

## Μυελοδυσπλαστικά Σύνδρομα και επιγενετική βάση των χορηγουμένων νέων φαρμάκων.

Ρέγκλη Αρετή<sup>1</sup>, Γιαβόρεκ Καρολίνα<sup>2</sup>, Μανώλικα Μαρία-Ελένη<sup>2</sup>, Μαλλής Παναγιώτης<sup>2</sup>, Καλαργύρου Κατερίνα<sup>2</sup>, Μάτσης Κωνσταντίνος<sup>1</sup>

1. Αιματολογικό Εργαστήριο Νοσοκομείου <<Παμμακάριστος>>

2. ΤΕΙ ΑΘΗΝΩΝ, Τμήμα Ιατρικών Εργαστηρίων

### Περίληψη

Αναστρέψιμη αλλά και μη αναστρέψιμη γονιδιακή ρύθμιση, ενορχηστρωμένη διαμόρφωση της αρμονίας του σώματος, αλλά και γήρανση μέσα από τη συντονισμένη γονιδιακή έκφραση ελέγχου της κυτταρικής διαφοροποίησης, της ανάπτυξης και της διαμόρφωσης ποικίλων αρχιτεκτονικών όψεων του κυττάρου με τη γονιδιακή ρύθμιση σε ποικίλα επίπεδα: από τη μεταγραφή (μεταγραφικός ρυθμιστικός <<κώδικας>> και γονιδιωματικός <<μετακώδικας>>) και τη διαμόρφωση του RNA μέχρι την εναλλακτική ωρίμανση (συναρμογή) του mRNA και την πρωτεϊνοσύνθεση. Ορμόνες, αντιπαράλληλα RNA ολιγονουκλεοτίδια, μεταγραφικοί παράγοντες, γονιδιακή ενίσχυση, αδρανοποίηση του ενός X στα θηλυκά, πολυγονιδιακές οικογένειες, αποτέλεσμα θέσης, τελομέρη και τελομεράση, ΜΕΘΥΛΙΩΣΗ ΤΟΥ DNA, θεωρία επιλογής των κλώνων, μονοκλωνικά αντισώματα και αυτοαντισώματα, με τη ξεχωριστή δομή του ευκαρυωτικού γονιδίου, με το γονιδιωματικό και πρωτεωματικό πεδίο στο <<μικροσκόπιο>>, με το <<βιβλίο της ζωής>> του ανθρώπου ανοιχτό ξετυλίγεται ο μίτος της ζωής.

Τα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα είναι κλωνικές, αιματολογικές διαταραχές τα οποία χαρακτηρίζονται κλινικά και μορφολογικά από μη επαρκή αιμοποίηση<sup>1</sup>. Η φυσική ιστορία αυτών των συνδρόμων ,περιλαμβάνει μια κλιμάκωση χρονίων μορφών που ενίοτε εξελίσσονται σε οξεία λευχαιμία<sup>2</sup>. Τα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα θεωρούνται από πολλούς αιματολόγους ότι καλύπτουν στάδια νεοπλασματικής αιμοποίησης που συνοδεύονται από κυτταροπενία. Η νεοπλασματική μεταμόρφωση των αιμοποιητικών κυττάρων μπορεί να εμφανιστεί ,σε διάφορα επίπεδα εξέλιξης του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου<sup>3</sup>. Η εύρεση του ακριβούς επιπέδου της μυελικής νεοπλασματικής μεταμόρφωσης είναι δύσκολη, τα ερυθροκύτταρα όμως μπορούν να συνεχίσουν να ωριμάζουν από το επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου εως την νεοπλασματική μορφή στην οποία ευρίσκονται<sup>4</sup>. Σε πολλούς ασθενείς, το μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο κατά την εξέλιξή του σε οξεία μελογενή λευχαιμία (AML), εμφανίζει το νεοπλασματικό συμβάν στο επίπεδο του δεσμευμένου μυελικού αρχέγονου κυττάρου<sup>5-7</sup>.

Η ογκογένεση είναι μια διαδικασία πολλαπλών βημάτων ,με συσσωρευμένες γενετικές αλλοιώσεις, οι οποίες μπορούν τελικά να συνδέσουν μια μελλοντική κακοήθεια μέσω μιας προκαρκινικής φάσης η οποία χαρακτηρίζεται μορφολογικώς σαν δυσπλασία<sup>8</sup>. Στα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, ο κακοήθης μετασχηματισμός του δεσμευμένου αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου μπορεί να είναι αποτέλεσμα χρωμοσωμικών ανωμαλιών, οι οποίες λειτουργούν σαν σημεία της νόσου. Αυτές μπορούν να

ταυτοποιηθούν με την κυτταρογενετική, τα δε πρόδρομα κύτταρα δίνουν γένεση σε κοκκιοκύτταρα, μονοκύτταρα ερυθρά και αιμοπετάλια.<sup>9,10</sup>

Για την εξέλιξη του λευχαιμικού κλώνου, απαιτούνται περαιτέρω γενετικές αλλαγές, που έχουν σαν αποτέλεσμα την γρήγορη εξάπλωση των λευχαιμικών βλαστών<sup>11</sup>. Τα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα συνήθως απαντώνται στην τρίτη ηλικία, με μέση ηλικία την έβδομη δεκαετία, παρ'όλα αυτά όμως υπάρχουν και περιπτώσεις παιδιών με Μυελοδυσπλαστικό που έχουν δημοσιευθεί<sup>12</sup>. Η αιτία της μυελοδυσπλασίας είναι βασικά αγνώστη, στη πλειονότητα των ασθενών, αλλά η μεγάλη έκθεση σε ακτινοβολίες, χημειοθεραπευτικά σχήματα, βενζόλιο και άλλες οργανικές ενώσεις ενοχοποιούνται σαν οι μεγαλύτερες αιτίες. Τα τελευταία χρόνια η απενεργοποίηση της μεταγραφής των υποκινητών των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, με την υπερμεθυλίωση των νησίδων CpG, είναι αντικείμενο εκτενούς μελέτης, σαν ένας αιτιατός παράγοντας των αιματολογικών κακοηθειών.<sup>15</sup> Η πιο συχνή και καλλίτερα μελετημένη επιγενετική ανωμαλία, στα Μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, είναι η σίγαση της CDP (εξαρτώμενης κυκλικής κινάσης), που είναι ανασταλτής του p15INKB γονιδίου, το οποίο ελέγχει την μετάβαση των κυττάρων από τη φάση G1 στη φάση S<sup>16</sup>.

Η υπερμεθυλίωση της περιοχής του υποκινητή του γονιδίου p15INKB, περιγράφεται στο 50% των ασθενών MDS<sup>17</sup>. Αυτή συμβαίνει επικτήτως κατά την πρόοδο της νόσου<sup>18,19</sup> και έχει συσχετισθεί με λευχαιμικό μετασχηματισμό των κυττάρων<sup>20</sup>, και φτωχή πρόγνωση. Στην οξεία μυελογενή λευχαιμία (AML) έχει βρεθεί υπερμεθυλίωση των υποκινητών των γονιδίων p15 και E-cadherin<sup>15,21</sup>. Η υπερμεθυλίωση των MGMT hMLH1 γονιδίου (επιδιορθωτικών) βρέθηκε επίσης στην οξεία μυελογενή λευχαιμία<sup>22</sup>. Αν χαθεί ο έλεγχος νωρίς, του κυτταρικού κύκλου, (η υπερμεθυλίωση των p16/p15, δημιουργεί απορύθμιση των μεταγραφικών παραγόντων των ανασταλτών του κυτταρικού κύκλου), (επίσης η υπερμεθυλίωση της E-cadherin δημιουργεί καταστροφή της κυτταρικής προσκολλησης), επέρχεται ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός του κυττάρου<sup>23</sup>.

### Πιο αναλυτικά:

Οι πρόσφατες επιγενετικές μελέτες σχετιζόμενες με τα MDS, επικεντρώνονται στη μεθυλίωση γονιδίων, των ρυθμιστικών στον κυτταρικό κύκλο, όπως είναι το κατασταλτικό γονίδιο των όγκων, που κωδικοποιεί τον εξαρτώμενο αναστολέα της κυκλικής κινάσης, p15INK4b, και αποτρέπει τα κύτταρα που βρίσκονται σε ηρεμία να εισέλθουν στον κυτταρικό κύκλο. Είναι λοιπόν σημαντικός στην πρόληψη και στον επανέλεγχο της αναπαραγωγής, των ανθρωπίνων στελεχειαίων αιμοποιητικών κυττάρων<sup>32</sup>. Η επαγωγή του p15INK4b από τις κυτοκίνες, οδηγεί στο αρχέγονο προγονικό μυελικό κύτταρο, να παραμείνει στη φάση G0, και να διαφοροποιηθεί σε κοκκιοκύτταρα και μακροφάγα.

Η υπερ-μεθυλίωση άλλων γονιδίων, όπως είναι το γονίδιο calcitonin συμβαίνει στο 65% των MDS (Dhodapkar et al 1995). Άλλα γονίδια όπως το HICI (Hypermethylated in cancer), E κανδερίνη (Corn et al 2000) και ER (Estrogen Receptor), έχουν επίσης υποστεί υπερμεθυλίωση στα MDS που εκτρέπονται σε AML. Μεθυλίωση υποκινούμενη από τον αναστολέα της κυτταροκίνης συμβαίνει στο 31% των ασθενών πασχόντων από MDS και υπονοείται πως η ενεργοποίηση Janus κινάση –σήματος μεταγωγέα με ενεργοποίηση του μεταγραφικού (JAK-STAT) μονοπατιού παίζει σημαντικό ρόλο στην εξέλιξη της ασθένειας σε ορισμένους ασθενείς.

Στην AML πολλά γονίδια, τα οποία υπόκεινται υπερμεθυλίωση, συμπτωματικά μαρτυρούν, πως οι φυσιολογικοί μηχανισμοί μεθυλίωσης του DNA έχουν διαλυθεί. Η σύντομη περιγραφή της μεθυλίωσης των calcitonin, υποδοχέα οιστρογόνων, E-καδερίνη, p15,p16,Rb,GST-Pi, και HIC1 γονδιακού υποκινητή στην AML, δείχνει πως το 95% έχει ένα διαταραγμένο πρότυπο μεθυλίωσης, σε τουλάχιστον ένα γονίδιο, αλλά το 75% έχει μη φυσιολογική μεθυλίωση σε δυο ή περισσότερα γονίδια. Στην AML, στους 160 από τους 261 (61%) ασθενείς (ηλικίας μικρότερης των 65), παρουσιάστηκε μεθυλίωση του υποδοχέα των οιστρογόνων (ERM). Το ERM ελαττώθηκε με την αύξηση της ηλικίας ( $p=0.0001$ ) και ήταν αξιοσημείωτα πιο χαμηλό σε ασθενείς με μυελοκυτταρική και μονοκυτταρική AML (FAB M4/M5) ( $p=0.0019$ ). ERM θετικοί ασθενείς παρουσίασαν αξιοσημείωτα αποτελέσματα ολικής επιβίωσης ( $p=0.0044$ ). Επιπλέον, η μεθυλίωση των ασθενών με ERM (36 υποθέσεις σχετικές με AML), έδειξαν πως το ERM ήταν συχνά υπερμεθυλωμένο (47%), όπως και τα MYOD1,PITX2,GPR37 και SDC4. Σημαντικό είναι πως η πυκνότητα της μεθυλίωσης της κάθε νησίδας CpG, σχετιζόμενη με την πυκνότητα ERM υποδεικνύει την παρουσία ενός φαινοτύπου μεθυλίωσης σε ασθενείς με AML. Επίσης έχει βρεθεί ότι οι έχοντες στο χρωμοσωμα 11 μεθυλίωση, είναι ασθενείς με de-novo AML. Πολλές φορές οι αυξήσεις των μεθυλοτρανσφερασών DNMT1,DNMT3a, σχετίζονται με την υπερμεθυλίωση p15 που επίσης παρουσιάζονται στην AML.

Ωστόσο, η ακριβής σχέση ανάμεσα στην υπερμεθυλίωση των υποκινητών αυτών των γονιδίων, και την συμβολή τους στην εξέλιξη των MDS που εμφανίζεται σε παιδιά, παραμένει αδιευκρίνιστη με εξαίρεση μόνο ίσως του CDKN2B. Η εξέλιξη σε AML συμβαίνει συχνά σε ασθενείς με RAEB (28%) και RAEBt (45%) αλλά λιγότερο συχνά σε RA (10%) και RARS (8%). Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες (χρωμόσωμα 7) και το αυξημένο ποσοστό βλαστών αποτελούν σημαντικούς προγνωστικούς δείκτες της λευχαιμικής μεταμόρφωσης. Η υπερμεθυλίωση του CDKN2B υποκινητή φαίνεται να είναι σημαντική για την εξέλιξη των MDS. Το p15INK4b αποσυντονίζεται κατά την διάρκεια της *in vitro* κοκκιοκυτταρικής και μεγακαρυοκυτταρικής διαφοροποίησης των φυσιολογικών CD34+ αιμοποιητικών προγονικών κυττάρων.

Ελλείψεις ή μεταλλάξεις του CDKN2B, είναι ασυνήθιστες στα MDS. Η συχνότητα της μεθυλίωσης του CDKN2B είναι χαμηλή (23%) στα πρώιμα MDS, ωστόσο το ποσοστό της μεθυλίωσής του στην διάγνωση είναι προγνωστικό της εξέλιξης της ασθένειας και η υπαρξή του επίσης συνοδεύει την εξέλιξη της ασθένειας. (Tien et al 2001). Επιπλέον η υπερμεθυλίωση του CDKN2B συμβαίνει συχνά σε RAEB, RAEBt και συγκεκριμένα σε ασθενείς με περισσότερο από 10% ποσοστό σε βλάστες. (Quesnel et al 1998; Uchida et al 1998). Η περίπτωση της μεθυλίωσης του CDKN2B είναι 58%, στις χρόνιες μυελομονοκυτταρικές λευχαιμίες (CMML) (Tessema et al 2003), και 60% - 70% στις MDS-AML (Tien et al 2001). Έτσι το CDKN2B φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στην πρόοδο και εξέλιξη των υψηλού κινδύνου MDS.

Πίνακας όπου εμφανίζονται τα γονίδια τα οποία μεθυλιώνονται και/ή υπερμεθυλιώνονται στο καρκίνο.

<u>ΧΡΩΜΟΣΩΜΑΤΑ</u>	<u>ΓΟΝΙΔΙΑ</u>
<u>1</u>	<u>TP73</u>
<u>2</u>	<u>MSH2</u>
<u>3</u>	<u>VHL,MLH1,RASSF1A,FHIT,SMARCA3</u>
<u>4</u>	
<u>5</u>	<u>APC</u>
<u>6</u>	
<u>7</u>	
<u>8</u>	
<u>9</u>	<u>P15,P14,P16,PCTH</u>
<u>10</u>	<u>TEN</u>
<u>11</u>	<u>GSTP1,ATM</u>
<u>12</u>	
<u>13</u>	<u>RB,BRCA2</u>
<u>14</u>	
<u>15</u>	
<u>16</u>	<u>SS1,CDH1</u>
<u>17</u>	<u>HIC1,TP53,NF1,BRCA1</u>
<u>18</u>	<u>SMAD4</u>
<u>19</u>	<u>STK1</u>
<u>20</u>	
<u>21</u>	
<u>22</u>	<u>NF2,SMARCB1,TIMP3</u>
<u>23 X</u>	
<u>24 Ψ</u>	

Προς το παρόν δύο διαφορετικές κατηγορίες φαρμάκων δραστικών επιγενετικά είναι υπό έρευνα. **Ο ανασταλτής της απακετυλιωμένης ιστόνης HDACi ,και ο ανασταλτής της μεθυλο-τρανσφεράσης του DNA.**

### **HDAC αναστολείς**

Το DNA πακετάρεται σε χρωματίνη ,που αποτελείται από οκταμερή ιστόνης. Η ακετυλίωση των καταλοίπων της λυσίνης στις ουρές της ιστόνης ,προσθέτει ένα αρνητικό φορτίο, που έχει σαν αποτέλεσμα η χρωματίνη να βρεθεί σε μια πιο ανοιχτή στερεοδιάταξη (λόγω αρνητικού φορτίου των ιστονών πια, και του DNA που έχει αρνητικό φορτίο λόγω των φωσφορικών ομάδων, νόμος του Coulomb, και δημιουργία ευχρωματίνης, δηλαδή αραιής χρωματίνης ,έτοιμης να μεταγραφεί). Αντιστρόφως η αφαίρεση ακετυλ-ομάδων από την απακετυλάση της ιστόνης (HDAC s), έχει ως αποτέλεσμα να αποκαθίσταται ένα θετικό φορτίο στο εσωτερικό της ιστόνης, μετατρέπόμενη έτσι η χρωματίνη σε ετεροχρωματίνη, αποτρέποντας έτσι την μεταγραφή των γονιδίων. Η μεθυλίωση των γονιδιακών υποκινητών πρωταγωνιστεί στην σύζευξη με την απακετυλίωση της ιστόνης και την απενεργοποίηση των γονιδίων. Οι μεθυλιωμένοι υποκινητές ανακτούν την μεταγραφική καταστολή των συμπλεγμάτων που περιέχουν HDAC 's, μέσω συγκεκριμένων πρωτεΐνων που προσδένονται ,οδηγώντας σε ετεροχρωματίνη την περιοχή η οποία σχετίζεται με εκείνο το γονίδιο. Ωστόσο η επαγόμενη επαν-έκφραση των επιγενετικά ανενεργών γονιδίων μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε μέσω της υπερμεθυλίωσης του DNA ή της ακετυλίωσης της χρωματίνης. In vitro μελέτες έχουν δείξει πως οι HDACi , είναι μη ικανές να επανενεργοποιήσουν την έκφραση

των μεθυλιωμένων γονιδίων. Ωστόσο η προσθήκη των HDACi ακολουθούμενη από την έκθεση σε DNMT αναστολέων οδηγεί σε συνεργαζόμενη επανενεργοποίηση των μεθυλιωμένων γονιδίων. Υπάρχουν πέντε κυρίες τάξεις των HDAC αναστολέων

### Αναστολή της μεθυλίωσης του DNA.

Τα δινουκλεοτίδια CPG εμφανίζονται πολύ συχνά στο γονιδίωμα των θηλαστικών, και σχηματίζονται με την ξαφνική απαμίνωση της σχετικά ασταθούς βάσης 5-μεθυλκυτοσίνης σε ουρακίλη. Αντιθέτως με το υπόλοιπο γενετικό υλικό, κάποιες περιοχές δείχνουν μια υψηλή πυκνότητα σε CPG νουκλεοτίδια. Αυτές οι περιοχές καλούνται **νησίδες GPG**, αν πληρούν τα κάτωθι κριτήρια όπως : το μέγεθός αποτελείται από 200 έως 5000 ζευγάρια βάσεων (bps), η περιεκτικότητά τους σε G-C είναι 60-70% , υπάρχει απουσία καταστολής της συχνότητας CpG. Οι νησίδες CPG συχνά ανευρίσκονται ανάμεσα σε ρυθμισμένες περιοχές του γονιδιώματος, **κυρίως στους υποκινητές**, και σε 5' **κωδικοποιημένες περιοχές** <sup>22</sup>. Πολλές νησίδες CPG βρίσκονται σε άμεσα ενεργοποιημένες περιοχές, δηλαδή στα μισά γονίδια του γονιδιώματος των θηλαστικών.

Η μεθυλίωση των νησίδων CpG σχετίζεται με την ανενεργή χρωματίνη, και την καταστολή της μεταγραφής των γονιδίων <sup>23</sup>. Οι μηχανισμοί της καταστολής των γονιδίων περιλαμβάνουν την άμεση αλληλεπίδραση του DNA που έχει υποστεί μεθυλίωση με ρυθμιστικές πρωτεΐνες, την παγιοποίηση του μεθυλιωμένου DNA-δεσμευτικών πρωτεϊνών και την στρατολόγηση σιωπηρών συμπλεγμάτων ανενεργών μεταγραφικά. **Το DNA που έχει υποστεί μεθυλίωση, και οι δεσμευτικές πρωτεΐνες όπως η δεσμευτική πρωτεΐνη 2 μεθυλο-CpG, σχηματίζουν συμπλέγματα με συναναστολεις, περιλαμβανομένης και της απακετυλάσης των ιστονών.** Αυτό το σύμπλεγμα λειτουργικά μεταφράζεται σε καταστολή της μεταγραφής <sup>24</sup>.

*Αυτή τη στιγμή σε εργαστήριο του Schubeler έχουν προσπαθήσει, τη δυναμική υπερμεθυλίωση του DNA σε όλο το ανθρώπινο γένωμα.*

Μέτρησαν λοιπόν την μεθυλίωση του DNA, τη συμμετοχή των μορίων της RNA πολυμεράσης και τις τροποποιήσεις των ιστονών σε 16.000 υποκινητές, σε διαφορετικά ανθρώπινα κύτταρα. **Υποκινητές φτωχοί σε CpG, υπέστησαν υπερμεθυλίωση σε σωματικά κύτταρα, ωστόσο δεν τους στερήθηκε η μεταγραφική δραστηριότητα. Σε αντίθεση, ισχυροί CpG υποκινητές, υπέστησαν κατα μεγαλύτερο βαθμό απομεθυλίωση, ακόμη και αν ήταν μεταγραφικά ανενεργοί.** Σημειωτέον υποκινητές με ανενεργές υπομεθυλιωμένες νησίδες CpG, έδειξαν υψηλότερα σημεία διμεθυλίωσης στη λυσίνη 4 της ιστόνης H3, δείχνοντας ότι αυτό το ιδιαίτερο σημείο της χρωματίνης, μπορεί να προστατέψει τους υποκινητές από μεθυλίωση του DNA.

Τα τελευταία χρόνια, ένας όλο και αυξανόμενος αριθμός γονιδίων μελετήθηκε για τις αλλαγές μεθυλίωσης στις αιμοποιητικές κακοήθειες. Οι έρευνες επικεντρώθηκαν σε γονίδια περιλαμβανομένων τη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, ογκοκατασταλτικά γονίδια και άλλα γονίδια που σχετίζονται με την αύξηση, τη διαφοροποίηση, και την κυτταρική προσκόλληση. Κάποια απεργοποιημένα γονίδια από τη μεθυλίωση, με αξιοσημείωτη σειρά ειδικότητας χρήζουν περαιτέρω έρευνας. Π.χ., το p15 ή INK4B, αλλά όχι το στενά συνδεδεμένο p16 ή INK4A γονίδιο, είναι συνά υπερμεθυλιωμένο στις μυελικές κακοήθειες και στην οξεία λεμφογενή λευχαιμία. Αντιθέτως το p16 είναι συχνά μεθυλιωμένο σε σταθερούς όγκους και στο Non Hodgkin λέμφωμα <sup>26</sup>.

Η μεθυλίωση των υποκινητών εμφανίστηκε στο λευχαιμικό μοντέλο της οξείας προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας, εκφράζοντας έναν χιμαιρικό **μεταγραφικό παράγοντα PML-RARα**, ο οποίος βρέθηκε να μεσολαβεί στη σίγαση, μέσω της μεθυλίωσης του DNA ενός RARα γονιδίου στόχου με τη βοήθεια της DNMT3a. Σε αγωγή, *in vitro* με ρετινικό οξύ, επάγεται διμεθυλίωση του υποκινητή, έχοντας σαν αποτέλεσμα την επανέκφραση του γονιδίου και τη κυτταρική διαφοροποίηση. Προφανώς ο σύνδεσμος μεταξύ των γενετικών αλλαγών στη λευχαιμία και των επιγενετικών τροποποιήσεων παρουσιάστηκε για πρώτη φορά σ' αυτό το μοντέλο. Ενδιαφέρον παρουσιάζεται σε μια ειδική πρωτεΐνη AML1-ETO, η οποία προκύπτει από την μετατόπιση (8;21) και η οποία λειτουργεί σαν επιγενετικός τροποποιητής. Ειδικότερα η AML1-ETO εξουδετερώνει το ρετινικό οξύ, με τη συμμετοχή της σε ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα με τα RARα και RA ρυθμιστικά αντιδραστήρια, στον υποκινητή του RAR β 2. Η AML 1-ETO φαίνεται να προσλαμβάνει τις απακετυλάσες της ιστόνης, τις μεθυλοτρανσφεράσες και τα μεθυλωμένα CpG, φτιάχνοντας έτσι ένα κλειστό σχηματισμό χρωματίνης, με επιρρέπεια στη σίγαση των γονιδίων και φυσικά την αδρανοποίηση της συγκεκριμένης χρωματίνης. Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει το γεγονός, όταν η 5-αζατυθίνη, η οποία προκαλεί διμεθυλίωση και η AML1-ETO, απενεργοποιηθούν από το siRNA, αυτές τις επιγενετικές αλλοιώσεις reverted και ξαναισάγουν απαντήσεις διαφοροποίησης RA στους μυελικούς βλάστες. Τελευταία η ίδια επιστημονική ομάδα μπόρεσε επίσης να αποδείξει μια άμεση λειτουργική αλληλεπίδραση μεταξύ AML1-ETO και miR-223, τα οποία επίσης μπορούν να επιδράσουν διμεθυλωτικά και να επάγουν βλαστική κυτταρική διαφοροποίηση<sup>25</sup>.

## Βιβλιογραφία

1. Golde DW, Cline MJ. Human preleukemia: identification of a maturation defect *in vitro*. *N Engl J Med* 1973;288:1083-6.
2. Heaney ML, Golde DW. Myelodysplasia. *N Engl J Med* 2006;340:1649-60.
3. Varmus HE, Lowell CA. Cancer genes and hematopoiesis. *Blood* 1994;83 : 5-9.
4. Koefler HD, Golde DW. Human preleukemia. *Ann Intern Med* 1980;93:347-53.
5. Escudier SM, Albitar M, Robertson LE, Andreeff M, Pierce S, Kantarjian HM. Acute lymphoblastic leukemia following preleukemic syndromes in adults. *Leukemia* 1996;10:473-7
6. Kibbelaar RE, van Kamp H, Dreef EJ, de Groot-Swings G, Kluin-Nelemans JC, Beverstock GC, et al. Combined immunophenotyping and DNA *in situ* hybridization to study lineage involvement in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1992;79:1823-8
7. Saitoh K, Miura I, Takahashi N, Miura AB. Fluorescence *in situ* hybridization of progenitor cells obtained by fluorescence-activated cell sorting for the detection of cells affected by chromosome abnormality trisomy 8 in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood* 1998;92:1886-92.
8. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Erm SE, Preisinger AC, Leppert M. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N.Eng J Med* 1988;319:525-32.
9. Abruzzese E, Buss D, Rainer R, Rao PN, Pettenati MJ. Study of clonality in myelodysplastic syndromes; detection of trisomy 8 in bone marrow cell smears by fluorescence *in situ* hybridization. *Leuk Res* 1996;20:551-7.

10. Bernell P, Jacobson B, Nordgren A, Hast R. Clonal cell lineage involvement in myelodysplastic syndromes studied by fluorescence in situ hybridization and morphology. *Leukemia* 1996;10:662-8.
11. Anderson RL, Bagby GC Jr, Richert-Boe K, Magenis RE, Koler RD. Therapy-related preleukemic syndrome. *Cancer* 1981;47:1867-71.
12. Bader-Meunier B, Mielot F, Tchernia G, Buisine J, Delsol G, Duchyane E. Myelodysplastic syndromes in childhood: report of 49 patients from a French multicenter study. *Br J Haematol* 1996;92:344-50.
13. Rowley JD, Golomb HM, Vardiman JW. Nonrandom chromosome abnormalities in acute leukemia and dysmyelopoietic syndromes in patients with previously treated malignant disease. *Blood* 1981;58:759-67.
14. Golomb HM, Alimena G, Rowley JD, Vardiman JW, Testa JR, Sovik C. Correlation of occupation and karyotype in adults with acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1982;60:404-11
15. Esteller M. Profiling aberrant DNA methylation in hematologic neoplasmas: a view from the tip of the iceberg. *Clin Immunol* 2003; 109:80-8.
16. Aggerholm A, Holm MS, Guldberg P, Olesen LH, Hokland P. Promoter hypermethylation of p15INK4B, HIC1, CDH1, and ER is frequent in myelodysplastic syndrome and predicts poor prognosis in early-stage patients. *Eur J Haematol* 2006; 76:23-32.
17. Lubbert M. Gene silencing of the p15/INK4B cell-cycle inhibitor by hypermethylation: an early or later epigenetic alteration in myelodysplastic syndromes? *Leukemia* 2003;17:1762-4
18. Uchida T, Kinoshita T, Nagai H, Nakahara Y, Saito H, Hotta T, et al. Hypermethylation of the p15INKB gene in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 90:1403-9.
19. Quesnel B, Guillermin G, Vereecque R, Wattel E, Preudhomme C, Bauters F, et al. Methylation of the p15(INKB) gene in myelodysplastic syndromes is frequent and acquired during disease progression. *Blood* 1998;91:2985-90.
20. Tien HF, Tang JH, Liu MC, Lee FY, Wang CH. Methylation of the p15(INKB) gene in myelodysplastic syndrome: it can be detected early at diagnosis or during disease progression and is highly associated with leukaemic transformation. *Br J Haematol* 2001;112:148-54.
21. Melki JR, Vincent PC, Clark SJ. Concurrent DNA hypermethylation of multiple genes in AML. *Cancer Res* 1999; 59:3730-40
22. Jones PA, Baylin SB (2007). The epigenomics of cancer. *Cell* ;128:683-692
23. Baylin SB (2002). Mechanisms underlying epigenetically mediated gene silencing in cancer. *Semin Cancer Biol* ;12:331-337
24. Wolffe AP (2001). Transcriptional regulation in the context of chromatin structure. *Essays Biochem* ;37:45-47
25. Fazi F, Racanicchi S, Zardo G, Starnes LM, Mancini M, Travaglini L, Diverio D, Ammatuna E, Cimino G, Lo-Coco F, Grignani F, Nervi C (2007). Epigenetic silencing of the myelopoiesis regulator micro RNA-223 by the AML1/ETO oncoprotein. *Cancer Cell* ;12:457-466
26. Claus R, Lubert M (2003). Epigenetic targets in hematopoietic malignancies. *Oncogene* ;22:6489-6496
27. Hermaqn JG, Baylin SB (2003). Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N. Engl J Med* ;349:2042-2054

28. Van Lint C, Emiliani S, Verdin E (1996). The expression of a small fraction of cellular genes is changed in response to histone hyperacetylation. *Gene Expr*; 5:245-253
29. Bhalla KN (2005). Epigenetic and chromatin modifiers as targeted therapy of haematological malignancies. *J Clin Oncol*; 23:3971-3993.
30. Bird A. DNA methylation patterns and epigenetic memory. *Genes Dev*. 2002; 16:6-21 [PubMed]
31. Bird AP, Taggart MH, Smith BA. Methylated and unmethylated DNA compartments in the sea urchin genome. *Cell*. 1979; 17:889-901 [PubMed]
32. Dao MA, Taylor N, Nolte JA. Reduction in levels of the cyclin-dependent kinase inhibitor p27(kip-1) coupled with transforming growth factor beta neutralization induces cell-cycle entry and increases retroviral transduction of primitive human hematopoietic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998; 95:13006-11 [PubMed]