar, I. (2010) 'Selective inhibition of BET bromodomains', *Nature,* 468(7327), pp. 1067-1073. doi: 10.1038/nature09504

Finnin, M. S., Donigian, J. R., Cohen, A., Richon, V. M., Rifkind, R. A., Marks, P. A., Breslow, R. and Pavletich, N. P. (1999) 'Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors', *Nature,* 401(6749), pp. 188-193. doi: 10.1038/43710

Finsterer, J. and Zarrouk Mahjoub, S. (2012) 'Mitochondrial toxicity of antiepileptic drugs and their tolerability in mitochondrial disorders', *Expert Opin Drug Metab Toxicol,* 8(1), pp. 71-9. doi: 10.1517/17425255.2012.644535

Fiskus, W., Sharma, S., Shah, B., Portier, B. P., Devaraj, S. G., Liu, K., Iyer, S. P., Bearss, D. and Bhalla, K. N. (2014) 'Highly effective combination of LSD1 (KDM1A) antagonist and pan-histone deacetylase inhibitor against human AML cells', *Leukemia,* 28(11), pp. 2155-64. doi: 10.1038/leu.2014.119

Fraga, M. F., Ballestar, E., Villar-Garea, A., Boix-Chornet, M., Espada, J., Schotta, G., Bonaldi, T., Haydon, C., Ropero, S., Petrie, K., Iyer, N. G., Pérez-Rosado, A., Calvo, E., Lopez, J. A., Cano, A., Calasanz, M. J., Colomer, D., Piris, M. A., Ahn, N., Imhof, A., Caldas, C., Jenuwein, T. and Esteller, M. (2005) 'Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer', *Nat Genet,* 37(4), pp. 391-400. doi: 10.1038/ng1531

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Frigola, J., Song, J., Stirzaker, C., Hinshelwood, R. A., Peinado, M. A. and Clark, S. J. (2006) 'Epigenetic remodeling in colorectal cancer results in coordinate gene suppression across an entire chromosome band', *Nat Genet,* 38(5), pp. 540-9. doi: 10.1038/ng1781

Furumai, R., Matsuyama, A., Kobashi, N., Lee, K.-H., Nishiyama, M., Nakajima, H., Tanaka, A., Komatsu, Y., Nishino, N. and Yoshida, M. (2002) 'FK228 (depsipeptide) as a natural prodrug that inhibits class I histone deacetylases', *Cancer research,* 62(17), pp. 4916-4921. doi:

Garzon, R., Calin, G. A. and Croce, C. M. (2009a) 'MicroRNAs in Cancer', *Annual Review of Medicine,* 60(1), pp. 167-179. doi: 10.1146/annurev.med.59.053006.104707

Garzon, R., Heaphy, C. E. A., Havelange, V., Fabbri, M., Volinia, S., Tsao, T., Zanesi, N., Kornblau, S. M., Marcucci, G., Calin, G. A., Andreeff, M. and Croce, C. M. (2009b) 'MicroRNA 29b functions in acute myeloid leukemia', *Blood,* 114(26), pp. 5331-5341. doi: 10.1182/blood-2009-03-211938

Ghoneim, H. E., Fan, Y., Moustaki, A., Abdelsamed, H. A., Dash, P., Dogra, P., Carter, R., Awad, W., Neale, G., Thomas, P. G. and Youngblood, B. (2017) 'De Novo Epigenetic Programs Inhibit PD-1 Blockade-Mediated T Cell Rejuvenation', *Cell,* 170(1), pp. 142-157.e19. doi: 10.1016/j.cell.2017.06.007

Gibney, E. R. and Nolan, C. M. (2010) 'Epigenetics and gene expression', *Heredity,* 105(1), pp. 4-13. doi: 10.1038/hdy.2010.54

Glazer, R. I., Hartman, K. D., Knode, M. C., Richard, M. M., Chiang, P. K., Tseng, C. K. and Marquez, V. E. (1986) '3-Deazaneplanocin: a new and potent inhibitor of S-adenosylhomocysteine hydrolase and its effects on human promyelocytic leukemia cell line HL-60', *Biochem Biophys Res Commun,* 135(2), pp. 688-94. doi: 10.1016/0006-291x(86)90048-3

Goldberg, A. D., Allis, C. D. and Bernstein, E. (2007) 'Epigenetics: A Landscape Takes Shape', *Cell,* 128(4), pp. 635-638. doi: https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.02.006

Goll, M. G., Kirpekar, F., Maggert, K. A., Yoder, J. A., Hsieh, C.-L., Zhang, X., Golic, K. G., Jacobsen, S. E. and Bestor, T. H. (2006) 'Methylation of tRNAAsp by the DNA methyltransferase homolog Dnmt2', *Science,* 311(5759), pp. 395-398. doi: 10.1126/science.1120976

Gonzalez, S., Pisano, D. G. and Serrano, M. (2008) 'Mechanistic principles of chromatin remodeling guided by siRNAs and miRNAs', *Cell Cycle,* 7(16), pp. 2601-8. doi: 10.4161/cc.7.16.6541

Greer, E. L. and Shi, Y. (2012) 'Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance', *Nature reviews. Genetics,* 13(5), pp. 343-357. doi: 10.1038/nrg3173

Greger, V., Passarge, E., Höpping, W., Messmer, E. and Horsthemke, B. (1989) 'Epigenetic changes may contribute to the formation and spontaneous regression of retinoblastoma', *Hum Genet,* 83(2), pp. 155-8. doi: 10.1007/bf00286709

Gregory, P. A., Bert, A. G., Paterson, E. L., Barry, S. C., Tsykin, A., Farshid, G., Vadas, M. A., Khew-Goodall, Y. and Goodall, G. J. (2008) 'The miR-200 family and miR-205 regulate epithelial to mesenchymal transition by targeting ZEB1 and SIP1', *Nat Cell Biol,* 10(5), pp. 593-601. doi: 10.1038/ncb1722

Grivna, S. T., Beyret, E., Wang, Z. and Lin, H. (2006) 'A novel class of small RNAs in mouse spermatogenic cells', *Genes Dev,* 20(13), pp. 1709-14. doi: 10.1101/gad.1434406

Guil, S. and Esteller, M. (2015) 'RNA-RNA interactions in gene regulation: the coding and noncoding players', *Trends Biochem Sci,* 40(5), pp. 248-56. doi: 10.1016/j.tibs.2015.03.001

Guo, M., Akiyama, Y., House, M. G., Hooker, C. M., Heath, E., Gabrielson, E., Yang, S. C., Han, Y., Baylin, S. B., Herman, J. G. and Brock, M. V. (2004) 'Hypermethylation of the

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

GATA genes in lung cancer', *Clin Cancer Res,* 10(23), pp. 7917-24. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-04-1140

Guo, M., Peng, Y., Gao, A., Du, C. and Herman, J. G. (2019) 'Epigenetic heterogeneity in cancer', *Biomarker Research,* 7(1), pp. 23. doi: 10.1186/s40364-019-0174-y

Guo, M., Ren, J., Brock, M. V., Herman, J. G. and Carraway, H. E. (2008) 'Promoter methylation of HIN-1 in the progression to esophageal squamous cancer', *Epigenetics,* 3(6), pp. 336-41. doi: 10.4161/epi.3.6.7158

Guo, M., Ren, J., House, M. G., Qi, Y., Brock, M. V. and Herman, J. G. (2006) 'Accumulation of promoter methylation suggests epigenetic progression in squamous cell carcinoma of the esophagus', *Clin Cancer Res,* 12(15), pp. 4515-22. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-05-2858

Gutschner, T., Hämmerle, M., Eissmann, M., Hsu, J., Kim, Y., Hung, G., Revenko, A., Arun, G., Stentrup, M., Gross, M., Zörnig, M., MacLeod, A. R., Spector, D. L. and Diederichs, S. (2013) 'The noncoding RNA MALAT1 is a critical regulator of the metastasis phenotype of lung cancer cells', *Cancer Res,* 73(3), pp. 1180-9. doi: 10.1158/0008-5472.can-12-2850

Haggarty, S. J., Koeller, K. M., Wong, J. C., Grozinger, C. M. and Schreiber, S. L. (2003) 'Domain-selective small-molecule inhibitor of histone deacetylase 6 (HDAC6)-mediated tubulin deacetylation', *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 100(8), pp. 4389-4394. doi: 10.1073/pnas.0430973100

Halkidou, K., Gaughan, L., Cook, S., Leung, H. Y., Neal, D. E. and Robson, C. N. (2004) 'Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer', *Prostate,* 59(2), pp. 177-89. doi: 10.1002/pros.20022

Hall, I. M., Shankaranarayana, G. D., Noma, K., Ayoub, N., Cohen, A. and Grewal, S. I. (2002) 'Establishment and maintenance of a heterochromatin domain', *Science,* 297(5590), pp. 2232-7. doi: 10.1126/science.1076466

Han, C., Fu, Y., Zeng, N., Yin, J. and Li, Q. (2020) 'LncRNA FAM83H-AS1 promotes triple-negative breast cancer progression by regulating the miR-136-5p/metadherin axis', *Aging,* 12(4), pp. 3594-3616. doi: 10.18632/aging.102832

Hanna, J., Hossain, G. S. and Kocerha, J. (2019) 'The Potential for microRNA Therapeutics and Clinical Research', *Frontiers in Genetics,* 10(478). doi: 10.3389/fgene.2019.00478

Hao, X., Luo, H., Krawczyk, M., Wei, W., Wang, W., Wang, J., Flagg, K., Hou, J., Zhang, H., Yi, S., Jafari, M., Lin, D., Chung, C., Caughey, B. A., Li, G., Dhar, D., Shi, W., Zheng, L., Hou, R., Zhu, J., Zhao, L., Fu, X., Zhang, E., Zhang, C., Zhu, J.-K., Karin, M., Xu, R.-H. and Zhang, K. (2017) 'DNA methylation markers for diagnosis and prognosis of common cancers', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 114(28), pp. 7414-7419. doi: 10.1073/pnas.1703577114

Harding, T., Swanson, J. and Van Ness, B. (2018) 'EZH2 inhibitors sensitize myeloma cell lines to panobinostat resulting in unique combinatorial transcriptomic changes', *Oncotarget,* 9(31), pp. 21930-21942. doi: 10.18632/oncotarget.25128

Harris, W. J., Huang, X., Lynch, J. T., Spencer, G. J., Hitchin, J. R., Li, Y., Ciceri, F., Blaser, J. G., Greystoke, B. F., Jordan, A. M., Miller, C. J., Ogilvie, D. J. and Somervaille, T. C. (2012) 'The histone demethylase KDM1A sustains the oncogenic potential of MLL-AF9 leukemia stem cells', *Cancer Cell,* 21(4), pp. 473-87. doi: 10.1016/j.ccr.2012.03.014

He, Q., Yan, D., Dong, W., Bi, J., Huang, L., Yang, M., Huang, J., Qin, H. and Lin, T. (2020) 'circRNA circFUT8 Upregulates Krüpple-like Factor 10 to Inhibit the Metastasis of Bladder Cancer via Sponging miR-570-3p', *Mol Ther Oncolytics,* 16, pp. 172-187. doi: 10.1016/j.omto.2019.12.014

Heinemann, B., Nielsen, J. M., Hudlebusch, H. R., Lees, M. J., Larsen, D. V., Boesen, T., Labelle, M., Gerlach, L. O., Birk, P. and Helin, K. (2014) 'Inhibition of demethylases by GSK-J1/J4', *Nature,* 514(7520), pp. E1-2. doi: 10.1038/nature13688

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Henikoff, S. and Smith, M. M. (2015) 'Histone variants and epigenetics', *Cold Spring Harbor perspectives in biology,* 7(1), pp. a019364. doi: 10.1101/cshperspect.a019364

Hervouet, E., Vallette, F. M. and Cartron, P.-F. (2009) 'Dnmt3/transcription factor interactions as crucial players in targeted DNA methylation', *Epigenetics,* 4(7), pp. 487-499. doi: 10.4161/epi.4.7.9883

Heyn, H. and Esteller, M. (2012) 'DNA methylation profiling in the clinic: applications and challenges', *Nat Rev Genet,* 13(10), pp. 679-92. doi: 10.1038/nrg3270

Holleran, J. L., Parise, R. A., Joseph, E., Eiseman, J. L., Covey, J. M., Glaze, E. R., Lyubimov, A. V., Chen, Y.-F., D'Argenio, D. Z. and Egorin, M. J. (2005) 'Plasma pharmacokinetics, oral bioavailability, and interspecies scaling of the DNA methyltransferase inhibitor, zebularine', *Clinical cancer research,* 11(10), pp. 3862-3868. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-04-2406

Howard, G., Eiges, R., Gaudet, F., Jaenisch, R. and Eden, A. (2008) 'Activation and transposition of endogenous retroviral elements in hypomethylation induced tumors in mice', *Oncogene,* 27(3), pp. 404-8. doi: 10.1038/sj.onc.1210631

Hsu, C.-C., Chang, W.-C., Hsu, T.-I., Liu, J.-J., Yeh, S.-H., Wang, J.-Y., Liou, J.-P., Ko, C.-Y., Chang, K.-Y. and Chuang, J.-Y. (2016) 'Suberoylanilide hydroxamic acid represses glioma stem-like cells', *Journal of biomedical science,* 23(1), pp. 1-12. doi: 10.1186/s12929-016-0296-6

Huang, X. A., Yin, H., Sweeney, S., Raha, D., Snyder, M. and Lin, H. (2013) 'A major epigenetic programming mechanism guided by piRNAs', *Dev Cell,* 24(5), pp. 502-16. doi: 10.1016/j.devcel.2013.01.023

Huang, Y. and Rao, A. (2014) 'Connections between TET proteins and aberrant DNA modification in cancer', *Trends Genet,* 30(10), pp. 464-74. doi: 10.1016/j.tig.2014.07.005

Hurteau, G. J., Carlson, J. A., Spivack, S. D. and Brock, G. J. (2007) 'Overexpression of the microRNA hsa-miR-200c leads to reduced expression of transcription factor 8 and increased expression of E-cadherin', *Cancer Res,* 67(17), pp. 7972-6. doi: 10.1158/0008-5472.can-07-1058

Iioka, H., Doerner, S. K. and Tamai, K. (2009) 'Kaiso is a bimodal modulator for Wnt/β-catenin signaling', *FEBS letters,* 583(4), pp. 627-632. doi: 10.1016/j.febslet.2009.01.012

Issa, J. P. (2000) 'CpG-island methylation in aging and cancer', *Curr Top Microbiol Immunol,* 249, pp. 101-18. doi: 10.1007/978-3-642-59696-4_7

Ito, T., Umehara, T., Sasaki, K., Nakamura, Y., Nishino, N., Terada, T., Shirouzu, M., Padmanabhan, B., Yokoyama, S. and Ito, A. (2011) 'Real-time imaging of histone H4K12–specific acetylation determines the modes of action of histone deacetylase and bromodomain inhibitors', *Chemistry & biology,* 18(4), pp. 495-507. doi: 10.1016/j.chembiol.2011.02.009

Jones, P. A. and Baylin, S. B. (2002) 'The fundamental role of epigenetic events in cancer', *Nat Rev Genet,* 3(6), pp. 415-28. doi: 10.1038/nrg816

Jones, P. A. and Baylin, S. B. (2007) 'The Epigenomics of Cancer', *Cell,* 128(4), pp. 683-692. doi: 10.1016/j.cell.2007.01.029

Jones, P. A., Issa, J.-P. J. and Baylin, S. (2016) 'Targeting the cancer epigenome for therapy', *Nature Reviews Genetics,* 17(10), pp. 630-641. doi: 10.1038/nrg.2016.93

Jung, M., Brosch, G., Kölle, D., Scherf, H., Gerhäuser, C. and Loidl, P. (1999) 'Amide analogues of trichostatin A as inhibitors of histone deacetylase and inducers of terminal cell differentiation', *Journal of medicinal chemistry,* 42(22), pp. 4669-4679. doi: 10.1021/jm991091h

Kantarjian, H., Issa, J. P. J., Rosenfeld, C. S., Bennett, J. M., Albitar, M., DiPersio, J., Klimek, V., Slack, J., De Castro, C. and Ravandi, F. (2006) 'Decitabine improves patient outcomes in myelodysplastic syndromes: results of a phase III randomized study', *Cancer:*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society, 106(8), pp. 1794-1803. doi: 10.1002/cncr.21792

Kanwal, R. and Gupta, S. (2012) 'Epigenetic modifications in cancer', *Clin Genet,* 81(4), pp. 303-11. doi: 10.1111/j.1399-0004.2011.01809.x

Ke, J., Yao, Y. L., Zheng, J., Wang, P., Liu, Y. H., Ma, J., Li, Z., Liu, X. B., Li, Z. Q., Wang, Z. H. and Xue, Y. X. (2015) 'Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR inhibits malignant biological behaviors of human glioma cells via modulation of miR-326', *Oncotarget,* 6(26), pp. 21934-49. doi: 10.18632/oncotarget.4290

Kiefer, J. C. (2007) 'Epigenetics in development', *Developmental Dynamics,* 236(4), pp. 1144-1156. doi: https://doi.org/10.1002/dvdy.21094

Kijima, M., Yoshida, M., Sugita, K., Horinouchi, S. and Beppu, T. (1993) 'Trapoxin, an antitumor cyclic tetrapeptide, is an irreversible inhibitor of mammalian histone deacetylase', *Journal of Biological Chemistry,* 268(30), pp. 22429-22435. doi:

Kim, Y. B., Lee, K.-H., Sugita, K., Yoshida, M. and Horinouchi, S. (1999) 'Oxamflatin is a novel antitumor compound that inhibits mammalian histone deacetylase', *Oncogene,* 18(15), pp. 2461-2470. doi: 10.1038/sj.onc.1202564

Knutson, S. K., Kawano, S., Minoshima, Y., Warholic, N. M., Huang, K. C., Xiao, Y., Kadowaki, T., Uesugi, M., Kuznetsov, G., Kumar, N., Wigle, T. J., Klaus, C. R., Allain, C. J., Raimondi, A., Waters, N. J., Smith, J. J., Porter-Scott, M., Chesworth, R., Moyer, M. P., Copeland, R. A., Richon, V. M., Uenaka, T., Pollock, R. M., Kuntz, K. W., Yokoi, A. and Keilhack, H. (2014) 'Selective inhibition of EZH2 by EPZ-6438 leads to potent antitumor activity in EZH2-mutant non-Hodgkin lymphoma', *Mol Cancer Ther,* 13(4), pp. 842-54. doi: 10.1158/1535-7163.mct-13-0773

Kohnken, R., McNeil, B., Wen, J., McConnell, K., Grinshpun, L., Keiter, A., Chen, L., William, B., Porcu, P. and Mishra, A. (2019) 'Preclinical Targeting of MicroRNA-214 in Cutaneous T-Cell Lymphoma', *J Invest Dermatol,* 139(9), pp. 1966-1974.e3. doi: 10.1016/j.jid.2019.01.033

Kondo, Y., Shen, L., Ahmed, S., Boumber, Y., Sekido, Y., Haddad, B. R. and Issa, J.-P. J. (2008) 'Downregulation of Histone H3 Lysine 9 Methyltransferase G9a Induces Centrosome Disruption and Chromosome Instability in Cancer Cells', *PLOS ONE,* 3(4), pp. e2037. doi: 10.1371/journal.pone.0002037

Kondo, Y., Shen, L., Suzuki, S., Kurokawa, T., Masuko, K., Tanaka, Y., Kato, H., Mizuno, Y., Yokoe, M., Sugauchi, F., Hirashima, N., Orito, E., Osada, H., Ueda, R., Guo, Y., Chen, X., Issa, J. P. and Sekido, Y. (2007) 'Alterations of DNA methylation and histone modifications contribute to gene silencing in hepatocellular carcinomas', *Hepatol Res,* 37(11), pp. 974-83. doi: 10.1111/j.1872-034X.2007.00141.x

Kouzarides, T. (2000) 'Acetylation: a regulatory modification to rival phosphorylation?', *Embo j,* 19(6), pp. 1176-9. doi: 10.1093/emboj/19.6.1176

Kouzarides, T. (2007) 'Chromatin modifications and their function', *Cell,* 128(4), pp. 693-705. doi: 10.1016/j.cell.2007.02.005

Krivtsov, A. V. and Armstrong, S. A. (2007) 'MLL translocations, histone modifications and leukaemia stem-cell development', *Nat Rev Cancer,* 7(11), pp. 823-33. doi: 10.1038/nrc2253

Kruidenier, L., Chung, C.-w., Cheng, Z., Liddle, J., Che, K., Joberty, G., Bantscheff, M., Bountra, C., Bridges, A., Diallo, H., Eberhard, D., Hutchinson, S., Jones, E., Katso, R., Leveridge, M., Mander, P. K., Mosley, J., Ramirez-Molina, C., Rowland, P., Schofield, C. J., Sheppard, R. J., Smith, J. E., Swales, C., Tanner, R., Thomas, P., Tumber, A., Drewes, G., Oppermann, U., Patel, D. J., Lee, K. and Wilson, D. M. (2012) 'A selective jumonji H3K27 demethylase inhibitor modulates the proinflammatory macrophage response', *Nature,* 488(7411), pp. 404-408. doi: 10.1038/nature11262

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Kuo, L. J. and Yang, L. X. (2008) 'Gamma-H2AX - a novel biomarker for DNA double-strand breaks', *In Vivo,* 22(3), pp. 305-9. doi:

Kuramochi-Miyagawa, S., Watanabe, T., Gotoh, K., Totoki, Y., Toyoda, A., Ikawa, M., Asada, N., Kojima, K., Yamaguchi, Y., Ijiri, T. W., Hata, K., Li, E., Matsuda, Y., Kimura, T., Okabe, M., Sakaki, Y., Sasaki, H. and Nakano, T. (2008) 'DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes', *Genes Dev,* 22(7), pp. 908-17. doi: 10.1101/gad.1640708

Lau, N. C., Seto, A. G., Kim, J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., Bartel, D. P. and Kingston, R. E. (2006) 'Characterization of the piRNA complex from rat testes', *Science,* 313(5785), pp. 363-7. doi: 10.1126/science.1130164

Lau, O. D., Kundu, T. K., Soccio, R. E., Ait-Si-Ali, S., Khalil, E. M., Vassilev, A., Wolffe, A. P., Nakatani, Y., Roeder, R. G. and Cole, P. A. (2000) 'HATs off: selective synthetic inhibitors of the histone acetyltransferases p300 and PCAF', *Molecular cell,* 5(3), pp. 589-595. doi: 10.1016/s1097-2765(00)80452-9

Lea, M. A., Randolph, V. M. and Patel, M. (1999) 'Increased acetylation of histones induced by diallyl disulfide and structurally related molecules', *International journal of oncology,* 15(2), pp. 347-399. doi: 10.3892/ijo.15.2.347

Lee, B., Mazar, J., Aftab, M. N., Qi, F., Shelley, J., Li, J. L., Govindarajan, S., Valerio, F., Rivera, I., Thurn, T., Tran, T. A., Kameh, D., Patel, V. and Perera, R. J. (2014) 'Long noncoding RNAs as putative biomarkers for prostate cancer detection', *J Mol Diagn,* 16(6), pp. 615-26. doi: 10.1016/j.jmoldx.2014.06.009

Lewis, B. P., Burge, C. B. and Bartel, D. P. (2005) 'Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets', *Cell,* 120(1), pp. 15-20. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.035

Liang, Y., Quenelle, D., Vogel, J. L., Mascaro, C., Ortega, A. and Kristie, T. M. (2013) 'A novel selective LSD1/KDM1A inhibitor epigenetically blocks herpes simplex virus lytic replication and reactivation from latency', *mBio,* 4(1), pp. e00558-12. doi: 10.1128/mBio.00558-12

Lin, H. (2007) 'piRNAs in the germ line', *Science,* 316(5823), pp. 397. doi: 10.1126/science.1137543

Lin, R.-J., Lin, Y.-C., Chen, J., Kuo, H.-H., Chen, Y.-Y., Diccianni, M. B., London, W. B., Chang, C.-H. and Yu, A. L. (2010) 'microRNA signature and expression of Dicer and Drosha can predict prognosis and delineate risk groups in neuroblastoma', *Cancer research,* 70(20), pp. 7841-7850. doi: 10.1158/0008-5472.can-10-0970

Litt, M. D., Simpson, M., Recillas-Targa, F., Prioleau, M. N. and Felsenfeld, G. (2001) 'Transitions in histone acetylation reveal boundaries of three separately regulated neighboring loci', *Embo j,* 20(9), pp. 2224-35. doi: 10.1093/emboj/20.9.2224

Liz, J. and Esteller, M. (2016) 'lncRNAs and microRNAs with a role in cancer development', *Biochim Biophys Acta,* 1859(1), pp. 169-76. doi: 10.1016/j.bbagrm.2015.06.015

Long, C., Yin, B., Lu, Q., Zhou, X., Hu, J., Yang, Y., Yu, F. and Yuan, Y. (2007) 'Promoter hypermethylation of the RUNX3 gene in esophageal squamous cell carcinoma', *Cancer Invest,* 25(8), pp. 685-90. doi: 10.1080/07357900701561131

Lu, Y., Chan, Y.-T., Tan, H.-Y., Li, S., Wang, N. and Feng, Y. (2020) 'Epigenetic regulation in human cancer: the potential role of epi-drug in cancer therapy', *Molecular Cancer,* 19(1), pp. 79. doi: 10.1186/s12943-020-01197-3

Lujambio, A., Calin, G. A., Villanueva, A., Ropero, S., Sánchez-Céspedes, M., Blanco, D., Montuenga, L. M., Rossi, S., Nicoloso, M. S., Faller, W. J., Gallagher, W. M., Eccles, S. A., Croce, C. M. and Esteller, M. (2008) 'A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis', *Proc Natl Acad Sci U S A,* 105(36), pp. 13556-61. doi: 10.1073/pnas.0803055105

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Luo, N., Nixon, M. J., Gonzalez-Ericsson, P. I., Sanchez, V., Opalenik, S. R., Li, H., Zahnow, C. A., Nickels, M. L., Liu, F., Tantawy, M. N., Sanders, M. E., Manning, H. C. and Balko, J. M. (2018) 'DNA methyltransferase inhibition upregulates MHC-I to potentiate cytotoxic T lymphocyte responses in breast cancer', *Nature communications,* 9(1), pp. 248-248. doi: 10.1038/s41467-017-02630-w

Mack, S. C., Witt, H., Piro, R. M., Gu, L., Zuyderduyn, S., Stütz, A. M., Wang, X., Gallo, M., Garzia, L., Zayne, K., Zhang, X., Ramaswamy, V., Jäger, N., Jones, D. T., Sill, M., Pugh, T. J., Ryzhova, M., Wani, K. M., Shih, D. J., Head, R., Remke, M., Bailey, S. D., Zichner, T., Faria, C. C., Barszczyk, M., Stark, S., Seker-Cin, H., Hutter, S., Johann, P., Bender, S., Hovestadt, V., Tzaridis, T., Dubuc, A. M., Northcott, P. A., Peacock, J., Bertrand, K. C., Agnihotri, S., Cavalli, F. M., Clarke, I., Nethery-Brokx, K., Creasy, C. L., Verma, S. K., Koster, J., Wu, X., Yao, Y., Milde, T., Sin-Chan, P., Zuccaro, J., Lau, L., Pereira, S., Castelo-Branco, P., Hirst, M., Marra, M. A., Roberts, S. S., Fults, D., Massimi, L., Cho, Y. J., Van Meter, T., Grajkowska, W., Lach, B., Kulozik, A. E., von Deimling, A., Witt, O., Scherer, S. W., Fan, X., Muraszko, K. M., Kool, M., Pomeroy, S. L., Gupta, N., Phillips, J., Huang, A., Tabori, U., Hawkins, C., Malkin, D., Kongkham, P. N., Weiss, W. A., Jabado, N., Rutka, J. T., Bouffet, E., Korbel, J. O., Lupien, M., Aldape, K. D., Bader, G. D., Eils, R., Lichter, P., Dirks, P. B., Pfister, S. M., Korshunov, A. and Taylor, M. D. (2014) 'Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy', *Nature,* 506(7489), pp. 445-50. doi: 10.1038/nature13108

Maes, T., Carceller, E., Salas, J., Ortega, A. and Buesa, C. (2015) 'Advances in the development of histone lysine demethylase inhibitors', *Curr Opin Pharmacol,* 23, pp. 52-60. doi: 10.1016/j.coph.2015.05.009

Mann, B. S., Johnson, J. R., Cohen, M. H., Justice, R. and Pazdur, R. (2007) 'FDA approval summary: vorinostat for treatment of advanced primary cutaneous T‐cell lymphoma', *The oncologist,* 12(10), pp. 1247-1252. doi: 10.1634/theoncologist.12-10-1247

Mar, B. G., Bullinger, L. B., McLean, K. M., Grauman, P. V., Harris, M. H., Stevenson, K., Neuberg, D. S., Sinha, A. U., Sallan, S. E., Silverman, L. B., Kung, A. L., Lo Nigro, L., Ebert, B. L. and Armstrong, S. A. (2014) 'Mutations in epigenetic regulators including SETD2 are gained during relapse in paediatric acute lymphoblastic leukaemia', *Nature communications*, 5, pp. 3469. PubMed. DOI: 10.1038/ncomms4469 (Accessed 2014/03//).

Marchese, F. P., Raimondi, I. and Huarte, M. (2017) 'The multidimensional mechanisms of long noncoding RNA function', *Genome Biology,* 18(1), pp. 206. doi: 10.1186/s13059-017-1348-2

Matsumura, Y., Nakaki, R., Inagaki, T., Yoshida, A., Kano, Y., Kimura, H., Tanaka, T., Tsutsumi, S., Nakao, M., Doi, T., Fukami, K., Osborne, T. F., Kodama, T., Aburatani, H. and Sakai, J. (2015) 'H3K4/H3K9me3 Bivalent Chromatin Domains Targeted by Lineage-Specific DNA Methylation Pauses Adipocyte Differentiation', *Mol Cell,* 60(4), pp. 584-96. doi: 10.1016/j.molcel.2015.10.025

McCabe, M. T., Ott, H. M., Ganji, G., Korenchuk, S., Thompson, C., Van Aller, G. S., Liu, Y., Graves, A. P., Della Pietra, A., 3rd, Diaz, E., LaFrance, L. V., Mellinger, M., Duquenne, C., Tian, X., Kruger, R. G., McHugh, C. F., Brandt, M., Miller, W. H., Dhanak, D., Verma, S. K., Tummino, P. J. and Creasy, C. L. (2012) 'EZH2 inhibition as a therapeutic strategy for lymphoma with EZH2-activating mutations', *Nature,* 492(7427), pp. 108-12. doi: 10.1038/nature11606

Merritt, W. M., Lin, Y. G., Han, L. Y., Kamat, A. A., Spannuth, W. A., Schmandt, R., Urbauer, D., Pennacchio, L. A., Cheng, J. F., Nick, A. M., Deavers, M. T., Mourad-Zeidan, A., Wang, H., Mueller, P., Lenburg, M. E., Gray, J. W., Mok, S., Birrer, M. J., Lopez-Berestein, G., Coleman, R. L., Bar-Eli, M. and Sood, A. K. (2008) 'Dicer, Drosha, and

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

outcomes in patients with ovarian cancer', *N Engl J Med,* 359(25), pp. 2641-50. doi: 10.1056/NEJMoa0803785

Methot, J. L., Chakravarty, P. K., Chenard, M., Close, J., Cruz, J. C., Dahlberg, W. K., Fleming, J., Hamblett, C. L., Hamill, J. E. and Harrington, P. (2008) 'Exploration of the internal cavity of histone deacetylase (HDAC) with selective HDAC1/HDAC2 inhibitors (SHI-1: 2)', *Bioorganic & medicinal chemistry letters,* 18(3), pp. 973-978. doi: 10.1016/j.bmcl.2007.12.031

Metzger, E., Wissmann, M., Yin, N., Müller, J. M., Schneider, R., Peters, A. H., Günther, T., Buettner, R. and Schüle, R. (2005) 'LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription', *Nature,* 437(7057), pp. 436-9. doi: 10.1038/nature04020

Miranda Furtado, C. L., Dos Santos Luciano, M. C., Silva Santos, R. D., Furtado, G. P., Moraes, M. O. and Pessoa, C. (2019) 'Epidrugs: targeting epigenetic marks in cancer treatment', *Epigenetics,* 14(12), pp. 1164-1176. doi: 10.1080/15592294.2019.1640546

Miranda, T. B., Cortez, C. C., Yoo, C. B., Liang, G., Abe, M., Kelly, T. K., Marquez, V. E. and Jones, P. A. (2009) 'DZNep is a global histone methylation inhibitor that reactivates developmental genes not silenced by DNA methylation', *Mol Cancer Ther,* 8(6), pp. 1579-88. doi: 10.1158/1535-7163.mct-09-0013

Moran, S., Martínez-Cardús, A., Sayols, S., Musulén, E., Balañá, C., Estival-Gonzalez, A., Moutinho, C., Heyn, H., Diaz-Lagares, A., de Moura, M. C., Stella, G. M., Comoglio, P. M., Ruiz-Miró, M., Matias-Guiu, X., Pazo-Cid, R., Antón, A., Lopez-Lopez, R., Soler, G., Longo, F., Guerra, I., Fernandez, S., Assenov, Y., Plass, C., Morales, R., Carles, J., Bowtell, D., Mileshkin, L., Sia, D., Tothill, R., Tabernero, J., Llovet, J. M. and Esteller, M. (2016) 'Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis', *Lancet Oncol,* 17(10), pp. 1386-1395. doi: 10.1016/s1470-2045(16)30297-2

Morin, R. D., Mendez-Lago, M., Mungall, A. J., Goya, R., Mungall, K. L., Corbett, R. D., Johnson, N. A., Severson, T. M., Chiu, R., Field, M., Jackman, S., Krzywinski, M., Scott, D. W., Trinh, D. L., Tamura-Wells, J., Li, S., Firme, M. R., Rogic, S., Griffith, M., Chan, S., Yakovenko, O., Meyer, I. M., Zhao, E. Y., Smailus, D., Moksa, M., Chittaranjan, S., Rimsza, L., Brooks-Wilson, A., Spinelli, J. J., Ben-Neriah, S., Meissner, B., Woolcock, B., Boyle, M., McDonald, H., Tam, A., Zhao, Y., Delaney, A., Zeng, T., Tse, K., Butterfield, Y., Birol, I., Holt, R., Schein, J., Horsman, D. E., Moore, R., Jones, S. J., Connors, J. M., Hirst, M., Gascoyne, R. D. and Marra, M. A. (2011) 'Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma', *Nature,* 476(7360), pp. 298-303. doi: 10.1038/nature10351

Morris, K. V., Chan, S. W., Jacobsen, S. E. and Looney, D. J. (2004) 'Small interfering RNA-induced transcriptional gene silencing in human cells', *Science,* 305(5688), pp. 1289-92. doi: 10.1126/science.1101372

Muddassir, M., Soni, K., Sangani, C. B., Alarifi, A., Afzal, M., Abduh, N. A. Y., Duan, Y. and Bhadja, P. (2021) 'Bromodomain and BET family proteins as epigenetic targets in cancer therapy: their degradation, present drugs, and possible PROTACs', *RSC Advances,* 11(2), pp. 612-636. doi: 10.1039/D0RA07971E

Mutskov, V. and Felsenfeld, G. (2004) 'Silencing of transgene transcription precedes methylation of promoter DNA and histone H3 lysine 9', *The EMBO journal,* 23(1), pp. 138-149. doi: 10.1038/sj.emboj.7600013

Nafee, T., Farrell, W., Carroll, W., Fryer, A. and Ismail, K. (2008) 'Epigenetic control of fetal gene expression', *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology,* 115(2), pp. 158-168. doi: 10.1111/j.1471-0528.2007.01528.x

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Neelamegam, R., Ricq, E. L., Malvaez, M., Patnaik, D., Norton, S., Carlin, S. M., Hill, I. T., Wood, M. A., Haggarty, S. J. and Hooker, J. M. (2012) 'Brain-penetrant LSD1 inhibitors can block memory consolidation', *ACS Chem Neurosci,* 3(2), pp. 120-128. doi: 10.1021/cn200104y

Newell-Price, J., Clark, A. J. and King, P. (2000) 'DNA methylation and silencing of gene expression', *Trends in Endocrinology & Metabolism,* 11(4), pp. 142-148. doi: 10.1016/s1043-2760(00)00248-4

Nguyen, C. T., Weisenberger, D. J., Velicescu, M., Gonzales, F. A., Lin, J. C., Liang, G. and Jones, P. A. (2002) 'Histone H3-lysine 9 methylation is associated with aberrant gene silencing in cancer cells and is rapidly reversed by 5-aza-2'-deoxycytidine', *Cancer Res,* 62(22), pp. 6456-61. doi:

Nicodeme, E., Jeffrey, K. L., Schaefer, U., Beinke, S., Dewell, S., Chung, C.-w., Chandwani, R., Marazzi, I., Wilson, P. and Coste, H. (2010) 'Suppression of inflammation by a synthetic histone mimic', *Nature,* 468(7327), pp. 1119-1123. doi: 10.1038/nature09589

Ohm, J. E., McGarvey, K. M., Yu, X., Cheng, L., Schuebel, K. E., Cope, L., Mohammad, H. P., Chen, W., Daniel, V. C., Yu, W., Berman, D. M., Jenuwein, T., Pruitt, K., Sharkis, S. J., Watkins, D. N., Herman, J. G. and Baylin, S. B. (2007) 'A stem cell-like chromatin pattern may predispose tumor suppressor genes to DNA hypermethylation and heritable silencing', *Nat Genet,* 39(2), pp. 237-42. doi: 10.1038/ng1972

Ozdağ, H., Teschendorff, A. E., Ahmed, A. A., Hyland, S. J., Blenkiron, C., Bobrow, L., Veerakumarasivam, A., Burtt, G., Subkhankulova, T., Arends, M. J., Collins, V. P., Bowtell, D., Kouzarides, T., Brenton, J. D. and Caldas, C. (2006) 'Differential expression of selected histone modifier genes in human solid cancers', *BMC Genomics,* 7, pp. 90. doi: 10.1186/1471-2164-7-90

Palmer, W. S., Poncet-Montange, G., Liu, G., Petrocchi, A., Reyna, N., Subramanian, G., Theroff, J., Yau, A., Kost-Alimova, M. and Bardenhagen, J. P. (2016) 'Structure-guided design of IACS-9571, a selective high-affinity dual TRIM24-BRPF1 bromodomain inhibitor', *Journal of medicinal chemistry,* 59(4), pp. 1440-1454. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00405

Pan, C.-H., Chang, Y.-F., Lee, M.-S., Wen, B.-C., Ko, J.-C., Liang, S.-K. and Liang, M.-C. (2016) 'Vorinostat enhances the cisplatin-mediated anticancer effects in small cell lung cancer cells', *BMC cancer,* 16(1), pp. 1-11. doi: 10.1186/s12885-016-2888-7

Pan, Y., Ma, P., Liu, Y., Li, W. and Shu, Y. (2018) 'Multiple functions of m6A RNA methylation in cancer', *Journal of Hematology & Oncology,* 11(1), pp. 48. doi: 10.1186/s13045-018-0590-8

Park, S. M., Gaur, A. B., Lengyel, E. and Peter, M. E. (2008) 'The miR-200 family determines the epithelial phenotype of cancer cells by targeting the E-cadherin repressors ZEB1 and ZEB2', *Genes Dev,* 22(7), pp. 894-907. doi: 10.1101/gad.1640608

Peng, D., Kryczek, I., Nagarsheth, N., Zhao, L., Wei, S., Wang, W., Sun, Y., Zhao, E., Vatan, L. and Szeliga, W. (2015) 'Epigenetic silencing of TH 1-type chemokines shapes tumour immunity and immunotherapy', *Nature,* 527(7577), pp. 249-253. doi: 10.1038/nature15520

Pérez-Cadahía, B., Drobic, B., Khan, P., Shivashankar, C. C. and Davie, J. R. (2010) 'Current understanding and importance of histone phosphorylation in regulating chromatin biology', *Curr Opin Drug Discov Devel,* 13(5), pp. 613-22. doi:

Peterson, C. L. and Laniel, M. A. (2004) 'Histones and histone modifications', *Curr Biol,* 14(14), pp. R546-51. doi: 10.1016/j.cub.2004.07.007

Picaud, S., Leonards, K., Lambert, J.-P., Dovey, O., Wells, C., Fedorov, O., Monteiro, O., Fujisawa, T., Wang, C.-Y. and Lingard, H. (2016) 'Promiscuous targeting of bromodomains by bromosporine identifies BET proteins as master regulators of

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

primary transcription response in leukemia', *Science advances,* 2(10), pp. e1600760. doi: 10.1126/sciadv.1600760

Prokhortchouk, E. and Defossez, P.-A. (2008) 'The cell biology of DNA methylation in mammals', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research,* 1783(11), pp. 2167-2173. doi: 10.1016/j.bbamcr.2008.07.015

Qi, W., Chan, H., Teng, L., Li, L., Chuai, S., Zhang, R., Zeng, J., Li, M., Fan, H., Lin, Y., Gu, J., Ardayfio, O., Zhang, J.-H., Yan, X., Fang, J., Mi, Y., Zhang, M., Zhou, T., Feng, G., Chen, Z., Li, G., Yang, T., Zhao, K., Liu, X., Yu, Z., Lu, C. X., Atadja, P. and Li, E. (2012) 'Selective inhibition of Ezh2 by a small molecule inhibitor blocks tumor cells proliferation', *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 109(52), pp. 21360-21365. doi: 10.1073/pnas.1210371110

Rajewsky, N. (2006) 'microRNA target predictions in animals', *Nat Genet,* 38 Suppl, pp. S8-13. doi: 10.1038/ng1798

Rathert, P., Roth, M., Neumann, T., Muerdter, F., Roe, J. S., Muhar, M., Deswal, S., Cerny-Reiterer, S., Peter, B., Jude, J., Hoffmann, T., Boryń Ł, M., Axelsson, E., Schweifer, N., Tontsch-Grunt, U., Dow, L. E., Gianni, D., Pearson, M., Valent, P., Stark, A., Kraut, N., Vakoc, C. R. and Zuber, J. (2015) 'Transcriptional plasticity promotes primary and acquired resistance to BET inhibition', *Nature,* 525(7570), pp. 543-547. doi: 10.1038/nature14898

Rezaei, T., Amini, M., Hashemi, Z. S., Mansoori, B., Rezaei, S., Karami, H., Mosafer, J., Mokhtarzadeh, A. and Baradaran, B. (2020) 'microRNA-181 serves as a dual-role regulator in the development of human cancers', *Free radical biology & medicine,* 152, pp. 432-454. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2019.12.043

Richon, V. M., Emiliani, S., Verdin, E., Webb, Y., Breslow, R., Rifkind, R. A. and Marks, P. A. (1998) 'A class of hybrid polar inducers of transformed cell differentiation inhibits histone deacetylases', *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 95(6), pp. 3003-3007. doi: 10.1073/pnas.95.6.3003

Riggs, M., Whittaker, R., Neumann, J. and Ingram, V. (1977) 'n-Butyrate causes histone modification in HeLa and Friend erythroleukaemia cells', *Nature,* 268(5619), pp. 462-464. doi: 10.1038/268462a0

Rivera, Chloe M. and Ren, B. (2013) 'Mapping Human Epigenomes', *Cell,* 155(1), pp. 39-55. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.011

Roberti, A., Dobay, M. P., Bisig, B., Vallois, D., Boéchat, C., Lanitis, E., Bouchindhomme, B., Parrens, M. C., Bossard, C., Quintanilla-Martinez, L., Missiaglia, E., Gaulard, P. and de Leval, L. (2016) 'Type II enteropathy-associated T-cell lymphoma features a unique genomic profile with highly recurrent SETD2 alterations', *Nat Commun,* 7, pp. 12602. doi: 10.1038/ncomms12602

Roberti, A., Valdes, A. F., Torrecillas, R., Fraga, M. F. and Fernandez, A. F. (2019) 'Epigenetics in cancer therapy and nanomedicine', *Clinical Epigenetics,* 11(1), pp. 81. doi: 10.1186/s13148-019-0675-4

Rodríguez-Paredes, M. and Esteller, M. (2011) 'Cancer epigenetics reaches mainstream oncology', *Nature medicine,* 17(3), pp. 330-339. doi: 10.1038/nm.2305

Rodríguez-Rodero, S., Fernández, A. F., Fernández-Morera, J. L., Castro-Santos, P., Bayon, G. F., Ferrero, C., Urdinguio, R. G., Gonzalez-Marquez, R., Suarez, C., Fernández-Vega, I., Fresno Forcelledo, M. F., Martínez-Camblor, P., Mancikova, V., Castelblanco, E., Perez, M., Marrón, P. I., Mendiola, M., Hardisson, D., Santisteban, P., Riesco-Eizaguirre, G., Matías-Guiu, X., Carnero, A., Robledo, M., Delgado-Álvarez, E., Menéndez-Torre, E. and Fraga, M. F. (2013) 'DNA methylation signatures identify biologically distinct thyroid cancer subtypes', *J Clin Endocrinol Metab,* 98(7), pp. 2811-21. doi: 10.1210/jc.2012-3566

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Rodriguez, J., Frigola, J., Vendrell, E., Risques, R. A., Fraga, M. F., Morales, C., Moreno, V., Esteller, M., Capellà, G., Ribas, M. and Peinado, M. A. (2006) 'Chromosomal instability correlates with genome-wide DNA demethylation in human primary colorectal cancers', *Cancer Res,* 66(17), pp. 8462-9468. doi: 10.1158/0008-5472.can-06-0293

Romero, F. A., Taylor, A. M., Crawford, T. D., Tsui, V., Côté, A. and Magnuson, S. (2016) 'Disrupting acetyl-lysine recognition: progress in the development of bromodomain inhibitors', *Journal of medicinal chemistry,* 59(4), pp. 1271-1298. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b01514

Rose, N. R., Woon, E. C. Y., Tumber, A., Walport, L. J., Chowdhury, R., Li, X. S., King, O. N. F., Lejeune, C., Ng, S. S., Krojer, T., Chan, M. C., Rydzik, A. M., Hopkinson, R. J., Che, K. H., Daniel, M., Strain-Damerell, C., Gileadi, C., Kochan, G., Leung, I. K. H., Dunford, J., Yeoh, K. K., Ratcliffe, P. J., Burgess-Brown, N., von Delft, F., Muller, S., Marsden, B., Brennan, P. E., McDonough, M. A., Oppermann, U., Klose, R. J., Schofield, C. J. and Kawamura, A. (2012) 'Plant growth regulator daminozide is a selective inhibitor of human KDM2/7 histone demethylases', *Journal of medicinal chemistry,* 55(14), pp. 6639-6643. doi: 10.1021/jm300677j

Rossetto, D., Avvakumov, N. and Côté, J. (2012) 'Histone phosphorylation: a chromatin modification involved in diverse nuclear events', *Epigenetics,* 7(10), pp. 1098-108. doi: 10.4161/epi.21975

Schaefer, M., Hagemann, S., Hanna, K. and Lyko, F. (2009) 'Azacytidine inhibits RNA methylation at DNMT2 target sites in human cancer cell lines', *Cancer research,* 69(20), pp. 8127-8132. doi: 10.1158/0008-5472

Schenk, T., Chen, W. C., Göllner, S., Howell, L., Jin, L., Hebestreit, K., Klein, H. U., Popescu, A. C., Burnett, A., Mills, K., Casero, R. A., Jr., Marton, L., Woster, P., Minden, M. D., Dugas, M., Wang, J. C., Dick, J. E., Müller-Tidow, C., Petrie, K. and Zelent, A. (2012) 'Inhibition of the LSD1 (KDM1A) demethylase reactivates the all-trans-retinoic acid differentiation pathway in acute myeloid leukemia', *Nat Med,* 18(4), pp. 605-11. doi: 10.1038/nm.2661

Schlesinger, Y., Straussman, R., Keshet, I., Farkash, S., Hecht, M., Zimmerman, J., Eden, E., Yakhini, Z., Ben-Shushan, E., Reubinoff, B. E., Bergman, Y., Simon, I. and Cedar, H. (2007) 'Polycomb-mediated methylation on Lys27 of histone H3 pre-marks genes for de novo methylation in cancer', *Nat Genet,* 39(2), pp. 232-6. doi: 10.1038/ng1950

Schulte, J. H., Lim, S., Schramm, A., Friedrichs, N., Koster, J., Versteeg, R., Ora, I., Pajtler, K., Klein-Hitpass, L., Kuhfittig-Kulle, S., Metzger, E., Schüle, R., Eggert, A., Buettner, R. and Kirfel, J. (2009) 'Lysine-specific demethylase 1 is strongly expressed in poorly differentiated neuroblastoma: implications for therapy', *Cancer Res,* 69(5), pp. 2065-71. doi: 10.1158/0008-5472.can-08-1735

Shahbazi, J., Liu, P. Y., Atmadibrata, B., Bradner, J. E., Marshall, G. M., Lock, R. B. and Liu, T. (2016) 'The Bromodomain Inhibitor JQ1 and the Histone Deacetylase Inhibitor Panobinostat Synergistically Reduce N-Myc Expression and Induce Anticancer Effects', *Clin Cancer Res,* 22(10), pp. 2534-44. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-15-1666

Shi, Y., Lan, F., Matson, C., Mulligan, P., Whetstine, J. R., Cole, P. A., Casero, R. A. and Shi, Y. (2004) 'Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1', *Cell,* 119(7), pp. 941-53. doi: 10.1016/j.cell.2004.12.012

Shlush, L. I., Zandi, S., Mitchell, A., Chen, W. C., Brandwein, J. M., Gupta, V., Kennedy, J. A., Schimmer, A. D., Schuh, A. C., Yee, K. W., McLeod, J. L., Doedens, M., Medeiros, J. J., Marke, R., Kim, H. J., Lee, K., McPherson, J. D., Hudson, T. J., Brown, A. M., Yousif, F., Trinh, Q. M., Stein, L. D., Minden, M. D., Wang, J. C. and Dick, J. E. (2014) 'Identification of pre-leukaemic haematopoietic stem cells in acute leukaemia', *Nature,* 506(7488), pp. 328-33. doi: 10.1038/nature13038

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Silverman, L. R., Demakos, E. P., Peterson, B. L., Kornblith, A. B., Holland, J. C., Odchimar-Reissig, R., Stone, R. M., Nelson, D., Powell, B. L. and DeCastro, C. M. (2002) 'Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome: a study of the cancer and leukemia group B', *Journal of Clinical oncology,* 20(10), pp. 2429-2440. doi: 10.1200/JCO.2002.04.11

Singh, T. R., Shankar, S. and Srivastava, R. K. (2005) 'HDAC inhibitors enhance the apoptosis-inducing potential of TRAIL in breast carcinoma', *Oncogene,* 24(29), pp. 4609-4623. doi: 10.1038/sj.onc.1208585

Sinkkonen, L., Hugenschmidt, T., Berninger, P., Gaidatzis, D., Mohn, F., Artus-Revel, C. G., Zavolan, M., Svoboda, P. and Filipowicz, W. (2008) 'MicroRNAs control de novo DNA methylation through regulation of transcriptional repressors in mouse embryonic stem cells', *Nat Struct Mol Biol,* 15(3), pp. 259-67. doi: 10.1038/nsmb.1391

Smith, Z. D. and Meissner, A. (2013) 'DNA methylation: roles in mammalian development', *Nature Reviews Genetics,* 14(3), pp. 204-220. doi: 10.1038/nrg3354

Song, J., Noh, J. H., Lee, J. H., Eun, J. W., Ahn, Y. M., Kim, S. Y., Lee, S. H., Park, W. S., Yoo, N. J., Lee, J. Y. and Nam, S. W. (2005) 'Increased expression of histone deacetylase 2 is found in human gastric cancer', *Apmis,* 113(4), pp. 264-8. doi: 10.1111/j.1600-0463.2005.apm_04.x

Staberg, M., Michaelsen, S. R., Rasmussen, R. D., Villingshøj, M., Poulsen, H. S. and Hamerlik, P. (2017) 'Inhibition of histone deacetylases sensitizes glioblastoma cells to lomustine', *Cellular Oncology,* 40(1), pp. 21-32. doi: 10.1007/s13402-016-0301-9

Stimson, L., Rowlands, M. G., Newbatt, Y. M., Smith, N. F., Raynaud, F. I., Rogers, P., Bavetsias, V., Gorsuch, S., Jarman, M. and Bannister, A. (2005) 'Isothiazolones as inhibitors of PCAF and p300 histone acetyltransferase activity', *Molecular cancer therapeutics,* 4(10), pp. 1521-1532. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-05-0135

Stresemann, C. and Lyko, F. (2008) 'Modes of action of the DNA methyltransferase inhibitors azacytidine and decitabine', *International journal of cancer,* 123(1), pp. 8-13. doi: 10.1002/ijc.23607

Su, G. H., Sohn, T. A., Ryu, B. and Kern, S. E. (2000) 'A novel histone deacetylase inhibitor identified by high-throughput transcriptional screening of a compound library', *Cancer research,* 60(12), pp. 3137-3142. doi:

Suzuki, T., Ando, T., Tsuchiya, K., Fukazawa, N., Saito, A., Mariko, Y., Yamashita, T. and Nakanishi, O. (1999) 'Synthesis and histone deacetylase inhibitory activity of new benzamide derivatives', *Journal of medicinal chemistry,* 42(15), pp. 3001-3003. doi: 10.1021/jm980565u

Tahiliani, M., Koh, K. P., Shen, Y., Pastor, W. A., Bandukwala, H., Brudno, Y., Agarwal, S., Iyer, L. M., Liu, D. R., Aravind, L. and Rao, A. (2009) 'Conversion of 5-methylcytosine to 5-hydroxymethylcytosine in mammalian DNA by MLL partner TET1', *Science,* 324(5929), pp. 930-5. doi: 10.1126/science.1170116

Takemura, Y., Satoh, M., Hatanaka, K. and Kubota, S. (2018) 'Zebularine exerts its antiproliferative activity through S phase delay and cell death in human malignant mesothelioma cells', *Bioscience, biotechnology, and biochemistry,* 82(7), pp. 1159-1164. doi: 10.1080/09168451.2018.1459466

Tan, W., Zhou, W., Yu, H.-g., Luo, H.-S. and Shen, L. (2013) 'The DNA methyltransferase inhibitor zebularine induces mitochondria-mediated apoptosis in gastric cancer cells in vitro and in vivo', *Biochemical and biophysical research communications,* 430(1), pp. 250-255. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.10.143

Tan, Y., Tajik, A., Chen, J., Jia, Q., Chowdhury, F., Wang, L., Chen, J., Zhang, S., Hong, Y., Yi, H., Wu, D. C., Zhang, Y., Wei, F., Poh, Y.-C., Seong, J., Singh, R., Lin, L.-J., Doğanay, S., Li, Y., Jia, H., Ha, T., Wang, Y., Huang, B. and Wang, N. (2014) 'Matrix softness regulates

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

plasticity of tumour-repopulating cells via H3K9 demethylation and Sox2 expression', *Nature Communications,* 5(1), pp. 4619. doi: 10.1038/ncomms5619

Taverna, S. D., Li, H., Ruthenburg, A. J., Allis, C. D. and Patel, D. J. (2007) 'How chromatin-binding modules interpret histone modifications: lessons from professional pocket pickers', *Nat Struct Mol Biol,* 14(11), pp. 1025-1040. doi: 10.1038/nsmb1338

Theodoulou, N. H., Bamborough, P., Bannister, A. J., Becher, I., Bit, R. A., Che, K. H., Chung, C.-w., Dittmann, A., Drewes, G. and Drewry, D. H. (2016) 'Discovery of I-BRD9, a selective cell active chemical probe for bromodomain containing protein 9 inhibition', *Journal of medicinal chemistry,* 59(4), pp. 1425-1439. doi: 10.1021/acs.jmedchem.5b00256

Tuddenham, L., Wheeler, G., Ntounia-Fousara, S., Waters, J., Hajihosseini, M. K., Clark, I. and Dalmay, T. (2006) 'The cartilage specific microRNA-140 targets histone deacetylase 4 in mouse cells', *FEBS Lett,* 580(17), pp. 4214-7. doi: 10.1016/j.febslet.2006.06.080

Tzika, E., Dreker, T. and Imhof, A. (2018) 'Epigenetics and Metabolism in Health and Disease', *Frontiers in Genetics,* 9(361). doi: 10.3389/fgene.2018.00361

Valk-Lingbeek, M. E., Bruggeman, S. W. and van Lohuizen, M. (2004) 'Stem cells and cancer; the polycomb connection', *Cell,* 118(4), pp. 409-18. doi: 10.1016/j.cell.2004.08.005

Verma, S. K., Tian, X., LaFrance, L. V., Duquenne, C., Suarez, D. P., Newlander, K. A., Romeril, S. P., Burgess, J. L., Grant, S. W., Brackley, J. A., Graves, A. P., Scherzer, D. A., Shu, A., Thompson, C., Ott, H. M., Aller, G. S., Machutta, C. A., Diaz, E., Jiang, Y., Johnson, N. W., Knight, S. D., Kruger, R. G., McCabe, M. T., Dhanak, D., Tummino, P. J., Creasy, C. L. and Miller, W. H. (2012) 'Identification of Potent, Selective, Cell-Active Inhibitors of the Histone Lysine Methyltransferase EZH2', *ACS Med Chem Lett,* 3(12), pp. 1091-6. doi: 10.1021/ml3003346

Voigt, P., Tee, W. W. and Reinberg, D. (2013) 'A double take on bivalent promoters', *Genes Dev,* 27(12), pp. 1318-38. doi: 10.1101/gad.219626.113

Volpe, T. A., Kidner, C., Hall, I. M., Teng, G., Grewal, S. I. and Martienssen, R. A. (2002) 'Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi', *Science,* 297(5588), pp. 1833-7. doi: 10.1126/science.1074973

Voso, M. T., Santini, V., Finelli, C., Musto, P., Pogliani, E., Angelucci, E., Fioritoni, G., Alimena, G., Maurillo, L. and Cortelezzi, A. (2009) 'Valproic acid at therapeutic plasma levels may increase 5-azacytidine efficacy in higher risk myelodysplastic syndromes', *Clinical cancer research,* 15(15), pp. 5002-5007. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-09-0494

Vrba, L., Jensen, T. J., Garbe, J. C., Heimark, R. L., Cress, A. E., Dickinson, S., Stampfer, M. R. and Futscher, B. W. (2010) 'Role for DNA methylation in the regulation of miR-200c and miR-141 expression in normal and cancer cells', *PloS one,* 5(1), pp. e8697-e8697. doi: 10.1371/journal.pone.0008697

Wade, P. A. (2001) 'Methyl CpG binding proteins: coupling chromatin architecture to gene regulation', *Oncogene,* 20(24), pp. 3166-3173. doi: 10.1038/sj.onc.1204340

Wasim, L. and Chopra, M. (2016) 'Panobinostat induces apoptosis via production of reactive oxygen species and synergizes with topoisomerase inhibitors in cervical cancer cells', *Biomedicine & Pharmacotherapy,* 84, pp. 1393-1405. doi: 10.1016/j.biopha.2016.10.057

Wei, J.-W., Huang, K., Yang, C. and Kang, C.-S. (2017) 'Non-coding RNAs as regulators in epigenetics (Review)', *Oncol Rep,* 37(1), pp. 3-9. doi: 10.3892/or.2016.5236

Weinhold, B. (2006) 'Epigenetics: the science of change', *Environmental health perspectives,* 114(3), pp. A160-A167. doi: 10.1289/ehp.114-a160

Weissmann, S., Alpermann, T., Grossmann, V., Kowarsch, A., Nadarajah, N., Eder, C., Dicker, F., Fasan, A., Haferlach, C., Haferlach, T., Kern, W., Schnittger, S. and Kohlmann, A. (2012) 'Landscape of TET2 mutations in acute myeloid leukemia', *Leukemia,* 26(5), pp. 934-42. doi: 10.1038/leu.2011.326

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

Welsbie, D. S., Xu, J., Chen, Y., Borsu, L., Scher, H. I., Rosen, N. and Sawyers, C. L. (2009) 'Histone deacetylases are required for androgen receptor function in hormone-sensitive and castrate-resistant prostate cancer', *Cancer Res,* 69(3), pp. 958-66. doi: 10.1158/0008-5472.can-08-2216

West, A. C., Mattarollo, S. R., Shortt, J., Cluse, L. A., Christiansen, A. J., Smyth, M. J. and Johnstone, R. W. (2013) 'An intact immune system is required for the anticancer activities of histone deacetylase inhibitors', *Cancer Res,* 73(24), pp. 7265-76. doi: 10.1158/0008-5472.can-13-0890

Widschwendter, M., Fiegl, H., Egle, D., Mueller-Holzner, E., Spizzo, G., Marth, C., Weisenberger, D. J., Campan, M., Young, J., Jacobs, I. and Laird, P. W. (2007) 'Epigenetic stem cell signature in cancer', *Nat Genet,* 39(2), pp. 157-8. doi: 10.1038/ng1941

Wiklund, E. D., Bramsen, J. B., Hulf, T., Dyrskjøt, L., Ramanathan, R., Hansen, T. B., Villadsen, S. B., Gao, S., Ostenfeld, M. S., Borre, M., Peter, M. E., Ørntoft, T. F., Kjems, J. and Clark, S. J. (2011) 'Coordinated epigenetic repression of the miR-200 family and miR-205 in invasive bladder cancer', *Int J Cancer,* 128(6), pp. 1327-34. doi: 10.1002/ijc.25461

Wood, H. (2018) 'FDA approves patisiran to treat hereditary transthyretin amyloidosis', *Nature Reviews Neurology,* 14(10), pp. 570-570. doi: 10.1038/s41582-018-0065-0

Xia, C., Leon-Ferre, R., Laux, D., Deutsch, J., Smith, B. J., Frees, M. and Milhem, M. (2014) 'Treatment of resistant metastatic melanoma using sequential epigenetic therapy (decitabine and panobinostat) combined with chemotherapy (temozolomide)', *Cancer chemotherapy and pharmacology,* 74(4), pp. 691-697. doi:

Xiang, Q., Wang, C., Zhang, Y., Xue, X., Song, M., Zhang, C., Li, C., Wu, C., Li, K. and Hui, X. (2018) 'Discovery and optimization of 1-(1H-indol-1-yl) ethanone derivatives as CBP/EP300 bromodomain inhibitors for the treatment of castration-resistant prostate cancer', *European journal of medicinal chemistry,* 147, pp. 238-252. doi: 10.1016/j.ejmech.2018.01.087

Yan, W., Herman, J. G. and Guo, M. (2016) 'Epigenome-based personalized medicine in human cancer', *Epigenomics,* 8(1), pp. 119-33. doi: 10.2217/epi.15.84

Yan, W., Wu, K., Herman, J. G., Brock, M. V., Zhou, Y., Lu, Y., Zhang, Z., Yang, Y. and Guo, M. (2014) 'Epigenetic silencing of DACH1 induces the invasion and metastasis of gastric cancer by activating TGF-β signalling', *J Cell Mol Med,* 18(12), pp. 2499-511. doi: 10.1111/jcmm.12325

Yang, C., Ngo, L. and Zheng, Y. G. (2014) 'Rational design of substrate‐based multivalent inhibitors of the histone acetyltransferase Tip60', *ChemMedChem,* 9(3), pp. 537-541. doi: 10.1002/cmdc.201300478

Yang, W., Yang, S., Zhang, M., Gao, D., He, T. and Guo, M. (2017) 'ZNF545 suppresses human hepatocellular carcinoma growth by inhibiting NF-kB signaling', *Genes & cancer,* 8(3-4), pp. 528-535. doi: 10.18632/genesandcancer.137

Yang, X.-J. (2004) 'The diverse superfamily of lysine acetyltransferases and their roles in leukemia and other diseases', *Nucleic acids research,* 32(3), pp. 959-976. doi: 10.1093/nar/gkh252

Yang, X., Lay, F., Han, H. and Jones, P. A. (2010) 'Targeting DNA methylation for epigenetic therapy', *Trends in pharmacological sciences,* 31(11), pp. 536-546. doi: 10.1016/j.tips.2010.08.001

Yin, H. and Lin, H. (2007) 'An epigenetic activation role of Piwi and a Piwi-associated piRNA in Drosophila melanogaster', *Nature,* 450(7167), pp. 304-8. doi: 10.1038/nature06263

Yoshida, M., Kijima, M., Akita, M. and Beppu, T. (1990) 'Potent and specific inhibition of mammalian histone deacetylase both in vivo and in vitro by trichostatin A', *Journal of Biological Chemistry,* 265(28), pp. 17174-17179. doi:

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52

You, J. S. and Jones, P. A. (2012) 'Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin?', *Cancer Cell,* 22(1), pp. 9-20. doi: 10.1016/j.ccr.2012.06.008

Zeller, C., Dai, W., Steele, N. L., Siddiq, A., Walley, A. J., Wilhelm-Benartzi, C. S., Rizzo, S., van der Zee, A., Plumb, J. A. and Brown, R. (2012) 'Candidate DNA methylation drivers of acquired cisplatin resistance in ovarian cancer identified by methylome and expression profiling', *Oncogene,* 31(42), pp. 4567-76. doi: 10.1038/onc.2011.611

Zhang, H., Zhang, X., Clark, E., Mulcahey, M., Huang, S. and Shi, Y. G. (2010) 'TET1 is a DNA-binding protein that modulates DNA methylation and gene transcription via hydroxylation of 5-methylcytosine', *Cell Res,* 20(12), pp. 1390-3. doi: 10.1038/cr.2010.156

Zhou, L., Cheng, X., Connolly, B., Dickman, M., Hurd, P. and Hornby, D. (2002) 'Zebularine: a novel DNA methylation inhibitor that forms a covalent complex with DNA methyltransferases', *Journal of molecular biology,* 321(4), pp. 591-599. doi: 10.1016/S0021-9258(17)44885-X

Zhou, W., Wang, J., Man, W. Y., Zhang, Q. W. and Xu, W. G. (2015) 'siRNA silencing EZH2 reverses cisplatin-resistance of human non-small cell lung and gastric cancer cells', *Asian Pac J Cancer Prev,* 16(6), pp. 2425-30. doi: 10.7314/apjcp.2015.16.6.2425

Zhu, H., Bengsch, F., Svoronos, N., Rutkowski, M. R., Bitler, B. G., Allegrezza, M. J., Yokoyama, Y., Kossenkov, A. V., Bradner, J. E., Conejo-Garcia, J. R. and Zhang, R. (2016) 'BET Bromodomain Inhibition Promotes Anti-tumor Immunity by Suppressing PD-L1 Expression', *Cell Rep,* 16(11), pp. 2829-2837. doi: 10.1016/j.celrep.2016.08.032

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
24/04/2024 18:56:02 EEST - 18.117.196.52