

**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ:
«ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΥΓΧΡΟΝΗ
ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΘΕΜΑ: “ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΤΩΝ ΙΣΤΟΝΩΝ ΣΤΑ
ΓΛΟΙΩΜΑΤΑ”**

ΜΕΤΑΠΤ. ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ: ΕΛΕΝΑ ΚΟΥΝΑΔΗ

**ΑΘΗΝΑ
ΙΟΥΝΙΟΣ 2020**

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο των σπουδών για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης στη

ΝΕΟΠΛΑΣΜΑΤΙΚΗ ΝΟΣΟΣ ΣΤΟΝ ΑΝΘΡΩΠΟ: ΔΙΑΓΝΩΣΗ, ΣΥΓΧΡΟΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΑ

που απονέμει η Ιατρική Σχολή του Εθνικού Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών

Η ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ

ΒΑΘΜΙΔΑ

ΥΠΟΓΡΑΦΗ

Π. ΚΟΡΚΟΛΟΠΟΥΛΟΥ (Επιβλέπων)

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

.....

Χ. ΠΙΠΕΡΗ

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ

.....

Ι.ΓΙΑΝΝΟΠΟΥΛΟΥ

ΒΙΟΛΟΓΟΣ Ε.ΔΙ.Π

.....

ΜΑΙΟΣ 2020

Αφιέρωση

Στην Μητέρα μου

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τις επιβλέπουσες καθηγήτριές μου, Π. Κορκολοπούλου, Χ. Πιπέρη και την κυρία Ι. Γιαννοπούλου για την ουσιαστική καθοδήγησή τους και συμβολή τους για την επιτυχή ολοκλήρωση της παρούσης διπλωματικής εργασίας.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT.....	8
ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ	9
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	14
1. ΙΣΤΟΝΕΣ	15
1.1 Η οργάνωση του DNA σε χρωματίνη	15
1.2 Το νουκλεόσωμα	16
1.3 Δομή Ιστονών	18
1.4 Ιστορική ανασκόπηση των ιστονών και των ιστονικών τροποποιήσεων (PTMs).....	21
1.5 Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών	24
1.5.1 «Writers», «Erasers» και «Readers»	25
1.5.2 Κατάταξη των ιστονικών τροποποιήσεων	27
1.5.3 Τροποποιήσεις των πυρήνων των ιστονών	28
1.5.4 Τροποποιήσεις των επικρατειών ουράς των ιστονών	30
1.5.4.1 Μεθυλίωση / Απομεθυλίωση.....	32
1.5.4.1.1 Μεθυλίωση και απομεθυλίωση της Λυσίνης	32
1.5.4.1.2 Μεθυλίωση και απομεθυλίωση της Αργινίνης	34
1.5.4.2 Ο ρόλος της μεθυλίωσης και της απομεθυλίωσης στις ασθένειες.....	35
1.5.4.3 Ακετυλίωση-Αποακετυλίωση.....	40
1.5.4.4 Ο ρόλος της ακετυλίωσης και της αποακετυλίωσης στις ασθένειες.....	41
1.5.4.5 Φωσφορυλίωση και Αποφωσφορυλίωση	46
1.5.4.6 Ο ρόλος της φωσφορυλίωσης στις ασθένειες.....	48
1.5.4.7 Ουβικιτίνωση – Από-ουβικιτίνωση	49
1.5.4.8 Ο ρόλος της ουβικιτίνωσης στον καρκίνο	50
1.5.4.9 Σουμοϋλίωση.....	50
1.5.4.10 Ο ρόλος της σουμοϋλίωσης στις ασθένειες	51
1.5.4.11 β-N-γλυκοζύλιωση.....	54
1.5.4.12 Ρόλος της β-N-γλυκοζύλιωσης σε ασθένειες	54
1.5.4.13 Καρβονυλίωση	54
1.5.4.14 Κιτρουλλινίωση	55
1.5.4.15 Ρόλος της Κιτρουλλινίωσης στις ασθένειες.....	55
1.5.4.16 ADP-ριβοζύλιωση.....	55
1.5.4.17 Βιοτινυλίωση.....	56

1.5.4.18	Κροτονυλίωση	57
1.5.4.19	Ισομερισμός προλίνης.....	57
1.5.4.20	Προπιονυλίωση και Βουτυρυλίωση.....	58
1.6	Ο ιστονικός κώδικας	58
2.	ΓΛΟΙΩΜΑ	60
2.1	Ταξινόμηση του γλοιώματος και ιστορική αναδρομή.....	61
2.2	GBM: δύο δρόμοι - μία κλινική οντότητα	67
2.3	Γλοιώμα σε παιδιατρικούς ασθενείς	69
3.	ΟΙ ΙΣΤΟΝΕΣ ΣΤΑ ΓΛΟΙΩΜΑΤΑ	71
3.1	Η ιστόνη H1 στο γλοιώμα	72
3.1.1	Η δομή και ο ρόλος της ιστόνης H1	72
3.2	Η ιστόνη H2 στο γλοιώμα	75
3.2.1	H2AX – προγνωστικός παράγοντας, δείκτης ανταπόκρισης στη φαρμακευτική αγωγή	75
3.3	Οι ιστόνες H3-H4 στο γλοιώμα.....	79
3.3.1	Ιστόνη H3	79
3.3.2	Ιστόνη H4	80
4.	Απορρύθμιση των ενζύμων των ιστονών στο γλοιώμα	88
4.1	Μεθυλοτρανσφεράσες λυσίνης/αργινίνης στο γλοιώμα	88
4.2	Απομεθυλάσες της λυσίνης στο γλοιώμα	91
4.3	Ακετυλοτρανσφεράσες/αποακετυλάσες των ιστονών στο γλοιώμα	94
4.4	Φωσφορυλίωση των ιστονών στο γλοιώμα	98
4.5	Σουμοϋλίωση (SUMOylation) στο γλοιώμα.....	99
4.6	Ουβικιτίνωση (ubiquitination) των ιστονών στο γλοιώμα	100
5.	Επιγενετικές θεραπείες των γλοιωμάτων	101
5.1	Ιστορική αναδρομή στη θεραπεία του γλοιώματος.....	101
5.2	Γιατί τα φάρμακα δεν έχουν αποτέλεσμα;	102
5.3	Στοχευμένη στις ιστόνες θεραπεία στο γλοιώμα	104
5.3.1	Αναστολείς των HDAC	104
5.3.2	Αναστολείς της δομικής περιοχής bromodomain.....	110
5.3.3	Μεθυλοτρανσφεράση της αργινίνης PRMT- 5.....	111
5.3.4	Αναστολείς των απομεθυλασών των ιστονών	112
5.3.5	Αναστολείς των μεθυλοτρανσφερασών των ιστονών: EZH2.....	112
5.3.6	Αναστολέας της σουμοϋλίωσης (SUMOylation) στο γλοιοβλάστωμα: τοποτεκάνη (Topotecan).....	113
	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ	114
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	115

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα γλοιώματα αποτελούν πρωτογενείς όγκους εγκεφάλου που εμφανίζονται με μεγαλύτερη συχνότητα σε ενήλικα άτομα, παρουσιάζοντας χαρακτηριστική ιστοπαθολογική εικόνα, επιθετικότητα και κλινική έκβαση. Παρά τις ιατρικές εξελίξεις στη χειρουργική αντιμετώπιση, την ακτινοθεραπεία και τη χημειοθεραπεία η πρόγνωση του γλοιώματος παραμένει φτωχή και δυσμενής (18 μήνες) λόγω του διηθητικού χαρακτήρα ανάπτυξης του όγκου και της εγγενούς τάσης προς υποτροπή.

Μελέτες των τελευταίων ετών έχουν αποκαλύψει πληθώρα γενετικών και επιγενετικών μεταβολών που χαρακτηρίζουν τους όγκους της γλοίας. Στα καρκινικά κύτταρα της γλοίας αρκετά γενωμικά μονοπάτια είναι απορρυθμισμένα, με τις επιγενετικές τροποποιήσεις να διαδραματίζουν κεντρικό ρόλο. Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών αποτελούν μείζονος σημασίας ρυθμιστές της γονιδιακής έκφρασης, και συμβάλλουν στην παθογένεση και την εξέλιξη των όγκων. Συγκριτικά με τη μεθυλίωση του DNA, οι υπόλοιποι μηχανισμοί της επιγενετικής ρύθμισης, όπως οι χημικές τροποποιήσεις των ιστονών, έχουν μελετηθεί λιγότερο, ως προς τη κλινική τους σημασία. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι οι επιγενετικές τροποποιήσεις της χρωματίνης εμπλέκονται σημαντικά στη παθογένεια του γλοιοβλαστώματος, ενώ κάποιες από αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κλινικοί βιοδείκτες για τη βέλτιστη ταξινόμηση των ασθενών, αποτελώντας πιθανούς φαρμακευτικούς στόχους.

Επιγενετικά τροποποιημένα γονίδια συμβάλλουν στην ανάπτυξη του όγκου μεταβάλλοντας την αλληλεπίδραση με το μικροπεριβάλλον του. Συγκεκριμένα, μεταβολές στην έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις μεθυλοτρανσφεράσες λυσίνης και αργινίνης (*G9a*, *SUV39H1* και *SETDB1*), όπως και ένζυμα ακετυλίωσης και αποακετυλίωσης (*KAT6A*, *SIRT 2*, *SIRT7*, *HDAC4*, *6*, *9*) των ιστονών υπερεκφράζονται στο γλοίωμα. Αναφορικά με την απορρύθμιση στα ένζυμα της μεθυλίωσης των ιστονών, η αλληλούχιση κωδικών γονιδίων στα GBM αποκάλυψε μεταλλάξεις σε πολλά επιγενετικά ρυθμιστικά ένζυμα όπως στις απομεθυλάσες των ιστονών *KDM1*, *KDM5B*, *KDM6A*, *KDM6B*. Ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζουν οι μεταλλάξεις της ιστόνης H3.3 στη λυσίνη 27 (*K27M*) και τη γλυκίνη 34 (*G34R/V*) οι οποίες σημειώνονται περίπου στο 80% των περιπτώσεων του παιδιατρικού γλοιώματος. Μια επιπλέον μεταμεταφραστική τροποποίηση αποτελεί η σουμοϋλίωση, καθώς συναντάται αυξημένη έκφραση των στοιχείων E1 (*SAE1*), E2 (*Ubc9*) καθώς και της ειδικής για τη SUMO πρωτεάσης (*SEN1*) τόσο σε δείγματα GBM όσο και σε κυτταρικές σειρές. Σήμερα, με βάση τα ευρήματα για την απορρύθμιση έκφρασης ένζυμων των ιστονών δημιουργήθηκε πληθώρα νέων προ κλινικών και κλινικών μελετών με καινούργιες επιγενετικές στοχευμένες θεραπείες γλοιώματος, όπως η νέα γενιά HDAC και PRMT αναστολέων και bromodomain πρωτεϊνών.

Η κατανόηση εις βάθος των επιγενετικών τροποποιήσεων, που σημειώνονται στο πολύμορφο γλοιοβλάστωμα (GBM), μπορεί να ενισχύσει τη γνώση μας αναφορικά με την ογκογένεση, την εξέλιξη και την υποτροπή της νόσου. Με αυτό το στόχο, η παρούσα εργασία επιχειρεί να αναλύσει τις πρόσφατες μείζονες εξελίξεις στην έρευνα των επιγενετικών μηχανισμών που εμπλέκονται στο GBM, εστιάζοντας στις τροποποιήσεις των ιστονών, τις

κύριες μεταβολές τους, τη συσχέτιση τους με την παθογένεια των όγκων και τη χρήση της επιγενετικής θεραπείας ως μια έγκυρη επιλογή για τη θεραπεία του GBM.

ABSTRACT

Gliomas consider the most frequent and fatal primary brain tumors in adults. This group of malignancies has variable histopathology, aggressiveness, clinical outcome, and prognosis and is still challenging for neuro-oncologists because of its infiltrative growth patterns and inherent relapse tendency and poor prognosis. Glioma cells demonstrate a variety of deregulated genomic pathways, among which epigenetic alterations play one of the central roles. Histone posttranslational modifications are considered as crucial regulators of gene expression, playing significant role in the pathogenesis and tumor progression. Epigenetic modifications are essential players in glioblastoma research because they may present biomarkers for classification of the patients, critical prognostic factors for recovery or recurrence of the disease as well as potential drug targets based on many preclinical trials. In contrast with DNA methylation, multiple modifications of histones are less well described, especially for clinical purposes. Glioma initiation and progression involves series of genetic and epigenetic alterations through enzyme modifying enzymes. In particular, alterations in the expression of genes coding lysine and arginine methyltransferases (*G9a*, *SUV39H1* and *SETDB1*) as well as acetyltransferases and deacetylases (*KAT6A*, *SIRT 2*, *SIRT7*, *HDAC4*, 6, 9) contribute to GBM pathogenesis. Special role has been attributed to mutations of H3.3 histone variant (H3F3A) at lysine 27 (*K27M*) and glycine 34 (*G34R/V*) that occur in approximately 80% of the pediatric glioma cases. In addition, numerous of studies have shown that proteins of SUMOylation pathway are upregulated in GBM cell lines, including E1 (*SAE1*), E2 (*Ubc9*) components as well as a SUMO-specific protease (*SEN1*). Up to date, based on findings in deregulation of histone modified enzymes were created significant amount of glioma preclinical and clinical studies with new target of epigenetic enzymes, including new generation of HDAC and PRMT inhibitors as well as novel bromodomain proteins.

Taken altogether, in this review aims to describe and provide an update on the recent major advances in GBM epigenetics research based on histone modification data and the use of epigenetic therapy as a valid option for GBM treatment.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

- ACVR1:** Activin receptor type 1 – Υποδοχέας ακτιβίνης τύπου 1
- ADMA:** asymmetric dimethylarginine – ασύμμετρη διμεθυλαργινίνη
- ADP ribosylation:** - Adenosine diphosphate ribosylation – Ριβοζυλίωση διφωσφορικής αδενοσίνης
- AML** Acute myeloid leukemia - Οξεία Μυελοειδής Λευχαιμία
- ANM1** arginine N-methyltransferase 1- N-μεθυλοτρανσφεράση της αργινίνης
- APC/C ligases** - Anaphase-promoting complex – Σύμπλοκο προώθησης της ανάφασης
- ARTs** - ADP-ribosyltransferases – ADP-ριβοζυλοτρανσφεράσες
- AURKA-** Aurora kinase A – Κινάση Aurora A
- BARD** - BRCA1-associated RING domain protein (gene) - BRCA1 σχετιζόμενη πρωτεΐνη με επικράτεια RING
- BBB** blood-brain barrier – Αιματοεγκεφαλικός φραγμός
- BMI 1** - B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1: σημείο προσκόλλησης 1, σε B κύτταρα, του ιού που προκαλεί λευχαιμία Moloney
- BTB** – biotinidase- βιοτινιδάση
- CARM1-** coactivator-associated arginine methyltransferase 1 –μεθυλοτρανσφεράση 1 της αργινίνης σχετιζόμενη με συν-ενεργοποιητές
- CBP** - CREB-binding protein – CREB δεσμευόμενη πρωτεΐνη
- CDK-2** - Cyclin dependent kinase – Κυκλινοεξαρτώμενη κινάση 2
- CDKN1A** Cyclin dependent kinase inhibitor p21- Αναστολέας p21 της κυκλινοεξαρτώμενης κινάσης
- CENP-A** - Human centromere protein A – Ανθρώπινη κεντρομερική πρωτεΐνη A
- Chk2 kinase** - Checkpoint kinase 2 – Κινάση σημείου ελέγχου 2
- CMML** chronic myelomonocytic leukemia- χρόνια μυελομονοκυτταρική λευχαιμία
- CNS** central nervous system - Κεντρικό Νευρικό Σύστημα
- CREBBP** - cAMP-response element binding protein – Πρωτεΐνη Δέσμευσης του στοιχείου αντίδρασης στην cAMP
- CRMP2** - Collapsin response mediator protein 2 –ενδιάμεση πρωτεΐνη αντίδρασης 2 στην κολαψίνη
- GSCs** - glioblastoma stem cell – βλαστικά κύτταρα γλοιοβλαστώματος
- CTCL** - cutaneous T-cell lymphoma – δερματικό T-λεμφοκυτταρικό λέμφωμα
- DIPGs** intrinsic pontine gliomas – διάχυτο γλοίωμα γέφυρας εγκεφάλου
- DNA** - Deoxyribonucleic acid – Δεσοξυριβονουκλεϊκό οξύ
- DSB** double-strand breaks – Δίκλωνες Θραύσεις του DNA
- DUB** deubiquitinating enzymes – ένζυμα από-ουβικιτίνωσης
- EGF** - epidermal growth factor – επιδερμικός αυξητικός παράγοντας
- EHMT2 (G9a)** Euchromatic Histone Lysine Methyltransferase 2 – μεθυλοτρανσφεράση 2 της λυσίνης των ευχρωματινικών ιστονών
- eNOS** endothelial nitric oxide synthase – συνθάση μονοξειδίου του αζώτου
- ESC** embryonic stem cells – εμβρυονικά βλαστοκύτταρα
- EZH2** Enhancer of zeste homolog 2 – ενισχυτής 2 του ομόλογου zeste

FAD- flavin adenine dinucleotide - δινουκλεοτίδιο φλαβίνης αδενίνης

FDA Food and Drug Administration – Οργανισμός Τροφίμων και Φαρμάκων

FGF fibroblast growth factors – Αυξητικοί Παράγοντες Ινοβλαστών

FLJ13798 full-length human protein – Ανθρώπινη Πρωτεΐνη Πλήρους Μήκους

G9a also known as EHMT2 Euchromatic histone-lysine N-methyltransferase 2 -

GAL Galanin - Γαλανίνη

GBM Glioblastoma Multiforme –Πολύμορφο Γλοιοβλάστωμα

GCN5L General control nonderepressible-5 long isoform – ισομορφή μη εκτελέσιμου γενικού ρυθμιστή 5

GFAP glial fibrillary acid protein - Πρωτεΐνη Γλοιακού Ινιδιακού Οξέος

GNAT - GCN5-related N-acetyltransferase – N-ακετυλοτρανσφεράση σχετιζόμενη με GCN5

HAT histone acetyltransferases – Ακετυλοτρανσφεράσες των ιστονών

HBO Hemoglobin-like protein – Πρωτεΐνη που ομοιάζει με Αιμοσφαιρίνη

HCS holocarboxylase synthetase (also biotin-dependent carboxylase) – Ολοκαρβοξυλική Συνθετάση

HCT histone crotonyltransferase – Κροτονυλτρανσφεράση των ιστονών

HDAC Histone deacetylase – Αποακετυλάση των ιστονών

HDM Histone Demethylase – Απομεθυλάση των ιστονών

HDMT Histone Demethyltransferase – Διμεθυλοτρανσφεράση των ιστονών

Hmof chromatin-modifying factor – Παράγοντας τροποποίησης Χρωματίνης

HMT histone methyltransferases – Μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών

HP1 - heterochromatin protein 1 – Πρωτεΐνη Ετεροχρωματίνης 1

HRMT human arginine methyltransferases – Ανθρώπινες Μεθυλοτρανσφεράσες της Αργινίνης

IDH isocitrate dehydrogenase – Ισοκιτρική Αφυδρογονάση

IFN γ interferon γ – Ιντερφερόνη γ

IL-1 interleukin-1 – Ιντερλευκίνη 1

INI1 integrase interactor 1- Στοιχείο αλληλεπίδρασης με Ιντεγκράση

JAK2 Janus kinase 2- Κινάση Ιανού 2

Jarid1 Jumonji, AT-rich interactive domain 1 - Επικράτεια αλληλεπίδρασης πλούσια σε A-T 1 της απομεθυλάσης των ιστονών KDM5/JARID1.

JMJD Jumonji C domain – C επικράτεια της Jumonji

JNK kinase c-Jun N-terminal kinases – Κινάσες Αμινοτελικού Άκρου c-Jun

KAT lysine acetyltransferase – Ακετυλοτρανσφεράση της λυσίνης

KDM lysine demethylases – Απομεθυλάσες της λυσίνης

KMT lysine methyltransferases – Μεθυλοτρανσφεράσες της λυσίνης

LGG Lactobacillus rhamnosus GG – Στέλεχος του Lactobacillus rhamnosus που απομονώθηκε από τους Gorbach και Goldin

LSD1 Lysine-specific histone demethylase 1 – Απομεθυλάση 1 της λυσίνης των ιστονών

MAPK mitogen-activated protein kinase - Ενεργοποιούμενη από μιτογόνα πρωτεϊνική κινάση

MAPKAP-K1b (RSK-2) - Ribosomal S6-kinase, also known as MAPKAP-K1b – Ριβοσωμική S6 Κινάση

MBD methyl-CpG-binding domain – Επικράτεια Πρόσδεσης στα μεθυλιωμένα CpG

MBS medulloblastoma - Μυελοβλάστωμα

MGMT - O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase – Μεθυλοτρανφεράση της O⁶ Μεθυλογουανίνης

MHS Major Histocompatibility System – Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας

MLL Mixed Lineage Leukemia - λευχαιμία μικτού φαινοτύπου

MOF (also known as human MYST1) - Males absent on the first (MOF)

MORF Multiple organellar RNA editing factor –Τροποποιητικός παράγοντας RNA των οργανιδίων

MOZ monocytic leukemia zinc finger – Δακτύλιος Ψευδαργύρου Μονοκυτταρικής Λευχαιμίας

Msk1 mitogen- and stress activated kinase 1 – Κινάση 1 ενεργοποιούμενη από μιτογόνα και στρες

MTM1 Tyr phosphatase – Φωσφατάση Τυροσίνης

MVP microvascular proliferation – Μικροαγγειακός Πολλαπλασιασμός

MYB Avian myeloblastosis virus – Ιός Μυελοβλάστωσης Πτηνών

MYBL1 MYB Proto-Oncogene Like 1: MYB τύπου πρωτοογκογονίδιο 1

MYST1 also called KAT8 or MOF

NCOA Nuclear receptor coactivator- related HAT: HAT σχετιζόμενη με συν-ενεργοποιητή πυρηνικού υποδοχέα

NHL Non-Hodgkin lymphoma: λέμφωμα non-Hodgkin

NPM1 Nucleophosmin1: Νουκλεοφωσμίνη 1

NSD1 Nuclear Receptor Binding SET Domain Protein 1: Πρωτεΐνη πρόσδεσης σε επικράτεια SET πυρηνικού υποδοχέα

NTRK- family Neurotrophic tyrosine kinase: νευροτροφική κινάση τυροσίνης

O-GlcNAcase- β-N-acetylglucosaminidase: β-N-ακετυλογλυζαμινιδάση

OGT - O-GlcNAc transferase: β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση

OS - overall survival: συνολική επιβίωση

OTUD6B ovarian tumor (OTU) deubiquitinase 6B: Αποουβικιτινάση 6B Όγκου Ωοθηκών

p300/CBP adenoviral E1A-binding protein of 300 kDa: Αδενοϊκή Πρωτεΐνη δέσμησης στην E1A πρωτεΐνη μοριακού βάρους 300kDa

PADs peptidylarginine deiminases: Απαμινάση Πεπτιδυλαργινίνης

PCAF P300/CBP-associated factor: P300/CBP σχετιζόμενος παράγοντας

Pcip p300/CBP interacting protein: p300/CBP πρωτεΐνη αλληλεπίδρασης

PCTC - Primary Cultured Tumor Cells: Πρωτογενής Καλλιέργεια Κυττάρων Όγκου

PDGF Platelet-derived growth factor: Αιμοπεταλιακός Αυξητικός Παράγοντας

PDGFRA platelet derived growth factor alpha: Αιμοπεταλιακός Αυξητικός Παράγοντας Α

PFS progression free survival: Επιβίωση χωρίς πρόοδο της νόσου

PHF8 PHD finger protein 8: PHD Δακτυλική Πρωτεΐνη 8

pHGG Pediatric high-grade gliomas: Παιδιατρικά Γλοιώματα Υψηλού Βαθμού Διαφοροποίησης

PIK3CA Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha: β

PKC Protein kinase C: Πρωτεϊνική Κινάση C

PKMTs protein lysine methyltransferases: Μεθυλοτρανσφεράσες Λυσινών των Πρωτεϊνών

PLU1 βλέπε JARID1B

PMT Putrescine N-methyltransferase: N-μεθυλοτρανσφεράση πουτρεσκίνης

PPM metallo-dependent protein phosphatase: Μεταλλο-Εξαρτώμενη Πρωτεϊνική Φωσφατάση

PPP phosphoprotein phosphatase: Φωσφοπρωτεϊνική Φωσφατάση

PRC2 Polycomb Repressive Complex 2: Κατασταλτικό Σύμπλοκο Πρωτεΐνης polycomb 2

PRMT arginine methyltransferases: Μεθυλοτρανσφεράση Αργινίνης

PR-SET7 PR/SET domain containing protein 7: PR/SET Επικράτεια που περιέχει την πρωτεΐνη 7

PTCL peripheral T-cell lymphoma: Λέμφωμα Περιφερικών T Λεμφοκυττάρων

PTM Post-translational modification: Μετα-μεταφραστική Τροποποίηση

PTP protein-tyrosine phosphatase: Φωσφατάση Τυροσίνης Πρωτεϊνών

Rak2 ribosomal S6 kinase 2: Κινάση 2 της Ριβοσωμική Υπομονάδας S6

RBP2 Retinol Binding Protein 2: Πρωτεΐνη δέσμευσης στην Ρετινόλη 2

RIZ The retinoblastoma protein-interacting zinc finger gene: Γονίδιο που κωδικοποιεί πρωτεΐνη με δακτύλιο ψευδαργύρου, η οποία αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη του Ρετινοβλαστώματος

RNA Ribonucleic acid: Ριβονουκλεϊκό οξύ

RTS Rubinstein–Taybi syndrome: Σύνδρομο Rubinstein–Taybi

SAE SUMO1 Activating Enzyme Subunit 1: Υπομονάδα 1 του Ενζύμου που Ενεργοποιεί την SUMO1

SAHA suberoyl+anilide+hydroxamic acid (Vorinostat): Βορινοστατη

SCF Stem cell factor: Παράγοντας βλαστικών κυττάρων

SCID severe combined immunodeficiency: Σοβαρή Συνδυασμένη Ανοσοανεπάρκεια

SENPs Sentrin-specific protease 6: Πρωτεάση 6 ειδική για Σεντρίνη

SET Su(var)3-9, Enhancer-of-zeste and Trithorax: Ενισχυτής Γονιδίων zeste και trithorax

SETDB2 SET Domain Bifurcated Histone Lysine Methyltransferase 2: Μεθυλοτρανσφεράση 2 λυσίνης της Επικράτεια SET των ιστονών

Sirt Sirtuin 1: σιρτουΐνη 1

SMCX είναι KDM5C (also known as JARID1C)

SMCY είναι KDM5D

SMYD SET and MYND domain-containing proteins: Πρωτεΐνες που περιέχουν SET και MYND επικράτεια

STKs serine/threonine kinases: Κινάσες Σερίνης/Θρεονίνης

SUMO Small Ubiquitin-like Modifier: Τροποποιητής Μικρών Πρωτεϊνών Τύπου Ουβικιτίνης

SUV39 Suppressor of variegation 3-9 homolog 1:

SWIRM domain Swi3p, Rsc8p and Moira

TAFI thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor: Αναστολέας ινοδόλυσης που ενεργοποιείται από θρομβίνη

TERT-promoter mutations: Μεταλλάξεις στον υποκινητή του TERT

TET ten-eleven translocation: Ένζυμα χρωμοσωμικής μετατόπισης 10-11

TF transcription factor: Μεταγραφικός Παράγοντας

TIP60 είναι KAT5

TK tyrosine kinases: Κινάσες Τυροσίνης

TMZ – temozolomide: Τεμεζολομίδη

TMZ R temozolomide resistance cells: Κύτταρα Ανθεκτικά στην Τεμεζολομίδη

TNF α - tumor necrosis factor α : Παράγοντας Νέκρωσης Όγκου α

TSC1/2 mutations: Μεταλλάξεις στα γονίδια TSC1/2

Ub Ubiquitin: Ουβικιτίνη

UBC Ubiquitin C: Ουβικιτίνη C

UBP ubiquitin specific processing proteases: Πρωτεάσες Επεξεργασίας Ουβικιτίνης

UCH ubiquitin C-terminal hydrolases: Υδρολάσες Καρβοξυτελικού Άκρου Ουβικιτίνης

USP ubiquitin-specific peptidase: Πεπτιδάση Ουβικιτίνης

UTX Ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat, X chromosome, είναι KDM6A

VCPIP1 Valosin Containing Protein Interacting Protein 1: Αλληλεπιδρώσα πρωτεΐνη 1 των πρωτεϊνών που περιέχουν βαλοσίνη

VEGF vascular endothelial growth factor: Αυξητικός Παράγοντας Ενδοθηλίου Αγγείων

WHO - World Health Organization: Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας

WHSC1L1 Wolf-Hirschhorn Syndrome Candidate 1-Like 1: Υποψήφιος παράγοντας για το σύνδρομο Wolf-Hirschhorn

Zap70 Zeta Chain of T Cell Receptor Associated Protein Kinase 70: κινάση της αλυσίδας Z του υποδοχέα T λεμφοκυττάρων

ZNF22 zinc finger protein: πρωτεΐνη με επικράτεια δακτυλίου ψευδαργύρου

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Μετά την πρώτη εμφάνιση της επιγενετικής από τον C. Waddington τη δεκαετία του 1940 και την πρωτοποριακή εργασία του V. Allfrey τη δεκαετία του 1960 έχει σημειωθεί τεράστια ανάπτυξη σε αυτό το πεδίο. Την τελευταία δεκαετία, ερευνητές σε όλον τον κόσμο έχουν αποκαλύψει πάρα πολλές πληροφορίες σχετικά με το επιγένομα. Παρόλα αυτά, πολλές ερωτήσεις παραμένουν αναπάντητες. Οι μελέτες της επιγενετικής εστιάζουν κυρίως στη διερεύνηση της μεθυλίωσης του DNA, των ποικιλόμορφων των ιστονών, και των τροποποιήσεων των ιστονών καθώς και της τοποθέτησης του νουκλεοσώματος. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες δέσμευσης του DNA και των ιστονών, που επηρεάζουν τη δομή της χρωματίνης, καθώς και τα μόρια μη κωδικού RNA (ncRNA) έχουν εντοπιστεί ως βασικοί συμμετέχοντες στην αναδόμηση της χρωματίνης. Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTM) στα άκρα των ιστονών ρυθμίζουν δύο αντίθετες διαδικασίες, την ενεργοποίηση και την καταστολή της μεταγραφής. Επιπρόσθετα, τα τροποποιημένα άκρα των ιστονών χρησιμεύουν ως θέσεις πρόσδεσης και σηματοδότησης για ρυθμιστικές πρωτεΐνες και πρωτεΐνες αναδόμησης, επηρεάζοντας με αυτόν τον τρόπο την οργάνωση της χρωματίνης.

Ο σκοπός αυτής της εργασίας είναι η παράθεση νεότερων δεδομένων σχετικά με τις σημαντικότερες PTM και του ρόλου των εμπλεκόμενων ενζύμων στην ανάπτυξη του καρκίνου του εγκεφάλου, και ειδικότερα του γλοιώματος. Πρόσφατα ευρήματα σχετικά με νέες PTM επισημαίνουν το ρυθμό της προόδου σε αυτόν τον τομέα και τονίζουν την περιπλοκότητα του επιγενώματος, τη ρύθμιση και απορρύθμιση του στον καρκίνο, καθώς και τη φύση των ρυθμιστών του και των πρωτεϊνών αλληλεπίδρασης. Στο δεύτερο μέρος της εργασίας αναλύεται η γένεση του γλοιώματος και ο ρόλος των ενζύμων που συμμετέχουν στις τροποποιήσεις των ιστονών στην εξέλιξη της νόσου. Επιπλέον περιγράφεται η διαδικασία ανακάλυψης φαρμάκων που εφαρμόζεται κατά την αναζήτηση αποτελεσματικών θεραπευτικών παραγόντων, οι οποίοι παρεμβαίνουν σε επιγενετικούς μηχανισμούς ή αντιστρέφουν επιγενετικές τροποποιήσεις συμβάλλοντας στην ανθεκτικότητα στη φαρμακευτική αγωγή κατά στη θεραπεία του GBM (πολύμορφο γλοιοβλάστωμα).

1. ΙΣΤΟΝΕΣ

1.1 Η οργάνωση του DNA σε χρωματίνη

Το DNA στον πυρήνα των ευκαρυωτικών κυττάρων συνδέεται με πρωτεΐνες και οργανώνεται σε χρωματίνη. Εκτός από το πακετάρισμα και την προστασία της γενετικής πληροφορίας, η συμπίκνωση του γενωμικού DNA σε χρωματίνη προσδίδει ένα επιπλέον επίπεδο ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης (Wolffe, 1998). Το DNA μπορεί να σχηματίζει διαφορετικές δομές χρωματίνης, την ετεροχρωματίνη και την ευχρωματίνη, που καλύπτουν μεγάλο μέρος του γονιδιώματος. Οι περιοχές ετεροχρωματίνης είναι μεταγραφικά αποσιωπημένες και μεταγράφονται αργότερα από τις μεταγραφικά ενεργές περιοχές της ευχρωματίνης (Deuring et al., 2000; Friedman et al., 1996; Kornberg and Lorch, 1995; Leach et al., 2000). Οι βασικές δομές της χρωματίνης, τα νουκλεοσώματα χωρίζονται από ένα συνδετικό τμήμα DNA που μπορεί να ποικίλει ως προς το μέγεθος και προσδίδει ελαστικότητα στην αλυσίδα των νουκλεοσωμάτων. Η ωρίμανση της χρωματίνης που ακολουθεί την εναπόθεση των νουκλεοσωμάτων πάνω στο DNA περιλαμβάνει την αποακετυλίωση, την αυστηρή ρύθμιση των αποστάσεων των νουκλεοσωμάτων καθώς και την αλληλεπίδραση τους με άλλου τύπου ιστόνες που παίζουν τον ρόλο του συνδέτη. Το περιβάλλον της χρωματίνης είναι κατά κύριο λόγο ‘καταπιεστικό’ με την έννοια ότι η οργάνωση του ‘γυμνού’ DNA σε νουκλεοσώματα εμποδίζει την αντιγραφή και την μεταγραφή (Li and Botchan, 1994; Simpson, 1990). Η περαιτέρω συμπίκνωση του νουκλεοσωμικού DNA σε ίνες των 30nm και δομές τύπου βρόγχου (Cook and Brazell, 1976; Paulson and Laemmli, 1977) δυσχεραίνει ακόμα περισσότερο την πραγματοποίηση των διαδικασιών αυτών.

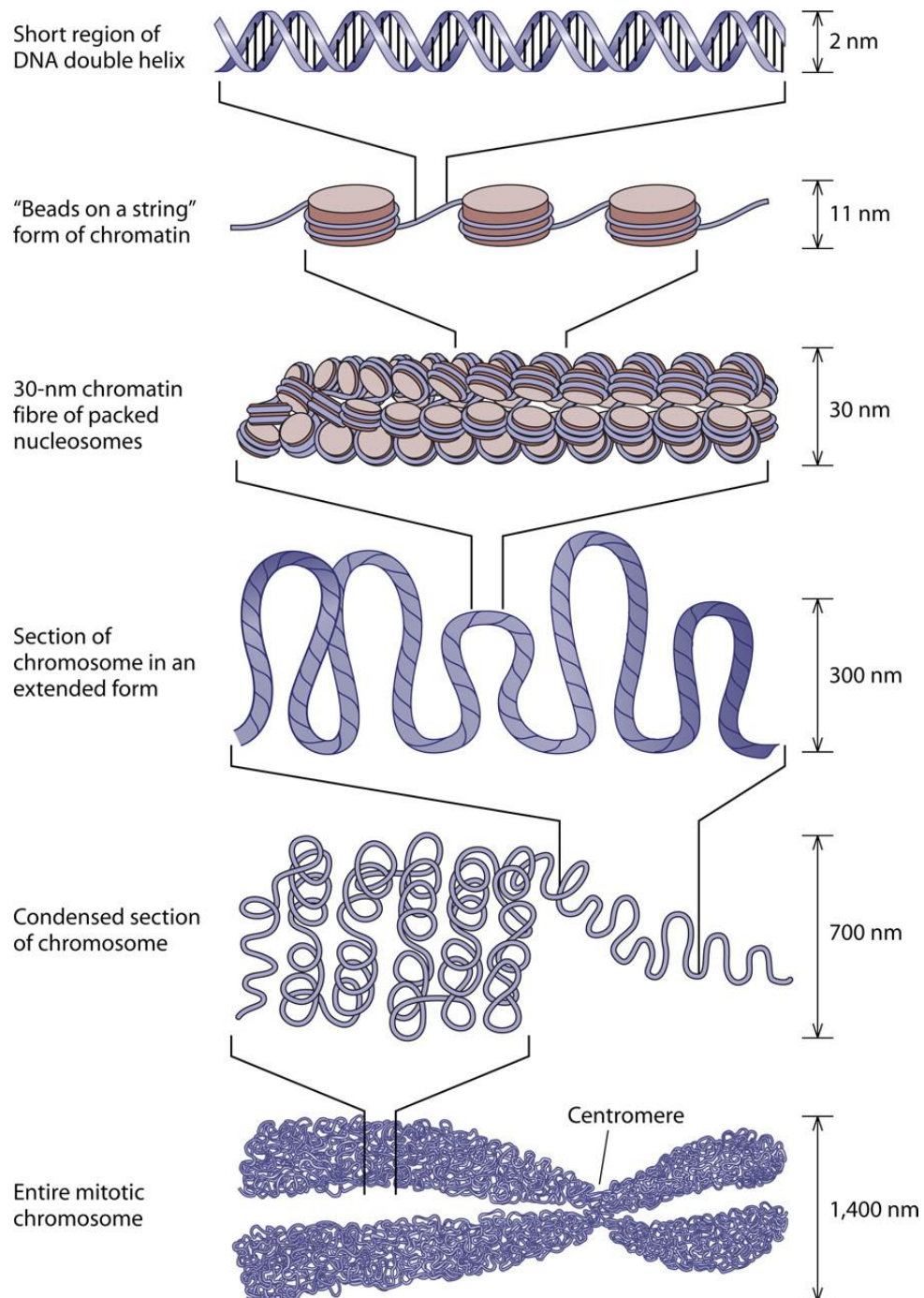
Δεδομένου λοιπόν ότι η χρωματίνη αποτελεί έναν φραγμό διαφόρων διαδικασιών που επηρεάζουν το DNA, όπως η αντιγραφή, η επιδιόρθωση και η μεταγραφή, απαιτείται η ύπαρξη ενός μηχανισμού που να μπορεί να ανοίγει ή να αναδιατάσσει τη χρωματίνη με σκοπό να γίνει προσβάσιμη σε παράγοντες αντιγραφής και μεταγραφής. Οι τροποποιήσεις της δομής της χρωματίνης αποτελούν ένα ουσιώδη τρόπο ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης. Τα μακρομοριακά σύμπλοκα τροποποιούν ή διατηρούν τη δομή της χρωματίνης σε συγκεκριμένες περιοχές του γονιδιώματος, δηλαδή διασφαλίζουν την ρύθμιση των πυρηνικών λειτουργιών (Demeret et al., 2001).

1.2 Το νουκλεόσωμα

Η βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης ορίστηκε για πρώτη φορά μετά την πέψη της χρωματίνης με το ένζυμο μικροκοκκική νουκλεάση, που είχε ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση των μονο-νουκλεοσωμάτων (Εικόνα 1). Περαιτέρω κατεργασία με την νουκλεάση αυτή οδηγεί στην αποικοδόμηση του DNA που βρίσκεται μεταξύ των νουκλεοσωμάτων, καταλήγοντας σε ένα σύμπλοκο DNA μήκους περίπου 166 b.p. (ζευγών βάσεων) με ένα οκταμερές πυρήνα ιστονών και την ιστόνη H1 (Thomas, 1999). Η περαιτέρω πέψη αυτού του συμπλόκου παράγει ένα οκταμερές ιστονών γύρω από το οποίο τυλίγεται ένα μόριο DNA μήκους 146 b.p. και αποτελεί το βασικό σωματίδιο του νουκλεοσώματος (Ramakrishnan, 1997; Thomas, 1999). Οι ιστόνες του νουκλεοσώματος είναι μικρές (102-135 αμινοξέα) συντηρημένες πρωτεΐνες με κοινά δομικά μοτίβα, τις επικράτειες αναδίπλωσης των ιστονών, οι οποίες αποτελούνται από τρεις α -έλικες που συνδέονται με δύο βρόγχους (Arents, et al 1991; Arents and Moudrianakis, 1995). Υπάρχουν τέσσερις τύποι πυρηνικών ιστονών, η H2A, η H2B, η H3 και η H4. Στο νουκλεόσωμα, η H2A με την H2B όπως και η H3 με την H4 διμερίζονται (Arents et al., 1991). Στη συνέχεια, δύο από τα διμερή H3-H4 δημιουργούν ένα τετραμερές, στο οποίο προσδένονται δύο διμερή των H2A-H2B ώστε να δημιουργηθεί ένα οκταμερές (Arents et al., 1991). Οι πυρηνικές ιστόνες εμπεριέχουν πολλά κατάλοιπα λυσίνης και αργινίνης που διαθέτουν θετικά φορτία, μέσω των οποίων έλκεται ο αρνητικά φορτισμένος σκελετός του DNA. Επιπλέον, αναπτύσσονται πολλοί δεσμοί υδρογόνου και υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του DNA και των πυρηνικών ιστονών. Η δομή του πυρηνικού νουκλεοσώματος προσδιορίστηκε με κρυσταλλογραφία ακτίνων X και ο αριθμός των 146 b.p. περιελίσσεται κατά 1.65 στροφές γύρω από το οκταμερές των ιστονών (Luger et al., 1997). Οι θέσεις πρόσδεσης του νουκλεοσώματος πάνω στο μόριο του DNA καθορίζονται από συγκεκριμένες αλληλουχίες νουκλεοτιδίων (Θέσεις Πρόσδεσης Νουκλεοσωμάτων) (Ramakrishnan et al 1997; Schnitzler et al 2008) και από άλλες πρωτεΐνες που προσδένονται ισχυρά πάνω στο DNA. Οι θέσεις αυτές ρυθμίζονται από ειδικά ένζυμα με ικανότητα τροποποίησης της δομής της χρωματίνης (Schnitzler, 2008), πολλές φορές με την συνεισφορά των ιστονικών τσαπερονών. Για να ολοκληρωθεί η δομή του νουκλεοσώματος (Εικόνα 2) μια συνδετική ιστόνη (H1 ή H5) προσδένεται στο βασικό σωματίδιο του νουκλεοσώματος και παρέχει προστασία σε 20 επιπλέον b.p. συνδετικού τμήματος DNA, μέσω του οποίου δημιουργείται η γωνία εισόδου και εξόδου του DNA πάνω στο νουκλεόσωμα (Gréen et al., 2009).

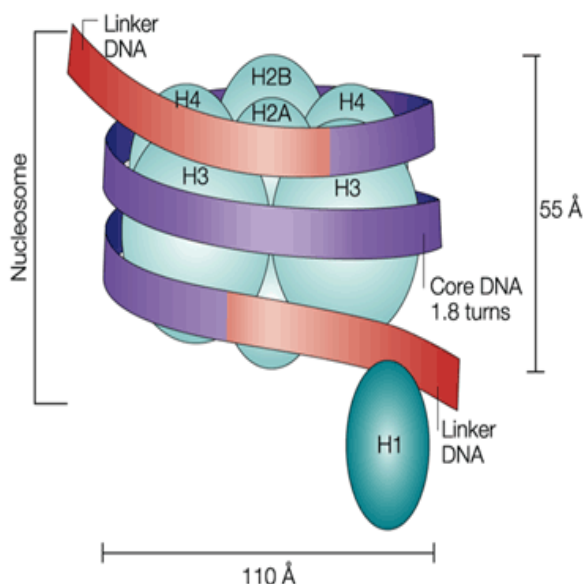
Τα νουκλεοσώματα συνδέονται μεταξύ τους μέσω ενός συνδετικού τμήματος DNA του οποίου το μήκος διαφοροποιείται ανάμεσα στα διαφορετικά είδη κυττάρων και οργανισμών (Ramakrishnan, 1997). Η θέση των συνδετικών ιστονών πάνω στο νουκλεόσωμα αποτελεί θέμα επιστημονικής διαμάχης (Thomas et al., 1999) και παίζει ζωτικό ρόλο καθώς οι ιστόνες εμπλέκονται στο πακετάρισμα των νουκλεοσωμικών συστοιχιών σε ίνες με διάμετρο 30nm (Εικόνα 1), μέσω της συμμετρικής ή ασύμμετρης πρόσδεσης της σφαιρικής επικράτειας των συνδετικών ιστονών σε ένα διμερές νουκλεοσωμάτων. Η δομή των ινιδίων μήκους 30nm δεν έχει αναλυθεί πλήρως και έχουν προταθεί διάφορα μοντέλα κατά καιρούς (Ramakrishnan et al., 1997; Robinson and Rhodes, 2006; Staynov et al., 2008). Παρ' όλο που η συμπύκνωση

της χρωματίνης μπορεί να επιτευχθεί χωρίς τις συνδετικές ιστόνες, πολλές έρευνες προτείνουν πως οι ιστόνες παίζουν ρόλο στην διαμόρφωση των ινών χρωματίνης των 30nm (Robinson and Rhodes, 2006), ή σταθεροποιούν τα ινίδια όταν αυτά διαμορφωθούν (Gréen, 2009).



ΕΙΚΟΝΑ 1

Η δομή της χρωματίνης. Το DNA περιελίσσεται γύρω από το οκταμερές των ιστονών ώστε να σχηματιστεί το νουκλεόσωμα. Τα νουκλεοσώματα συνδέονται με αλληλουχίες συνδετικού DNA. Τα νουκλεοσώματα αναδιπλώνονται σε μια δομή τύπου ινιδίου με διάμετρο περίπου 30nm. Τα ινίδια αυτά συμπυκνώνονται ακόμα περισσότερο σε δομές υψηλής τάξης που δεν έχουν χαρακτηριστεί λεπτομερώς (Ανατύπωση από Felsenfeld G., 2003. Controlling the double helix. Nature 421:448–453).



Nature Reviews | Immunology

Εικόνα 2, Το Νουκλεόσωμα: Η συναρμολόγηση του DNA σε ακόμη πιο συμπυκνωμένη δομή καλείται χρωματίνη και είναι απαραίτητη για το πακετάρισμα του γονιδιώματος σε μέγεθος που να χωράει στον πυρήνα του κυττάρου. Το νουκλεόσωμα, η βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης αποτελείται από DNA περίπου 200 ζ.β. περιελιγμένο σφιχτά γύρω από ένα οκταμερές ιστονών. Το οκταμερές αυτό οργανώνεται από τα διμερή των ιστονών H2A, H2B, H3 και H4. Το DNA που ενώνει τα διαδοχικά νουκλεοσώματα καλείται συνδετικό και πάνω του συνδέεται μια άλλη ιστόνη, η H1. Η επαναλαμβανόμενη αυτή δομή των ιστονών είναι ο λόγος που το DNA μοιάζει με «χάντρες επάνω σε μια κλωστή» κατά την παρατήρηση του στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Στα κύτταρα, τα νουκλεοσώματα συμπυκνώνονται περαιτέρω σε δομές υψηλότερης τάξης. Η συμπύκνωση αυτή μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία προσέγγισης του DNA από τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες των γονιδίων, γεγονός που παρεμβαίνει στην ρύθμιση της έκφρασης αυτών (Ανατύπωση από: Georgopoulos K., 2002. Nature Reviews Immunology 2, 162-174).

1.3 Δομή Ιστονών

Οι ιστονικές πρωτεΐνες μπορούν εύκολα να διαχωριστούν από τις υπόλοιπες πρωτεΐνες ενός κυττάρου λόγω τεσσάρων πολύ ιδιαίτερων χαρακτηριστικών που διαθέτουν: α) την υψηλή περιεκτικότητα σε βασικά αμινοξέα που προσδίδουν στο πρωτεϊνικό μόριο ισχυρά βασικό χαρακτήρα, β) τις δομικές επικράτειες με σφαιρική διαμόρφωση ενώ «οι ουρές» είναι ελεύθερες, γ) εξελικτικά συντηρημένες και δ) τη παρουσία μη αλληλομορφών της κάθε ιστόνης εκτός της ιστόνης H4. Όπως προαναφέρθηκε, οι ιστόνες αποτελούν τους κύριους ρυθμιστές της οργάνωσης του DNA και συμμετέχουν στη δημιουργία πρωτεϊνικών συμπλοκών είτε μεταξύ τους, είτε με άλλες πρωτεΐνες μέσω αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-πρωτεΐνης. Πέντε είναι οι

κύριες οικογένειες ιστονών που υπάρχουν: η H1/H5, (συνδετικές Ιστόνες), η H2A, η H2B, η H3 και η H4 που είναι γνωστές ως πυρηνικές ιστόνες.

Οι πυρηνικές ιστόνες έχουν χαμηλό μοριακό βάρος (11-16 kDa) και πάνω από 20% περιεκτικότητα σε βασικά αμινοξέα. Η H2A και η H2B διαθέτουν μεγαλύτερα ποσοστά λυσίνης, ενώ η H3 είναι πλούσια σε αργινίνη.

Όλες οι πυρηνικές ιστόνες είναι υψηλά συντηρημένες τόσο σε μήκος όσο και σε αμινοξική αλληλουχία κατά την εξέλιξη. Η H3 και η H4 είναι οι πιο συντηρημένες καθώς μόνο οκτώ αμινοξέα διαφέρουν μεταξύ της αλληλουχίας της H4 του ανθρώπου και του ζυμομύκητα, ενώ η ανθρώπινη H4 διαφέρει μόλις σε δεκαεννέα αμινοξέα από αυτήν της *Tetrahymena*. Το πιο αξιοσημείωτο γεγονός είναι πως ο αριθμός των αμινοξικών καταλοίπων στις ιστόνες H3 και H4 είναι σχεδόν συντηρημένος σε όλους τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (-120 αμινοξέα για την H4 και 135 αμινοξέα για την H3). Αυτή η αξιοθαύμαστη εξελικτική συντήρηση μπορεί να εξηγήσει το σημαντικό ρόλο που διαδραματίζουν η H3 και η H4 στο νουκλεόσωμα και σε άλλες διαδικασίες που εμπλέκουν τα χρωμοσώματα. Αντίθετα, οι H2A και H2B είναι σε μικρότερο βαθμό εξελικτικά συντηρημένες.

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ιστονών διαμεσολαβούνται από την εξελικτικά συντηρημένη σφαιρική επικράτεια που διαθέτουν. Επιπλέον υπάρχουν και άλλες δύο μικρές ουρές που προεξέχουν από τις σφαιρικές επικράτειες. Πιο συγκεκριμένα πρόκειται για το αμινοτελικό άκρο που αποτελείται από 20-35, κατά κύριο λόγο βασικά, αμινοξικά κατάλοιπα και ένα μικρό καρβοξυτελικό άκρο που είναι προσβάσιμο από πρωτεάσες. Η ιστόνη H2A είναι μοναδική σε σχέση με τις υπόλοιπες λόγω των 37 επιπλέον αμινοξέων στο καρβοξυτελικό άκρο της που προεξέχει προς το εξωτερικό του νουκλεοσώματος (Εικόνα 3) (Kornberg et al., 1974).

Το αμινοτελικό (N-) και το καρβοξυτελικό (C-) άκρο των ιστονών ευθύνεται για διαφορετικές λειτουργίες. Συγκεκριμένα:

- Το καρβοξυτελικό άκρο είναι υπεύθυνο για τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ DNA και ιστονών καθώς και των ιστονών μεταξύ τους.

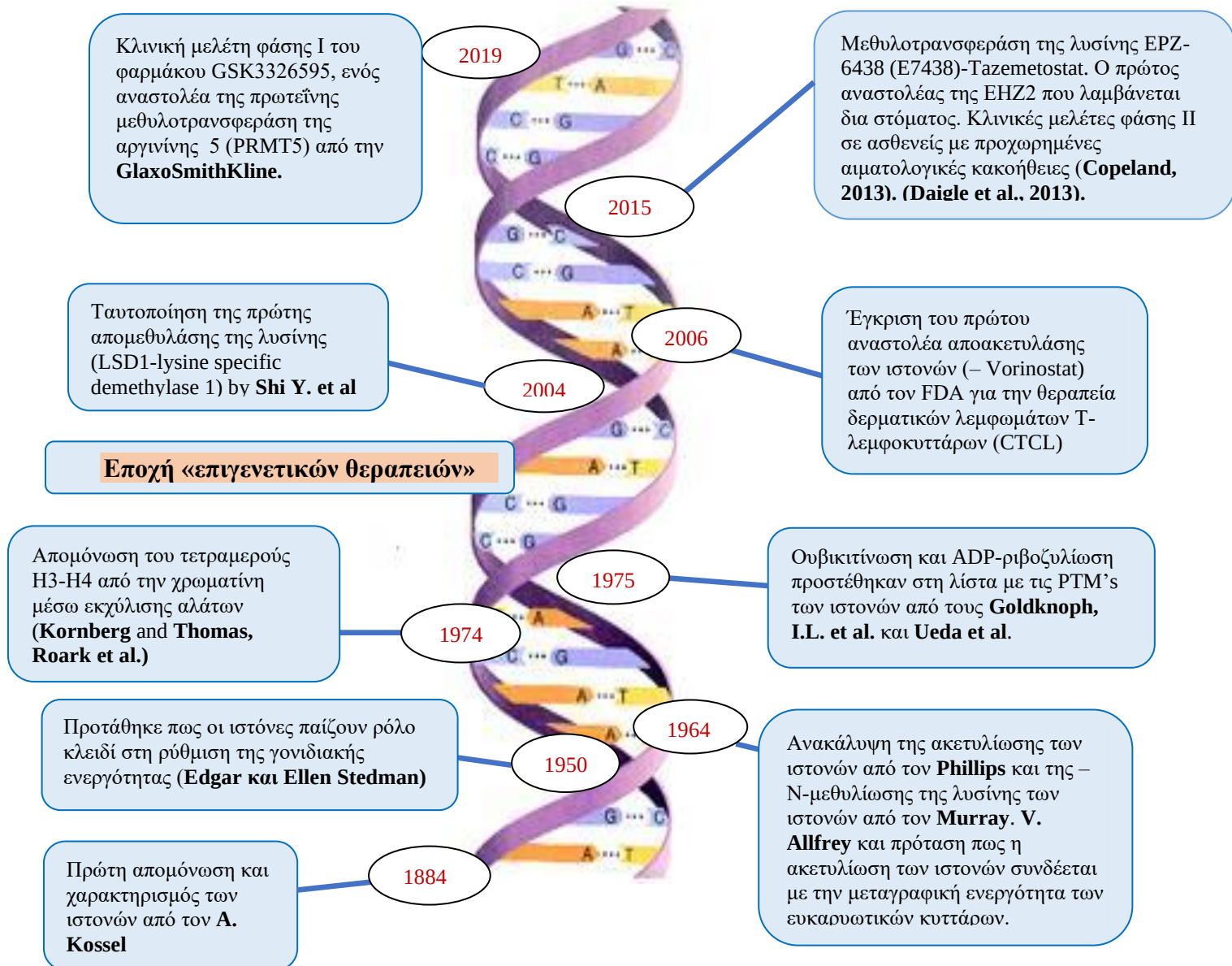
- Το αμινοτελικό άκρο αποτελείται από μια φορτισμένη και ευλύγιστη ουρά η οποία στην περίπτωση των ιστονών H2B και H3 εισχωρεί στο εσωτερικό των μικρών αυλάκων του DNA, πιθανότατα για να σταθεροποιήσει την αλληλεπίδραση. Η ουρά της H4 περιέχει μεγάλο ποσοστό καταλοίπων λυσίνης και εμπλέκεται στην δημιουργία δομών χρωματίνης υψηλότερης δομικής οργάνωσης, μέσω της πρόσδεσης της στις αρνητικά φορτισμένες περιοχές των νουκλεοσωμάτων. Οι ουρές επίσης αποτελούν μοριακούς στόχους μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων που μπορεί να επηρεάζουν την δομή της χρωματίνης (Wolffie, 1998 ; Alberts, 2002).

1.4 Ιστορική ανασκόπηση των ιστονών και των ιστονικών τροποποιήσεων (PTMs)

Οι ιστόνες συγκαταλέγονται ανάμεσα στις πρώτες πρωτεΐνες που μελετήθηκαν, αλλά οι πολύπλοκες τροποποιήσεις τους και ο ρόλος τους στην διαμόρφωση της δομής της χρωματίνης έχουν μελετηθεί πιο εκτεταμένα μόνο τις δύο τελευταίες δεκαετίες. Ο Albrecht Kossel το 1884 ήταν ο πρώτος που περιέγραψε και ονόμασε τις πρωτεΐνες αυτές, μετά από απομόνωση με εκχύλιση οξέων (Kossel, 1884). Μέσω της διαδικασίας αυτής αποκάλυψε πολλά για την φύση τους και την συσχέτιση τους με τα νουκλεϊκά οξέα, και βραβεύτηκε για το έργο του με το Nobel Φυσιολογίας και Ιατρικής το 1910. Παρόλα αυτά πέρασε περίπου μισός αιώνας για να περιγράψουν άλλοι ερευνητές τη σύνθεση του οκταμερούς των ιστονών και ότι τα νουκλεοσώματα χρησιμεύουν ως επαναλαμβανόμενες οντότητες για τη δομή και συμπύκνωση των δεοξυριβονουκλεϊνικών οξέων. Οι ιστόνες, αρχικά, είχε προταθεί πως συμβάλλουν στη δομή και την συμπύκνωση του υπερλικομένου DNA (Pardon, 1967) και ακολούθησε μετά από λίγο η βιοχημική απομόνωση των 'nu-bodies', 'v-bodies', ή «νουκλεοσωμάτων» όπως ονομάστηκαν από τον Pierre Chambon (Kornberg, 1974) (Campos and Reinberg 2009).

Ο Roger Kornberg διαλεύκανε το γεγονός ότι κάθε ένα από τα επαναλαμβανόμενα σωματίδια οργανώνονται από περίπου 200 ζ.β. του DNA που τυλίγονται γύρω από ένα σύμπλοκο που αποτελείται από δύο εκ των νουκλεοσωμικών ιστονών (ένα τετραμερές H3-H4 και ολιγομερή των H2A και H2B) και μαζί συγκροτούν την εγγενή δομή της χρωματίνης (Kornberg, 1974). Η σύνδεση των δύο διμερών H2A-H2B πάνω σε ένα κεντρικό τετραμερές (H3-H4) σύντομα αποκαλύφθηκε πως αποτελεί την ορθή διαμόρφωση του οκταμερούς (Jorcano, 1979) και η δομή του βασικού σωματιδίου «λύθηκε» από τους Tim Richmond και Karolin Luger κατά την πρώτη μελέτη υψηλής ανάλυσης του νουκλεοσωμικού σωματιδίου (Campos & Reinberg, 2009).

Αργότερα, το 1950, οι Edgar και Ellen Stedman πρότειναν πως οι ιστόνες ίσως παίζουν βασικό ρόλο στην ρύθμιση της γονιδιακής ενεργότητας, διατυπώνοντας με επιστολή τους στο περιοδικό *Nature* την ίδια χρονιά πως «Πάντοτε αποτελούσε ένα πάζλ για εμάς, ο τρόπος με τον οποίο οι λειτουργίες της φυσιολογίας του πυρήνα ενός κυττάρου μπορεί να διαφέρουν από τον έναν κυτταρικό τύπο στον άλλο, ακόμα και στον ίδιο οργανισμό στην περίπτωση που όλα τα κύτταρα διαθέτουν πανομοιότυπα χρωμοσώματα και κατ' επέκταση πανομοιότυπα γονίδια. Η απόδειξη πως ορισμένες από τις βασικές πρωτεΐνες που εδράζονται στον πυρήνα των κυττάρων είναι κυτταρο-ειδικές, οδηγούν στην υπόθεση πως μια από τις φυσιολογικές λειτουργίες τους είναι να δρουν ως καταστολείς γονιδίων» (Stedman, 1950) (**Εικόνα 4**).



Εικόνα 4. Ιστορική ανασκόπηση ιστονών

Το 1964 οι Alfred Mirsky και Vincent Allfrey εντόπισαν τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών *in vivo* και συγκεκριμένα έδειξαν πως η ακετυλίωση των ιστονών των νουκλεοσωμάτων καταστέλλει σε μικρότερο βαθμό την μεταγραφή *in vitro* σε σχέση με την μη ακετυλίωση τους. Ακολούθησαν σημαντικές μελέτες, που περιέγραφαν τις διαφορές μεταξύ των επικρατειών ευχρωματίνης και ετεροχρωματίνης καθώς φάνηκε να σχετίζονται με την ενεργότητα της RNA πολυμεράσης (Pol II).

Η ομάδα του Michael Grunstein ήταν αυτή που άνοιξε το δρόμο για τις νεότερες ανακαλύψεις σχετικά με την συμμετοχή των ιστονών στη μεταγραφική ρύθμιση αποδεικνύοντας τον καίριο ρόλο τους στη γονιδιακή έκφραση. Τα κατάλοιπα λυσίνης που υπόκεινται σε ακετυλίωση ρυθμίζουν την ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων GAL στον ζυμομύκητα και η γονιδιακή αποσιώπηση είναι στενά συνδεδεμένη με την ιστόνη H4 (Campos & Reinberg, 2009).

Αργότερα, το 1975, η ουβικιτίνωση και η ADP-ριβοζυλίωση προστέθηκαν στη λίστα με τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις που μπορούν να υποστούν οι ιστόνες. Το 2003, ανακαλύφθηκαν κάποιες νέες τροποποιήσεις των ιστονών όπως η προσθήκη ουβικιτινο-σχετιζόμενων πρωτεϊνών, των λεγόμενων SUMO, πάνω στα προαναφερθέντα κατάλοιπα λυσίνης (Mersfelfer, 2006).

Η πρωτοποριακή εφαρμογή της φασματοσκοπίας μάζας, που ανακαλύφθηκε το 2000, επέτρεψε την αποκάλυψη της πρώτης θέσης τροποποίησης των ιστονών στην αμινοτελική ουρά (στην αργινίνη στη θέση 52 ή στη θρεονίνη στη θέση 118) της ιστόνης H3. Με την τεχνολογία της φασματοσκοπίας μάζας, άνοιξε ο δρόμος για την μελέτη των επιγενετικών τροποποιήσεων των ιστονών. Μέσα σε μικρό χρονικό διάστημα από την ανακάλυψη της μεθυλίωσης της λυσίνης στην θέση 79 της ιστόνης H3, ταυτοποιήθηκαν πάνω από 30 νέες τροποποιήσεις των ιστονών ή/και ποσοτικοποιήθηκαν μέσω της χρήσης φασματοσκοπίας μάζας. Σημαντικό εύρημα ήταν πως η πλειονότητα αυτών των τροποποιήσεων φαίνεται να συγκεντρώνεται στις βασικές επικράτειες των ιστονών (Mersfelfer, 2006).

Μια από τις πιο πρόσφατες εξελίξεις στο πεδίο αποτελεί η ανακάλυψη πως η φλαβινο-εξαρτώμενη αμινική οξειδάση LSD1 μπορεί να αφαιρεί τις μεθυλομάδες από τις ιστόνες (Di Croce, 2004). Έκτοτε, εντοπίστηκε μια ξεχωριστή οικογένεια ενζύμων απομεθυλίωσης (εξαρτώμενων από Fe(II)-α-κετογλουταρικό), διαψεύδοντας τις προηγούμενες θεωρίες που ισχυρίζονταν τη μη αναστρέψιμη μεθυλίωση των καταλοίπων της λυσίνης (Kim, 2013).

Ο προσδιορισμός των νέων τροποποιήσεων των ιστονών και η έρευνα του ρόλου τους στην κυτταρική φυσιολογία, την καρκινογένεση και την ανάπτυξη των όγκων, άνοιξε νέες προοπτικές για την ανακάλυψη νέων φαρμάκων. Η εποχή των επιγενετικών θεραπειών είχε πλέον ξεκινήσει.

Έτσι, τον Οκτώβριο του 2006, ο FDA ενέκρινε τον πρώτο αναστολέα αποακετυλασών (histone deacetylase, HDAC) – με το όνομα Vorinostat- με σκοπό την θεραπεία, ενός σπάνιου τύπου καρκίνου, του δερματικού λεμφώματος T-λεμφοκυττάρων (CTCL). Τουλάχιστον 12 αναστολείς των αποακετυλασών HDAC βρίσκονται αυτή τη στιγμή σε διάφορες φάσεις κλινικών μελετών για την εφαρμογή τους ως βασική θεραπεία ή σε συνδυασμό με χημειοθεραπεία ή ακτινοθεραπεία. Συγκεκριμένα η θεραπεία εξετάζεται σε ασθενείς με αιματολογικούς ή συμπαγείς όγκους, συμπεριλαμβανομένων αυτών του πνεύμονα, του μαστού, του παγκρέατος, των νεφρών, του ουροθηλίου αλλά και του μελανώματος, του γλοιοβλαστώματος, της λευχαιμίας, του λεμφώματος και του πολλαπλού μυελώματος (Duvic, 2007).

Το 2012 κατάφεραν να προσδιοριστούν οι εκλεκτικοί αναστολείς κάποιων μεθυλοτρανσφερασών (PRTMs), καθώς και κάποιες ενώσεις που είχαν ως στόχο συγκεκριμένες PRTMs, την DOT1L και την EZH2, οι οποίες αποδείχτηκε ότι καταστέλλουν την ανάπτυξη των όγκων σε πειραματικά μοντέλα (τροκτικά) (Pollock, 2012 ; Keilhack, 2012). Ο αναστολέας της DOT1L, EPZ004777 ήταν ο πρώτος που αποδείχθηκε πως διαθέτει αντικαρκινικές ιδιότητες σε μοντέλο ποντικού με μεταλλάξεις MLL (Mixed Lineage Leukemia) (Daigle, 2011). Δύο διαφορετικοί αναστολείς της EZH2 έχει δειχθεί πως παρουσιάζουν σημαντικές δόσοεξαρτώμενες αντικαρκινικές ιδιότητες σε μοντέλα ποντικών με αλλομοσχεύματα όγκων (Non Hodgkin Lymphoma) με μεταλλάξεις της EZH2 (από 60% έως 100% αναστολή της ανάπτυξης των όγκων σε διάφορα μοντέλα όγκων) καθώς και σε κακοήθεις ραβδοειδείς όγκους με έλλειψη του INI1 (Copeland, 2013). Τα αποτελέσματα αυτά μας παρέχουν γερές βάσεις για την κλινική δοκιμή των αναστολέων των DOT1L και EZH2 σε ασθενείς με καρκίνο καθώς και για την γενικευμένη χρήση των PRTMs αναστολέων ως εξατομικευμένα θεραπευτικά μέσα (Copeland, 2013).

Λόγω της εμπλοκής των PRMTs σε μια ποικιλία ασθενειών, αυτά τα ένζυμα και ιδιαίτερα οι τύπου I PRMTs και η PRMT5 θεωρούνται ως πολλά υποσχόμενοι φαρμακευτικοί στόχοι. Τα τελευταία χρόνια (2010-2018), έχει καταγραφεί μεγάλος αριθμός μικρών μορίων αναστολέων και μάλιστα πολλά από αυτά έχουν κατοχυρωθεί με πατέντες (Freitas et al., 2016; Xiao, Chen W, 2019). Τρεις από τους αναστολείς αυτούς βρίσκονται αυτή τη στιγμή σε κλινικές δοκιμές, συμπεριλαμβανομένων των GSK3326595 και JNJ-64619178 που δρουν ως αναστολείς της PRMT5 αλλά και του αναστολέα της PRMT1, GSK3368715. Προς το παρόν, ο GSK3326595 βρίσκεται στη φάση 1 των κλινικών δοκιμών όπου γίνεται μια μελέτη κλιμάκωσης της δόσης με σκοπό την ασφαλή χρήση του, τη φαρμακοκινητική του (PK), τη φαρμακοδυναμική του (PD) καθώς και προκαταρκτικές εκτιμήσεις της κλινικής αποτελεσματικότητας του σε άτομα με προχωρημένους ή υποτροπιάζοντες συμπαγείς όγκους και λεμφώματα non-Hodgkin. Σε κλινικές δοκιμές φάσης II, ο GSK3326595 βρίσκεται σε δοκιμαστικό στάδιο ως δια του στόματος χορηγούμενη θεραπεία σε υποτροπιάζοντα και ανθεκτικά Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα (MDS), Χρόνια Μυελομονοκυτταρική Λευχαιμία (CMML) και Οξεία Μυελογενή Λευχαιμία (AML) (Xiao & Chen, 2019).

1.5 Μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών

Το αμινοτελικό και το καρβοξυτελικό άκρο των ιστονικών ουρών (συγκεκριμένα τα κατάλοιπα λυσίνης, αργινίνης, σερίνης και θρεονίνης) που προεξέχουν από το DNA, τροποποιούνται έντονα σε μετα-μεταφραστικό επίπεδο από ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τις διαφορετικές τροποποιήσεις όπως η ακετυλίωση, η μεθυλίωση, η φωσφορυλίωση, η ουβικιτίνωση, η σουμοϋλίωση, η ADP-ριβοζυλίωση η απαμίνωση (κιτρουλλινίωση) η βιοτινυλίωση, η βουτυρυλίωση, η N-φορμυλίωση και ο ισομερισμός της προλίνης (Cohen et al., 2011).

Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTMs) των ιστονικών ουρών ρυθμίζουν δύο αντίθετες διαδικασίες, την μεταγραφική ενεργοποίηση και την καταστολή. Επιπρόσθετα, οι τροποποιημένες ουρές λειτουργούν ως θέσεις πρόσδεσης και πλατφόρμες σηματοδότησης ρυθμιστικών πρωτεϊνών που επιτελούν την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης, επηρεάζοντας την οργάνωση της δομής της χρωματίνης (Cohen et al., 2011).

1.5.1

«Writers», «Erasers» και «Readers»

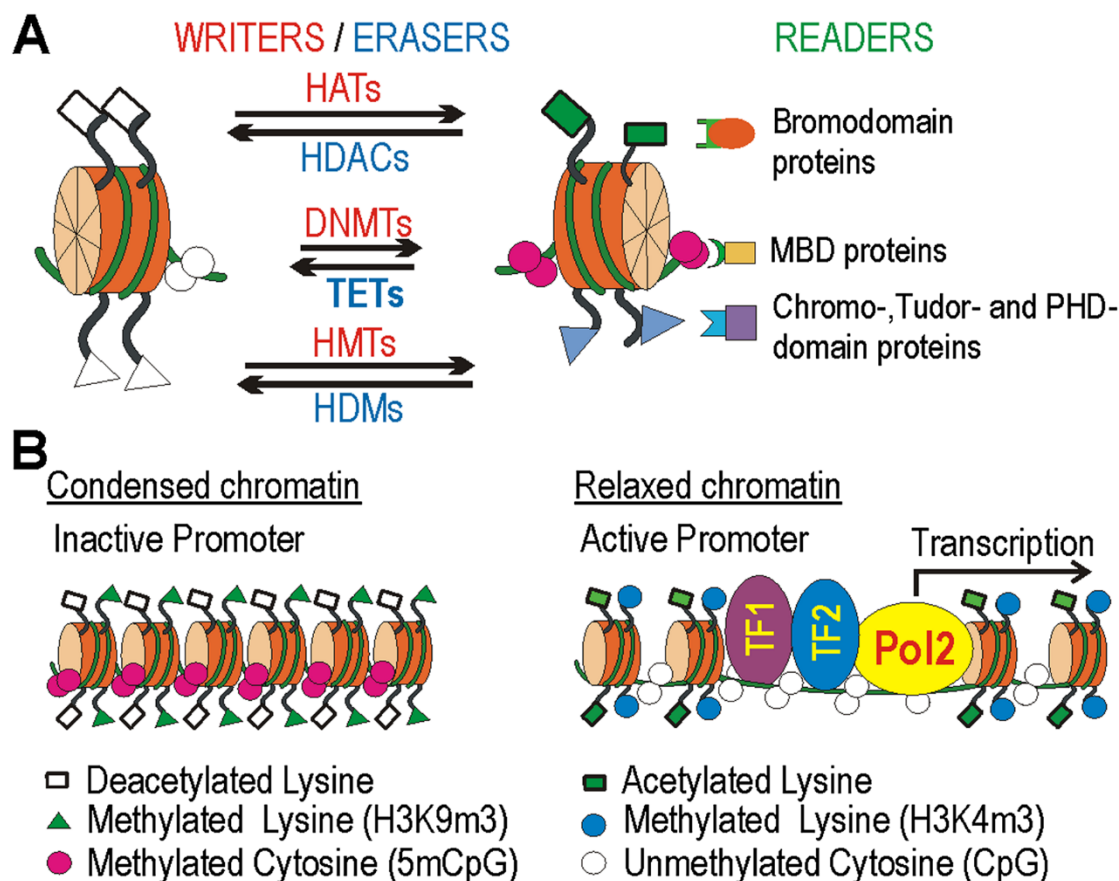
Η δομή της χρωματίνης δεν είναι στατική, αλλά μεταβάλλεται ανάλογα με την ρύθμιση που υφίσταται από τους τροποποιητές των ιστονών (writers), τα μόρια που αναγνωρίζουν τις τροποποιήσεις αυτές (readers) και τα μόρια που είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση ή επαναφορά των τροποποιήσεων (erasers) (Saha et al., 2006).

Οι τροποποιήσεις των ιστονών διενεργούνται από ένζυμα που περιλαμβάνουν τις οικογένειες των μεθυλοτρανσφερασών λυσίνης/αργινίνης (KMTs/PRMTs), τις ακετυλοτρανσφεράσες (KATs), τις κινάσες σερίνης/θρεονίνης κ.α. Η μεθυλίωση των ιστονικών ουρών, συμπεριλαμβανομένης της τριμεθυλίωσης της λυσίνης 9 της H3 (H3K9me3) και λυσίνης 27 (H3K27me3), σχετίζεται γενικότερα με την γονιδιακή καταστολή, ενώ η ακετυλίωση των ίδιων καταλοίπων (H3K9 και H3K27) συσχετίζεται ισχυρά με την γονιδιακή ενεργοποίηση. Η ακετυλίωση από τις πρωτεΐνες KAT, όπως η KAT3A (p300), η KAT3B (CBP), η PCAF, και η KAT 13B (pCIP) προωθούν την γονιδιακή έκφραση καθιστώντας τα θετικά φορτία των ιστονών ουδέτερα. Το γεγονός αυτό οδηγεί στην αποσυμπύκνωση της αρνητικά φορτισμένης χρωματίνης και την επερχόμενη πρόσδεση του παράγοντα πρόσδεσης του DNA (DNA binding factor) στον οποίο οφείλεται η έναρξη της μεταγραφής των γονιδίων (Gilardi, 2014).

Ο κύριος ρόλος των writers είναι ο ακριβώς αντίθετος από αυτόν των erasers. Οι τελευταίοι, είναι υπεύθυνοι για την εξάλειψη συγκεκριμένων ιστονικών τροποποιήσεων. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει τις αποακετυλάσες των ιστονών (HDACs), τις απομεθυλάσες των ιστονών (HDMTs/KDMs), τις φωσφατάσες, τις αποριβοζυλάσες κ.α. Όπως ακριβώς οι writers, έτσι και οι erasers διαθέτουν και άλλους στόχους εκτός από τις ιστόνες. Γενικότερα τα συγκεκριμένα ένζυμα εξουδετερώνουν τις τροποποιήσεις των writers, προκαλώντας άμεσες επιδράσεις στην μεταγραφή των γονιδίων. Για παράδειγμα, ένα ένζυμο της οικογένειας KAT μεσολαβεί την ακετυλίωση των καταλοίπων στις ιστονικές ουρές, ενώ ένα ένζυμο της οικογένειας HDAC αφαιρεί τις ακετυλομάδες από τα κατάλοιπα αυτά (Gilardi, 2014).

Οι readers προσδένονται επιλεκτικά σε μετα-μεταφραστικά τροποποιημένες περιοχές της χρωματίνης, αναγνωρίζοντας την συγκεκριμένη ιστονική τροποποίηση έτσι ώστε να μεταβάλλουν την δομή και την δυναμική της. Συχνά, οι πρωτεΐνες αυτές αποτελούν μέρος ενός μεγαλύτερου πρωτεϊνικού συμπλόκου που εμπεριέχει (ή όχι) πρωτεΐνες από την ομάδα των erasers. Χωρίς την ύπαρξη των readers, οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις δεν θα ήταν δυνατό να αναγνωριστούν και τα πρωτεϊνικά

συμπλέγματα ή συγκεκριμένα μέλη των writers και των erasers δεν θα μπορούσαν να επιστρατευτούν για να επιτελέσουν τη λειτουργία τους. Εναλλακτικά, οι ίδιοι οι writers και οι erasers μπορούν να λειτουργήσουν ως readers (Gilardi et al., 2014) (**Εικόνα 5**).



Εικόνα 5. Σχηματική αναπαράσταση των επιγενετικών τροποποιητών και της δομής της χρωματίνης. (A) Μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ιστονικών ουρών. Οι επιγενετικοί τροποποιητές που δρουν ως writers σημειώνονται με κόκκινο, οι readers με πράσινο και οι erasers με μπλε. Τα ακετυλιωμένα κατάλοιπα λυσίνης αναπαριστώνται με πράσινα ορθογώνια, οι μεθυλιωμένες λυσίνες με μπλε τρίγωνα, και οι μεθυλιωμένες περιοχές CpGs με κόκκινους κύκλους. (B) Οι διαφορετικές καταστάσεις της χρωματίνης και οι σχετιζόμενες με ιστόνες και DNA περιοχές (Glant, T.T. 2014. Epigenetics in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *BMC medicine*, 12, p.35.)

Η ταυτοποίηση των πρωτεϊνών που δρουν ως writers, erasers και readers για τις τροποποιήσεις της χρωματίνης, οδήγησε στην ανακάλυψη νέων φαρμάκων, με τα οποία θα μπορούσαμε να επαναφέρουμε τις μη φυσιολογικές επιγενετικές τροποποιήσεις στην φυσιολογική κατάσταση και εν συνεχεία να παρέχουμε μακροπρόθεσμα οφέλη για την υγεία των ανθρώπων με αυτές τις ασθένειες (Tough et al., 2014).

1.5.2 Κατάταξη των ιστονικών τροποποιήσεων

Η ποικιλία των τροποποιήσεων των ιστονών έθεσε την ανάγκη για τη θέσπιση μιας ειδικής ονοματολογίας με σκοπό την ομοιόμορφη κατηγοριοποίηση και ομαδοποίηση τους.

Η ονοματολογία του Μπρνο δημιουργήθηκε από μια κοινοπραξία των ευρωπαϊκών εργαστηρίων ώστε να τυποποιηθεί η κατάταξη των ιστονών και των τροποποιήσεων αυτών (Turner, 2005). Ένα παράδειγμα αυτής της τυποποίησης παρουσιάζεται στην **Εικόνα 6**, όπου η ιστονική πρωτεΐνη (H3, H4, H2A ή H2B) σημειώνεται πρώτη, ακολουθούμενη από το αμινοξύ που τροποποιείται (π.χ. “K27” συμβολίζει την λυσίνη στη θέση 27). Ενώ, τέλος ακολουθεί ο τύπος της τροποποίησης που παρατηρήθηκε (π.χ. “me3” συμβολίζει την τριμεθυλίωση).



Εικόνα 6. Τυποποίηση των ιστονικών τροποποιήσεων κατά Μπρνο (Turner 2005).

1.5.3 Τροποποιήσεις των πυρήνων των ιστονών

Ένας πολύ σημαντικός μηχανισμός μέσω του οποίου ρυθμίζεται η δομή και η λειτουργία της χρωματίνης σχετίζεται με τις μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις (PTMs) των ιστονών. Ο υψηλός αριθμός των PTMs που έχει καταγραφεί αναδεικνύει την πολυπλοκότητα του φαινομένου (Bannister et al., 2011; Kouzarides, 2007). Η πλειονότητα αυτών έχει βρεθεί πως πραγματοποιείται στα αμινοτελικά και καρβοξυτελικά άκρα των ιστονικών ουρών που προεξέχουν από το βασικό τμήμα του νουκλεοσώματος. Παρ'όλα αυτά δεν είναι μικρός ο αριθμός των τροποποιήσεων που μπορεί να συμβούν στις σφαιρικές επικράτειες ή στις επικράτειες αναδίπλωσης των ιστονών, οι οποίες ρυθμίζουν τις αλληλεπιδράσεις ιστονών μεταξύ τους αλλά και με το μόριο του DNA (Cosgrove 2004 και 2005) (Rothbart, 2014).

Πολλές από τις πρόσφατες έρευνες που χρησιμοποιούν φασματοσκοπία μάζας, έχουν ως σκοπό την ταυτοποίηση ενός μεγάλου αριθμού νέων ιστονικών τροποποιήσεων που εδράζονται στον πυρήνα του οκταμερούς των ιστονών. Οι περισσότερες από τις ήδη γνωστές τροποποιήσεις, πραγματοποιούνται στο ευέλικτο αμινοτελικό άκρο των ιστονών όπως έχει προαναφερθεί, ενώ κάποιες από τις θέσεις αφορούν τροποποιήσεις στο βασικό πυρήνα του νουκλεοσώματος όπως χαρτογραφήθηκαν με τη βοήθεια κρυστάλλογραφίας στον *Xenopus Laevis* (Cosgrove et al., 2004) (Εικόνα 7).

Η ακριβής χαρτογράφηση της θέσης των τροποποιήσεων που συμβαίνουν στον πυρήνα του νουκλεοσώματος μέσω κρυστάλλογραφίας αποκαλύπτει πως οι τροποποιήσεις αυτές οργανώνονται σε ομάδες και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τρεις διακριτές κατηγορίες (Mersfelder et al., 2006):

- Προσβάσιμης διαλυτής επιφάνειας
- Πλευρικής επιφάνειας της ιστόνης
- Διασύνδεσης ιστόνης-ιστόνης (Cosgrove et al., 2004)

Είναι πιθανό οι τρεις αυτές κατηγορίες τροποποιήσεων να προσδίδουν μοναδικά χαρακτηριστικά στην δομή της χρωματίνης και να δρουν ως μηχανισμοί ανεξάρτητοι από αυτούς που έχουν παρατηρηθεί κατά την τροποποίηση των επικρατειών των ουρών (Mersfelder et al., 2006).



Παρόμοια με την κατάσταση που παρατηρήθηκε κατά τις τροποποιήσεις των ιστονικών ουρών, οι τροποποιήσεις που εδράζονται στη διαλυτή και προσβάσιμη επιφάνεια του νουκλεοσώματος έχουν την ικανότητα να μεταβάλλουν την δομική οργάνωση υψηλότερης τάξης της χρωματίνης καθώς και τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών και χρωματίνης. Οι τροποποιήσεις στην πλευρική επιφάνεια των ιστονών είναι οι μοναδικές με την ικανότητα να επηρεάζουν την αλληλεπίδραση DNA και ιστονών ενώ οι τροποποιήσεις των περιοχών αλληλεπίδρασης μεταξύ των ιστονών (διασύνδεσης ιστόνης-ιστόνης) μπορούν να μεταβάλλουν τις ενδονουκλεωσμικές αλληλεπιδράσεις και άρα την νουκλεωσμική σταθερότητα. Οι μεταλλαγές στις θέσεις τροποποίησης των ιστονικών ουρών έχειδειχθεί πως επηρεάζουν διαδικασίες όπως τη μεταγραφή, τη γονιδιακή σίγαση μέσω ετεροχρωματίνης αλλά και την επιδιόρθωση των βλαβών του DNA. Ωστόσο τα αποτελέσματα μπορεί να είναι αμελητέα (Ma et al., 1998). Οι υποκαταστάσεις των αμινοξέων, που υπόκεινται τροποποίηση του ιστονικού πυρήνα, αποδείχθηκε πως επηρεάζουν δραματικά την μεταγραφή, την επιδιόρθωση βλαβών DNA, τη δομή της

χρωματίνης, την συμπύκνωση αυτής αλλά και την γονιδιακή σίγαση που προκαλεί η ετεροχρωματίνη (Mersfelder et al, 2006).

1.5.4 Τροποποιήσεις των επικρατειών ουράς των ιστονών

Το αμινοτελικό άκρο της ουράς κάθε μίας από τις τέσσερις πρωτεΐνες του ιστονικού πυρήνα καθώς και το καρβοξυτελικό άκρο της ουράς των ιστονών H2A και H2B, προεξέχουν από το νουκλεόσωμα καθιστώντας τους στόχους μιας μεγάλης ποικιλίας μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων (PTMs). Σε αυτές περιλαμβάνονται η μεθυλίωση, η ακετυλίωση, η προπιονυλίωση, βουτυρυλίωση, κροτονυλίωση, 2-υδρόξυισοβουτυλίωση, μαλονυλίωση, ηλεκτρηλίωση, φορμυλίωση, ουβικιτίνωση, κιτρουλλινίωση, φωσφορυλίωση, η Ο-συζευγμένη β-N-ακετυλογλυκοζάμινο γλυκοζυλίωση και η ADP-ριβοζυλίωση (Yi, Kim., 2018) (Πίνακας 1).

Πίνακας 1: Αμινοξικά κατάλοιπα, τροποποιήσεις και ένζυμα που τις καταλύουν

Αμινοξικό Κατάλοιπο	Modification	Enzymes	References
Λυσίνη	Ακετυλίωση Αποακετυλίωση	HAT HDAC	Allfrey et al., 1964, Yang, 2007
Λυσίνη	Μεθυλίωση Απομεθυλίωση	HMT HDM	Allfrey & Mirsky, 1964. Shi et al., 2004
Λυσίνη	Ουβικιτίνωση Αποουβικιτίνωση	Λιγάση Ουβικιτίνης Πρωτεάση Ουβικιτίνης	Goldknopf et al., 1975, Wilkinson, 2000
Σερίνη/Θρεονίνη	Φωσφορυλίωση Αποφωσφορυλίωση	Κινάση Φωσφατάση	Pawlak & Deckert 2007; Caperta et al. 2008
Αργινίνη	Μεθυλίωση Απομεθυλίωση	PRMT Απομεθυλάση / Απαμίνωση	Di Lorenzo et al., 2010, D'Oto et al., 2016
Λυσίνη	Σουμοϋλίωση Αποσουμοϋλίωση	SENPs, SUMO E1, SUMO E2 και SUMO E3 SENPs	Yang et al., 2018
Λυσίνη	ADP-ριβοζυλίωση	ADP- ριβόζυλοτρανσφεράση (ARTs).	Hassa & Hottiger, 2008
Αργινίνη	Απαμίνωση (Κιτρουλλινίωση)	Απαμίνωση της πεπτιδυλοαργινίνης (PADs)	Spengler et al., 2014 Bannister & Kouzarides, 2011
	Βιοτινυλίωση	Βιοτινιδάση (BTD)	

Πρόσδεση βιοτίνης στην αμινομάδα της λυσίνης		Ολοκαρβοξυλική συνθετάση (HCS) (Βιοτινοεξαρτώμενη καρβοξυλάση).	Kothapali et al., 2005, Brenner et al., 2002, Narang et al., 2004
Λυσίνη	Κροτονυλίωση Αποκροτονυλίωση	Κροτόνυλοτρανσφεράση (HCT), (p300/CBP) Sirt1, Sirt2, και Sirt3, HDACs	Tan et al., 2011 Bao et al., 2014 Baumann, 2015 Wei et al., 2017
Λυσίνη	Βουτυρυλίωση	Ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών (HATs)	Chen et al., 2007 Kebede, 2017
Λυσίνη	Προπιονυλίωση	Ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών (HATs)	Chen et al., 2007 Kebede, 2017
Λυσίνη	N-φορμυλίωση		Galligan, 2018
Σερίνη/Θρεονίνη	β-N-γλυκοζυλίωση Απογλυκοζυλίωση	β-N-ακετυλογλυκοζάμινο τρανσφεράση (OGT) β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση (O-GlcNAcase)	Hurtado-Guerrero, 2008
Προλίνη	Ισομερισμός	Ισομεράση της προλίνης Fpr4	Nelson et al., 2006

Τα λειτουργικά αποτελέσματα των παραπάνω ιστονικών τροποποιήσεων έχουν ήδη μελετηθεί. Μια από τις καλύτερα τεκμηριωμένες υποθέσεις αναφέρει πως οι τροποποιήσεις των ιστονών μπορεί να οδηγήσουν σε μεταβολές της επαφής μεταξύ των διαφορετικών ιστονών σε διαδοχικά νουκλεοσώματα ή στην αλληλεπίδραση μεταξύ ιστονών και DNA.

1.5.4.1 Μεθυλίωση / Απομεθυλίωση

1.5.4.1.1 Μεθυλίωση και απομεθυλίωση της Λυσίνης

Η μεθυλίωση των καταλοίπων λυσίνης των ιστονών ανακαλύφθηκε το 1964 (Allfrey & Mirsky, 1964) και θεωρήθηκε για δεκαετίες ως μια μη αναστρέψιμη μετα-μεταφραστική τροποποίηση. Η ανακάλυψη της απομεθυλάσης της λυσίνης το 2004 (Shi et al., 2004) παρείχε τις πρώτες αποδείξεις για το ότι η μεθυλίωση των καταλοίπων λυσίνης είναι μια δυναμική διαδικασία.

Τα κύρια κατάλοιπα λυσίνης τόσο στις πυρηνικές όσο και στις συνδετικές ιστόνες πλέον έχουν προσδιοριστεί ως θέσεις μεθυλίωσης και τα υπεύθυνα ένζυμα για την κατάλυση της διαδικασίας προσθήκης ή απομάκρυνσης των μεθυλομάδων έχουν ταυτοποιηθεί σε μεγάλο βαθμό (Greer & Shi, 2012). Υπάρχουν δύο υπερ-οικογένειες ενζύμων, οι μεθυλοτρανσφεράσες της λυσίνης (KTMs) και οι απομεθυλάσες (KDMs) που ελέγχουν την μεθυλίωση και την απομεθυλίωση των ιστονών αντίστοιχα.

Η πρόσδεση μίας έως και τριών μεθυλομάδων σε κάθε μια από τις λυσίνες των ιστονών που επιδέχονται τροποποίηση, προκαλεί μονο-, δι- και τρι-μεθυλίωση γεγονός που ελέγχεται από τις KTMs (HMTs) (Kouzarides, 2007). Η μονομεθυλίωση σχετίζεται με την χαλάρωση της δομής της χρωματίνης ενώ η τριμεθυλίωση επάγει την δημιουργία μιας πιο συμπυκνωμένης δομής αυτής.

Οι KTMs διαχωρίζονται σε δύο πρωτεϊνικές οικογένειες με βάση την ομοιότητα στην αλληλουχία και τη δομική οργάνωση των καταλυτικών επικρατειών τους (SET και non-SET). Η καταλυτική υπομονάδα των KTMs καλείται SET domain (Su(var)3-9, Enhancer of Zeste, Trithorax) και ονομάστηκε έτσι από τις πρωτεΐνες Polycomb της *Drosophila* στις οποίες ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά η συγκεκριμένη επικράτεια (Herz et al., 2013). Είναι γνωστές επτά από τις κύριες οικογένειες των πρωτεϊνών με SET επικράτειες (SUV39, SET1, SET2, EZ, RIZ, SMYD, και SUV4-20) αλλά και κάποια μέλη που δεν ανήκουν σε αυτές, όπως η SET7/9 και η SET8 (καλούνται επίσης και PR-SET7) (Dillon, 2005). Οι επικράτειες τύπου SET εμπεριέχουν ένζυμα όπως το EH2 (enhancer of zeste homolog 2) μια μεθυλοτρανσφεράση υπεύθυνη για την μεθυλίωση της λυσίνης της θέσης 27 στην ιστόνη H3. Η τριμεθυλίωση λοιπόν αυτής της λυσίνης αναγνωρίζεται από το σύμπλοκο PRC1, που καταστέλλει την μεταγραφή με πολλούς μηχανισμούς, όπως η ουβικιτίνωση της λυσίνης 199 της ιστόνης H2A με την επερχόμενη συμπίκνωση της χρωματίνης. Πάρα την κατασταλτική λειτουργία, η H3K27me3 συμμετέχει μαζί με την H3K4me3 στη ενεργοποίηση του υποκινητή των «δυσθενών γονιδίων». Τα γονίδια αυτά, που αποτελούν χαρακτηριστικό των εμβρυικών βλαστικών κυττάρων (ESC), βρίσκονται σε μια ισορροπία μεταξύ καταστολής και ενεργοποίησης. Κατά την διαφοροποίηση, η H3K27me3 ή η H3K3me3 χάνεται, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση ή την καταστολή των γονιδίων αντίστοιχα. Ανάλογα με την περίπτωση, το EZH2 και το PRC2 σύμπλοκο μπορεί να είναι απαραίτητα για την διαφοροποίηση των ESCs (Wong et al., 2015).

Οι περισσότερες από τις KTMs εμπεριέχουν μια επικράτεια τύπου SET, η οποία δρα ως δομικός λίθος και συνεισφέρει στη δημιουργία του μεγαλύτερου μέρους της περιοχής με την ενζυμική ενεργότητα του μορίου, αλλά και κάποια μεθυλιωμένα κατάλοιπα λυσίνης

που εδράζονται στο αμινοτελικό άκρο της ουράς των H3 και H4 ιστονών. Η DOT1L (μέλος της οικογένειας των KMTs χωρίς SET επικράτεια) είναι μια μοναδική μεθυλοτρανσφεράση ιστονών που στοχεύει την H3K79 με σκοπό την μόνο-, δι- ή τριμεθυλίωση της. Η μόνο- και η διμεθυλίωση ενεργοποιούν την μεταγραφή των γονιδίων ενώ η τριμεθυλίωση σχετίζεται με την γονιδιακή καταστολή. Η DOT1L παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης, την ανάπτυξη, την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, τον σωματικό επαναπρογραμματισμό και την επιδιόρθωση των βλαβών του DNA. Η DOT1L αλληλοεπιδρά με τις πρωτεΐνες σύντηξης της MLL (Mixed Lineage Leukemia) γεγονός που οδηγεί σε ενισχυμένη μεθυλίωση της H3K79, διατήρηση της δομής της χρωματίνης σε χαλαρή μορφή, υπερέκφραση των ογκογονιδίων και προώθηση της λευχαιμογένεσης (Wong et al., 2015).

Οι μεθυλομάδες που προστίθενται στα κατάλοιπα λυσίνης μπορούν να απομακρυνθούν με την μεσολάβηση των απομεθυλασών των ιστονών που κατηγοριοποιούνται σε δύο ομάδες:

- amino oxidase homolog lysine demethylase 1 (KDM1)
- JmjC domain-containing histone demethylases (D'Oto et al., 2016)

Η οικογένεια της KDM1 απαρτίζεται από δύο μέλη:

- KDM1A (LSD1), που αναγράφεται και ως απομεθυλάση 1 της λυσίνης (LSD1), που περιγράφηκε αρχικά από τον Shi et al το 2004. Αυτή η πρωτεΐνη βρέθηκε να είναι ένα υψηλά συντηρημένο ομόλογο αμινικής οξειδάσης που περιέχει φλαβίνη με την ικανότητα να αφαιρεί μόνο- ή διμεθυλομάδες από τις λυσίνες των θέσεων 4 ή 9 της H3, ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι η KDM1A απομεθυλιώνει συγκεκριμένα την H3K4me1 και την H3K4me2 μέσω της αλληλεπίδρασης μεταξύ της KDM1 με την CoREST, οδηγεί σε μεταγραφική απενεργοποίηση. Παρ' όλα αυτά, όταν προσδένεται στον υποδοχέα ανδρογόνων, η KDM1A απομεθυλιώνει τα H3K9me1 και H3K9me2, με αποτέλεσμα την μεταγραφική ενεργοποίηση (D'Oto et al., 2016).

- KDM1B (LSD2), η οποία αποτελεί ένα ομόλογο μιας FAD-εξαρτώμενης αμινικής οξειδάσης που εμπεριέχει μια επικράτεια SWIRM και στοχεύει εξειδικευμένα τις H3K4me1 και H3K4me2 τροποποιήσεις. Ωστόσο η KDM1B δεν είναι σε θέση να δημιουργήσει σύμπλοκο με την CoREST καθώς απουσιάζει από αυτή η επικράτεια "tower". Οι ρυθμιστικές λειτουργίες της KDM1B βρίσκονται ακόμα υπό διερεύνηση, αν και πρόσφατες έρευνες δείχνουν το ρόλο της στο μητρικό εντύπωμα (maternal imprinting) των ωοκυττάρων και την πιθανή της εμπλοκή στην ενεργοποίηση του NF-κB (D'Oto et al., 2016).

1.5.4.1.2 Μεθυλίωση και απομεθυλίωση της Αργινίνης

Όπως συμβαίνει με την λυσίνη, έτσι και τα κατάλοιπα αργινίνης μπορούν να μονο- ή να διμεθυλιωθούν με συμμετρικό ή ασύμμετρο τρόπο στις θέσεις 2, 17 και 26 της ιστόνης H3 και στη θέση 3 της ιστόνης H4 (Lee et al., 2005). Υπάρχουν δύο τύποι μεθυλοτρανσφερασών της αργινίνης στα θηλαστικά (**Πίνακας 2**):

- Οι τύπου I: PRMT1, PRMT2, PRMT3, PRMT6, PRMT8, καθώς και ο συμπαράγοντας μεθυλοτρανσφεράσης 1, CARM1 (που αναφέρεται ως PRMT4), που δημιουργούν την μονομεθυλοαργινίνη ή την ασύμμετρα μεθυλιωμένη διμεθυλοαργινίνη (McBride & Silver, 2001 ; Yang & Bedford, 2013)
- Οι τύπου II: PRMT5 (αναφέρεται ως JBP1), PRMT, PRMT9 που δημιουργούν την μονομέθυλο και την συμμετρικώς μεθυλιωμένη διμέθυλοαργινίνη (Pal et al., 2004 ; Lee et al., 2005)

Πίνακας 2: Η δομή και οι λειτουργίες των PRMTs (Τροποποίηση από Di Lorenzo & Nedford, 2010).

PRMTs	Λειτουργία και Δομή
PRMT1	Ήταν η πρώτη μεθυλοτρανσφεράση της αργινίνης που ταυτοποιήθηκε στα θηλαστικά και είναι υπεύθυνη για το 85% της ολικής ενεργότητας των μεθυλοτρανσφερασών αυτών. Η PRMT1 επιπλέον μεθυλιώνει τις αργινίνες της θέσης 3 της ιστόνης H4, δημιουργώντας το H4R3me2a, συνεισφέροντας στον ιστονικό κώδικα.
PRMT2	Χαρακτηρίζεται από μια επικράτεια με ενεργότητα μεθυλοτρανσφεράσης και μια επικράτεια τύπου SH3. Η PRMT2 μπορεί να επάγει την απόπτωση και την καταστολή της λειτουργίας του NF-κΒ μπλοκάροντας τη λειτουργία της πρωτεΐνης αυτής μη επιτρέποντας την έξοδο του NF-κΒα από τον πυρήνα.
PRMT3	Διαθέτει μια επικράτεια με δομή δακτυλίου ψευδαργύρου στο αμινοτελικό άκρο, που αποτελεί την επικράτεια αναγνώρισης του συγκεκριμένου ενζύμου.
PRMT4	Ταυτοποιήθηκε αρχικά ως συνενεργοποιητής του υποδοχέα στεροειδών ορμονών και αποτέλεσε τη βάση για τις πρώτες ενδείξεις της μεταγραφικής ρύθμισης κατά την μεθυλίωση των αργινών.
PRMT5	Αποτελεί τον κυρίαρχο τύπο μεθυλοτρανσφερασών τύπου II στα θηλαστικά και γενικότερα θεωρείται ως ισχυρός μεταγραφικός καταστολέας. Ταυτοποιήθηκε στην αρχή ως πρωτεΐνη που προσδένεται στην Jak-2 και μεθυλιώνει τις H2A, H3 και H4 ιστόνες.
PRMT6	Εντοπίζεται σχεδόν αποκλειστικά στον πυρήνα και όπως η PRMT1 μεθυλιώνει τα μοτίβα GAR. Αποτελεί το κύριο ένζυμο που είναι υπεύθυνο για την μεθυλίωση του H3R2 στα

	κύτταρα των θηλαστικών. Η μεθυλίωση αυτή δρα αντίθετα από την H3K4me3, που αποτελεί σήμα ενεργοποίησης της μεταγραφής, καταστέλλοντας την.
PRMT7	Είναι η μια από τις δύο PRMTs που περιέχουν δύο μοτίβα πρόσδεσης Ado-Meto. Η ενεργότητα της PRMT7 μπορεί να σχετίζεται με την ευαισθησία ή την ανθεκτικότητα σε παράγοντες που προκαλούν βλάβες στο DNA, και την ευαισθησία στην βλάβη των νεφρών που προκαλείται από ορισμένα αντιβιοτικά.
PRMT8	Επιδεικνύει μεγάλη ομοιότητα στην αλληλουχία με την PRMT1. Διαθέτει ένα μοναδικό αμινοτελικό άκρο στο οποίο εδράζεται ένα μοτίβο μυριστολίσωσης. Το μοτίβο αυτό είναι υπεύθυνο για την σύνδεση με την πλασματική μεμβράνη.
PRMT9	Η PRMT9 (που βρίσκεται στο 4q31) ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά ταυτόχρονα με την περιγραφή της PRMT8. Η PRMT9, ακριβώς όπως η PRMT7, διαθέτει δύο μοτίβα πρόσδεσης Ado-Met.

Η μεθυλίωση λοιπόν της αργινίνης είναι μια σχετικά σταθερή μετα-μεταφραστική τροποποίηση. Η απομεθυλίωση των καταλοίπων αργινίνης πραγματοποιείται από την απαμινάση της πεπτιδυλαργινίνης 4 (PADI4) η οποία καταλύει την μεθυλίωση μετατρέποντας την αργινίνη σε κιτρουλλίνη. Αυτή η τροποποίηση ωστόσο, δεν θεωρείται ως απομεθυλίωση, καθώς η μετατροπή σε κιτρουλλίνη καταλήγει στην απώλεια μιας μεθυλομάδας χωρίς να απελευθερώνεται μια αργινίνη (D' Oto et al., 2016).

1.5.4.2 Ο ρόλος της μεθυλίωσης και της απομεθυλίωσης στις ασθένειες

Πληθώρα ερευνών έχουν δείξει ότι οι μεταλλάξεις ή η απορρύθμιση της διαδικασίας μεθυλίωσης των ιστονών, των μεθυλοτρανσφερασών, των απομεθυλασών και των πρωτεϊνών που προσδένονται σε μεθυλιωμένες λυσίνες σχετίζονται με πολλαπλά νοσήματα. Για παράδειγμα, στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες, όπως η σκλήρυνση κατά πλάκας, η μειωμένη μεθυλίωση της H3K4 μπορεί να οδηγήσει σε μειωμένη ρύθμιση των γονιδίων της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης και να επηρεάσει τα ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας των κυττάρων του φλοιού του εγκεφάλου (Singhal et al., 2015).

Μια άλλη οικογένεια SET πρωτεϊνών, η G9a (γνωστές και ως μεθυλοτρανσφεράσες 2 της λυσίνης των ιστονών της ευχρωματίνης), έχειδειχθεί από μελέτες πως παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στον καρδιακό φαινότυπο των ενηλίκων. Η επαγόμενη MerCreMer-εξαρτώμενη απώλεια οδήγησε σε καρδιακή υπερτροφία, στο μερικώς μειωμένο κλάσμα εξώθησης και στην ίνωση, διαμέσου ενός μηχανισμού που περιλαμβάνει στοχευμένες διαταραχές των αμινοξέων των ιστονών που υπόκεινται σε πολλαπλές μεθυλιώσεις (όπως η H3K9me2/3 και η H3K27me3) που συμμετέχουν στην καρδιακή λειτουργία (Rosa-Garrido et al., 2018).

Την ίδια στιγμή η μεθυλίωση στην H3K4 έχει συσχετιστεί με στάδιο-εξαρτώμενη ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης μεσολαβούμενη από τις πρωτεΐνες GCN5L, MYST1 και MLL2/4 (Jiang et al., 2018 ; Dong et al., 2013).

Τα τελευταία χρονιά η μελέτη της μεθυλίωσης και απομεθυλίωσης των ιστονών αποτελεί ένα πλούσιο ερευνητικό πεδίο, ειδικά στην ογκογένεση (Πίνακας 3). Η υπερέκφραση της EHZ2 απαντάται συχνά σε πολλές περιπτώσεις καρκινογένεσης όπως του μαστού (Varambally et al., 2002), του προστάτη (Yang et al., 2013), του πνεύμονα (Chem et al., 2018) και διάφορα αιματολογικά καρκινώματα, με τα επίπεδα έκφρασης της να σχετίζονται με την H3K27me3, πιο δυσμενή εξέλιξη της ασθένειας και κακή πρόγνωση (Song et al., 2016). Η EHZ2 παίζει ρόλο-κλειδί στην ρύθμιση της αγγειογένεσης των όγκων καθώς αυτή επάγεται απ'ευθείας από τον VEGF στα ενδοθηλιακά κύτταρα και προάγει την αγγειογένεση (Lu et al., 2010) (Πίνακας 3). Μια άλλη μεθυλοτρανσφεράση που προκαλεί την H3K79m, η Dot1/DOT1L είναι σημαντική για πολλές βιολογικές διαδικασίες όπως είναι η μεταγραφική ρύθμιση, η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η επιδιόρθωση του DNA, η γένεση του μυοκαρδίου, η εμβρυική ανάπτυξη και η αιμοποίηση (Nguyen & Zhang, 2011).

Η οικογένεια MLL των KTMs εμπλέκεται σε πολλές μορφές καρκίνου, είτε μέσω απώλειας λειτουργίας ή μέσω απορρύθμισης τους μετά από μετατόπιση ή αναδιάταξη, όπως στην περίπτωση της MLL1. Κάποια μέλη των MLL (KMT2) μεθυλοτρανσφερασών, μεθυλιώνουν επιλεκτικά τις λυσίνες των ιστονών H3 και H4. Η MLL1 σε περιπτώσεις μυελογενούς ή λεμφογενούς λευχαιμίας παρατηρείται απορρυθμισμένη στο 80% των νεογνικών λευχαιμιών και 5-10% των λευχαιμιών των ενηλίκων (Smith et al., 2011 ; Audia et al., 2016). Πιο αναλυτική περιγραφή των μεθυλοτρανσφερασών των ιστονών με την εμπλοκή τους στον καρκίνο αναφέρεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3. Επιλεγμένες μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών και η εμπλοκή τους στον καρκίνο (Ανατύπωση από: Audia & Campbell, 2016).

Όνομα	Συνώνυμο	Κατάλοιπα «στόχοι» των ιστονών	Σύνδεση με Καρκίνο
KMT1A	SUV39H1	H3K9	Υπερεκκεφράζεται σε καρκίνους του ορθού του παχέος εντέρου. Σχετίζεται με μεταγραφική καταστολή.
KMT1C	G9a, EHMT2	H3K9	Υπερεκκεφράζεται στον καρκίνο του πνεύμονα και σε προχωρημένα στάδια αυτού. Ρυθμίζει τον διπλασιασμό του κεντροσώματος μέσω τροποποίησης της δομής της χρωματίνης.
KMT1F	SETDB2	H3K9	Εμπλέκεται στο διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων.
KMT2A	MLL	H3K4	Αναδιατάσσεται και μετατοπίζεται στις λευχαιμίες.
KMT2B	MLL2	H3K4	Συχνές μεταλλάξεις στα non-Hodgkin λεμφώματα και διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη γένεση των λεμφωμάτων, στο πολλαπλό μυέλωμα και στο σύνδρομο Kabuki.
KMT2C	MLL3	H3K4	Μεταλλάξεις στη γαμετική σειρά στον καρκίνο του ορθού του παχέος εντέρου και την AML.

Όνομα	Συνώνυμο	Κατάλοιπα «στόχοι» των ιστονών	Σύνδεση με Καρκίνο
			Μεταλλάξεις στο γλοιοβλάστωμα, το μελάνωμα, το παγκρεατικό καρκίνωμα και τον καρκίνο του ορθού.
KMT2D	MLL4	H3K4	Ρυθμίζει την πρόοδο του κυτταρικού κύκλου και τη βιωσιμότητα στον καρκίνο του παχέος εντέρου.
KMT2E	MLL5	H3K4	Εμπλέκεται ως καταστολέας όγκων . Η έκφραση του στην AML έχει θετική προγνωστική αξία.
KMT3A	SETD2	H3K36	Μεταλλαγές σε γλοιώματα υψηλού βαθμού. Λειτουργεί ως καταστολέας όγκων στον καρκίνο του μαστού και τα νεφροκυτταρικά καρκινώματα.
KMT3B	NSD1	H3K36	Μεταλλαγμένη στην AML, το μυέλωμα και τους καρκίνους του πνεύμονα. Η μετατόπιση του NUP98-NSD1 έχει συνδεθεί με γένεση όγκων κατά την AML.
KMT3C	SMYD2	H3K36	Υπερέκφραση στο πλακώδες οισοφαγικό καρκίνωμα, συσχετίζεται με χαμηλή επιβίωση.
KMT3E	SMYD3	H3K4, H4K5	Υπερέκφραση σε καρκίνο του ήπατος, του μαστού και του καρκινώματος του πρωκτού.
KMT3F	WHSC1L1/NSD3	H3K36	Υπερεκφράζεται στη CML, τους καρκίνους της ουροδόχου, του πνεύμονα και του ήπατος. Παρατηρείται ενισχυμένη στις κυτταρικές σειρές ανθρώπινου καρκίνου του μαστού.
KMT3G	WHSC1/NSD2	H3K36	Εμπλέκεται ως συστατικό της σηματοδότησης μέσω NF-κΒ για τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων, που υπερεκφράζονται στο μυέλωμα λόγω της χρωμοσωμικής μετατόπισης t (4, 14), ενώ ρυθμίζει το cMYC στο μυέλωμα.
KMT4	DOT1L	H3K79	Εμπλέκεται στις MLL που χαρακτηρίζονται από αναδιατάξεις.
KMT5A	SETD8/PR-SET7	H4K20	Υπερεκφράζεται στον καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, το καρκίνο του NSCLC, το μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα, τον καρκίνο του παγκρέατος, το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και τη Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία.
KMT6	EZH2	H3K27	Η υπερέκφραση του καταλυτικού συστατικού του συμπλόκου PRC2 είναι δείκτης προχωρημένου και μεταστατικού καρκίνου του μαστού και του προστάτη, εκφράζεται στα αρχέγονα κύτταρα γλοιώματος και συμμετέχει στη συντήρηση σωματικών μεταλλάξεων στο DLBCL και οξώδες λέμφωμα.

Όνομα	Συνώνυμο	Κατάλοιπα «στόχοι» των ιστονών	Σύνδεση με Καρκίνο
KMT7	SET7/SET9/SETD7	H3K4	Ρύθμιση του υποδοχέα των οιστρογόνων.
PRDM14		Άγνωστο	Ενισχύεται και υπερεκφράζεται στον καρκίνο του μαστού, υπερεκφράζεται στις λεμφοειδείς νεοπλασίες και ενισχύεται στην εγκαθίδρυση της λεμφοβλαστικής λευχαιμίας.
PRMT4	CARM1	H3R17, H3R26	Απορρυθμίζεται στα μελανώματα. Η μεθυλίωση CBP/P300 είναι απαραίτητη για την οιστρογόνο - επαγόμενη στόχευση της χρωματίνης.
PRMT5		H4R3, H3R8	Απαραίτητο συστατικό της σηματοδότησης από τον HIF-1. Αποσιωπά το ογκοκατασταλτικό γονίδιο ST7 και υπερεκφράζεται σε GBM, non-Hodgkin λεμφώματα και μελανώματα.
PRMT6	H3R2, H3R42		Υπερεκφράζεται στο προστατικό καρκίνωμα. Η αποσιώπηση του PRMT6 μειώνει την ενεργοποίηση του υποδοχέα των οιστρογόνων που μεσολαβείται από την PELP1, τον πολλαπλασιασμό και την δημιουργία αποικιών σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων του μαστού.

Πίνακας 4. Απομεθυλάσες των ιστονών που εμπλέκονται με τον καρκίνο (Hoffmann, I. et al., 2012.)

Όνομα	Σύντμηση	Στόχος	Συσχέτιση με Καρκίνο
KDM1A	LSD1, AOF2	H3K4me2/me1, H3K9me2/me1	Υπερεκφράζεται στο καρκίνωμα του προστάτη, της ουροδόχου κύστεως, στον καρκίνο του μαστού χωρίς την ενεργοποίηση του υποδοχέα των οιστρογόνων και στο νευροβλάστωμα. Αναστολή σε ζωικά μοντέλα προσομοίωσης της AML.
KDM2A	FBXL11A, JHDM1A	H3K36me2/me1	Υπερέκφραση σε NSCLC. Η απενεργοποίηση της KDM2A αναστέλλει την ανάπτυξη του όγκου σε ποντικούς με ξενομοσχεύματα NSCLC.
KDM2B	FBXL10B, JHDM1B	H3K36me2/me1, H3K4me3	Απαραίτητο για την εγκαθίδρυση και την διατήρηση της AML.
KDM3A	JMJD1A, JHDM2A	H3K9me2/me1	Υψηλή έκφραση συσχετίζεται με κακή πρόγνωση στον καρκίνο του ορθού του παχέος εντέρου και υπερεκφράζεται στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα.

Όνομα	Σύντμηση	Στόχος	Συσχέτιση με Καρκίνο
KDM4A	JMJD2A, JHDM3A	H3K9me3/me2, H3K36me3/me2	Απαραίτητο για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού, μειωμένη έκφραση σε καρκίνο της ουροδόχου κύστεως, , απαραίτητο για την απόκρυψη και τον πολλαπλασιασμό των ιικών σωματιδίων που προκαλούν καρκίνο.
KDM4B	JMJD2B	H3K9me3/me2, H3K36me3/me2	Υπερεκφράζεται στο καρκίνο του στομάχου και είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό και την δημιουργία μεταστάσεων στον καρκίνο του μαστού.
KDM4C	JMJD2C, GASC1	H3K9me3/me2, H3K36me3/me2	Υπερέκφραση στον καρκίνο του μαστού, του οισοφάγου, του λεμφώματος MALT, της AML και του σαρκώματος
KDM4D	JMJD2D	H3K9me3/me2/me1, H3K36me3/me2	Απαραίτητη για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επιβίωση των κυττάρων σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου
KDM5A	Jarid1A, RBP2	H3K4me3/me2	Εμπλέκεται στην αντίσταση κατά των αντικαρκινικών φαρμάκων.
KDM5B	Jarid1B, PLU1	H3K4me3/me2	Ογκοκατασταλτική λειτουργία σε μεταστατικά κύτταρα μελανώματος, συμμετοχή στον πολλαπλασιασμό σε καρκινικά κύτταρα του μαστού και υπερέκφραση στον καρκίνο του προστάτη.
KDM5C	Jarid1C, SMCX	H3K4me3/me2	Απενεργοποίηση μεταλλάξεων που έχουν βρεθεί στο διανυοκυτταρικό νεφρικό καρκίνωμα.
KDM6A	UTX, MGC141941	H3K27me3/me2	Ογκοκατασταλτική λειτουργία.
KDM6B	JMJD3, KIAA0346, PHF8, KIAA1111, ZNF422	H3K27me3/me2, H3K9me2/me1, H4K20me1	Υπερέκφραση στο λέμφωμα Hodgkin.
KDM7	KIAA1718, JHDM1D (KDM7A)	H3K9me2/me1, H3K27me2/me1	Αυξημένη έκφραση του KDMA7A καταστέλλει την ανάπτυξη όγκων σε ζωικά μοντέλα ξενομοσχευμάτων HeLa και B16.
KDM8	JMJD5, FLJ13798	H3K36me2	Υπερέκφραση σε όγκους του μαστού. Μπορεί να παίζει βασικό ρόλο στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου μέσω της ενεργοποίησης της κυκλίνης A1 μέσω από μεθυλίωσης του H3K36me2

Ο Vincent Alfrey και οι συνεργάτες του ήταν οι πρώτοι το 1964 που ανακάλυψαν πως οι ιστόνες μπορούν να ακετυλιωθούν. Η ακετυλίωση της λυσίνης αναφέρεται στην α-αμινομάδα του καταλοίπου της λυσίνης, που είναι μια αντιστρεπτή τροποποίηση και συχνά αναγράφεται ως N-ακετυλίωση (Fraga et al., 2005).

Η κυριότερη λειτουργία που μοιράζονται όλα τα μέλη της οικογένειας των HAT (histone acetyltransferases) είναι η ενεργοποίηση της μεταγραφής. Η οικογένεια αυτή μπορεί να διακριθεί σε δύο ομάδες (Α και Β) ανάλογα με την εντόπιση τους στο εσωτερικό του κυττάρου (Trisciuoglio, et al 2018). Οι τύπου Β HATs είναι κυρίως κυτταροπλασματικές, ακετυλιώνουν τις ελεύθερες ιστόνες αλλά όχι αυτές που έχουν ήδη συνδεθεί με την χρωματίνη. Αυτή η ομάδα των HATs είναι υψηλά συντηρημένη και τα μέλη της ακετυλιώνουν τις νεοσυντιθέμενες ιστόνες H4 (στην K5 και K12) όπως και συγκεκριμένα κατάλοιπα της H3. Αυτό το μοτίβο ακετυλίωσης είναι σημαντικό για την μετατροπή των ιστονών, μετά από την οποία αφαιρούνται οι ακετυλομάδες (Bannister et al., 2011).

Η ομάδα Α των HAT μπορεί να διαχωριστεί με την σειρά της σε πέντε υπο-ομάδες ανάλογα με την αμινοξική αλληλουχία και την δομή:

- *p300/CBP families* (Hodawadekar et al., 2007; Bannister et al., 2011).
- *GCN5-σχετιζόμενη N-ακετυλοτρανσφεράση (GNAT)*
- *Moz, Ybf2/Sas3, Sas2, Tip60 (MYST)*
- *Σχετιζόμενη με τον συνενεργοποιητή πυρηνικού υποδοχέα-(NCOA-) HAT*
- *Σχετιζόμενη με μεταγραφικό παράγοντα HAT* (Trisciuoglio et al., 2018)

Οι τύπου Α HATs συχνά σχηματίζουν μεγάλα πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα μαζί με άλλα ένζυμα με ικανότητα τροποποίησης των ιστονών, (Yang et al., 2007). Τα πρωτεϊνικά συστατικά αυτών των συμπλοκών παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της στρατολόγησης των ενζύμων, την ενεργότητα τους και την εξειδίκευση τους ως προς το υπόστρωμα (Bannister et al., 2011).

Γενικότερα, η ακετυλίωση των ιστονών μετατρέπει τα θετικά φορτία των ιστονικών ουρών σε ουδέτερα, αποδυναμώνοντας τη σύνδεση DNA-ιστονών (Ekwall et al., 2005) ή τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ νουκλεοσωμάτων (Steger et al., 1996), γεγονός που περιλαμβάνει και την αλλαγή στην δομή της χρωματίνης καθώς την μετατρέπει σε ευχρωματίνη. Η ακετυλίωση μπορεί να επηρεαστεί από τις PTMs, για παράδειγμα η H3S10 φωσφορυλίωση ρυθμίζει την ακετυλίωση των H4K14 υποστηρίζοντας την μεταγραφική ενεργότητα (Lo et al., 2000), ενώ ταυτόχρονα αλληλοεπιδρά με την μεθυλίωση της H3 (Delcuve et al., 2012).

Η ακετυλίωση των λυσινών είναι μια αντιστρεπτή τροποποίηση των ιστονών. Η αποακετυλίωση πραγματοποιείται από τις HDACs (Yang et al., 2007). Οι ομάδες Ι και ΙΙ περιέχουν ένζυμα παρόμοια με τις *scRpd3* και *scHda1* του *σακχαρομύκητα*. Η ομάδα ΙV διαθέτει μόνο ένα μέλος, την *HDAC11*, ενώ η ομάδα ΙΙΙ (συχνά αναφέρεται ως *σιρτουίνες*) έχει μέλη ομόλογα με την *scSir2* του *σακχαρομύκητα*. Η τελευταία ομάδα, σε αντίθεση με τις άλλες τρείς, απαιτεί συγκεκριμένο συμπαράγοντα για την λειτουργία της, το NAD^+ (Bannister et al., 2011). Οι HDACs αφαιρούν μια ακετυλομάδα οδηγώντας

τελικά σε υποακετυλίωση των νουκλεοσωμάτων, με επερχόμενο αποτέλεσμα την επαναφορά του θετικού φορτίου. Τελικά, η χρωματίνη επανασυμπυκνώνεται (μετατρέπεται σε ετεροχρωματίνη) και προκαλείται αναστολή της μεταγραφικής ενεργότητας (Sadakierska-Chudy et al., 2015).

1.5.4.4 Ο ρόλος της ακετυλίωσης και της αποακετυλίωσης στις ασθένειες

Επικρατεί η υπόθεση ότι μια πληθώρα ασθενειών μπορεί να σχετίζονται με την αποακετυλίωση των χρωμοσωμικών περιοχών που συνήθως είναι μεταγραφικά ανενεργές. Μάλιστα, οι τροποποιήσεις των HATs σε επίπεδο γονιδιώματος επηρεάζουν το ισοζύγιο της ακετυλίωσης γεγονός που παίζει βασικό ρόλο στην ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Ελέγχοντας κάποιες από τις ασθένειες που φαίνεται πως σχετίζονται με μη φυσιολογικές ενεργότητες των ενζύμων HAT μπορούμε να επιβεβαιώσουμε την υπόθεση (Khan et al., 2010). Για παράδειγμα, στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα η ακετυλίωση των ιστονών εμφανίζεται απορυθμισμένη (Alzheimer's disease) και προκαλεί αρνητικά αποτελέσματα στις μνημονικές λειτουργίες (Wood et al., 2018).

Μεταλλάξεις στα γονίδια CBP του ανθρώπου σχετίζονται με το σύνδρομο Rubinstein–Taybi (RTS) που αποτελεί μια αναπτυξιακή διαταραχή με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου στους ασθενείς (Roelfsema et al., 2004).

Στον καρκίνο, οι σποραδικές μεταλλαγές που παρατηρούνται στο γονίδιο P300 ενισχύουν την υπόθεση πως πρόκειται για μια ασθένεια με απορρύθμιση της ενεργότητας p300/CBP (**Πίνακας 5**). Αυτό μπορεί να οδηγεί σε καταστολή τη ογκο-κατασταλτικής ενεργότητας του συγκεκριμένου συμπλόκου. Επιπροσθέτως, η p300 έχειδειχθεί πως ρυθμίζει τα γονίδια που καταστέλλουν την φλεγμονή των ενδοθηλιακών κυττάρων κατά την ανάπτυξη αθηροσκλήρωσης (Zhang et al., 2011), την εξασθένηση της καρδιακής ανεπάρκειας που επάγεται από τα άλατα και την καρδιακή υπερτροφία που προκαλείται από μόρια-αγωνιστές (Gusterson et al., 2003).

Σύμφωνα με τελευταίες έρευνες, πολλές από τις HDACs υπερεκφράζονται στα κακοήγη κύτταρα και έχει αποδειχθεί η πολύ στενή τους σύνδεση με την εμφάνιση κακοηθών φαινοτύπων κατά την καρκινογένεση. Οι HDACs τάξης I, με βάση κλινικές και προκλινικές μελέτες, ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επιβίωση. Για παράδειγμα, η αυξημένη έκφραση της HDAC1 έχει καταγραφεί σε γαστρεντερικά καρκινώματα, όπως και σε περιπτώσεις καρκίνου του προστάτη και του μαστού. Η ανώμαλη αυξορύθμιση της HDAC2 έχει καταγραφεί στον καρκίνο της μήτρας και του καρκίνου του στομάχου. Συγκεκριμένα η HDAC2 θεωρείται υπεύθυνη για την απώλεια έκφρασης του APC στα καρκινώματα του ορθού. Άλλες ερευνητικές μελέτες έδειξαν ότι η HDAC3 ή η HDAC6 εμφανίζονται υπερεκφρασμένες σε καρκινώματα του παχέος εντέρου και μαστού (Yoon & Eom et al., 2016). Ο ρόλος των HAT και των HDAC στην καρκινογένεση περιγράφεται στους επομένους πίνακες (**Πίνακας 5 & 6**).

Πίνακας 5: Μεταλλαγές στα HAT ένζυμα στον καρκίνο (Ανατύπωση από Di Cerbo & Schneider et al., 2013)

Γονίδιο	Κοινή Ονομασία	Τύποι Όγκων	Κυτταρικοί Τύποι	Ιστολογικός Τύπος	Μεταλλαγή	Παραγόμενη πρωτεΐνη (συντηγμένη)
Οικογένεια MYST						
KAT5	TIP60	Καρκίνος Ορθού, εγκέφαλου, Στόμαχου	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Παρανοηματικές Αλλαγές πλαισίου, Ανοηματικές	
KAT7	HBO1	Καρκίνος του πνεύμονα, ορθού, Μαστού, Προστάτη, Ωοθηκών, Σαρκώματα	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Ενίσχυση, Παρανοηματικές	
KAT6A/ MYST3	MOZ	Ορθού, Πνεύμονα, Μαστού, AML	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα Λευχαιμίες, Λεμφώματα	Ανοηματικές, Παρανοηματικές Ενίσχυση, Έλλειψη, Μετατόπιση	MOZ-CBP, MOZ-EP300, MOZ-TIF2, MOZ-NCOA3, MOZ-ASXL2
KAT6B/ MYST4	MORF	Ορθού, Γλοιοβλάστωμα, Πνεύμονα, Ωοθηκών, AML	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα , Λευχαιμίες, Λεμφώματα	Ανοηματικές, Παρανοηματικές, Ενίσχυση, Έλλειψη, Μετατόπιση	MORF-CBP
MYST1	MOF	Πνεύμονα, Ορθού, Lung, colorectal, Μυελοβλάστωμα	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Ανοηματικές, Παρανοηματικές Έλλειψη	
Οικογένεια GNAT						
KAT2A	GCN5	Στήθους, ορθού, Προστάτη, Πνεύμονα, Νεφρού, Σαρκώματα	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Έλλειψη, Μετατόπιση	
KAT2B	PCAF	Πνεύμονα, Νεφρού, Σαρκώματα, Ορθού	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Παρανοηματικές, Αλλαγές πλαισίου, Έλλειψη, Ενίσχυση	

Orphan family						
EP300	p300	Ορθού, Μαστού, Παγκρέατος, AML, ALL, DLBCL (10%), NHL (7%), FL (8.7%)	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα Λευχαιμίες, Λεμφώματα	Μετατόπιση, Ανοηματικές, Αλλαγής πλαισίου, Παρανοηματικές, άλλες	p300-MOZ, MLL-p300
CREBBP	CBP	ALL (18.3%), AML, DLBCL (29%), NHL (21%)	Σωματικό	Λευχαιμίες, Λεμφώματα	Μετατόπιση, Ανοηματικές, Αλλαγής πλαισίου, Παρανοηματικές, άλλες	CBP-MOZ, CBP-MORF, MLL-CBP
CREBBP	CBP	Αιματολογικοί (σύνδρομο Rubstein- Taybe)	Germline	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα Λευχαιμίες, Λεμφώματα	Έλλειψη	
NCOAI/KAT13A	SRCI	Πνεύμονα, Ορθού	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Παρανοηματικές, Έλλειψη	PAX3-NCOAI
NCOA3/KAT13B	CRC-3/ACTR	Ορθού, Ωοθηκών, Πνεύμονα	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Ανοηματικές, Παρανοηματικές, Ενίσχυση, Προσθήκη εντός πλαισίου	NCOA3-MOZ
KAT13D	CLOCK	Ορθού, Γλοιοβλαστώματος, Πνεύμονα	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Παρανοηματικές, Ανοηματικές, Ενίσχυση, άλλες.	
KAT4	TAFI	Πνεύμονα, Ορθού Μαστού, Γλοιοβλαστώματος, Ωοθηκών, Νεφρών	Σωματικό	Επιθηλιακά Νεοπλάσματα	Ανοηματικές, Παρανοηματικές	

Table 6. Εντοπισμός ιστονικών αποακετυλασών στον καρκίνο (Audia et al 2016, review. Ref. in article)

Όνομα	HDAC class	Υπόστρωμα	Σύνδεση με καρκίνο
HDAC1	I	H4K16, H3K56	Υπερεκφράζεται στην ALL, στην CLL, στα λεμφώματα Hodgkin, τα νεφρικά καρκινώματα, τον καρκίνο του μαστού, του παγκρέατος, του ορθού (έχει συσχετιστεί με χαμηλή πρόγνωση), του προστάτη (υψηλού βαθμού διαφοροποίησης, με ορμονική αντίσταση), του πνεύμονα και του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (προχωρημένου σταδίου).
HDAC2	I	H4K16, H3K56	Υπερεκφράζεται στην ALL, στα λεμφώματα Hodgkin, τον καρκίνο του πνεύμονα, του ορθού (υψηλότερη στους πολύποδες), τις γαστρικές κακοήθειες και τον καρκίνο του προστάτη (σχετίζεται με προχωρημένο στάδιο ή/και κακή πρόγνωση). Η μεταλλαγή της HDAC2 οδηγεί σε απενεργοποίηση της στην MSI, στον καρκίνο του ορθού, του στομάχου και στους όγκους της μήτρας.
HDAC3	I	H3K9,K14 H4K5 H4K12	Υπερέκφραση στην CLL, στα λεμφώματα κατά Hodgkin, στον καρκίνο του νεφρού, του γαστρικού σωλήνα, του ορθού και του προστάτη. Συσχετίζεται με κακή πρόγνωση (ταυτόχρονη υπερέκφραση με HDAC1, -2). Μεγαλύτερη έκφραση σχετίζεται με χαμηλή πιθανότητα πενταετούς επιβίωσης.
HDAC8	I	ERRα,	Υπερεκφράζεται στην ALL, στο παιδικό νευροβλάστωμα (συσχετίσεις με προχωρημένα στάδια της νόσου και χαμηλή επιβίωση).
HDAC4	IIA	Δεν έχει προσδιοριστεί	Υψηλότερη έκφραση σε καρκίνο του μαστού (σε σχέση με του νεφρού, του ουροθηλίου και του ορθού). Σχετίζεται με την χαμηλή ανταπόκριση στην πρεδνιζόλη στην ALL.
HDAC5	IIA	p53	Υψηλότερη έκφραση στον καρκίνο του ορθού (σε σχέση με της ουροδόχου, των νεφρών και του μαστού) και του μυελοβλαστώματος (σχετίζεται με μικρή πιθανότητα επιβίωσης). Υποεκφράζεται στους βλάστες της AML.
HDAC7	IIA	Δεν έχει προσδιοριστεί	Υψηλότερη έκφραση στην CLL, τον καρκίνο του ορθού (σε σχέση με της ουροδόχου, των νεφρών και του μαστού), του παγκρέατος και στην παιδική ALL (σχετίζεται με χαμηλή πιθανότητα επιβίωσης).

HDAC9	IIA	Δεν έχει προσδιοριστεί	Χαμηλότερη έκφραση σε αστροκύττωμα υψηλής διαφοροποίησης και στο γλοιοβλάστωμα (vs. χαμηλότερης διαφοροποίησης αστροκύττωμα και φυσιολογικά εγκεφαλικά κύτταρα), στον καρκίνο του πνεύμονα (vs. μη νεοπλασματικά επιθηλιακά κύτταρα, παρ'όλο που δεν έχει βρεθεί συσχέτιση με επιβίωση ελεύθερας νόσου). Υψηλότερη έκφραση παρατηρείται στο μυελοβλάστωμα, την CLL, τα χρόνια μυελοδυσπλαστικά νεοπλάσματα (αρνητικά σε χρωμόσωμα Philadelphia) και στην παιδική ALL που συνδέεται με χαμηλή πιθανότητα επιβίωσης.
HDAC6	IIB	α -tubulin, HSP90, cortactin	Υπερέκφραση στην CLL, τον καρκίνο του μαστού, (αλλά συσχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα επιβίωσης) (ευαισθησία στην ενδοκρινική θεραπεία). Επίσης υπερεκφράζεται στην DLBCL και την AML. Σταδιακή αύξηση της έκφρασης σε χρόνια μυελοδυσπλαστικά νεοπλάσματα αρνητικά για χρωμόσωμα Philadelphia.
HDAC10	IIB	Δεν έχει προσδιοριστεί	Χαμηλότερη έκφραση συνδέεται με κακή πρόγνωση στον καρκίνο του πνεύμονα. Υπερεκφράζεται στην CLL. Η υποέκφραση σχετίζεται με μεγαλύτερη πιθανότητα επιβίωσης σε πρωτογενές νευροβλάστωμα προχωρημένου σταδίου.
HDAC11	IV	Δεν έχει προσδιοριστεί	Υπερέκφραση σε πορογενές και μικτού τύπου λοβιακά καρκινώματα του μαστού (vs. μη παθολογικό ιστό μαστού) αυξημένα επίπεδα σε λεμφώματα κυττάρων μανδύα και σε χρόνια μυελοδυσπλαστικά νεοπλάσματα αρνητικά για χρωμόσωμα Philadelphia.
SIRT1	III	H4K16, H3K9, p53, p73, PTEN, FOX01, FOX03a, FOX04, NICD, MEF2, HIF-1 α , HIF-2 α , TAF(I)68, SREBP-1c, β -catenin, RelA/p65, PGC1 α , BMAL1, Per2, Ku70, XPA, SMAD7, cortactin, IRS-2, APE1, PCAF, TIP60, p300, SUV39H1, AceCS1, PPAR γ , ER- α , ERR α , AR, LXR	Υπερέκφραση σε AML, CLL, καρκινώματα ορθού, προστάτη, ωοθηκών, γαστρικά, μελανώματα και σε μια υποκατηγορία των HCC υποεκφράζεται στους όγκους της ουροδόχου, του παχέος εντέρου, του προστάτη, των ωοθηκών και στα γλοιώματα.
SIRT2	III	H4K16, H3K56, α -tubulin, ATP-citrate lyase, SETD8, CDK9	Υψηλότερη πυρηνική έκφραση σε GBM (vs. αστροκύττωμα ή φυσιολογικά IHC) και βαθμού 3 καρκίνο του μαστού με ευαισθησία στην ενεργοποίηση του υποδοχέα οιστρογόνων (σχετίζεται με μειωμένα Higher nuclear expression in GBM (vs. astrocytoma or normal by IHC) and grade 3 ER ⁺ καρκίνου του μαστού που σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση χωρίς ασθένεια και αυξημένη συχνότητα

			υποτροπής, αν και παρατηρήθηκε αντίστροφη τάση στους όγκους βαθμού 2. Παρόλα αυτά, χαμηλότερη έκφραση της συνολικής SIRT2 σε NSCLC, μαστό, GBM, HCC όταν συγκρίθηκε με φυσιολογικό ιστό.
SIRT3	III	H4K16, H3K56, H3K9, GDH, IDH2, HMGCS2, SOD2, AceCS2, Ku70, LCAD, SdhA, PDHA1	Υπερέκφραση στην CLL . Τα υψηλότερα επίπεδα σχετίζονται με μεταστατικά, σε λεμφαδένες, καρκινώματα του μαστού.
SIRT4	III	GDH (ADP-ριβοζυλίωση)	Υποεκφράζεται στις βλάστες της AML.
SIRT5	III	Cytochrome c, CPS1 HMGCS2, and SOD1 (desuccinylation)	Η SIRT5 έχει προταθεί να ενεργοποιεί την SOD1, αναστέλλοντας την ανάπτυξη των καρκινικών όγκων <i>in vitro</i> .
SIRT6	III	H3K9, H3K56	Υπερεκφράζεται στην CLL.
SIRT7	III	H3K18 , p53	Χαμηλά επίπεδα της H3K18ac πιθανολογούν υψηλότερη πιθανότητα για καρκίνο του προστάτη, κακή πρόγνωση σε παγκρεατικά αδενοκαρκινώματα. Υπερεκφράζεται στην CLL και το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.

1.5.4.5 Φωσφορυλίωση και Αποφωσφορυλίωση

Η φωσφορυλίωση παρατηρήθηκε αρχικά από τους Gutierrez και Hnilica το 1967 (Gutierrez et al., 1967) και έκτοτε έχουν ανακαλυφθεί πολλές από τις κινάσες που πραγματοποιούν αυτή τη φωσφορυλίωση των ιστονών (Schmitt et al., 2002). Η φωσφορυλίωση είναι μια δυναμική τροποποίηση και μπορεί να πραγματοποιηθεί σε κατάλοιπα σερίνης (S), θρεονίνης (T) και τυροσίνης (Y) κυρίως στο αμινοτελικό άκρο των ουρών των ιστονών (Pawlak & Deckert 2007; Caperta et al., 2008).

Η φωσφορική ομάδα (PO_4^{3-}) προστίθεται στην ουρά των ιστονών από μια ποικιλία κινάσων και αφαιρείται από αυτές με τη βοήθεια των φωσφατάσων. Οι 518 ανθρώπινες κινάσες κατηγοριοποιούνται σύμφωνα με τα αμινοξέα τα οποία φωσφορυλιώνουν. Οι περισσότερες δρουν πάνω στη σερίνη και τη θρεονίνη (κινάσες σερίνης/θρεονίνης - STKs) άλλες στην τυροσίνη (κινάσες τυροσίνης – TKs) και κάποιες από αυτές δρουν και στα τρία κατάλοιπα (κινάσες διπλής ειδικότητας – DSKs). Οι τελευταίες μπορούν να φωσφορυλιώσουν STKs και τις TKs. Τουλάχιστον 125 από τις ανθρώπινες πρωτεϊνικές κινάσες είναι STKs (Ardito et al., 2017).

Οι πρωτεϊνικές φωσφατάσες θεωρούνται παθητικά ένζυμα απαραίτητα για την ομαλή λειτουργία των κυττάρων σε σχέση με τις κινάσες. Η διαφορετική τους δομή καθιστά την αναγνώριση τους δυσκολότερη και θεωρήθηκαν λιγότερο σημαντικές από

τις κινάσες. Προς το παρόν, έχουν καταγραφεί περίπου 226 φωσφατάσες που κατηγοριοποιούνται σε 3 οικογένειες. Φωσφοπρωτεϊνικές φωσφατάσες (PPP), μεταλλο-εξαρτώμενες φωσφατάσες (PPM) και φωσφατάσες τυροσίνης (PTP) (Ardito et al., 2017).

Η προσθήκη αρνητικά φορτισμένων φωσφορικών ομάδων μπορεί να εγείρει αλλαγές στη δομή της χρωματίνης. Η φωσφορυλίωση των ιστονών μπορεί να ελέγχει πολλές διαδικασίες, όπως τη μίτωση (H3S10, S28), τη μείωση, την επιδιόρθωση του DNA (H4S1, H2A.XS139), την απόπτωση (H2BS10, H2BS14, H2AXY142) (Cohen I 2011), όπως και τη γονιδιακή έκφραση (H3S10, T11) (Cheung et al., 2000; Sadakierska-Chudy et al., 2014). Αυτή η τροποποίηση είναι εξαρτώμενη από τον κυτταρικό κύκλο, αφού κατά την μίτωση επάγει την χρωμοσωμική συμπύκνωση και τον διαχωρισμό τους. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, οι δίκλωνες θραύσεις του DNA (DSBs- double strain breaks) προκαλούν άμεση φωσφορυλίωση της σερίνης 139 στο καρβοξυτελικό άκρο της ιστόνης H2AX από την PI3K κινάση δημιουργώντας γ- H2A.X (Kuo and Yang, 2008). Η φωσφορυλίωση της H2AX στη σερίνη 19 είναι το πρώτο βήμα στην ανασυγκρότηση και εντόπιση των πρωτεϊνών επιδιόρθωσης του DNA (Kuo & Yang 2008). Όπως αποκαλύφθηκε, η ιστόνη H2AX και η H3 μπορούν να φωσφορυλιωθούν πάνω στα κατάλοιπα τυροσίνης (Sadakierska-Chudy et al., 2014).

Τα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην επιδιόρθωση των βλαβών του DNA (H2A.XY142, H3Y99), τη δομή της χρωματίνης και την ογκογένεση (H3Y41) (Xiao et al., 2009; Cook et al., 2009; Sawicka & Seiser, 2014). Η πιο καλά χαρακτηρισμένη φωσφορυλίωση των ιστονών είναι αυτή της σερίνης 10 στην ιστόνη H3. Κατά την μεσόφαση, η φωσφορυλίωση στην H3S10 διαμεσολαβείται από 2 κινάσες, την Rak2 (ribosomal S6 kinase 2) και την Msk1 (επαγόμενη από μιτογόνα και στρες κινάση 1), ενώ αυτή η τροποποίηση σχετίζεται με ενεργοποίηση αρκετών γονιδίων (Hartzog & Tamkun 2007). Η μελέτη των Nowak και Corces το 2000 έδειξε πως η φωσφορυλίωση της H2S10 ίσως να είναι σημαντική για την μεταγραφή από την RNA πολυμεράση II (Pol II). Επιπροσθέτως, η φωσφορυλίωση της H3S10 θεωρείται υπεύθυνη για την διακοπή της αλληλεπίδρασης μεταξύ HP1 και H3K9me3 λόγω της μείωσης στην συγγένεια πρόσδεσης της επικράτειας σύνδεσης με τη χρωματίνη της HP1 (Sawicka & Seiser, 2014). Δηλαδή, ο μηχανισμός μεταβολής από τη φωσφορυλιωμένη σε μεθυλιωμένη S10 μπορεί να επάγει αλλαγές στην σύνδεση των πρωτεϊνών στις θέσεις με PTMs. Η φωσφορυλίωση της H3 στη σερίνη 10 μοιάζει να είναι μια ανταπόκριση σε περιβαλλοντικούς παράγοντες (Crosio et al., 2000).

Μια μοναδική σειρά χαρακτηριστικών που αφορούν την φωσφορυλίωση των ιστονών, ξεχωρίζουν την τροποποίηση αυτή από τις υπόλοιπες. Η ερμηνεία της τροποποίησης αυτής εξαρτάται πολύ από το περιβάλλον στο οποίο συμβαίνει, καθώς η φωσφορυλίωση του συγκεκριμένου καταλοίπου σε διάφορες φάσεις του κυτταρικού κύκλου έχει εντελώς διαφορετικά αποτελέσματα για την κάθε μία και συχνά οδηγεί σε αντίθετα βιολογικά φαινόμενα (Sawicka & Seiser, 2014).

1.5.4.6 Ο ρόλος της φωσφορυλίωσης στις ασθένειες

Περίπου το 30% των ανθρώπινων πρωτεϊνών περιέχουν ομοιοπολικά συνδεδεμένο φώσφορο. 500 πρωτεϊνικές κινάσες και το ένα τρίτο των φωσφατάσων κωδικοποιούνται από το ανθρώπινο γονιδίωμα. Υπό αυτή την οπτική, δεν μας εκπλήσσει το γεγονός πως η μη ορθή φωσφορυλίωση μπορεί να προκαλεί ή να είναι συνέπεια παθολογικών καταστάσεων. Κάποιες από τις ασθένειες που προκαλούνται από μεταλλαγή στις συγκεκριμένες πρωτεϊνικές κινάσες και φωσφατάσες έχουν συμπεριληφθεί στον **Πίνακα 7**.

Πίνακας 7. Ασθένειες που προκαλούνται από μεταλλαγές σε κινάσες και φωσφατάσες
Ανατύπωση από : Cohen et al., 2001.

Ασθένεια	Κινάση / Φωσφατάση
Μυοτονική Μυϊκή Δυστροφία	Μυοτονική Πρωτεϊνική Κινάση
X-α-γ-σφαιριναιμία	Bruton Κινάση Τυροσίνης
Ασθένεια Hirschsprungi	Ret2 Κινάση
Αυτοσωμική Υπολειπόμενη SCID	Zap70 Κινάση
Σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια	Jak3 Κινάση
Κρανιοσυνοστέωση	Κινάση Υποδοχέα FGF
Θηλοειδές Νεφρικό Καρκίνωμα	Κινάση Υποδοχέα Met
Χρόνια Μυελομονοκυττική Λευχαιμία	Κινάση Υποδοχέα Tel-PDGF
Χρόνια Μυελογενής Λευχαιμία	Abelson Κινάση Τυροσίνης
Λέμφωμα Non-Hodgkins	Alk Κινάση
Σύνδρομο Peutz–Jeghers	Lkb1 Κινάση
Σύνδρομο Coffin–Lowry	MAPKAP-K1b (RSK-2)
Αταξία-Τηλεαγγειεκτασία	Atm Κινάση
Σύνδρομο Li–Fraumeni	Chk2 Κινάση
Σύνδρομο Williams	Lim Κινάση -1
Σύνδρομο Donohue, Διαβήτης	Κινάση Υποδοχέας Ινσουλίνης
Σύνδρομο Wolff–Parkinson–White	AMP Ενεργοποιούμενη Κινάση
Σύνδρομο Wolcott–Rallison	eIF2A- Κινάση
3 X-Μυοθυλακική Μυοπάθεια	MTM1 Φωσφατάση Τυροσίνης

Είναι σημαντικό, πως η φωσφορυλίωση των ιστονών σχετίζεται με την μεταγραφική ρύθμιση και την γονιδιακή έκφραση, ειδικά για τα ένζυμα που ρυθμίζουν την πορεία του κυτταρικού κύκλου και του πολλαπλασιασμού. Η φωσφορυλίωση της σερίνης 10 και 28 της H3, αλλά και της σερίνης 32 στην H2B έχουν συνδεθεί με την ενεργοποίηση του Επιδερμικού Αυξητικού Παράγοντα (EGF) που διαμεσολαβεί την μεταγραφή των γονιδίων (Shanmugam et al., 2017). Οι αυξητικοί παράγοντες όπως ο

EGF και ο PDGF ενεργοποιούν την ενεργοποιούμενη από μιτογόνα πρωτεϊνική κινάση (MAPK) μέσω του κλασσικού μονοπατιού, που είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση άλλων κυττάρων. Όμως, η αλόγιστη ενεργοποίηση αυτού του μονοπατιού είναι γνωστό πως ευθύνεται για την εμφάνιση κακοηθών νεοπλασιών (Cohen et al., 2001). Σχεδόν στο ένα τρίτο όλων των ανθρώπινων καρκινωμάτων έχουν καταγραφεί μεταβολές στην σηματοδότηση της MAPK, αποδεικνύοντας τη σημασία του συγκεκριμένου μονοπατιού (Dhillon et al., 2007).

Πολλές έρευνες έχουν δείξει ότι οι κινάσες Aurora B (κινάσες σερίνης/θρεονίνης, σημαντικές για τον χρωμοσωμικό διαχωρισμό) υπερεκφράζονται σε μια ποικιλία νεοπλασιών, όπως του ορθού και του μαστού (Krenn et al., 2015).

1.5.4.7 Ουβικιτίνωση – Από-ουβικιτίνωση

Το 1975 ο Goldknopf και η ομάδα του αναγνώρισαν για πρώτη φορά σε κύτταρα την ουβικιτίνωση της ιστόνης H2A (Goldknopf et al., 1975). Είναι πλέον γνωστό πως η H2A και η H2B είναι οι πιο συχνά απαντημένες ουβικιτινωμένες πρωτεΐνες στον πυρήνα ενός κυττάρου (Robzyk et al., 2000 ; Cao & Yan, 2012).

Η ουβικιτίνωση παίζει πολύ σημαντικό ρόλο σε βιολογικές διαδικασίες όπως η μεταγραφή, η διατήρηση της δομής της χρωματίνης και η επιδιόρθωση του DNA, διαδικασίες που λαμβάνουν χώρα στον πυρήνα.

Η ουβικιτίνωση καταλύεται από την διαδοχική ενζυμική δράση των εξής παραγόντων:

- Ένζυμο ενεργοποίησης της ουβικιτίνωσης, E1, που την ενεργοποιεί μέσω ενός βήματος εξαρτώμενου από το ATP, στο οποίο δημιουργείται ένας θειολικός εστερικός δεσμός μεταξύ του καρβοξυτελικού άκρου της ουβικιτίνης και της κυστεΐνης της E1
- Ένζυμο σύζευξης της ουβικιτίνης, E2, που μαζί δημιουργούν την λιγάση της ουβικιτίνης και μεταφέρουν την ουβικιτίνη σε ένα κατάλοιπο λυσίνης της επιθυμητής πρωτεΐνης
- Λιγάση της ουβικιτίνης E3 (Pickart & Eddins, 2004).

Η σύζευξη των ουβικιτινών πάνω στις πρωτεΐνες είναι μια αντιστρεπτή διαδικασία η οποία και ελέγχεται από τα ένζυμα της αποουβικιτίνωσης (DUB). Τα ένζυμα αυτά αποτελούνται από ένα καρβοξυτελικό άκρο με ενεργότητα υδρολάσης (UCH) και την ειδική για ουβικιτίνη πρωτεάση (UBP) (Wilkinson et al., 2000).

Η ουβικιτίνωση αποτελεί μια διαδικασία που εμπλέκεται στη ρύθμιση όλων των βασικών λειτουργιών του κυττάρου όπως τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου από τις SCF και APC/C λιγάσες (Skaar & Pagano, 2009), την απόπτωση (Ramakrishna et al., 2011) αλλά και τη διατήρηση της μιτοχονδριακής μορφολογίας και λειτουργίας (Neutzner et al., 2008).

1.5.4.8 Ο ρόλος της ουβικιτίνωσης στον καρκίνο

Οι ανωμαλίες στην ουβικιτίνωση και αποουβικιτίνωση των ιστονών οδηγούν σε παθολογικές καταστάσεις, μεταξύ των οποίων συγκαταλέγεται και ο καρκίνος. Ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί μέσω των οποίων η ουβικιτίνωση των ιστονών συμβάλλει σε αυτές τις βιολογικές διεργασίες δεν είναι πλήρως κατανοητοί αλλά απαιτούν οπωσδήποτε περαιτέρω διερεύνηση. Στον **Πίνακα 8** αναφέρονται πολλά από τα παραδείγματα ασθενειών για τις οποίες ευθύνεται η ουβικιτίνωση/αποουβικιτίνωση.

Πίνακας 8. Παραδείγματα ουβικιτίνωσης και συμβολή στα καρκίνο

Μεταβολή	Τύπος ασθένειας	Βιβλιογραφία
Απώλεια της σφαιρικής H2Bub1	1.Καρκίνος μαστού 2.Καρκίνος ορθού 3.Καρκίνος πνεύμονα 4.Καρκίνος παραθυροειδούς	Prenzel et al. 2011 Urasaki et al. 2012 Hahn et al. 2012
Αυξημένη έκφραση των OTUD6B, UCH37, VCPIP1, USP9X και COPS5 (DUBs)	1.Καρκίνος μαστού 2.Καρκίνος πνεύμονα 3.Μελάνωμα	Luise et al., 2011
Μειωρύθμιση της USP2 (Εξειδικευμένη πρωτεάση Ουβικιτίνης 2)	Καρκίνωμα προστάτη	Hussain et al., 2009
Αυξορύθμιση της USP2	Καρκίνος του κόλον	Hussain et al., 2009
Εξειδικευμένη πεπτιδάση ουβικιτίνης 24 (USP24)	Καρκίνος του πνεύμονα – Διαγνωστικός δείκτης	Wang et al., 2015

1.5.4.9 Σουμοϋλίωση

Η σουμοϋλίωση (-SUMO) των ιστονών ανακαλύφθηκε σαν τροποποίηση της ιστόνης H4 των κυττάρων των θηλαστικών το 2003 (Shiio & Eisenman, 2003). Η σουμοϋλίωση πραγματοποιείται από έναν ενζυμικό καταρράκτη παρόμοιο με αυτόν την ουβικιτίνωσης. Οι SUMO όπως είναι η χημική τους ονομασία, συντίθενται αρχικά ως πρόδρομες πρωτεΐνες οι οποίες τροποποιούνται από ισοπεπτιδάσες της οικογενείας των SENPs (Mukhopadhyay & Dasso, 2007). Οι ώριμες SUMO στη συνέχεια ενεργοποιούνται από το ετεροδιμερικό ένζυμο E1 (Aos1/Uba2), μεταφέρονται στο ένζυμο σύζευξης E2 (Ubc9) και τέλος συνδέονται πάνω στις λυσίνες των πρωτεϊνών στόχων. Το τελευταίο αυτό βήμα μπορεί να μεσολαβείται από την δράση της E3 λιγάσης, η οποία εκτός από την

αύξηση των πιθανοτήτων σουμοϋλίωσης θεωρείται πως αυξάνει και την ειδικότητα της διαδικασίας (Gareau & Lima, 2010).

1.5.4.10 Ο ρόλος της σουμοϋλίωσης στις ασθένειες

Η σουμοϋλίωση παίζει έναν ουσιαστικό ρόλο στη ρύθμιση του διαχωρισμού του DNA στα κεντρομερή, κατά τον διαχωρισμό των αδελφών χρωματιδίων στη μίτωση (Azuma et al., 2003). Παράλληλα, είναι απαραίτητη για την συσσωμάτωση και την δέσμευση των τελομερών στην περιφέρεια του πυρήνα, μια διαδικασία η οποία σταθεροποιεί την ετεροχρωματίνη των τελομερών και περιορίζει την ενεργότητα της τελομεράσης (Zhao & Blobel, 2005). Ο ρόλος των ενζύμων της σουμοϋλίωσης στον καρκίνο αναλύεται στον **Πίνακα 9**.

Πίνακας 9. Ένζυμα σουμοϋλίωσης που σχετίζονται με τον καρκίνο (ανατύπωση από: Yang et al., 2018)

Ένζυμα	Καρκίνος	Έκφραση	Χαρακτηριστικά	Μηχανισμός
SENPs	1) Προστάτη	Υπερέκφραση	Εμπλοκή στην παθογένεση του καρκίνου του προστάτη	Σχετίζεται με την σηματοδότηση του υποδοχέα ανδρογόνων και την σηματοδότηση HIFα
	2) Ορθού	Υπερέκφραση	Ρόλος στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου	Αυξορύθμιση της έκφρασης αναστολέων της CDK Up (πχ. p16, p19, p21 και p27)
	3) Παγκρέατος	Υπερέκφραση	Σχετίζεται με μετάσταση στους λεμφαδένες και την σταδιοποίηση TNM.	Σχετίζεται με MMP-9 που παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και μετάσταση PDAC κυττάρων
	4) Νευροβλάστωμα	Υπερέκφραση	Προωθεί την κυτταρική μετανάστευση και διήθηση	Regulate the expression of CDH1, MMP9, and MMP2
	5) Πολλαπλό Μυέλωμα	Υπερέκφραση	Σχετίζεται με κακή πρόγνωση	Σχετίζεται με σηματοδότηση NF-κΒ
	1) Ουροδόχου Κύστης	Μειωμένη	Καταστέλλει την	Αναστέλλει την

	SENP2		έκφραση	μετάσταση όγκων.	έκφραση της MP13
		2) Ηπατοκυτταρικό Καρκίνωμα	Μειωμένη έκφραση	Παίζει ρόλο στον έλεγχο της ανάπτυξης των κυττάρων	Τροποποιεί την σταθερότητα της β-κατενίνης
	SENP3	1) Γαστρικός	Υπερέκφραση	Επάγει την έκφραση συγκεκριμένων μεσεγχυματικών γονιδίων κατά την μετάσταση	Πιθανώς επηρεάζει την ενεργότητα της FOXC2
		2) Οροφαρυγγικό καρκίνωμα των πλακωδών κυττάρων	Υπερέκφραση	Συσχέτιση με τη διαφοροποίηση του όγκου	Σχετίζεται με τις δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS)
		1) Μαστού	Υπερέκφραση	Συσχετίζεται με κακή πρόγνωση	Μέσω του μονοπατιού SENP5-TGFβ-MMP9

Ένζυμα		Καρκίνος	Έκφραση	Χαρακτηριστικά	Μηχανισμός
SUMO E1	SAE2	1) Μαστού	Υπερέκφραση	Συσχετίζεται με την επιβίωση των ασθενών	Σχετίζεται με την ογκογονική έκφραση του παράγοντα Myc
		2) Μικροκυτταρικό καρκίνωμα πνεύμονα	Υπερέκφραση	Συσχετίζεται με την ογκογένεση <i>in vivo</i>	Μειώνει την ευαισθησία στα χημικοθεραπευτικά
	SAE1	3) Αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα	Υπερέκφραση	Χαμηλότερη έκφραση στις μεταστάσεις των λεμφαδένων	-
SUMO E2	UBC9	4) Ήπατος	Υπερέκφραση	Άμεση φωσφορυλίωση της UBC9 κατά την δεύτερη μιτωτική διαίρεση	Η σερίνη 71 της UBC9 είναι απαραίτητη για την φωσφορυλίωση
		5) Παχέος εντέρου	Υπερέκφραση	Εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στους πρωτογενείς κακοήθεις όγκους	-
		1) Πνεύμονα	Υπερέκφραση	Εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα σε πρωτογενείς καρκινικούς ιστούς και τα οζίδια	-

		2) Μαστού	Υπερέκφραση	Συσχετίζεται με κακή πρόγνωση στην χημειοθεραπεία και την κλινική πρόγνωση	-
		3) Μελάνωμα	Υπερέκφραση	Εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα στους θετικούς για μελάνωμα λεμφαδένες	-
		4) Γλοιοβλάστωμα	Υπερέκφραση	Προωθεί την σύνθεση του DNA και της κυτταρική αύξησης	Μπλοκάρει την φωσφορυλίωση της H2AX η οποία υποδεικνύει τις δίκλωνες βλάβες του DNA, και την διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M

1.5.4.11 β-N-γλυκοζύλιωση

Η γλυκοζύλιωση της *O*-συνδεδεμένης β-N-ακετυλογλυκοζαμίνης (*O*-GlcNAcylation) αποτελεί μια επαγόμενη και δυναμική μετα-μεταφραστική τροποποίηση (Post Translation Modification-PTM) που συναντάται σε πολλές ενδοκυττάρια πρωτεΐνες (Hart et al., 2011).

Τα επίπεδα της β-N-γλυκοζύλιωσης ελέγχονται από τα κύτταρα μέσω δύο εξελικτικά συντηρημένων ενζύμων, την *O*-συζευγμένη β-N-ακετυλογλυκοζάμινο τρανσφεράση (OGT) και την *O*-συζευγμένη β-N-ακετυλογλυκοζαμινιδάση (OGA), μέσω των οποίων προστίθενται ή αφαιρούνται αντίστοιχα οι *O*-συζευγμένες β-N-ακετυλογλυκοζαμίνες (Hurtado-Guerrero et al., 2008).

Οι τροποποιήσεις αυτές παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο σε μια σειρά κυτταρικών διεργασιών, όπως η μεταγραφή (Rexach et al., 2012), η ανίχνευση θρεπτικών συστατικών (Yang et al., 2008), ο μεταβολισμός (Yi et al., 2012), η δυναμική των μιτοχονδρίων (Pekkurnaz, et al 2014) καθώς και η αυτοφαγία (Guo et al., 2014).

1.5.4.12 Ρόλος της β-N-γλυκοζύλιωσης σε ασθένειες

Επί του παρόντος, ο καίριος ρόλος της β-N-γλυκοζύλιωσης στις μεταβολικές διαταραχές και η συσχέτιση της με νοσήματα νευρικού συστήματος είναι αδιαμφισβήτητος. Όσον αφορά τον καρκίνο, η β-N-γλυκοζύλιωση συμμετέχει μέσω μιας ευρείας γκάμας μηχανισμών μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η προσκόλληση, η μετανάστευση και ο μεταβολικός επαναπρογραμματισμός (Dehennaut et al., 2014).

1.5.4.13 Καρβονυλίωση

Η καρβονυλίωση αποτελεί μια μη αναστρέψιμη, μη ενζυματική μετα-μεταφραστική τροποποίηση των ιστονών. Οι καρβονυλομαδες που συνδέονται με τις πρωτεΐνες δημιουργούνται μέσω απ' ευθείας οξείδωσης των αμινοξικών καταλοίπων από τις δραστικές ρίζες οξυγόνου (Sharma et al., 2006). Αυτές οι τροποποιήσεις λαμβάνουν χώρα κυρίως σε βασικά αμινοξικά κατάλοιπα συμπεριλαμβανομένης της αργινίνης και της λυσίνης.

Η καρβονυλίωση στις ιστόνες μπορεί να επικαλύψει τα θετικά φορτία και να προκαλέσει έτσι το πιο χαλαρό πακετάρισμα της χρωματίνης επηρεάζοντας και την συσσώρευση των μεταγραφικών παραγόντων. Αν και λίγα πράγματα είναι γνωστά για την καρβονυλίωση των ιστονών, μια από τις πιο πιθανές εξηγήσεις είναι πως ο χρόνος ημιζωής των πρωτεϊνών αυτών εντός των μη πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων κυμαίνεται μεταξύ

τεσσάρων και πέντε μηνών (Commerford et al., 1982) και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι αποτελεί μια μη αντιστρεπτή τροποποίηση, μπορεί να παρατηρηθεί συσσώρευση καρβονυλομάδων στις ιστόνες.

1.5.4.14 Κιτρουλλινίωση

Η μετα-μεταφραστική διαδικασία της κιτρουλλινοποίησης (απαμίνωσης) διαμεσολαβείται από απαμινάσες της πεπτιδυλ-αργινίνης (PAD), οι οποίες μετατρέπουν την πεπτιδυλ-αργινίνη σε πεπτιδυλ-κιτρουλλίνη παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων ασβεστίου. Υπάρχουν 5 διαφορετικές ισομορφές της PAD (PAD1-4, PAD6), οι οποίες εμφανίζουν ειδικότητα ανά ιστό και υπόστρωμα (Spengler et al 2014). Την τελευταία δεκαετία, οι PAD και η κιτρουλλινοποίηση των πρωτεϊνών έχουν ενοχοποιηθεί ευρέως ως παθολογικά χαρακτηριστικά νευροεκφυλιστικών νοσημάτων και φλεγμονωδών αποκρίσεων που σχετίζονται με νόσους όπως είναι η σκλήρυνση κατά πλάκας (Mastronardi), η νόσος του Alzheimer και η ρευματοειδής αρθρίτιδα (Jung et al., 2013; Spengler, J).

1.5.4.15 Ρόλος της Κιτρουλλινίωσης στις ασθένειες

Η έρευνα της επιστημονικής ομάδας του Tanikawa και των συνεργατών του αποκάλυψε ότι τα επίπεδα της cit-H4R3 συσχετίζονται αρνητικά με την έκφραση της πρωτεΐνης p53 αλλά και το μέγεθος των όγκων σε μη-μικροκυτταρικό καρκίνωμα του πνεύμονα. Τα ευρήματα τους έδειξαν ότι η cit-H4R3 μπορεί να αποτελεί μια αποπτωτική μεταμεταφραστική τροποποίηση του ιστονικού κώδικα ώστε να εντοπίζονται τα κύτταρα που έχουν υποστεί βλάβες και να επάγει την θραυσματοποίηση του πυρήνα, γεγονός πολύ σημαντικό κατά την καρκινογένεση (Tanikawa et al 2012).

1.5.4.16 ADP-ριβοζυλίωση

Η ADP-ριβοζυλίωση αποτελεί μια μετα-μεταφραστική τροποποίηση που ανακαλύφθηκε πριν από περίπου 50 χρόνια. Στις αρχές της δεκαετίας του 1960, οι Collier, Honjo και οι συνεργάτες τους βρήκαν ότι η τοξίνη της διφθερίτιδας απαιτούσε NAD^+ για να αναστείλει την πρωτεϊνσύνθεση στα θηλαστικά. Οι αντιδράσεις που καταλύονται από μια ομάδα ενζύμων που καλούνται ATP-ριβοζυλοτρανσφεράσες (ARTs) τα οποία μεταφέρουν μονές ή πολλαπλές ADP-ριβόζες από το NAD^+ στους στόχους τους όπως είναι οι πρωτεΐνες, τα νουκλεοτίδια, τα αντιβιοτικά και άλλα μικρά μόρια (Hass et al., 2006). Οι ιστόνες υπόκεινται σε αυτήν την τροποποίηση μέσω του ενζύμου ADP-ριβοζυλοτρανσφεράση 1 που ομοιάζει με την τοξίνη της διφθερίτιδας, σε συγκεκριμένα αμινοξικά κατάλοιπα και πιο ειδικά σε

λυσίνες των ιστονικών ουρών οι οποίες εμπλέκονται σε σημαντικές διαδικασίες όπως ο κυτταρικός κύκλος, η απόκριση σε βλάβες του DNA, η αντιγραφή και η μεταγραφή.

Ειδικές ADP-ριβόζυλοϋδρολάσες και πολύ-ADP-ριβοζυλο γλυκοϋδρολάσες αποικοδομούν τα πολυμερή της ADP-ριβόζης. Η τροποποίηση αυτή αναγνωρίζεται από τις ειδικές μακροεπικράτειες δακτυλίου ψευδαργύρου που σχηματίζουν και είναι ικανές να ρυθμίζουν την δομή της χρωματίνης και κατά συνέπεια την μεταγραφή. Δηλαδή, η ADP-ριβοζυλίωση των ιστονών μπορεί να θεωρηθεί ως ένα επιπρόσθετο στοιχείο του ιστονικού κώδικα (Hottiger et al., 2011).

1.5.4.17 Βιοτινυλίωση

Οι ιστόνες μπορούν να τροποποιηθούν και με την προσθήκη βιοτίνης. Ο Hymes το 1995 πρότεινε ένα μηχανισμό για την αντίδραση μέσω της οποίας γίνεται η μετατροπή της βιοκυτίνης (βιοτιν-ε-λυσίνη), από την βιοτινιδάση, στο ενδιάμεσο μόριο βιοτινυλ-θειοεστέρα (βιοτίνη που δεσμεύεται σε κυστεΐνη) (Hymes et al., 1995) κοντά ή ακριβώς στο ενεργό κέντρο της βιοτινιδάσης (Zempleni et al., 2005).

Οι βιοτινυλιωμένες ιστόνες εντοπίστηκαν σε κύτταρα λεμφώματος (Manthey et al., 2002), σε κύτταρα μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα (Sceerger et al., 2003) και κύτταρα χοριοκαρκινώματος (Crisp et al., 2004). Οι μελέτες αυτές έδειξαν ότι η βιοτινιδάση μπορεί να μην είναι το μόνο ένζυμο που μεσολαβεί την βιοτινυλίωση. Για παράδειγμα, η βιοτινυλίωση των ιστονών παρατηρήθηκε να αυξάνεται κατά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ενώ η ενεργότητα της βιοτινιδάσης δεν μεταβαλλόταν ανάμεσα στα πολλαπλασιαζόμενα και μη κύτταρα (Stanley et al., 2001). Τελικά, ο Narang και οι συνεργάτες του ταυτοποίησαν ένα άλλο ένζυμο που καταλύει αυτήν την αντίδραση βιοτινυλίωσης, την ολοκαρβοξυλική συνθετάση.

Ο μηχανισμός της αποβιοτινυλίωσης των ιστονών παραμένει άγνωστος. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι το ίδιο ένζυμο, η βιοτινιδάση είναι αυτή που καταλύει και τις δύο αντιδράσεις (Ballard et al., 2002).

Η βιοτινυλίωση των ιστονών θεωρείται ένα πολύ νέο πεδίο έρευνας. Τα δεδομένα που συνδέουν την τροποποίηση αυτή με βιολογικές διαδικασίες είναι ελάχιστα. Όμως η βιοτινυλίωση των ιστονών αυξάνει κατά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό στα ανθρώπινα λεμφοκύτταρα (Stanley et al., 2001). Επιπλέον, τα επίπεδα βιοτινυλίωσης αυξάνονται στα πρώτα στάδια του κυτταρικού κύκλου (φάση G1) και παραμένουν αυξημένα στις μεταγενέστερες φάσεις (S, G2, M φάση). Οι έρευνες σε ερυθροκύτταρα πουλερικών έδωσαν σημαντική πληροφορία για τις βιοτινυλιωμένες ιστόνες και για τον πιθανό ρόλο τους στην απόκριση βλαβών στο DNA (Peters et al., 2002).

1.5.4.18 Κροτονυλίωση

Η κροτονυλίωση της λυσίνης (Kcr) μια πρωτότυπη ιστονική τροποποίηση, ανακαλύφθηκε το 2011 (Tan et al., 2011). Η χημική ομάδα του κροτονυλίου (C_4H_5O) είναι πολύ πιθανό να μεταφέρεται από το κροτονυλο-συνένζυμο Α στην ε-αμινομάδα του καταλοίπου λυσίνης «στόχου». Ο Tan και η ομάδα του, ταυτοποίησαν 28 θέσεις κροτονυλίωσης στα ανθρώπινα κύτταρα και συγκεκριμένα στις αμινοτελικές, στις καρβοξυτελικές και τις σφαιρικές επικράτειες των συνδετικών ιστονών και σε 4 πυρηνικές ιστόνες. Η κροτονυλίωση της λυσίνης είναι μια εξελικτικά συντηρημένη διαδικασία τροποποίησης που συναντάται από τον σακχαρομύκητα μέχρι και τα θηλαστικά. Έχει συνδεθεί με την ενεργοποίηση της χρωματίνης και την ύπαρξη της σε περιοχές με υποκινητές και ενισχυτές γονιδίων στα ανθρώπινα σωματικά κύτταρα.

Ο Sabari και οι συνεργάτες του έδειξαν πως η ακετυλοτρανσφεράση των ιστονών (HAT) p300 διαθέτει και ενεργότητα κροτονυλοτρανσφεράσης (HCT). Χρησιμοποιώντας τεχνικές χωρίς χρήση κυττάρων έδειξαν ότι η κροτονυλίωση μέσω της p300 επηρεάζει και ρυθμίζει την μεταγραφή σε μεγαλύτερο βαθμό μάλιστα απ' ό,τι η ακετυλίωση με την ίδια ακετυλοτρανσφεράση. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα να αποκαλυφθεί η διπλή ενζυματική δράση της p300 και ναδειχθεί πως οι δύο ενεργότητες επηρεάζονται από το ισοζύγιο κροτονυλο-συνενζύμου Α των κυττάρων (Sabari et al., 2015).

Δύο χρόνια αργότερα, η ομάδα του Wei παρουσίασε αποδείξεις ότι οι αποακετυλάσες τάξης I των ιστονών (HADCs) είναι οι κύριες αποκροτονυλάσες των ιστονών και όχι αυτές που ανήκουν στην οικογένεια των σιρτουϊνών. Ως εκ τούτου, η κροτονυλίωση των ιστονών είναι μια δυναμική διαδικασία στα κύτταρα των θηλαστικών όπως η ακετυλίωση τους (Wei et al., 2017).

1.5.4.19 Ισομερισμός προλίνης

Ο ισομερισμός των πρωτεϊνών είναι γνωστός ήδη από το 1968 (Tanford et al., 1968), αλλά ο ισομερισμός των ιστονών παρατηρήθηκε πρώτη φορά το 2006 (Nelson et al., 2006). Παρ' όλο που ο ισομερισμός λαμβάνει χώρα σποραδικά, πολλά ένζυμα μπορούν να επιταχύνουν την δημιουργία των ισομερών προλίνης. Οι ισομεράσες προλίνης μπορούν να διακριθούν σε τρεις κατηγορίες, τις παρβουλίνες (Pin 1), τις κυκλοφιλίνες και τις πρωτεΐνες που προσδένονται στην FK506 (Gothel & Marahiel, 1999). Έχει αποδειχθεί πως η προλίνη του αμινοτελικού άκρου των ιστονών μπορεί να αποκτήσει δύο διαφορετικές στερεοδιατάξεις, την *cis* και την *trans*, που επηρεάζουν τη δευτεροταγή δομή της ουράς. Ο ισομερισμός της προλίνης μπορεί λοιπόν να επηρεάσει την διαμόρφωση, να ρυθμίσει την πρωτεϊνική ενεργότητα, το προφίλ φωσφορυλίωσης, τις αλληλεπιδράσεις πρωτεΐνης-πρωτεΐνης, την κυτταρική τοπολογία και την σταθερότητα. Ο ισομερισμός αυτός δρα ως παροδικός μηχανισμός ρύθμισης για μια ποικιλία πρωτεϊνών, όπως οι κυκλινο-εξαρτώμενες κινάσες, η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53 (Theuerkorn et al., 2011), οι μεταγραφικοί παράγοντες c-Jun και c-Fos, οι ιστόνες H3 και η κινάση JNK (Park et al., 2012).

1.5.4.20 Προπιονυλίωση και Βουτυρυλίωση

Οι δύο νέες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις, αυτή της προπιονυλίωσης της λυσίνης και αυτή της βουτυρυλίωσης, ανακαλύφθηκαν *in vivo* σε ιστόνες H4 (Chen et al., 2007). Η ίδια ομάδα ταυτοποίησε τις δυο ακετυλοτρανσφεράσες p300 και CBP (CREB-binding protein), που χρησιμοποιούν προπιονυλ-ακετυλοσυνένζυμο Α ή το βουτυρυλ-συνένζυμο Α ως υπόστρωμα για να καταλύσουν την αντίστοιχη αντίδραση στις ιστόνες *in vitro*.

Η προπιονυλίωση και η βουτυρυλίωση πιθανώς να σχετίζονται με την μεταβολική κατάσταση στην οποία βρίσκεται το κύτταρο και να ελέγχουν την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με την διαχείριση/μεταβολισμό της ενέργειας.

1.6 Ο ιστονικός κώδικας

Το 2000, ο Strahl και η Allis πρότειναν την λεγόμενη υπόθεση του ιστονικού κώδικα, η οποία αναφέρει πως «οι πολλαπλές ιστονικές τροποποιήσεις, δρουν με τρόπο συνδυαστικό ή σαν αλληλουχία γεγονότων σε μια ή περισσότερες ιστονικές ουρές, έχοντας μειωρυθμιστική λειτουργία στην γονιδιακή έκφραση» (Strahl & Allis, 2000). Αυτό το συμπέρασμα προέκυψε από την παρατήρηση ότι η φωσφορυλίωση της σερίνης 10 της ιστόνης H3 (H3S10) μπορεί να σχετίζεται με αντίθετες λειτουργίες της χρωματίνης (π.χ. αποσυμπύκνωση της χρωματίνης κατά την μεταγραφή και συμπύκνωση της κατά την μίτωση) (Bradbury et al., 1992). Από την ανάλυση αυτού και των άλλων μεταμεταφραστικών τροποποιήσεων, των οποίων το αποτέλεσμα είναι γνωστό, ήταν πολύ λογικό να καταλήξουμε στο ότι οι τροποποιήσεις αυτές μπορεί να δρουν είτε ως μονήρη γεγονότα είτε ως συνδυασμός αυτών (σε μία ή σε πολλές ιστονικές ουρές), καταλήγοντας κάθε φορά σε άλλο αποτέλεσμα. Θεωρήθηκε λοιπόν πως σε συνέχεια των όσων γνωρίζαμε για τις άμεσες συνέπειες των τροποποιήσεων στη δομή της χρωματίνης (όπως για παράδειγμα η ακετυλίωση της λυσίνης που μετατρέπει το φορτίο του αμινοξέος αυτού από θετικό σε αρνητικό) (Shogren-Knaak et al., 2006), οι PTMs μπορεί να λειτουργούν μέσω της επιλεκτικής στρατολόγησης των readers και των effectors σαν έμμεσο μήνυμα για την επαγωγή άλλων φαινομένων στη δομή της χρωματίνης.

Αυτή η υπόθεση του ιστονικού κώδικα προτείνει πολλαπλά επίπεδα ρύθμισης της επεξεργασίας του γονιδιώματος. Αρχικά η εγκαθίδρυση της ομοιόστασης ενός συστήματος ρύθμισης με πολλαπλά μοτίβα σε ένα δεδομένο κυτταρικό ή αναπτυξιακό στάδιο, που βασίζεται στη λειτουργία «γραφής» και «αποκοπής» στοιχείων θα πρέπει να πραγματοποιείται από εξειδικευμένα ένζυμα. Έπειτα, απαιτείται ειδικότητα και ακρίβεια στο «διάβασμα» του συγκεκριμένου κώδικα. Αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια των πρωτεϊνών που ανήκουν στην κατηγορία των readers ή των effectors οι οποίες προσδένονται

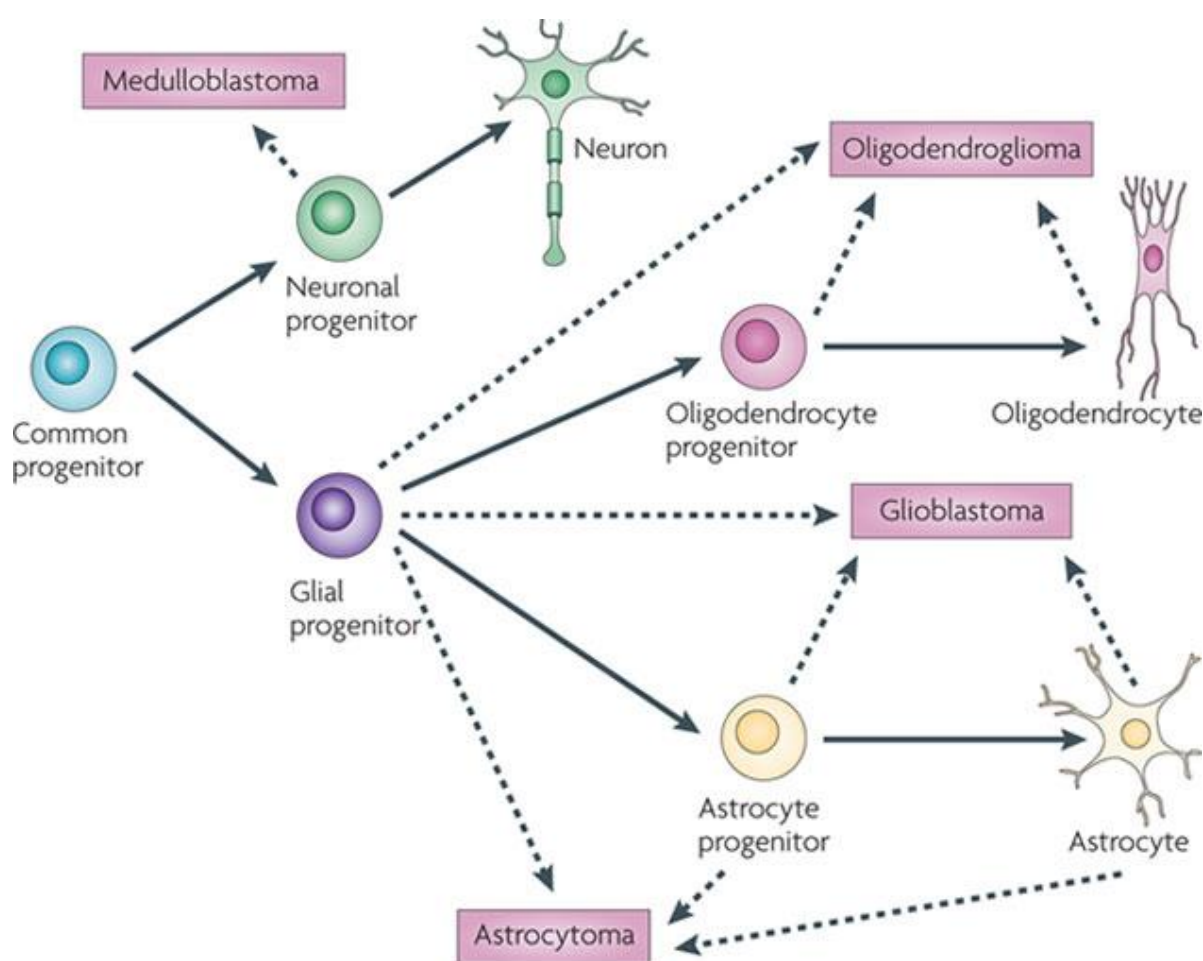
πάνω σε τροποποιήσεις ή στο συνδυασμό τους και μεταφράζουν την πληροφορία αυτή. Έτσι το βιολογικό συμπέρασμα αυτής της αναγνώρισης αποφέρει και την αντίστοιχη ανταπόκριση, όπως η μεταγραφική ενεργοποίηση ή αναστολή, ακόμη και πιο πολύπλοκες κυτταρικές διεργασίες (Jenuwein et al., 2001).

Όλοι αυτοί οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί λειτουργούν άριστα με σκοπό την επιγενετική ανάλυση που καθορίζει και την ανταπόκριση του κυττάρου ανάλογα με το στάδιο στο οποίο βρίσκεται (εμβρυογένεση, ανάπτυξη κλπ.). Ο απώτερος στόχος είναι η αρμονική ρύθμιση της έκφρασης του γενετικού υλικού σε συγκεκριμένους γενετικούς τόπους σε απόκριση στις βλάβες του DNA ή σε άλλες βιολογικές διαδικασίες που εμπλέκουν τη διπλή έλικα (Chi et al., 2010).

Στα πλαίσια της ογκογένεσης ή της επιγενετική του καρκίνου, μπορεί να υποτεθεί πως οι αλλαγές στο ισοζύγιο μεταξύ επιγενετικής ενεργοποίησης και καταστολής των γονιδίων επιφέρουν αναποτελεσματική ή λανθασμένη έκφραση ή καταστολή γονιδίων. Αποτέλεσμα αυτών, είναι η απώλεια της κυτταρικής ταυτότητας και αν αυτό συμβεί σε συγκεκριμένα αναπτυξιακά στάδια του κυττάρου, πιθανόν να καταλήξει σε λάθος αποφάσεις από τον πολλαπλασιασμό στην γήρανση ή/ και την διαφοροποίηση κατά τη διάρκεια της ογκογένεσης (Chi et al., 2010).

2. ΓΛΟΙΩΜΑ

Τα γλοιώματα είναι οι συνηθέστεροι πρωτοπαθείς ενδοκρανιακοί όγκοι στα ενήλικα άτομα. Τα γλοιώματα ορίζονται παθολογοανατομικά ως όγκοι που παρουσιάζουν ιστολογικά και ανοσοϊστοχημικά στοιχεία διαφοροποίησης της γλοίας (Maher et al., 2001). Τα περισσότερα γλοιώματα (εικάζεται ότι προέρχονται είτε από ώριμα κύτταρα της γλοίας είτε από λιγότερο διαφοροποιημένα προγονικά κύτταρα), (**Εικόνα 8**) διηθούν διάχυτα τον περιβάλλοντα ιστό του εγκεφάλου και μαζί απαρτίζουν μία ευρεία διαγνωστική ομάδα, την οποία ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) διαχωρίζει στις εξής κατηγορίες: αστροκύττωμα, ολιγοδενδρογλοίωμα, γλοιοβλάστωμα και μεικτή κατηγορία (ολιγοαστροκύττωμα) (Louis et al., 2007; Louis et al., 2016).



Nature Reviews | Cancer

Εικόνα 8 | Το δέντρο της νευρογλοιακής σειράς. Αυτό-ανανεώσιμα, κοινά προγονικά κύτταρα θεωρούνται ότι παράγουν προγονικά κύτταρα για τους νευρώνες και τη γλοία, τα οποία εν τέλει διαφοροποιούνται σε ώριμους νευρώνες, αστροκύτταρα και ολιγοδενδροκύτταρα. Παρότι τα ακριβή κύτταρα προέλευσης των ποικίλων μορφών του διάχυτου γλοιώματος και του μυελοβλαστώματος παραμένουν άγνωστα σε μεγάλο βαθμό, για το καθένα από αυτά υποδεικνύεται μία σειρά πιθανών υποψηφίων (βέλη με διακεκομμένη γραμμή) (Huse et al., 2009)

Επιπλέον, η παρουσία ιστολογικών χαρακτηριστικών, όπως είναι η πυρηνική ατυπία, ο αυξημένος πολλαπλασιασμός, η μικροαγγειακή υπερπλασία και η νέκρωση, κατά κανόνα έχει ως αποτέλεσμα την ταξινόμηση σε όγκο υψηλότερου βαθμού, είτε ως αναπλαστικό γλοίωμα, είτε ως γλοιοβλάστωμα. Το γλοιοβλάστωμα είναι η περισσότερη κακοήθης και η συχνότερη μορφή διάχυτου γλοιώματος. Μολονότι η αξιόπιστη έκφραση πρωτεϊνικών δεικτών, όπως είναι η ινώδης όξινη πρωτεΐνη της γλοίας (glial fibrillary acid protein, GFAP) έχει θέσει το γλοιοβλάστωμα στο πλαίσιο του αστροκυττώματος, και παρά την αξιοσημείωτη πρόοδο στην κατανόηση της βασικής βιολογίας του, η ακριβής ιστογένεσή του παραμένει ασαφής (Ohgaki et al., 2004).

2.1 Ταξινόμηση του γλοιώματος και ιστορική αναδρομή

Η διεθνής ταξινόμηση των ανθρώπινων όγκων, που έχει δημοσιευτεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), ξεκίνησε με την απόφαση του Εκτελεστικού Συμβουλίου του WHO το 1956 και της Παγκόσμιας Συνέλευσης Υγείας το 1957. Οι στόχοι τους παραμένουν ίδιοι μέχρι σήμερα: να καθιερωθεί μία ταξινόμηση και βαθμονόμηση των ανθρώπινων όγκων, η οποία θα είναι ευρέως αποδεκτή και θα χρησιμοποιείται παγκοσμίως.

Η **πρώτη έκδοση** σχετικά με τον προσδιορισμό του ιστολογικού τύπου των όγκων του νευρικού συστήματος δημοσιεύτηκε το **1979** (Zülch et al., 1979). Η **δεύτερη έκδοση** αποτύπωσε την πρόοδο που έφερε η εισαγωγή της ανοσοϊστοχημείας στη διαγνωστική παθολογοανατομία και δημοσιεύτηκε το **1993** (Kleihues et al., 1993). Η **τρίτη έκδοση** δημοσιεύτηκε το **2000** (Kleihues, Cavenee et al., 2000) και ενσωμάτωσε το γενετικό προφίλ ως επιπρόσθετη βοήθεια για τον προσδιορισμό των εγκεφαλικών όγκων. Σε αντίθεση με τα προηγούμενα «μπλε βιβλία του Π.Ο.Υ» (“WHO Blue Books”) (όπως συχνά αποκαλείται η σειρά), η τρίτη έκδοση περιλάμβανε ενότητες αναφορικά με την επιδημιολογία, τα κλινικά σημεία και συμπτώματα, την απεικόνιση και την πρόγνωση. Σε όλη τη σειρά των βιβλίων, η ταξινόμηση βασίστηκε στην ομοφωνία μίας διεθνούς ομάδας εργασίας. Το ίδιο ισχύει στην **τέταρτη έκδοση**: μία ομάδα 25 παθολογοανατόμων και γενετιστών συγκλήθηκε στο Γερμανικό Κέντρο Έρευνας για τον Καρκίνο (DKFZ) στη Χαϊδελβέργη, τον Νοέμβριο του 2006, και τα αποτελέσματα των διαβουλεύσεων αυτών καθώς και επιπλέον 50 ατόμων που συμμετείχαν, περιέχονται στην ταξινόμηση των όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) κατά WHO, 2007 (Louis et al., 2007).

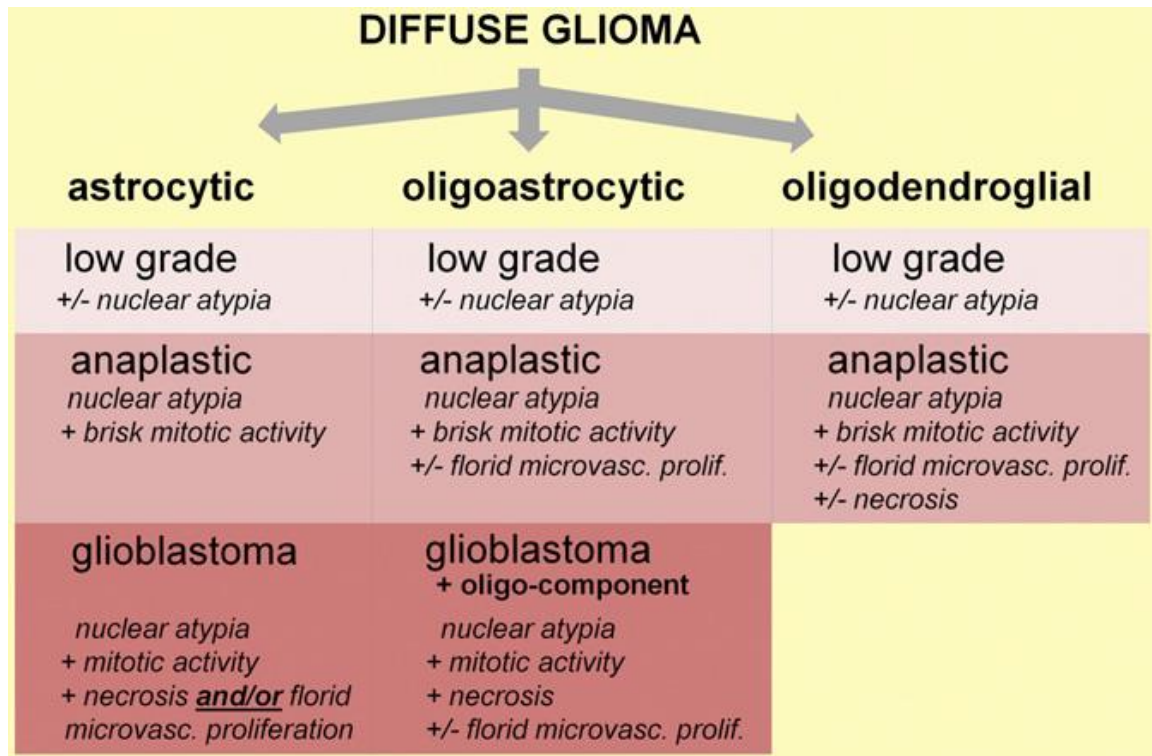
Όπως αναφέρεται στην **τέταρτη έκδοση κατά WHO 2007**, τα γλοιώματα ταξινομούνται ανάλογα με την υποτιθέμενη γραμμή διαφοροποίησης, δηλαδή, με την παρουσία γνωρισμάτων αστροκυττάρων, ολιγοδενδροκυττάρων ή επενδυματικών κυττάρων. Στη συνέχεια βαθμολογούνται σε μία κλίμακα από I έως IV ανάλογα με το βαθμό της κακοήθειας, όπως αυτή κρίνεται βάσει ποικίλων ιστολογικών χαρακτηριστικών. Σε αντίθεση με άλλους συμπαγείς όγκους, τα γλοιώματα σπάνια μεταναστεύουν εκτός του ΚΝΣ, και ως εκ τούτου ο βαθμός κακοήθειας του όγκου είναι ο πρωταρχικός παράγοντας που καθορίζει την κλινική έκβαση. Οι όγκοι βαθμού κακοήθειας I είναι βιολογικά

καλοήθεις και μπορούν να θεραπευτούν χειρουργικά εφόσον κριθούν εγχειρήσιμοι τη χρονική στιγμή της διάγνωσης. Οι όγκοι βαθμού κακοήθειας II αποτελούν κακοήθειες χαμηλού βαθμού, οι οποίες μπορεί να ακολουθήσουν μία μακροχρόνια κλινική πορεία αλλά δεν είναι ιάσιμες με χειρουργική επέμβαση. Οι όγκοι βαθμού κακοήθειας III είναι επιθετικοί όγκοι και οδηγούν σε θάνατο σε χρονικό διάστημα λίγων ετών. Οι όγκοι βαθμού κακοήθειας IV είναι συνήθως ανθεκτικοί στη χημειοθεραπεία, και θανατηφόροι σε χρονικό διάστημα 9-12 μηνών. Εβδομήντα τοις εκατό των γλοιωμάτων βαθμού II εξελίσσονται σε όγκους βαθμού III και IV εντός 5-10 ετών από τη διάγνωση και έκτοτε συμπεριφέρονται κλινικά όπως οι όγκοι υψηλότερου βαθμού κακοήθειας. Τα συνήθη γλοιώματα που προσβάλλουν τα ημισφαίρια του εγκεφάλου των ενηλίκων ονομάζονται διάχυτα γλοιώματα λόγω της τάσης που έχουν να διηθούν ολόκληρο τον εγκέφαλο. Αυτή η διηθητική φύση είναι ένα από τα κύρια γνωρίσματα των κακοηθών γλοιωμάτων και έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία της χειρουργικής επέμβασης να θεραπεύσει τους ασθενείς, ακόμα και όταν οι βλάβες είναι εμφανείς σε περιοχές όπου είναι δυνατή η ευρεία χειρουργική εκτομή. Η ακτινοθεραπεία βελτιώνει τη συνολική επιβίωση για τους όγκους οποιουδήποτε βαθμού κακοήθειας, ωστόσο δεν έχει σημειωθεί πλήρης ίαση. Τα αστροκυττώματα ταξινομούνται ακολούθως ως πιλοκυτταρικό αστροκύττωμα - βαθμού I, αστροκύττωμα - βαθμού II, αναπλαστικό αστροκύττωμα - βαθμού III, και γλοιοβλάστωμα - βαθμού IV. Τα ολιγοδενδρογλοιώματα και τα ολιγοαστροκυττώματα βαθμολογούνται ακολούθως ως βαθμού II ή αναπλαστικά, βαθμού III. Τέτοιου είδους ταξινόμηση σχετίζεται με την παρουσία ιστολογικών χαρακτηριστικών κακοήθειας, όπως υψηλής κυτταροβρίθειας, κυτταρικού ή πυρηνικού πλειομορφισμού, μιτωτικής δραστηριότητας, μικροαγγειακής υπερπλασίας, και νέκρωσης (**Πίνακας 10**) (Maher et al., 2001).

Πίνακας 10. Ταξινόμηση κατά WHO με βάση τα ιστολογικά κριτήρια κακοήθειας (Maher et al., 2001)

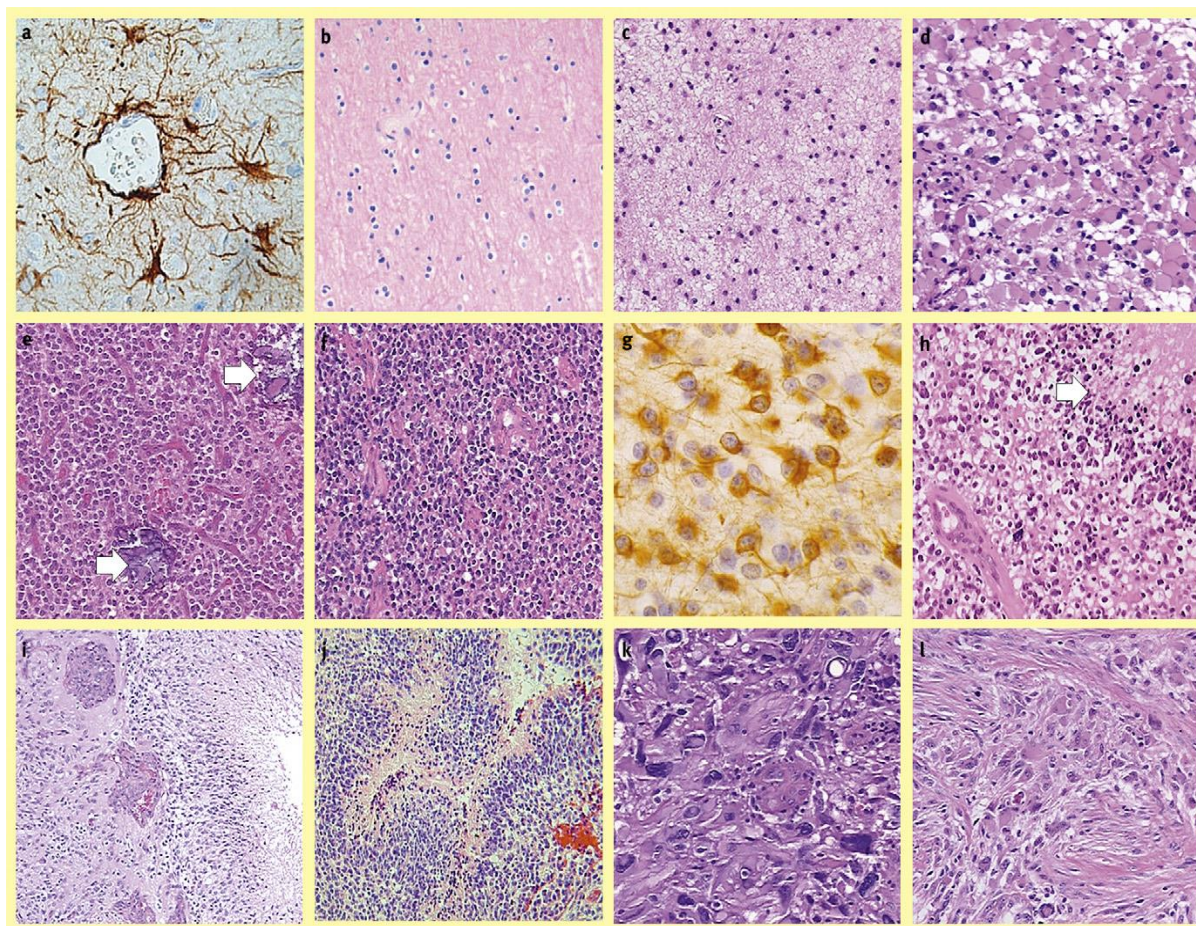
Βαθμός κακοήθειας κατά WHO	Παράδειγμα	Κριτήρια
I	Πυλοκυτταρικό αστροκύττωμα Επενδύωμα/υποεπενδύωμα	Βραδέως πολλαπλασιαζόμενος, διακριτός, μη διηθητικός όγκος
II	Διάχυτο αστροκύττωμα Θηλώδες, κυτταρικό επενδύωμα	Μετρίως πολλαπλασιαζόμενος, μερικώς διηθητικός όγκος
III	Αναπλαστικό αστροκύττωμα Αναπλαστικό επενδύωμα	Ταχέως πολλαπλασιαζόμενος, διηθητικός όγκος
IV	Πολυμορφικό γλοιοβλάστωμα Ιδιαίτερα κακοήθες ομοιάζουν με γλοίωμα πινεοβλάστωμα και μυελοβλάστωμα	Τάχιστα πολλαπλασιαζόμενος, ιδιαίτερα διηθητικός όγκος

Για τη ταξινόμηση των διάχυτων γλοιωμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τα εξής ιστολογικά χαρακτηριστικά: πυρηνική ατυπία, μιτωτική δραστηριότητα, νέκρωση, και σημαντική μικροαγγειακή υπερπλασία (MVP) (Εικόνα 9). Το διάχυτο αστροκυτταρικό νεόπλασμα χωρίς έντονη μιτωτική δραστηριότητα, νέκρωση ή έντονη MVP διαγιγνώσκεται ως διάχυτο αστροκύττωμα χαμηλού βαθμού, ανεξάρτητα από το βαθμό της πυρηνικής ατυπίας. Όταν ο όγκος παρουσιάζει έντονη μιτωτική δραστηριότητα, τίθεται η διάγνωση αναπλαστικού αστροκυττώματος. Η παρουσία νέκρωσης και/ή έντονης MVP οδηγεί στη διάγνωση γλοιοβλαστώματος. Συχνά, η νέκρωση σε αυτούς τους όγκους αποτελείται από ακανόνιστες, ημισφαιρικού σχήματος εστίες, που περιβάλλονται από μικρά καρκινικά κύτταρα διατεταγμένα με μεγάλη πυκνότητα και ελαφρώς ακτινωτό προσανατολισμό (ψευδοπασαλιδωτή νέκρωση) (Wesseling et al., 2011).



Εικόνα 9. Μικροσκοπικά κριτήρια για τη ταξινόμηση των διάχυτων γλοιωμάτων. Χρησιμοποιώντας αυτό το σύστημα, μπορεί να αποδοθεί ένας βαθμός κακοήθειας στα περισσότερα δείγματα διάχυτου γλοιώματος με σαφή προγνωστική συνάφεια. Ωστόσο, οι ορισμοί αυτών των κριτηρίων δεν είναι αρκετά ακριβείς ώστε να επιτρέπουν αδιαμφισβήτητη, αναπαραγωγική ταξινόμηση όλων των νεοπλασμάτων. (Wats Colin et al 2013)

Στην **Εικόνα 10** παρατίθενται παραδείγματα της ιστολογίας διάχυτων αστροκυτταρικών, олиοδενδρογλοιακών, και олиο-αστροκυτταρικών όγκων χαμηλού και υψηλού βαθμού κακοήθειας (Wesseling et al., 2011).



Εικόνα 10 Παραδείγματα μικροσκοπικών γνωρισμάτων διάχυτων γλοιωμάτων και μη νεοπλασματικών κυττάρων της γλοίας: (a) θετικά για την GFAP αντιδρώντα αστροκύτταρα, (b) ολιγοδενδροκύτταρα σε φυσιολογική λευκή ουσία, (c) διάχυτο (ινώδες) αστροκύττωμα χαμηλού βαθμού, (d) γεμιστοκυτταρικό αστροκύττωμα, (e) ολιγοδενδρογλοίωμα χαμηλού βαθμού κακοήθειας (τα βέλη υποδεικνύουν ασβεστώσεις), (f) αναπλαστικό ολιγοδενδρογλοίωμα, (g) χρώση της GFAP μινιγεμιστοκυττάρων και ινωδών κυττάρων της γλοίας σε ολιγοδενδρογλοιακό όγκο, (h) γλοιοβλάστωμα με παρουσία ολιγοδενδροκυττάρων (το βέλος υποδεικνύει ψευδοπασαλιωτή νέκρωση), (i) γλοιοβλάστωμα με έντονη/σπειραματοειδή μικροαγγειακή υπερπλασία και ψευδοπασαλιωτή νέκρωση, (j) παραλλαγή μικροκυτταρικού γλοιοβλαστώματος με ψευδοπασαλιωτή νέκρωση, (k) γλοιοβλάστωμα γιγαντιαίου κυττάρου, (l) γλοιοσάρκωμα. Όλες οι εικόνες παρουσιάζουν χρώση αιματοξυλίνης και ηωσίνης με μεγέθυνση x200, εκτός των περιπτώσεων a, g (χρώση GFAP, μεγέθυνση x400) (Wesseling et al., 2011).

Μελέτες που έχουν διεξαχθεί τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν αποσαφηνίσει τη γενετική βάση της ογκογένεσης, συμβάλλοντας στην ταξινόμηση των συγκεκριμένων όγκων. Ορισμένες από αυτές τις γενετικές τροποποιήσεις ήταν ήδη γνωστές από την ταξινόμηση όγκων του ΚΝΣ κατά WHO (2007), παρέχοντας προγνωστικής αξίας δεδομένα ή δεδομένα πρόβλεψης σε διαγνωστικές κατηγορίες που είχαν εδραιωθεί με τη χρήση της συμβατικής ιστολογίας.

Το 2014 πραγματοποιήθηκε μία συνάντηση στο Haarlem της Ολλανδία, υπό την αιγίδα της Διεθνούς Ένωσης Νευροπαθολογοανατομίας (International Society of Neuropathology), η οποία θέσπισε κατευθυντήριες οδηγίες για τον τρόπο με τον οποίο θα μπορούσαν να ενσωματωθούν τα μοριακά ευρήματα στη διάγνωση των εγκεφαλικών όγκων. Με αυτόν τον τρόπο τέθηκε στο προσκήνιο η ανάγκη αναθεώρησης της

ταξινόμησης όγκων του ΚΝΣ κατά WHO, 2007. Δεδομένα από ποικίλες μελέτες έχουν δείξει ότι η μοριακή ταξινόμηση των γλοιωμάτων συνδυαστικά με την ιστολογική ταξινόμηση σχετίζεται με την κλινική έκβαση των ασθενών (Cancer Research Genome Atlas Network 2015).

Η τρέχουσα ενημέρωση (**ταξινόμηση των όγκων του ΚΝΣ κατά WHO, 2016**) ενσωματώνει στη διάγνωση μοριακές παραμέτρους για την ταξινόμηση των ογκολογικών οντοτήτων του ΚΝΣ πέρα από τη μικροσκοπική ανάλυση (Louis et al., 2016). **Εικόνα 11.**

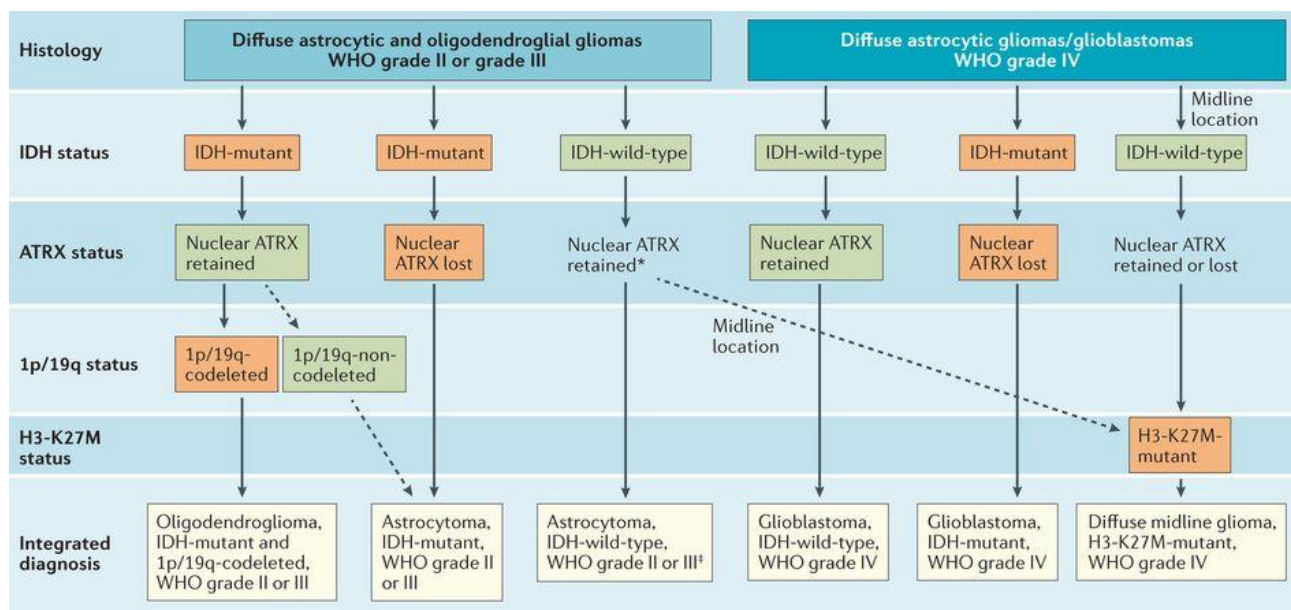
Σύμφωνα με την ταξινόμηση των όγκων του ΚΝΣ κατά WHO, 2016 (Luis et al., 2016) ακολουθείται μια πολυεπίπεδη προσέγγιση για την ταξινόμηση του γλοιώματος. Συνδυάζοντας τρία επίπεδα πληροφοριών, που προέρχονται από τον όγκο, καθορίζεται η τελική («ανώτερο επίπεδο») ενσωματωμένη διάγνωση, ως εξής:

- Ανώτατο επίπεδο: Τελική (ενσωματωμένη) διάγνωση, η οποία συμπεριλαμβάνει όλες τις πληροφορίες που βασίζονται στον ιστό
- Επίπεδο 3: Μοριακές πληροφορίες (αποτελέσματα μοριακής εξέτασης για διαγνωστικούς βιοδείκτες)
- Επίπεδο 2: Ιστολογικός βαθμός κακοήθειας του όγκου (grade κατά WHO)
- Επίπεδο 1: Ιστολογικός τύπος του όγκου

Για παράδειγμα, οι όγκοι του ιστολογικού υποτύπου «ολιγοδενδρογλοίωμα» (επίπεδο 1) και βαθμού II κατά WHO (επίπεδο 2) που φέρουν μία μετάλλαξη στο γονίδιο *IDH1* και συν-διαγραφή *1p/19q* (επίπεδο 3) έχουν τελική (ανώτατο επίπεδο) ενσωματωμένη διάγνωση «ολιγοδενδρογλοίωμα, με μετάλλαξη *IDH* και συν-διαγραφή *1p/19q*, grade II κατά WHO» (Reifenberger et al., 2016).

Πέραν της εύρεσης του τύπου και της ταξινόμησης των όγκων βάσει ιστολογίας, **οι απαιτούμενοι διαγνωστικοί βιοδείκτες (Εικόνα 11) για την ταξινόμηση των γλοιωμάτων κατά WHO, 2016 είναι:**

- Μεταλλάξεις *IDH1/2 (IDH)*,
- Συν-διαγραφή *1p/19q*,
- Μεταλλάξεις *H3F3A* ή *HIST1H3B/C K27M (H3-K27M)* και
- Συντήξεις *C11orf95-RELA*
- Επιπρόσθετοι- διαγνωστικοί σχετικοί- βιοδείκτες περιλαμβάνουν την απώλεια της έκφρασης του *ATRX* στον πυρήνα,
- Μεταλλάξεις στον υποκινητή του γονιδίου *TERT*,
- Συντήξεις *KIAA1549-BRAF*,
- Μετάλλαξη *BRAF-V600E*,
- Μετάλλαξη *H3F3A-G34*, και ορισμένες άλλες τροποποιήσεις που σχετίζονται με σπάνιες οντότητες γλοιώματος



Nature Reviews | Clinical Oncology

Εικόνα 11 | Διαγνωστική προσέγγιση για την ενσωματωμένη ιστολογική και μοριακή ταξινόμηση των διάχυτων γλοιωμάτων σύμφωνα με την ταξινόμηση των όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος κατά WHO, 2016 (ανατύπωση από Reifenberger et al. 2016)

2.2 GBM: δύο δρόμοι - μία κλινική οντότητα

Το γλοιοβλάστωμα (GBM, αστροκύττωμα βαθμού κακοήθειας IV κατά WHO) είναι ένας από τους συχνότερους εγκεφαλικούς όγκους σε ενήλικα άτομα και είναι σχεδόν πάντοτε θανατηφόρο. Το GBM ταξινομείται είτε ως πρωτογενές (εκ νέου, *de novo*) είτε ως δευτερογενές, και η διάκριση βασίζεται στο κλινικό ιστορικό των ασθενών (Kleihues and Cavenee 2000). Επιπλέον κατανοώντας σε βάθος το γενετικό, επιγενετικό, και μοριακό προφίλ αυτών των όγκων, η διάκριση έχει καταστεί πιο σαφής.

Το πρωτοπαθές GBM κατά κανόνα εμφανίζεται σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας, ως επιθετικός, ιδιαίτερα διηθητικός όγκος, συνήθως χωρίς καμία ένδειξη προηγούμενης κλινικής νόσου. Εν τούτοις, το δευτεροπαθές GBM έχει ένα εντελώς διαφορετικό κλινικό ιστορικό. Παρατηρείται συνήθως σε άτομα μικρότερης ηλικίας, τα οποία αρχικά εμφανίζουν αστροκύττωμα χαμηλού βαθμού κακοήθειας, που στη συνέχεια μετεξελίσσεται σε GBM σε διάστημα 5–10 ετών από την αρχική διάγνωση, ανεξαρτήτως προηγούμενης θεραπείας (Maher et al., 2001).

Ενώ αμφότερες οι κατηγορίες είναι διάχυτες κατά φύση, τα μοριακά μονοπάτια που συμμετέχουν, καθώς και η λειτουργική συμπεριφορά του όγκου, η θεραπευτική στρατηγική και οι κλινικές εκβάσεις διαφέρουν (Ohgaki et al., 2004). Παρόλο που το πρωτοπαθές και το δευτεροπαθές GBM είναι ιστολογικά μη διακριτά, διαφέρουν ως προς τα γενετικά και επιγενετικά προφίλ. Καθοριστικά γενετικά χαρακτηριστικά του δευτεροπαθούς γλοιοβλαστώματος αποτελούν οι μεταλλάξεις στην *IDH1*, που δεν υπάρχουν στο πρωτοπαθές γλοιοβλάστωμα και οι οποίες σχετίζονται με έναν φαινότυπο υπερμεθυλίωσης. Οι μεταλλάξεις στην *IDH1* είναι από τις πρώτες γενετικές αλλαγές που μπορούν να ανιχνευτούν στα πρόδρομα διάχυτα αστροκυττώματα χαμηλού βαθμού και στα ολιγοδενδρογλωμάματα,

υποδεικνύοντας ότι αυτοί οι όγκοι προέρχονται από νευρικά πρόδρομα κύτταρα, τα οποία διαφέρουν από αυτά των πρωτογενών γλοιοβλαστωμάτων (Πίνακας 11).

Πίνακας 11. Βασικά χαρακτηριστικά των γλοιοβλαστωμάτων με αγρίου τύπου *IDH* (*IDH*-Wildtype, WT) και μεταλλαγμένη *IDH* (*IDH*-Mutant) (προσαρμογή από Mansouri, Karamchandani, Das et al., 2017).

	<i>IDH</i>-WT GBM	<i>IDH</i>-mutant GBM
Συνώνυμο	Πρωτοπαθές γλοιοβλάστωμα	Δευτεροπαθές γλοιοβλάστωμα
Πρόδρομη βλάβη	Ταυτοποιείται de novo	Διάχυτο αστροκύττωμα Αναπλαστικό αστροκύττωμα
Ποσοστό γλοιοβλαστωμάτων	~90%	~10%
Διάμεση ηλικία κατά τη διάγνωση	~62 ετών	~44 ετών
Αναλογία Α:Θ	1,42:1	1,05:1
Διάμεσος χρόνος κλινικού ιστορικού τη στιγμή της διάγνωσης	4 μήνες	15 μήνες
Διάμεση συνολική επιβίωση		
Χειρουργική επέμβαση + ακτινοθεραπεία	9,9 μήνες	24 μήνες
Χειρουργική επέμβαση + RT + CTX	15 μήνες	31 μήνες
Θέση	Υπερσκηνίδιος	Κυρίως μετωπικός
Νέκρωση	Εκτεταμένη	Περιορισμένη
Μεταλλάξεις υποκινητή <i>TERT</i>	72%	26%
Μεταλλάξεις <i>TP53</i>	27%	81%
Μεταλλάξεις <i>ATRX</i>	Χαμηλό ποσοστό	71%
Ενίσχυση <i>EGFR</i>	35%	Χαμηλό ποσοστό
Μεταλλάξεις <i>PTEN</i>	24%	Χαμηλό ποσοστό

ATRX, φυλοσύνδετη στο Χ χρωμόσωμα α-θαλασσαιμία που συνοδεύεται από νοητική υστέρηση, *CTX*, χημειοθεραπεία, *EGFR*, υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, *GBM*, πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, *IDH*, ισοκιτρική αφυδρογονάση, *PTEN*, φωσφατάση ομόλογη της τενσίνης, *TERT*, αντίστροφη μεταγραφάση της τελομεράσης, *TP53*, ογκοκατασταλτικό γονίδιο 53, *RT*, ακτινοθεραπεία.

2.3 Γλοιώμα σε παιδιατρικούς ασθενείς

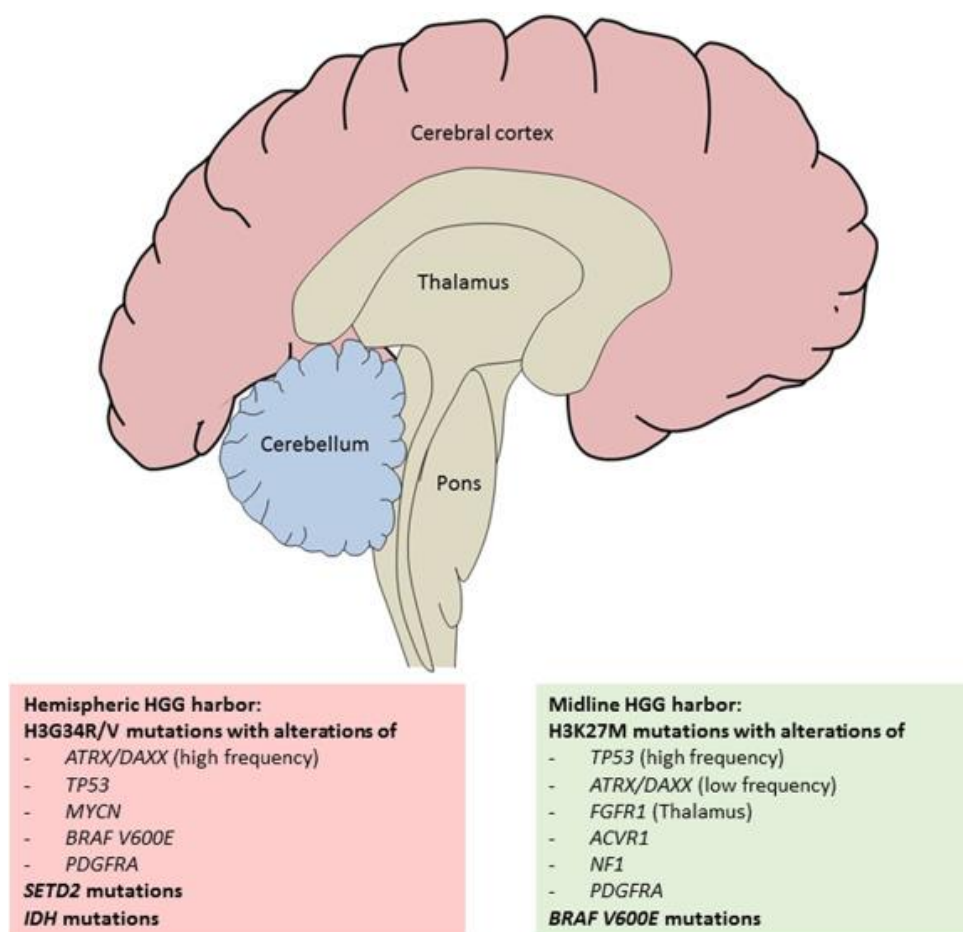
Οι όγκοι του ΚΝΣ είναι οι δεύτεροι σε συχνότητα όγκοι στην παιδική ηλικία μετά τη λευχαιμία και αποτελούν τους συχνότερους συμπαγείς όγκους στην παιδική ηλικία (Staneczek et al., 1994). Σύμφωνα με την ταξινόμηση κατά WHO, 2016 (Louis et al., 2016) οι παιδιατρικοί εγκεφαλικοί όγκοι χωρίζονται ως εξής:

- **γλοιώματα χαμηλού βαθμού κακοήθειας (LGG)** - βαθμού I και II κατά WHO. Η συντριπτική πλειονότητα των όγκων που εμπίπτει στο φάσμα των παιδιατρικών LGG προκαλείται από μία ποικιλία τροποποιήσεων στο σηματοδοτικό μονοπάτι των MAPK, συμπεριλαμβανομένης της μετάλλαξης ή σύντηξης στο γονίδιο *BRAF*, της μετάλλαξης ή δομικής αναδιάταξης του γονιδίου *FGFR1*, της μετάλλαξης *NF1*, των συντήξεων της οικογένειας *NTRK* και άλλων σπάνιων συμβάντων (Zhang et al., 2013). Αξιοσημείωτες εξαιρέσεις περιλαμβάνουν το αστροκύτωμα από υποεπενδυματικό γιγαντιαίο κύτταρο (κατά κανόνα σχετίζεται με τις μεταλλάξεις στα γονίδια *TSC1/2* στη γαμετική σειρά), και μία ιστολογικά μεικτή ομάδα όγκων συμπεριλαμβανομένου ενός ουσιαστικού μέρους των αγγειοκεντρικών και διάχυτων γλοιωμάτων, που φέρουν ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στα γονίδια *MYB* ή *MYBL1* (Ramkissoon et al., 2013). Τόσο σε μοριακό επίπεδο (π.χ, οι μεταλλάξεις στο γονίδιο της *IDH1* είναι εξαιρετικά σπάνιες στα γλοιώματα της παιδικής ηλικίας, αλλά είναι εν μέρει αντιπροσωπευτικές σε γλοιώματα χαμηλού βαθμού σε ενήλικα άτομα), όσο και σε κλινικό επίπεδο, τα παιδιατρικά LGG διαχωρίζονται από τα αντίστοιχα σε ενήλικα άτομα. Παρόλο που υπολείπονται πλήρως ολοκληρωμένα δεδομένα, θεωρείται ότι τα διάχυτα γλοιώματα παιδικού τύπου, τα οποία ταξινομούνται ως βαθμού II κατά WHO, δεν εμφανίζουν την ίδια τάση προς επιδείνωση σε κακοήθεια, και συνεπώς έχουν καλύτερη πρόγνωση, συγκριτικά με τα αντίστοιχα γλοιώματα σε ενήλικα άτομα (Ryall et al., 2017)

- **γλοιώματα υψηλού βαθμού κακοήθειας (HGG)** – αναπλαστικά αστροκυτώματα βαθμού III, γλιοβλαστώματα βαθμού IV, καθώς και το διάχυτο εγγενές γλοιώμα γέφυρας εγκεφάλου. Τα παιδιατρικά γλοιώματα υψηλού βαθμού (pHGG) είναι κλινικά και βιολογικά διακριτά από τα γλοιώματα σε ενήλικα άτομα. Τα γλοιώματα υψηλού βαθμού που ανευρίσκονται στο στέλεχος του εγκεφάλου αποτελούν περίπου το 10% όλων των παιδιατρικών όγκων του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) (Donaldson et al., 2006), και το 80% περιορίζεται στη γέφυρα του εγκεφάλου. Οι όγκοι, γνωστοί ως διάχυτα εγγενή γλοιώματα γέφυρας εγκεφάλου (DIPG), προσβάλλουν πρωτίστως παιδιά πολύ μικρής ηλικίας με μέγιστη επίπτωση σε παιδιά ηλικίας 6 ετών, και έχουν τη μέγιστη θνησιμότητα όλων των συμπαγών όγκων στην παιδική ηλικία. Τα ποσοστά πενταετούς επιβίωσης για τα pHGG είναι ~28% (Ostrom et al., 2015) ενώ είναι πολύ πιο δυσμενή για τα DIPG στο ~2% (Hoffman et al., 2018).

Ένα μεγάλο υποσύνολο των παιδιατρικών HGG χαρακτηρίζεται από αμοιβαίως αποκλειόμενες ετερόζυγες μεταλλάξεις στο γονίδιο *H3F3A* της ιστόνης *H3.3* ή στα γονίδια *HIST1H3B/C* της ιστόνης *H3.1*. Αυτές οι παρανοηματικές (missense) μεταλλάξεις οδηγούν σε αντικαταστάσεις αμινοξέων σε δύο συγκεκριμένες θέσεις στο

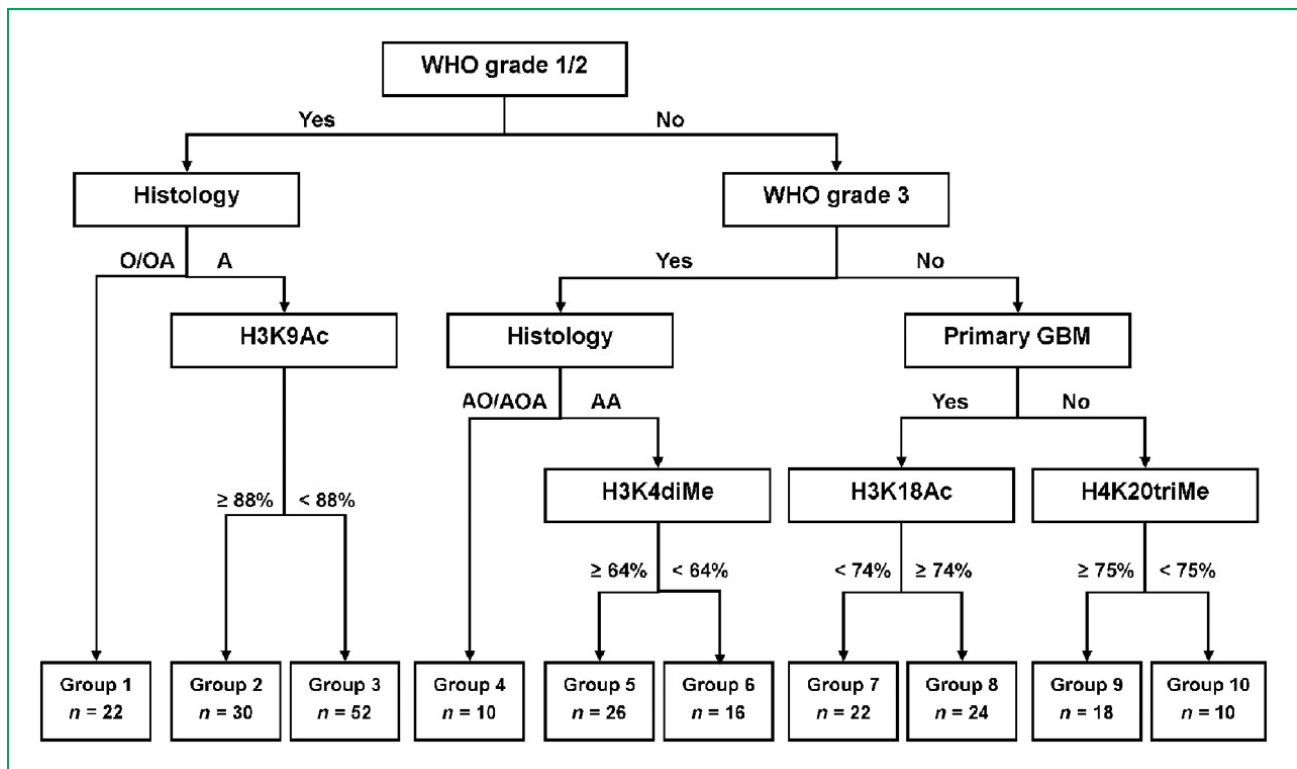
N-τελικό άκρο της ιστόνης H3: αντικατάσταση της λυσίνης από μεθειονίνη στη θέση 27 (μετάλλαξη *K27M*), είτε αντικατάσταση της γλυκίνης από αργινίνη ή της γλυκίνης από βαλίνη στη θέση 34 (μετάλλαξη *G34R* ή *G34V*) (**Εικόνα 12**) (Schwartzentruber et al., 2012; Sturm et al., 2012; Wu et al., 2014).



Εικόνα 12 Ανατομική κατανομή των μεταλλάξεων στα γονίδια των ιστονών σε παιδιατρικά γλοιώματα υψηλού βαθμού (HGG). Οι μεταλλάξεις *K27M* ανευρίσκονται κυρίως σε όγκους που εμφανίζονται στη μέση γραμμή του εγκεφάλου (θάλαμος, γέφυρα, και προμήκης μυελός). Μεταλλάξεις στο γονίδιο του υποδοχέα τύπου 1 της ακτιβίνης (*ACVR1*) συχνά σημειώνονται όταν υπάρχει η μετάλλαξη *H3.1 K27M*. Οι μεταλλάξεις *H3.3 G34R* ή *G34V* και η μετάλλαξη *BRAFV600E* ανευρίσκονται κυρίως στους όγκους των ημισφαιρίων. Άλλες γονιδιακές τροποποιήσεις που σχετίζονται με μεταλλάξεις **στα γονίδια των ιστονών** σημειώνονται επίσης σε μοτίβα ανάλογα με τη θέση. Για παράδειγμα, οι μεταλλάξεις *ATRX/DAXX* σχετίζονται με όγκους του φλοιού, που φέρουν μεταλλάξεις *G34R/V*, και όγκους του θαλάμου, που φέρουν μεταλλάξεις *K27M*, αντίστοιχα. Η σημειακή μετάλλαξη *BRAFV600E* σημειώνεται σε ενήλικα άτομα μικρής ηλικίας και οι περισσότεροι όγκοι εμφανίζονται στα εγκεφαλικά ημισφαίρια (ανατύπωση από Juratli, T. A., Qin, N., Cahill, D. P., & Filbin, M. G. (2018)).

3. ΟΙ ΙΣΤΟΝΕΣ ΣΤΑ ΓΛΟΙΩΜΑΤΑ

Με βάση τη σταδιοποίηση κατά WHO, την ιστολογία, και τις τροποποιήσεις των ιστονών, οι Liu BL et al δημιούργησαν το 2010, 10 διακριτές προγνωστικές ομάδες υποδηλώνοντας ότι, μη φυσιολογικές τροποποιήσεις των ιστονών μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στο GBM (Liu et al., 2010). Αυτές οι κύριες ομάδες ήταν: H3K9ac (ακετυλίωση της λυσίνης 9 της ιστόνης 3), H3K4me2 (απομεθυλίωση της λυσίνης 4 της ιστόνης 3), H3K18ac (ακετυλίωση της λυσίνης 18 της ιστόνης 3) και H4K20me3 (τριμεθυλίωση της λυσίνης 20 της ιστόνης 4). Τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας (που αφορά 230 ασθενείς) τονίζουν την προγνωστική αξία των επιγενετικών μεταβολών στο γλοίωμα, συμπεριλαμβανομένων πολλαπλών τροποποιήσεων των ιστονών. Αυτές οι τροποποιήσεις μπορούν να συμβάλλουν στην αναγνώριση των ασθενών με γλοίωμα, που έχουν διαφορετική πρόγνωση, και την επιλογή των ασθενών για βέλτιστη επικουρική θεραπεία (Εικόνα 13).



Εικόνα 13. Αποτελέσματα της ρομποτικής αυτοματοποίησης διαδικασιών(RPA), που εξατομικεύουν 10 διαφορετικές προγνωστικές ομάδες από 230 δείγματα από ασθενείς με γλοίωμα, οι οποίοι υπέστησαν χειρουργική εκτομή και συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη. Κάθε κόμβος, όπου διακλαδίζονται τα τμήματα του δέντρου RPA, διαχωρίζει τους ασθενείς ανάλογα με το αν η τιμή ενός συγκεκριμένου χαρακτηριστικού είναι υψηλότερη ή χαμηλότερη από μία επιλεγμένη τιμή αποκοπής. Ο πρώτος κόμβος αναπαριστά το βαθμό κακοήθειας του όγκου. Σε ασθενείς με γλοίωμα χαμηλού βαθμού, ο δεύτερος κλάδος αναπαριστά τον ιστολογικό υποτύπο και ο τρίτος κλάδος αναπαριστά τις τροποποιήσεις των ιστονών (π.χ., το ποσοστό των κυττάρων με θετική χρώση για H3K9Ac). Οι ασθενείς με γλοίωμα υψηλού βαθμού χωρίστηκαν περαιτέρω σε ασθενείς με όγκο βαθμού 3 και 4 κατά WHO. Ο τρίτος κλάδος αναπαριστά τον ιστολογικό υπότυπο και την παθογένεση, αντίστοιχα, και ο τέταρτος κλάδος αναπαριστά τις τροποποιήσεις των ιστονών των H3K4diMe, H3K18Ac, ή H4K20triMe. Ο: Ολιγοδενδρογλοίωμα, Α: Αστροκύττωμα

Ακολουθεί λεπτομερής ανάλυση κάθε ομάδας ιστονών και του ρόλου της στο γλοίωμα.

3.1 Η ιστόνη H1 στο γλοίωμα

3.1.1 Η δομή και ο ρόλος της ιστόνης H1

Την τελευταία δεκαετία έγινε σαφές ότι, οι ιστόνες δεν συμμετέχουν απλά στη διατήρηση της δομής, αλλά μπορεί να επηρεάζουν τη γονιδιακή έκφραση μεταβάλλοντας το επίπεδο της συμπύκνωσης του DNA.

Η οικογένεια της ιστόνης H1, που καλείται επίσης οικογένεια των «συνδεδετικών ιστονών», προσδένεται στο συνδεδετικό DNA στο σημείο εισόδου και εξόδου από το νουκλεόσωμα. Έντεκα υποτύποι της ιστόνης H1 είναι γνωστοί στα θηλαστικά, εκ των οποίων επτά [H1.0 (H1^o), H1.1 (H1a), H1.2 (H1c), H1.3 (H1d), H1.4 (H1e), H1.5 (H1b), H1.X (H1x)] εκφράζονται σε σωματικά κύτταρα, ενώ τέσσερις είναι ειδικοί για τη γαμετική σειρά (*H1t*, *H1T2*, *H1LS1*, και *H100*) (Di Liegro et al., 2018).

Οι συνδεδετικές ιστόνες εκτελούν μία σημαντική λειτουργία διατηρώντας την ακεραιότητα του γονιδιώματος και συμμετέχοντας στη μεταγραφική ρύθμιση ενός υποσυνόλου γονιδίων, τα οποία συμμετέχουν στη γήρανση, την επιδιόρθωση του DNA, τη μεθυλίωση του DNA, το εντύπωμα και την απόπτωση (Gabrovskii et al., 2013). Πλέον καθίσταται σαφές ότι κάθε υποτύπος της συνδεδετικής ιστόνης διαδραματίζει διαφορετικό αλλά σημαντικό ρόλο στην οργάνωση και έκφραση του γονιδιώματος (**Πίνακας 12**).

ΠΙΝΑΚΑΣ 12. Ο ρόλος της ιστόνης H1 στο γλοίωμα.

ΔΟΜΗ				ENZYMΑ		ΓΛΟΙΩΜΑ		
Ποικιλομορφή	Γονίδια	Λειτουργία	PTM	Ένζυμα προσθήκης (Enzymes-writers)	Ένζυμα αφαίρεσης (Enzymes –erasers)	Αξία	Συσχέτιση	Βιβλιογραφία
Ιστόνη H1.0	H1F0	Ισχυρός συμπυκνωτής της χρωματίνης, εκφράζεται σε τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα που δεν διαιρούνται.	H1.0K12me H1.0K82me H1.0K108me H1.0k155me	N-μεθυλοτρανσφεράση λυσίνης	Απομεθυλάσες της λυσίνης (KDM)	Προγνωστική αξία	Αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ της ποσότητας της H 1.0 και της επιθετικότητας του όγκου. Χαμηλότερες ποσότητες της H 1.0 σχετίζονται με υψηλότερη επιθετικότητα του γλοιώματος.	Wang et al.,2014; Gabrovsky et al., 2013 ; Warebolt et al, 2008
Ιστόνη H1.5	HIST1H1B	Πολύ σημαντικό μέλος ενός μεγαλύτερου συστήματος ρύθμισης της χρωματίνης, όπου συμμετέχει η σιρτουίνη 1 (SIRT1) και η H3K9me2. Αυτό το σύστημα θα μπορούσε να εδραιώσει μία σταθερή κατάσταση της χρωματίνης παρόμοια με	H1T10ph H1S17ph H1T137ph H1T154ph H1S172ph	Κυκλινοεξαρτώμενη κινάση 2 (CDK-2)	Πρωτεϊνικές φωσφατάσες	Πιθανός θεραπευτικός στόχος	Η NPM1 προσδένεται στη συνδετική ιστόνη H1.5. Η αποσιώπηση της H1.5 προκάλεσε απόπτωση των κυττάρων του γλοιώματος. Η υπερέκφραση της NPM1 κατέστειλε την απόπτωση στα κύτταρα γλοιώματος, από τα οποία είχε αφαιρεθεί το γονίδιο της H1.5.	Holmberg et al .,2015 Millan-Arino et al., 2014; Li et al., 2012

		τη συμπυκνωμένη ετεροχρωματίνη σε τελικώς διαφοροποιημένα κύτταρα.						
Ιστονική H1x	H1FX	Ισχυρός συμπυκνωτής της χρωματίνης				Προγνωστική αξία	Θετική συσχέτιση της έκφρασης της H1x με τις H4K20me3 και H3K9me3 υποδηλώνοντας ότι οι μεταβολές στα επίπεδα των συνδετικών ιστονών συμβάλλουν πιθανά στη διατήρηση ή εδραίωση συγκεκριμένων μοτίβων μεθυλίωσης στις ιστονικές H3 και H4	Sepa et al., (2015)

3.2 Η ιστόνη H2 στο γλοίωμα

Το οκταμερές των ιστονών αποτελείται από δύο (H2A-H2B) διμερή H2 (Eickbush et al., 1978). Ποικιλομορφές των ιστονών H2A και H2B έχουν μελετηθεί σε βάθος και έχει βρεθεί ότι εκτελούν διακριτές λειτουργίες. Παρότι έχουν ταυτοποιηθεί 13 σωματικές ισομορφές της H2B με διάφορες προσεγγίσεις βιοχημείας και φασματομετρίας μάζας (MS), ο ρόλος αυτών των ισομορφών στα ανθρώπινα κύτταρα παραμένει άγνωστος. Υπάρχουν 16 ισομορφές της H2B στους ανθρώπους, εκ των οποίων 13 εκφράζονται σε σωματικά κύτταρα και 3 εκφράζονται στους όρχεις. Οι μοναδικές ανθρώπινες ισομορφές που έχουν μελετηθεί σε βάθος μέχρι σήμερα είναι οι ποικιλομορφές H2BFWT και H2B1A, που εκφράζονται στους όρχεις (Boulard et al., 2006).

Αναφορικά με την ιστόνη H2A, έχουν αναφερθεί τέσσερις τάξεις ανθρώπινων ποικιλομορφών, οι H2A.X, H2A.Z, macro H2A, και H2A.B (Millar et al., 2013). Στα ανθρώπινα κύτταρα, η H2A.B είναι ιδιαίτερα κινητική και συσσωρεύεται σε κωδικές περιοχές ενεργά μεταγραφόμενων γονιδίων, όπως αποκαλύφθηκε με τη χρήση ανοσοκαθήλωσης της χρωματίνης με αναλύσεις γονιδιωματικής και αλληλούχισης. Στην καρκινογένεση και ιδιαίτερα στο γλοίωμα έχει μελετηθεί κυρίως η ιστόνη H2A.X και ο πιθανός της ρόλος ως βιοδείκτης και θεραπευτικός στόχος.

3.2.1 H2A.X – προγνωστικός παράγοντας, δείκτης ανταπόκρισης στη φαρμακευτική αγωγή

Η H2A.X είναι μία ποικιλομορφή της ιστόνης H2A. Η ποικιλομορφή H2A.X αποτελεί το 2% (λεμφοκύτταρα) –25% (ανθρώπινο γλοίωμα) της συνολικής H2A και τα επίπεδά της εξαρτώνται από την κυτταρική σειρά και τον ιστό (Rogakou et al., 1998). Οι αιτίες για τις διαφορετικές σχετικές ποσότητες της H2A.X δεν είναι γνωστές, παρότι μπορεί να προέρχονται από την ειδική ρύθμιση της σύνθεσης της H2A.X. Το γονίδιο που κωδικοποιεί την H2A.X εμφανίζει την εξής ιδιαιτερότητα, μπορεί να είναι εξαρτώμενο αλλά και ανεξάρτητο από την αντιγραφή. Το γεγονός αυτό καθιστά το γονίδιο μοναδικό μεταξύ των υπολοίπων γονιδίων των ιστονών.

Οι θραύσεις διπλής έλικας (DSB) είναι μεταξύ των πρώτων διαδικασιών που λαμβάνουν χώρα κατά το σχηματισμό και την εξέλιξη του καρκίνου, ως αποτέλεσμα ενδογενών και εξωγενών παραγόντων. Η ποικιλομορφή ιστόνης H2A.X υπόκειται σε φωσφορυλίωση στη σερίνη 139 λόγω θραυσμάτων διπλής έλικας, και η γ -H2A.X σχηματίζεται ως αποτέλεσμα της γενωμικής αστάθειας. Η ανίχνευση της γ -H2A.X μπορεί να χρησιμεύσει πιθανά ως βιοδείκτης για το μετασχηματισμό του φυσιολογικού ιστού σε προκακοήθεις και εν συνεχεία κακοήθεις ιστούς. Η γ -H2A.X διερευνάται ήδη σε διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού (Wang et al., 2019), του πνεύμονα (Matthaios et al., 2013), του εντέρου (Guo et al., 2015), του τραχήλου και των ωοθηκών (Bartkova et al., 2005; Mei et al., 2015). Η προγνωστική αξία της γ -H2A.X υποδεικνύεται

σε συγκεκριμένους τύπους καρκίνου, όπως στον καρκίνο του μαστού ή του ενδομητρίου, αλλά χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση προκειμένου η γ-H2AX να αξιολογηθεί ως προγνωστικός δείκτης (Palla et al., 2017).

Η H2AX δεν έχει μελετηθεί αρκετά στη γένεση του γλοιώματος και μόνο λίγοι ερευνητές περιγράφουν το ρόλο της (**Πίνακας 13**) :

- ως διαγνωστικό εργαλείο: αυξημένα επίπεδα της γ-H2AX έχουν βρεθεί σε κυτταρικές σειρές γλοιώματος συγκριτικά με τα φυσιολογικά κύτταρα (Martin et al., 2006).
- η ερευνητική ομάδα των Weiwei Fan et al. περιέγραψε ότι η γενετική ποικιλομορφή rs643788 στην περιοχή του υποκινητή της H2AX σχετίστηκε σημαντικά με μειωμένο κίνδυνο για γλοίωμα σε έναν πληθυσμό από την Κινέζικη φυλή Han (Weiwei et al., 2011).
- τα ανθεκτικά στην ακτινοβολία κύτταρα της σειράς ανθρώπινου γλοιοβλαστώματος T98G μπορούν να αναπτύξουν ευαισθησία στη βλάβη του DNA που προκαλείται από ακτινοβολία και ετοποσίδη, ως αποτέλεσμα της εισαγωγής της ιστόνης H2AX (Bassing et al., 2002; Momota et al., 2003; Bayin et al., 2018).

Πίνακας 13. Ο ρόλος της ιστόνης H2 στο γλοίωμα

ΔΟΜΗ				ENZYMΑ		ΓΛΟΙΩΜΑ		
Ποικιλομορφή	Γονίδια	Λειτουργία	Τροποποίηση PTM	Ένζυμα προσθήκης ("writers")	Ένζυμα αφαίρεσης ("erasers")	Αξία	Συσχέτιση	Βιβλιογραφία
Ιστόνη H2A.X	H2AFX	Βασικό στοιχείο στην ανίχνευση και ανταπόκριση σε θραύσματα της διπλής έλικας του DNA (DSB), που προκαλούνται από διαφορετικούς εξωγενείς (ιονίζουσα ακτινοβολία) και ενδογενείς παράγοντες	H2AK5ac	Ακετυλοτρανφεράση της λυσίνης (KAT5)		Διαγνωστικός παράγοντας	1. αυξημένα επίπεδα της γ-H2AX σε κυτταρικές σειρές γλοιώματος συγκριτικά με φυσιολογικά κύτταρα 2. η ποικιλομορφή rs643788 της H2AX σχετίστηκε σημαντικά με μειωμένο κίνδυνο γλοιώματος 3. η εισαγωγή της H2AX, που σχετίζεται με την επιδιόρθωση του DNA, σε ανθεκτικά στην ακτινοβολία κύτταρα ανθρώπινου γλοιοβλαστώματος (T98G) οδηγεί σε ευαισθησία στη βλάβη του DNA που προκαλείται από ακτινοβολία και ετοποσίδη.	Martin et al., 2006
			H2AK9ac			Κίνδυνος νόσου		Weiwei et al., 2011
			H2AK119ub	Λιγάση ουβικιτίνης RING1, λιγάση ουβικιτίνης RING2				Bassing et al., 2002
			H2AS139ph	DNA-εξαρτώμενη πρωτεϊνική κινάση, πρωτεϊνική κινάση σερίνης ATM, πρωτεϊνική κινάση σερίνης/θρεονίνης ATR	Πρωτεϊνική φωσφατάση 1D, καταλυτική υπομονάδα άλφα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης σερίνης/θρεονίνης 2A, καταλυτική υπομονάδα βήτα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης σερίνης/θρεονίνης 2A, καταλυτική	Δείκτης πρόβλεψης της ευαισθησίας στην ακτινοβολία και στόχος ακτινοθεραπείας		Momota et al., 2003 Bayin et al., 2018 Millar et al., 2013

					υπομονάδα της πρωτεϊνικής φωσφατάσης σερίνης/θρεονίνης 4			
			H2AY142ph	Πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης BAZ1B	Πρωτεϊνικές φωσφατάσες (EYA1), (EYA2), (EYA3)			

3.3 Οι ιστόνες H3-H4 στο γλοίωμα

Οι ιστόνες H3 και H4 κατέχουν έναν καλά προσδιορισμένο δομικό ρόλο στο νουκλεόσωμα και στη ρύθμιση της μεταγραφής.

3.3.1 Ιστόνη H3

Στα θηλαστικά, υπάρχουν επτά μέλη της ιστόνης H3:

- Οι H3.1 και H3.2 είναι ιστόνες της αντιγραφής που εκφράζονται κατά τη φάση S του κυτταρικού κύκλου
- Η H3.3 είναι ιστόνη αντικατάστασης που εκφράζεται καθ' όλη τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου
- Ορισμένες ιστόνες εκφράζονται ειδικά ανά ιστό (H3.5, H3.X, H3.Y) (Schenk et al., 2011) ή ανευρίσκονται μόνο στα κεντρομερίδια (CENP-A) (Zweidler et al., 1984).

Σε αυτήν την εργασία η συζήτηση θα περιοριστεί στις ιστόνες, που σχετίζονται σε μεγαλύτερο βαθμό με το γλοίωμα, τις H3.1 και H3.3 (**Πίνακας 15**). Οι ιστόνες H3.1 και H3.2 έχουν διαφορετικούς ρόλους, παρά τον παρόμοιο χρόνο σύνθεσης και την υψηλή συντήρηση της αμινοξικής τους αλληλουχίας (διαφέρουν κατά μόνο ένα αμινοξύ). Στα θηλαστικά, οι PTM στην ιστόνη H3.2 υποδηλώνουν ότι η H3.2 είναι πλούσια σε τροποποιήσεις που σχετίζονται με μεταγραφική καταστολή, όπως είναι η διμεθυλίωση (K27me2) και η τριμεθυλίωση (K27me3) της ιστόνης 3. Αντιθέτως, η ιστόνη H3.1 έχει ρόλο τόσο ενεργοποίησης όσο και καταστολής. (Hake et al., 2006).

Οι πρώτες μεταλλάξεις της ιστόνης H3 (H3K27M) στην ογκογένεση του εγκεφάλου ταυτοποιήθηκαν το 2012, με προσπάθειες γενωμικής αλληλούχισης σε ~30% των pHGG (Schwartzentruber et al. 2012). Η μετάλλαξη K27M σημειώνεται πρωτίστως στο γονίδιο *H3F3A* (>70%), ένα από τα δύο γονίδια που κωδικοποιούν την ιστόνη H3.3, με χαμηλή συχνότητα εμφάνισης στην ιστόνη H3.1, η οποία κωδικοποιείται από τα γονίδια *HIST1H3B* ή *HIST1H3C*, και σπάνια στην ιστόνη H3.2 (*HIST2H3C*) (Πίνακας 15). Η μετάλλαξη K27M εμφανίζεται σε 80% των περιστατικών DIPG, και σχετίζεται με ποσοστό επιβίωσης περίπου 10% στα 2 έτη μετά από τη διάγνωση. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως (ταξινόμηση γλοιώματος) το 2016, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας ταξινόμησε τους όγκους που φέρουν τη μετάλλαξη K27M ως μία διακριτή οντότητα - «Διάχυτο γλοίωμα της μέσης γραμμής, H3K27M» (Luis et al., 2016). Ο περιορισμός της μετάλλαξης K27M σε όγκους που προκύπτουν στη συγκεκριμένη περιοχή του εγκεφάλου, υποδηλώνει ότι η μετάλλαξη K27M ίσως προσδίδει ένα επιλεκτικό πλεονέκτημα υπέρ του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και του μετασχηματισμού σε ένα υποσύνολο κυττάρων, τα οποία βρίσκονται σε συγκεκριμένο αναπτυξιακό πλαίσιο (Lowe et al., 2019). Αυτή η ιδέα υποστηρίζεται από αρκετές μελέτες που δείχνουν ότι ένας συνδυασμός μεταλλάξεων, συμπεριλαμβανομένης της H3K27M, είναι απαραίτητος για την πρόκληση ογκογένεσης. Έχει βρεθεί ότι, μεταλλάξεις στα γονίδια *TP53* και *PDGFRA* (υποδοχέας A του

προερχόμενου από τα αιμοπετάλια αυξητικού παράγοντα) σχετίζονται με την H3.3K27M στα DIPG, ενώ η H3.1K27M σχετίζεται ως επί το πλείστον με μεταλλάξεις στα γονίδια των *ACVR1* (υποδοχέα τύπου 1 ακτιβίνης) και *BCOR* (συν-καταστολέας της *BCL6*) (Fontebasso et al., 2014; Khuong-Quang et al., 2012; Wu et al., 2014).

Εκτός από τα μετάλλαξη H3K27M, υπάρχουν πολυάριθμες τροποποιήσεις ιστονών που συμμετέχουν στην ογκογένεση στον εγκέφαλο (**Πίνακας 14**). Για παράδειγμα, αυξημένη ακετυλίωση της ιστόνης H3 παρατηρείται πιο συχνά σε γλοιοβλαστώματα συγκριτικά με το αστροκύτωμα χαμηλού βαθμού και το φυσιολογικό ιστό του εγκεφάλου (Liu et al., 2010). Η αυξημένη τριμεθυλίωση της λυσίνης 4 στην ιστόνη H3 (H3K4me3) αλλάζει το ρυθμό της μεταγραφής και έχει ως αποτέλεσμα την υπερέκφραση ογκοπρωτεϊνών στα γλοιοβλαστώματα (Nagarajan et al., 2014). Τα γονίδια που σχετίζονται με τις μεταλλάξεις H3K4me3 και H3K27me3 αποτελούν πιθανούς θεραπευτικούς στόχους για την επαγωγή της διαφοροποίησης στα γλοιοβλαστώματα. Οι μεταλλάξεις H3K4me3 και H3K27me3, καθώς και η μονομεθυλίωση της λυσίνης 9 στην ιστόνη H3 (H3K9me) διαδραματίζουν επίσης πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των μυελοβλαστωμάτων (MBs).

3.3.2 Ιστόνη H4

Η ιστόνη H4 συνδυάζεται με την ιστόνη H3 για το σχηματισμό του τετραμερούς H3/H4. Η ιστόνη H4 τροποποιείται επίσης από διάφορα ένζυμα και αυτές οι τροποποιήσεις έχουν αποδειχθεί σημαντικές στη γονιδιακή ρύθμιση. Μία από τις πρώτες τροποποιήσεις που ανακαλύφθηκε πριν από 50 χρόνια, ήταν η μεθυλίωση της ιστόνης H4, η οποία εμπλέκεται σε πολλές βιολογικές διεργασίες, όπως είναι η μεταγραφική ρύθμιση των γονιδίων, ο έλεγχος του κυτταρικού κύκλου, η ανάπτυξη και διατήρηση της γενωμικής ακεραιότητας (Oda et al., 2009). Η μονομεθυλιωμένη και διμεθυλιωμένη H4K20 εμπλέκεται στην αντιγραφή του DNA, την επιδιόρθωση βλαβών στο DNA και στη συμπύκνωση της χρωματίνης. Η έλλειψη της H4K20me1 οδηγεί σε συμπύκνωση των χρωμοσωμάτων στον πυρήνα κατά τη μεσόφαση. Η τριμεθυλίωση της H4K20 απαιτείται για την αποσιώπηση περιοχών της ετεροχρωματίνης (Jorgensen et al., 2013).

Στο γλοίωμα, η έρευνα των Liu et al έδειξε ότι το επίπεδο της H4K20Me3 επηρέασε σημαντικά την επιβίωση ασθενών με δευτεροπαθές γλοιοβλάστωμα, όπου σημειώθηκε μεγαλύτερη επιβίωση στους ασθενείς, ο όγκος των οποίων εξέφραζε υψηλότερα επίπεδα H4K20me3 ($\geq 75\%$ των καρκινικών κυττάρων). (Liu et al., 2010)

Η ακετυλίωση της ιστόνης στη λυσίνη 16 (H4K16 Ac) συμμετέχει σε πολλές κυτταρικές διεργασίες σε μεγάλη ποικιλία οργανισμών, όπως στη ζύμη και τον άνθρωπο. Μία πρόσφατη βιοχημική μελέτη προτείνει αυτόν το δείκτη ακετυλίωσης ως ένα διακόπτη για τη μεταβολή της χρωματίνης από κατάσταση καταστολής σε μεταγραφικά ενεργή.

Μία εργασία των Fraga et al δείχνει ότι η ειδική μονοακετυλίωση της H4 στη λυσίνη 16 δεν παρατηρείται σε ορισμένες ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές και σε δύο πρωτοπαθείς όγκους (λέμφωμα και αδеноκαρκίνωμα του παχέος εντέρου). Αντιθέτως, δεν υπάρχει καμία διαφορά στο επίπεδο της ακετυλίωσης σε όλα τα άλλα κατάλοιπα λυσίνης

(Lys5, Lys8, και Lys12) στο αμινοτελικό άκρο της ιστόνης H4, υποδεικνύοντας έναν μοναδικό ρόλο της H4K16 Ac στην παρεμπόδιση του κυτταρικού μετασχηματισμού (Fraga et al., 2005). Πιθανολογείται ότι, η H4K16 Ac σε ογκοκατασταλτικά γονίδια προστατεύει την καταστολή της μεταγραφής αυτών των γονιδίων στα φυσιολογικά κύτταρα.

Παρά το σημαντικό ρόλο της H4K16 Ac στην ογκογένεση, υπάρχουν λίγα δεδομένα σχετικά με την επίδρασή της στο γλοίωμα. Τα αποτελέσματα μίας ερευνητικής ομάδας υποδηλώνουν ότι υπάρχει ένα επιγενετικό μονοπάτι, το οποίο σχετίζεται με τον επαναπρογραμματισμό των μικρογλοιακών κυττάρων από κύτταρα του γλοιώματος προς έναν φαινότυπο που υποστηρίζει τον όγκο, δρώντας προς όφελος του γλοιώματος. Οι ερευνητές δείχνουν ότι αυτός ο φαινότυπος των μικρογλοιακών κυττάρων συνδυάζεται με τη λειτουργική αλληλεπίδραση μεταξύ της σιρτουίνης 1 (SIRT1) και της ειδικής για την H4K16 ακετυλοτρανσφεράσης, hMOF. Το τελικό αποτέλεσμα είναι αύξηση της συνολικής ακετυλίωσης της ιστόνης 4 στη λυσίνη 16 (H4K16) (Saidi et al., 2017) **(Πίνακας 14)**.

Πίνακας 14. Ο ρόλος των ιστονών H3 και H4 στο γλοίωμα

ΔΟΜΗ				ENZYMΑ		ΓΛΟΙΩΜΑ		
Ποικιλιομορφή	Γονίδια	Λειτουργία	PTM	Ένζυμο προσθήκης (Enzymes-writers)	Ένζυμο αφαίρεσης (Enzymes – erasers)	Αξία	Συσχέτιση	Βιβλιογραφία
Histone 3.1	HIST1H3A, HIST1H3D, HIST1H3C, HIST1H3E, HIST1H3I, HIST1H3G, HIST1H3J, HIST1H3H,	1.ιστόνη εξαρτώμενη από την αντιγραφή του DNA, ενεργοποίηση της μεταγραφής	H3K4me2	Μεθυλοτρανσφεράση της λυσίνης NSD3	Απομεθυλάση της λυσίνης 5A, απομεθυλάση της λυσίνης 5D, απομεθυλάση της λυσίνης 1A	Προγνωστική αξία	Οι ασθενείς με όγκους βαθμού 3 κατά WHO, οι οποίοι εξέφραζαν H3K4me2 σε <64% των καρκινικών κυττάρων, είχαν μειωμένο ποσοστό επιβίωσης συγκριτικά με τους ασθενείς, οι όγκοι των οποίων εξέφραζαν H3K4me2 σε τουλάχιστον 64% των καρκινικών κυττάρων	Kim et al., 2014
		2.εκφράζεται κατά τη φάση S του κυτταρικού κύκλου 3. η H3.1 είναι πλούσια σε απομεθυλωμένη H3 Lys9 (H3K9me2), η οποία σχετίζεται με την αποσιώπηση γονιδίων και το	H3T6ph	Πρωτεϊνική κινάση C τύπου β	NAD-εξαρτώμενη αποακετυλάση σιρτουίνη-1, NAD-εξαρτώμενη αποακετυλάση σιρτουίνη-6	Προγνωστική αξία	Υψηλό επίπεδο της H3T6ph συσχετίζεται με υψηλό επίπεδο PKC δραστηριότητας και σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση της συνολικής επιβίωσης ασθενών με GBM, που έλαβαν τυπική αγωγή με "τεμοζολομίδη και ακτινοβολία".	Pacaud et al., 2015

Histone 3.1	HIST1H3B, HIST1H3F	σηματισμό ετεροχρωματίνης	H3K9ac	Σύμπλεγμα πρωτεϊνών επιμήκυνσης 3, ακετυλοτρανσφεράση της ιστόνης KAT2A (GCN5)	NAD-εξαρτώμενη αποακετυλάση σιρτουίνη-1, NAD-εξαρτώμενη αποακετυλάση σιρτουίνη-6	Προγνωστική αξία	Οι ασθενείς, των οποίων οι όγκοι εξέφραζαν H3K9Ac σε <88 % των καρκινικών κυττάρων είχαν μειωμένο ποσοστό επιβίωσης συγκριτικά με τους ασθενείς, οι όγκοι των οποίων εξέφραζαν H3K9Ac σε τουλάχιστον 88% των καρκινικών κυττάρων	Kim et al., 2014 Liu et al., 2010
			H3K9me3	Μεθυλοτρανσφεράσες της λυσίνης SETDB1, SETDB2, SETDB3, SETDB4	Απομεθυλάση της λυσίνης 4A, απομεθυλάση της λυσίνης 4B, απομεθυλάση της λυσίνης 4C, απομεθυλάση της λυσίνης 4D	Προγνωστική αξία	72% των ολιγοδενδρογλιωμάτων βαθμού II κατά WHO και 65% αυτών βαθμού III κατά WHO έδειξαν συνδυασμό θετικής κατάστασης σε H3K9me3 και συν-διαγραφής της 1p19q. Η τριμεθυλίωση της H3K9 προσδίδει ευνοϊκή πρόγνωση στα ολιγοδενδρογλιώματα. Προγνωστική δράση του SUV39H1: το πυρηνικό SUV39H1 είχε ευνοϊκή δράση σε αντίθεση με το κυτταροπλασματικό SUV39H1.	Venneti et al., 2013, Sepsa et al., 2015, Kim et al., 2014
			H3S10ph	Κινάση Aurora-B, κινάση 1 ενεργοποιούμενη από μιτογόνα και στρες (MSK1), Κινάση 1 ενεργοποιούμενη	Πρωτεϊνική φωσφατάση 1	Προγνωστική αξία	Υψηλό επίπεδο της H3S10ph σχετίζεται με υψηλά επίπεδα ενεργότητας της κινάσης Aurora-B και με πτωχή πρόγνωση της συνολικής επιβίωσης ασθενών με GBM, που έλαβαν τυπική αγωγή με	Pacaud et al., 2015

				από μιτογόνα και στρες (MSK2), Αναστολέας της κινάσης του. Κάππα-B (IKK-α) Snf1	διπλής ειδικότητας		«τεμοζολομίδη και ακτινοβολία».	
			H3K18ac	Ακετυλοτρανσφεράση της ιστόνης (Gcn5) Ακετυλοτρανσφεράση της ιστόνης p300/CBP		Προγνωστική αξία	Η H3K18ac επηρέασε σημαντικά την επιβίωση ασθενών με πρωτογενές γλοιοβλάστωμα. Οι ασθενείς, των οποίων οι όγκοι εξέφραζαν H3K18Ac σε <74% των καρκινικών κυττάρων είχαν μεγαλύτερο ποσοστό επιβίωσης.	Kim et al., 2014
			H3K27me1	N-μεθυλοτρανσφεράσ η της λυσίνης (EZH1), N-μεθυλοτρανσφεράσ η της λυσίνης (EZH2), H3 lysine-9 specific 3, Histone-lysine N-methyltransferase, H3 lysine-9 specific 5		Προγνωστική αξία	Η αλληλούχιση των παιδιατρικών γλοιωμάτων έχει ταυτοποιήσει τις παρανοηματικές μεταλλάξεις Lys27Met (K27M) και Gly34Arg/Val (G34R/V) σε γονίδια που κωδικοποιούν τις ιστόνες H3.3 (H3F3A) και H3.1 (HIST3H1B). Οι H3K27me σχετίζονται με ταχεία θανατηφόρα έκβαση, και σημειώνονται συγκεκριμένα σε HGA (αστροκυτώματα υψηλού βαθμού) της μέσης γραμμής σε παιδιά και ενήλικες μικρής ηλικίας.	Lewis et al., 2013; Bechet et al., 2014; Kim et al., 2014
			H3K27me2	N-μεθυλοτρανσφεράσ η της λυσίνης (EZH2, N-μεθυλοτρανσφεράσ	Απομεθυλάση της λυσίνης (PHF8), Απομεθυλάση της λυσίνης			

				η της λυσίνης (NSD3)	6B, Απομεθυλάσ η της λυσίνης 7			
			H3K27me3	πρωτεϊνική κινάση ενεργοποιούμενη από μιτογόνα MLT, ριβοσωμική S6 κινάση, κινάση 12 σερίνης/θρεονίνης	Απομεθυλάση της λυσίνης 6A, Απομεθυλάση της λυσίνης 6B			
			H3Y41ph	Πρωτεϊνική κινάση τυροσίνης (JAK2)		Προγνωστική αξία	Υψηλά επίπεδα του H3Y41ph σχετίζεται με υψηλά επίπεδα ενεργότητας της JAK2 και με πτωχή πρόγνωση της συνολικής επιβίωσης ασθενών με GBM, που έλαβαν τυπική αγωγή με «τεμοζολομίδη και ακτινοβολία».	Pacaud et al., 2015
Histone H3.3	H3F3A, H3F3B		H3.3 K27M	Κατασταλτικό Σύμπλοκο Πρωτεΐνης polycomb 2 (PRC2)	Απομεθυλάση της λυσίνης (KDM4)	Παιδιατρικό γλοιώμα: Προγνωστική αξία	1. μελέτες έχουν δείξει ότι ~30 % του παιδιατρικού GBM και ~80 % των διάχυτων εγγενών γλοιωμάτων γέφυρας εγκεφάλου (DIPG) εμφανίζουν μεταλλάξεις K27M (λυσίνη προς μεθειονίνη), στο γονίδιο H3F3A.	Huang et al.,2018; Schwartzentuber et al.,2012

							2. περιστατικά με θετική χρώση για τις μεταλλάξεις H3.3 K27M, G34, έδειξαν σημαντικά πτωχή πρόγνωση συγκριτικά με αντίστοιχους αρνητικούς όγκους 3. τα επίπεδα δι- και τριμεθυλίωσης της H3K27 (H3K27me2 και H3K27me3) είναι γενικά μειωμένα σε δείγματα ασθενών H3.3K27M λόγω της έκφρασης του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου H3.3K27M	Venneti et al., 2014 Chan et al., 2013
Histone H4	HIST4H4, HIST2H4B, HIST1H4I, HIST1H4A, HIST1H4D, HIST1H4F, HIST1H4K, HIST1H4J, HIST1H4C, HIST1H4H, HIST1H4B, HIST1H4E, HIST1H4L, HIST2H4A	1.αποσιώπηση γονιδίων προάγοντας την αλληλεπίδραση με την ετεροχρωματίνη 2. η H4K20me3 συμμετέχει στην ωρίμανση και διαφοροποίηση κατά τη διαδικασία της νευριδίωσης	H4K20me3	Μεθυλοτρανσφεράση της λυσίνης SUV420H1, Μεθυλοτρανσφεράση της λυσίνης SUV420H2, Πιθανή μεθυλοτρανσφεράση της λυσίνης NSD2	Απομεθυλάση της λυσίνης (KDM4A), Δακτυλική Πρωτεΐνη 2, Απομεθυλάση 1 της λυσίνης των ιστονών (LSD1/KDM1A)	Προγνωστική αξία	Η H4K20me3 επηρέασε σημαντικά την επιβίωση ασθενών με δευτερογενές γλοιοβλάστωμα. Μεγαλύτερη επιβίωση έδειξαν οι ασθενείς, των οποίων οι όγκοι εξέφραζαν H4K20me3 σε υψηλότερα επίπεδα (≥ 75 % των καρκινικών κυττάρων)	.Liu BL et al., 2010; Kim et al., 2014 Sepsa et al., 2015 Wickramasekara et al., 2019
		3. Η H4K16Ac διαδραματίζει πολύ σημαντικό ρόλο στη	H4K16 ac	Ακετυλοτρανσφεράση, MOF	Σιρτουίνη 1 (SIRT1)		1.η επαγόμενη από το γλοίωμα μετατροπή των μικρογλοιακών κυττάρων συνδέεται με αύξηση του επιπέδου της ακετυλίωσης	Saidi et al., 2017 Fraga et al., 2005

		συγκρότηση υψηλότερης τάξης δομών χρωματίνης. Γενική μείωση της H4K16ac σε σχεδόν όλους τους ανθρώπινους όγκους και τις καρκινικές κυτταρικές σειρές.				Πιθανός μελλοντικός φαρμακευτικός στόχος	της ιστόνης H4 στη λυσίνη 16 (H4K16) στα μικρογλοιακά κύτταρα, μέσω αυξημένου πυρηνικού εντοπισμού της αποακετυλάσης σιρτουίνης 1 (SIRT1). Το γεγονός αυτό εν συνεχεία οδηγεί στην αποακετυλίωση της ακετυλοτρανσφεράσης της H4K16 hMOF και τη στρατολόγησή της στη χρωματίνη σε περιοχές του υποκινητή γονιδίων στόχων των μικρογλοιακών κυττάρων	
--	--	--	--	--	--	---	---	--

4. Απορρύθμιση των ενζύμων των ιστονών στο γλοίωμα

4.1 Μεθυλοτρανσφεράσες λυσίνης/αργινίνης στο γλοίωμα

Τα επιγενετικά φαινόμενα απορρυθμίζονται στον καρκίνο λόγω της μη φυσιολογικής ενεργοποίησης ή απενεργοποίησης των ενζύμων, που διατηρούν και τροποποιούν το επιγένομα. Οι τροποποιήσεις των ιστονών και η γενική παρέκκλιση στο επίπεδο των ιστονών μπορούν να οδηγήσουν σε διαστρεβλωμένα μοτίβα γονιδιακής έκφρασης και δυσλειτουργία των πρωτεϊνών που ρυθμίζουν την τροποποίηση και αναδόμηση της χρωματίνης. Πρόσφατες μελέτες σε ολόκληρο το γονιδίωμα έδειξαν ότι οι ιστόνες και οι πρωτεΐνες συνοδοί (chaperone proteins) φέρουν μεταλλάξεις που μπορεί να οδηγήσουν σε σημαντικές τροποποιήσεις του επιγενομάτος, έχοντας ως αποτέλεσμα τη γενωμική αστάθεια. Η ανάπτυξη του γλοιώματος είναι μία διαδικασία πολλών βημάτων, στην οποία συμμετέχουν γενετικές και επιγενετικές μεταβολές.

Συγκεκριμένα, μεταβολές στην αλληλουχία και/ή έκφραση των γονιδίων που κωδικοποιούν τις μεθυλοτρανσφεράσες λυσίνης και αργινίνης μπορεί να συμβάλουν στην παθογένεση και εξέλιξη του GBM (**Πίνακας 15**). Για παράδειγμα, η μεθυλοτρανσφεράση της λυσίνης G9a (EHMT2) καταλύει τη διμεθυλίωση της ιστόνης H3 στη λυσίνη 9 (H3K9me2). Αυτή η διαδικασία αποτελεί έναν επιγενετικό δείκτη, ο οποίος σχετίζεται σημαντικά με τη γονιδιακή καταστολή (Shinkai and Tachibana, 2011). Η έκφραση του γονιδίου της G9a έχει βρεθεί αυξημένη σε πολλούς καρκίνους, συμπεριλαμβανομένων των εγκεφαλικών όγκων, και η υπερέκφρασή της έχει συσχετιστεί με πτωχή πρόγνωση και πιο επιθετικό φαινότυπο καρκίνου (Casciello et al., 2015). Η έκφραση δύο άλλων μεθυλοτρανσφερασών της λυσίνης, των SUV39H1 και SETDB1, ήταν αυξημένη σε κυτταρικές σειρές γλοιώματος και σε ιστούς γλοιώματος συγκριτικά με το φυσιολογικό εγέφαλο, έχοντας θετική συσχέτιση με το βαθμό κακοήθειας και τον ιστολογικό τύπο. Επιπλέον, η καταστολή των δύο μεθυλοτρανσφερασών λυσίνης των ιστονών (HKMT) μείωσε τη μετανάστευση των κυττάρων και την κλωνογονική ικανότητα των κυτταρικών σειρών του γλοιώματος (Spytopoulou et al., 2013).

Παρόμοια, μία άλλη μελέτη έδειξε ότι η διαμεσολαβούμενη από την PRMT2 H3R8me2a αποτελεί πολύ σημαντική τροποποίηση για τους ενεργούς υποκινητές και ενισχυτές. Αυτή η τροποποίηση αποτελεί τη βάση για τουλάχιστον κάποια ογκογόνα μεταγραφικά προγράμματα στο GBM. Η μελέτη υποδεικνύει την PRMT2 ως πιθανό βιοδείκτη για την πρόβλεψη της συνολικής επιβίωσης και ως θεραπευτικό στόχο σε ασθενείς με GBM. Επιπρόσθετα, τα δεδομένα της παρέχουν μοριακές πληροφορίες σχετικά με τους μηχανισμούς με τους οποίους η PRMT2 συνδέεται στην H3R8me2a, έναν ελάχιστα γνωστό δείκτη ιστόνης, για την ενεργοποίηση των προγραμμάτων έκφρασης ογκογονιδίων. Αυτά τα ευρήματα ανοίγουν το δρόμο προς επαναστατικές θεραπευτικές επιλογές μπλοκάροντας είτε την ενεργότητα της PRMT2 είτε το σχετιζόμενο δίκτυο ρύθμισης της μεταγραφής, προκειμένου να μετριάσουν τα κακοήγη γλοιώματα (Dong et al., 2018).

Άλλα παραδείγματα απορρύθμισης των μεθυλοτρανσφερασών λυσίνης/αργινίνης ιστονών στο γλοϊώμα παρουσιάζονται στον **Πίνακα 15**.

Πίνακας 15. Απορρύθμιση μεθυλοτρανσφερασών λυσίνης/αργινίνης στο γλοϊώμα

Ένζυμο	Συνώνυμα	Ιστονική στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
KMT1A	SUV39H1	H3K9	Αυξημένη έκφραση του γονιδίου σε κυτταρικές σειρές γλοϊώματος (GOS-3, 1321N1, T98G, U87MG) και σε ιστούς γλοϊώματος συγκριτικά με το φυσιολογικό εγκέφαλο. Συσχετίζεται θετικά με το βαθμό και την ιστολογική κακοήθεια	Spyropoulou et al., 2013
KMT1E	SETDB1	H3K9		
KMT1C	G9a, EHMT2	H3K9me2	Η έκφραση του γονιδίου της G9a έχει βρεθεί αυξημένη σε εγκεφαλικούς όγκους	Casciello et al., 2015
KMT2A	MLL1	H3K4 H3K27	Το MLL1, είναι ένα γονίδιο ανταπόκρισης στην υποξία. Διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη βιολογία του γλοϊώματος μέσω της ρύθμισης του HIF2α και των καθοδικών (downstream) στόχων του HIF2α. Οι φωλεές (niches) των αρχέγονων κυττάρων γλοϊώματος (GSC) εκφράζουν υψηλότερα επίπεδα του MLL1 συγκριτικά με τα αντίστοιχα μη αρχέγονα καρκινικά κύτταρα και η αφαίρεση της MLL1 μειώνει την αυτό-ανανέωση, την ανάπτυξη και την ογκογονικότητα των GSC.	Heddleston et al., 2012
KMT2E	MLL5	H3K4	Η ιστονική H3.3 αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα που καθορίζει τις λειτουργικές ιδιότητες στο GBM σε ενήλικα άτομα. Η H3.3 καταστέλλεται από την πρωτεΐνη λευχαιμίας μικτού φαινοτύπου 5 (MLL5) σε αυτό-ανανεώσιμα κύτταρα του GBM.	Gallo et al., 2015
KMT3A	SETD2	H3K36	Οι όγκοι που φέρουν τη μετάλλαξη ETD εμφανίζουν σημαντική μείωση στα επίπεδα της H3K36me3, υποδεικνύοντας ότι αυτές είναι μεταλλάξεις απώλειας λειτουργίας. Σημειώνονται σε παιδιά μεγαλύτερης ηλικίας και σε ενήλικα άτομα μικρής ηλικίας. Είναι ειδικές για το HGG του εγκεφαλικού φλοιού, παρόμοια με τις μεταλλάξεις της H3.3 G34R/V και IDH.	Fontebasso et al., 2013
KMT3B	NSD1	H3K36		

KMT3E	SMYD3	H3K4, H4K5	Η SMYD3 υπερεκφράζεται στους ιστούς του γλοιώματος. Η υπερέκφραση της SMYD3 προάγει την ανάπτυξη των κυττάρων του γλοιώματος <i>in vitro</i> και την ογκογένεση του γλοιώματος <i>in vivo</i> . Για αυτό το λόγο, η SMYD3 αποτελεί δυνητικά ένα σημαντικό μοριακό στόχο για νέες θεραπείες κατά του γλοιώματος.	DAI et al., 2015
KMT4	DOT1L	H3K79me	Η αναστολή του DOT1L μειώνει την έκφραση των γονιδίων των αρχέγονων και προγονικών κυττάρων του GBM και αυξάνει την έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τη διαφοροποίηση των νευρώνων και των αστροκυττάρων.	Bozek et al., 2017
KMT6	EZH2	H3K27	Στα κύτταρα του γλοιώματος, η μείωση των επιπέδων του EZH2 μπορεί να καταστείλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη δραστηριότητα της ογκογένεσης, και παράλληλα να αναστέλλει την έκφραση ογκογονιδίων, συμπεριλαμβανομένων των c-myc και Akt.	Cheng et al., 2018
PRMT2		H3R8me2a	Εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο GBM και σχετίζεται με πτωχή πρόγνωση. Η αποσιώπηση ή απενεργοποίηση της PRMT2 αναστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων του GBM και την αυτο-ανανέωση των αρχέγονων κυττάρων του γλοιοβλαστώματος <i>in vitro</i> . Η PRMT2 ευθύνεται για την ασύμμετρη μεθυλίωση της H3R8 (H3R8me2a), της οποίας η αυξημένη έκφραση σε υποκινητές και ενισχυτές σχετίζεται στενά με γνωστούς ενεργούς δείκτες ιστονών και είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της έκφρασης των γονιδίων στόχων.	Dong et al., 2018
PRMT5		H4R3, H3R8	Είναι αυξημένη στο γλοίωμα υψηλού βαθμού και η έκφρασή της σχετίζεται αρνητικά με την επιβίωση των ασθενών. Θεραπευτικός στόχος	Yan et al., 2014 Han et al., 2014
PRMT1	ANM1 HCP1 HRMT1L2 IR1B4	H4R3	Η έκφραση της PRMT1 και τα επίπεδα της ασυμμετρικής διμεθυλαργινίνης (ADMA) είναι υψηλότερα σε κυτταρικές σειρές γλοιώματος συγκριτικά με φυσιολογικούς ιστούς του εγκεφάλου. Η μερική σίγαση (knock down) της PRMT1 μειώνει τα επίπεδα της ADMA.	Wang et al., 2012

4.2 Απομεθυλάσεις της λυσίνης στο γλοϊώμα

Αναφορικά με την απορρύθμιση στα ένζυμα της μεθυλίωσης των ιστονών, η αλληλούχηση κωδικών γονιδίων στα GBM αποκάλυψε μεταλλάξεις σε πολλά επιγενετικά ρυθμιστικά γονίδια, συμπεριλαμβανομένων των απομεθυλασών των ιστονών (**Πίνακας 16**). Συγκεκριμένα, η KDM1 απομεθυλιώνει τις H3K4 και H3K9 me1/2 και υπερεκφράζεται στο GBM (Sareddy et al., 2012) και η KDM5B απομεθυλιώνει τις H3K4 me2/3 και εκφράζεται θετικά στα αρχέγονα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος (Dai et al., 2014). Οι KDM1 και KDM5B έχουν αναγνωριστεί ως πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι και η KDM5A σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στην τεμοζολομίδα (TMZ) στα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος (Dai et al., 2018). Η ποικιλομορφή της ιστόνης H3.3 (H3F3A) συμμετέχει στην αναδόμηση της χρωματίνης και στην ενεργή μεταγραφή. Στο παιδιατρικό γλοϊώμα, οι μεταλλάξεις της H3.3 στη λυσίνη 27 (K27M) και τη γλυκίνη 34 (G34R/V) σημειώνονται σε περίπου 80% των περιστατικών (Jones et al., 2014) και οδηγούν σε υπομεθυλίωση της H3K27, επανακατανομή του δείκτη ενεργοποίησης H3K26, γενικευμένη υπομεθυλίωση του DNA, και παρεκκλίνουσα ενεργοποίηση γονιδίων συμπεριλαμβανομένου του *MYCN*, που αποτελεί οδηγό της γένεσης του γλοϊώματος (Bjerke et al., 2013). Η μεθυλίωση της H3K27 ρυθμίζεται αυστηρά από τις μεθυλάσες PRC2-EZH2 και τις απομεθυλάσες UTX (KDM6A) και KDM6B. Η KDM6B εμφανίζεται ως δυνητικός στόχος για πειραματικές θεραπείες στο GB, καθώς η αναστολή της ενεργότητας του KDM6B (και KDM6A) με τους GSK J4 (συνθετικοί αναστολείς του KDM6B) παρεμπόδισε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προκάλεσε απόπτωση σε εγγενή και TMZ R (ανθεκτικά στην τεμοζολομίδα) κύτταρα και απέτρεψε την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και την είσοδο στη φάση G2. Η αναστολή της απομεθυλάσης JMJD3 της ιστόνης H3 K27 δρα για την επαναφορά της μεθυλίωσης K27 στα κύτταρα του γλοϊώματος στον εγκέφαλο, ενώ παράλληλα παρουσιάζει αντικαρκινική δραστηριότητα, τόσο σε κυτταροκαλλιέργειες όσο και σε μοντέλα μοσχευμάτων παιδιατρικού γλοϊώματος του εγκεφάλου (**Πίνακας 16**).

Πίνακας 16. Απορρύθμιση απομεθυλασών της λυσίνης ιστονών στο γλοίωμα

Ένζυμο	Συνώνυμα	Ιστονή στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
KDM1A	LSD1, AOF2	H3K4me2/me1, H3K9me2/me1	Τα προερχόμενα από ασθενείς κύτταρα πρωτογενούς GBM εκφράζουν υψηλά επίπεδα KDM1 και η φαρμακολογική αναστολή του KDM1 μειώνει τον πολλαπλασιασμό τους. Επιπλέον, η αναστολή του KDM1 μειώνει την έκφραση του δείκτη αρχέγονων κυττάρων CD133 .	Sareddy et al., 2012
KDM1B	LSD2, AOF1	H3K4me2/me1	Το επαγόμενο από την υποξία miR-215 απαιτείται για την επιβίωση των κυττάρων που επάγουν το γλοίωμα (GIC) και την εξέλιξη του GBM. Το miR-215 καταστέλλει την έκφραση του KDM1B και τροποποιεί τις δραστηριότητες πολλαπλών μονοπατιών.	Hu et al., 2016
KDM2A	FBXL11A, JHDM1A	H3K36me2/me1	Το miR-3666 έχει ως στόχο το KDM2A. Αναστέλλοντας την έκφραση του KDM2A, το miR-3666 μειώνει τον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση και τη διήθηση των κυττάρων του GBM.	Shou et al., 2019
KDM2B	FBXL10B, JHDM1B	H3K36me2/me1, H3K4me3	Η έκφραση του γονιδίου της KDM2B είναι αυξημένη στους ιστούς των ασθενών με γλοίωμα και σχετίζεται με την εξέλιξη του καρκίνου. Η στόχευση της λειτουργίας του KDM2B γενετικά ή φαρμακολογικά μειώνει την επιβίωση των προερχόμενων από ασθενείς κυττάρων πρωτογενούς γλοιοβλαστώματος μέσω της επαγωγής βλάβης του DNA και απόπτωσης, καθιστώντας τα κύτταρα ευαίσθητα στη χημειοθεραπεία. Η αφαίρεση του KDM2B μειώνει την αποθήκη των GSC, γεγονός που ενισχύεται με τη συγχρόνηση χημειοθεραπείας.	Wang et al., 2018 Staberg et al., 2018

KDM4A	JMJD2A, JMJD3A	H3K9me3/me2, H3K36me3/me2	Η αναστολή της έκφρασης του KDM4A μπορεί να καταστείλει αποτελεσματικά την επιβίωση των κυττάρων του γλοιώματος προάγοντας την αυτοφαγία. Αυτό το γεγονός καθιστά το KDM4A έναν υποσχόμενο παράγοντα για την αντιμετώπιση των κακοηθών γλοιωμάτων.	Wang et al., 2016
KDM5A	Jarid1A, RBP2	H3K4me3/me2	Το γλοίωμα εμφανίζει χαμηλά επίπεδα KDM5A. Χαμηλότερα επίπεδα έχουν συνδεθεί με πτωχή επιβίωση σε ασθενείς με γλοίωμα. Το KDM5A εκτελεί μία λειτουργία κατά της διηθητικότητας εν μέρει μέσω της καταστολής της έκφρασης της ογκοπρωτεΐνης ZEB1 διαμεσολαβώντας απομεθυλίωση της H3K4. Το KDM5A εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα σε ανθεκτικά στη φαρμακευτική αγωγή κύτταρα που προέρχονται από μία καθιερωμένη κυτταρική σειρά του GBM καθώς και σε CSC (αρχέγονα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος) του GBM. Η εξωγενής έκφραση και απενεργοποίηση του KDM5A μιμείται την ανθεκτικότητα και την ευαισθησία στη φαρμακευτική αγωγή, αντίστοιχα.	Banelli et al., 2015 Dai et al., 2018
KDM5B	Jarid1B, PLU1	H3K4me3/me2	Η έκφραση του γονιδίου της KDM5B είναι σημαντικά αυξημένη στο γλοίωμα. Οι ασθενείς με μεγαλύτερη έκφραση του KDM5B τείνουν να έχουν χαμηλότερη συνολική επιβίωση. Το KDM5B προάγει την κυτταρική ανάπτυξη <i>in vitro</i> και <i>in vivo</i> . Το KDM5B προάγει τον πολλαπλασιασμό του γλοιώματος εν μέρει μέσω της ρύθμισης της έκφρασης της πρωτεΐνης p21.	Dai et al., 2014
KDM6A	UTX, MGC141941	H3K27me3/me2	Η KDM6B εμφανίζεται ως δυνητικός στόχος για πειραματικές θεραπείες στο GB, εφόσον η αναστολή της ενεργότητας του KDM6B (και	Lulla et al., 2016
	JMJD3, KIAA0346,			

KDM6B	PHF8, KIAA1111, ZNF422	H3K27me3/me2, H3K9me2/me1, H4K20me1	KDM6A) με τους GSK J4 (συνθετικοί αναστολείς του KDM6B) παρεμπόδισε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προκάλεσε απόπτωση σε εγγενή και TMZ R (ανθεκτικά στην τεμοζολομίδη) κύτταρα και απέτρεψε την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και την είσοδο στη φάση G2. Η αναστολή της απομεθυλάσης JMJD3 της ιστόνης H3 K27 δρ. για την επαναφορά της μεθυλίωσης K27 στα κύτταρα του γλοιώματος στον εγκέφαλο, ενώ παράλληλα παρουσιάζει αντικαρκινική δραστηριότητα, τόσο σε κυτταροκαλλιέργειες όσο και σε μοντέλα μοσχευμάτων παιδιατρικού γλοιώματος του εγκεφάλου	Romani et al., 2019
-------	------------------------------	---	---	------------------------

4.3 Ακετυλοτρανσφεράσες/αποακετυλάσες των ιστονών στο γλοίωμα

Πολλά ένζυμα ακετυλίωσης και αποακετυλίωσης των ιστονών έχουν βρεθεί απορρυθμισμένα στο γλοίωμα (Πίνακας 17, Πίνακας 18). Η μελέτη των Lv D. et al 2017 αποκάλυψε ότι η KAT6A προάγει την ακετυλίωση της H3K23, οδηγώντας σε αυξημένη έκφραση της PIK3CA και ενεργοποίηση της σηματοδότησης PI3K/Akt, έχοντας ως τελικό αποτέλεσμα την αυξημένη ογκογένεση.

Η ανάλυση της αλληλουχίας κωδικών γονιδίων στο GBM αποκάλυψε μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται στην επιγενετική ρύθμιση, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που κωδικοποιούν τις αποακετυλάσες των ιστονών (HDAC). Μελέτες που εστιάζουν στα μοτίβα έκφρασης των HDAC στο γλοιοβλάστωμα, δείχνουν ότι αυτοί οι ιστοί παρουσιάζουν ελαφρώς αυξημένα επίπεδα έκφρασης των HDAC1, HDAC3, και HDAC6 συγκριτικά με μη νεοπλασματικούς εγκεφαλικούς ιστούς, μετά από εξέταση σε επίπεδο πρωτεΐνης και mRNA (Li et al., 2018, Zhong et al., 2018, Wang et al., 2016). Τα ευρήματα στη συνέχεια έδειξαν ότι τα επίπεδα έκφρασης των HDAC1 και HDAC3 σχετίζονται με το βαθμό κακοήθειας των όγκων κατά WHO, όπου η μεγαλύτερη έκφραση σημειώθηκε στα πιο κακοήγη γλοιώματα. Επιπλέον, η HDAC3 συσχετίστηκε με πτωχή πρόγνωση (Zhong et al., 2018). Μια άλλη μελέτη παρατήρησε ότι η HDAC9 υπερεκφραζόταν στα γλοιοβλαστώματα με πτωχή πρόγνωση (Yang et al., 2014).

Ο ρόλος της SIRT στο γλοιοβλάστωμα βρίσκεται υπό συζήτηση λόγω διφορούμενων αποτελεσμάτων σε κάποιες μελέτες. Κάποιες έχουν συσχετίσει τη μειωμένη έκφραση των γονιδίων των SIRT1 και SIRT6 με το γλοιοβλάστωμα (Feng et al., 2016), ενώ άλλες μελέτες

έχουν δείξει ότι αυτές υπερεκφράζονται και συσχετίζονται με πτωχή πρόγνωση. (Deng et al., 2016; Chen et al., 2019).

Οι αναστολείς των αποακετυλασών των ιστονών (HDACi) αποτελούν έναν υπό διερεύνηση πιθανό τρόπο επιγενετικής θεραπείας για το GBM με μεικτά αποτελέσματα. Ενώ αυτοί οι παράγοντες φαίνονται αποτελεσματικοί σε προκλινικό επίπεδο, μόνο ορισμένοι από αυτούς τους παράγοντες είναι τελικά δραστηριοί σε κλινικό επίπεδο, είτε ως μονοθεραπεία είτε σε συνδυασμό με άλλη φαρμακευτική αγωγή.

Πίνακας 17. Απορρύθμιση ακετυλοτρανσφερασών των ιστονών στο γλοίωμα

Ένζυμο	Συνώνυμα	Ιστονή στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
Οικογένεια MYST				
KAT6A/MYST3	MOZ	H3K23ac	Η KAT6A προάγει τον πολλαπλασιασμό του γλοιώματος μέσω του μονοπατιού H3K23ac/TRIM24-PI3K/AKT. Πιθανός θεραπευτικός στόχος	Lv et al., 2017
KAT8	MOF, MYST1	H4K16ac	Το γλοίωμα επάγει αύξηση της H4K16ac στα μικρογλοιακά κύτταρα. Οι hMOF και SIRT1 αποτελούν μέρος του μονοπατιού προκαρκινικής ενεργοποίησης των μικρογλοιακών κυττάρων, το οποίο ξεκινά από καρκινικά κύτταρα του γλοιώματος. Αποτελούν νέους θεραπευτικούς στόχους.	Saidi et al., 2017

Πίνακας 18. Απορρύθμιση αποακετυλασών των ιστονών στο γλοίωμα

Ένζυμο	Ιστονή στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
HDAC1	H4K16, H3K56	Τα επίπεδα της HDAC1 είναι αυξημένα σε κυτταρικές σειρές γλοιομάτος και σε ιστούς γλοιομάτος. Τα κύτταρα με μερική σίγαση (knockdown) της HDAC1 εμφανίζουν μειωμένη ικανότητα πολλαπλασιασμού και διήθησης, ενώ τα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος με υπερέκφραση της HDAC1 εμφανίζουν αυξημένη ικανότητα πολλαπλασιασμού και διήθησης <i>in vitro</i> . Η HDAC1 προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη διήθηση των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος ενεργοποιώντας τα σηματοδοτικά μονοπάτια PI3K/AKT και MEK/ERK <i>in vitro</i> και <i>in vivo</i> . Η HDAC1 αποτελεί νέο βιοδείκτη και δυνητικό θεραπευτικό στόχο στο γλοιοβλάστωμα.	Li et al., 2018
HDAC2	H4K16, H3K56	Η έκφραση της HDAC2 είναι σημαντικά αυξημένη στα κύτταρα του GBM. Η αποσιώπηση της HDAC2 μέσω ειδικών siRNA μπορεί να καταστείλει τον <i>in vitro</i> πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση, και διήθηση των κυττάρων GBM U87 και A172. Η αποσιώπηση της HDAC2 μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία των κυττάρων του GBM στην τεμοζολομίδα (TMZ).	Zhang et al., 2016
HDAC3	Αποακετυλίωση των καταλοίπων λυσίνης στο N-άκρο των πυρηνικών ιστονών, H3K27	Το mRNA της HDAC3 υπερεκφράζεται στο γλοίωμα συγκριτικά με τη φυσιολογική κυτταρική σειρά του γλοιομάτος. Χαμηλά επίπεδα έκφρασης του mRNA της HDAC3 προβλέπουν καλύτερη συνολική επιβίωση. Η έκφραση της HDAC3 μπορεί να αποτελέσει βιοδείκτη για τον διαχωρισμό του βαθμού του γλοιομάτος.	Zhong et al., 2018
HDAC4	Κατάλοιπα λυσίνης στο N-τελικό τμήμα των πυρηνικών ιστονών	Η HDAC4 είναι σημαντικά αυξημένη στο γλοίωμα και προάγει τον πολλαπλασιασμό και τη διήθηση των κυττάρων του γλοιομάτος μέσω καταστολής των p21, p27, E-καντχερίνης και β-καντενίνης, και της ενίσχυσης των CDK1, CDK2 και βιμεντίνης. Αποτελεί χρήσιμο προγνωστικό βιοδείκτη και πιθανό θεραπευτικό στόχο για το γλοίωμα.	Cai et al., 2018
HDAC5 HDAC5	p53	Η HDAC5 προάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων γλοιομάτος, και αυτή η δράση εικάζεται ότι εμπλέκει την αυξημένη έκφραση του γονιδίου Notch 1	Liu et al., 2014
HDAC6	Αποακετυλίωση των καταλοίπων λυσίνης στο N-τελικό τμήμα των πυρηνικών ιστονών	Η HDAC6 υπερεκφράζεται στους ιστούς και σε κυτταρικές σειρές γλοιοβλαστώματος. Η αυξημένη έκφραση του γονιδίου της HDAC6 προάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του γλοιομάτος καθώς και την ανθεκτικότητά τους στην τεμοζολομίδα (TMZ). Αντίστροφα, η μερική σίγαση της HDAC6 αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει απόπτωση. Προκλινική ανάπτυξη του φαρμάκου	Wang et al., 2016

HDAC9	α-τουμπουλίνη, HSP90, κορτακτίνη	Η HDAC9 υπερεκφράζεται σε ασθενείς με γλοιοβλάστωμα και πτωχή πρόγνωση. Η μερική σίγαση της HDAC9 μειώνει τον πολλαπλασιασμό <i>in vitro</i> και το σχηματισμό όγκου <i>in vivo</i> . Η HDAC9 επιταχύνει τον κυτταρικό κύκλο εν μέρει ενισχύοντας το σηματοδοτικό μονοπάτι του EGFR. Θεραπευτικός στόχος στο GBM	Yang et al., 2014
HDAC10, HDAC11	Δεν έχει προσδιοριστεί	Η έκφραση των γονιδίων των HDAC10 και HDAC11 είναι μειωμένη σε όλες τις ομάδες (παιδιατρικό GBM, παιδιατρικό αναπλαστικό αστροκύττωμα, DIPG, νευροβλάστωμα, μυελοβλάστωμα) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου «φυσιολογική παρεγκεφαλίδα»	Pinkstone et al., 2016
SIRT1	H1K26, H4K16, H3K9 , p53, p73, PTEN, FOX01, FOX03a, FOX04, NICD, MEF2, HIF-1α, HIF-2α, TAF(I)68, SREBP-1c, β-κατενίνη, RelA/p65, PGC1α, BMAL1, Per2, Ku70, XPA, SMAD7, κορτακτίνη, IRS-2, APE1, PCAF, TIP60, p300, SUV39H1, AceCS1, PPARγ, ER-α, ERα, AR, LXR	Η SIRT1 υπερεκφράζεται σε ιστούς και κύτταρα του γλοιώματος, και οι ασθενείς με μεγαλύτερη έκφραση της SIRT1 έχουν χειρότερη πρόγνωση. Η αναστολή της SIRT1 παρεμποδίζει τον πολλαπλασιασμό των U87 και U251 κυττάρων. Επιπλέον, η μερική σίγαση και οι αναστολές της SIRT1 μπορούν να ευαισθητοποιήσουν σημαντικά τα κύτταρα του γλοιώματος στην αγωγή με TMZ <i>in vitro</i> και <i>in vivo</i> . Ωστόσο, άλλη μελέτη δείχνει ότι η έκφραση του γονιδίου της SIRT1 είναι μειωμένη στο γλοιοβλάστωμα. Υψηλά επίπεδα έκφρασης του mRNA της SIRT1 συσχετίζονται με την ομάδα που είχε ευνοϊκή πρόγνωση, συγκριτικά με την ομάδα με πτωχή πρόγνωση και την ομάδα ελέγχου.	Chen et al., 2019 Yao et al., 2018
SIRT2	H4K16, H3K56 , α-τουμπουλίνη, ATP-κιτρική λυάση, SETD8, CDK9	Η υπερέκφραση της Sirt2 μειώνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ικανότητα σχηματισμού αποικίας στα κύτταρα του γλοιώματος. Επιπλέον, η υπερέκφραση της Sirt2 προκαλεί κυτταρική απόπτωση μέσω αυξημένης έκφρασης της διασπασμένης κασπάσης 3 και της Bax, και μειωμένης έκφρασης της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2.	Li et al., 2013
SIRT3	H4K16, H3K56, H3K9 , GDH, IDH2, HMGCS2, SOD2, AceCS2, Ku70, LCAD, SdhA, PDHA1	Προγνωστικός ρόλος: η έκφραση της Sirt3 είναι χαμηλότερη στους ιστούς του γλοιώματος συγκριτικά με το φυσιολογικό εγκεφαλικό ιστό. Υψηλότερη Sirt3 σχετίζεται σημαντικά με προχωρημένο βαθμό όγκου, υποδεικνύοντας τον πιθανό ρόλο της στην εξέλιξη του καρκίνου.	Luo et al., 2018
SIRT6	H3K9, H3K56	Η SIRT6 καταστέλλει την ανάπτυξη των κυττάρων του γλοιώματος επάγοντας απόπτωση, αναστέλλοντας το οξειδωτικό στρες και την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού JAK2/STAT3. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η SIRT6 μπορεί να αποτελεί έναν υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο για τη θεραπεία του γλοιώματος.	Feng et al., 2015
		Η έκφραση του γονιδίου της Sirt7 είναι αυξημένη σε ανθρώπινους ιστούς γλοιώματος και τα υψηλά επίπεδα έκφρασης της Sirt7 σχετίζονται θετικά με	

SIRT7	H3K18 , p53	την κακοήθεια του γλοιώματος. Η καταστολή της έκφρασης της Sirt7 μπορεί να αναστείλει την ενεργοποίηση της φωσφορυλιωμένης ρυθμιζόμενης από εξωκυττάρια σήματα κινάσης (p-ERK) παράλληλα με τη μειωμένη έκφραση της εξαρτώμενης από την κυκλίνη κινάσης 2 (CDK2) στα κύτταρα του γλοιώματος.	Mu et al., 2019
-------	-------------	--	-----------------

4.4 Φωσφορυλίωση των ιστονών στο γλοίωμα

Ο ρόλος της φωσφορυλίωσης των ιστονών στο γλοίωμα δεν έχει μελετηθεί εκτενώς. Αυτό το κενό στην αντικαρκινική θεραπεία θα μπορούσε να θεωρηθεί σημαντικό, δεδομένου ότι η χρήση επαρκών αναστολέων των κινασών, για παράδειγμα, θα μπορούσε να επανορθώσει τη μη φυσιολογική φωσφορυλίωση των ιστονών, η οποία σχετίζεται με πτώχη πρόγνωση.

Μια από τις περισσότερο μελετημένες κινάσες είναι η εωσική (aurora) κινάση A, AURKA, γνωστή και ως κινάση σερίνης/θρεονίνης 15 (STK15), η οποία αποτελεί μία βασική ρυθμιστική πρωτεΐνη που ελέγχει την ωρίμανση του κεντροσώματος, το σχηματισμό της μιτωτικής ατράκτου, και το διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων (Kollareddy et al., 2008).

Η ανάλυση του προφίλ της γονιδιακής έκφρασης της εωσικής (aurora) κινάσης A έδειξε σημαντική αύξηση στο γλοιοβλάστωμα συγκριτικά με τα δείγματα φυσιολογικού εγκεφάλου και τα πιλοκυτταρικά αστροκυττώματα. Επιπρόσθετα, η υψηλή έκφραση του mRNA της AURKA σχετίστηκε σημαντικά με υψηλού βαθμού κακοήθειας νεοπλάσματα του ΚΝΣ. Η έκφραση του mRNA της AURKA μπορεί να αποτελεί έναν γενικό δείκτη κακοήθειας του όγκου (Lehman et al., 2012; Loh et al., 2010) (**Πίνακας 19**). Μια άλλη πρωτεϊνική κινάση η PKCβ ταυτοποιήθηκε επίσης στα κύτταρα του γλοιώματος και η χρήση του αναστολέα της (enzastaurin, αναστολέας της PKCβ) αύξησε τον επαγόμενο από TMZ+ακτινοβολία κυτταρικό θάνατο σε πρωτογενή καλλιέργεια καρκινικών GBM κυττάρων (PCTC), που παρουσίαζαν υψηλά επίπεδα pH3T3 και φαινότυπο ανθεκτικότητας στη θεραπεία TMZ+ακτινοβολία (Pacaud et al., 2015).

Πίνακας 19 Απορρύθμιση κινασών των ιστονών στο γλοίωμα

Ένζυμο	Ιστονική στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
Εωσική (aurora) κινάση B AURKA	H3S10	Υψηλά επίπεδα της pH3S10 συσχετίζεται με υψηλά επίπεδα της ενεργότητας της Aurora-B στα κύτταρα του γλοιώματος. Ο αναστολέας της Aurora B (AZD1152-HQPA) βελτιώνει τα ποσοστά επιβίωσης ποντικών που φέρουν μοσχεύματα γλοιοβλαστώματος.	Pacaud et al., 2015 Diaz et al., 2012 Lehman et al., 2012 Loh et al., 2010
PKCβ PKCα	H3T6	Η pH3T6 συσχετίζεται με υψηλά επίπεδα ενεργότητας της PKC. Τα GBM κύτταρα, τα οποία εκφράζουν υψηλά επίπεδα pH3T3 και φαινότυπο ανθεκτικότητας στη θεραπεία TMZ+ακτινοβολία, παρουσιάζουν αυξημένο κυτταρικό θάνατο μετά τη χρήση αναστολέα της PKCβ (enzastaurin).	Pacaud et al., 2015
		Υψηλά επίπεδα της pH3Y41 συσχετίζονται με υψηλά επίπεδα ενεργότητας της Jak2 στα κύτταρα	Pacaud et al., 2015

Jak2	H3Y41	του γλοιώματος. Το AZD1480 (αναστολέας της Jak2) αυξάνει τον επαγόμενο από TMZ+ακτινοβολία κυτταρικό θάνατο σε PCTC του GBM, που παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα pH3Y41 και φαινότυπο ανθεκτικότητας στη θεραπεία TMZ+ακτινοβολία	
------	-------	--	--

4.5 Σουμοϋλίωση (SUMOylation) στο γλοίωμα

Η σουμοϋλίωση πρωτεϊνών είναι μία δυναμική μετα-μεταφραστική τροποποίηση, η οποία συμμετέχει σε πολλές διαφορετικές βιολογικές διαδικασίες του κυττάρου. Οι κακοήθειες των αστροκυττάρων, συμπεριλαμβανομένων του GBM, ήταν από τους πρώτους καρκίνους, στους οποίους ανιχνεύτηκε συνολική αύξηση της σουμοϋλίωσης (Yang et al., 2013). Οι Yang et al. έδειξαν μια αύξηση σχεδόν 30 φορές στα επίπεδα των συζευγμένων με SUMO-1 και SUMO-2/3 πρωτεϊνών σε δείγματα ασθενών με GBM. Η σουμοϋλίωση ήταν επίσης σημαντικά αυξημένη στα αστροκυττάρματα βαθμού II και III αλλά ήταν μέγιστη στο GBM (Yang et al., 2013).

Η έκφραση ορισμένων συστατικών του μονοπατιού της σουμοϋλίωσης είναι επίσης αυξημένη τόσο σε δείγματα GBM όσο και σε κυτταρικές σειρές, συμπεριλαμβανομένων των συστατικών E1 (SAE1), E2 (Ubc9) καθώς και της ειδικής για τη SUMO πρωτεάσης (SENP1) (**Πίνακας 20**) (Zhang et al., 2016; Yang et al., 2019; Wang & Ji 2019). Συνολικά, αυτές οι μελέτες υποδεικνύουν ότι η σουμοϋλίωση είναι αυξημένη/παρεκκλίνουσα στο GBM.

Πίνακας 20 Απορρύθμιση ενζύμων σουμοϋλίωσης στο γλοίωμα

Ένζυμο	Ιστόνη στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
SENP1	Κατάλοιπα λυσίνης στην H4	Η μειωμένη έκφραση του γονιδίου του SENP1, που διαμεσολαβείται από μικρού μήκους RNA με δομή μίσχου (shRNA), αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων, και προάγει την απόπτωση σε ανθρώπινα κύτταρα γλοιώματος	Zhang et al., 2016
SAE1	Η σουμοϋλίωση των ιστονών διαμεσολαβεί τη μεταγραφική καταστολή μέσω της στρατολόγησης αποακετυλασών των ιστονών και της πρωτεΐνης ετεροχρωματίνης 1 (HP1). Κατάλοιπα λυσίνης στην H4	Το SAE1 προάγει την εξέλιξη του γλοιώματος μέσω της ενίσχυσης του σηματοδοτικού μονοπατιού Akt που διαμεσολαβείται από τη σουμοϋλίωση, γεγονός που υποδηλώνει ότι η στόχευση της σουμοϋλίωσης αποτελεί υποσχόμενη θεραπευτική στρατηγική για το ανθρώπινο γλοίωμα	Yang et al., 2019
		Τα επίπεδα της πρωτεΐνης Ubc9 συσχετίζονται θετικά με το επίπεδο της (CRMP2), και αμφότερες	

UBC9		μπορούν να προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του GBM. Η παρεμπόδιση της σουμυλίωσης της CRMP2 καταστέλλει τον επαγόμενο από τη CRMP2 πολλαπλασιασμό των κυττάρων του GBM.	Wang & Ji 2019
------	--	--	----------------

4.6 Ουβικιτίνωση (ubiquitination) των ιστονών στο γλοίωμα

Πολυάριθμες ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις έδειξαν ότι υπάρχουν παρεκκλίνοντα μοτίβα ουβικιτίνωσης των ιστονών σε πολλούς τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του μυελοβλαστώματος και του γλοιοβλαστώματος. Για παράδειγμα, έχει φανεί ότι το ένζυμο BMI1 υπερεκφράζεται στα κύτταρα του GBM και ιδιαίτερα στα GSC (αρχέγονα κύτταρα γλοιοβλαστώματος) (Abdoun et al 2009; Kong et al., 2018). Μια ακόμη υδρολάση της ουβικιτίνης, η ειδική για την ουβικιτίνη πεπτιδάση 22 (USP22), η οποία καταλύει την αφαίρεση του μεγαλύτερου τμήματος της μονο-ουβικιτίνης από την ιστόνη H2B (H2Bub1), υπερεκφράζεται και συσχετίζεται με πτωχή πρόγνωση στο γλοιοβλάστωμα (Πίνακας 21) (Qiu et al., 2018).

Πίνακας 21. Απορρύθμιση ενζύμων ουβικιτίνωσης των ιστονών στο γλοίωμα

Ένζυμο	Ιστόνη στόχος	Απορρύθμιση	Βιβλιογραφία
BMI1	H2AK119ub1	Το BMI-1 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο GBM και ιδιαίτερα στα αρχέγονα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος (GSC). Ένας νέος ειδικός αναστολέας του BMI (PTC-209) μειώνει αποτελεσματικά την έκφραση του γονιδίου του BMI-1 και την ιστόνη H2AK119ub1. <i>In vitro</i> , ο PTC-209 αναστέλλει αποτελεσματικά τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος, και την αυτο-ανανέωση των GSC.	Kong et al., 2018 Abdoun et al., 2009
USP22	H2Bub1 H2Aub1	Το USP22 υπερεκφράζεται στο γλοιοβλάστωμα και συσχετίζεται με πτωχή πρόγνωση. Το USP22 είναι περισσότερο αυξημένο στα αρχέγονα κύτταρα (GSC) συγκριτικά με τα διαφοροποιημένα κύτταρα του γλοιώματος και η μερική σίγαση του USP22 αναστέλλει την ιδιότητα των GSC κυττάρων να είναι αρχέγονα.	Qiu et al., 2018
BRCA1/BARD1	H2A ub	Το BRCC3 επάγει επιδιόρθωση του DNA και καθιστά τα κύτταρα του γλοιώματος ανθεκτικά στην TMZ. Τα ευρήματα υποδεικνύουν το BRCC3 ως πιθανό στόχο για τη θεραπεία του γλοιώματος που είναι ανθεκτικό σε αλκυλιωτικούς φαρμακευτικούς παράγοντες.	Chai et al., 2014
USP 15	H2B ub	Το USP15 μπορεί να διαδραματίζει ογκοκατασταλτικό ρόλο και στοχεύεται σε ένα υποσύνολο GBM μέσω διαγραφής, οδηγώντας σε αυξημένη δραστηριότητα του WNT μονοπατιού.	Oikonomaki et al., 2017

5. Επιγενετικές Θεραπείες των γλοιωμάτων

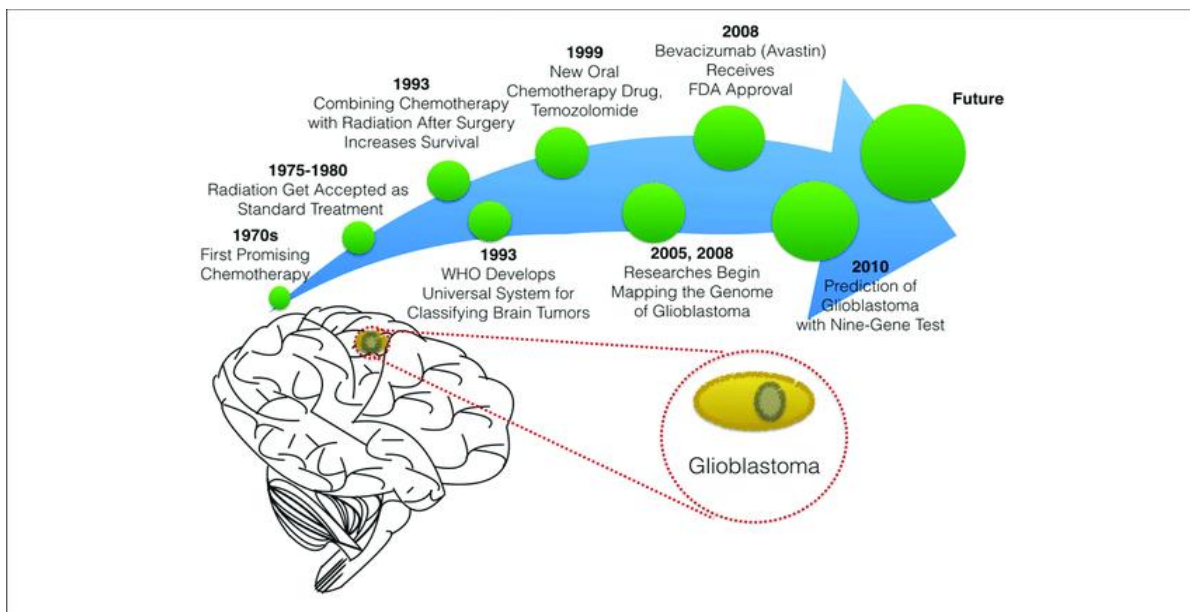
5.1 Ιστορική αναδρομή στη θεραπεία του γλοιώματος

Το γλοιοβλάστωμα (πολύμορφο γλοιοβλάστωμα, GBM) ευθύνεται για το 4% όλων των θανάτων από καρκίνο και 2% των ασθενών εμφανίζουν 5ετή επιβίωση. Αποτελεί έναν από τους πιο θανάσιμους ανθρώπινους όγκους με τη μέση επιβίωση να κυμαίνεται από 14 έως 24-30 μήνες, ανάλογα με τον μοριακό υποτύπο του όγκου (Hanif et al., 2017). Μετά από τη διάγνωση, η αντιμετώπιση του γλοιώματος περιλαμβάνει ευρεία χειρουργική εκτομή, ακολουθούμενη από τεμοζολομίδα και ακτινοβολία (Stupp et al., 2005).

Η τεμοζολομίδα αποτελεί την καθιερωμένη θεραπεία και είναι ένας αλκυλιωτικός παράγοντας του DNA. Ανακαλύφθηκε τη δεκαετία του 1970 και εγκρίθηκε από τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) το 2005 για την αντιμετώπιση των νεοδιαγνωσμένων εγκεφαλικών όγκων. Η πρώτη κλινική μελέτη με τεμοζολομίδα διεξήχθη το 1993, και από τους 10 ασθενείς που έλαβαν επικουρική τεμοζολομίδα, οι πέντε έδειξαν σημαντική κλινική και ακτινογραφική βελτίωση (O'Reilly et al., 1993). Η επιτυχία αυτής της αρχικής μελέτης προέτρεψε περαιτέρω επιτυχείς μελέτες της τεμοζολομίδης σε ασθενείς με GBM (**Εικόνα 14**).

Η εν εξελίξει έρευνα στην αγγειογένεση έχει επίσης υποδείξει κάποιους υποσχόμενους στόχους στο γλοιοβλάστωμα βάσει της υπόθεσης ότι, η διακοπή της παροχής αίματος σε έναν όγκο θα μπορούσε να αφήσει τα αναπτυσσόμενα καρκινικά κύτταρα χωρίς τροφή. Η μπεβασιζουμάμπη (bevacizumab, Avastin), ένα φάρμακο που στοχεύει στον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF-A), προτάθηκε για προκλινική μελέτη στοχευμένης θεραπείας για τον εγκεφαλικό καρκίνο. Το Avastin είναι ένα φάρμακο κατά της αγγειογένεσης που παρεμβαίνει στην ανάπτυξη αιμοφόρων αγγείων απαραίτητων για την ανάπτυξη και τη διηθητικότητα του όγκου (Friedman et al., 2009). Βάσει της αποτελεσματικότητάς του, ο FDA ενέκρινε εσπευσμένα τη μπεβασιζουμάμπη στην αντιμετώπιση του υποτροπιάζοντος γλοιοβλαστώματος (Whittle et al., 2015) (**Εικόνα 14**).

Δεδομένων των περιορισμών των τρέχουσων θεραπευτικών στρατηγικών (χειρουργική επέμβαση, χημειοθεραπεία και/ή ακτινοβολία), παραμένει αναγκαία η ανάπτυξη καινοτόμων προσεγγίσεων για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος. Προκειμένου να είναι αποτελεσματική οποιαδήποτε νέα θεραπεία, θα πρέπει εκτός από ειδική και ελεγχόμενη να παρουσιάζει αποτελεσματικότητα. Γιατί όμως τα φάρμακα δεν έχουν αποτέλεσμα;



Εικόνα 14 Επιτεύγματα που οδήγησαν στις υπάρχουσες θεραπείες για την αντιμετώπιση του γλοιοβλαστώματος (Ozdemir-Kaynak E. et al 2018).

5.2 Γιατί τα φάρμακα δεν έχουν αποτέλεσμα;

Παρά την τεράστια πρόοδο στην κατανόηση της γενετικής των γλοιωμάτων, οι μοριακά στοχευμένες θεραπείες έχουν αποτύχει μέχρι στιγμής σε δοκιμές φάσεις III σε ασθενείς. Στυλοβάτες της θεραπείας παραμένουν οι κλασικές θεραπευτικές στρατηγικές: η χειρουργική επέμβαση, η ακτινοβολία, και/ή η χημειοθεραπεία (κυρίως TMZ-τεμοζολομίδη) (Weller et al., 2015).

Υπάρχουν αρκετοί λόγοι που συμβαίνει αυτό:

1. Αιματοεγκεφαλικός φραγμός

Μία πρόκληση ειδική για το γλοιοβλάστωμα και ένας πιθανός φραγμός στην εφαρμογή της ανοσοθεραπείας σε αυτούς τους όγκους, είναι η παρουσία του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB), ο οποίος σχηματίζει ένα προστατευτικό περίβλημα γύρω από τον εγκέφαλο, και αποτελείται από στενούς δεσμούς μεταξύ των αστροκυττάρων. Πολλές στοχευμένες θεραπείες αποτυγχάνουν στις κλινικές μελέτες επειδή δεν διαπερνούν αποτελεσματικά τον BBB. Για αυτό το λόγο υπάρχει η ανάγκη να ανακαλυφθούν καινοτόμες θεραπευτικές προσεγγίσεις για την αντιμετώπιση του GBM.

2. Πληθυσμός αρχέγονων κυττάρων γλοιοβλαστώματος

Ένα από τα πλέον απαιτητικά μέρη της θεραπείας του GBM είναι η πλήρης εξάλειψη του πληθυσμού των αρχέγονων κυττάρων του γλοιοβλαστώματος (Glioma stem cells, GSC) (Clarke et al., 2013). Ανάμεσα στην ετερογενή κυτταρική μάζα των γλοιωμάτων, έχει περιγραφεί ένας μικρός υποπληθυσμός κυττάρων, που καλείται GSC, και ευθύνεται για την

έναρξη εγκεφαλικών όγκων. Επιπλέον είναι ο κύριος υπεύθυνος για την επανεμφάνιση του κακοήθους γλοιώματος, λόγω της ικανότητάς του να αυτό-ανανεώνεται και της δυνατότητας διαφοροποίησης σε πολλές σειρές (Jiang et al., 2016; Lubanska and Porter, 2017). Οι χημειοθεραπείες συνήθως θανατώνουν τα κύτταρα που πολλαπλασιάζονται επάγοντας βλάβη στο DNA, αλλά δεν επηρεάζουν τα αρχέγονα κύτταρα, τα οποία παραμένουν στην αρχική τους θέση μετά την εκτομή και τελικά οδηγούν στη διήθηση και επανεμφάνιση του όγκου, καθώς και σε ανθεκτικότητα του GBM στην TMZ (Lubanska and Porter, 2017). Για αυτό το λόγο, πολλές πρόσφατες μελέτες εστιάζουν σε αυτόν τον υποπληθυσμό των αρχέγονων κυττάρων και είναι απαραίτητο να λάβουμε υπόψη την αποτελεσματικότητά τους στην εξάλειψη των GSC, κατά την εκ νέου εκτίμηση των φαρμάκων για το GBM.

3. Ανεπιθύμητες ενέργειες στοχευμένων φαρμάκων (side off-target effects)

Λόγω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού (BBB) οι περισσότεροι φαρμακευτικοί παράγοντες δυσκολεύονται να διεισδύσουν στον εγκέφαλο σε χαμηλές δόσεις και χρειάζονται υψηλές δόσεις προκειμένου να έχουν θεραπευτικό αποτέλεσμα. Αυτό το γεγονός πολύ συχνά προκαλεί ανεπιθύμητα συμβάντα. Οι συνήθεις παρενέργειες (TMZ, αναστολείς HDAC) περιλαμβάνουν: αιματολογική τοξικότητα (καταστολή του μυελού των οστών), διαταραχές του νευρικού συστήματος (κόπωση, ναυτία, επιληπτικές κρίσεις, νευροπάθεια), αλλεργικές αντιδράσεις, παρατεταμένο διάστημα QT (αναστολείς HDAC), και θρομβοεμβολισμό (Rasheed et al., 2008; Van den Bent et al., 2018).

4. Πολλαπλοί μηχανισμοί ανθεκτικότητας

Η συνεχής εξέλιξη των όγκων GBM, μέσω γενετικής διαφοροποίησης και κλωνικής επέκτασης, οδηγεί στο σχηματισμό κυτταρικών υποπληθυσμών με διαφορετική απόκριση στις θεραπείες και συνεπώς αποτελεί κύριο παράγοντα που συμβάλει στην ανθεκτικότητα στη θεραπεία και στην αποτυχία των φαρμάκων (Abedalthagafi et al., 2018).

Αυτή τη στιγμή, η TMZ (τεμοζολομίδη) είναι το μοναδικό χημειοθεραπευτικό φάρμακο που έχει επιβεβαιωθεί ότι παρατείνει σημαντικά την επιβίωση των ασθενών με GBM. Η έλλειψη ανταπόκρισης στην αγωγή με TMZ οφείλεται κατά κανόνα στην εγγενή και επίκτητη ανθεκτικότητα των όγκων στο φάρμακο. Το ένζυμο απομεθυλίωσης O⁶-μεθυλγουανίνη-DNA μεθυλοτρανσφεράση (MGMT) αποτελεί σημαντικό στοιχείο που έχει ενοχοποιηθεί για την εγγενή ανθεκτικότητα στην TMZ. Η MGMT επάγει ανθεκτικότητα στην TMZ αφαιρώντας άμεσα αλκυλομάδες από τη θέση O⁶ της γουανίνης (Pegg and Byers, 1992; Weller et al., 2010). Η τρέχουσα θεώρηση είναι ότι η έκφραση της MGMT αναστέλλεται από τη μεθυλίωση του υποκινητή του MGMT, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την ανθεκτικότητα στην TMZ. Πρόσφατες μελέτες ανέφεραν ορισμένους νέους μηχανισμούς για τη ρύθμιση της MGMT, όπως είναι η ενεργοποίηση του ενισχυτή K-M (Chen et al., 2018), τονίζοντας την περιπλοκότητα της ανθεκτικότητας στην TMZ.

5. Ατελής χειρουργική εκτομή

Η βέλτιστη έκβαση αναφορικά με την επιβίωση χωρίς εξέλιξη της νόσου (PFS) και τη συνολική επιβίωση (OS) επιτυγχάνεται με τη ευρεία χειρουργική εκτομή. Μολαταύτα, η καλύτερα αναγνωρισμένη καθιερωμένη θεραπεία παραμένει η μέγιστη χειρουργική εκτομή

της περιοχής υψηλής αντίθεσης. Ένας σημαντικός περιορισμός στη μέγιστη χειρουργική εκτομή είναι ο πιθανός κίνδυνος πρόκλησης νευρολογικής διαταραχής σχετιζόμενης με τη χειρουργική επέμβαση, ο οποίος μπορεί να έχει δυσμενείς επιδράσεις στην έκβαση του ασθενούς (Gulati et al., 2011). Συνολικά, η τρέχουσα σύσταση στη νευροχειρουργική κατά τη διαχείριση του GBM είναι η ευρεία χειρουργική εκτομή αποφεύγοντας παράλληλα επιπρόσθετη νευρολογική νοσηρότητα.

5.3 Στοχευμένη στις ιστόνες θεραπεία στο γλοίωμα

5.3.1 Αναστολείς των HDAC

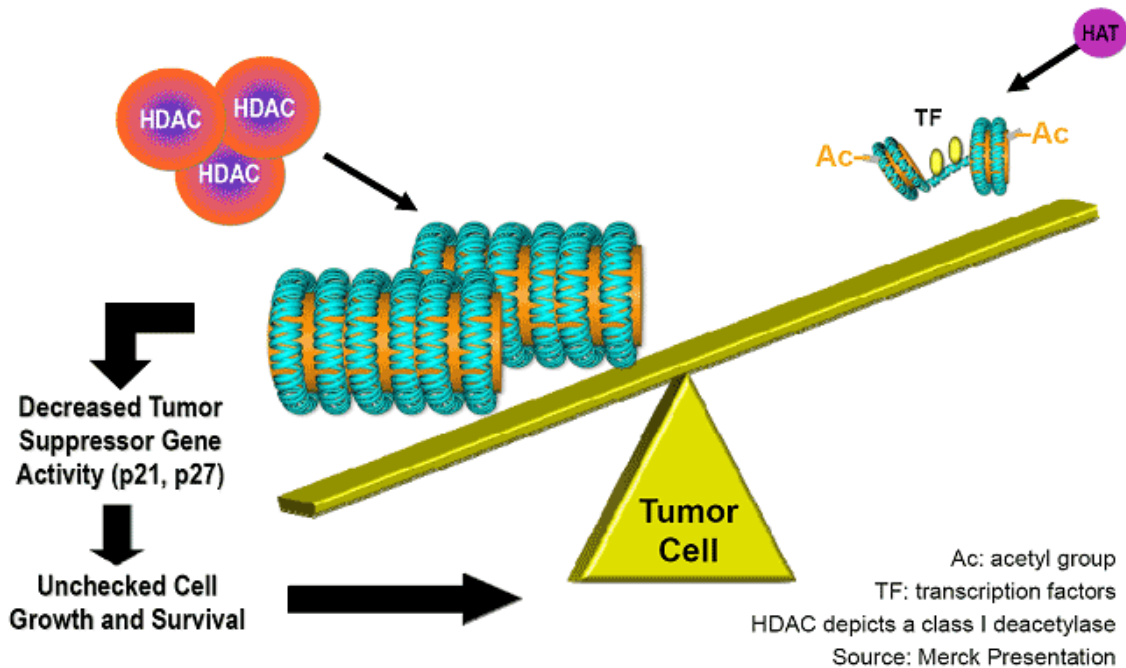
Οι επιγενετικές τροποποιήσεις θεωρούνται ένας βασικός μηχανισμός στην ανάπτυξη του GBM (Gusyatiner et al., 2018). Η επιγενετική κληρονομιά διαμεσολαβείται από τέσσερα επίπεδα, που διασυνδέονται σε μεγάλο βαθμό: τη μεθυλίωση του DNA, τις τροποποιήσεις των ιστονών, την αναδόμηση της χρωματίνης, και τα μη κωδικά RNA. Αυτά τα επίπεδα ελέγχονται από ένα σύνολο ενζύμων, τα οποία «γράφουν» (“writer”), «διαβάζουν» (“reader”) «σβήνουν» (“eraser”), και τροποποιούν το στόχο τους προσθέτοντας, αφαιρώντας ή ρυθμίζοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των πρωτεϊνών και του DNA. Ένας σημαντικό ένζυμο στην επιγενετική ρύθμιση της εξέλιξης του γλοιώματος, το οποίο «σβήνει» (“eraser”), είναι οι αποακετυλάσες των ιστονών (HDAC). Η τροποποιημένη έκφραση και/ή λειτουργία των HDAC διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην έναρξη και εξέλιξη των όγκων (Di Cerbo & Schneider 2013). Διάφορες φυσικές και συνθετικές ενώσεις που αναστέλλουν την ενεργότητα των HDAC (αναστολείς των HDAC, HDAC) έχουν δοκιμαστεί εκτενώς σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου (Ropero et al., 2007). Ορισμένες από αυτές έχουν ήδη εγκριθεί από τον FDA: η βορινοστάτη (vorinostat), το depsipeptide, η πανομπινοστάτη (panobinostat), και η μπελινοστάτη (belinostat). Αυτά τα φάρμακα χρησιμοποιούνται ειδικά για τη θεραπεία του ανθεκτικού δερματικού λεμφώματος T λεμφοκυττάρων (CTCL), του περιφερικού λεμφώματος T λεμφοκυττάρων (PTCL), και του πολλαπλού μυελώματος (Falkenberg et al., 2014)

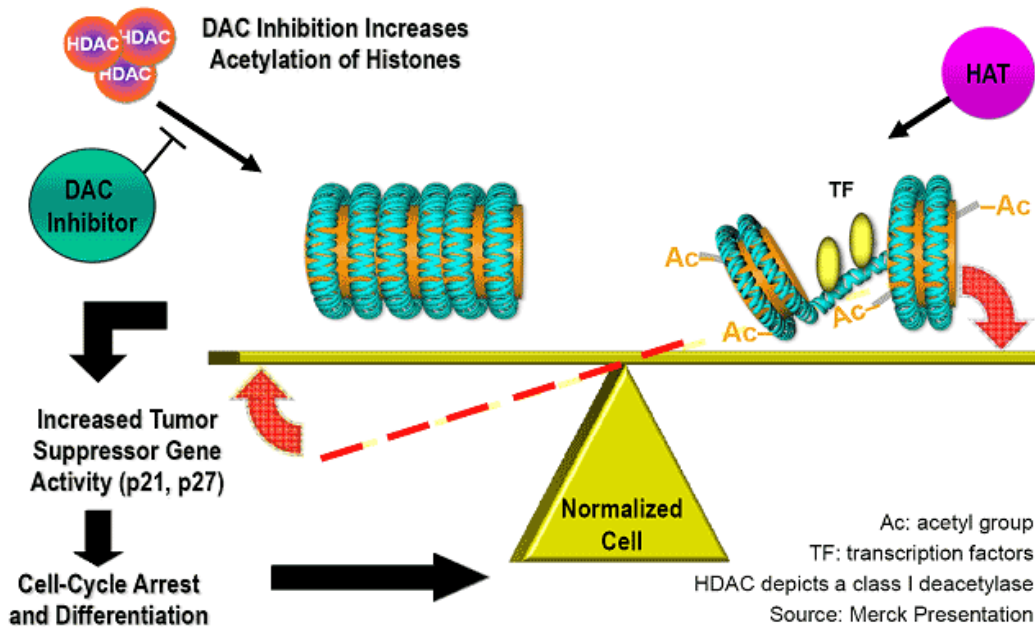
Οι αναστολείς των HDAC μπορεί να δρουν ειδικά έναντι μόνο ορισμένων τύπων HDAC (επιλεκτικοί αναστολείς), αλλά και έναντι όλων των τύπων HDAC (pan-inhibitor) (Eckschlagler et al., 2017). Οι αναστολείς των HDAC, που είναι σήμερα διαθέσιμοι, ποικίλουν ευρέως στη λειτουργία, τη δομή, και το μηχανισμό δράσης. Αυτοί οι αναστολείς (παρόμοια με τις HDAC-στόχους τους) μπορούν να χωριστούν σε τέσσερις τάξεις βάσει της χημικής τους δομής:

- παράγωγα υδροξαμικού οξέος,
- λιπαρά οξέα βραχείας αλυσίδας (καρβοξυλικά παράγωγα),
- βενζαμίδια, και
- κυκλικά πεπτίδια (Eckschlagler et al., 2017)

Ο στόχος της θεραπείας του γλοιοβλαστώματος με αναστολείς των HDAC είναι η εκ νέου εδραίωση της ισορροπίας μεταξύ της ενεργότητας των ακετυλοτρασνφερασών των ιστονών (HAT) και της ενεργότητας των HDAC, επειδή οι μεταβολές στην ισορροπία της ενεργότητας των HAT/HDAC μπορούν να οδηγήσουν σε τροποποιημένο προφίλ της γονιδιακής έκφρασης καθώς και σε μεταβολή ορισμένων σηματοδοτικών μονοπατιών, να επηρεάσουν την αποδόμηση του πρωτεασώματος, την ενεργότητα της πρωτεϊνικής κινάσης C και την κατάσταση της μεθυλίωσης του DNA. **(Εικόνα 15)** (Eckschlager et al., 2017).

Εικόνα 15. Ισορροπία της ενεργότητας των HAT/HDAC σε καρκινικό κύτταρο και σε φυσιολογικό κύτταρο (Παρουσίαση από την εταιρεία Merck). (α,β)





Υπάρχει διπλή λογική για τη χρήση των αναστολέων HDAC στη θεραπεία του γλοιοβλαστώματος. Πρώτον, οι αναστολείς των HDAC προάγουν μία πιο ανοιχτή διαμόρφωση της χρωματίνης στα καρκινικά κύτταρα και με αυτόν τον τρόπο επιτρέπουν στους χημειοθεραπευτικούς αλκυλιωτικούς παράγοντες του DNA (π.χ., TMZ) να έχουν πρόσβαση στο γενωμικό DNA και αυξάνουν την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων (Pinheiro et al., 2017). Δεύτερον, οι αναστολείς των HDAC βοηθούν ώστε να αντιστραφεί μέρος της μη φυσιολογικής γενετικής αποσιώπησης στο γλοιοβλάτωμα, πιθανώς οδηγώντας σε αυξημένη αναχαίτιση του κυτταρικού κύκλου και σε απόπτωση από τη δράση παραγόντων που προκαλούν βλάβη στο DNA (Sathornsumetee et al., 2007). Υπάρχουν αρκετοί μηχανισμοί, μέσω των οποίων οι αναστολείς των HDAC δρουν κατά των κυττάρων του γλοιοβλαστώματος και περιλαμβάνουν:

- την αναχαίτιση του κυτταρικού κύκλου μέσω της αυξημένης έκφρασης γονιδίων του κυτταρικού κύκλου, όπως του *CDKN1A* (αναστολέας της εξαρτώμενης από κυκλίνη κίνησης *p21*) (Was et al., 2019; Bojang et al., 2014)
- την επαγωγή της απόπτωσης ρυθμίζοντας προ-αποπτωτικά και αντι-αποπτωτικά γονίδια μέσω της ενεργοποίησης τόσο εξωτερικών όσο και εσωτερικών μονοπατιών απόπτωσης (Yin et al., 2007)
- την επαγωγή της αυτοφαγίας (McEwan et al., 2011)
- τις ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες που αυξάνουν την αντιγονικότητα των καρκινικών κυττάρων (μέσω της αύξησης της έκφρασης των μορίων MHC τάξης I και II ή MICA/B), ρυθμίζουν την παραγωγή αρκετών κυτταροκινών, όπως του παράγοντα νέκρωσης όγκων α (TNF- α), της ιντερλευκίνης 1 (IL-1) και της ιντεφερόνης γ (IFN γ),

καθώς και αναστέλλουν τις ανοσοκατασταλτικές λειτουργίες των ρυθμιστικών T κυττάρων (Shen et al., 2012)

- τη ρύθμιση της κυτταρικής διαφοροποίησης ενεργοποιώντας ορισμένες πρωτεϊνικές κινάσες (π.χ., ERK). Οι πρωτεϊνικές κινάσες τροποποιούν ποικίλες βιολογικές διεργασίες, όπως είναι η ανάπτυξη, διαφοροποίηση και απόπτωση των κυττάρων (Chuang et al., 2013)
- την αντιαγγειογενετική δράση που σχετίζεται με μειωμένη έκφραση των προ-αγγειογόνων γονιδίων, όπως είναι τα γονίδια του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και/ή της ενδοθηλιακής συνθετάσης νιτρικού οξέος (eNOS) (Ferrara et al., 2005)
- τη δράση στα GSC (αρχέγονα κύτταρα του γλοιοβλαστώματος) μέσω διαφοροποίησης των GSC μετά από διέγερση (Ivarez et al., 2015). Η μελέτη των Asklund et al ανέφερε ότι ο συνδυασμός των αναστολέων των HDAC, SAHA, βαλπροϊκού οξέος, και φαινυλοβουτυρικού νατρίου με τον εγκεκριμένο από τον FDA αναστολέα του πρωτεασώματος βορτεζομίμη προκάλεσε υψηλή κυτταροτοξικότητα έναντι των GSC σε καλλιέργειες (Asklund et al., 2012)
- ως πιθανός παράγοντας ευαισθητοποίησης στην ακτινοβολία μέσω της αναστολής της απόκρισης επιδιόρθωσης της βλάβης στο DNA (Shabason et al., 2011)

Τα αποτελέσματα από τα *in vitro* και *in vivo* πειράματα χρησιμοποιώντας διάφορες κυτταρικές σειρές έχουν δείξει ότι, ο συνδυασμός αναστολέων των HDAC με αντικαρκινικά φάρμακα και/ή ακτινοθεραπεία έχει συνεργιστικά αποτελέσματα (Stiborova et al., 2012). Για αυτό το λόγο, οι συνδυασμοί χημειοθεραπείας και/ή ακτινοθεραπείας με αναστολείς των HDAC έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης σε κλινικές μελέτες. Ο **Πίνακας 21** συνοψίζει τις κλινικές μελέτες αναστολέων των HDAC, που βρίσκονται υπό εξέλιξη στο GBM.

Πίνακας 21. Τρέχουσες κλινικές μελέτες αναστολέων των HDAC στο GBM Τροποποίηση από Lee, D. H., Ryu, H.-W., Won, H.-R., & Kwon, S. H. (2017). *Advances in epigenetic glioblastoma therapy. Oncotarget*, 8(11). *Ενημέρωση από* <https://clinicaltrials.gov>

Αναστολέας HDAC	Χημειοθεραπευτικός ή βιολογικός παράγοντας	Ακτινοθεραπεία (RT)	Τύπος κακοήθειας	Φάση	Αποτελέσματα
Βαλπροϊκό οξύ (Valproic acid)	Τεμοζολομίδη (Temozolomide)	RT	GBM χωρίς προηγηθείσα χημειοθεραπεία ή ακτινοβολία	2	Δεν βρέθηκε σημαντική τοξικότητα σχετική με την αγωγή. Τα αποτελέσματα χρήζουν επιβεβαίωσης σε μεγαλύτερες τυχαιοποιημένες προοπτικές μελέτες. (Chen, J.-C., et al 2019)
	-	-	Εξελισσόμενο ή υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	2	Υπό εξέλιξη

Βορινοστάτη (Vorinostat, SAHA)	Τεμοζολομίδη (Temozolomide)	-	Κακόηθες γλοίωμα: γλοιοβλάστωμα	2	Υπό εξέλιξη
	Τεμοζολομίδη (Temozolomide)	RT	Νεοδιαγνωσμένο γλοιοβλάστωμα	1,2	Το κύριο καταληκτικό σημείο αποτελεσματικότητας δεν ικανοποιήθηκε. Η ευαισθησία στη βορινοστάτη και η εικόνα της ανθεκτικότητας θα μπορούσαν να διευκολύνουν την επίλογή ασθενών σε μελλοντικές δοκιμές. (Galanis et al., 2017)
	Τεμοζολομίδη (Temozolomide) + ισοτρετινοΐνη (isotretinoin)	-	Υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	1,2	Υπό εξέλιξη
	Βορτεζομίπη (Bortezomib)	-	Εξελισσόμενο, υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	2	Αυτός ο συνδυασμός δεν είναι αποτελεσματικός κλινικά, και η περαιτέρω ανάπτυξη αυτού του συνδυασμού στη θεραπεία του υποτροπιάζοντος GBM δεν δικαιολογείται. Friday et al., 2011
	Μπεβασιζουμάπη (Bevacizumab)	-	Υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	2	Η συνδυαστική θεραπεία των BEV και VOR ήταν καλά ανεκτή. Η συγκεκριμένη συνδυαστική θεραπεία σε αυτόν τον υπό μελέτη πληθυσμό δεν βελτίωσε την PFS ή τη διάμεση OS συγκριτικά με τη μονοθεραπεία BEV. Ghiaseddin et al., 2017
	Τεμοζολομίδη (Temozolomide) + μπεβασιζουμάπη (bevacizumab)	-	Υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	1,2	Η επιβίωση στους 6 μήνες χωρίς εξέλιξη της νόσου δεν ήταν στατιστικά βελτιωμένη συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου Να σημειωθεί ότι αυτός ο πληθυσμός GBM
Βορινοστάτη (Vorinostat, SAHA)	Τεμοζολομίδη (Temozolomide) + μπεβασιζουμάπη (bevacizumab)	-	Υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	1,2	Η επιβίωση στους 6 μήνες χωρίς εξέλιξη της νόσου δεν ήταν στατιστικά βελτιωμένη συγκριτικά με τις ομάδες ελέγχου Να σημειωθεί ότι αυτός ο πληθυσμός GBM

					είχε λάβει προηγουμένως άλλη αγωγή, οπότε απαιτείται περαιτέρω εξέταση σε μία ομάδα με λιγότερη προηγηθείσα αγωγή. (Peters et al., 2017)
	Μπεβασιζουμάμπη (Bevacizumab) + ιρινοτεκάνη (irinotecan)	-	Υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα	1	Υπό εξέλιξη
	Τεμισιρόλιμους (Temozolimus)	-/+ RT	Νεότεροι ασθενείς με νεοδιαγνωσμένο ή εξελισσόμενο διάχυτο εγγενές γλοίωμα γέφυρας εγκεφάλου	1	Υπό εξέλιξη
	Πεμπρολιζουμάμπη (Pembrolizumab) + Τεμοζολομίδη (Temozolomide)	RT	Νεοδιαγνωσμένο γλοιοβλάστωμα	1	Υπό εξέλιξη
Μπελινοστάτη (belinostat)	Τεμοζολομίδη (Temozolomide)	RT	Νεοδιαγνωσμένο γλοιοβλάστωμα	2	Υπό εξέλιξη
Ρομιδεψίνη (romidepsin)	-	-	Επανεμφανιζόμενα γλοιώματα υψηλού βαθμού: γλοιοβλάστωμα	1,2	Η ρομιδεψίνη, στην τυπική δόση και στο τυπικό πρόγραμμα, ήταν αναποτελεσματική για τους ασθενείς με υποτροπιάζον γλοίωμα (Iwamoto et al., 2011)
Πανομπινοστάτη (panobinostat)	-	-	Επανεμφανιζόμενα κακοήγη γλοιώματα (ενήλικες)	2	ΤΕΡΜΑΤΙΣΤΗΚΕ
Πανομπινοστάτη (panobinostat)	-	-	Παιδιά με εγγενές διάχυτο γλοίωμα γέφυρας εγκεφάλου	1	Υπό εξέλιξη
Πανομπινοστάτη (panobinostat) νανοσωματίδιο	-	-		1	Υπό εξέλιξη
Πανομπινοστάτη (panobinostat)	Μπεβασιζουμάμπη (Bevacizumab)	-	Υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα και αναπλαστικό γλοίωμα	2	ΤΕΡΜΑΤΙΣΤΗΚΕ
Εντινοστάτη (entinostat)	-	-	Παιδιατρικοί ασθενείς με υποτροπιάζον ή ανθεκτικό γλοίωμα	1	Υπό εξέλιξη

Όπως συμβαίνει με άλλους θεραπευτικούς παράγοντες, οι HDACi σχετίζονται με παρενέργειες, οι οποίες περιλαμβάνουν θρομβοπενία, ουδετεροπενία, ναυτία, έμετο, διάρροια, και κόπωση. Η πιο σημαντική είναι η καρδιοτοξικότητα, συμπεριλαμβανομένης της κολπικής αρρυθμίας. Πράγματι, πριν από την έγκριση του FDA, υπήρχαν έξι θάνατοι σε ασθενείς που έλαβαν ρομιδεψίνη (Gryder et al., 2012). Προκειμένου να μειωθεί η εκτός στόχου τοξικότητα των HDACi, η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να εστιάσει στη στοχευμένη ιστο-ειδική και κυτταρο-ειδική διανομή των HDACi καθώς και στην αναγνώριση των επιλεκτικών ανά ισομορφή HDACi.

Παρά την περιορισμένη τοξικότητα και τις αναστρέψιμες παρενέργειες, οι αναστολείς των HDAC φαίνεται ότι δεν αρκούν ως μονοθεραπείες στους συμπαγείς όγκους συγκριτικά με τις τρέχουσες καθιερωμένες αντικαρκινικές θεραπείες. Αυτό πιθανώς οφείλεται στις πτωχές ιδιότητες της φαρμακοκινητικής τους (Jordan et al., 2015). Άλλοι λόγοι για τους οποίους μέχρι στιγμής δεν έχει εγκριθεί κανένας αναστολέας HDAC για τη θεραπεία του GBM είναι: πρώτον, ότι δεν διαπερνούν όλοι οι αναστολείς των HDAC τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (BBB) και δεύτερον, ότι οι αναστολείς των HDAC εμφανίζουν ανθεκτικότητα. Ένας από τους μηχανισμούς που προτάθηκε για να εξηγήσει την ανθεκτικότητα στους αναστολείς των HDAC περιλαμβάνει την αύξηση της έκφρασης κυτταρικών αντιοξειδωτικών μονοπατιών, την αυξημένη έκφραση της αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bcl-2a και του μεταγραφικού παράγοντα NF-κB, καθώς και τη χρήση εναλλακτικών μονοπατιών γονιδιακής σίγασης, όπως μεθυλίωσης του DNA. Παρόλο που έπονται πολλές μελέτες, η ανάπτυξη αναστολέων των HDAC για τη θεραπεία του γλοιοβλαστώματος είναι ιδιαίτερα υποσχόμενη. Όσο κατανοούμε καλύτερα τους επιγενετικούς τροποποιητές, όπως είναι οι αναστολείς των HDAC, είναι βέβαιο ότι αποκτούμε σημαντικά εργαλεία για την αντικαρκινική θεραπεία.

5.3.2 Αναστολείς της δομικής περιοχής bromodomain

Οι πρωτεΐνες Bromodomain and extraterminal (BET)-bromodomain (BRD), όπως είναι οι BRD2/3/4 και BRDT (BRD πρωτεΐνες που εκφράζονται στους όρχεις), περιέχουν μοτίβα που προσδένονται σε ακετυλιωμένα κατάλοιπα λυσίνης στις ιστόνες της χρωματίνης του νουκλεοσώματος (Belkina et al., 2012). Οι πρωτεΐνες BET λειτουργούν ως συν-ενεργοποιητές ή συν-καταστολείς της γονιδιακής έκφρασης, συμβάλλοντας στην προσέλκυση μεταγραφικών συν-ρυθμιστών στους υποκινητές των γονιδίων στόχων. Με αυτόν τον τρόπο τροποποιούν βασικές βιολογικές διαδικασίες, όπως είναι η αντιγραφή του DNA, η επιδιόρθωση βλάβης στο DNA, η αναδόμηση της χρωματίνης, και η ρύθμιση της μεταγραφής (Berenguer-Daizé et al., 2016).

Οι αναστολείς της bromodomain βρίσκονται σε διαφορετικές φάσεις προκλινικών και κλινικών μελετών για τη θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών και συμπαγών όγκων (Herrmann et al., 2012). Αρκετές μελέτες έχουν επιδείξει την *in vitro* και *in vivo* αποτελεσματικότητα του JQ1 (Cheng et al., 2013) και ενός βιοδιαθέσιμου από το στόματος

αναστολέα του bromodomain, του OTX015 (MK-8628), σε προκλινικά μοντέλα γλοιοβλαστώματος (Berenguer-Daizé et al., 2016). Ο Cheng et al ανέφεραν απόπτωση και μειωμένα επίπεδα των Myc, Bcl-2, και Bcl-xL μετά από αγωγή με JQ1 σε ξενομοσχεύματα πρωτογενούς γλοιώματος από ασθενείς σε αθυμικούς (nude) μύες (Cheng et al., 2013). Οι Berenguer-Daize et al. παρουσίασαν την αποτελεσματικότητα της μονοθεραπείας JQ1 ή OTX015 ή του συνδυασμού τους με TMZ, εβερόλιμους (everolimus), ή SN38 στις κυτταρικές σειρές του GBM U87MG, T98G, και U118, και σε ετεροτοπικά και ορθοτοπικά αλλομοσχεύματα U87MG σε αθυμικούς (nude) μύες (Berenguer-Daizé et al., 2016).

Παρατηρώντας το εύρος των κλινικών μελετών που διεξάγονται για την αξιοποίηση των bromodomain ως στόχων στο γλοιοβλάστωμα, είναι πιθανό τα επόμενα χρόνια να υπάρχουν κλινικά εγκεκριμένα φάρμακα, τα οποία θα στοχεύουν σε επιγενετικές περιοχές ανάγνωσης (reader domains).

5.3.3 Μεθυλοτρανσφεράση της αργινίνης PRMT- 5

Η έκφραση της PRMT5 είναι αυξημένη στο γλοίωμα υψηλού βαθμού κακοήθειας, και η έκφρασή της συσχετίζεται αρνητικά με την επιβίωση των ασθενών (Han et al., 2014). Η απώλεια της PRMT5 οδηγεί σε απόπτωση ή απώλεια της αυτό-ανανέωσης για τα διαφοροποιημένα ή μη διαφοροποιημένα κύτταρα, αντίστοιχα (Banasavadi-Siddegowda et al., 2017). Η σημασία της PRMT5 για τη γένεση του γλοιώματος γίνεται περαιτέρω εμφανής από την αποτυχία της ενδοκρανιακής ανάπτυξης όγκου σε μύες με γλοίωμα, από το οποίο είχε αφαιρεθεί η PRMT5. Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι η ανάπτυξη του γλοιώματος εξαρτάται από την έκφραση της PRMT5, η οποία μπορεί συνεπώς να αποτελεί έναν καινοτόμο φαρμακευτικό στόχο για τη θεραπεία του GBM.

Προς το παρόν, υπάρχει μόνο μία μελέτη φάσης 1 ασθενών με γλοίωμα υψηλού βαθμού κακοήθειας, ανοιχτού σχεδιασμού με κλιμάκωση και επέκταση δόσης του PRT811, ενός αναστολέα της PRMT5 (<https://clinicaltrials.gov>). Όσον αφορά στους συμμετέχοντες, η μελέτη θα περιλαμβάνει μία φάση διαλογής, μία φάση θεραπείας και μία φάση παρακολούθησης μετά από τη θεραπεία.

5.3.4 Αναστολείς των απομεθυλασών των ιστονών

Οι απομεθυλάσες της λυσίνης των ιστονών (KDM) θεωρούνται πιθανοί θεραπευτικοί στόχοι σε μερικούς όγκους, συμπεριλαμβανομένου του γλοιοβλαστώματος (GB). Συγκεκριμένα, η KDM5A συμμετέχει στην απόκτηση ανθεκτικότητας στην τεμοζολομίδη (TMZ) σε ενήλικα κύτταρα GB και η UDX/KDM6B ρυθμίζει τη μεθυλίωση της H3K27, η οποία εμπλέκεται στο παιδιατρικό διάχυτο εγγενές γλοίωμα γέφυρας εγκεφάλου (DIPG). Οι συνθετικοί αναστολείς της KDM5A (JIB 04 και CPI-455) παρεμποδίζουν αποτελεσματικά τον πολλαπλασιασμό των εγγενών και ανθεκτικών στην TMZ κυττάρων και ο αναστολέας της KDM6B, GSK J4, βελτιώνει την επιβίωση σε ένα μοντέλο του DIPG (Romani et al., 2019).

Η κατάλληλη δοκιμή σε ζωικά μοντέλα είναι απαραίτητη προκειμένου να αναπτυχθούν θεραπευτικά σχήματα που θα εξισορροπήσουν τις ισχυρές αντικαρκινικές επιδράσεις αυτών των μορίων και την τοξικότητά τους. Παρόλα αυτά, η στόχευση των KDM αποτελεί νέο πιθανό όπλο έναντι του GB, ενός καρκίνου για τον οποίο υπάρχουν ελάχιστες και μη αποτελεσματικές θεραπευτικές επιλογές.

5.3.5 Αναστολείς των μεθυλοτρανσφερασών των ιστονών: EZH2

Στο γλοιοβλάστωμα, η μεθυλίωση των ιστονών εμπλέκεται ποικιλοτρόπως σε παιδιά και ενήλικες ασθενείς. Η ποικιλομορφή H3.3 της ιστόνης (H3F3A) υπάρχει σε περιοχές της ενεργούς χρωματίνης, και μπορεί να είναι τροποποιημένη στους παιδιατρικούς όγκους σε δύο θέσεις, στη λυσίνη 27 (K27M) και στη γλυκίνη 34 (G34R/V).

Η μεθυλίωση της H3K27 ρυθμίζεται από τις μεθυλάσες PRC2 - EZH2 και τις απομεθυλάσες UTX (KDM6A) και KDM6B. Η στόχευση της μεθυλάσης EZH2 αποτελεί έναν μηχανισμό τροποποίησης της μεθυλίωσης των ιστονών και αναστροφής της ανάπτυξης του όγκου (Sparmann et al., 2006). Διατίθενται αρκετοί, εγκεκριμένοι από τον FDA, αναστολείς της EZH2 (Tazemetostat, CPI1205, GSK2816126), ενώ άλλοι βρίσκονται υπό προχωρημένη προκλινική δοκιμή. Περισσότερες από 20 δοκιμές της αναστολής της EZH2 έχουν αναφερθεί στη βάση δεδομένων Clinical Trial database, και στοχεύουν κυρίως σε αιματολογικές διαταραχές. Μέχρι τον Δεκέμβριο του 2019, οι περισσότερες μελέτες βρίσκονται υπό εξέλιξη, εντάσσοντας ασθενείς (recruiting). Ωστόσο, στις διάφορες μελέτες, το Tazemetostat δεν αποτέλεσε αποτελεσματική επιλογή μονοθεραπείας για παιδιατρικούς ασθενείς με HGG, αν και η θεραπευτική αποτελεσματικότητα σε συνδυασμό με κυτταροτοξικούς και/ή άλλους επιγενετικά δραστικούς παράγοντες, μένει να διαλευκανθεί (Wiese et al., 2016).

5.3.6 Αναστολέας της σουμοϋλίωσης (SUMOylation) στο γλοιοβλάστωμα: τοποτεκάνη (Topotecan)

Η τοποτεκάνη (Topotecan, εμπορική ονομασία Hycamtin) είναι ένας χημειοθεραπευτικός παράγοντας και αναστολέας της τοποϊσομεράσης, ενώ παράλληλα τροποποιεί την κατάσταση της σουμοϋλίωσης. Η τοποτεκάνη μειώνει τα επίπεδα της συνολικής σύζευξης της πρωτεΐνης SUMO, της CDK6, και του HIF-1α στα κύτταρα GBM μεταβάλλοντας έτσι τον κυτταρικό κύκλο και το μεταβολικό προφίλ. Τα ευρήματα υποδηλώνουν ένα νέο μηχανισμό δράσης της τοποτεκάνης και ένα θεραπευτικό ρόλο του φαρμάκου στο GBM και σε άλλους καρκίνους, οι οποίοι έχουν παρέμβει στη διαδικασία της σουμοϋλίωσης (SUMOylation) (γνωρίζοντας ότι η τοποτεκάνη έχει εγκριθεί από τον FDA για την αντιμετώπιση του καρκίνου των ωοθηκών και του τραχήλου, και του μικροκυτταρικού καρκίνου του πνεύμονα). Για αυτό το λόγο, υπάρχει το επιχείρημα ότι, η εκ νέου θεώρηση της τοποτεκάνης ως επικουρική θεραπεία στο GBM μπορεί εν τέλει να οδηγήσει σε βελτιωμένη εκβάση καθορισμένων ομάδων ασθενών (Bernstock et al., 2017)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Το γλοιοίωμα είναι ένας συνήθης κακοήθης όγκος του εγκεφάλου με υψηλή συχνότητα επανεμφάνισης, σύντομο χρόνο επιβίωσης, υψηλά ποσοστά θνησιμότητας και δυσκολίες στη θεραπεία. Για τους ασθενείς με γλοιοίωμα όλων των βαθμών κακοήθειας, η χειρουργική εκτομή όσο το δυνατόν μεγαλύτερου ασφαλούς τμήματος διαδραματίζει ακόμα και σήμερα κεντρικό ρόλο στις θεραπευτικές στρατηγικές αντιμετώπισης. Προηγούμενες θεραπείες αυτών των όγκων έδειξαν ότι οι συμβατικές χειρουργικές επεμβάσεις και τα πρωτόκολλα χημειοθεραπείας-ακτινοβολίας μπορούν να βελτιώσουν ελάχιστα μόνο την ποιότητα ζωής και να παρατείνουν ελαφρώς την επιβίωση ορισμένων ασθενών. Χρειάζονται νέοι θεραπευτικοί στόχοι και οι επιγενετικές τροποποιήσεις είναι ένας από αυτούς, καθώς σχετίζονται στενά με τον πολλαπλασιασμό και τη διήθηση του γλοιοώματος.

Τα επιγενετικά φαινόμενα στο γλοιοίωμα, όπως είναι οι τροποποιήσεις των ιστονών, τα εμπλεκόμενα ένζυμα και οι μεταβολές τους, είναι μεγάλης σημασίας, προκειμένου να γίνουν κατανοητές οι διαδικασίες της ογκογένεσης, της εξέλιξης και της επανεμφάνισης του GBM. Αυτή η γνώση θα επιτρέψει την ταυτοποίηση νέων βιοδεικτών με διαγνωστική και προγνωστική αξία, νέων φαρμακευτικών στόχων και εξατομικευμένων θεραπειών.

Σύμφωνα με αυτή την εργασία ένα νέο θεραπευτικό επιγενετικό φάρμακο, που μπορεί να χορηγηθεί ως μονοθεραπεία ή συνδυαστικά είτε με άλλα φάρμακα είτε με βιολογική θεραπεία, αποτελεί επίσης μία ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα και καινοτόμο κατεύθυνση για μελλοντική αντικαρκινική θεραπεία. Λόγω της περίπλοκης παθογένεσης του γλοιοώματος, οι εφαρμογές της επιγενετικής στην κλινική του αντιμετώπιση είναι ακόμα περιορισμένες. Με συνεχή έρευνα θα μπορέσει να γίνει καλύτερα κατανοητή η επιγενετική βάση του γλοιοώματος και συνεπώς θα είναι δυνατή η βελτίωση της βασισμένης στην επιγενετική θεραπευτική του αντιμετώπιση.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abdouh, M., Facchino, S., Chatoo, W., Balasingam, V., Ferreira, J., & Bernier, G. (2009). BMI1 Sustains Human Glioblastoma Multiforme Stem Cell Renewal. *Journal of Neuroscience*, 29(28), 8884–8896.
2. Abedalthagafi, M., Barakeh, D., & Foshay, K. M. (2018). Immunogenetics of glioblastoma: the future of personalized patient management. *Npj Precision Oncology*, 2(1).
3. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al. (2002). *Molecular Biology of the Cell*. 4th Edition. New York: Garland Science.
4. Alfaro, J.F. et al., (2012). Tandem mass spectrometry identifies many mouse brain O -GlcNAcylated proteins including EGF domain-specific O -GlcNAc transferase targets. *Pnas*, 109(19), pp.7280–7285.
5. Allfrey, V.G, Faulkner R, Mirsky AE. (1964). Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci USA*; 51:786-794
6. Allingham-Hawkins, D, Lea A, Levine S. (2010). DecisionDx-GBM gene expression assay for prognostic testing in glioblastoma multiform. *PLoS Curr* 2: RRN1186.
7. Anica Dricu, Stefana Oana Purcaru et al., (2012). DNA Methylation, Stem Cells and Cancer, Methylation - From DNA, RNA and Histones to Diseases and Treatment
8. Ardito, F., Giuliani, M., Perrone, D., Troiano, G., & Lo Muzio, L. (2017). The crucial role of protein phosphorylation in cell signaling and its use as targeted therapy (Review). *International journal of molecular medicine*, 40(2), 271–280.
9. Arents, G., and Moudrianakis, E.N. (1995). The histone fold: a ubiquitous architectural motif utilized in DNA compaction and protein dimerization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 11170-11174.
10. Arents, G., Burlingame, R.W., Wang, B.C., Love, W.E., and Moudrianakis, E.N. (1991). The nucleosomal core histone octamer at 3.1 Å resolution: a tripartite protein assembly and a left-handed superhelix. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88, 10148-10152.
11. Asklund, T, Kvarnbrink S, Holmlund C, Wibom C, Bergenheim T, et al. (2012). Synergistic killing of glioblastoma stem-like cells by bortezomib and HDAC inhibitors. *Anticancer Res*;32:2407-13
12. Audia, J. E., & Campbell, R. M. (2016). Histone Modifications and Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 8(4), a019521.
13. Azuma, Y, Arnaoutov A, Dasso M. 2003 SUMO-2/3 regulates topoisomerase II in mitosis. *J Cell Biol.*; 163:477–487
14. Babu R, Adamson DC. (2012) Rindopepimut: an evidence-based review of its therapeutic potential in the treatment of EGFRvIII-positive glioblastoma. *Core Evid* 7:93–103

15. Ballard, T.D, Wolff J, Griffin JB, Stanley JS, Calcar Sv, Zempleni J (2002). Biotinidase catalyzes debiotinylation of histones. *Eur J Nutr.* 41:78–84
16. Banasavadi-Siddegowda, Y.K, Russell L, Frair E, et al. PRMT5-PTEN molecular pathway regulates senescence and self-renewal of primary glioblastoma neurosphere cells. *Oncogene.* 2017;36(2):263–274.
17. Banelli, B., Carra, E., Barbieri, F., Würth, R., Parodi, F., Pattarozzi, A., ... Romani, M. (2015). The histone demethylase KDM5A is a key factor for the resistance to temozolomide in glioblastoma. *Cell cycle (Georgetown, Tex.)*, 14(21), 3418–3429.
18. Bannister, A.J. & Kouzarides, T., (2011). Regulation of chromatin by histone modifications. *Cell research*, 21(30), pp.381–395.
19. Bao, X. C., Wang, Y., Li, X., Li, X. M., Liu, Z., Yang, T. P., et al. (2014). Identification of ‘erasers’ for lysine crotonylated histone marks using a chemical proteomics approach. *eLife* 3:e02999.
20. Bartkova J, Horejsi Z, Koed K, Kramer A, Tort A, Zieger K, Guldberg P, Sehested M, Nesland JM, Lukas C, Orntoft T, Lukas J, Bartek J. (2005). DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature*; 434:864-70
21. Bassing, C.H, Chua KF, Sekiguchi J, Suh H, Whitlow SR, Fleming JC, Monroe BC, Ciccone DN, Yan C, Vlasakova K et al (2002) Increased ionizing radiation sensitivity and genomic instability in the absence of histone H2AX
22. Baumann, K. (2015). Crotonylation versus acetylation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(5), 265–265.
23. Bayin, N. S., Ma, L., Placantonakis, D. G., & Barcellos-Hoff, M. H. (2018). Evaluation of Radioresponse and Radiosensitizers in Glioblastoma Organotypic Cultures. *Glioblastoma*, 171–182.
24. Belkina, A.C, Denis GV. BET domain co-regulators in obesity, inflammation and cancer. *Nat Rev Cancer* 2012;1:465-477
25. Beniac, D.R, Wood DD, Palaniyar N, Ottensmeyer FP, Moscarello MA, Harauz G (2000) Cryoelectron microscopy of protein-lipid complexes of human myelin basic protein charge isomers differing in degree of citrullination. *J Struct Biol* 129(1):80–95
26. Berenguer-Daizé, C., Astorgues-Xerri, L., Odore, E., Cayol, M., Cvitkovic, E., Noel, K., ... Ouafik, L. (2016). OTX015 (MK-8628), a novel BET inhibitor, displays in vitro and in vivo antitumor effects alone and in combination with conventional therapies in glioblastoma models. *International Journal of Cancer*, 139(9), 2047–2055.
27. Bernstock, J. D., Ye, D., Gessler, F. A., Lee, Y., Peruzzotti-Jametti, L., Baumgarten, P., ... Hallenbeck, J. M. (2017). Topotecan is a potent inhibitor of SUMOylation in glioblastoma multiforme and alters both cellular replication and metabolic programming. *Scientific Reports*, 7(1). doi:10.1038/s41598-017-07631-9

28. Bettgowda, C, Agrawal N, Jiao Y, Sausen M, Wood LD, Hruban RH, et al. (2011) Mutations in CIC and FUBP1 contribute to human oligodendroglioma. *Science* 333:1453–
29. Bjerke, L., Mackay A., Nandhabalan M., Burford A., Jury A., Popov S., Bax D.A., Carvalho D., Taylor K.R., Vinci M., et al. (2013) Histone H3.3. mutations drive pediatric glioblastoma through upregulation of MYCN. *Cancer Discov.*;3:512–519
30. Bojang, P., Jr, Ramos KS. (2014). The promise and failures of epigenetic therapies for cancer treatment. *Cancer treatment reviews.* ;40(1):153–169
31. Boulard, M., Gautier T, Mbele GO, Gerson V, Hamiche A, Angelov D, et al. (2006) The NH2 tail of the novel histone variant H2BFWT exhibits properties distinct from conventional H2B with respect to the assembly of mitotic chromosomes. *Mol Cell Biol.*; 26:1518–26.
32. Bozek, D., Wang, A., Hao, X., Johnston, M., Luchman, H. A., & Weiss, S. (2017). STEM-28. DOT1L EPIGENETICALLY REGULATES GBM BRAIN TUMOR STEM CELLS. *Neuro-Oncology*, 19(Suppl 6), vi231–vi232.
33. Bradbury, E.M. (1992) Reversible histone modifications and the chromosome cell cycle. *Bioessays*.14:9–16
34. Brell, M., Ibanez J, Tortosa A. (2011) O6-Methylguanine-DNA methyltransferase protein expression by immunohistochemistry in brain and non-brain systemic tumours: systematic review and meta-analysis of correlation with methylation-specific polymerase chain reaction. *BMC Cancer* 11:35.
35. Brennan, C.W, Verhaak RGW, McKenna A, Campos B, Nounshmehr H, Salama SR, et al. (2013) The somatic genomic landscape of glioblastoma. *Cell* 155(2):462–477
36. Brenner, C. (2002) Catalysis in the nitrilase superfamily. *Curr Opin Struct Biol.*12:775–82
37. Burton ,E.C, Lamborn KR, Feuerstein BG, Prados M, Scott J, Forsyth P, et al. (2002). Genetic aberrations defined by comparative genomic hybridization distinguish long-term from typical survivors of glioblastoma. *Cancer Res* 62:6205–10.
38. Cai, J.-Y., Xu, T.-T., Wang, Y., Chang, J.-J., Li, J., Chen, X.-Y., ... Ni, X.-J. (2018). Histone deacetylase HDAC4 promotes the proliferation and invasion of glioma cells. *International Journal of Oncology*.
39. Cairncross, G., Jenkins R. (2008) Gliomas with 1p/19q codeletion: a.k.a. oligodendroglioma. *Cancer J* ,14:352–7
40. Cairncross, J.G, Wang M, Jenkins RB, Shaw EG, Giannini C, Brachman DG, et al. (2012). Chemotherapy plus radiotherapy (CT-RT) versus RT alone for patients with anaplastic oligodendroglioma: long-term results of the RTOG 9402 phase III study. *J Clin Oncol* 30:2008b.

41. Caldwell, S.A, Jackson SR, Shahriari KS, Lynch TP, Sethi G, Walker S, Vosseller K, Reginato MJ. (2010) Nutrient sensor O-GlcNAc transferase regulates breast cancer tumorigenesis through targeting of the oncogenic transcription factor FoxM1. *Oncogene*.29:2831–2842
42. Campbell, R.M, Tummino PJ. 2014. Cancer epigenetics drug discovery and development: The challenge of hitting the mark. *J Clin Invest* 124: 64–69
43. Campos, E.I. & Reinberg, D., (2009). Histones: annotating chromatin. *Annual review of genetics*, 43(34), pp.559–599.
44. Cancer Genome Atlas Research Network. (2015). Comprehensive, integrative genomic analysis of diffuse lower-grade gliomas. *N. Engl. J. Med.* 372, 2481–2498
45. Cao, J. & Yan, Q., (2012). Histone Ubiquitination and Deubiquitination in Transcription, DNA Damage Response, and Cancer. *Frontiers in Oncology*, 2(March), pp.1–9.
46. Caperta AD, Rosa M, Delgado M, Karimim R, Demidov D, Viegas W, Houben A (2008) Distribution patterns of phosphorylated Thr 3 and Thr 32 of histone H3 in plant mitosis and meiosis. *Cytogenet Genome Res* 122(1):73–79
47. Capra, M., Donzelli M, Mazzarol G, Jodice MG, Nuciforo P, et al. (2011) An atlas of altered expression of deubiquitinating enzymes in human cancer. *PLoS One.* ;6:e15891
48. Casciello, F., Windloch K., Gannon F., Lee J. S. (2015). Functional role of G9a histone methyltransferase in cancer. *Front. Immunol.* 6:487. 10.3389/fimmu.2015.00487
49. Chai, K. M., Wang, C. Y., Liaw, H. J., Fang, K. M., Yang, C. S., & Tzeng, S. F. (2014). Downregulation of BRCA1-BRCA2-containing complex subunit 3 sensitizes glioma cells to temozolomide. *Oncotarget*, 5(21), 10901–10915.
50. Chan, K.-M., Fang, D., Gan, H., Hashizume, R., Yu, C., Schroeder, M., ... Zhang, Z. (2013). The histone H3.3K27M mutation in pediatric glioma reprograms H3K27 methylation and gene expression. *Genes & Development*, 27(9), 985–990.
51. Chatterjee, C., & Muir, T. W. (2010). Chemical Approaches for Studying Histone Modifications. *The Journal of Biological Chemistry*, 285(15), 11045–11050.
52. Chen ,X., Zhang M, Gan H, Wang H, Lee JH, Fang D et al. (2018) A novel enhancer regulates MGMT expression and promotes temozolomide resistance in glioblastoma. *Nat Commun* ; 9: 2949.
53. Chen, H., Lin, R., Zhang, Z., Wei, Q., Zhong, Z., Huang, J., & Xu, Y. (2019). Sirtuin 1 knockdown inhibits glioma cell proliferation and potentiates temozolomide toxicity via facilitation of reactive oxygen species generation. *Oncology letters*, 17(6), 5343–5350.
54. Chen, J. et al. (2015). Upregulation of B23 promotes tumor cell proliferation and predicts poor prognosis in glioma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*

55. Chen, J.-C., Lee, I.-N., Huang, C., Wu, Y.-P., Chung, C.-Y., Lee, M.-H., ... Yang, J.-T. (2019). Valproic acid-induced amphiregulin secretion confers resistance to temozolomide treatment in human glioma cells. *BMC Cancer*, 19(1).
56. Chen, Y., Liu, X., Li, Y., Quan, C., Zheng, L., & Huang, K. (2018). Lung Cancer Therapy Targeting Histone Methylation: Opportunities and Challenges. *Computational and structural biotechnology journal*, 16, 211-223.
57. Chen, Y., Sprung R, Tang Y, Ball H, Sangras B, Kim SC, Falck JR, Peng J, Gu W, Zhao Y (2007) Lysine propionylation and butyrylation are novel post-translational modifications in histones. *Mol Cell Proteomics* 6(5):812–819
58. Chen, Y., Sprung, R., Tang, Y., Ball, H., Sangras, B., Kim, S. C., Zhao, Y. (2007). Lysine Propionylation and Butyrylation Are Novel Post-translational Modifications in Histones. *Molecular & Cellular Proteomics*, 6(5), 812–819.
59. Cheng, J., Wang D, Wang Z, Yeh ET (2004) SENP1 enhances androgen receptor-dependent transcription through desumoylation of histone deacetylase 1. *Mol Cell Biol* 24(13):6021–6028
60. Cheng, T., & Xu, Y. (2018). Effects of Enhancer of Zeste Homolog 2 (EZH2) Expression on Brain Glioma Cell Proliferation and Tumorigenesis. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 24, 7249–7255.
61. Cheng, Z., et al. (2013) Inhibition of BET bromodomain targets genetically diverse glioblastoma. *Clin. Cancer Res.*;19:1748–1759.
62. Chi Ping, Allis C. David, and Wang Gang Greg, (2010). Covalent histone modifications: miswritten, misinterpreted, and miserased in human cancers. *Nat Rev Cancer*. 10(7): 457–469
63. Chinot, O.L, de La Motte Rouge T, Moore N, Zeaiter A, Das A, Phillips H, et al. (2011) . AVAglio: phase 3 trial of bevacizumab plus temozolomide and radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma multiforme. *Adv Ther* 28:334–340
64. Chuang, M.-J., Wu, S.-T., Tang, S.-H., Lai, X.-M., Lai, H.-C., Hsu, K.-H., ... Cha, T.-L. (2013). The HDAC Inhibitor LBH589 Induces ERK-Dependent Prometaphase Arrest in Prostate Cancer via HDAC6 Inactivation and Down-Regulation. *PLoS ONE*, 8(9), e73401.
65. Cohen E, Kamieniarz K, Schneider R (2011) Histone modifiers in cancer: friends or foes? *Genes & Cancer* 2:631–647
66. Cohen, P. (2001). The role of protein phosphorylation in human health and disease. . *European Journal of Biochemistry*, 268(19), 5001–5010.
67. Collier, R.J, Pappenheimer AM., Jr. (1964) Studies on the mode of action of diphtheria toxin. II. Effect of toxin on amino acid incorporation in cell-free systems. *J. Exp. Med.*120:1019–1039.

68. Colman, H., Zhang L, Sulman EP, McDonald JM, Shooshtari NL, Rivera A, et al. (2010) A multigene predictor of outcome in glioblastoma. *Neuro Oncol* 12(1):49–57.
69. Commerford, SL., Carsten AL, Cronkite EP (1982) Histone turnover within nonproliferating cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 79(4):1163–1165
70. Cook ,PJ, Ju BG, Telese F, Wang X, Glass CK, Rosenfeld MG (2009) Tyrosine dephosphorylation of H2AX modulates apoptosis and survival decisions. *Nature* 58(7238):591–596
71. Cook, PR, Brazell IA. (1976). Conformational constraints in nuclear DNA *J. Cell. Sci.* 22, 287-302
72. Copeland, RA (2013). Molecular pathways: protein methyltransferases in cancer. *Clin Cancer Res* 19: 6344–6350.
73. Cosgrove, M.S., Boeke, J.D. & Wolberger, C., 2004. Regulated nucleosome mobility and the histone code. *Nature structural & molecular biology*, 11(11), pp.1037–1043.
74. Cosgrove, M.S., C. Wolberger, How does the histone code work? *Biochem. Cell Biol.* 83 (2005) 468–476
75. Crisp, SERH, Camporeale G, White BR, Toombs CF, Griffin JB, Said HM, et al. (2004) Biotin supply affects rates of cell proliferation, biotinylation of carboxylases and histones, and expression of the gene encoding the sodium-dependent multivitamin transporter in JAr choriocarcinoma cells. *Eur J Nutr.* 43:23–31.
76. Crosio, C., Heitz E, Allis CD, Borrelli E, Sassone-Corsi P (2003) Chromatin remodeling and neuronal response: multiple signalling pathways induce specific histone H3 modifications and early gene expression in hippocampal neurons. *J Cell Sci* 116(Pt24):4905–4914
77. Dai, B., Hu, Z., Huang, H., Zhu, G., Xiao, Z., Wan, W., ... Zhang, L. (2014). Overexpressed KDM5B is associated with the progression of glioma and promotes glioma cell growth via downregulating p21. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 454(1), 221–227.
78. Dai, B., Huang, H., Guan, F., Zhu, G., Xiao, Z., Mao, B., ... Hu, Z. (2018). Histone demethylase KDM5A inhibits glioma cells migration and invasion by down regulating ZEB1. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 99, 72–80.
79. DAI, B., WAN, W., ZHANG, P., ZHANG, Y., PAN, C., MENG, G., ... ZHANG, L. (2015). SET and MYND domain-containing protein 3 is overexpressed in human glioma and contributes to tumorigenicity. *Oncology Reports*, 34(5), 2722–2730.
80. Daigle, SR., Ohava EJ, Therkelsen CA, Basavapathruni A, Jin L, BoriackSjodin A, et al. (2013). A DOT1L inhibitor blocks MLL-fusion leukemia. *Blood*.122:1017–25.
81. Daigle, SR., Olhava EJ, Therkelsen CA, Majer CR, Sneeringer CJ, Song J, et al. (2013) Selective killing of mixed lineage leukemia cells by a potent small-molecule DOT1L inhibitor. *Cancer Cell* 20:53–65.
82. David, G., Neptune MA, DePinho RA (2002) SUMO-1 modification of histone deacetylase 1 (HDAC1) modulates its biological activities. *J Biol Chem* 277(26):23658–23663

83. Dehennaut, V., Leprince, D., & Lefebvre, T. (2014). O-GlcNAcylation, an Epigenetic Mark. Focus on the Histone Code, TET Family Proteins, and Polycomb Group Proteins. *Frontiers in endocrinology*, 5, 155.
84. Del Vecchio, CA., Wong AJ. (2010) Rindopepimut, a 14-mer injectable peptide vaccine against EGFRvIII for the potential treatment of glioblastoma multiforme. *Curr Opin Mol Ther* 12(6):741–54.
85. Demeret, C., Vassetzky, Y. & Méchali, M., (2001). Chromatin remodelling and DNA replication: from nucleosomes to loop domains. *Oncogene*, 20(24), pp.3086–3093.
86. Deng CX. SIRT1, is it a tumor promoter or tumor suppressor? (2009). *Int J Biol Sci*; 5:147–52.
87. Deuring, R., Fanti L, Armstrong JA, Sarte M, Papoulas O, Prestel M, Daubresse G, Verardo M, Moseley SL, Berloco M, Tsukiyama T, Wu C, Pimpinelli S, Tamkun JW. (2000). The ISWI chromatin-remodeling protein is required for gene expression and the maintenance of higher order chromatin structure in vivo. *Mol. Cell* 5, 355-365
88. Dhillon, A.S.; Hagan, S.; Rath, O.; Kolch, W. (2007) MAP kinase signalling pathways in cancer. *Oncogene*, 26, 3279–3290
89. Di Cerbo, V., & Schneider, R. (2013). Cancers with wrong HATs: the impact of acetylation. *Briefings in Functional Genomics*, 12(3), 231–243.
90. Di Croce L. (2005) Chromatin modifying activity of leukaemia associated fusion proteins. *Hum Mol Genet* ;14 Spec No 1: R77-84.
91. Di Lorenzo, A., & Bedford, M. T. (2010). Histone arginine methylation. *FEBS letters*, 585(13), 2024-31.
92. Diaz, RJ., Golbourn B, Shekarforoush M, Smith CA, Rutka JT (2012). Aurora kinase B/C inhibition impairs malignant glioma growth in vivo. *J Neurooncol.*;108:349-360
93. Dillon, S. C., Zhang, X., Trievel, R. C., & Cheng, X. (2005). The SET-domain protein superfamily: protein lysine methyltransferases. *Genome biology*, 6(8), 227.
94. Dong, F., Li, Q., Yang, C., Huo, D., Wang, X., Ai, C., ... Wu, X. (2018). PRMT2 links histone H3R8 asymmetric dimethylation to oncogenic activation and tumorigenesis of glioblastoma. *Nature Communications*, 9(1).
95. Dong, X, Weng Z. (2013). The correlation between histone modifications and gene expression. *Epigenomics*.113–116
96. D'Oto, A., Tian, Q. W., Davidoff, A. M., & Yang, J. (2016). Histone demethylases and their roles in cancer epigenetics. *Journal of medical oncology and therapeutics*, 1(2), 34-40.
97. Dunn, J., Baborie A, Alam F, Joyce K, Moxham M, Sibson R, et al. (2009) . Extent of MGMT promoter methylation correlates with outcome in glioblastomas given temozolomide and radiotherapy. *Br J Cancer* 101(1):124–131

98. Duvic, M. & Vu, J., (2007). Update on the treatment of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL): Focus on vorinostat. *Biologics: targets & therapy*, 1(4), pp.377–392.
99. Ebrahimi A, Schittenhelm J, Honegger J, et al. (2013) Prognostic relevance of global histone 3 lysine 9 acetylation in ependymal tumors. *J. Neurosurg.*, 119: 1424–1431
100. Eckschlager, T., Plch, J., Stiborova, M., & Hrabeta, J. (2017). Histone Deacetylase Inhibitors as Anticancer Drugs. *International journal of molecular sciences*, 18(7), 1414.
101. Eickbush, T.H, Moudrianakis EN. 1978. The histone core complex: an octamer assembled by two sets of protein-protein interactions. *Biochemistry* 17:4955–64
102. Ekwall K. Genome-wide analysis of HDAC function. (2005). *Trends Genet*; 21:608–15.
103. Epigenomics Help [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2010-. Epigenomics Scientific Background. 2010 Aug 31 [Updated 2011 Jan 20].
104. Erica L. Mersfelder and Mark R. Parthun, (2006). The tale beyond the tail: histone core domain modifications and the regulation of chromatin structure.
105. Esteller, M., Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Watkins DN, et al. (2000) Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 60(9):2368–2371
106. Esteller, M.. (2007) Cancer epigenomics: DNA methylomes and histone-modification maps. *Nat Rev Genet*; 8:286–98.
107. Everhard S, Tost J, El Abdalaoui H, Criniere E, Busato F, Marie Y, et al. (2009) Identification of regions correlating MGMT promoter methylation and gene expression in glioblastomas. *Neuro Oncol* 11(4):348–356
108. Everid AC, Small JV, Davies HG. (1970). Electron-microscope observations on the structure of condensed chromatin: evidence for orderly arrays of unit threads on the surface of chicken erythrocyte nuclei. *J Cell Sci* 7: 35–48
109. Falkenberg KJ, Johnstone RW (2014). Histone deacetylases and their inhibitors in cancer, neurological diseases and immune disorders. *Nat Rev Drug Discov*;13(9):673–691
110. Felsberg J, Thon N, Eigenbrod S, Hentschel B, Sabel MC, Westphal M, et al. (2011). Promoter methylation and expression of MGMT and the DNA mismatch repair genes MLH1, MSH2, MSH6 and PMS2 in paired primary and recurrent glioblastomas. *Int J Cancer* 129(3):659–670.
111. Feng J, Yan PF, Zhao HY, Zhang FC, Zhao WH, et al. (2016). SIRT6 suppresses glioma cell growth via induction of apoptosis, inhibition of oxidative stress, and suppression of JAK2/STAT3 signalling pathway activation. *Oncol Rep*;35:1395–402
112. FENG, J., YAN, P.-F., ZHAO, H.-Y., ZHANG, F.-C., ZHAO, W.-H., & FENG, M. (2015). SIRT6 suppresses glioma cell growth via induction of apoptosis, inhibition of

oxidative stress and suppression of JAK2/STAT3 signaling pathway activation. *Oncology Reports*, 35(3), 1395–1402.

113. Ferrara N, Hillan KJ, Novotny W. (2005). Bevacizumab (Avastin), a humanized anti-VEGF monoclonal antibody for cancer therapy. *Biochem Biophys Res Commun.* ;333(2):328–335.
114. Ferreira de Freitas R, Eram MS, Szewczyk MM, et al. 2016. Discovery of a Potent Class I Protein Arginine Methyltransferase Fragment Inhibitor. *J Med Chem Feb* 11;59(3):1176-83.
115. Ferrer, C. M., Lynch, T. P., Sodi, V. L., Falcone, J. N., Schwab, L. P., Peacock, D. L., Reginato, M. J. (2014). O-GlcNAcylation regulates cancer metabolism and survival stress signaling via regulation of HIF-1 pathway. *Molecular Cell*, 54(5), 820–831.
116. Fong JJ, Brenda L, Nguyen BL, Bridger R, Medrano EE, Wells L, Pan S, Sifers RN (2012) Beta-N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) is a novel regulator of mitosis-specific phosphorylations on histone H3. *J Biol Chem* 287(15):12195–12203
117. Fontebasso A.M., Papillon-Cavanagh S., Schwartzentruber J., Nikbakht H., Gerges N., Fiset P.O., Bechet D., Faury D., De Jay N., Ramkissoon L.A., et al. (2014) Recurrent somatic mutations in ACVR1 in pediatric midline high-grade astrocytoma. *Nat. Genet.*; 46:462–466.
118. Fontebasso, A. M., Schwartzentruber, J., Khuong-Quang, D.-A., Liu, X.-Y., Sturm, D., Korshunov, A., ... Majewski, J. (2013). Mutations in SETD2 and genes affecting histone H3K36 methylation target hemispheric high-grade gliomas. *Acta Neuropathologica*, 125(5), 659–669.
119. Fraga, M. F., Ballestar, E., Villar-Garea, A., Boix-Chornet, M., Espada, J., Schotta, G., ... Esteller, M. (2005). Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nature Genetics*, 37(4), 391–400.
120. Freitas, M.A., Sklenar, A.R., Parthun, M.R. (2004). Application of mass spectrometry to the identification and quantification of histone post-translational modifications *J. Cell Biochem.* 92691–700
121. Friday, B. B., Anderson, S. K., Buckner, J., Yu, C., Giannini, C., Geoffroy, F., ... Galanis, E. (2011). Phase II trial of vorinostat in combination with bortezomib in recurrent glioblastoma: a north central cancer treatment group study. *Neuro-Oncology*, 14(2), 215–221.
122. Friedman KL, Diller JD, Ferguson BM, Nyland SV, Brewer BJ, Fangman WL. (1996). Multiple determinants controlling activation of yeast replication origins late in phase S. *Genes Dev.* 10, 1595-1607
123. Friedman, H. S., Prados, M. D., Wen, P. Y., Mikkelsen, T., Schiff, D., Abrey, L. E., et al. (2009). Bevacizumab alone and in combination with Irinotecan in recurrent glioblastoma. *J. Clin. Oncol.* 27, 4733–4740

124. Fritz G, Tano K, Mitra S, Kaina B. (1991) Inducibility of the DNA repair gene encoding O6-methylguanine-DNA methyltransferase in mammalian cells by DNA-damaging treatments. *Mol Cell Biol* 11(9):4660–8.
125. Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, Yokoyama A, Chikanishi T, Ito S, Imai Y, Kim J, He HH, Igarashi K, Kanno J, Ohtake F, Kitagawa H, Roeder RG, Brown M, Kato S (2011) GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature* 480(7378):557–560
126. Gabrovsky, N., Georgieva, M., Laleva, M., Uzunov, K., & Miloshev, G. (2013). Histone H1.0—a potential molecular marker with prognostic value for patients with malignant gliomas. *Acta Neurochirurgica*, 155(8), 1437–1442.
127. Galanis, E., Anderson, S. K., Miller, C. R., Sarkaria, J. N., Jaeckle, K., ... Buckner, J. C. (2017). Phase I/II trial of vorinostat combined with temozolomide and radiation therapy for newly diagnosed glioblastoma: results of Alliance N0874/ABTC 02. *Neuro-Oncology*, 20(4), 546–556.
128. Galanis, E., Jaeckle, K. A., Maurer, M. J., Reid, J. M., Ames, M. M., Hardwick, J. S., ... Buckner, J. C. (2009). Phase II Trial of Vorinostat in Recurrent Glioblastoma Multiforme: A North Central Cancer Treatment Group Study. *Journal of Clinical Oncology*, 27(12), 2052–2058.
129. Gallego Perez-Larraya J, Ducray F, Chinot O, Catry-Thomas I, Taillandier L, Guillamo JS, et al. (2011) Temozolomide in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma and poor performance status: an ANOCEF phase II trial. *J Clin Oncol* 29(22):3050–5.
130. Galligan J, James A. Wepy, Matthew D. Streeter, Philip J. Kingsley, Michelle M. Mitchener, Orrette R. Wauchope, William N. Beavers, Kristie L. Rose, Tina Wang, David A. Spiegel, Lawrence J. Marnett. 2018 Proceedings of the National Academy of Sciences. 115 (37) 9228-9233
131. Gallo, M., Coutinho, F. J., Vanner, R. J., Gayden, T., Mack, S. C., Murison, A., ... Dirks, P. B. (2015). MLL5 Orchestrates a Cancer Self-Renewal State by Repressing the Histone Variant H3.3 and Globally Reorganizing Chromatin. *Cancer Cell*, 28(6), 715–729.
132. Garcia-Gimenez JL, Ledesma AM, Esmoris I, Roma-Mateo C, Sanz P, Vina J, Pallardo FV (2012) Histone carbonylation occurs in proliferating cells. *Free Radic Biol Med* 52(8):1453–1464
133. Gareau JR, Lima CD. (2010) The SUMO pathway: emerging mechanisms that shape specificity, conjugation and recognition. *Nat Rev Mol Cell Biol*.11:861–871.
134. Gavine PR, Mooney L, Kilgour E, Thomas AP, Al-Kadhimi K, Beck S, et al. (2012) AZD4547: an orally bioavailable, potent, and selective inhibitor of the fibroblast growth factor receptor tyrosine kinase family. *Cancer Res* 72:2045–56.
135. Georgopoulos K., (2002). Haematopoietic cell-fate decisions, chromatin regulation and ikaros. *Nature Reviews Immunology* 2, 162-174

136. Gerson SL. (2004) MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 4(4):296–307.
137. Ghiaseddin, A., Reardon, D., Massey, W., Mannerino, A., Lipp, E. S., Herndon, J. E., ... Peters, K. B. (2017). Phase II Study of Bevacizumab and Vorinostat for Patients with Recurrent World Health Organization Grade 4 Malignant Glioma. *The Oncologist*, 23(2), 157–e21.
138. Gilardi, F. & Desvergne, B., 2014. The Biochemistry of Retinoic Acid Receptors I: Structure, Activation, and Function at the Molecular Level. , 70, pp.75–102.
139. Glant, T.T., Mikecz, K. & Rauch, T. a, 2014. Epigenetics in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *BMC medicine*, 12, p.35. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3936819&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
140. Goldknopf, I. L., Taylor, C. W., Baum, R. M., Yeoman, L. C., Olson, M. O., Prestayko, A. W., and Busch, H. (1975). Isolation and characterization of protein A24, a “histone-like” non-histone chromosomal protein. *J. Biol. Chem.* 250, 7182–7187
141. Gothel SF, Marahiel MA. (1999) Peptidyl-prolyl cis-trans isomerases a superfamily of ubiquitous folding catalysts. *Cell Mol Life Sci.* 55(3):423–436.
142. Goto S, Takashi R, Radak Z, Sharma R (2007) Beneficial biochemical outcomes of late-onset dietary restriction in rodents. *Ann N Y Acad Sci* 1100:431–441
143. Grant PA, Duggan L, Cote J, et al. Yeast Gcn5 functions in two multisubunit complexes to acetylate nucleosomal histones: characterization of an Ada complex and the SAGA (Spt/Ada) complex. *Genes Dev* 1997; 11:1640-1650.
144. Gréen, A., 2009. Histone H1 Subtypes and phosphorylation in cell life and death. Linköping University Medical Dissertations No. 1086
145. Grombacher T, Mitra S, Kaina B. (1996) Induction of the alkyltransferase (MGMT) gene by DNA damaging agents and the glucocorticoid dexamethasone and comparison with the response of base excision repair genes. *Carcinogenesis* 17(11):2329–2336.
146. Gryder BE, Sodji QH, Oyelere AK. Targeted cancer therapy: giving histone deacetylase inhibitors all they need to succeed. *Future Med Chem* (2012) 4(4):505–24
147. Gu Y, Mi W, Ge Y, Liu H, Fan Q, Han C, Yang J, Han F, Lu X, Yu W. 2010. GlcNAcylation plays an essential role in breast cancer metastasis. *Cancer Res.* 1; 70(15):6344-51.
148. Gulati S., Jakola A.S., Nerland U.S., Weber C., Solheim O. (2011) The risk of getting worse: Surgically acquired deficits, perioperative complications, and functional outcomes after primary resection of glioblastoma. *World Neurosurg.*;76:572–579.
149. Guo, B., Liang, Q., Li, L., Hu, Z., Wu, F., Zhang, P., et al. (2014). O-GlcNAc-modification of SNAP-29 regulates autophagosome maturation. *Nature Cell Biology*, 16(12), 1215–1226

150. GUO, Z., PEI, S., SI, T., LI, J., JIANG, C., LI, S., & ZHAO, J. (2015). Expression of the γ -phosphorylated histone H2AX in gastric carcinoma and gastric precancerous lesions. *Oncology Letters*, 9(4), 1790–1794.
151. Gusterson RJ, Jazrawi E, Adcock IM, Latchman DS. (2003). The transcriptional co-activators CREB-binding protein (CBP) and p300 play a critical role in cardiac hypertrophy that is dependent on their histone acetyltransferase activity. *J Biol Chem.*; 278:6838–6847.
152. Gusyatiner O, Hegi ME. (2017). Glioma epigenetics: from subclassification to novel treatment options. *Semin Cancer Biol.* 51:50–8.
153. Gutierrez RM, Hnilica LS. (1967). Tissue specificity of histone phosphorylation. *Science*;157(3794):1324-5
154. Hake, S.B. et al. (2006) Expression patterns and post-translational modifications associated with mammalian histone H3 variants. *J. Biol. Chem.* 281, 559–568
155. Han X, Li R, Zhang W, et al. (2014). Expression of PRMT5 correlates with malignant grade in gliomas and plays a pivotal role in tumor growth in vitro. *J Neurooncol.* ;118(1):61–72.
156. Hanif F, Muzaffar K, Perveen kakhshan, Malhi S, Simjee S. (2017). Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*
157. Hart, G. W., Housley, M. P., and Slawson, C. (2007) *Nature* 446, 1017–1022
158. HartzogGA, TamkunJW(2007)Anewrole for histone tailmodifications in transcription elongation. *Genes Dev* 21:3209–3213
159. Hassa PO, Haenni SS, Elser M, Hottiger MO. (2006) Nuclear ADPRibosylation reactions in mammalian cells: where are we today and where are we going? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*70(3):789–829.
160. Hassa, P. and Hottiger, M. (2008) The diverse biological roles of mammalian PARPS, a small but powerful family of poly-ADP-ribose polymerases. *Front. Biosci.* 13, 3046–3082
161. Haynes H.R., Camelo-Piragua S.,Kurian K.M., 2014. Prognostic and predictive biomarkers in adult and paediatric gliomas: towards personalised brain tumour treatment. *Frontiers in Oncology*, 4.
162. Heddlestone, J. M., Wu, Q., Rivera, M., Minhas, S., Lathia, J. D., Sloan, A. E., ... Rich, J. N. (2012). Hypoxia-induced mixed-lineage leukemia 1 regulates glioma stem cell tumorigenic potential. *Cell death and differentiation*, 19(3), 428–439.
163. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* (2005) 352(10):997–1003

164. Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, Yang D, Weinberg J, Gilbert M, et al. (2005) Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients. *Clin Cancer Res* 11(4):1462–1466.
165. Herrlinger U, Rieger J, Koch D, Loeser S, Blaschke B, Kortmann RD, et al. (2006) Phase II trial of lomustine plus temozolomide chemotherapy in addition to radiotherapy in newly diagnosed glioblastoma: UKT-03. *J Clin Oncol* 24(27):4412–4507.
166. Herrmann H, Blatt K, Shi J, Gleixner KV, Cerny-Reiterer S, Müllauer L, Vakoc CR, Sperr WR, Horny HP, Bradner JE, Zuber J, Valent P (2012). Small-molecule inhibition of BRD4 as a new potent approach to eliminate leukemic stem- and progenitor cells in acute myeloid leukemia (AML). *Oncotarget* ; 3:1588-1599.
167. Hodawadekar SC, Marmorstein R. (2007) Chemistry of acetyl transfer by histone modifying enzymes: structure, mechanism and implications for effector design. *Oncogene*; 26:5528- 5540.
168. Hoffman, L.M.; Veldhuijzen van Zanten, S.E.M.; Colditz, N.; Baugh, J.; Chaney, B.; Hoffmann, M.; Lane, A.; Fuller, C.; Miles, L.; Hawkins, C.; et al. (2018) Clinical, Radiologic, Pathologic, and Molecular Characteristics of Long-Term Survivors of Diffuse Intrinsic Pontine Glioma (DIPG): A Collaborative Report From the International and European Society for Pediatric Oncology DIPG Registries. *J. Clin. Oncol.* 36, 1963–1972.
169. Hoffmann, I., Roatsch, M., Schmitt, M. L., Carlino, L., Pippel, M., Sippl, W., & Jung, M. (2012). The role of histone demethylases in cancer therapy. *Molecular Oncology*, 6(6), 683–703.
170. Holmberg Olausson, K., Elsir, T., Moazemi Goudarzi, K., Nistér, M., & Lindström, M. S. (2015). NPM1 histone chaperone is upregulated in glioblastoma to promote cell survival and maintain nucleolar shape. *Scientific Reports*, 5(1).
171. Homma T, Fukushima T, Vaccarella S, Yonekawa Y, Di Patre PL, Franceschi S, et al. (2006) Correlation among pathology, genotype, and patient outcomes in glioblastoma. *J Neuropathol Exp Neurol* 65:846–54
172. Hottiger, M. O. (2011). ADP-ribosylation of histones by ARTD1: An additional module of the histone code? *FEBS Letters*, 585(11), 1595–1599.
173. Hsiao H-H, Nath A, Lin C-Y, Folta-Stogniew EJ, Rhoades E, Braddock DT. (2010). Quantitative characterization of the interactions among c-myc transcriptional regulators FUSE, FBP, and FIR. *Biochemistry*
174. Hu, J., Sun, T., Wang, H., Chen, Z., Wang, S., Yuan, L., ... Wang, X.-F. (2016). MiR-215 Is Induced Post-transcriptionally via HIF-Drosha Complex and Mediates Glioma-Initiating Cell Adaptation to Hypoxia by Targeting KDM1B. *Cancer Cell*, 29(1), 49–60.
175. Huang RC, Bonner J. 1962. Histone, a suppressor of chromosomal RNA synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 48: 1216-22

176. Huang, T., Garcia, R., Qi, J., Lulla, R., Horbinski, C., Behdad, A., ... Saratsis, A. M. (2018). Detection of histone H3 K27M mutation and post-translational modifications in pediatric diffuse midline glioma via tissue immunohistochemistry informs diagnosis and clinical outcomes. *Oncotarget*, 9(98), 37112–37124.
177. Hurtado-Guerrero, R., Dorfmueller, H. C., & van Aalten, D. M. (2008). Molecular mechanisms of O-GlcNAcylation. *Current Opinion in Structural Biology*, 18(5), 551–557
178. Huse Jason T and Eric C. Holland (2010). Targeting brain cancer: advances in the molecular pathology of malignant glioma and medulloblastoma. *Nature reviews. Cancer* , vol 10: 319-331
179. Huse, J. T. et al. (2009) The PTEN-regulating microRNA miR-26a is amplified in high-grade glioma and facilitates gliomagenesis in vivo. *Genes Dev.* 23, 1327–1337
180. Hussain S, Zhang Y, Galardy P. (2009) DUBs and cancer: the role of deubiquitinating enzymes as oncogenes, non-oncogenes and tumor suppressors. *Cell Cycle*.8(11):1688–97
181. Hymes J, Fleischhauer K, Wolf B. (1995). Biotinylation of histones by human serum biotinidase: assessment of biotinyl-transferase activity in sera from normal individuals and children with biotinidase deficiency. *Biochem Mol Med.* 56:76–83
182. Ichimura K, Vogazianou AP, Liu L, Pearson DM, Bäcklund LM, Plant K, et al. (2008). 1p36 is a preferential target of chromosome 1 deletions in astrocytic tumours and homozygously deleted in a subset of glioblastomas. *Oncogene* 27:2097–108.
183. Iwamoto FM, Lamborn KR, Kuhn JG, Wen PY, Yung WK, Gilbert MR, Chang SM, Lieberman FS, Prados MD, Fine HA. (2011) A phase I/II trial of the histone deacetylase inhibitor romidepsin for adults with recurrent malignant glioma: North American Brain Tumor Consortium Study 03-03. *Neuro Oncol.*;13(5):509–516
184. Jang, B. et al., (2013). Peptidylarginine deiminase and protein citrullination in prion diseases: strong evidence of neurodegeneration. *Prion*, 7(1), pp.42–6.
185. Jenuwein T, Allis CD. (2001) Translating the histone code. *Science*. 293:1074–1080.
186. Jiang, W., Agrawal, D. K., & Boosani, C. S. (2018). Cell-specific histone modifications in atherosclerosis (Review). *Molecular medicine reports*, 18(2), 1215–1224.
187. Jones C., Baker S.J. (2014). Unique genetic and epigenetic mechanisms driving paediatric diffuse high-grade glioma. *Nat. Rev. Cancer.* ;14:651–661
188. Jorcano JL, Ruiz-Carrillo A. 1979. H3.H4 tetramer directs DNA and core histone octamer assembly in the nucleosome core particle. *Biochemistry* 18: 768-74
189. Jordan JT, Wen PY. (2015) Novel chemotherapeutic approaches in adult high-grade gliomas. *Cancer Treat Res.*; 163:117–142

190. Jørgensen S, Schotta G and Sørensen CS. (2013) Histone H4 lysine 20 methylation: Key player in epigenetic regulation of genomic integrity. *Nucleic Acids Res.* 41:2797–2806.
191. Juratli, T. A., Qin, N., Cahill, D. P., & Filbin, M. G. (2018). Molecular pathogenesis and therapeutic implications in pediatric high-grade gliomas. *Pharmacology & Therapeutics*, 182, 70–79.
192. Kebede, A. F., Nieborak, A., Shahidian, L. Z., Le Gras, S., Richter, F., Gómez, D. A., ... Schneider, R. (2017). Histone propionylation is a mark of active chromatin. *Nature Structural & Molecular Biology*, 24(12), 1048–1056.
193. Keilhack H, Yokoi A, Knutson SK, Wigle T, Warholc N, Kawano S, et al. Preclinical characterization of E7438, a potent, selective inhibitor of protein methyltransferase EZH2 with robust antitumor activity against EZH2 mutated non-Hodgkin lymphoma xenografts in mice [abstract]. In: *Proceedings of the 54th ASH Annual Meeting and Exposition*; 2012 Dec 8–11; Atlanta, GA. Washington, DC: ASH; 2012. Abstract nr 3712.
194. Kelly, T.J., Qin, S., Gottschling, D.E., Parthun, M.R. (2000) Type B histone acetyltransferase Hat1p participates in telomeric silencing *Mol. Cell. Biol.* 20:7051–7058
195. Khan, S. N., & Khan, A. U. (2010). Role of histone acetylation in cell physiology and diseases: An update. *Clinica Chimica Acta*, 411(19-20), 1401–1411.
196. Khuong-Quang D.A., Buczkowicz P., Rakopoulos P., Liu X.Y., Fontebasso A.M., Bouffet E., Bartels U., Albrecht S., Schwartzentruber J., Letourneau L., et al. (2012). K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas. *Acta Neuropathol*; 124:439–447.
197. Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, Bettgowda C, Agrawal N, Diaz LA Jr, et al. (2013) TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110(15):6021–6
198. Kim, Y.Z., 2014. Altered histone modifications in gliomas. *Brain tumor research and treatment*, 2(1), pp.7–21.
199. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW et al., (1993) Histological typing of tumours of the central nervous system. World Health Organization international histological classification of tumours. Springer, Heidelberg
200. Kleihues P, Cavenee WK et al., (2000) World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the nervous system. IARC Press, Lyon
201. Knizetova P, Ehrmann J, Hlobilkova A, Vancova I, Kalita O, Kolar Z, et al. (2008) Autocrine regulation of glioblastoma cell cycle progression, viability and radioresistance through the VEGF-VEGFR2 (KDR) interplay. *Cell Cycle* ,7:2553–61

202. Kollareddy M, Dzubak P, Zheleva D, Hajduch M (2008): Aurora kinases: structure, functions and their association with cancer. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 152:27-33
203. Kong, Y., Ai, C., Dong, F., Xia, X., Zhao, X., Yang, C., ... Wu, X. (2018). Targeting of BMI-1 with PTC-209 inhibits glioblastoma development. *Cell Cycle*, 1–13.
204. Kornberg RD, Lorch Y. (1999). Twenty-five years of the nucleosome, fundamental particle of the eukaryote chromosome. *Cell*: 285-94.
205. Kornberg RD, Lorch Y. (1995). Interplay between chromatin structure and transcription. *Curr. Opin. Cell. Biol.* 7, 371-375
206. Kornberg RD. (1974). Chromatin structure: a repeating unit of histones and DNA. *Science* 184: 868-71
207. Kossel A. (1884). Uber einen peptonartigen bestandteil des zellkerns. *Z Physiol. Chem.* 8:511-5
208. Kouzarides T., (2007). Chromatin modifications and their function, *Cell* 128, 693–705
209. Krauze AV, Myrehaug SD, Chang MG, Holdford DJ, Smith S, Shih J. et al. (2015). A Phase 2 Study of Concurrent Radiation Therapy, Temozolomide, and the Histone Deacetylase Inhibitor Valproic Acid for Patients With Glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*;92:986–92.
210. Kreisl TN, Smith P, Sul J, Salgado C, Iwamoto FM, Shih JH, et al. (2013) Continuous daily sunitinib for recurrent glioblastoma. *J Neurooncol* 111:41–48.
211. Krenn, V., & Musacchio, A. (2015). The Aurora B Kinase in Chromosome Bi-Orientation and Spindle Checkpoint Signaling. *Frontiers in oncology*, 5, 225.
212. Kreppel LK, Blomberg MA, Hart GW (1997) Dynamic glycosylation of nuclear and cytosolic proteins. Cloning and characterization of a unique O-GlcNAc transferase with multiple tetratricopeptide repeats. *J Biol Chem* 272:9308–9315.
213. Krex D, Klink B, Hartmann C, von Deimling A, Pietsch T, Simon M, et al. (2007) . Long-term survival with glioblastoma multiforme. *Brain*,130:2596–606.
214. Kuczynski EA, Patten SG, Coomber BL. (2011). VEGFR2 expression and TGF- β signaling in initial and recurrent high-grade human glioma. *Oncology* 81:126–34
215. Kuo LJ, Yang LX (2008) c-H2AX—a novel biomarker for DNA double-strand breaks. *In vivo* 22:305–310
216. Lai A, Kharbanda S, Pope WB, Tran A, Solis OE, Peale F, et al. (2011) Evidence for sequenced molecular evolution of IDH1 mutant glioblastoma from a distinct cell of origin. *J Clin Oncol* 29(34):4482–4490.
217. Leach TJ, Chotkowski HL, Wotring MG, Dilwith RL, Glaser RL. (2000). Replication of heterochromatine and structure of polytene chromosome. *Mol. Cell. Biol.* 20, 6308-6316
218. Lee EQ, Kuhn J, Lamborn KR, Abrey L, DeAngelis LM, Lieberman F, et al. (2012) Phase I/II study of sorafenib in combination with temsirolimus for recurrent

glioblastoma or gliosarcoma: North American Brain Tumor Consortium study 05-02. *Neuro Oncol* 14:1511–8.

219. Lee, D. H., Ryu, H.-W., Won, H.-R., & Kwon, S. H. (2017). Advances in epigenetic glioblastoma therapy. *Oncotarget*, 8(11).
220. Lee, J.H, Cook JR, Yang ZH, Mirochnitchenko O, Gunderson SI, Felix AM, Herth N, Hoffmann R, Pestka S (2005). PRMT7, a new protein arginine methyltransferase that synthesizes symmetric dimethylarginine. *J Biol Chem* 280:3656–3664
221. Lehman, N. L., O'Donnell, J. P., Whiteley, L. J., Stapp, R. T., Lehman, T. D., Roszka, K. M., ... Poisson, L. M. (2012). Aurora A is differentially expressed in gliomas, is associated with patient survival in glioblastoma and is a potential chemotherapeutic target in gliomas. *Cell Cycle*, 11(3), 489–502.
222. Li, R, Botchan MR. (1994). Acidic transcription factors alleviate nucleosome-mediated repression of DNA replication of bovine papillomavirus type 1 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 7051-7055
223. Li, S., Chen, X., Mao, L., Zahid, K. R., Wen, J., Zhang, L., ... Xu, G. (2018). Histone deacetylase 1 promotes glioblastoma cell proliferation and invasion via activation of PI3K/AKT and MEK/ERK signaling pathways. *Brain Research*, 1692, 154–162.
224. Li, Y., Dai, D., Lu, Q., Fei, M., Li, M., & Wu, X. (2013). Sirt2 suppresses glioma cell growth through targeting NF- κ B–miR-21 axis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 441(3), 661–667.
225. Liu BL, Cheng JX, Zhang X, Wang R, Zhang W, Lin H, et al. (2010) Global histone modification patterns as prognostic markers to classify glioma patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. Nov;19(11):2888–96
226. LIU, Q., ZHENG, J.-M., CHEN, J.-K., YAN, X.-L., CHEN, H.-M., NONG, W.-X., & HUANG, H.-Q. (2014). Histone deacetylase 5 promotes the proliferation of glioma cells by upregulation of Notch 1. *Molecular Medicine Reports*, 10(4), 2045–2050.
227. Lo, W.S, Trievel RC, Rojas JR, Duggan J, Hsu JY, Allis D, Marmorstein R, Berger SL (2000) Phosphorylation of serine 10 in histone H3 is functionally linked in vitro and in vivo to Gcn5-mediated acetylation at lysine 14. *Mol Cell* 5(6):917–926
228. Loh, J.-K., Lieu, A.-S., Chou, C.-H., Lin, F.-Y., Wu, C.-H., Howng, S.-L., ... Hong, Y.-R. (2010). Differential expression of centrosomal proteins at different stages of human glioma. *BMC Cancer*, 10(1).
229. Louis, D.N, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (2016) World Health Organization Histological Classification of Tumours of the Central Nervous System. International Agency for Research on Cancer, France
230. Louis, D.N, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (eds) (2007) WHO Classification of tumours of the central nervous system. IARC, Lyon
231. Love, D. C., and Hanover, J. A. (2005) *Sci. STKE* 2005, re13

232. Lowe, B. R., Maxham, L. A., Hamey, J. J., Wilkins, M. R., & Partridge, J. F. (2019). Histone H3 Mutations: An Updated View of Their Role in Chromatin Deregulation and Cancer. *Cancers*, 11(5), 660
233. Lu C., Han H.D., Mangala L.S., Ali-Fehmi R., Newton C.S., Ozbun L., Armaiz-Pena G.N., Hu W., Stone R.L., et al (2010) Regulation of tumor angiogenesis by EZH2. *Cancer Cell*. 18(2):185–197
234. Luger, K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389: 251-60
235. Lulla, R. R., Saratsis, A. M., & Hashizume, R. (2016). Mutations in chromatin machinery and pediatric high-grade glioma. *Science Advances*, 2(3), e1501354–e1501354.
236. Luo, K., Huang, W., & Tang, S. (2018). Sirt3 enhances glioma cell viability by stabilizing Ku70-BAX interaction. *OncoTargets and therapy*, 11, 7559–7567.
237. Lv, D., Jia, F., Hou, Y., Sang, Y., Alvarez, A. A., Zhang, W., ... Feng, H. (2017). Histone Acetyltransferase KAT6A Upregulates PI3K/AKT Signaling through TRIM24 Binding. *Cancer research*, 77(22), 6190–6201.
238. Lvarez, AA, Field M, Bushnev S, Longo MS, Sugaya K. (2015). The effects of histone deacetylase inhibitors on glioblastoma-derived stem cells. *J Mol Neurosci* ;55:7-20.
239. Lynch TP, Reginato MJ. 2011. O-GlcNAc transferase: a sweet new cancer target. *Cell Cycle*.;10:1712–1713.
240. Ma, X.J., Wu, J., Altheim, B.A., Schultz, M.C., Grunstein, M. (1998). Deposition-related sites K5/K12 in histone H4 are not required for nucleosome deposition in yeast *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95:6693–6698
241. Mack SC, Witt H, Piro RM, et al. (2014) Epigenomic alterations define lethal CIMP-positive ependymomas of infancy. *Nature*, 506: 445–450.
242. Maher Elizabeth, Furnari Frank B.Bachoo, Robert M.Rowitch, David H.Louis, David N.Cavenee, Webster K. DePinho, Ronald a.. (2001). Malignant glioma: genetics and biology of a grave matter. *GENES & DEVELOPMENT* 15:1311–1333
243. Malmstrom A, Gronberg BH, Marosi C, Stupp R, Frappaz D, Schultz H, et al. (2012). Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 13(9):916–926
244. Mansouri A, Karamchandani J, Das S. (2017). Molecular Genetics of Secondary Glioblastoma. In: De Vleeschouwer S, editor. *Glioblastoma* [Internet]. Brisbane (AU): Codon Publications; Chapter 2: Molecular Genetics of Secondary Glioblastoma
245. Manthey KC, Griffin JB, Zemleni J.(2002). Biotin supply affects expression of biotin transporters, biotinylation of carboxylases, and metabolism of interleukin-2 in Jurkat cells. *J Nutr*. 132:887–92.

246. Martin, O. A., & Bonner, W. M. (2006). γ -H2AX in Cancer Cells: A Potential Biomarker for Cancer Diagnostics, Prediction and Recurrence. *Cell Cycle*, 5(24), 2909–2913.
247. Mastronardi, F.G. et al., (2006). Increased citrullination of histone H3 in multiple sclerosis brain and animal models of demyelination: a role for tumor necrosis factor-induced peptidylarginine deiminase 4 translocations. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*, 26(44), pp.11387–11396.
248. Matthaios, D., Hountis, P., Karakitsos, P., Bouros, D., & Kakolyris, S. (2013). H2AX a Promising Biomarker for Lung Cancer: A Review. *Cancer Investigation*, 31(9), 582–599.
249. McBride AE, Silver PA (2001) State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell* 106:5–8
250. McEwan DG, Dikic I. (2011). The Three Musketeers of Autophagy: phosphorylation, ubiquitylation and acetylation. *Trends Cell Biol.*; 21:195–201.
251. McGrath, J., & Trojer, P. (2015). Targeting histone lysine methylation in cancer. *Pharmacology & Therapeutics*, 150, 1–22.
252. Megee, P.C., Morgan, B.A., Mittman, B.A., Smith, M.M. (1990). Genetic analysis of histone H4: essential role of lysines subject to reversible acetylation *Science* 247:841–845
253. Megee, P.C., Morgan, B.A., Smith, M.M. (1995) Histone H4 and the maintenance of genome integrity *Genes Dev.* 9, 1716–1727
254. Mei L, Hu Q, Peng J, et al. (2015) Phospho-histone H2AX is a diagnostic and prognostic marker for epithelial ovarian cancer. *Int J Clin Exp Pathol*; 8(5): 5597–5602
255. Mersfelder, E. L., & Parthun, M. R. (2006). The tale beyond the tail: histone core domain modifications and the regulation of chromatin structure. *Nucleic acids research*, 34(9), 2653–2662. doi:10.1093/nar/gkl338
256. Miao F, Li SL, Chavez V, Lanting L, Natarajan R (2006) Coactivator-associated arginine methyltransferase-1 enhances nuclear factor κ B-mediated gene transcription through methylation of histone H3 at arginine 17. *Mol Endocrinol* 20(7):1562–1573
257. Michael A. Hahn, Kristie-Ann Dickson, Stuart Jackson, Adele Clarkson, Anthony J. Gill, Deborah J. Marsh. (2012). The tumor suppressor CDC73 interacts with the ring finger proteins RNF20 and RNF40 and is required for the maintenance of histone H2B monoubiquitination, *Human Molecular Genetics*, Volume 21, Issue 3, Pages 559–568
258. Millar C.B. (2013). Organizing the genome with H2A histone variants. *Biochem. J.*; 449:567–579
259. Momota, H., Ichimiya, S., Kondo, N., Kikuchi, T., Torigoe, T., Yamaki, T., ... Sato, N. (2003). Histone H2AX sensitizes glioma cells to genotoxic stimuli by recruiting DNA double-strand break repair proteins. *International Journal of Oncology*.

260. Morokoff A, Ng W, Gogos A, Kaye A. (2015) Molecular subtypes, stem cells and heterogeneity: Implications for personalised therapy in glioma. *Journal of clinical neuroscience*
261. Moscarello MA, Wood DD, Ackerley C, Boulias C (1994) Myelin in multiple sclerosis is developmentally immature. *J Clin Invest* 94(1):146–154
262. Mu, P., Liu, K., Lin, Q., Yang, W., Liu, D., Lin, Z., ... Ji, T. (2019). Sirtuin 7 promotes glioma proliferation and invasion through activation of the ERK/STAT3 signaling pathway. *Oncology letters*, 17(2), 1445–1452.
263. Mukhopadhyay D, Dasso M. (2007). Modification in reverse: the SUMO proteases. *Trends Biochem Sci.* ;32:286–295
264. Murrey HE, Hsieh-Wilson LC (2008) The chemical neurobiology of carbohydrates. *Chem Rev* 108:1708–1731.
265. Nagarajan RP, Zhang B, Bell RJ, et al (2014). Recurrent epimutations activate gene body promoters in primary glioblastoma. *Genome Res*, 24: 761–774.
266. Nathan D, Ingvarsdottir K, Sterner DE, Bylebyl GR, Dokmanovic M, Dorsey JA, Whelan KA, Krsmanovic M, Lane WS, Meluh PB, Johnson ES, Berger SL (2006) Histone sumoylation is a negative regulator in *Saccharomyces cerevisiae* and shows dynamic interplay with positive-acting histone modifications. *Genes Dev* 20(8):966–976
267. Nathan D, Sterner DE, Berger SL (2003) Histone modifications: now summoning sumoylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(23):13118–13120
Nature 457(7225):57–62
268. Nelson CJ, Santos-Rosa H, Kouzarides T. (2006) Proline isomerization of histone H3 regulates lysine methylation and gene expression. *Cell*.126(5):905–916.
269. Neutzner, A., Benard, G., Youle, R.J. and Karbowski, M. (2008) Role of the ubiquitin conjugation system in the maintenance of mitochondrial homeostasis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1147, 242–253
270. Newlands ES, Stevens MF, Wedge SR, Wheelhouse RT, Brock C. (1997). Temozolomide: a review of its discovery, chemical properties, pre-clinical development and clinical trials. *Cancer Treat Rev.* Jan;23(1):35-61. Review.
271. Nguyen SA, Stechishin OD, Luchman HA, Lun XQ, Senger DL, Robbins SM, et al. (2014). Novel MSH6 mutations in treatment-naïve glioblastoma and anaplastic oligodendroglioma contribute to temozolomide resistance independently of MGMT promoter methylation. *Clin Cancer Res* 20(18):4894–4903.
272. Noshmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, Phillips HS, Pujara K, Berman BP, et al. (2010) Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell* 17(5):510–522
273. Nowak SJ, Corces VG (2000) Phosphorylation of histone H3 correlates with transcriptionally active loci. *Genes Dev* 14:3003–3013

274. O'Reilly SM, Newlands ES, Glaser MG, Brampton M, Rice-Edwards JM, Illingworth RD, Richards PG, Kennard C, Colquhoun IR, Lewis P, et al.(1993) Temozolomide: a new oral cytotoxic chemotherapeutic agent with promising activity against primary brain tumours. *Eur J Cancer* 29A:940–942
275. Oda H, Okamoto I, Murphy N, Chu J, Price SM, Shen MM, Torres-Padilla ME, Heard E and Reinberg D (2009). Monomethylation of histone H4-lysine 20 is involved in chromosome structure and stability and is essential for mouse development. *Mol Cell Biol.* 29:2278–2295.
276. Oehring RD, Miletic M, Valter MM, Pietsch T, Neumann J, Fimmers R, et al. (1999), Vascular endothelial growth factor (VEGF) in astrocytic gliomas – a prognostic factor? *J Neurooncol* 45:117–25.
277. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, et al. (2004). Genetic pathways to glioblastoma: A population-based study. *Cancer Res.*
278. Ohgaki, H. & Kleihues, P. (2005) Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 64, 479–489
279. Oikonomaki, M., Bady, P., & Hegi, M. E. (2017). Ubiquitin Specific Peptidase 15 (USP15) suppresses glioblastoma cell growth via stabilization of HECTD1 E3 ligase attenuating WNT pathway activity. *Oncotarget*, 8(66), 110490–110502.
280. Okuyama R, Marshall S (2003) UDP-N-acetylglucosaminyl transferase (OGT) in brain tissue: Temperature sensitivity and subcellular distribution of cytosolic and nuclear enzyme. *J Neurochem* 86:1271–1280
281. Ostrom, Q.T.; de Blank, P.M.; Kruchko, C.; Petersen, C.M.; Liao, P.; Finlay, J.L.; Stearns, D.S.; Wolff, J.E.; Wolinsky, Y.; Letterio, J.J.; et al. (2015) Alex's Lemonade Stand Foundation Infant and Childhood Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2007–2011. *Neuro Oncol.*, 16 (Suppl. 10), x1–x36
282. Ozdemir-Kaynak, E., Qutub, A. A., & Yesil-Celiktas, O. (2018). Advances in Glioblastoma Multiforme Treatment: New Models for Nanoparticle Therapy. *Frontiers in Physiology*, 9.
283. Pacaud, R., Cheray, M., Nadaradjane, A., Vallette, F. M., & Cartron, P. F. (2015). Histone H3 phosphorylation in GBM: a new rational to guide the use of kinase inhibitors in anti-GBM therapy. *Theranostics*, 5(1), 12–22.
284. Pal S, Vishwanath SN, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Sif S (2004) Human SWI/SNF-associated PRMT5 methylates histone H3 arginine 8 and negatively regulates expression of ST7 and NM23 tumor suppressor genes. *Mol Cell Biol* 24(21):9630–9645

285. Palla, V.-V., Karaolanis, G., Katafigiotis, I., Anastasiou, I., Patapis, P., Dimitroulis, D., & Perrea, D. (2017). gamma-H2AX: Can it be established as a classical cancer prognostic factor? *Tumor Biology*, 39(3), 101042831769593.
286. Pardon JF, Wilkins MH, Richards BM. (1967). Super-helical model for nucleohistone. *Nature* 215: 508-9
287. Park JE, Lee JA, Park SG, Lee DH, Kim SJ, Kim HJ et al. (2012) A critical step for JNK activation: isomerization by the prolyl isomerase Pin1. *Cell Death Differ.* 19: 153–161.
288. Park, E.C. and Szostak, J.W. (1990). Point mutations in the yeast histone H4 gene prevent silencing of the silent mating type locus HML *Mol. Cell. Biol.*104932–4934
289. Parker NR, Khong P, Parkinson JF, Howell VM and Wheeler HR (2015) Molecular heterogeneity in glioblastoma: potential clinical implications. *Front. Oncol.* 5:55.
290. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. (2008) An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 21(5897):1807–1812.
291. Parthun MR. (2007) Hat1: the emerging cellular roles of a type B histone acetyltransferase. *Oncogene*; 26:5319-5328.
292. Patel M, Vogelbaum MA, Barnett GH, Jalali R, Ahluwalia MS. (2012) Molecular targeted therapy in recurrent glioblastoma: current challenges and future directions. *Expert Opin Investig Drugs* 21(9):1247–1266.
293. Paulson JR, Laemmli UK. (1977). The structure of histone-depleted metaphase chromosomes. *Cell* 12, 817-825
294. Pawlak S, Deckert J (2007) Histone modifications under environmental stress. *Biol Lett* 44(2):65–73
295. Pegg AE, Byers TL. (1992). Repair of DNA containing O6-alkylguanine. *FASEB J* ; 6: 2302–10.
296. Pekkurnaz, G., Trinidad, J. C., Wang, X., Kong, D., & Schwarz, T. L. (2014). Glucose regulates mitochondrial motility via Milton modification by O-GlcNAc transferase. *Cell*, 158(1), 54–68
297. Peters DM, Griffin JB, Stanley JS, Beck MM, Zempleni J. (2002) Exposure to UV light causes increased biotinylation of histones in Jurkat cells. *Am J Physiol Cell Physiol* ;283:C878 – 84.
298. Peters, K. B., Lipp, E. S., Miller, E., Herndon, J. E., McSherry, F., Desjardins, A., ... Friedman, H. S. (2017). Phase I/II trial of vorinostat, bevacizumab, and daily temozolomide for recurrent malignant gliomas. *Journal of Neuro-Oncology*, 137(2), 349–356.
299. Phillips HS, Kharbanda S, Chen R, Forrest WF, Soriano RH, Wu TD, et al. (2006) Molecular subclasses of high-grade glioma predict prognosis, delineate a

pattern of disease progression, and resemble stages in neurogenesis. *Cancer Cell* 9(3):157–173

300. Pickart, C. M., & Eddins, M. J. (2004). Ubiquitin: structures, functions, mechanisms. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, 1695(1-3), 55–72.
301. Pinheiro R., Braga C., Santos G., Bronze M. R., Perry M. J., Moreira R., et al. (2017). Targeting gliomas: can a new alkylating hybrid compound make a difference? *ACS Chem. Neurosci.* 8, 50–59.
302. Pinkstone, E., Pilkington, G., & Fillmore, H. (2016). HG-103 INVESTIGATING HISTONE DEACETYLASES IN PAEDIATRIC GLIOBLASTOMA. *Neuro-Oncology*, 18(suppl 3), iii72.5–iii72.
303. Pollock RM, Daigle SR, Therkelsen CA, Basavapathruni A, Jin L, Allain CJ, et al. (2012). Preclinical characterization of a potent, selective inhibitor of the protein methyltransferase DOT1L for use in the treatment of MLL rearranged leukemia [abstract]. In: *Proceedings of the 54th ASH Annual Meeting and Exposition; 2012 Dec 8–11; Atlanta, GA. Washington, DC: ASH; Abstract nr 2379*
304. Prenzel, T., Begus-Nahrmann, Y., Kramer, F., Hennion, M., Hsu, C., Gorsler, T., ... Johnsen, S. A. (2011). Estrogen-Dependent Gene Transcription in Human Breast Cancer Cells Relies upon Proteasome-Dependent Monoubiquitination of Histone H2B. *Cancer Research*, 71(17), 5739–5753.
305. Qiu, G.-Z., Mao, X.-Y., Ma, Y., Gao, X.-C., Wang, Z., Jin, M.-Z., ... Jin, W.-L. (2018). Ubiquitin-specific protease 22 acts as an oncoprotein to maintain glioma malignancy through deubiquitinating B cell-specific Moloney murine leukemia virus integration site 1 for stabilization. *Cancer Science*, 109(7), 2199–2210.
306. Rahmathulla G, Hovey EJ, Hashemi-Sadraei N, Ahluwalia MS. (2013). Bevacizumab in high-grade gliomas: a review of its uses, toxicity assessment, and future treatment challenges. *Onco Targets Ther* 6:371–389.
307. Ramakrishna, S., Suresh, B. and Baek, K.H. (2011) The role of deubiquitinating enzymes in apoptosis. *Cell. Mol. Life Sci.* 68, 15–26
308. Ramakrishnan, V. (1997b). Histone structure and the organization of the nucleosome. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 26, 83–112.
309. Ramkissoon, L. A. et al. (2013) Genomic analysis of diffuse pediatric low-grade gliomas identifies recurrent oncogenic truncating rearrangements in the transcription factor MYBL1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110, 8188–8193.
310. Rasheed W, Bishton M, Johnstone RW, et al (2008). Histone deacetylase inhibitors in lymphoma and solid malignancies. *Expert Rev Anticancer Ther* 8:413–432.
311. Reifenberger, G., Wirsching, H.-G., Knobbe-Thomsen, C. B., & Weller, M. (2016). Advances in the molecular genetics of gliomas — implications for classification and therapy. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 14(7), 434–452.

312. Rexach, J. E., Rogers, C. J., Yu, S. H., Tao, J., Sun, Y. E., & Hsieh-Wilson, L. C. (2010). Quantification of O-glycosylation stoichiometry and dynamics using resolvable mass tags. *Nature Chemical Biology*, 6(9), 645–651.
313. Rivera AL, Pelloski CE, Gilbert MR, Colman H, De La Cruz C, Sulman EP, et al. (2010) MGMT promoter methylation is predictive of response to radiotherapy and prognostic in the absence of adjuvant alkylating chemotherapy for glioblastoma. *Neuro Oncol* 12(2):116–121.
314. Robinson, P.J., and Rhodes, D. (2006). Structure of the '30 nm' chromatin fibre: a key role for the linker histone. *Curr Opin Struct Biol* 16, 336-343.
315. Roch F, Jiménez G, Casanova J. (2002). EGFR signalling inhibits capicua-dependent repression during specification of Drosophila wing veins. *Development* 129:993–1002.
316. Roelfsema JH, Peters DJ. (2007). Rubinstein-Taybi syndrome: clinical and molecular overview. *Expert Rev Mol Med* ,9 : 1–16
317. Rogakou EP, Pilch DR, Orr AH, et al (1998). DNA double-stranded breaks induce histone H2AX phosphorylation on serine 139. *J Biol Chem*
318. Romani, M., Daga, A., Forlani, A., Pistillo, M. P., & Banelli, B. (2019). Targeting of Histone Demethylases KDM5A and KDM6B Inhibits the Proliferation of Temozolomide-Resistant Glioblastoma Cells. *Cancers*, 11(6), 878.
319. Romani, M., Pistillo, M. P., & Banelli, B. (2018). Epigenetic Targeting of Glioblastoma. *Frontiers in Oncology*, 8.
320. Roper, S.; Esteller, M. (2007) The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. *Mol. Oncol.* 1, 19–25.
321. Rosa-Garrido, M., Chapski, D. J., & Vondriska, T. M. (2018). Epigenomes in Cardiovascular Disease. *Circulation research*, 122(11), 1586–1607.
322. Rothbart, S.B. & Strahl, B.D., (2014). Interpreting the language of histone and DNA modifications. *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms*, 1839(8), pp.627–643.
323. Ryall, S. et al. (2017) A comprehensive review of paediatric low-gradediffuse glioma: pathology, molecular genetics and treatment. *Brain Tumor Pathol.* 34(2):51-61.
324. S. S. Donaldson, F. Laningham, P. G. Fisher (2006). Advances toward an understanding of brainstem gliomas. *J. Clin. Oncol.* 24, 1266–1272
325. Sabari, B. R., Tang, Z., Huang, H., Yong-Gonzalez, V., Molina, H., Kong, H. E., ... Allis, C. D. (2015). Intracellular Crotonyl-CoA Stimulates Transcription through p300-Catalyzed Histone Crotonylation. *Molecular Cell*, 58(2), 203–215.

326. Sadakierska-Chudy, A. & Filip, M., (2014). A Comprehensive View of the Epigenetic Landscape. Part II: Histone Post-translational Modification, Nucleosome Level, and Chromatin Regulation by ncRNAs. *Neurotoxicity Research*, 27(2), pp.172–197.
327. Saha A, Wittmeyer J, Cairns BR (2006) Chromatin remodelling: the industrial revolution of DNA around histones. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7:437–447
328. Saidi, D., Cheray, M., Osman, A. M., Stratoulis, V., Lindberg, O. R., Shen, X., ... Joseph, B. (2017). Glioma-induced SIRT1-dependent activation of hMOF histone H4 lysine 16 acetyltransferase in microglia promotes a tumor supporting phenotype. *Oncoimmunology*, 7(2).
329. Sareddy G. R, Nair B. C., Krishnan S. K, Gonugunta V. K, Zhang Q., Miyata N., Suzuki T., Brenner A., Brann D. W, Vadlamudi R. (2012). KDM1 is a novel therapeutic target for the treatment of gliomas. *Oncotarget*; 4: 18-28.
330. Sathornsumetee S, Reardon DA, Desjardins A, Quinn JA, Vredenburgh JJ, et al. (2007) Molecularly targeted therapy for malignant glioma. *Cancer* ;110:13–24
331. Sawicka A, Seiser C (2014) Sensing core histone phosphorylation—A matter of perfect timing. *Biochim Biophys Acta* 1839(8):711–718
332. Scheerger SB, Zemleni J. (2003). Expression of oncogenes depends on biotin in human small cell lung cancer cells NCI-H69. *Int J Vitam Nutr Res.* 73:461–7
333. Schenk R., Jenke A., Zilbauer M., Wirth S., Postberg J. (2011). H3.5 is a novel hominid-specific histone H3 variant that is specifically expressed in the seminiferous tubules of human testes. *Chromosoma.* ;120: 275–285.
334. Schmitt, J. M. and Stork, P. J. S. (2002). PKA phosphorylation of Src mediates cAMP's inhibition of cell growth via Rap1. *Mol. Cell* 9, 85-94.
335. Schnitzler, G.R. (2008). Control of nucleosome positions by DNA sequence and remodeling machines. *Cell Biochem Biophys* 51, 67-80.
336. Schwartzentruber, J., Korshunov, A., Liu, X. Y., Jones, D. T., Pfaff, E., Jacob, K., et al. (2012). Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature*, 482(7384), 226-231.
337. Senshu T, Akiyama K, Nomura K (1999) Identification of citrulline residues in the V subdomains of keratin K1 derived from the cornified layer of newborn mouse epidermis. *Exp Dermatol* 8(5):392–401, Comparative Study Research Support, Non-U.S. Gov't
338. Sepsa, A., Levidou, G., Gargalionis, A., Adamopoulos, C., Spyropoulou, A., Dalagiorgou, G., Korkolopoulou, P. (2015). 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*, 10(1)
339. Shabason JE, Tofilon PJ, Camphausen K. (2011). Grand rounds at the National Institutes of Health: HDAC inhibitors as radiation modifiers, from bench to clinic. *J Cell Mol Med.*;15(12):2735–2744.

340. Shanmugam, M. K., Arfuso, F., Arumugam, S., Chinnathambi, A., Jinsong, B., Warriar, S., Lakshmanan, M. (2017). Role of novel histone modifications in cancer. *Oncotarget*, 9(13).
341. Sharma R, Nakamura A, Takahashi R, Nakamoto H, Goto S (2006) Carbonyl modification in rat liver histones changes with age and dietary restriction. *Free Rad Biol Med* 40:1179–1184
342. Shen L, Ciesielski M, Ramakrishnan S, Miles KM, Ellis L, Sotomayor P, et al (2012). Class I histone deacetylase inhibitor entinostat suppresses regulatory T cells and enhances immunotherapies in renal and prostate cancer models. *PLoS One.* ;7
343. Shi Y, Lan F, Matson C, et al. (2004). Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1. *Cell*; 119:941-53.
344. Shiio Y, Eisenman RN (2003) Histone sumoylation is associated with transcriptional repression. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(23):13225–13230
345. Shinkai, Y., and Tachibana, M. (2011). H3K9 methyltransferase G9a and the related molecule GLP. *Genes Dev.* 25, 781–788.
346. Shinsato Y, Furukawa T, Yunoue S, Yonezawa H, Minami K, Nishizawa Y, et al. (2013) Reduction of MLH1 and PMS2 confers temozolomide resistance and is associated with recurrence of glioblastoma. *Oncotarget* 4(12):2261–2270.
347. Shogren-Knaak M, Ishii H, Sun JM, Pazin MJ, Davie JR, Peterson CL. (2006) Histone H4-K16 acetylation controls chromatin structure and protein interactions. *Science*. 311:844–847.
348. Shou, T., Yang, H., Lv, J., Liu, D., & Sun, X. (2019). MicroRNA-3666 suppresses the growth and migration of glioblastoma cells by targeting KDM2A. *Molecular medicine reports*, 19(2), 1049–1055.
349. Simpson RT. (1990). Nucleosome positioning can affect the function of a cis-acting DMA element in vivo *Nature* 343, 387-389
350. Singh D, Chan JM, Zoppoli P, Niola F, Sullivan R, Castano A, et al. (2012). Transforming fusions of FGFR and TACC genes in human glioblastoma. *Science* 337:1231–5.
351. Singhal NK, Li S, Arning E, Alkhayer K, Clements R, Sarcyk Z, et al. (2015). Changes in methionine metabolism and histone H3 trimethylation are linked to mitochondrial defects in multiple sclerosis. *J Neurosci*;35: 15170–86.
352. Skaar, J. R., & Pagano, M. (2009). Control of cell growth by the SCF and APC/C ubiquitin ligases. *Current Opinion in Cell Biology*, 21(6), 816–824.
353. Slade, D. J., Horibata, S., Coonrod, S. A. and Thompson, P. R. (2014), A novel role for protein arginine deiminase 4 in pluripotency: The emerging role of citrullinated histone H1 in cellular programming. *Bioessays*, 36: 736–740.

354. Slawson C, Copeland RJ, Hart GW (2010) O-GlcNAc signaling: a metabolic link between diabetes and cancer? *Trends Biochem Sci* 35(10):547–555
355. Slawson C, Zachara NE, Vosseller K, Win D, Cheung WD, Lane MD, Hart GW (2005) Perturbations in O-linked -N-acetylglucosamine protein modification causes severe defects in mitotic progression and cytokinesis. *J Biol Chem* 280(38):32944–32956
356. Smith JS, Perry A, Borell TJ, Lee HK, O’Fallon J, Hosek SM, et al. (2000). Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol* 18:636–45.
357. Song, Y., Wu, F., & Wu, J. (2016). Targeting histone methylation for cancer therapy: enzymes, inhibitors, biological activity, and perspectives. *Journal of hematology & oncology*, 9(1), 49
358. Sparmann A, van Lohuizen M. (2006). Polycomb silencers control cell fate, development, and cancer. *Nat Rev Cancer* 6:846–56.
359. Specenier P. Bevacizumab in glioblastoma multiforme. (2012). *Expert Rev Anticancer Ther* 12:9–18.
360. Spengler, J. & Scheel-toellner, D., (2014). Protein Deimination in Human Health and Disease. , pp.97–111.
361. Spyropoulou, A., Gargalionis, A., Dalagiorgou, G., Adamopoulos, C., Papavassiliou, K. A., Lea, R. W., ... Papavassiliou, A. G. (2013). Role of Histone Lysine Methyltransferases SUV39H1 and SETDB1 in Gliomagenesis: Modulation of Cell Proliferation, Migration, and Colony Formation. *NeuroMolecular Medicine*, 16(1), 70–82.
362. Staberg, M., Rasmussen, R. D., Michaelsen, S. R., Pedersen, H., Jensen, K. E., Villingshøj, M., ... Hamerlik, P. (2018). Targeting glioma stem-like cell survival and chemoresistance through inhibition of lysine-specific histone demethylase KDM2B. *Molecular oncology*, 12(3), 406–420.
363. Staneczek W, Jänisch W. (1994) Epidemiology of primary tumors of the central nervous system in children and adolescents. A population-based study. *Pathologe*. Aug;15(4):207–15.
364. Stanley JS, Griffin JB, Zemleni J. (2001) Biotinylation of histones in human cells: effects of cell proliferation. *Eur J Biochem*. 268:5424–9
365. Stark AM, Doukas A, Hugo HH, Mehdorn HM. (2010) . The expression of mismatch repair proteins MLH1, MSH2 and MSH6 correlates with the Ki67 proliferation index and survival in patients with recurrent glioblastoma. *Neurol Res* 32(8):816–820.
366. Staynov, D.Z. (2008). The controversial 30 nm chromatin fibre. *Bioessays* 30, 1003-1009.
367. Stedman E. 1950. Cell specificity of histones. *Nature* 166: 780-1
368. Steger DJ, Workman JL. (1996). Remodeling chromatin structures for transcription: what happens to the histones? *Bioessays*; 18:875-84.

369. Stiborova M., Eckschlager T., Poljakova J., Hrabeta J., Adam V., Kizek R., Frei E. et al 2012. The synergistic effects of DNA-targeted chemotherapeutics and histone deacetylase inhibitors as therapeutic strategies for cancer treatment. *Curr. Med. Chem.*;19:4218–4238.
370. Strahl BD, Allis CD (2000). The language of covalent histone modifications. *Nature* 403(6765):41–44
371. Strahl, B. D., Ohba, R., Cook, R. G., & Allis, C. D. (1999). Methylation of histone H3 at lysine 4 is highly conserved and correlates with transcriptionally active nuclei in *Tetrahymena*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96(26), 14967–14972.
372. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, et al. (2005) Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 352:987–996
373. Sturm, D., Witt, H., Hovestadt, V., Khuong-Quang, D. A., Jones, D. T., Konermann, C., et al. (2012). Hotspot mutations in H3F3A and IDH1 define distinct epigenetic and biological subgroups of glioblastoma. *Cancer Cell*, 22(4), 425–437
374. Tan, M. J., Luo, H., Lee, S., Jin, F. L., Yang, J. S., Montellier, E., et al. (2011). Identification of 67 histone marks and histone lysine crotonylation as a new type of histone modification. *Cell* 146, 1015–1027.
375. Tanford C. Protein denaturation. (1968). *Advan Prot Chem.* 23:121–282.
376. Tanikawa, C. et al., (2012). Regulation of histone modification and chromatin structure by the p53–PADI4 pathway. *Nat Commun*, 3, p.676
377. Theuerkorn M, Fischer G, Schiene-Fischer C. (2011). Prolyl cis/trans isomerase signalling pathways in cancer. *Curr Opin Pharmacol* 11: 281–287.
378. Thomas, J.O. (1999). Histone H1: location and role. *Curr Opin Cell Biol* 11, 312–317.
379. Torres CR, Hart GW, (1984) Topography and polypeptide distribution of terminal N-acetylglucosamine residues on the surfaces of intact lymphocytes. Evidence for O-linked GlcNAc. *J Biol Chem* 259:3308–3317.
380. Travers A. (1999). An engine for nucleosome remodeling. *Cell* 96, 311–314.
381. Trisciuoglio, D., Di Martile, M., & Del Bufalo, D. (2018). Emerging Role of Histone Acetyltransferase in Stem Cells and Cancer. *Stem Cells International*, 2018, 1–11.
382. Turner BM. (2005). Reading signals on the nucleosome with a new nomenclature for modified histones. *Nat Struct Mol Biol.* ;12:110–2
383. Ueda, K., Omachi, A., Kawaichi, M., Hayaishi, O. (1975). Natural occurrence of poly (ADP-ribosyl) histones in rat liver *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 72:205–209
384. Urasaki Y, Heath L, Xu CW (2012) Coupling of Glucose Deprivation with Impaired Histone H2B Monoubiquitination in Tumors. *PLOS ONE* 7(5): e36775.

385. US National Library of Medicine. Clinicaltrials.gov (2012). Available from:<http://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00329719?term=nct00329719&rank=1>
386. Van den Bent, M. J., Klein, M., Smits, M., Reijneveld, J. C., French, P. J., Clement, P., ... Idbaih, A. (2018). Bevacizumab and temozolomide in patients with first recurrence of WHO grade II and III glioma, without 1p/19q co-deletion (TAVAREC): a randomised controlled phase 2 EORTC trial. *The Lancet Oncology*.
387. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, et al. (2002) The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature*; 419:624-9
388. Venneti, S., Santi, M., Felicella, M. M., Yarilin, D., Phillips, J. J., Sullivan, L. M., ... Judkins, A. R. (2014). A sensitive and specific histopathologic prognostic marker for H3F3A K27M mutant pediatric glioblastomas. *Acta neuropathologica*, 128(5), 743–753.
389. Verhaak RG, Hoadley KA, Purdom E, Wang V, Qi Y, Wilkerson MD, et al. (2010) Integrated genomic analysis identifies clinically relevant subtypes of glioblastoma characterized by abnormalities in PDGFRA, IDH1, EGFR, and NF1. *Cancer Cell* 17(1):98–110
390. Volkel P, Angrand PO (2007). The control of histone methylation in epigenetic regulation. *Biochimie* 89(1):1–20
391. Vosseller K, et al. (2006) O-linked N-acetylglucosamine proteomics of postsynaptic density preparations using lectin weak affinity chromatography and mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 5:923–934
392. Wang S, Tan X, Yang B, et al. (2012) The role of protein arginine-methyltransferase 1 in gliomagenesis. *BMB Rep.*; 45:470–5.
393. Wang, B., Fan, X., Ma, C., Lei, H., Long, Q., & Chai, Y. (2016). Downregulation of KDM4A Suppresses the Survival of Glioma Cells by Promoting Autophagy. *Journal of Molecular Neuroscience*, 60(2), 137–144.
394. Wang, B., Zhang, Z., Xia, S., Jiang, M., & Wang, Y. (2019). Expression of γ -H2AX and patient prognosis in breast cancer cohort. *Journal of Cellular Biochemistry*.
395. Wang, L., & Ji, S. (2019). Inhibition of Ubc9-Induced CRMP2 SUMOylation Disrupts Glioblastoma Cell Proliferation. *Journal of Molecular Neuroscience*.
396. Wang, Y., Zang, J., Zhang, D., Sun, Z., Qiu, B., & Wang, X. (2018). KDM2B overexpression correlates with poor prognosis and regulates glioma cell growth. *OncoTargets and therapy*, 11, 201–209.
397. Wang, Y.-C., Wang, S.-A., Chen, P.-H., Hsu, T.-I., Yang, W.-B., Chuang, Y.-P., Hung, J.-J. (2015). Variants of ubiquitin-specific peptidase 24 play a crucial role in lung cancer malignancy. *Oncogene*, 35(28), 3669–3680.

398. Wang, Z., Hu, P., Tang, F., Lian, H., Chen, X., Zhang, Y., ... Xie, C. (2016). HDAC6 promotes cell proliferation and confers resistance to temozolomide in glioblastoma. *Cancer Letters*, 379(1), 134–142.
399. Was, H., Krol, S. K., Rotili, D., Mai, A., Wojtas, B., Kaminska, B., & Maleszewska, M. (2019). Histone deacetylase inhibitors exert anti-tumor effects on human adherent and stem-like glioma cells. *Clinical epigenetics*, 11(1), 11.
400. Watts Colin (ed.) (2013). *Emerging concepts in neuro-oncology*, ed Peter Wesseling, Springer-Verlag, London, pp 3-21. Available from: Springer books.
401. Wei, W., Liu, X., Chen, J., Gao, S., Lu, L., Zhang, H., ... Wong, J. (2017). Class I histone deacetylases are major histone decrotonylases: evidence for critical and broad function of histone crotonylation in transcription. *Cell research*, 27(7), 898–915.
402. Weintraub H, Worcel A, Alberts B. (1976). A model for chromatin based upon two symmetrically paired half-nucleosomes. *Cell* 9: 409-17
403. Weiss VH, McBride AE, Soriano MA, Filman DJ, Silver PA, Hogle JM. (2000) The structure and oligomerization of the yeast arginine methyltransferase, Hmt1. *Nat Struct Biol*; 7:1165-71.
404. Weller M, Felsberg J, Hartmann C, Berger H, Steinbach JP, Schramm J, et al. (2009) Molecular predictors of progression-free and overall survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: a prospective translational study of the German glioma network. *J Clin Oncol* 27(34):5743–5750
405. Weller M, Kaulich K, Hentschel B, Felsberg J, Gramatzki D, Pietsch T, et al. (2014) Assessment and prognostic significance of the epidermal growth factor receptor vIII mutation in glioblastoma patients treated with concurrent and adjuvant temozolomide radiochemotherapy. *Int J Cancer* 134(10):2437–47.
406. Weller M, Stupp R, Reifenberger G, Brandes AA, van den Bent MJ, Wick W, et al. (2010). MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? *Nat Rev Neurol* 6(1):39–51.
407. Weller M, Yung WK. (2013). Angiogenesis inhibition for glioblastoma at the edge: beyond AVAGlio and RTOG 0825. *Neuro Oncol* 15:971
408. Weller, M. et al. (2015). Glioma. *Nat. Rev. Dis. Primers* 1, 15017
409. Wesseling Pieter, Kros Johan M, Jeuken Judith WM (2011). The pathological diagnosis of diffuse gliomas: towards a smart synthesis of microscopic and molecular information in a multidisciplinary context. *Diagnostic histopathology* 17/11, 486-494
410. Whittle, J. R., Lickliter, J. D., Gan, H. K., Scott, A. M., Simes, J., Solomon, B. J., et al. (2015). First in human nanotechnology doxorubicin delivery system to target epidermal growth factor receptors in recurrent glioblastoma. *J. Clin. Neurosci.* 22, 1889–1894.
411. Wick W, Platten M, Meisner C, Felsberg J, Tabatabai G, Simon M, et al. (2012) . Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant

astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 13(7):707–715.

412. Wick W, Weller M, van den Bent M, Sanson M, Weiler M, von Deimling A, et al. (2014). MGMT testing-the challenges for biomarker-based glioma treatment. *Nat Rev Neurol* 10(7):372–385.
413. Wickramasekara, R., & Stessman, H. (2019). Histone 4 Lysine 20 Methylation: A Case for Neurodevelopmental Disease. *Biology*, 8(1), 11.
414. Wiese, M., Schill, F., Sturm, D., Pfister, S., Hulleman, E., Johnsen, S., & Kramm, C. (2016). No Significant Cytotoxic Effect of the EZH2 Inhibitor Tazemetostat (EPZ-6438) on Pediatric Glioma Cells with Wildtype Histone 3 or Mutated Histone 3.3. *Klinische Pädiatrie*, 228(03), 113–117.
415. Wiestler B, Capper D, Holland-Letz T, Korshunov A, von Deimling A, Pfister SM, et al. (2013) ATRX loss refines the classification of anaplastic gliomas and identifies a subgroup of IDH mutant astrocytic tumors with better prognosis. *Acta Neuropathol* 126(3):443–451.
416. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, et al. (2006) Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 5 :835–44
417. Wilkinson KD (2000) Ubiquitination and deubiquitination: targeting of proteins for degradation by the proteasome. *Semin Cell Dev Biol* 11(3):141–148
418. Wilkinson, K. D. (2000). Ubiquitination and deubiquitination: Targeting of proteins for degradation by the proteasome. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 11(3), 141–148.
419. Wolffe AP. (1998). *Chromatin: Structure and Function*. Acad Press, San Diego, CA
420. Wondrak GT, Cervantes-Laurean D, Jacobson EL, Jacobson MK (2000) Histone carbonylation in vivo and in vitro. *Biochem J* 351(Pt 3):769–777
421. Wong, M., Polly, P., & Liu, T. (2015). The histone methyltransferase DOT1L: regulatory functions and a cancer therapy target. *American journal of cancer research*, 5(9), 2823-37.
422. Wood I. C. (2018). The Contribution and Therapeutic Potential of Epigenetic Modifications in Alzheimer's Disease. *Frontiers in neuroscience*, 12, 649.
423. Wu, G., Diaz, A. K., Paugh, B. S., Rankin, S. L., Ju, B., Li, Y., et al. (2014). The genomic landscape of diffuse intrinsic pontine glioma and pediatric non-brainstem high-grade glioma. *Nat Genet*, 46(5), 444-450
424. Xiao A, Li H, Shechter D, Ahn SH, Fabrizio LA, Erdjument-Bromage H, Ishibe-Murakami S, Wang B, Tempst P, Hofmann K, Patel DJ, Elledge SJ, Allis CD (2009) WSTF regulates the H2AX DNA damage response via a novel tyrosine kinase activity.

425. Xiao Li, Chen Wang, Hao Jiang & Cheng Luo (2019) A patent review of arginine methyltransferase inhibitors (2010–2018), *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 29:2, 97–114,
426. Yan F, Alinari L, Lustberg ME, et al. (2014) Genetic validation of the protein arginine methyltransferase PRMT5 as a candidate therapeutic target in glioblastoma. *Cancer Res*;74(6)
427. Yan J.L., van der Hoorn A., Larkin T.J., Boonzaier N.R., Matys T., Price S.J. (2017) Extent of resection of peritumoral diffusion tensor imaging-detected abnormality as a predictor of survival in adult glioblastoma patients. *J. Neurosurg.* ;126: 234–241.
428. Yang W., Wang L., Roehn G., Pearlstein R.D., Ali-Osman F., Pan H., Goldbrunner R., Krantz M., Harms C., Paschen W (2013). Small ubiquitin-like modifier 1-3 conjugation [corrected] is activated in human astrocytic brain tumors and is required for glioblastoma cell survival. *Cancer Sci.*; 104:70–77
429. Yang XJ, Seto E. (2007). HATs and HDACs: from structure, function and regulation to novel strategies for therapy and prevention. *Oncogene*; 26:5310-5318.
430. Yang Y, Bedford MT (2013) Protein arginine methyltransferases and cancer. *Nat Rev Cancer* 13:37–50
431. Yang, R., Wu, Y., Wang, M., Sun, Z., Zou, J., Zhang, Y., & Cui, H. (2015). HDAC9 promotes glioblastoma growth via TAZ-mediated EGFR pathway activation. *Oncotarget*, 6(10), 7644–7656.
432. Yang, X., Ongusaha, P. P., Miles, P. D., Havstad, J. C., Zhang, F., So, W. V., et al. (2008). Phosphoinositide signalling links O-GlcNAc transferase to insulin resistance. *Nature*, 451(7181), 964–969.
433. Yang, Y. A., & Yu, J. (2013). EZH2, an epigenetic driver of prostate cancer. *Protein & Cell*, 4(5), 331–341.
434. Yang, Y., Liang, Z., Xia, Z., Wang, X., Ma, Y., Sheng, Z., ... Liang, S. (2019). SAE1 promotes human glioma progression through activating AKT SUMOylation-mediated signaling pathways. *Cell communication and signaling: CCS*, 17(1).
435. Yang, Y., Xia, Z., Wang, X., Zhao, X., Sheng, Z., Ye, Y., Liang, S. (2018). Small-Molecule Inhibitors Targeting Protein SUMOylation as Novel Anticancer Compounds. *Molecular Pharmacology*, 94(2), 885–894.
436. Yao, Z., Zhang, X., Zhen, Y., He, X.-Y., Zhao, S., Li, X.-F., ... Duan, C.-Z. (2018). A novel small-molecule activator of Sirtuin-1 induces autophagic cell death/mitophagy as a potential therapeutic strategy in glioblastoma. *Cell Death & Disease*, 9(7).
437. Yi SJ, Kim K. (2018) Histone tail cleavage as a novel epigenetic regulatory mechanism for gene expression. *BMB Rep.*51(5):211-218.
438. Yi, W., Clark, P. M., Mason, D. E., Keenan, M. C., Hill, C., Goddard, W. A., 3rd, et al. (2012). Phosphofructokinase 1 glycosylation regulates cell growth and metabolism. *Science*, 337(6097), 975–980.

439. Yin D, Ong JM, Hu J, Desmond JC, Kawamata N, Konda BM, Black KL, Koeffler HP. (2007). Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor: effects on gene expression and growth of glioma cells in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res.* 2;13(3):1045–1052.
440. Yin, C., & Li, P. (2018). Growth Suppression of Glioma Cells Using HDAC6 Inhibitor, Tubacin. *Open medicine (Warsaw, Poland)*, 13, 221–226.
441. Yip S, Butterfield YS, Morozova O, Chittaranjan S, Blough MD, An J, et al. (2012) Concurrent CIC mutations, IDH mutations, and 1p/19q loss distinguish oligodendrogliomas from other cancers. *J Pathol* 226:7–16.
442. Yoon, S., & Eom, G. H. (2016). HDAC and HDAC Inhibitor: From Cancer to Cardiovascular Diseases. *Chonnam Medical Journal*, 52(1), 1.
443. Zemleni J. Uptake (2005). Localization, and noncarboxylase roles of biotin. *Annu Rev Nutr*
444. Zhang Y, Qiu J, Wang X, Zhang Y, Xia M. (2011) AMP-activated protein kinase suppresses endothelial cell inflammation through phosphorylation of transcriptional coactivator p300. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.*; 31:2897–2908.
445. Zhang, J. et al. (2013). Whole-genome sequencing identifies genetic alterations in pediatric low-grade gliomas. *Nat Genet* 45, 602-612
446. Zhang, Q. S., Zhang, M., Huang, X. J., Liu, X. J., & Li, W. P. (2016). Downregulation of SENP1 inhibits cell proliferation, migration and promotes apoptosis in human glioma cells. *Oncology letters*, 12(1), 217–221.
447. Zhang, S. et al., (2011). Modification of histones by sugar??-N-acetylglucosamine (GlcNAc) occurs on multiple residues, including histone H3 serine 10, and is cell cycle-regulated. *Journal of Biological Chemistry*, 286(43), pp.37483–37495.
448. Zhang, Z., Wang, Y., Chen, J., Tan, Q., Xie, C., Li, C., ... Wang, M. (2016). Silencing of histone deacetylase 2 suppresses malignancy for proliferation, migration, and invasion of glioblastoma cells and enhances temozolomide sensitivity. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 78(6), 1289–1296.
449. Zhao X, Blobel G. (2005). A SUMO ligase is part of a nuclear multiprotein complex that affects DNA repair and chromosomal organization. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102:4777–4782.
450. Zhong, S., Fan, Y., Wu, B., Wang, Y., Jiang, S., Ge, J., ... Xu, H. (2018). HDAC3 Expression Correlates with the Prognosis and Grade of Patients with Glioma: A Diversification Analysis Based on Transcriptome and Clinical Evidence. *World Neurosurgery*.
451. Zülch KJ et al., (1979) Histological typing of tumours of the central nervous system. World Health Organization, Geneva

452. Zweidler, A. (1984) Core histone variants of the mouse: primary structure and differential expression. In *Histone Genes: Structure, Organization and Regulation* (Stein, G.S. et al., eds), pp. 339–371, Wiley