



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

«Μυοσκελετική Ογκολογία: Διάγνωση-Θεραπεία-Έρευνα»

Επιγενετικοί Μηχανισμοί και η Σημασία τους στην Καρκινογένεση



Καθ. Χριστίνα Πιπέρη

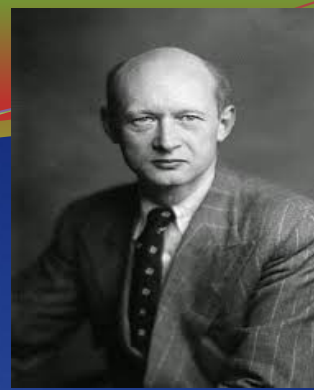
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

cpiperi@med.uoa.gr

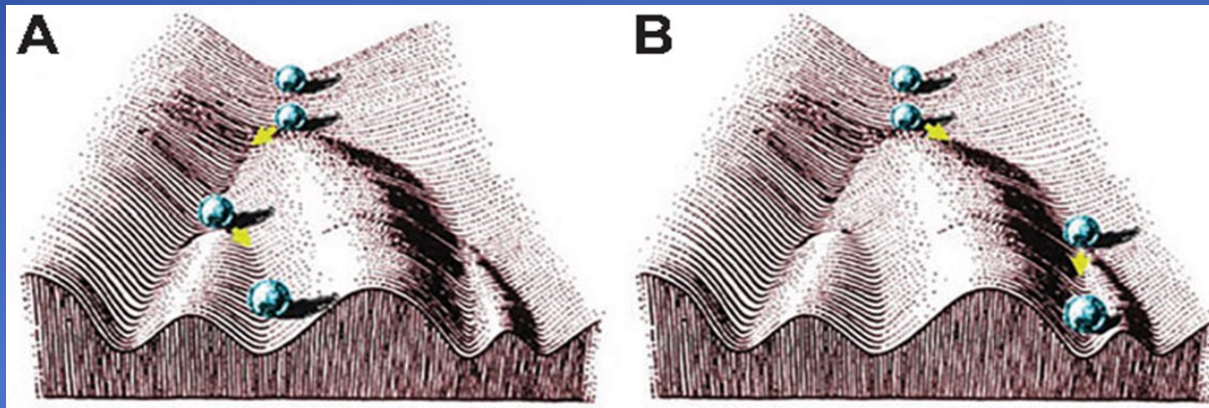
Εκπαιδευτικά αντικείμενα

- Βασικές αρχές Επιγενετικής
- Μηχανισμοί επιγενετικών τροποποιήσεων
- Ο ρόλος των επιγενετικών μηχανισμών στην καρκινογένεση
- Κλινική σημασία επιγενετικών τροποποιήσεων στους διάφορους τύπους όγκων (βιοδείκτες, ανταπόκριση στη θεραπεία)
- Μεθοδολογία ανίχνευσης επιγενετικών αλλαγών
- Στοχευμένη επιγενετική θεραπεία στον καρκίνο

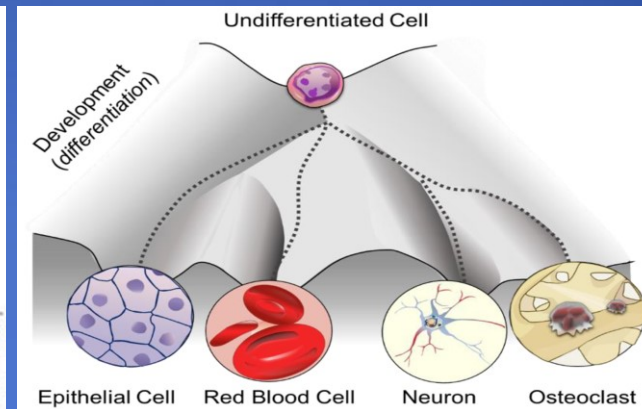
Επιγενετική



- Η εξέλιξη της γενετικής, 'επί' της 'γενετικής'
- Κλάδος της Βιολογίας που μελετά τις αιτιώδεις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των γονιδίων και των προϊόντων τους, χάρη στις οποίες διαμορφώνεται ο φαινότυπος
- 1942 Conrad H. Waddington: η διαμόρφωση του **φαινοτύπου**, δηλαδή οι μορφολογικές και λειτουργικές ιδιότητες ενός οργανισμού, καθορίζονται από το γονιδίωμα υπό την **επήρεια του περιβάλλοντος**

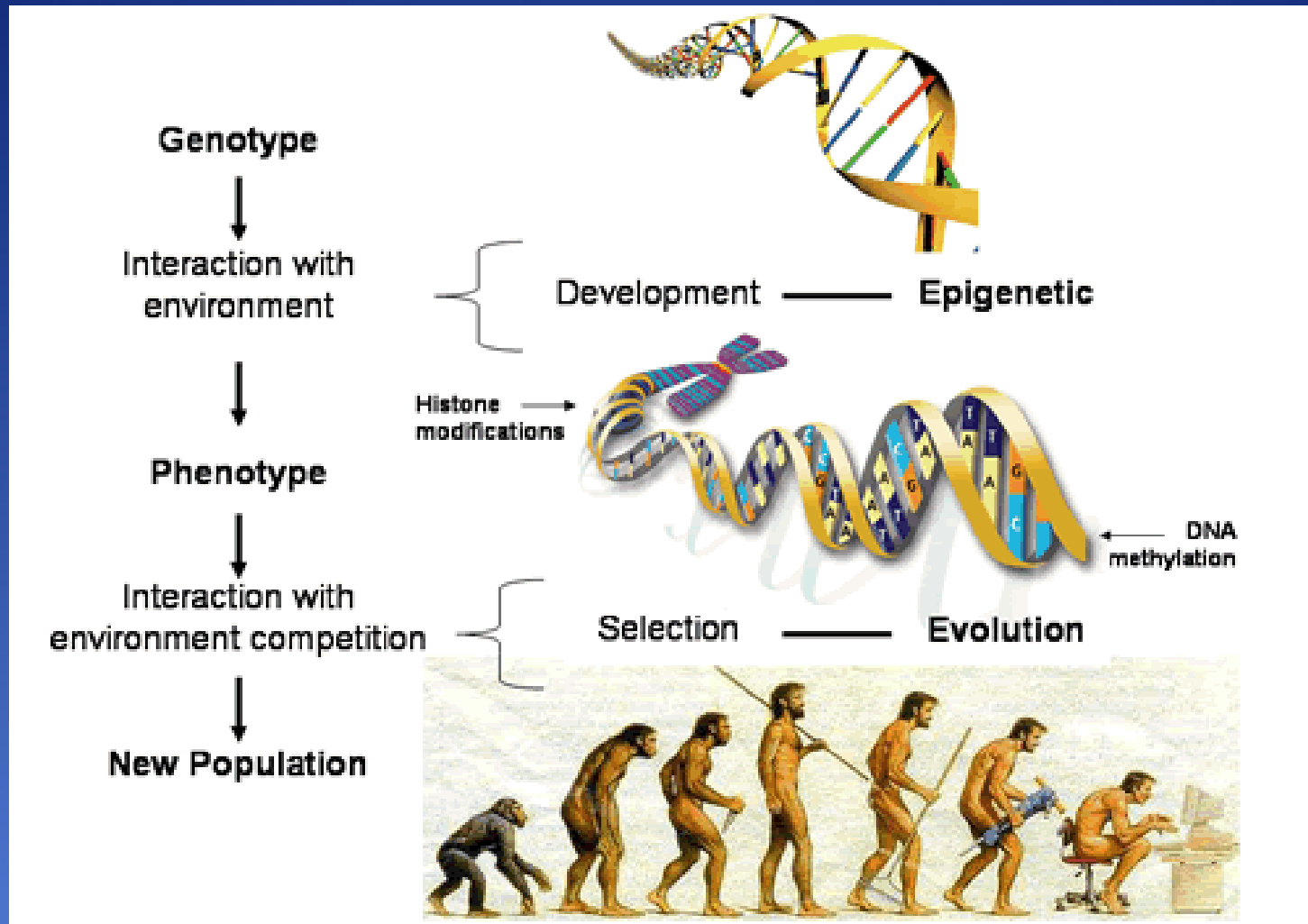


Conrad Waddington's epigenetic landscape



Μοντέλο κυτταρικής διαφοροποίησης και λειτουργίας

Επιγενετική: η γέφυρα μεταξύ γονοτύπου και φαινοτύπου



- Το **επιγονιδίωμα** αντιπροσωπεύει τη δυνατότητα του οργανισμού να εξελιχθεί σε συνάρτηση με το **περιβάλλον**

Επιγονιδίωμα (Epigenome)

Το σύνολο των χημικών τροποποιήσεων στο DNA και στη χρωματίνη που **αλλάζουν τη γονιδιακή έκφραση** χωρίς να επηρεάζουν την πρωτογενή αλληλουχία του DNA

-Τροποποιούν το τελικό προϊόν του γονιδίου, παρέχοντας ένα είδος μεταγραφικού ελέγχου (γονιδιακή ρύθμιση)

-Προκαλούν μια **ημιμόνιμη αποσιώπηση περιοχών** του γονιδιώματος ή ολόκληρων χρωμοσωμάτων, **κληροδοτούνται στον απόγονο** που προκύπτει από κυτταρική διαίρεση

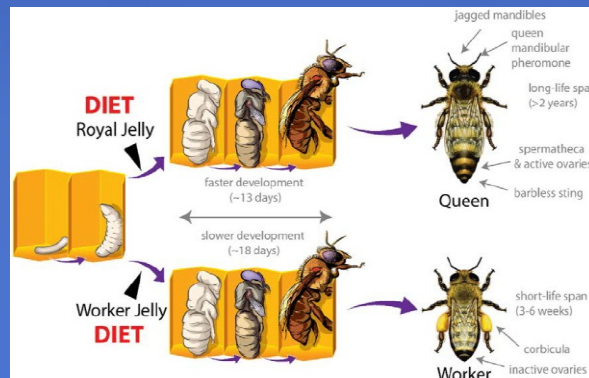
-**Απαραίτητες** για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού (κυτ. διαφοροποίηση, φαινοτυπικές διαφορές, αποσιώπηση χρωμοσώματος X, γονιδιωματικό εντύπωμα)



Ίδιο DNA αλλά διαφορετικό επιγονιδίωμα



Μονοζυγωτικά δίδυμα

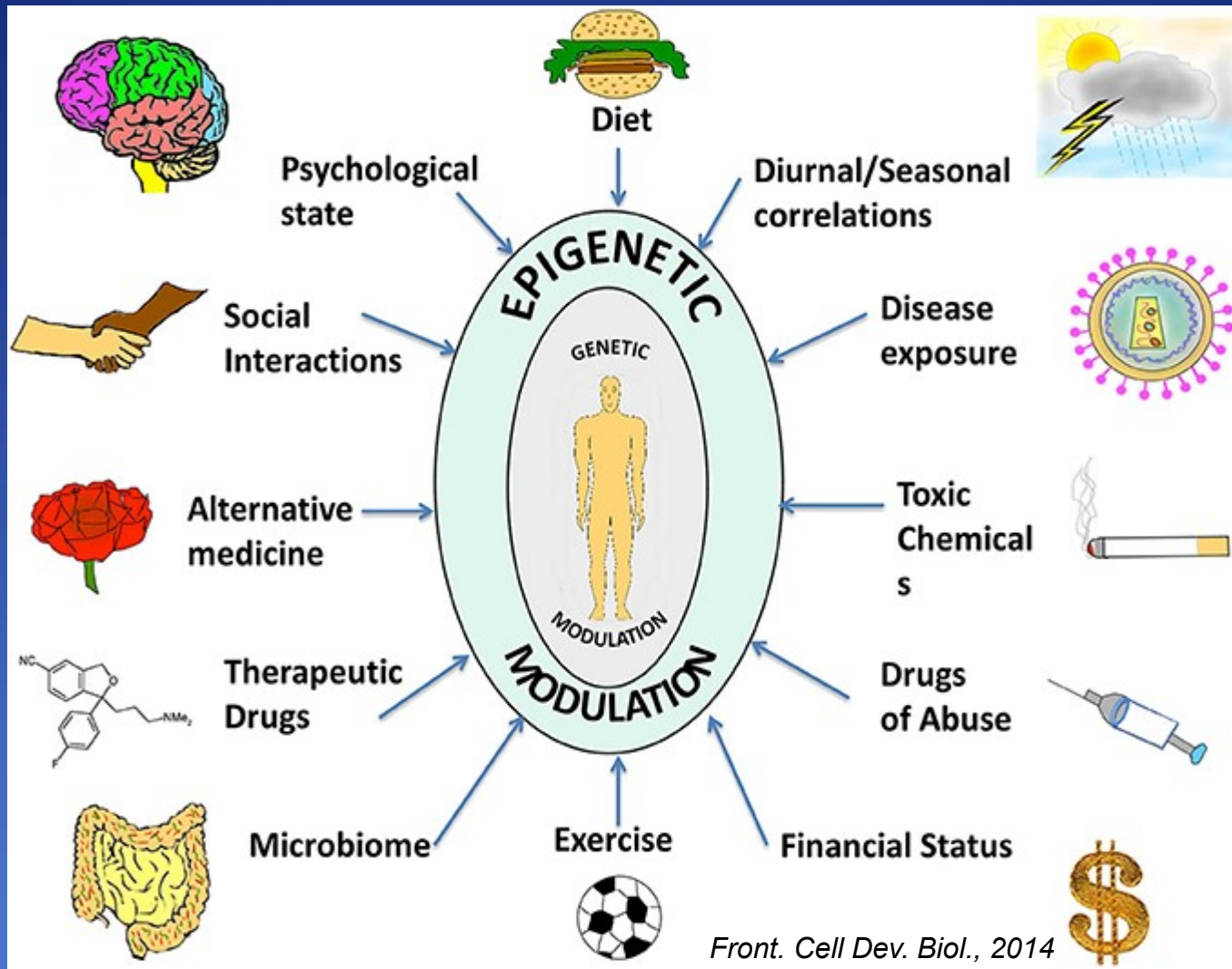


Βασίλισσες-εργάτες μέλισσες



Κάμπιες - πεταλούδες

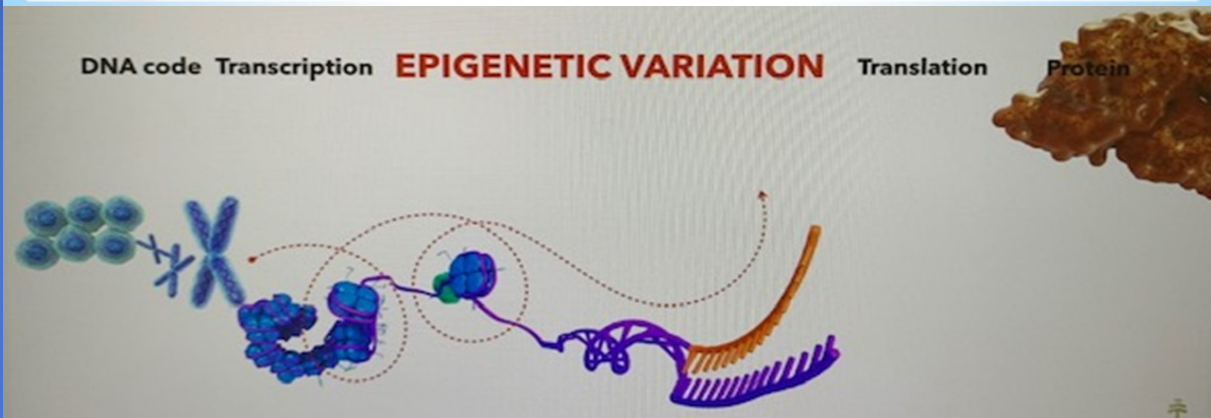
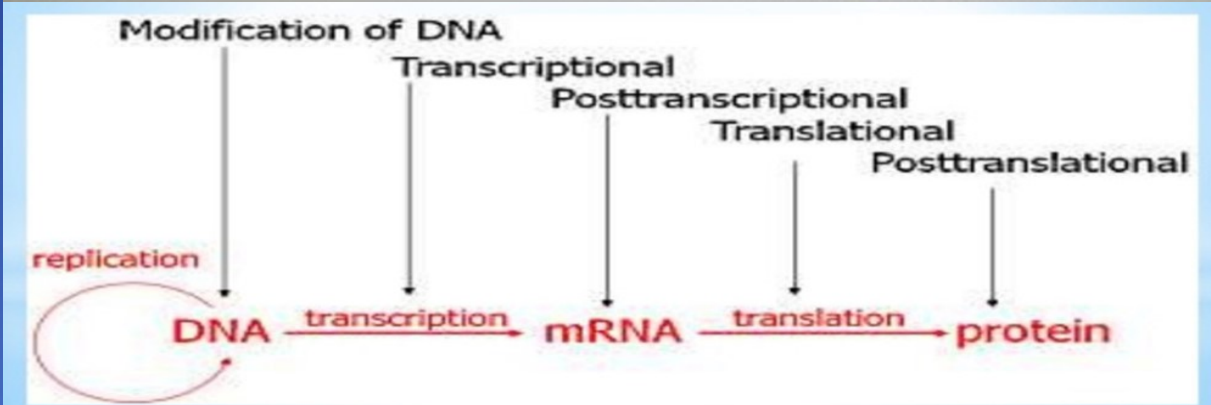
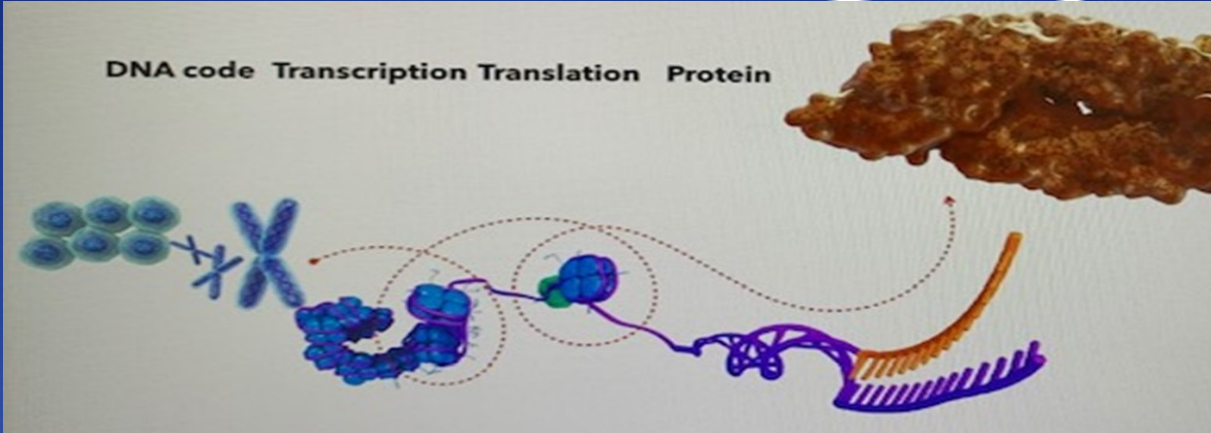
Περιβαλλοντικοί παράγοντες με επιγενετική δράση



- Η **ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ**, όπως και η γενετική πληροφορία, **κληρονομείται**, αλλά σε αντίθεση με τη γενετική πληροφορία, **είναι αναστρέψιμη (επιγενετική πλαστικότητα)** και δύναται να επηρεαστεί από διάφορα ερεθίσματα ή περιβαλλοντικούς παράγοντες

Κεντρικό δόγμα

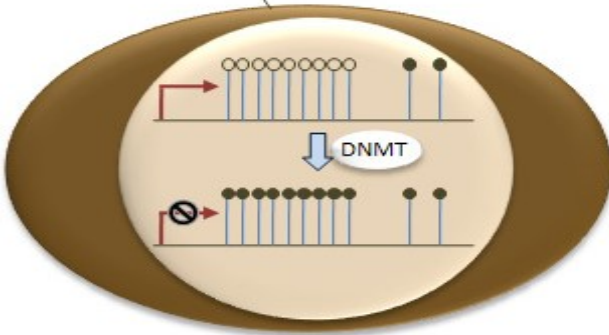
Η ροή της γενετικής πληροφορίας από τα νουκλεϊκά οξέα στην πρωτεΐνη



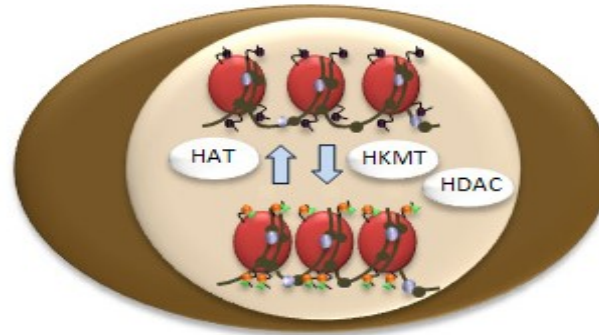
Επιγενετικοί μηχανισμοί

Μηχανισμοί ελέγχου των γονιδίων

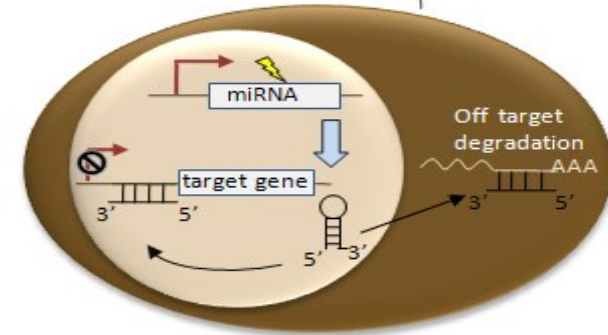
DNA methylation



Histone modifications



miRNAs



Μεθυλίωση του DNA

- Υπερμεθυλίωση (προσθήκη μεθυλομάδων)
- Υπομεθυλίωση (αφαίρεση μεθυλομάδων από φυσ. μεθυλ-κυτοσίνες στο DNA)

Τροποποιήσεις ιστονών

Μεθυλίωση, ακετυλίωση, φωσφορυλίωση, ουβικουτίνωση, γλυκοζυλίωση, ADP-ριβοσυλίωση, σουμυιλίωση αμινοξέων (K, S, T, R)

Μη-κωδικοποιημένα RNA (Non-coding RNA (ncRNAs))

Ρύθμιση της μετα-μεταγραφικής γονιδιακής έκφρασης μέσω πρόσδεσης

I. Μεθυλίωση του DNA

- Προσθήκη μεθυλομάδων σε βάσεις κυτοσίνης C

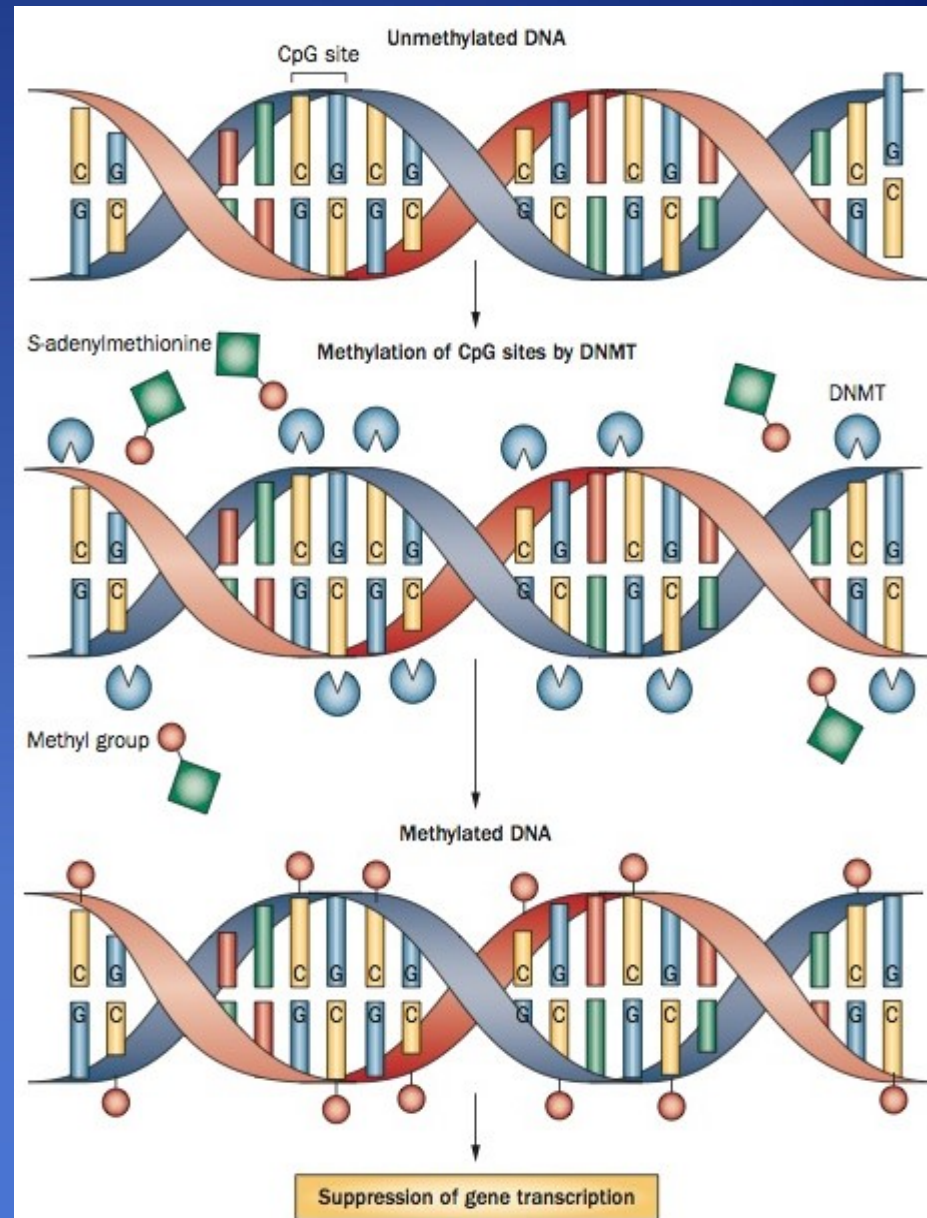
- Πρότυπο μεθυλίωσης: δεν είναι τυχαίο, αλληλουχίες 5'-CG-3' (νησίδια CpG)
Συνήθως στους υποκινητές γονιδίων

- DNA μεθυλοτρανσφεράσες (DNMTs)

Dnmt1: μεθυλίωση διατήρησης

Dnmt3a: *de novo* μεθυλίωση

Dnmt3b: *de novo* μεθυλίωση



Τύποι Μεθυλίωσης του DNA

Μεθυλίωση διατήρησης: προσθήκη μεθυλομάδων στο νεοσυντεθημένο κλώνο DNA απέναντι από τις μεθυλιωμένες θέσεις στο μητρικό κλώνο

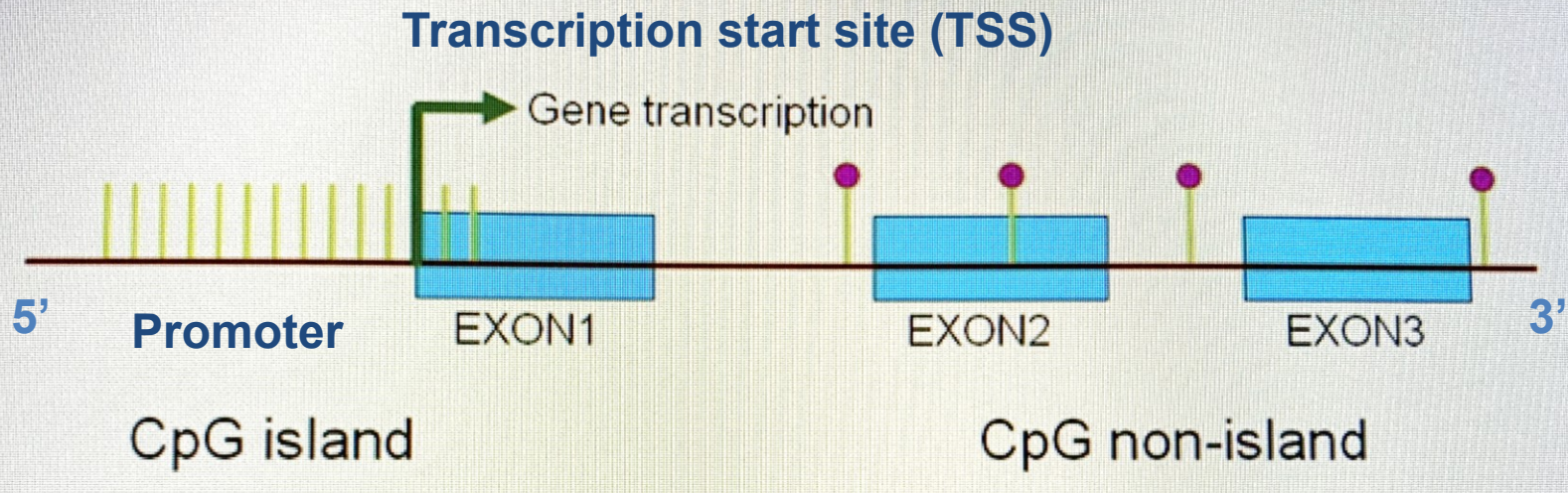
- διαδραματίζεται μετά την αντιγραφή του γονιδιώματος
- τα 2 θυγατρικά μόρια DNA διατηρούν το πρότυπο μεθυλίωσης του μητρικού μορίου
- κληρονομείται μετά τη κυτταρική διαίρεση

De novo μεθυλίωση: προσθήκη μεθυλομάδων σε εντελώς νέες θέσεις

- αλλαγή προτύπου μεθυλίωσης σε μια εντοπισμένη περιοχή του γονιδιώματος



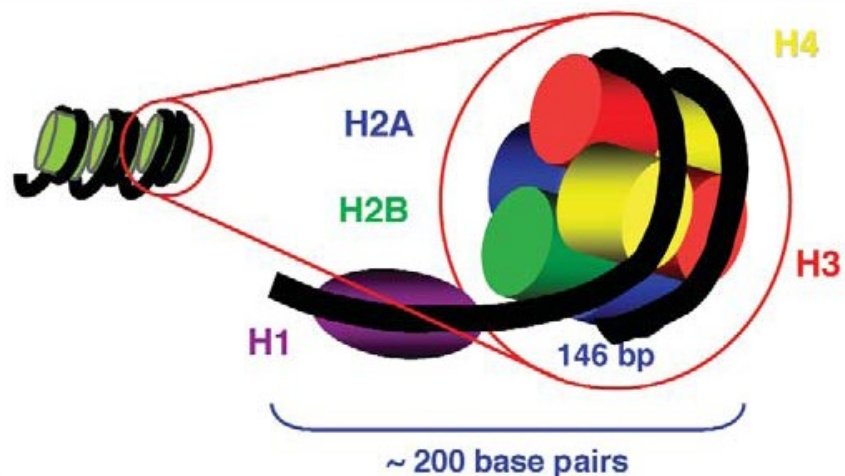
Βασική δομή ενός γονιδίου 'Φυσιολογικά' πρότυπα μεθυλίωσης



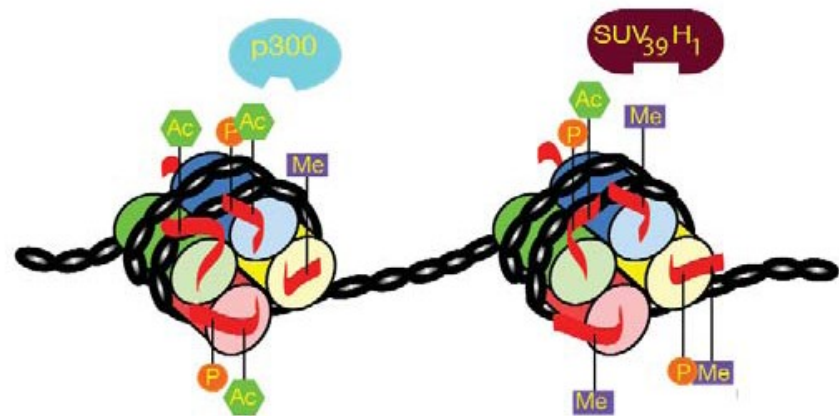
- Γενικά μη μεθυλιωμένα σε φυσιολογικά κύτταρα
- Η από-μεθυλίωση ευνοεί τη γονιδιακή μεταγραφή
- Μεθυλίωση των νησιδίων CpG:
 - γονιδιακή αποτύπωση
 - απενεργοποίηση του χρωμ. X

- Γενικά μεθυλιωμένα σε φυσιολογικά κύτταρα
- Η μεθυλίωση ευνοεί τη γονιδιακή μεταγραφή
- Η μεθυλίωση αποτρέπει τον ανασυνδυασμό και την ενεργοποίηση μεταθετών στοιχείων

Ρύθμιση νουκλεοσωματίου μέσω χημικών τροποποιήσεων των ιστονών

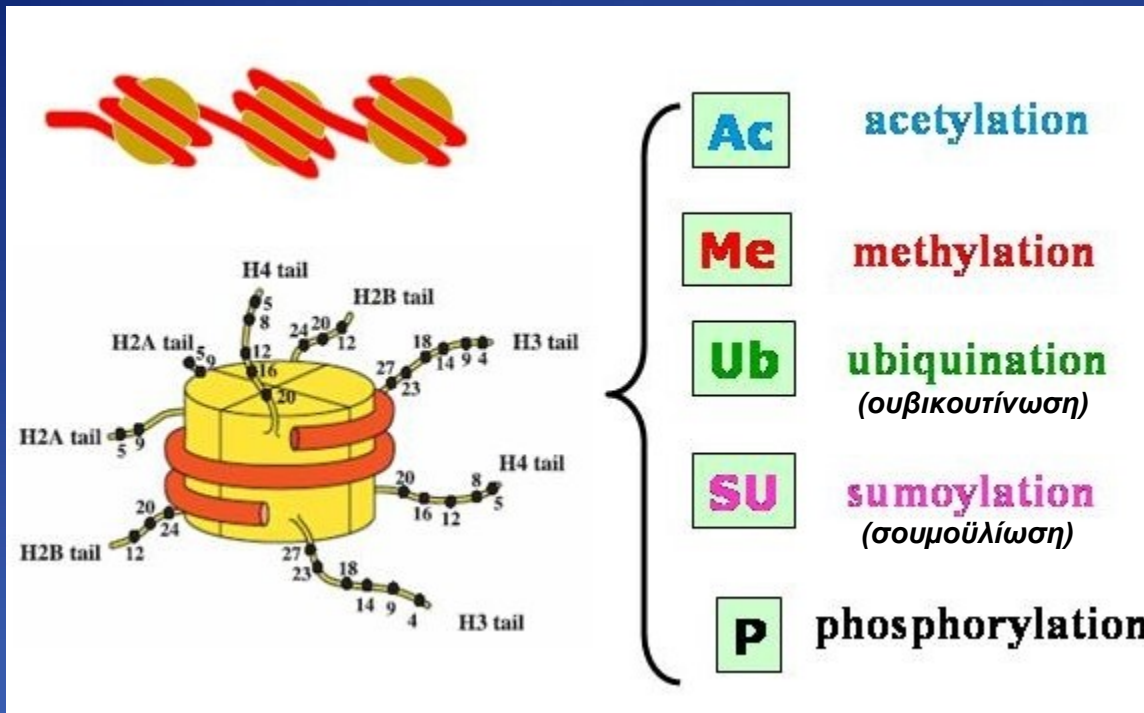


Τα νουκλεοσωμάτια αποτελούνται από **8 πυρηνικές ιστόνες** (2x H2A, H2B, H3, H4) **H1: συνδετική ιστόνη**, βοηθά στην περιέλιξη



Τα **N-άκρα** των ιστονών **H3 και H4** αποτελούν στόχο μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων (Ακ., Μεθ., Φωσφ.) επηρεάζοντας την αλληλεπίδραση DNA και ιστονών

Χημικές τροποποιήσεις των ιστονών



Λειτουργίες

Μεταγραφή, Επιδιόρθωση,
Αντιγραφή, Συμπύκνωση DNA

Μεταγραφή, Επιδιόρθωση

Μεταγραφή, Επιδιόρθωση

Μεταγραφή

Μεταγραφή, Επιδιόρθωση,
Συμπύκνωση DNA

- Απαραίτητες για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού (κυτ. διαφοροποίηση, ανάπτυξη εμβρύου, απενεργοποίηση του X χρωμοσώματος, γονιδιακή αποτύπωση)
- Δυνητικά αναστρέψιμες

Συντομογραφία τροποποιήσεων ιστονών

The Brno nomenclature
for histone modifications

H3K27me3

histone

amino acid / site

modification

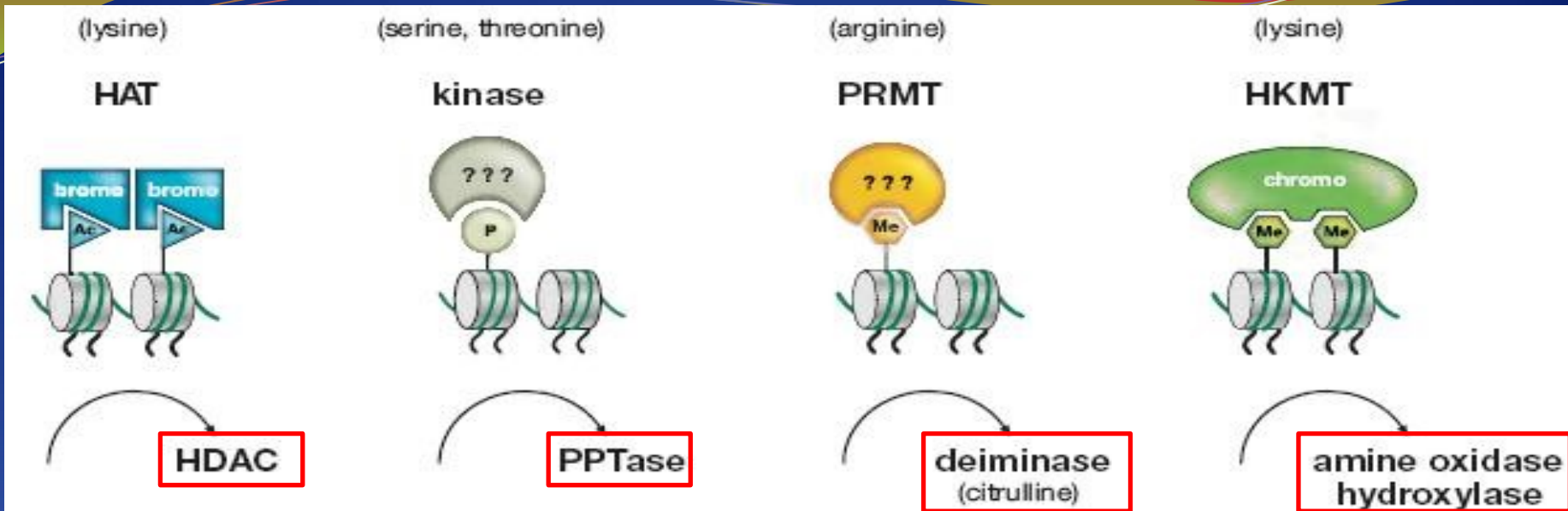
Θέσεις χημικής τροποποίησης των ιστονών – γονιδιακή ρύθμιση



Ενεργοποίηση μεταγραφής: ακετυλίωση, μεθυλίωση αργινίνης, μερική μεθυλίωση λυσινών (H₃K₄ and H₃K₃₆)

Αποσιώπηση/Καταστολή μεταγραφής: μεθυλίωση λυσινών (H₃K₉, H₃K₂₇, H₄K₂₀)

Ένζυμα χημικής τροποποίησης ιστονών



Ενζυμα τροποποίησης ιστονών

HAT: Histone acetyltransferase
Protein kinases
PRMT: protein arginine methyltransferase
HKMT: histone lysine methyltransferase

Ανταγωνιστικά ένζυμα τροποποίησης ιστονών

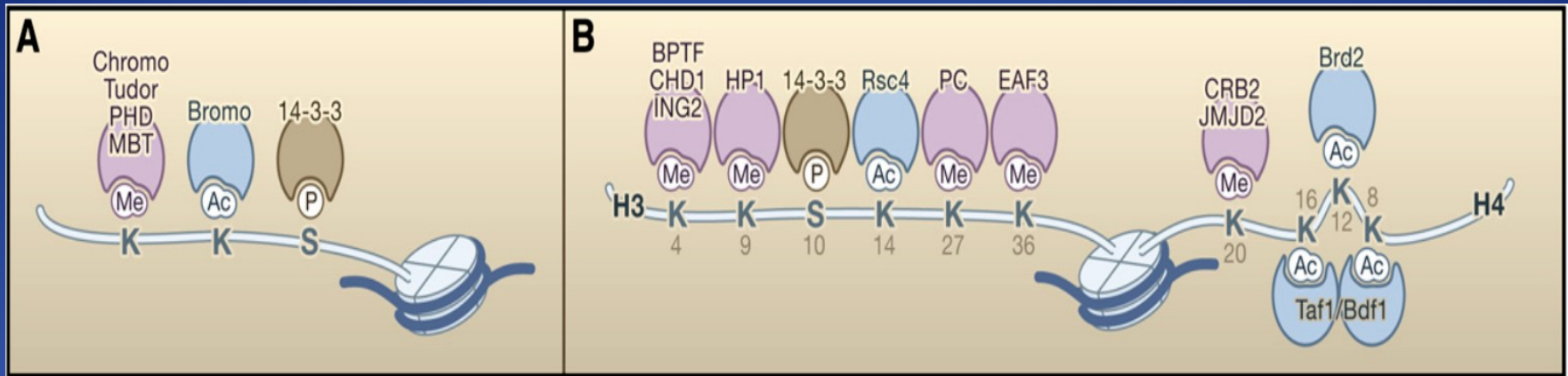
HDAC: histone deacetylase
PPTase: protein phosphatases
Deiminase
Amine oxidase hydroxylase

Ένζυμα τροποποίησης ιστονών

Enzymes that Modify Histones	Residues Modified
Acetyltransferase	
HAT1	H4 (K5, K12)
CBP/P300	H3 (K14, K18) H4 (K5, K8) H2A (K5) H2B (K12, K15)
PCAF/GCN5	H3 (K9, K14, K18)
TIP60	H4 (K5, K8, K12, K16) H3 K14
HB01 (ScESA1, SpMST1)	H4 (K5, K8, K12)
ScSAS3	H3 (K14, K23)
ScSAS2 (SpMST2)	H4 K16
ScRTT109	H3 K56
Deacetylases	
SirT2 (ScSir2)	H4 K16
Lysine Methyltransferase	
SUV39H1	H3K9
SUV39H2	H3K9
G9a	H3K9
ESET/SETDB1	H3K9
EuHMTase/GLP	H3K9
CLL8	H3K9
SpClr4	H3K9
MLL1	H3K4
MLL2	H3K4
MLL3	H3K4
MLL4	H3K4
MLL5	H3K4
SET1A	H3K4
SET1B	H3K4
ASH1	H3K4
Sc/Sp SET1	H3K4
SET2 (Sc/Sp SET2)	H3K36
NSD1	H3K36
SYMD2	H3K36
DOT1	H3K79
Sc/Sp DOT1	H3K79
Pr-SET 7/8	H4K20
SUV4 20H1	H4K20
SUV420H2	H4K20
SpSet 9	H4K20
EZH2	H3K27
RIZ1	H3K9

Enzymes that Modify Histones	Residues Modified
Lysine Demethylases	
LSD1/BHC110	H3K4
JHDM1a	H3K36
JHDM1b	H3K36
JHDM2a	H3K9
JHDM2b	H3K9
JMJD2A/JHDM3A	H3K9, H3K36
JMJD2B	H3K9
JMJD2C/GASC1	H3K9, H3K36
JMJD2D	H3K9
Arginine Methyltransferases	
CARM1	H3 (R2, R17, R26)
PRMT4	H4R3
PRMT5	H3R8, H4R3
Serine/Threonine Kinases	
Haspin	H3T3
MSK1	H3S28
MSK2	H3S28
CKII	H4S1
Mst1	H2BS14
Ubiquitilases	
Bmi/Ring1A	H2AK119
RNF20/RNF40	H2BK120
Proline Isomerases	
ScFPR4	H3P30, H3P38

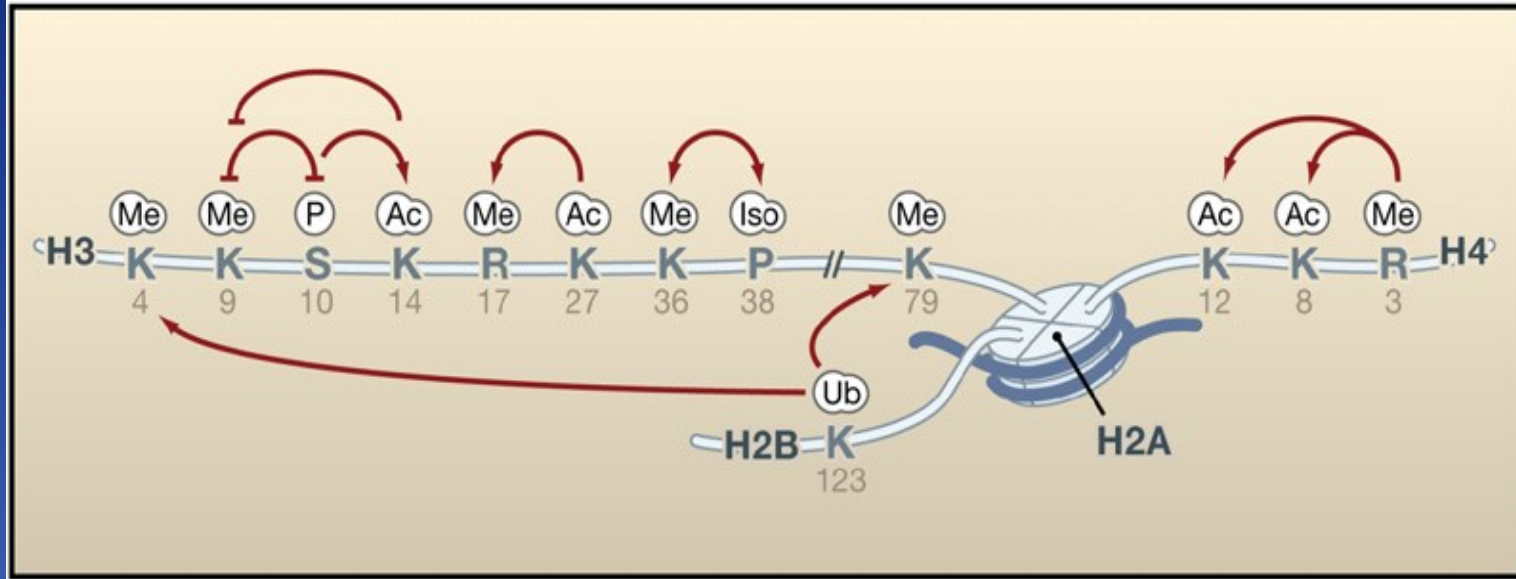
Προέλκυση πρωτεϊνών πρόσδεσης σε τροποποιημένες ιστόνες



Περιοχές πρόσδεσης στις
Me-K,
Ac-K,
R-K

Ορισμένες πρωτεΐνες προσδένουν ευκολότερα
στις τροποποιημένες ιστόνες H3 και H4

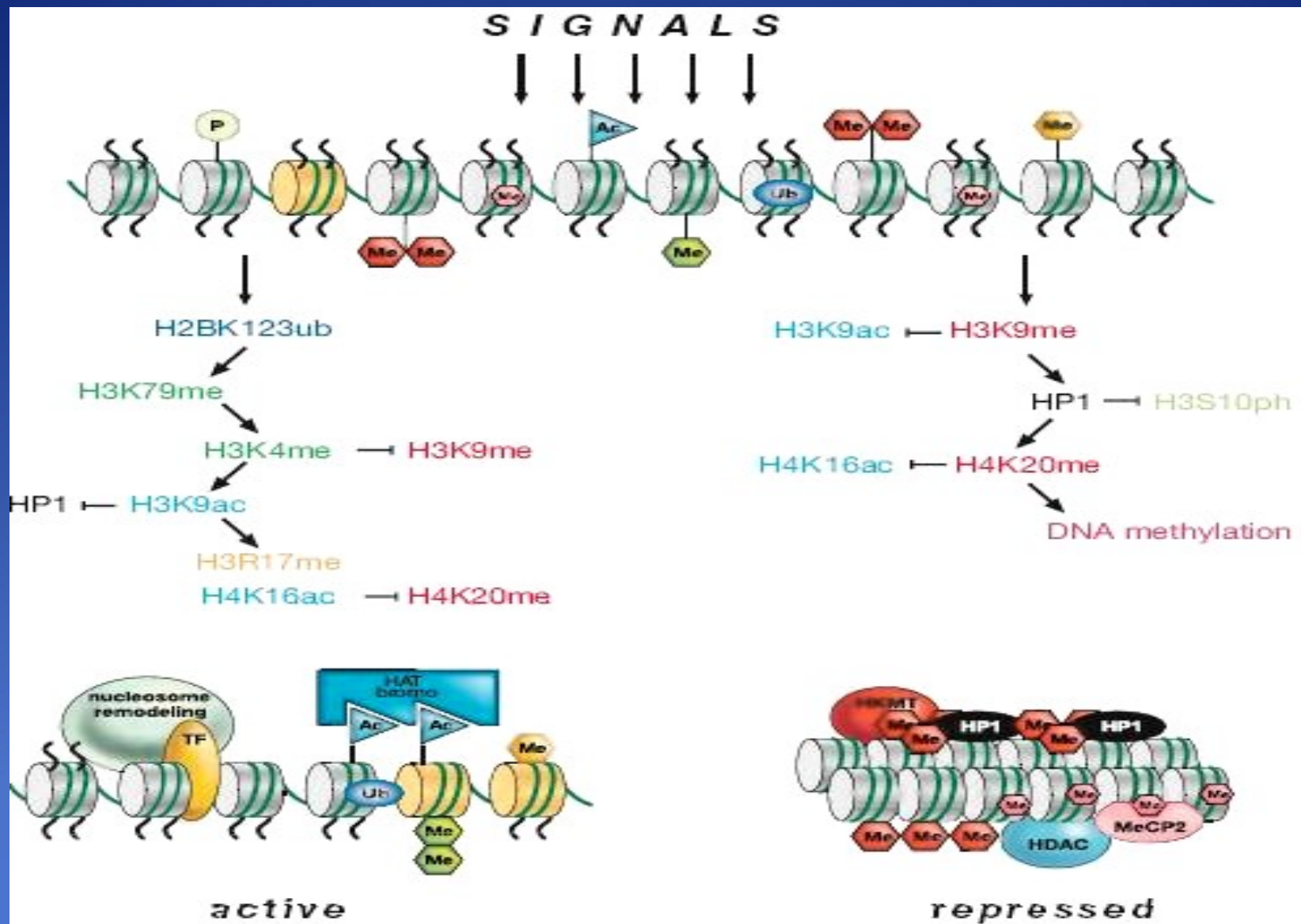
Διασυνομιλία (crosstalk) μεταξύ τροποποιήσεων ιστονών



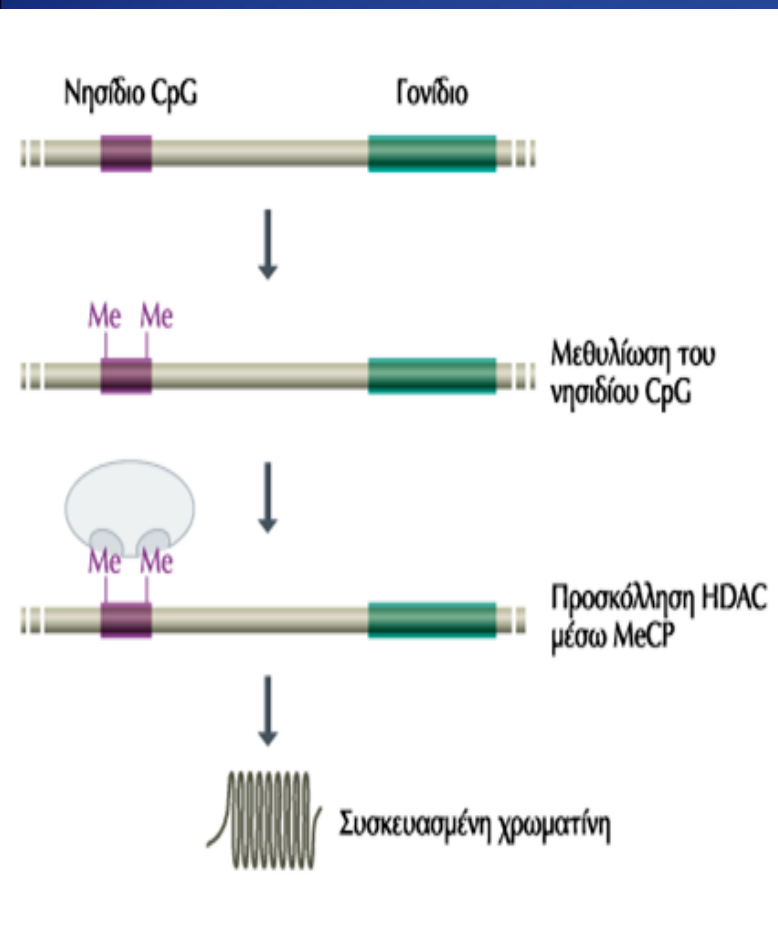
Ιδιότητες/Αλληλεπιδράσεις:

- ανταγωνιστική σχέση μεταξύ τροποποιήσεων σε ίδιο κατάλοιπο, πχ. Μεθ./Ακ. Λυσίνης
- παρεμπόδιση πρόσδεσης μιας πρωτεΐνης από γειτονική τροποποίηση
- αλλαγή της καταλυτικής ικανότητας ενός ενζύμου λόγω τροποποίησης της θέσης πρόσδεσης του υποστρώματος
- αποτελεσματικότερη αναγνώριση υποστρώματος από κάποια ένζυμα κατόπιν χημικής τροποποίησης

Συνδυασμός τροποποιήσεων στη χρωματίνη ρυθμίζει τη μεταγραφή γονιδίων



Αλληλεπίδραση μεθυλίωσης του DNA με τροποποιήσεις ιστονών

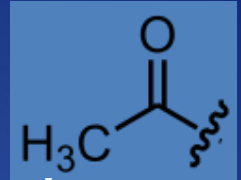


Μεθυλίωση του CpG παρέχει **σήματα αναγνώρισης** για την πρωτεΐνη που προσδένεται σε μεθυλο-CpG (**MeCP**) ενός συμπλόκου απακετυλάσης ιστονών (HDAC)

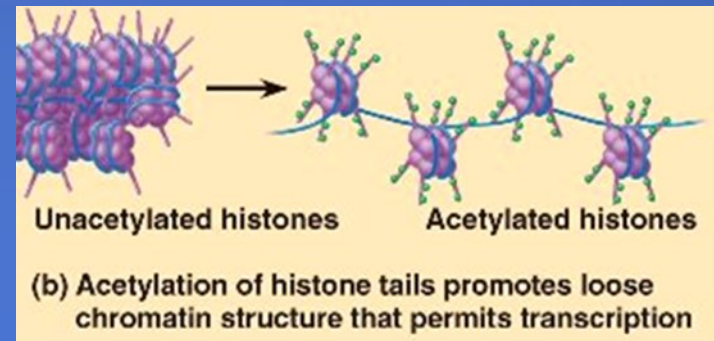
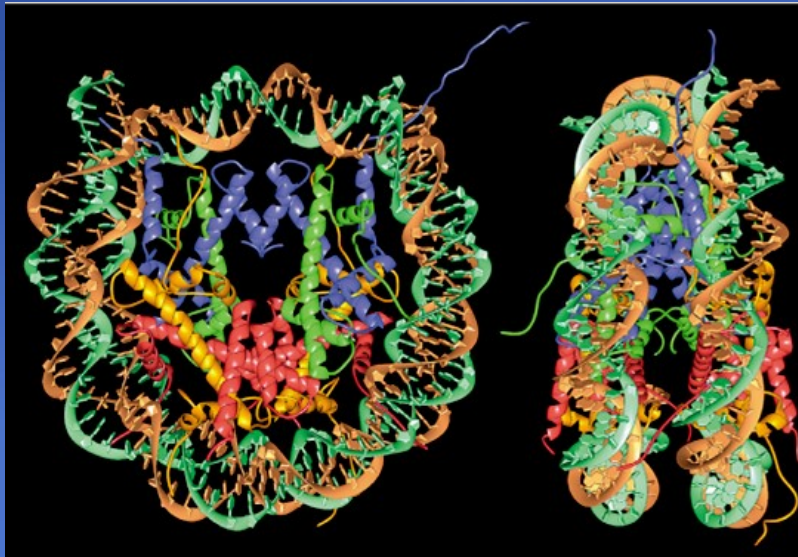
Η HDAC τροποποιεί τη χρωματίνη στη περιοχή του CpG και **αδρανοποιεί το γονίδιο**

Λειτουργικές επιπτώσεις των χημικών τροποποιήσεων

Ακετυλίωση: προσθήκη **ακετυλομάδων** σε κατάλοιπα **λυσίνης** στα N-τελικά άκρα –σχηματισμός ουρών που προεξέχουν από το πυρήνα του νουκλεοσωματίου



- Η ακετυλίωση μειώνει τη συγγένεια των ιστονών για το DNA –επιτρέπει τη ‘χαλαρή’ δομή (ευχρωματίνη)
- **Μειώνει την αλληλεπίδραση** μεταξύ διαφορετικών νουκλεοσωματίων – αποσταθεροποιεί την ίνα της χρωματίνης των 30 nm



Οι οικογένειες των ακετυλοτρανσφερασών (HAT)

- Οι ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών (HAT, histone acetyltransferases) ανακαλύφθηκαν το 1996 : προσθέτουν ακετυλομάδες στις ιστόνες
- GNAT ή GCN5-σχετιζόμενες ακετυλοτρανσφεράσες (Gcn5-related N-acetyltransferases): συστατικά των SAGA, ADA, TFTC
 - ενεργοποίηση μεταγραφής γονιδίων
 - επιδιόρθωση ορισμένων τύπων βλαβών του DNA, πχ. βλάβες που επάγονται από υπεριώδη ακτινοβολία
- CBP/p300 (CREB-binding protein) ρυθμίζουν:
 - κυτταρική διαφοροποίηση
 - κυτταρικό πολλαπλασιασμό
 - απόπτωση
- MYST (MOZ/YBF2/SAS2/TIP60)
 - ενεργοποίηση μεταγραφής
 - επιδιόρθωση DNA
 - ενεργοποίηση κυτταρικού κύκλου

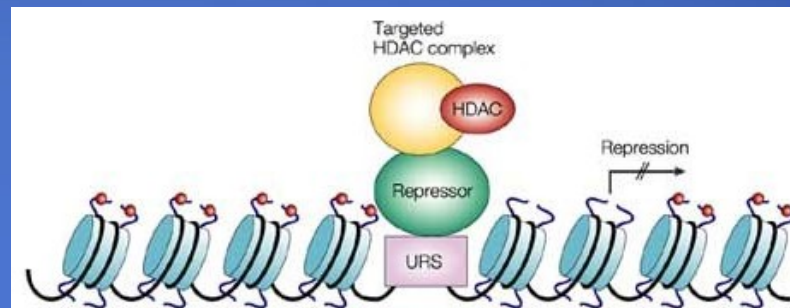
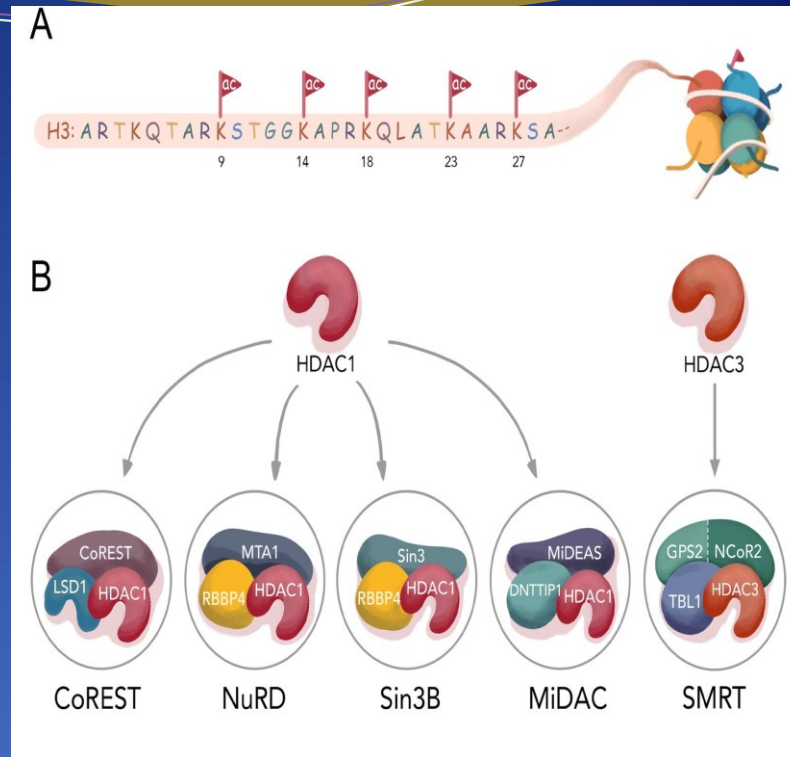
Η απακετυλίωση των ιστονών καταστέλλει ενεργές περιοχές του γονιδιώματος

- Η ακετυλίωση είναι αντιστρεπτή
- Δράση **απακετυλασών των ιστονών** (HDAC, histone deacetylases): αφαίρεση ακετυλομάδων από τις ουρές των ιστονών
- **Ενεργότητα απακετυλασών συνδέεται με αποσιώπηση γονιδίων**
- 1996: πρώτη HDAC₁ των θηλαστικών, σχετίζεται με την πρωτεΐνη της ζύμης Rpd3, αναστολέας της μεταγραφής
- 4 κατηγορίες **HDACs**:
 - **Class I**: HDAC_{1, 2, 3, 8} εντοπίζονται στον πυρήνα
 - **Class II**: HDAC_{4, 5, 6, 7, 9, 10} (πυρήνας, κυτταρόπλασμα)
 - **Class III**: sirtuins (SIRT 1-7)
 - **Class IV**: HDAC₁₁ (χαρακτηριστικά των class I, II)Χρειάζονται **Zn⁺** για καταλυτική ικανότητα (οι SIRTs χρειάζονται NAD)

Οι HDAC περιέχονται σε πολύπρωτεϊνικά σύμπλοκα:

- το σύμπλοκο **Sin3** των θηλαστικών αποτελείται από 7 πρωτεΐνες, μεταξύ άλλων την HDAC1, HDAC2 και άλλες επικουρικές που συνεισφέρουν στη ικανότητα πρόσδεσης των ιστονών. Προσδένει σε μεθυλιωμένο DNA. Εμπλέκεται στη καρκινογένεση

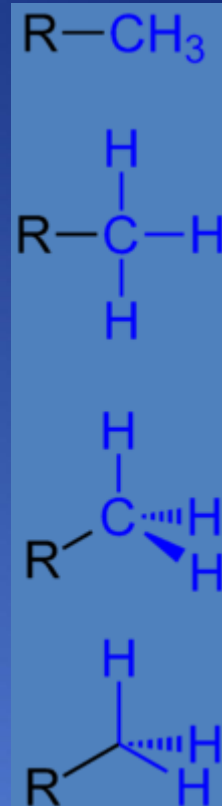
- το σύμπλοκο **NuRD** των θηλαστικών, συνδυάζει τη HDAC1, HDAC2 με διαφορετική ομάδα επικουρικών πρωτεϊνών. Προσδένει σε μεθυλιωμένο DNA. Δρα ως τυπική μηχανή αναδιοργάνωσης νουκλεοσωματίων



Μεθυλίωση ιστονών

Μεθυλίωση καταλοίπων αργινίνης και λυσίνης στα N-τελικά άκρα των ιστονών H₃ και H₄.

- Μακροπρόθεσμη διαδικασία, δυνητικά αναστρέψιμη, διαμεσολαβείται από τις **μεθυλτρανσφεράσες**
- Μεθυλίωση στις H₃K₄, H₃K₃₆, H₃K₇₉ → ενεργοποίηση μεταγραφής
- Μεθυλίωση στις H₃K₉, H₃K₂₇, H₃K₂₀ → αναστολή μεταγραφής
- Συνήθως οι **μονές μεθυλιώσεις** στις H₃K₄, H₃K₃₆, H₄K₂₀, H₃K₇₉, H₂BK₅ συνδέονται με γονιδιακή ενεργοποίηση
- Οι **τρι-μεθυλιώσεις** στις H₃K₂₇, H₃K₉, H₃K₇₉ οδηγούν σε αναστολή της μεταγραφής



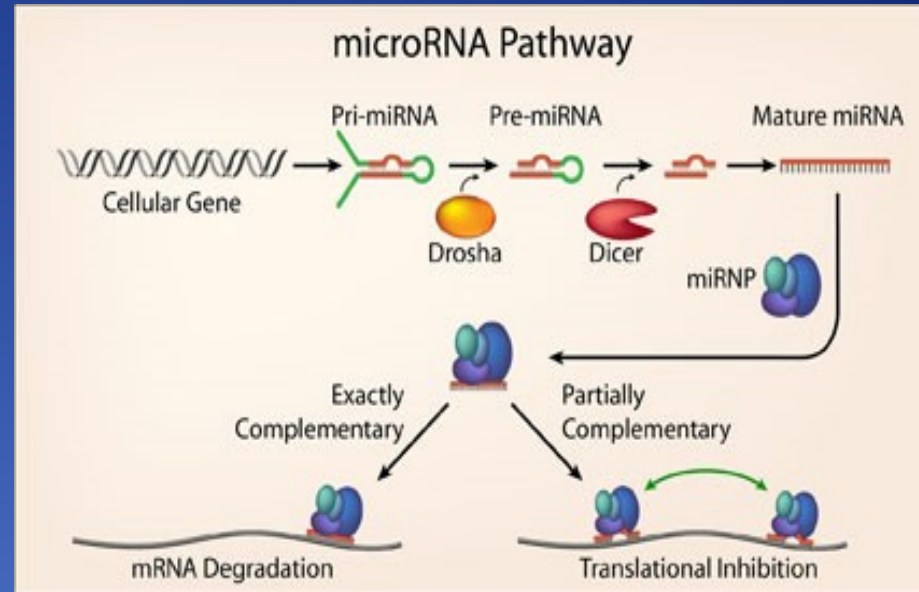
Άλλα είδη τροποποίησης των ιστονών

- **Φωσφορυλίωση** καταλοίπων σερίνης στα N-τελικά άκρα των ιστονών H₂A, H₂B, H₃ και H₄
 - Η φωσφορυλίωση της H₃ και της συνδετικής ιστόνης: συνδέεται με το σχηματισμό μεταφασικών χρωμοσωμάτων
- **Ουμπικουτίνωση** καταλοίπων λυσίνης στα C-τελικά άκρα των ιστονών H₂A και H₂B. Προσθήκη της μικρής πρωτεΐνης ουμπικουτίνης
 - Η ουμπικουτίνωση της H₂B: επιδρά στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου
- **Σουμοϋλίωση**, προσθήκη της πρωτεΐνης SUMO
 - παρόμοια δράση με την ουμπικουτίνωση, παίζει ανασταλτικό ρόλο στη μεταγραφή καθώς ανταγωνίζεται την ακετυλίωση

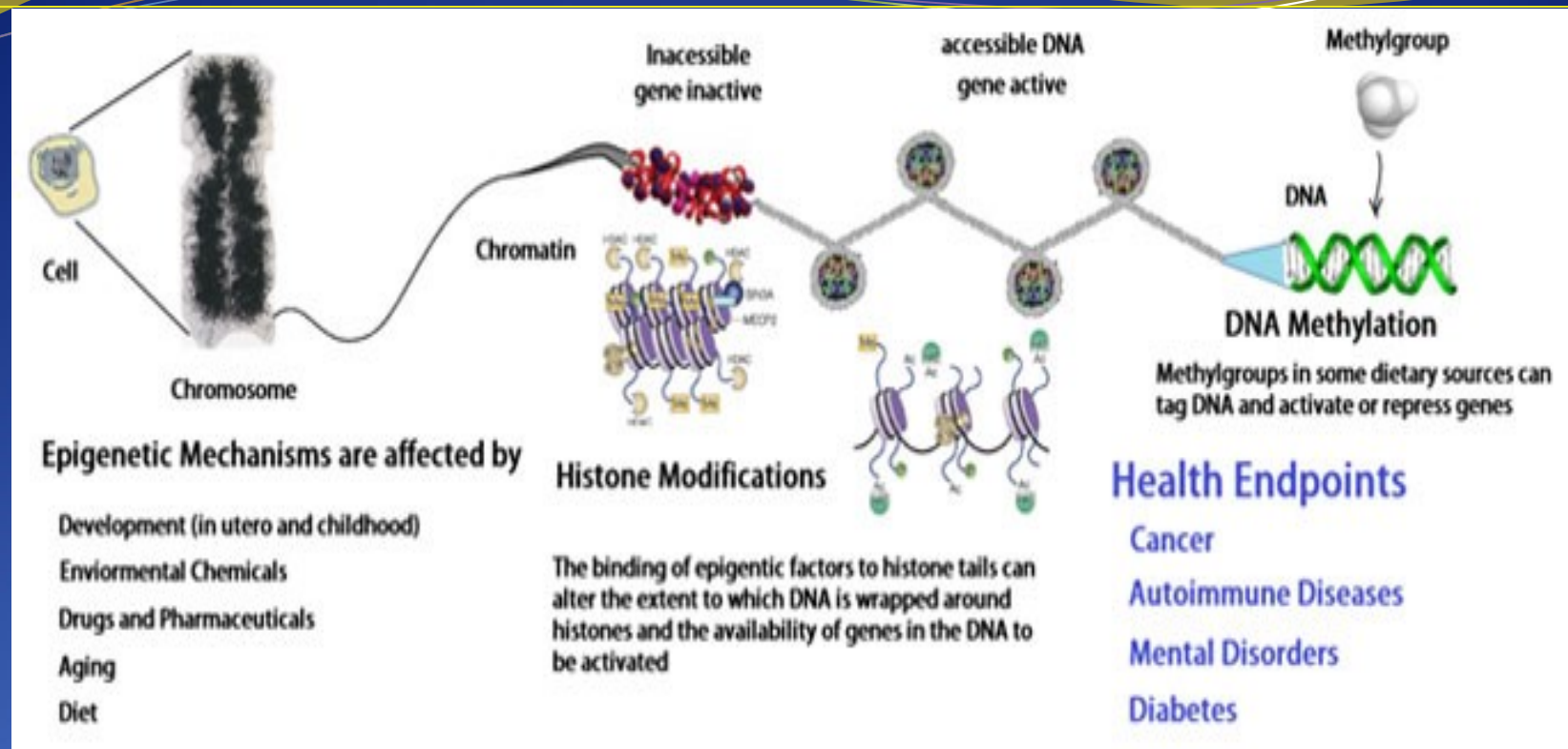
Οι εναλλακτικοί αυτοί τύποι τροποποίησης επηρεάζουν τη δομή της χρωματίνης και τη δραστηριότητα του κυττάρου

III. Μη-κωδικοποιημένα RNA (miRNA, Non-coding RNA (ncRNAs))

- **miRNA (micro-RNA):**
μικρά μη κωδικοποιημένα RNA
- 20-25 νουκλεοτίδια, προέρχονται από μεταγραφή του DNA, αλλά δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνη
- Ρυθμίζουν την έκφραση άλλων γονιδίων
- Επάγουν καταστολή της μεταγραφής ή αποδόμηση των mRNA στόχων
- Παίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική κυτταρική λειτουργία
- Απορρύθμιση (υπερέκφραση ή μειωμένη ρύθμιση) μέσω χρωμοσωμικών ανωμαλιών οδηγεί σε παθολογικές καταστάσεις
- Δράση ογκογονιδίων ή ογκοκατασταλτική



Η σημασία των επιγενετικών μηχανισμών

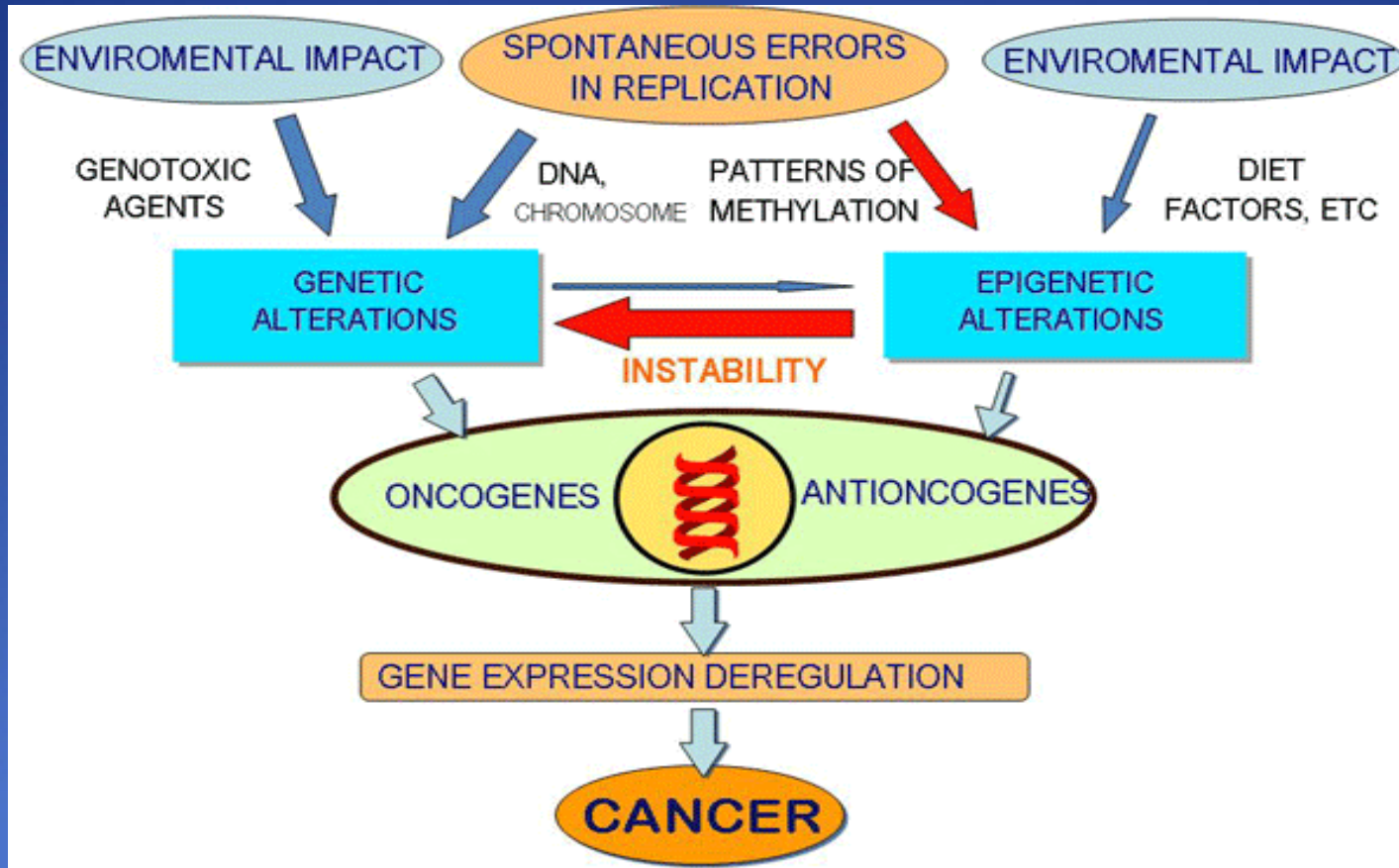


Διαταραχές των επιγενετικών μηχανισμών σχετίζονται με

- καρκινογένεση,
- νευροαναπτυξιακές και ψυχιατρικές διαταραχές,
- νοσήματα του ανοσοποιητικού συστήματος,
- διάφορα παιδιατρικά σύνδρομα (σύνδρομο Rett, ευθραύστου X, Prader-Willi, Angelman)

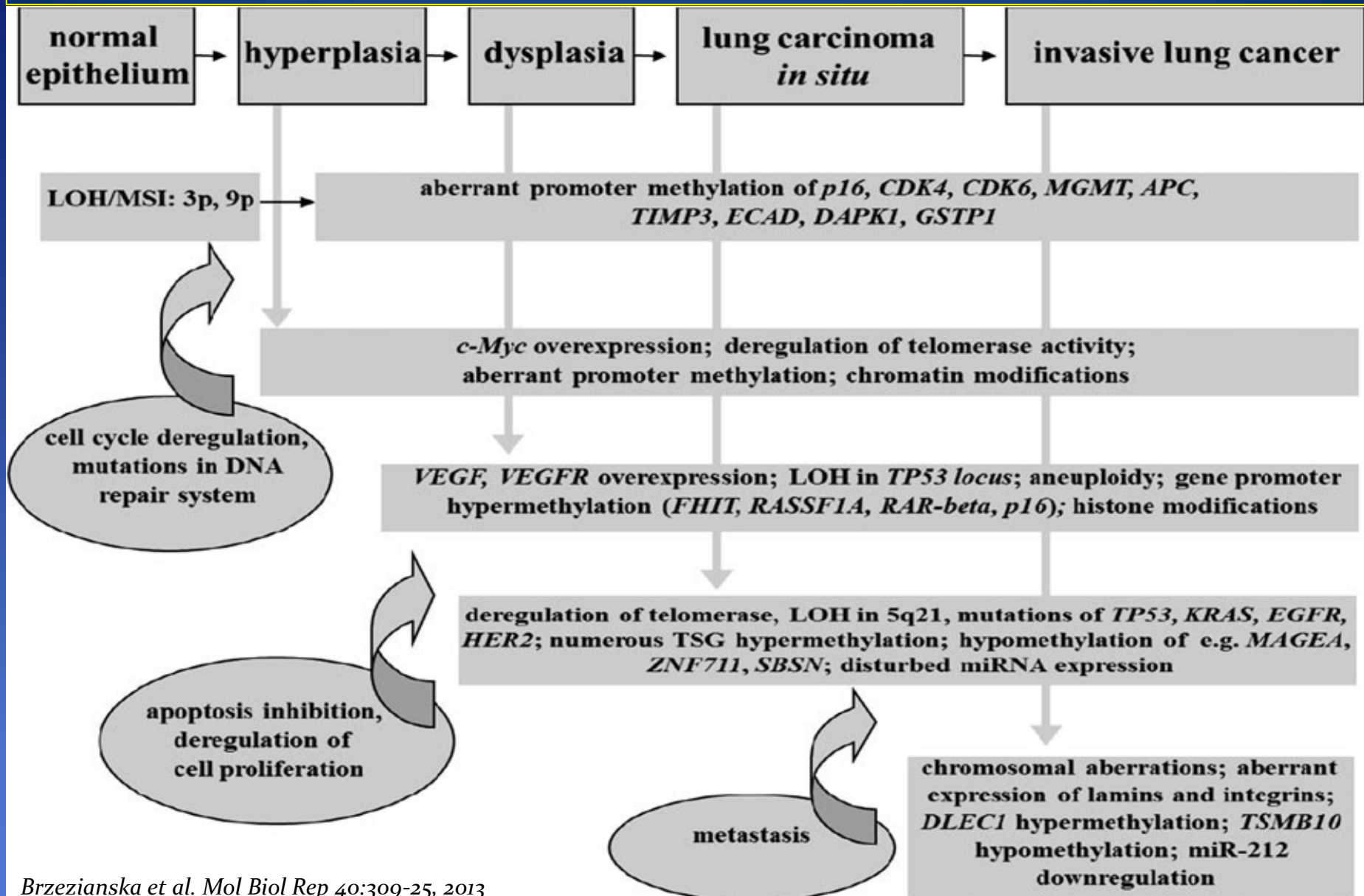
Επιγενετική και καρκινογένεση

- Αλληλεπίδραση γενετικών και επιγενετικών μηχανισμών οδηγούν σε καρκινογένεση



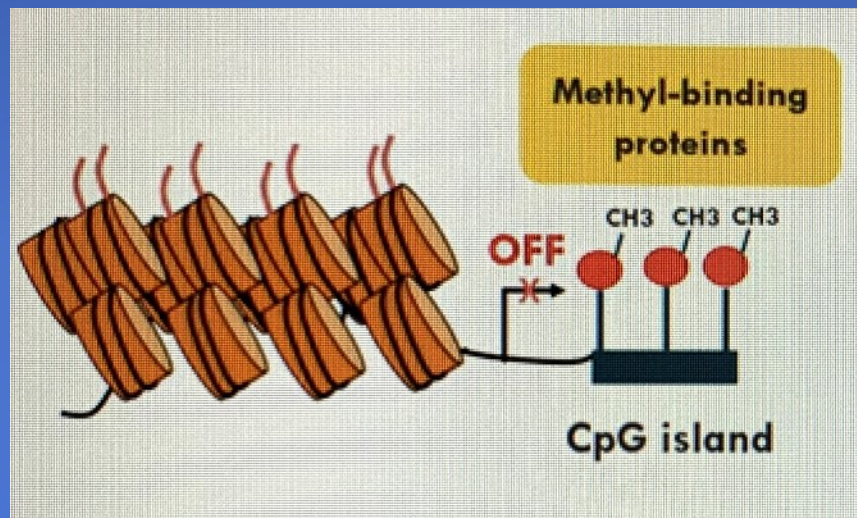
- Συνδυασμός επιγενετικών και γενετικών αλλαγών οδηγούν σε **γενωμική αστάθεια**, διαταραχή στη γονιδιακή έκφραση και ανάπτυξη του όγκου

Γενετικές και επιγενετικές αλλαγές στο καρκίνο του πνεύμονα



Μεθυλίωση του DNA και καρκινογένεση

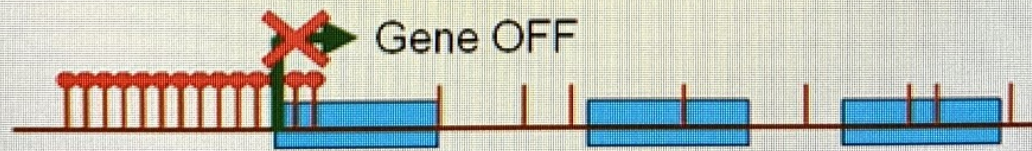
- Μεθυλίωση στους υποκινητές γονιδίων οδηγεί σε αποσιώπηση λόγω καταστολής της πρόσδεσης των μεταγραφικών συμπλόκων στο ρυθμιστικό DNA
- Η μεθυλίωση επίσης προσελκύει πρωτεϊνικά σύμπλοκα αποτελούμενα από πρωτεΐνες που προσδένουν σε μεθυλιωμένες αλληλουχίες CpG (**MBD proteins**), **HDACs** και **HMTs** προκαλώντας συντονισμένες επιγενετικές τροποποιήσεις στη χρωματίνη



Ανώμαλα μοτίβα μεθυλίωσης του DNA σχετίζονται με καρκινογένεση

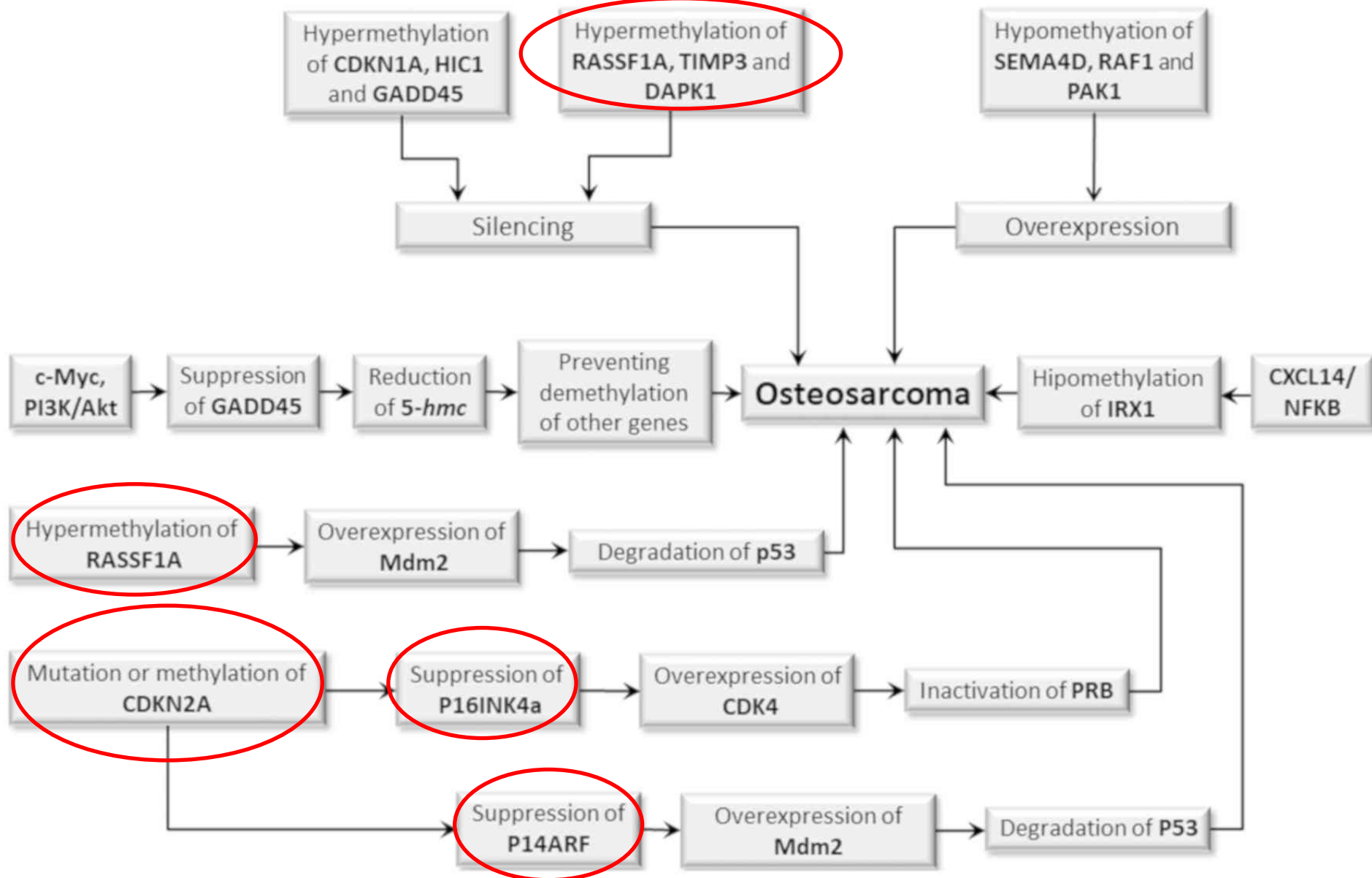
-**υπερμεθυλίωση** υποκινητών γονιδίων ρύθμισης κυτ. κύκλου, απόπτωση, επιδιόρθωσης του DNA, διαφοροποίησης, προσκόλλησης οδηγεί σε μεταγραφική αποσιώπηση

- **Cell cycle:**
 - *Rb, p16^{INK4a}, p15^{INK4a}, p14^{ARF}*
- **Signal transduction:**
 - *RASSF1, APC*
- **Apoptosis:**
 - *DAPK, Caspase 8*
- **DNA repair:**
 - *MLH1, MGMT, BRCA1*
- **Senescence:**
 - *TERT, TERC*
- **Invasion/metastasis:**
 - *TIMP-3, E-cadherin*

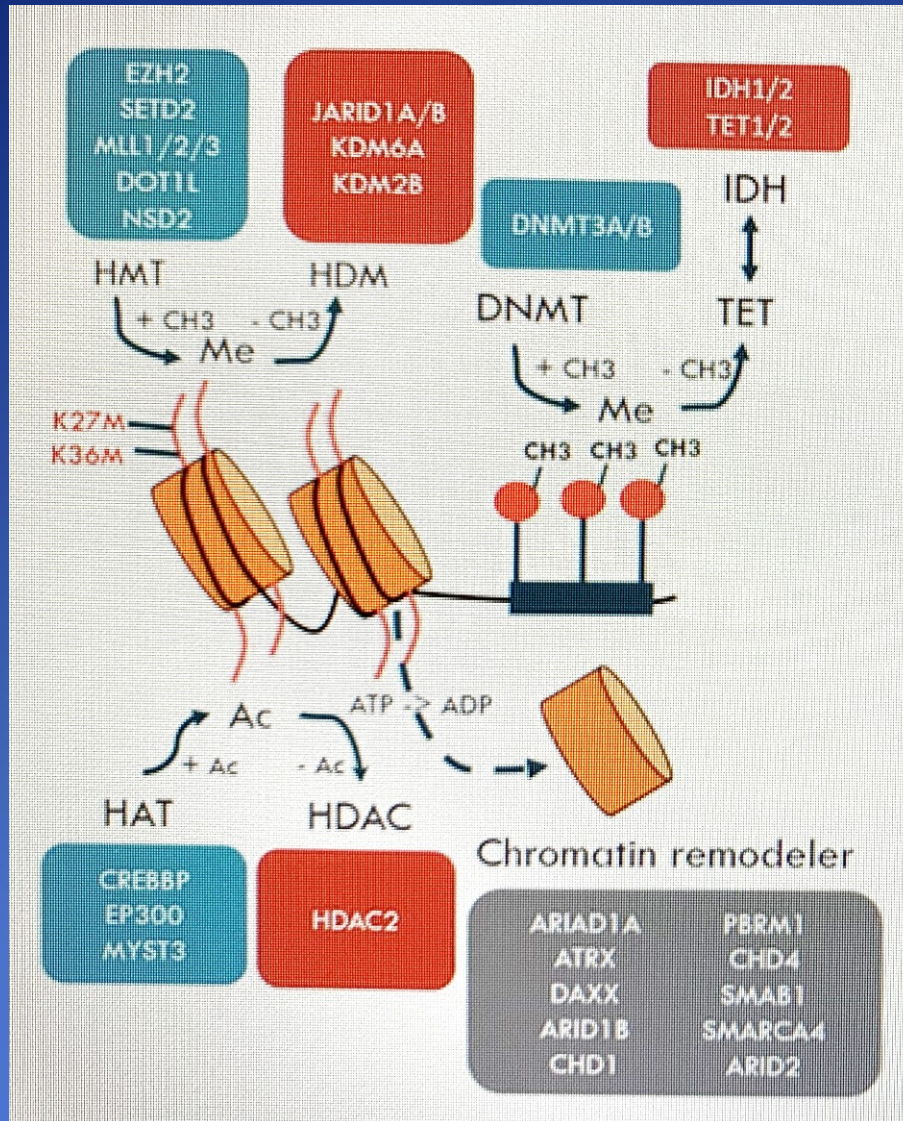


-**υπομεθυλίωση** επαναλαμβανομένων αλληλουχιών οδηγεί σε γενωμική αστάθεια και ογκογένεση

Μεθυλίωση γονιδίων στο οστεοσάρκωμα



Μεταλλάξεις σε ένζυμα τροποποίησης των ιστονών αλλάζουν τη δομή/λειτουργία της χρωματίνης



- Το **50%** των **όγκων** παρουσιάζει μεταλλάξεις σε ένζυμα τροποποίησης των ιστονών ή/και του DNA
- Πιο συχνές σε ένζυμα που ρυθμίζουν :
- Ακετυλίωση ιστονών
- Μεθυλίωση ιστονών
- Μεθυλίωση DNA
- Ένζυμα αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης

Ακετυλίωση ιστονών και καρκινογένεση

- Αλλαγή της λειτουργικότητας των HAT λόγω **γονιδιακών μεταλλάξεων** ή **ικών ογκοπρωτεϊνών** σχετίζεται με την ανάπτυξη αιματολογικών και συμπαγών όγκων

HAT	Defect	Tumour
P300	Mutations, translocations, deletions	Multiple
CBP	Mutations, translocations, deletions	Multiple
pCAF	Mutations	colon
MOZ	Translocations	Haematologic (AML, ALL)
Tip60	Under expression	Multiple
MORF	Translocations	Uterine leiomyomata

Chromatin pathway mutations in sarcoma

Histotype	Genetic alteration	Epigenetic role of altered pathway
Chondrosarcoma	<i>IDH1/IDH2</i> neomorphs	Oncometabolite → alteration of DNA methylation and Histone modification
<i>Histone mutations</i>		
Giant cell tumor of bone (> 90%), chondroblastoma (> 90%), chondrosarcoma, osteosarcoma, UPS	Histone H3 K36 or G34 mutations	Common substrate for chromatin regulation
<i>Histones modifying enzymes</i>		
MPNST	<i>SUZ12</i> or <i>EED</i> loss of function	Histone PTM 'Writer' PRC ₂
BCOR-Rearranged small blue round cell tumors	<i>BCOR-CCNB3</i> <i>BCOR-MAML3</i> <i>ZC3H7B-BCOR</i> <i>KMT2D-BCOR</i>	Histone PTM 'Writer' non-canonical PRC ₁
Endometrial stroma sarcoma	<i>JAZF1-SUZ12</i> <i>JAZF1-PHF1</i> <i>MBTD1-EZH1P</i> <i>ZC3H7B-BCOR</i>	Histone PTM 'Writer' PRC ₂ ; non-canonical PRC ₁
<i>Chromatin remodeling complexes</i>		
Epithelioid sarcoma	SMARCB1 loss	Remodeling
Malignant rhabdoid tumor	SMARCB1 loss	Remodeling
Synovial sarcoma	SSX-SS18 fusion	Remodeling

Απακετυλίωση ιστονών και ογκογένεση

HDAC	Defect	Tumour
HDAC ₁	Overexpression/underexpression	Multiple/Colon
HDAC ₂	Overexpression/Mutations	Multiple/Colon, gastric, endometrial
HDAC ₃	Overexpression	colon
HDAC ₄	Overexpression/Mutations	Prostate, breast/colon
HDAC ₅	Under expression	Colon, AML
HDAC ₆	Overexpression	Breast, AML
HDAC ₇	Overexpression	Colon
HDAC ₈	Overexpression	Colon
SIRT ₁	Overexpression/underexpression	Multiple/Colon
SIRT ₂	Underexpression/deletion	Glioma
SIRT ₃	Overexpression	Breast
SIRT ₄	Underexpression	AML
SIRT ₇	Overexpression	Breast, thyroid carcinoma

Μεθυλίωση/Απομεθυλίωση ιστονών και καρκινογένεση

HMT (histone methyltransferase)	Defect	Tumour
MLL ₁	Translocation, amplification	Hematologic
MLL ₂	Amplification	Gliomas, pancreas
MLL ₃	Mutation/deletion	Hematologic/colon
MLL ₄	Amplification	Solid tumours
NSD ₁	Translocation	AML
NSD ₂	Translocation	Multiple myeloma
NSD ₃	Translocation/amplification	AML/breast
BL ₁ MP ₁	Mutations	B cell lymphomas
EVI ₁	Chromosomal rearrangements	Myeloid leukemia
MEL ₁	Translocation	Hematologic
LBP ₁	Overexpression	Gastric
SUV ₃₉ H ₁	Mutation/overexpression	Ovarian/colon
HCP ₁	Underexpression	Breast
GASC ₁ –demethylase	Amplification	Squamous cell carcinoma
PUT ₁ –demethylase	Overexpression	Breast

Επιγενετικές τροποποιήσεις ως καρκινικοί βιοδείκτες

Η παρουσία συγκεκριμένων επιγενετικών αλλαγών/τροποποιήσεων σχετίζεται με:

- το τύπο του όγκου
- το στάδιο
- το βαθμό κακοήθειας, τη διαφοροποίηση
- τη πρόγνωση
- την ευαισθησία στη φαρμακευτική αγωγή (drug resistance, drug sensitivity)

Μεθυλίωση του DNA και καρκινογένεση

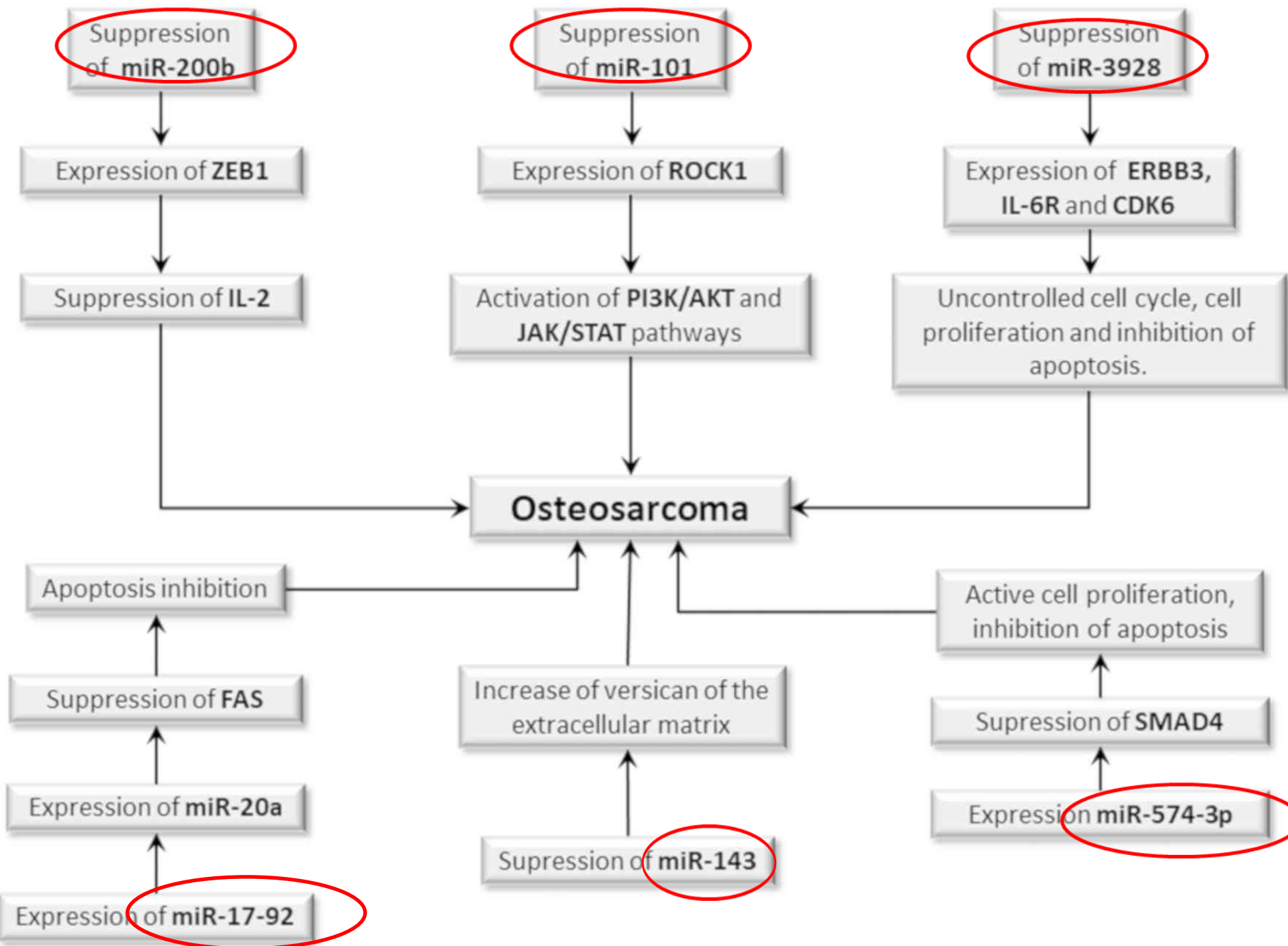
<i>Τύπος όγκου</i>	<i>Μεθυλιωμένα γονίδια</i>	<i>Κλινική σημασία</i>
Lung	<i>p16INK4, DAPK11, APC, RASSF1A, CDH1, MGMT, RAR-β, FHIT, p14ARF, BLU, CDH13</i>	Differentiation, poor prognosis
Breast	<i>HIC1, RASSF1A, RAR-β, CDH1, CDH13, ESR1, CDH1, p16INK4A, APC, DAPK11</i>	Early detection, poor prognosis
Prostate	<i>GSTP1, CD44</i>	Early detection of high risk
Ovarian	<i>CDH1, CDH13, APC, TIMP3, GSTP1, PPP1R13B, HSPA2, HSD17B4, ESR1, RASSF1A, BCRA1, p14ARF, p16INK4A</i>	Early detection, cancer specific
Hepatocellular	<i>p16 INK4A, CDKN2B, RASSF1A</i>	Poor outcome
Gastric	<i>p16 INK4A, CDKN2B, DAPK1, GSTP1, CDH1, RAR-β</i>	Poor prognosis, tumor recurrence
Colorectal	<i>DAPK1, p16 INK4A, MLH1, SFRP2, SFRP5, PGR, HIC1, vimentin</i>	Tumor progression
Bladder	<i>CDH1, APC, MGMT, RASSF1A, GSTP1, p16INK4A, RAR-β, ARF, p14ARF, DAPK1, BCL2, TERT, EDNRB, TNFRSF25</i>	Initial diagnosis and follow-up

Τροποποιήσεις ιστονών και καρκινογένεση

Τύπος όγκου	Τροποποίηση ιστονών	Κλινική σημασία
Lung	H3K9Ac, H4K5ac, H4K8ac, H4K12ac, H3K18ac, H4K16ac, H3K4me2, H3K9me, H4K20me3	Ακετυλιώσεις-καλή πρόγνωση Μεθυλιώσεις -δυσμενής
Prostate	H3K4me2, H3K18ac, H3K4me1, H3K9me2, H3K9me3, H3Ac, H4Ac, H4K20me1, H4K20me2, H3K27me3	Μετάσταση, επανεμφάνιση όγκου, κακή πρόγνωση
Breast	H3K9me3, H4K20me3, H3K18ac, H4K12ac, H3K4me2, H4K20me3, H4R3me2, H4K16ac	Κακή πρόγνωση, επιθετικότητα, H4K16ac↓: πρώιμος δείκτης
Leukemia	H3K9me3↓	Καλή πρόγνωση
Esophagus	H3K18ac, H4R3me2, H3K27me3↓	Καλή πρόγνωση
Kidney	H3K4me1, H3K4me2, H3K4me3↓	Κακή επιβίωση
Liver	H3K4me3, H3K27me3↑	Κακή πρόγνωση, επιβίωση
Pancreas	H3K4me2, H3K9me2, H3K18ac↓	Κακή επιβίωση

miRNAs και καρκινογένεση

Τύπος όγκου	Υπερκφρασμένο miRNA	Κλινική σημασία
Lung cancer (Non-squamous non-small-cell lung cancer (stages II, III, and IV) and lymph-node metastasis)	miR-205 miR-96 miR-182 miR-183	Poor prognosis
Breast cancer Stages I and II; oestrogen-receptor-positive disease Stage III; oestrogen-receptor-negative disease; basal-like HER2+	miR-126, miR-136, miR-100, miR-99a, miR-145, miR-10a miR-150, miR-142-3p miR-142-5p, miR-148a	Good Poor Poor
Colorectal cancer Microsatellite instability vs microsatellite stable KRAS mutated	miR-938, miR-615-5p miR-1184, miR-551a miR-127-3p, miR-92a miR-486-3p, miR-378 miR-15a, mir-16-1 miR-16-2, miR-195	Good Poor Poor
Chronic lymphocytic leukaemia High ZAP70; immunoglobulin variable region not mutated 17p deletion Trisomy 12	miR-130b, miR-129-3p miR-632, miR-768-5p miR-181	Aggressive Disease progression



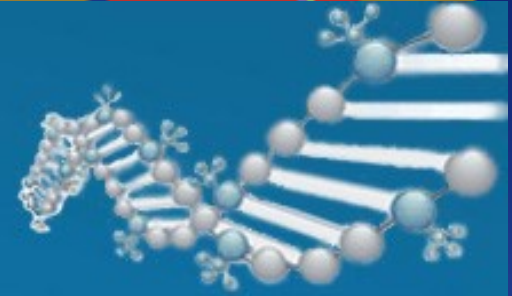
Επιγενετικοί βιοδείκτες ως παράγοντες που επηρεάζουν τη θεραπεία

Γονίδιο-Βιοδείκτης	Επιγενετικός Μηχανισμός	Μηχανισμός Δράσης	Τύπος όγκου	Είδος θεραπείας
MGMT (<i>O</i> -6-methylguanine DNA methyltransferase)	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Επιδιόρθωση του DNA- αφαιρεί αλκυλομάδες από γουανίνες	Γλοίωμα, λευχαιμία	Καλός προγνωστικός δείκτης θεραπείας με αλκυλιωτικούς παράγοντες carmustine, temozolomide
BRCA1, MLH1 (<i>Breast cancer 1, mutL-homolog1</i>)	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Επιδιόρθωση του DNA	Καρκίνος μαστού, ωοθηκών	Αντίσταση σε cisplatin , ευαισθησία σε αναστολείς PARP
ERCC1, ERCC5, WRN (<i>excision repair cross-complementary, Warner syndrome</i>)	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Επιδιόρθωση του DNA	Γλοίωμα Καρκίνος ωοθηκών	Ευαισθησία σε cisplatin, αναστολείς τοποϊσομεράσης, nemorubicin
GSTP1 (<i>glutathione S-transferase pi 1</i>)	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Αποτοξίνωση από ξενοβιοτικά	Καρκίνος προστάτη, μαστού	Ευαισθησία σε doxorubicin
TP53	Μεταλλάξεις. Υπερμεθυλίωση υποκινητή TP73, APAF1	Απόπτωση	Μελάνωμα (APAF1)	Ευαισθησία σε adriamycin
CDK10 (<i>cyclin-dependent kinase 10</i>)	Υπερμεθυλίωση υποκινητή	Κυτταρική σηματοδότηση	Καρκίνος μαστού	Αντίσταση σε αντι-οιστρογονική θεραπεία

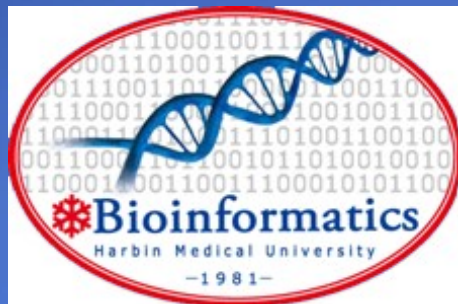
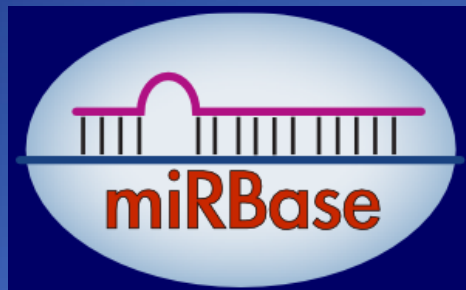


MethyCancer

Database of Human DNA Methylation and Cancer

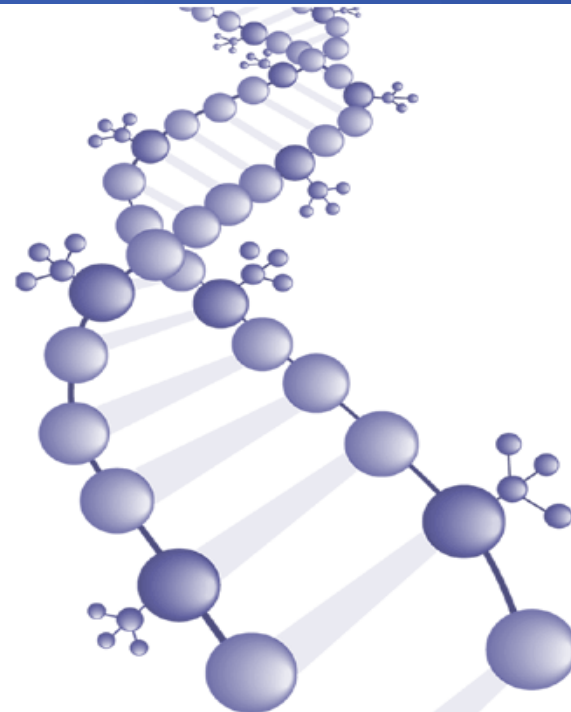


 **pG_MPs:** identification of CpG methylation patterns of genomic regions



HEP

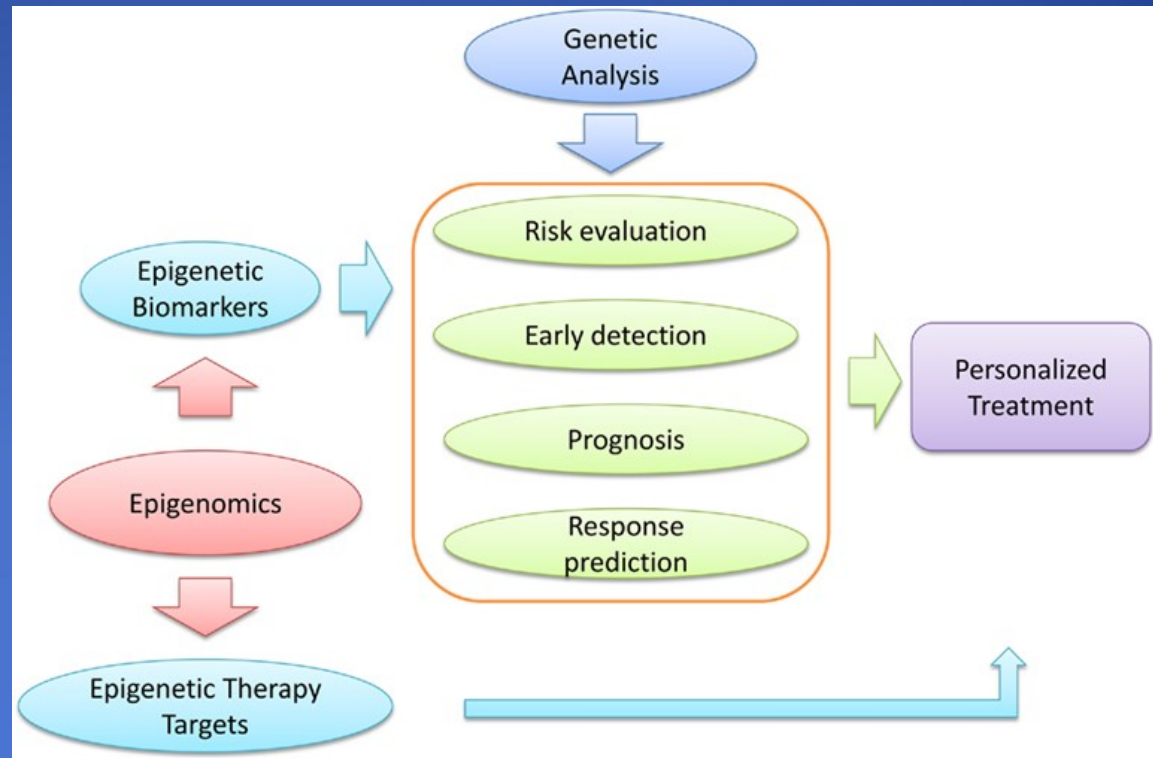
Human
Epigenome
Project



Μελέτη επιγενετικών αλλαγών

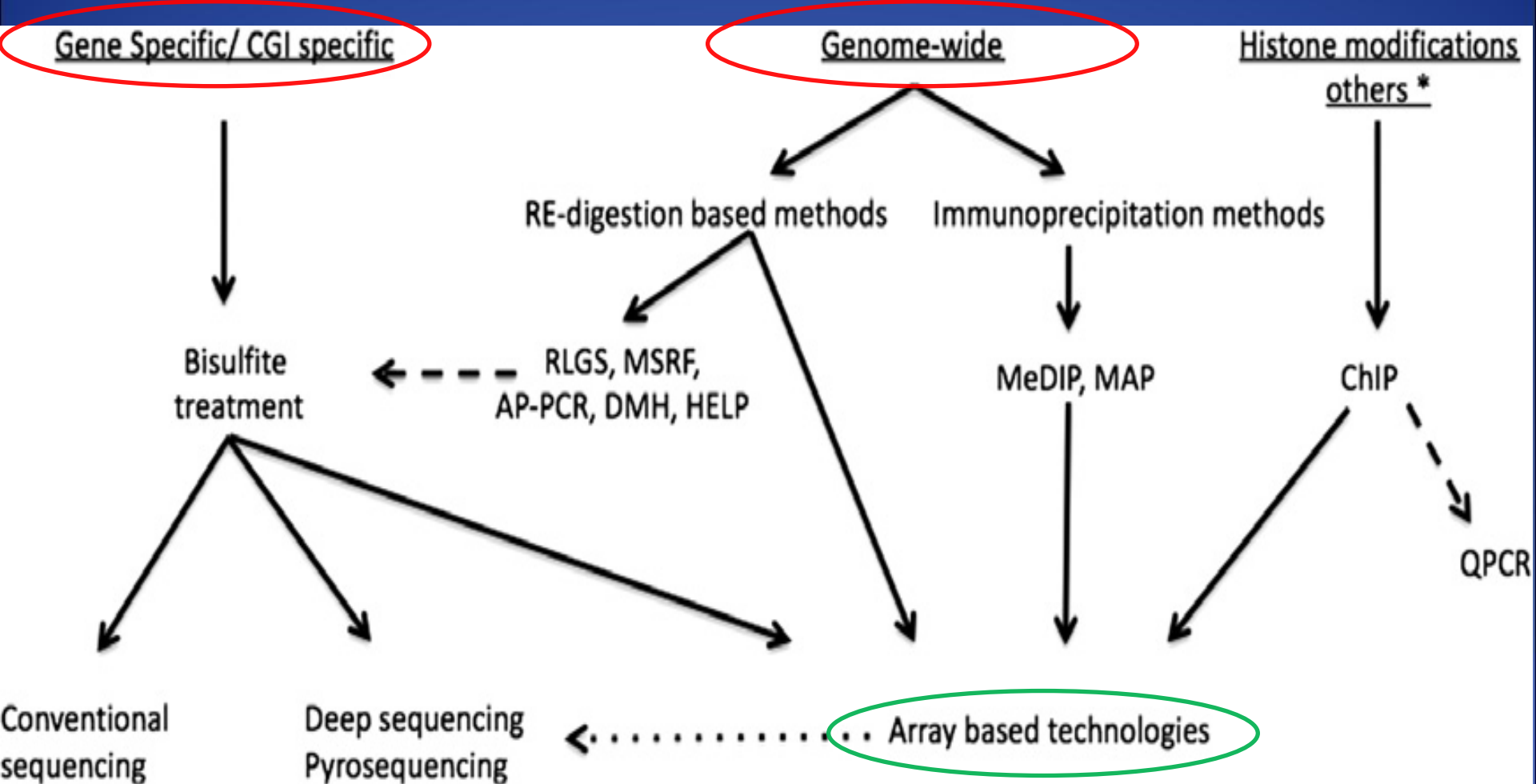
- Απομόνωση DNA, χρωματίνης, RNA από ποικιλία δειγμάτων:

- Ιστό (φρέσκο και μονιμοποιημένο σε παραφίνη)
- Περιφερικό αίμα
- Ούρα
- Πτύελα
- Παγκρεατικό υγρό
- Περιτοναϊκό υγρό
- Κολπικές εκκρίσεις
- Κόπρανα



Μεθοδολογία επιγενετικής ανάλυσης

- Ανάλυση μεμονωμένων γονιδίων ή περιορισμένου αριθμού γονιδίων
- Ανάλυση του συνολικού γονιδιώματος



Μέθοδος ανίχνευσης μεθυλιωμένου DNA μέσω τροποποίησης των κυτοσινών με δισουλφιδικό νάτριο

Unmethylated DNA

ACGTCTCGAC
TGCAGAGCTG

↓ Sodium bisulfite

AUGTUTUGAU
TGUAGAGUTG

↓ PCR

AUGTUTUGAU

← TACAAAATA

Methylated DNA

me me
| |
ACGTCTCGAC
TGCAGAGCTG
| |
ew ew

↓ Sodium bisulfite

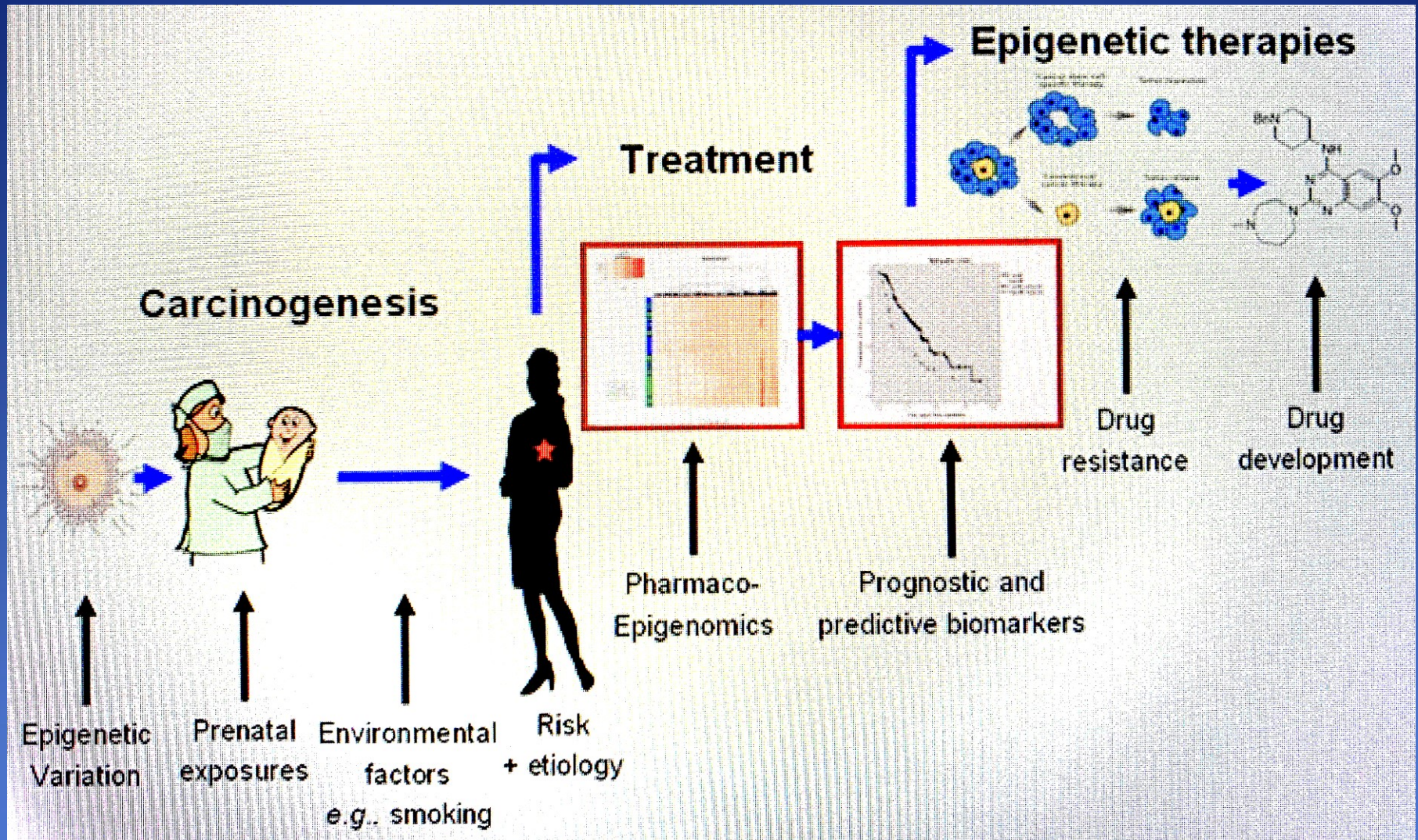
me me
| |
ACGTUTCGAU
TGCAGAGCTG
| |
ew ew

↓ PCR

ACGTUTCGAU

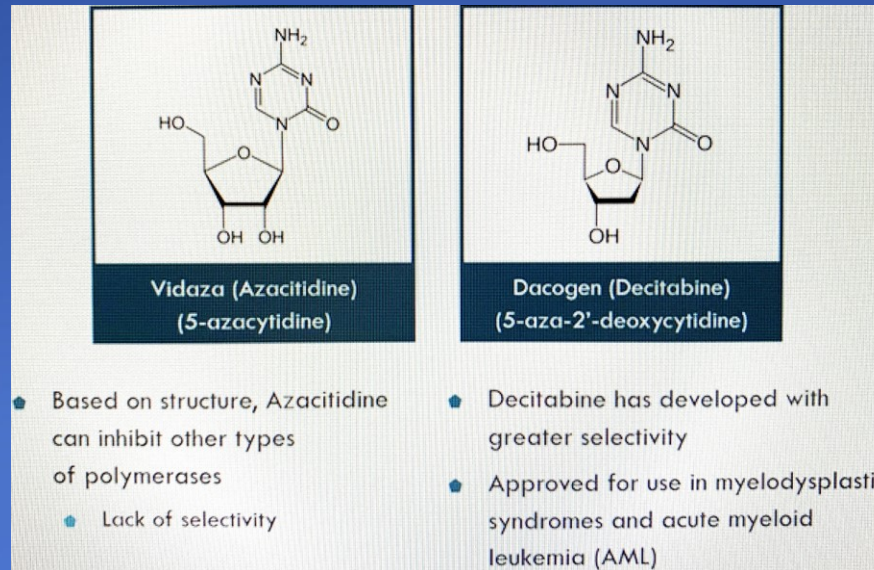
← TGCAAAGCTA

Επιγενετικοί μηχανισμοί επιδρούν σε διάφορα στάδια της διαδρομής ενός ασθενούς με καρκίνο



Στοχευμένη επιγενετική θεραπεία

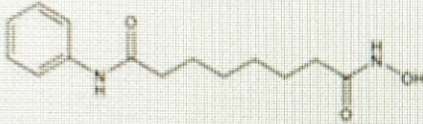
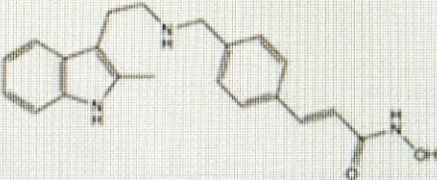
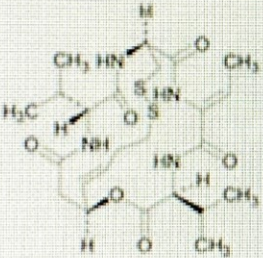
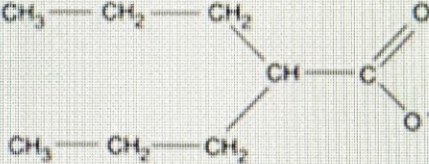
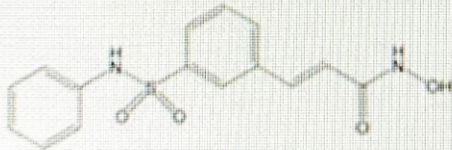
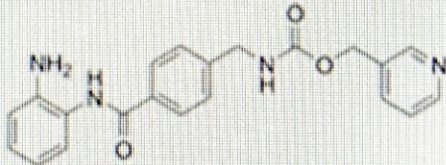
- Συνδυαστική θεραπεία με αναστολείς της μεθυλίωσης του DNA και της απακετυλίωσης των ιστονών
- **Azacitidine, decitabine, hydralazine**: αναστολείς της μεθυλίωσης, δεσμεύουν και αποδομούν τις DNMTs επιτρέποντας την επανέκφραση γονιδίων που έχουν αδρανοποιηθεί λόγω υπερμεθυλίωσης



- Χρησιμοποιούνται στη θεραπεία **μυελοδυσπλαστικών συνδρόμων**, αναιμίας και χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας

Αναστολείς της απακετυλίωσης των ιστονών

Histone deacetylase inhibitors

Vorinostat (Zolinza)			Panobinostat (Farydak)
Romidepsin (Istodax)			Valproic acid (Depacon)
Belinostat (Beleodaq)			Entinostat

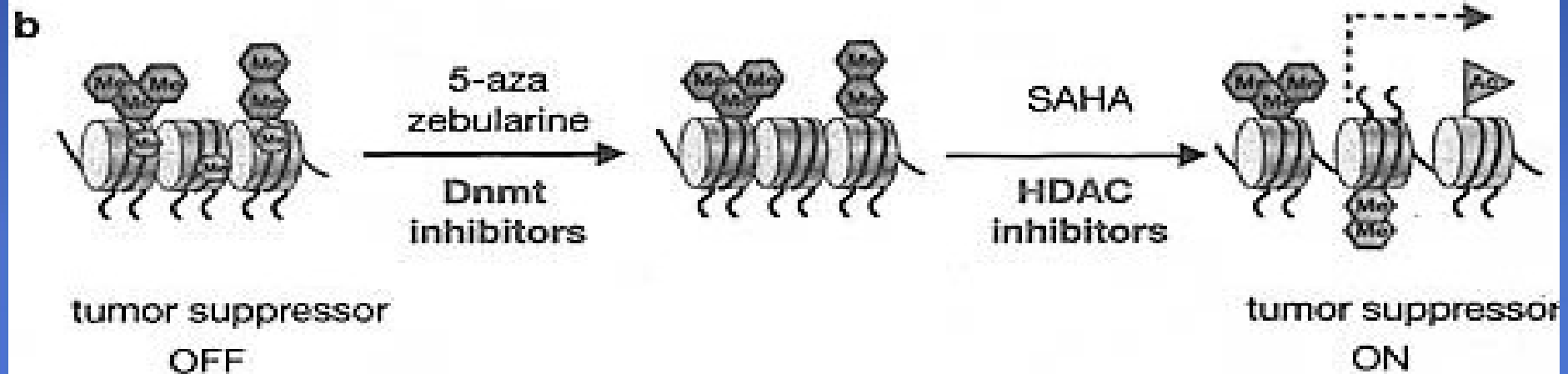
Application: inhibit HDAC function leading to acetylation and reactivation of tumor suppressor genes, tumor cell reprogramming, and activation of apoptosis programs

Συνδυαστική δράση αναστολέων της μεθυλίωσης του DNA και της απακετυλίωσης των ιστονών

A. **Επιγενετικές τροποποιήσεις** (μεθυλίωση DNA, απακετυλίωση ιστονών) μετατρέπουν ένα φυσιολογικό κύτταρο σε καρκινικό **ενεργοποιώντας ογκογονίδια**



B. **Αναστολείς των DNA μεθυλο τρανσφερασών** απομακρύνουν τη μεθυλίωση και η χορήγηση αναστολέων απακετυλίωσης των ιστονών **επιτρέπει την ακετυλίωση** επιτρέποντας την **ενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου**



Combination Epigenetic Therapy Has Efficacy in Patients with Refractory Advanced Non Small Cell Lung Cancer

Rosalyn A. Juergens, John Wrangle, Frank P. Vendetti, Sara C. Murphy, Ming Zhao, Barbara Coleman, Rosa Sebre, Kristen Rodgers, Craig M. Hooker, Noreli Franco, Beverly Lee, Salina Tsai, Igor Espinoza Delgado, Michelle A. Rudek, Steven A. Belinsky, James G. Herman, Stephen B. Baylin, Malcolm V. Brock, Charles M. Rudin

Cancer Discov. 2011 December ; 1(7): 598–607.

Department of Oncology, Surgery, Radiology, Lovelace Respiratory Research Institute, Johns Hopkins University

Abstract

Epigenetic alterations are strongly associated with cancer development. We conducted a phase I/II trial of combined epigenetic therapy with **azacitidine and entinostat**, inhibitors of DNA methylation and histone deacetylation, respectively, in extensively pretreated patients with recurrent metastatic non-small cell lung cancer. **This therapy is well tolerated**, and objective responses were observed, including **a complete response and a partial response in a patient who remains alive and without disease progression approximately 2 years after completing protocol therapy**. Median survival in the entire cohort was 6.4 months (95% CI: 3.8–9.2), comparing favorably with existing therapeutic options. **Demethylation of a set of four epigenetically silenced genes known to be associated with lung cancer was detectable in serial blood samples** in these patients, and was associated with improved progression-free ($p=0.034$) and overall survival ($p=0.035$). Four of 19 patients had major objective responses to subsequent anti-cancer therapies given immediately following epigenetic therapy.

Patient population

This study enrolled 45 adults with metastatic NSCLC with disease progression after at least one prior anti-cancer regimen for metastatic disease. Any number of prior therapies was allowed, and patients with treated brain metastases were included. Patients were excluded if they had uncontrolled brain metastases or liver metastases replacing > 30% of the liver parenchyma. Patients with HIV on anti-retroviral therapy were also excluded.

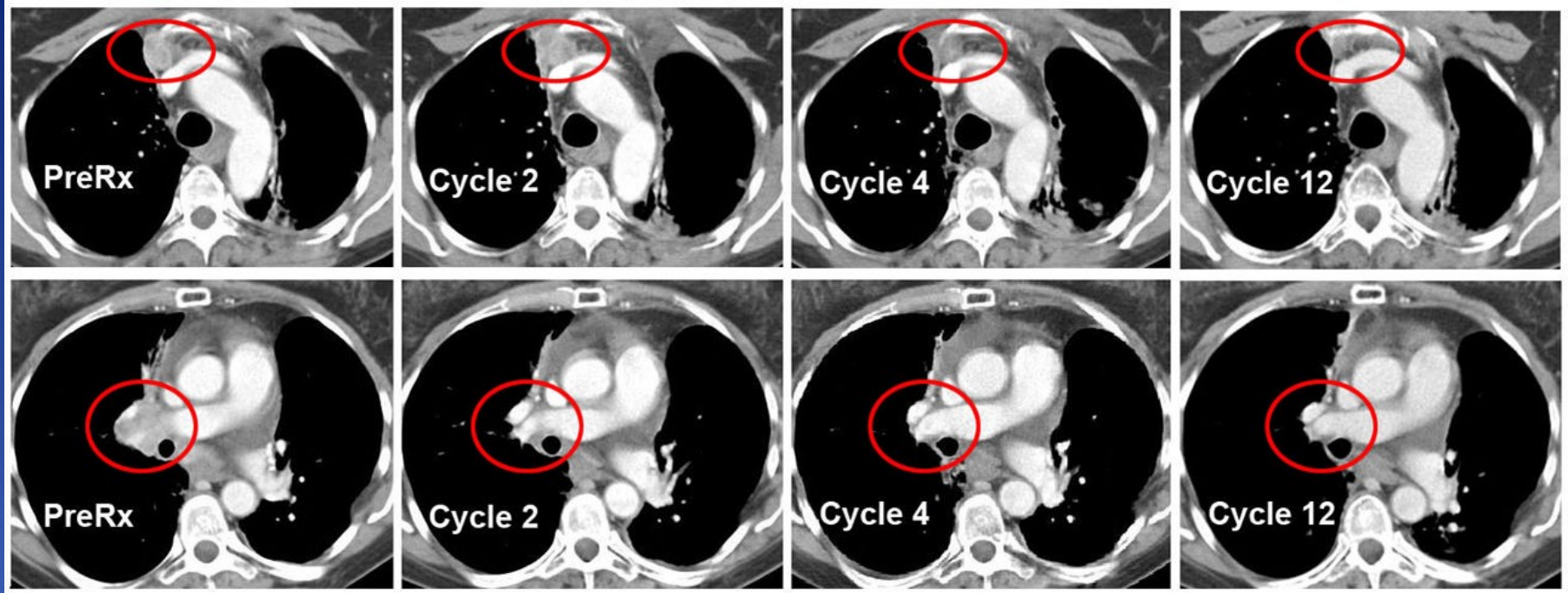
Biomarker analyses

Promoter methylation status of *APC*, *RASSF1A*, *CDH13*, and *CDKN2A* was examined in circulating DNA from patient plasma collected prior to therapy (day 0) and after 1 cycle of therapy (day 29).

Study design

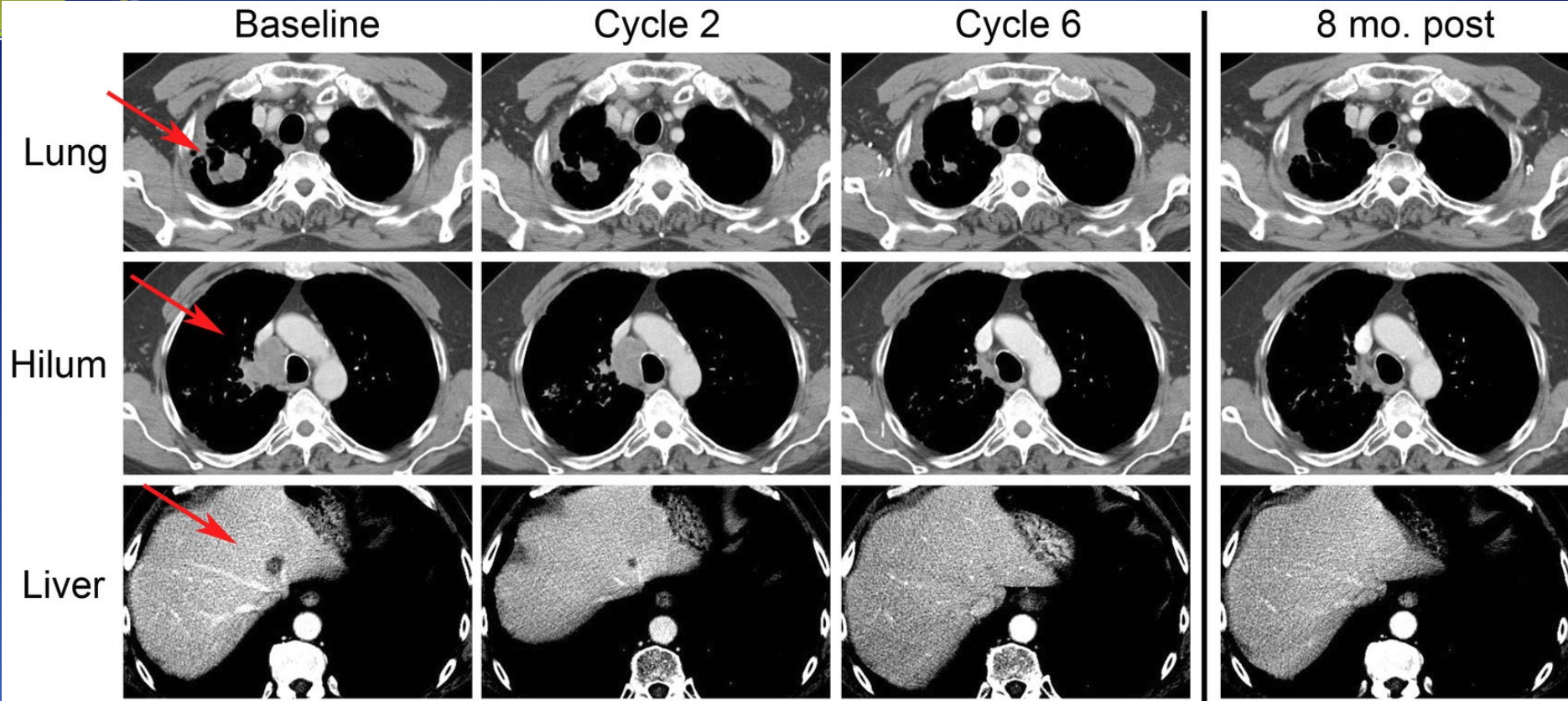
The phase I component used a standard 3 + 3 patient cohort design to assess adverse events of the combination of azacitidine at 30 mg/m² or 40 mg/m² on days 1–6 and 8–10 with entinostat at a 7 mg fixed dose on days 3 and 10 of each 28 day cycle. Based on the strategy of exploring doses of azacitidine well below previously defined maximally tolerated doses, dose levels in phase I were prespecified as limited to no more than 40 mg/m² daily. The phase II component was a single-arm two-stage open label study designed to assess the response rate of the combination at the 40 mg/m²/d dose of azacitidine.

Serial CT scan images from patient with a complete response



Scans show progressive resolution of a prevascular tumor (top) and a right hilar mass (bottom) over the course of one year on therapy. Red circles indicate areas of measurable disease.

Serial CT scan images from patient with a partial response



Scans demonstrate **gradual resolution of sites of disease** including a lung mass, matted hilar lymph nodes, and one of the liver metastases. Although he was taken off study for treatment of an intercurrent small cell lung cancer, he remains alive and was without evidence of disease recurrence nearly 2 years after completion of this therapy. Red arrows indicate areas of measurable disease.

Survival stratified by target gene methylation status

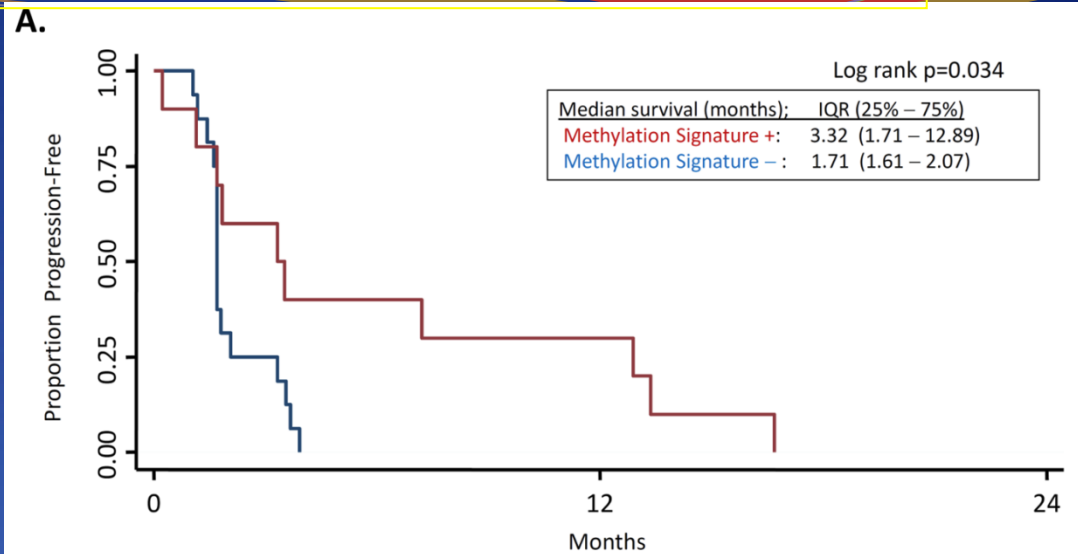
Promoter methylation of *APC*, *CDH13*, *RASSF1a*, and *CDKN2A* were evaluated in circulating plasma DNA from patients at pre-treatment and on day 29.

A. Progression-free survival

B. Overall survival

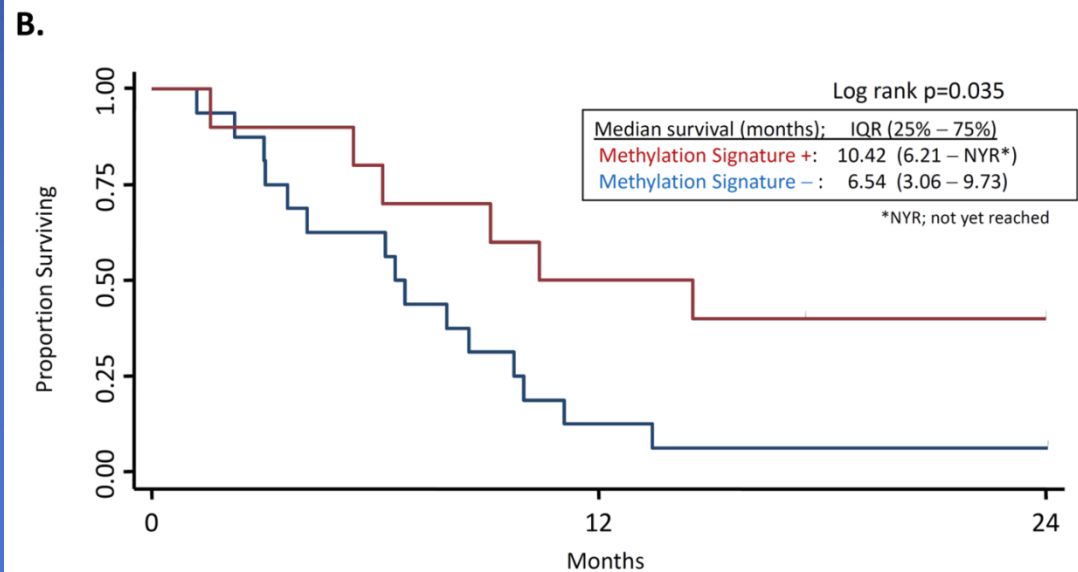
Red: patients with pre-treatment methylation of ≥ 2 of these 4 genes that demonstrate demethylation by day 29.

Blue: all other patients with detectable circulating DNA (total N = 26).



Number at Risk (% progression-free):

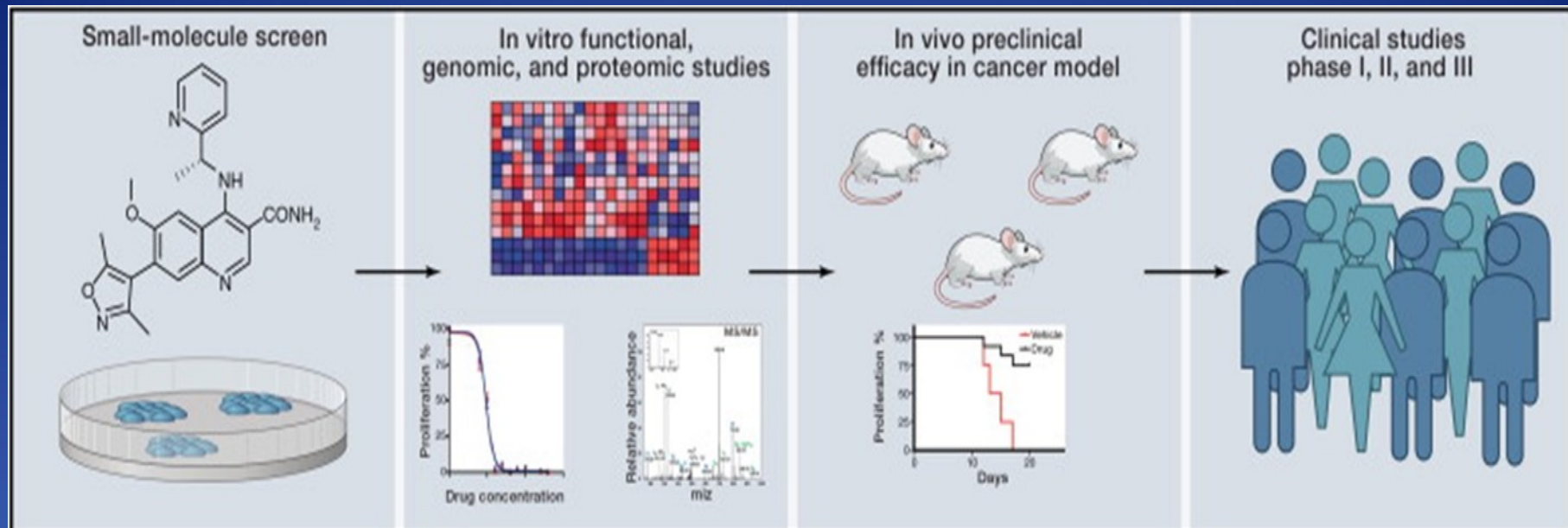
Signature +: 10 (100)	3 (30.0)	0 (0.0)
Signature -: 16 (100)	0 (0.0)	0 (0.0)



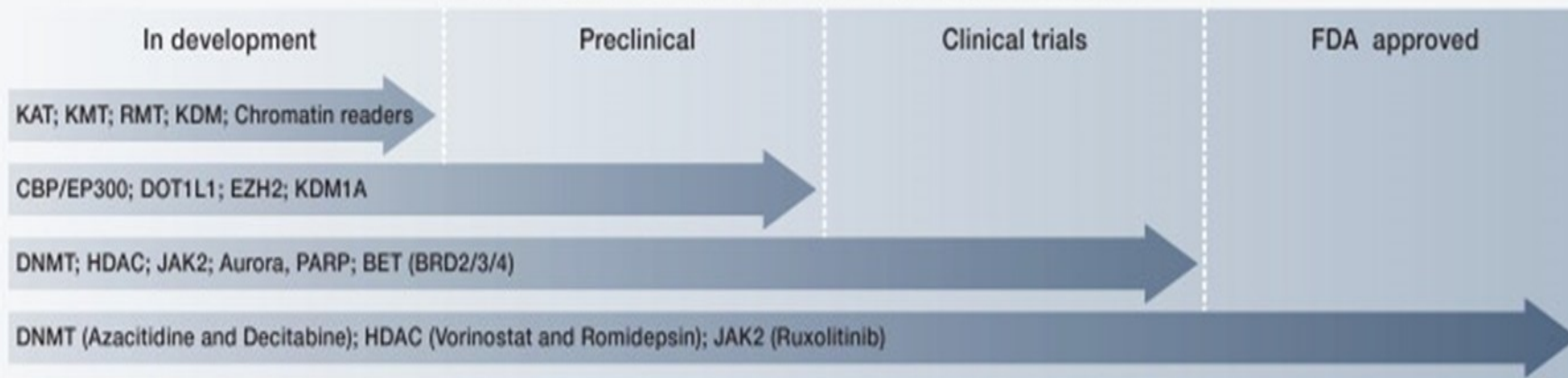
Number at Risk (% alive):

Signature +: 10 (100)	5 (50.0)	3 (40.0)
Signature -: 16 (100)	2 (12.5)	1 (6.3)

Current states of epigenetic targets for inhibitors



Current States of Epigenetic Targets for Inhibitors



Epigenetic-based therapeutics in preclinical and clinical development

Epigenetic target	Compound	Developmental stage
HDACs (class I, IIa, IIb, IV)	Vorinostat (SAHA)	FDA approved for CTCL
	Panobinostat (LBH589)	Phase I/II
	Belinostat (PXD101)	Phase I/II
	ITF2357	Phase I
	PCI-24781	Phase I
HDACs (class I, IIa)	Phenylbutyrate	Phase I/II
	VPA	Phase I/II
HDACS 1, 2	Romidepsin (depsipeptide)	Phase I/II
	SK-7041	Experimental
	SK-7068	Experimental
HDACs 1, 3	MS-275	Phase I/II
	CI-994	Phase I
	MGCD0103	Phase I/II
	Apicidin	Experimental
HDACs 2, 3	Tubacin	Experimental
HDAC 6	SB-379872A	Experimental
HDAC8	PCI-34051	Experimental
DNMT	Vidaza (5-azacytidine)	FDA approved for myelodysplastic syndromes
	Decitabine (5-aza-2'-deoxycytidine)	Experimental
SIRT1-7 SIRT1, 2 SIRT1	Zebularine	Experimental
	RG108	Experimental
	Procaine	Experimental
	Hydralazine	Phase I
	(-)-epigallocatechin-3-gallate noncovalent enzyme (EGCG)	Experimental
	Nicotinamide	Experimental
	Tenovin-1-3, 5-6	Experimental
	Sirtinol	Experimental
	Splitomycin	Experimental
	Cambinol	Experimental
SIRT2 SIRT5 HMT (G9a) HMT (SU(VAR)3-9, G9a) Polycomb group proteins LSD1	SRT1720	Experimental
	EX-527	Experimental
	NF657	Experimental
	AGK2	Experimental
	Suramin	Experimental
	BIX-01294	Experimental
	Chaetocin	Experimental
	DZNep	Experimental
	Polyamine analogs	Experimental

Epigenetic drug discovery and the road ahead

2004

FDA approved drugs
(DMNTi, HDACi)

Dacogen

Istodax

Beleodaq

Vidaza

Zolinza

Faridak

2020

New drugs on the horizon

DOT1L

LSD1

EZH2

BETi

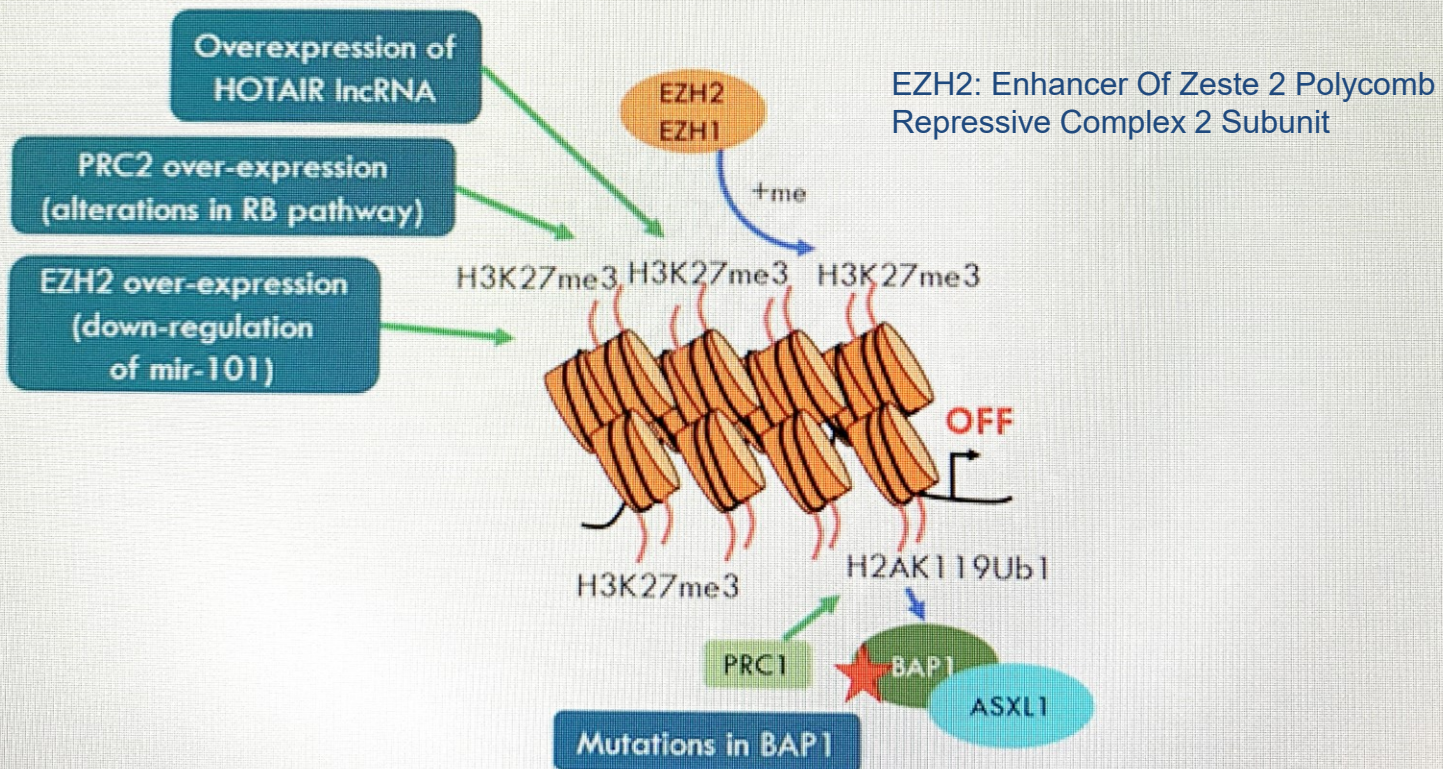
CBP/P300

Φαρμακευτική στόχευση της μεθυλίωσης των ιστονών στον καρκίνο

EZH2 προκαλεί την τριμεθυλίωση της H3 (H3K27me3) και καταστέλλει την γονιδιακή έκφραση

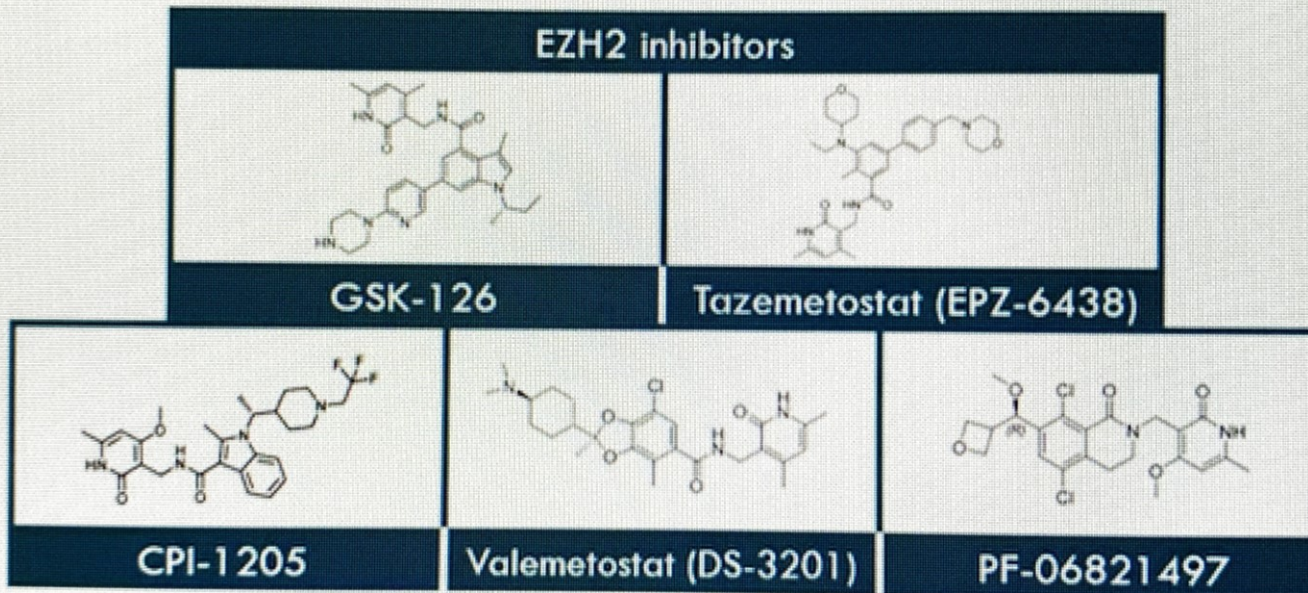
Histone methylation changes in cancer: EZH2

EZH2 gain-of-function mutations, EZH2 over-expression, and dysregulation of enzymes antagonizing EZH2 in lymphoma and solid tumors



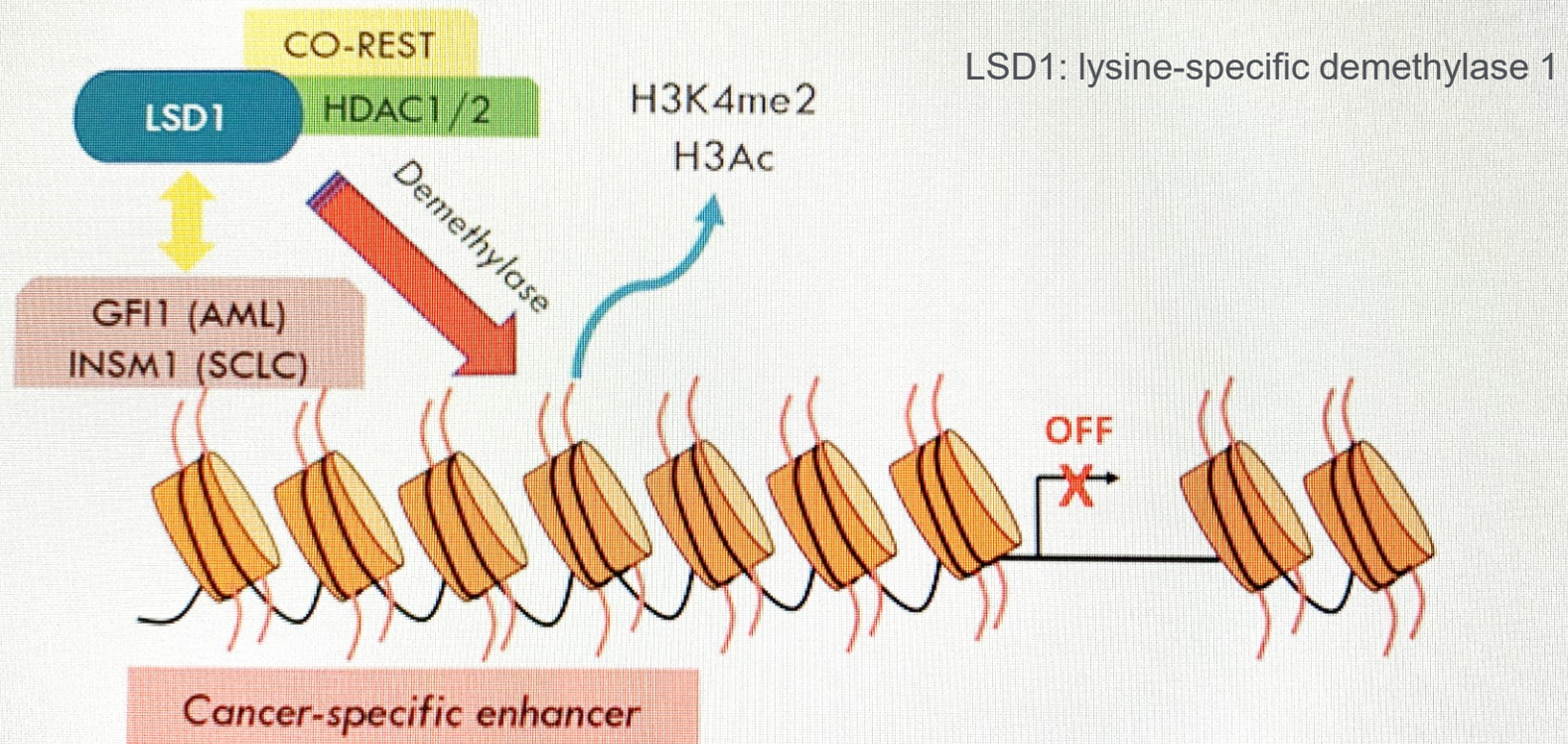
Αναστολείς της μεθυλοτρανσφεράσης των ιστονών: EZH2

Application: reverse histone methylation changes resulting from enzyme dysregulation, releasing cells from gene expression programs sustaining cell proliferation



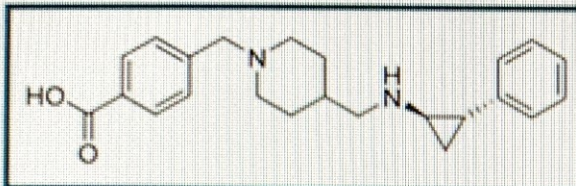
- Tazemetostat (EZH2 inhibitor) being tested in EZH2 mutated Non-Hodgkin's lymphoma as well as multiple solid tumors with EZH2 dysregulation
- Tazemetostat has shown >70% overall response rates in relapsed/refractory follicular lymphoma with activating mutations in EZH2

Histone methylation changes in cancer: LSD1

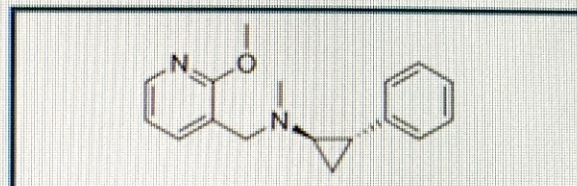


LSD1 (KDM1A) histone demethylase activity is over-expressed in several cancers including myeloid leukemia and small cell lung cancer altering cell differentiation programs

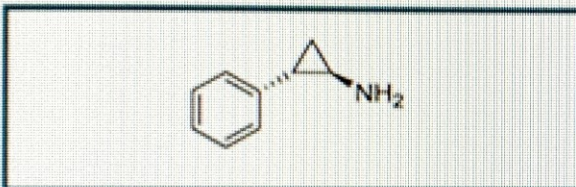
Αναστολείς της απομεθυλάσης των ιστονών: LSD1



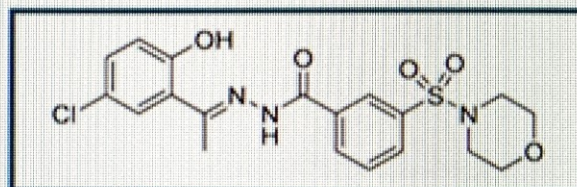
GSK-2879552



ORY-1001



Tranylcypromine(TCPA)



SP-2509

- Application: inhibit histone demethylase activity of LSD1 increasing H3K4me2 at promoters and enhancers governing cell differentiation and oncogenic gene expression programs
- Mostly irreversible but reversible inhibitors for this enzyme have been developed
- Inhibit both catalytic and non-catalytic functions of LSD1

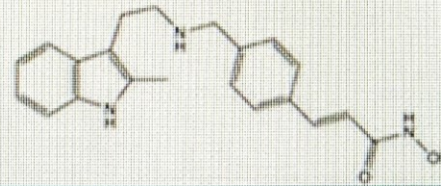
Αναστολείς της απακετυλίωσης των ιστονών

Histone deacetylase inhibitors

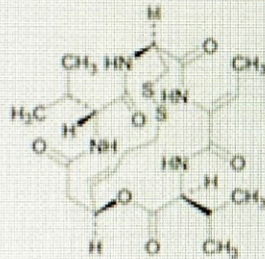
Vorinostat
(Zolinza)



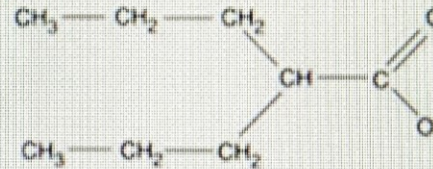
Panobinostat
(Farydak)



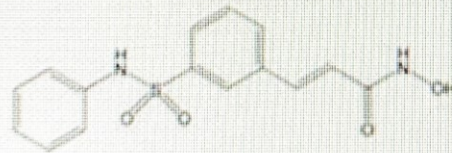
Romidepsin
(Istodax)



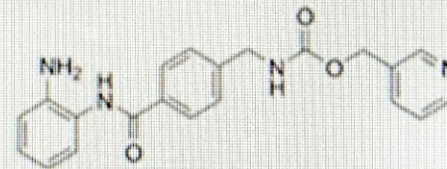
Valproic acid
(Depacon)



Belinostat
(Beleodaq)



Entinostat

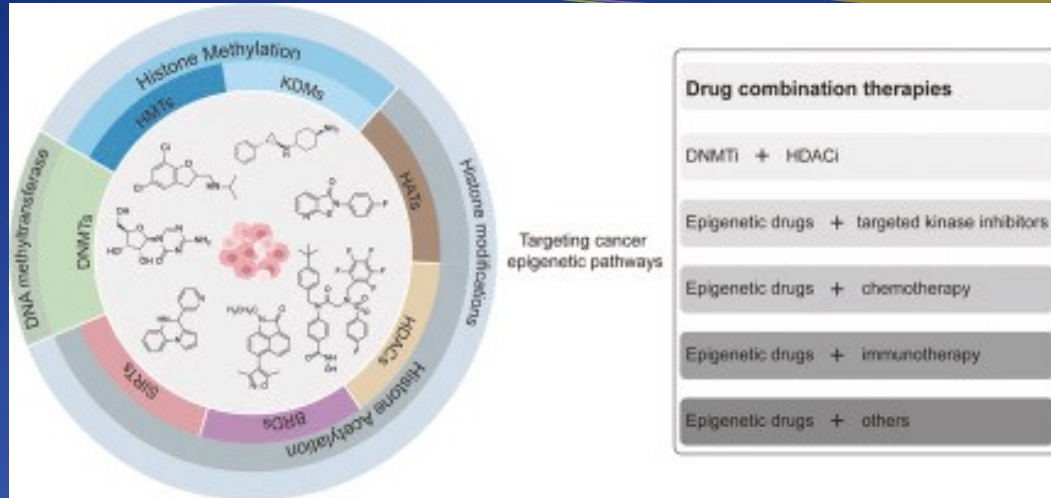


Application: inhibit HDAC function leading to acetylation and reactivation of tumor suppressor genes, tumor cell reprogramming, and activation of apoptosis programs

Selected clinical trials of epigenetic drugs for bone and soft-tissue sarcomas

Clinical trial identifier	Drug	Mechanism	Status	Patient population	Phase
NCT02601937	Tazemetostat (EPZ-6438)	Selective small molecule inhibitor of the histone-lysine methyltransferase EZH2	Recruiting	(i) Rhabdoid tumors; atypical teratoid rhabdoid tumor (ATRT); malignant rhabdoid tumor (MRT); rhabdoid tumor of kidney (RTK); selected tumors with rhabdoid features; INI1-negative tumors; epithelioid sarcoma; epithelioid malignant peripheral nerve sheath tumor; extraskeletal myxoid chondrosarcoma; myoepithelial carcinoma; renal medullary carcinoma; other INI1-negative malignant tumors (e.g., dedifferentiated chordoma); synovial sarcoma	I
NCT03165721	Guadecitabine (SGI-110)	DNA methyltransferase inhibitor (DNMT1 inhibitor)	Completed	(i) Wild-type gastrointestinal stromal tumors; paraganglioma gastrointestinal stromal tumors; renal cell renal neoplasms; pheochromocytoma	II
NCT03600649	SP-2577	LSD1 inhibitor	Recruiting	(i) Relapsed or refractory Ewing sarcoma	I
NCT03514407	INC059872	LSD1 inhibitor	Completed	(i) Relapsed Ewing sarcoma	I
NCT02282917	AR-42(OSU-HDAC2)	Histone deacetylase inhibitor	Active, not recruiting	(i) Vestibular schwannoma; meningioma; acoustic neuroma; neurofibromatosis type 2	1
NCT01175109	Imatinib + LBH589	LBH589, a histone deacetylase inhibitor	Completed	(i) Newly diagnosed and recurrent chordoma	I
NCT03345485	Tinostamustine (EDO-S101)	First-in-class alkylating histone deacetylase inhibition (HDACi) fusion molecule	Active, not recruiting	(i) Small-cell lung cancer; soft-tissue sarcoma; triple-negative breast cancer; ovarian cancer; endometrial cancer	I/II
NCT00918489	Vorinostat	Histone deacetylase inhibitor	Completed	(i) Metastatic soft-tissue sarcoma	II
NCT01294670	Vorinostat and etoposide	Histone deacetylase inhibitor	Completed	(i) solid tumors; relapsed/refractory sarcomas	I/II
NCT04308330	Vorinostat in combination with vincristine, irinotecan, and temozolomide	Histone deacetylase inhibitor	Recruiting	(i) Ewing sarcoma; rhabdomyosarcoma; Wilms tumor; neuroblastoma; hepatoblastoma; germ-cell tumor	I
NCT01879085	Vorinostat in combination with gemcitabine and docetaxel	Histone deacetylase inhibitor	Recruiting	(i) Metastatic or locally advanced soft-tissue sarcoma	I/II
NCT01132911	Vorinostat and bortezomib	Histone deacetylase inhibitor	Completed	(i) Lymphoma; sarcoma; Wilms tumor; neuroblastoma	I
NCT00937495	Vorinostat and bortezomib	Histone deacetylase inhibitor	Completed	(i) Recurrent or advanced adult soft-tissue sarcoma	II

Κλινική εφαρμογή των επιγενετικών φαρμάκων



Monotherapy

Drive tumor cell growth, arrest, differentiation, and cell death

Target cancer-specific gene expression programs

Synthetic lethality opportunities with mutated epigenetic enzyme complexes

Combinations

Enhance the activity and durability of clinically approved drugs

Combination synergies with chemo and targeted therapies

Target epigenetically-driven drug resistant states

Immuno-oncology

Improve patient responses to immune checkpoint inhibitors

Prime immune system for checkpoint therapies

Reactive antigenicity of "cold tumors"

Sustain anti-tumor T-cell responses

Προκλήσεις της επιγενετικής θεραπείας

- **Μεγαλύτερη ειδικότητα**, λιγότερο τοξικές ενώσεις με καλύτερες φαρμακολογικές ιδιότητες
- Ορθολογικές προσεγγίσεις για συνδυαστικές μελέτες με στόχο να **βελτιστοποιήσουν το χρονοδιάγραμμα** και να **μεγιστοποιήσουν** την αποτελεσματικότητα τους
- **Στρωματοποίηση ασθενών**: με προγνωστικούς επιγενετικούς βιοδείκτες
- Στόχευση **καρκινικών υποπληθυσμών**: είτε που παρουσιάζουν αντίσταση στη θεραπεία ή/και βλαστικών κυττάρων (cancer stem cells)

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

- Ορισμός της επιγενετικής
- Ποιοι παράγοντες έχουν επιγενετική δράση;
- Ποια είναι η κλινική σημασία της επιγενετικής ρύθμισης;
- Ποιοι είναι οι κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί και τα ένζυμα που εμπλέκονται σε αυτούς;
- Πως συμμετέχουν οι επιγενετικοί μηχανισμοί στην ανάπτυξη της καρκινογένεσης;
- Τι προκαλεί η μεθυλίωση του DNA στους υποκινητές γονιδίων; Ποια κύρια γονίδια επηρεάζει;
- Ποιοι είναι οι τρόποι μελέτης των επιγενετικών τροποποιήσεων;
- Ποιος συνδυασμός αναστολέων χρησιμοποιείται για στοχευμένη επιγενετική θεραπεία;
- Ποια είναι τα νεότερα φάρμακα στοχευμένης επιγενετικής θεραπείας;

Προτεινόμενη βιβλιογραφία

1. Επιγενετική. Lyle Armstrong. 2021 Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης.
2. Kouzarides T. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 2007 Feb 23;128(4):693-705.
3. Ellis L, Atadja PW, Johnstone RW. Epigenetics in cancer: targeting chromatin modifications. *Mol Cancer Ther*. 2009 Jun;8(6):1409-20.
4. Nikaki A, Piperi C, Papavassiliou AG. Role of microRNAs in gliomagenesis: targeting miRNAs in glioblastoma multiforme therapy. *Expert Opin Investig Drugs*. 2012 Oct;21(10):1475-88.
5. Gargalionis AN, Piperi C, Adamopoulos C, Papavassiliou AG. Histone modifications as a pathogenic mechanism of colorectal tumorigenesis. *Int J Biochem Cell Biol*. 2012 Aug;44(8):1276-89.
6. Spyropoulou A, Gargalionis A, Lea RW, Piperi C, Papavassiliou AG. Role of histone lysine methyltransferases SUV39H1 and SETDB1 in gliomagenesis: modulation of cell proliferation, migration, and colony formation. *Neuromolecular Med*. 2014 Mar;16(1):70-82.
7. Sepsa A, Levidou G, Gargalionis A, Piperi C, Korkolopoulou P. Emerging role of linker histone variant H1x as a biomarker with prognostic value in astrocytic gliomas. A multivariate analysis including trimethylation of H3K9 and H4K20. *PLoS One*. 2015 Jan 20;10(1):e0115101.
8. Klonou A, Spiliotakopoulou D, Themistocleous MS, Piperi C, Papavassiliou AG. Chromatin remodeling defects in pediatric brain tumors. *Ann Transl Med*. 2018 Jun;6(12):248.
9. de Azevedo JWV, de Medeiros Fernandes TAA, Fernandes JV Jr, de Azevedo JCV, Lanza DCF, Bezerra CM, Andrade VS, de Araújo JMG, Fernandes JV. Biology and pathogenesis of human osteosarcoma. *Oncol Lett*. 2020 Feb;19(2):1099-1116.
10. Wang J, et al. Prospects for Epigenetic Targeted Therapies of Bone and Soft-Tissue Sarcomas. *Sarcoma*. 2021.

Chromatin, Histones & Cathepsin; PMAP

<http://www.youtube.com/watch?v=eYrQ0EhVCYA>