



<sup>1</sup> Kür at O uz YAYKA LI

<sup>2</sup> Ömer Faruk HAT PO LU

<sup>3</sup> Ertu rul KAYA

<sup>4</sup> Emine YAYKA LI

<sup>1</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Genetik AD,  
Düzce, Türkiye

<sup>2</sup> Pittsburg Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Patoloji AD,  
Pittsburg, USA

<sup>3</sup> Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji  
AD, Düzce, Türkiye

<sup>4</sup> Düzce Üniversitesi, Sa lık  
Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi  
Biyoloji ve Genetik AD,  
Düzce, Türkiye

Submitted/Ba vuru tarihi:  
12.11.2012  
Accepted/Kabul tarihi:  
30.11.2012  
Registration/Kayıt no:  
12 11 257

**Corresponding Address**  
**/Yazı ma Adresi:**

Kür at O uz YAYKA LI, PhD

Düzce Üniversitesi, Tıp  
Fakültesi Tıbbi Genetik  
Anabilim Dalı, 81620  
Konuralp, Düzce, Türkiye.  
e-posta:  
kursatyay@yahoo.com

© 2012 Düzce Medical Journal  
e-ISSN 1307- 671X  
www.tipdergi.duzce.edu.tr  
duzcetipdergisi@duzce.edu.tr

## Epigenetik Mekanizmalar ve Kanser

## Epigenetic Mechanisms and Cancer

### ÖZET

İlk defa 1940'ların ba nda Conrad Hal Waddington tarafından ortaya atılan epigenetik kavramı, DNA dizilimini de i tirmeden gen ifadesini etkileyen kalıtlabilir de i iklikler olarak tanımlanabilir. Yapılan ara tırmalarla epigenetik mekanizmaların birçok biyolojik olayda ve kanser gibi hastalıklarda önemli görevler ifa etti i bulunmu tur. Bu derlemede literatürdeki epigenetik mekanizmalar ve bunların kanserle olan ili kileri hakkında bilgiler özetlenmi tir.

**Anahtar Kelimeler:** Epigenetik mekanizmalar, Kanser, Kanser tedavisi

### SUMMARY

Epigenetics, proposed by Conrad Hal Waddington at the begining of the 1940 describes heritable changes that affect gene expression without changing DNA sequencing. After researches, it has been found that the epigenetics modifications perform important task in many biological processes and diseases like cancer. In this review we summarize the information in literature related with epigenetic mechanisms and their relationship with cancer.

**Key Words:** Epigenetic modifications, Cancer, Cancer therapy

### 1. G R

Kanser, kimyasal, UV gibi sebeplerden dolayı hücre bölünme kontrol noktaları zarar gören hücrelerin kontrolsüz bir ekilde a ırı bölünmesiyle karakterize edilen bir hastalıktır. (1). Ekonomik olarak geli mi ülkelerde birinci, geli mekte olan ülkelerde ise ikinci ölüm sebebi olan kanser hastalı ı için 2008 yılında 12,7 milyon yeni vaka ve 7,6 milyon ölüm açıklanmı tur. Bu yeni vakaların % 56'sı ve ölümlerin % 64'ü ekonomik olarak geli mekte olan ülkelerde görülmü tür (2). Hücre DNA diziliminde mutasyonlar (nokta mutasyonları, delesyonlar, insersiyonlar, gen füzyonları, kromozomal tekrar düzenlenmeler) insan ya amı boyunca olmakta ve bu de i iklikler birikmektedir. Bazı durumlarda da bu mutasyonlar iyi huylu olup somatik mozaizime sebep olur, fakat bazen ise kanser gibi ölümcül hastalıklara sebep olabilmektedir (3). Geleneksel görü olarak kanser, bu mutasyonların zamanla birikerek, karma ık ve çok faktörlü mekanizmalar sonucunda normal hücrenin malignan hücreğine dönü türdü ü dü ünülmekteydi (4). Epigenetik mekanizmaların açıklı a kavu turulmasıyla birlikte bu görü de i ip, epigenetik mekanizmalarında kanser etiolojisinde rol aldıkları bulunmu tur (5, 6).

nsan DNA'sını olu turan 3,2 milyar nükleotitin yakla ık 25.000 gen ta ıdı ı bilinmektedir (7). Genetik bilgiyi ta ıyan DNA, hücre çekirde inde histon proteinleriyle birle erek kromatin yapısını olu turmaktadır. Kromatinin en küçük fonksiyonel birimi olan nükleosomlar, 147 baz çiftinin iki er molekül H2a, H2B, H3 ve H4 proteinlerinin etrafını yakla ık 2 turla sarmasıyla olu ur. Kromatin heterokromatin ve ökromatin olarak iki kısma ayrılabilir. Heterokromatin daha yo undur ve aktif olmayan genleri içerir. Ökromatin ise kısmen daha gev ektir ve aktif genleri içerirler (8). Kromatinin üç boyutlu yapısı ve üzerindeki de i iklikler genleri aktif ve pasif hale geçmesini etkiledi i uzun yıllardan beri bilinmektedir (9). Son yıllarda yapılan

ara tırmalarda histon proteinleri üzerinde olan bu posttranslasyonel de i ikliklerin tahminlerden çok daha fazla sayıda ve çe itlilikte oldu unun fark edilmesiyle, bu de i ikliklerin fonksiyonu merak konusu olmu tur (10). Böylece epigenomiks ça ı ba lamı tır. 1940'ların ba ında Conrad Hal Waddington tarafından ortaya atılan 'Epigenetik' terimi, fenotipi ortaya çıkmasını sa layan genleri ve bunların ürünleri arasındaki etkile im olarak tanımlanmı tır (11). Bugünlerde ise epigenetik, gen ifadesindeki de i ikliklere sebep olan kalıtilabilir mekanizmaları inceleyen bilim dalı olarak tanımlanmaktadır. DNA diziliminde de i ikliklere (mutasyon) sebep olan genotoksik mekanizmaların aksine epigenetik mekanizmalar DNA dizilimini de i tirmeden gen ifade seviyesini düzenlemektedir. Asıl ilginç olan ise epigenetik mekanizmaların tersinir olması yani birey kendi epigenetik profilini de i tirebilmekte ve olu turdu u epigenetik profili bir sonraki nesle aktarabilmesidir. (12, 13). Organizmalarda meydana gelen X kromozomu inaktivasyonu, genomik baskılama (imprinting), kromozomal kararsızlık (instability), hücre farklılaşması ve gen ifadesi seviyesi gibi olaylar epigenetik mekanizmalar tarafından düzenlenmektedir. Bunun yanı sıra gıda, annenin davranı ları gibi çevresel faktörler epigenetik mekanizmaları kolayca etkileyebilmektedir (14). Epigenetik mekanizmalar, aynı ortamda büyüyen ve aynı genetik yapıya sahip iki bireyin nasıl farklı fenotiplere sahip oldu unu açıklar (15). Ayrıca karde kromatitlerin üzerindeki epigenetik farklılıkların gen ifade düzeylerine farklılıklara sebep olabilece i dü ünülmektedir (16).

Kanser hücresinde meydana gelen onkogenler fazla ifade olunması ve tümör baskılayıcı (süpressor) genler ise susmasında genetik de i ikliklerin yanı sıra epigenetik mekanizmaların etkili oldu unun bilinmesiyle epigenetik üzerine yo unla ılmı tır. Hatta epigenetik mekanizmaların, karsinogenezin ilk safhalarında yo un olarak meydana geldi inden kanser ba langıcında etkili oldu u dü ünülüp, epigenetik temelli kanser tedavi yöntemlerinin geli tirilmesi yeni hedef haline gelmi tir (17, 18). Yapılan ara tırmalar sonucunda epigenetik mekanizmaların prostat (19), tiroid (20), mide (21), beyin (22), akci er (23), mesane (24), kolon (25), over (26), kolorektal (27), a ız (28), deri (29) ve meme (30) kanserlerinde rol aldı ı bulunmu tur. Bunun yanı sıra normal kök hücrelerinin kanser kök hücrelerine özelle mesinde de etkili oldu u görülmü tür (31). Üzerinde en fazla ara tırma yapılmı epigenetik mekanizmalar DNA metillenmesi, histon de i iklikleri ve miRNA (mikro RNA)'dır.

## 2. DNA MET LLENMES VE KANSER

İlk bulunan ve üzerinde en fazla çalı ma yapılan epigenetik de i iklik DNA metillenmesidir (32, 33). Sitozin nükleotidinin metillenmesi, gen ifadesi ile direkt ba lı olup birçok ökaryot canlının geli iminde, normal ve hastalık durumunda büyük rol oynar (34). DNA metilasyonu, S-adenozilmetiyonunda ki (SAM) bir metil (-CH<sub>3</sub>) grubunun hücre genomundaki bir sitozin nükleotidine kovalent ba ıyla eklenerek metilsitozini olu turması olarak tanımlanabilir. Bu i lem DNA replikasyonu sonrasında enzimatik olarak gerçekleşir (35). Memeli hücrelerde DNA metilasyonu genellikle CpG dinükleotidinde ki sitozinin pirimidin halkasının 5. karbonuna olur (36). CpG adacıkları, genellikle genlerin promotör bölgelerinde bulunan 0,5-3 kb (genellikle 200 baz çiftinden uzun) uzunlu unda ki CpG dinükleotince zengin bölgelerdir (CpG frekansı en az 0,6'dır). Ba ta housekeeping genler olmak üzere insan DNA'sında bulunan genlerin hemen hemen % 60-70'inde CpG adacıkları vardır (37, 38). CpG adacıkları promotör bölgelerinin yanı sıra 3'-bölgelerde ve gen yapısında (ekzonik CpG) bulunabilir (39). Yapılan son ara tırmalarda promotör bölgesindeki CpG adacıkları gibi genin yapısında bulunan CpG adacıklarının metilasyonunda transkripsiyonel aktiviteyi etkiledi i bulunmu tur (40). 5-Metilsitozin genellikle CpG adacıklarında görülmekte birlikte CpA ve nadir olarak CpT'de de görülebilir. Fakat bunlar somatik hücrelerde görülmez, embriyonik kök hücrelerde görülür (41). DNA metilasyonu, genellikle genetik suskunlu a sebep olmaktadır (42). Fakat bazı durumlar da genin promotör bölgesinin de ilde gen yapısının metilasyonunun geni aktifle tirdi i bilinmektedir (43). nsan genomunda genler arasında bulunan tekrar dizilerinin metilasyonu da görülebilmektedir (44).

DNA'nın metilasyonunu, DNA metiltransferaz (DNMT) enzimleri tarafından metil ba lanma proteinleri yardımıyla (MBD1, MBD2, MBD3 vb.) katalizlenir (45, 46). imdiye kadar çok sayıda DNMT (DNMT1p, DNMT1b, DNMT1o, DNMT1p, DNMT2, DNMT3A, DNMT3b, and DNMT3L) tanımlanmı tır (47). Memelilerde en fazla bulunan DNMT1 yarı metillenmi (bir zincirdeki CpG metillenmi , di er zincirdeki ise metillenmemi ) DNA'nın metillenmesinde katalizler (48). Yarı metillenmi DNA zincirlerini metilasyonunu katalizleyebilmesinin yanı sıra DNMT3A ve DNMT3B'ün ba lıca görevi de novo (DNA zincirlerinin her ikisinde metillenmemi ) metilasyondur (49, 50). Katalitik aktiviteye sahip olan DNMT1, DNMT3A ve DNMT3B aksine DNMT3L metiltransferaz aktivitesi göstermezler. DNMT3L,

DNMT3A ve DNMT3B enzimlerinin aktivitesini düzenlemek yoluyla de novo metilasyonunu katalizler (51). DNA metilasyonunu düzenleyen DNMT ve MBD genlerindeki mutasyonlar, meme (52), mide (53) ve akut myeloid lösemi (54) gibi kanserlerin oluşumunda etken olduğu bilinmektedir.

Anormal DNA metilasyon hipermetilasyon, hipometilasyon ve baskılama kaybı (loss of imprinting) olmak üzere üç türü vardır (15). Bunlardan global hipometilasyon, kanserle ilişkili kilendirilen metilasyon türüdür (55). Genomik global hipometilasyon normalde suskun olan genlerin aktifle tirmek ve kromozomal kararsızlık (chromosomal instability) sebep olmak suretiyle yoluyla tümör gelişimine sebep olabilir. Ayrıca tümör gelişimi boyunca hipometilasyon derecesi artmaktadır (56, 57). Bugüne kadar yapılan araştırmalarda, spesifik genlerin ve/veya global hipometilasyonun meme (58, 59), boyun (60), yumurtalık (59), kolorektal (61), miyeloid lösemi (62), prostat (63, 64) ve mesane (65) gibi kanserlerde rol oynamaktadır.

Gen promotör bölgelerinde bulunan CpG adacıklarının hipermetilasyonu ise kanserde en fazla çalışılan epigenetik de i ikliktir. Tümör süpresör genler gibi kanser oluşumunda rol alan genlerin CpG adacıkları hipermetillendiğinde, genler inaktif forma geçer ve kanser oluşumuna sebebiyet verebilir (66). Yeni nesil Dizileme (NGS-Next Generation Sequence) gibi yeni yöntemler kullanılarak yapılan araştırmalar sonucunda normalde metillenmemiş durumdaki CpG adacıklarının %5 ilâ %10'unun çeşitli kanser türlerinde anormal metillendiği gösterilmiştir (67). CpG adacıklarının hipermetilasyonu DNMT enzimlerinin aşırı ifade edilmesi suretiyle olmaktadır. Meme (68, 69), over (70) ve mesane (71) gibi kanser türlerinde DNMT enzimlerinin aşırı ifade edildiği rapor edilmiştir. Bu durum DNMT enzimlerini kanser tedavi yöntemi geliştirmesinde yeni hedef haline getirmiştir. DNMT inhibitörü olarak 5-aza-deoksitidin (5-aza-deoxycytidine) ve zebularine gibi ajanlar kullanılmaktadır (72). DNMT inhibitörü kullanılarak meme (73), miyeloid lösemi (74) gibi kanserlerde hipermetilasyon sebebiyle susmuş olan genlerin tekrar aktifle tirilebildiği rapor edilmiştir. Bu ajanların yanı sıra antisens oligonükleotit kullanılarak DNMT enzimlerinin inhibe edildiği (75).

Bütün bu yapılan araştırmalar sonucunda global hipometilasyon ile spesifik genlerin hipermetilasyon tümör gelişiminde olan genel özellikler olduğu kanısına varılmıştır (76, 77). Anormal DNA metilasyonu, kanser ve Fragile X sendromu gibi hastalıkların yanı sıra ve çevresel faktörlerin etkisiyle belki ya lanmada da rol aldığı düşünülmektedir (78).

### 3. HISTON DE İKİKLİKLER ve KANSER

Kromozomların en küçük yapısal birimi olan kromatinler, histon kuyruklarındaki asetilasyon, metilasyon, fosforilasyon, sumalasyon ve ubiquitinasyon gibi transkripsiyonel sonrası (post-transkripsiyonel) de i iklikler tarafından kontrol edilmektedir ve bu de i iklikler transkripsiyon, DNA tamiri, rekombinasyon gibi olaylarda önemli görevleri ifa etmektedirler (79, 80). Histon de i iklikleri, genellikle histon proteininin elektrostatik yükünü de i tirmek suretiyle histon proteininin 3 boyutlu yapısını de i tirir. Böylece histon de i iklikleri kromozomal fonksiyonları etkiler (81). 1964 yılında Alfrey tarafından ilk defa histon de i ikliklerinin gen ifade düzeyini etkilediğinin iddia edilmesinden bu yana (82) yapılan araştırmalar sonucunda eş zamanlı olan histon de i ikliklerinin özel bir fonksiyonu ifa etmek için genlerin aktive ve/veya inaktive ettiği hipotezi (histon kod hipotezi) ortaya atılmıştır (83, 84). Bu yaklaşıma, histon de i ikliklerinin statik yapıda olmadığı ve sinyal iletim yollarıyla haberleşerek dinamik bir yapıda olduğunu anlamasıyla birlikte yerini histon krosstalk (histone cross-talk) ekinde revize edildi. Yani meydana gelen bir histon de i ikli i, yanındaki veya uzaktaki diğer bir histon protein de i ikli ine sebep olmaktadır (85, 86). Bu krosstalk mekanizmaların vücudumuzda çok yaygın olarak görüldüğü ve transkripsiyon gibi önemli mekanizmaların yanı sıra kanser gibi hastalıklarda da rol aldığı yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır (87-89). İmdiye kadar çok fazla sayıda histon de i ikli i, çok sayıda kanser türüyle ilişkili kilendirilmiştir (90). En iyi bilinen histon de i iklikleri; asetilasyon / deasetilasyon ve metilasyon / demetilasyon'dur.

#### a) Histon asetilasyonu/deasetilasyonu

Hücre, yaşamı boyunca dinamik olarak nükleozomlardaki histon proteinlerinin amino uçlarına asetilasyon/deasetilasyona maruz kalırlar. Histon asetilasyon/deasetilasyonu profili genlerin ifade seviyesini düzenleyerek organizmadaki birçok mekanizmayı etkiler (91, 92). Histon asetilasyonu dinamik bir işlem olup, histon asetiltransferaz (HAT) ve histone deasetiltransferaz (HDAC) enzimleri tarafından katalizlenirler (93). Histon asetilasyonun yanı sıra histon olmayan proteinlerin asetilasyonu da HAT ve HDAC enzimleriyle düzenlenir. Bu asetilasyonlar da sinyal iletim yolları (STAT vb.) aracılığıyla gen ifade seviyelerini düzenlemektedir (94, 95). HAT enzimi, asetil koenzim-A' histon proteinini de i tirdiği ispatlanan ilk enzim olup günümüze kadar insanlarda en az 25 HAT, ve 18 HDAC enzimi tanımlanmıştır (96, 97). Histon proteininin lizin aminoasitinden asetillenmesi, histon kuyruğundaki pozitif yükü nötralize ederek kromatin yapısının gevemesini sağlar. Bu geveme kromatin

yapısı, transkripsiyon faktörlerin hedef gene ulaşmasını kolaylaştırır. Böylece asetilasyon gen transkripsiyonunu kolaylaştırır. Buna karşılık deasetilasyon ise kromatin yapısını sıkılaştırmak suretiyle transkripsiyonu zorlaştırır (98). Genel olarak HAT enzimleri A ve B olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar. Tip-A HAT'lar çekirdekte, Tip-B HAT'lar ise sitoplazmada bulunurlar. Tip-B HAT'lar serbest haldeki veya yeni sentezlenmiş histon proteinlerini asetillerler (99, 100).

HDAC enzimleri ise transkripsiyonu baskılayıcı etkisiyle vücudumuzda gerçekte en çok sayıdaki biyolojik işlemde rol almaktadır. HDAC enzimleri genel olarak 3 olmakla birlikte bazı kaynaklarda 4 sınıfa ayrılırlar. 1. Sınıf HDAC'lar HDAC -1, -2, -3 ve -8'den meydana gelirler ve çekirdekte bulunurlar (101-103). HDAC enzimleri tümör baskılayıcı ve spesifik hücre döngüsü genlerini düzenlediklerinden, HDAC enzimlerinin aktivasyonu hipoasetilasyona yol açarak kansere yol açabilir (101, 105). Bugüne kadar yapılan araştırmalarda HDAC enzimlerinin gastrointestinal (106), meme (107, 108), mide (109), akciğer (110), lenfoblastik lösemi (111) ve pankreas (112) gibi kanserlerinde rol aldığı bulunmuştur. HDAC enzimlerinin birçok kanser türünde etkin rol almasıyla HDAC enzim inhibitörleri ajan çalışmaları hızlanmıştır. HDAC enzim inhibitörleri genelde HDAC enzimlerinin çinko kofaktör aktif bölgesi hedef alınarak tasarlanmıştır. Böylece HDAC enziminin kromatin yapısını değiştirilerek susturulmuş genlerin tekrar aktifleştirilmesi hedeflenmektedir (113, 114).

Bugüne kadar sentezlenmiş HDAC inhibitörleri 4 (Hidroksamik asitler, benzamidler, siklik peptitler ve alifatik asitler) gruba ayrılmıştır (115). Halihazırda yaklaşık 20 farklı inhibitör kanser tedavisi için denemeler kapsamında olup, bugüne kadar T-hücreli lenfoma tedavisi için 2 HDAC inhibitörü (Vorinostat (SAHA) ve Romidepsin (FK-228)) ABD Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration) tarafından onaylandı (116). Ayrıca vorinostat meme (117) ve prostat (118) gibi kanserler de etkisi üzerine pre-klinik çalışmaları devam etmektedir.

#### **b) Histon metilasyonu/demetilasyonu**

Asetilasyon ve fosforilasyonun aksine elektriksel yükü de taşımayan metilasyonun izofreni, diyabet ve kanser gibi hastalıkların gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynadığı yapılan araştırmalarca sabittir. DNA metilasyonu uzun zamanlı gen suskunluğuna sebep olurken, histon metilasyonu kısa zamanlı gen suskunluğuna sebep olur. (119, 120). Kofaktör S-adenosil metiyoninden bir, iki veya üç adet metil grubunu histon proteinlerinin (genellikle H3 ve H4) lizin ve arginin kalıntılarına transferini katalizleyen

enzimlere histon metiltransferaz (HMT) denir. HMT enzimleri, histon lizin metiltransferaz (HKMT) ve protein arginin metiltransferaz (PRMT) olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar (121, 122). Lizin metilasyonu, heterokromatin oluşumu, X kromozomu inaktivasyonu, genomik kararlılık, kök hücre olgunlaşması, genomik baskılama (imprinting) ve transkripsiyonel düzenleme gibi birçok biyolojik süreçte önemli rollerde rol alır (123, 124). Bazı lizin metiltransferazlar (H3K4, H3K36, H3K79 vb.) önkromatin bölgedeki genleri aktive ederken, bazıları (H3K9, H3K27 ve H3K20 vb.) ise önkromatin bölgedeki genleri aktive ederler (125). Bugüne kadar 10 adet PRMT enzimi tanımlanmıştır ve ürettikleri metilargininin türüne göre başlıca 3 sınıfa ayrılırlar. Monometilarginin (MMA), asimetric dimetilarginin (ADMA) ve simetric dimetilarginin (SDMA) olmak üzere 3 farklı tip metillenen arginin vardır. PRMT enzimleri transkripsiyon faktörler (p53, YY1 ve NF- $\kappa$ B vb.) aracılığıyla gen ifade seviyesini düzenler (126-128). Histon proteininden metil grubunun ayrılmasını katalizleyen enzimlere ise histon demetilaz (HDM) denir. HDM enzimleri HMT'lerle birlikte histon metilasyonunu düzenlediklerinden insan vücudunda çok önemli görevler ifâ etmektedir (129). HDM enzimleri yaklaşık 7 sene önce bulunmuştur ve günümüzde genel olarak aktivasyon mekanizmasına göre iki ana sınıfa ayrılırlar (130). Histon metilasyonunun profilinin HMT and HDT enzimleri aracılığıyla değiştirilmesi, yaşlanma ve kanser gibi hastalıklara sebep olmaktadır (131, 132). Yapılan araştırmalarda insan genomu tarafından kodlanıp bilinen yaklaşık 50 HMT enziminden 22 tanesinin insan ve fare modellerinde hastalıklarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (133). Bir HMT olan ve genellikle genleri inaktif hale geçiren EZH2 enzimi, histon 2-lizin 27 (H3-K27) konumuna üç metil grubunun transferini katalizler (134). EZH2 enzimi meme (135), mesane (136), kolorektal (137), prostat (138), mide (139), lenfoma (140) gibi birçok kanser türüne rol almaktadır. EZH2 enziminin birçok kanser türünde aktivasyonu ifade edilmesi onkogen olma ihtimalini artırırken, fonksiyon kaybına uğrayan mutasyonların olması (loss of function mutation) tümör baskılayıcı gen olma ihtimalini arttırmaktadır. EZH2'nin onkogen mi yoksa tümör baskılayıcı gen mi olduğu henüz tam olarak açıklanmamıştır (141, 142). DOT1L (143, 144), MLL (145), NSD1 (146), NSD2 (147) ve NSD 3 (148) gibi diğer HMT enzimlerinin de lösemi (ALL ve/veya AML) kanserinde rol aldığı bildirilmiştir. HMT enzimleri kadar karakterize edilmeyen PRMT enzimlerinin de meme kanseri gibi kanser türlerinde gen ifade seviyelerinin de değiştirilmesi

rapor edilmi tir (149). HDT enzimlerinin ke fedilme tarihi HMT enzimlerine göre nispeten daha geç oldu undan yeterli sayıda ara tırmaya konu olamamı tır. Genel olarak nörolojik hastalıklarla ve kanserle ili kilendirilebilmi tir (150). İlk defa 2004 yılında Shi ve arkadaş ları tarafından bulunan LSD1 enzimi, en fazla bilinen histon demetilazdır (151). Yapılan ara tırmalarda LSD1'in spesifik genlerin ifade düzeyini etkilemesinin (152) yanısıra bir tümör baskılayıcı gen olan p53 gibi histon olmayan proteinlerin gen ifade seviyesini düzenledi i ve global DNA metilasyonundan da sorumlu oldu u bildirilmi tir (153, 154). Ayrıca mesane (155), meme (156, 157) ve prostat (158) gibi kanser türlerinde etkin rol oynadı ı belirtilmi tir. Meme kanserinde rol alan di er histon demetilazlar; PLU-1 (159), JMJD2B 160, 161) ve GASC1 (162)'dir. Bir di er histon demetilaz ailesi olan Jumonji (JmjC) ilk defa 2006 yılında Tsukada ve arkadaş ları tarafından bulundu (163). Bunlar LSD1'den farklı olarak katalitik aktiviteye sahip olan JmjC domainine sahiptirler ve bu domain histon kuyru undan 3 adet metil grubunun ayrılması tepkimesini katalizler (164).

Normal dokuda ki ve kanserli dokulardaki HMT ve HDM genlerinin ifade seviyelerinin spesifik oldu unun anlaşılmasıyla (165), bu enzimlere yönelik yeni yöntemler (166) ve inhibitörler (167-169) geli tirme çabaları devam etmektedir.

#### 4. miRNA VE KANSER

Protein kodlamayan RNA'ların varlı ı uzun yıllardır bilinmesine rağmen (170), miRNA'lar ilk defa 1993 yılında Lee (171) ve arkadaş ları tarafından bulunmu olup bugünkü adını ise ancak 2001 yılında almı tır (172). Transkripsiyon sonrası düzenleyiciler olan miRNA'lar 20-24 nükleotit uzunlu undadır ve spesifik olarak mRNA'lara ba lanarak genellikle gen ifadesini baskılar veya mRNA'yı yıkıma u ratır.

İmdiye kadar insanda 1400'den fazla farklı miRNA tanımlanmı tır (173, 174). miRNA'lar çekirdekte sentezlenip, stoplazmaya transfer olurlar. Stoplazma da hedef mRNA ba lanan miRNA RISC (RNA-induced silencing complex) kompleksini olu turmak suretiyle mRNA gen ifadesini düzenler (175). Bu ekilde miRNA'lar DNA dizilimini de i tirmeden hücre geli imi, hücre farklılaşması, hücre ço alması, hücre ölümü, kromozomun yapısı, virüse karşı direnç ve apoptozis gibi biyolojik i lemlerde önemli görevler alırlar. Yapılan biyoinformatik çalı malar do rultusunda insan genomunda 45.000'den fazla miRNA hedef bölgesinin oldu u ve genlerin % 60'ından fazlası miRNA'lar tarafından kontrol edildi i tahmin edilmektedir (176, 177). miRNA'ların

bazıları onkogen, bazıları ise tümör baskılayıcı gen özelli i gösterdi inden ve miRNA'ların % 50'sinden daha fazlası kanserle ili kili genomik bölgededir (178). Meme kanseri üzerine yapılan ara tırmalarda; miR-206, mir-17-5p, miR-125a, 125b, miR-200, let-7, miR-34a ve miR-31'in tümör baskılayıcı; miR-21, miR-155, miR-10b ve miR-373'ün ise onkogenik özellik gösterdi i bulunmu tur (179). Bundan dolayı miRNA'ların ifade profilinin de i mesi, kanser ba langıcına ve/veya ilerlemesine sebep olabilmektedir (180, 181). De i mi miRNA profili, prostat (182), meme (183-185), akci er (186) ve kolorektal (187) gibi kanserlerde rapor edilmi tir. Tümör hücrelerinde miRNA profilinin de i me sebepleri arasında epigenetik mekanizmalarda gösterilmektedir (188). Tümör baskılayıcı miRNA'ların ifade düzeyi, DNA metilasyonu azalabildi i gibi onkogenik miRNA'ların ifade düzeyi histon asetilasyonu ile artması kanserde görülebilen olaylardır (189, 190). Elde edilen bu veriler kanser etiyolojisini daha karma ık hale getirmekle birlikte miRNA'ları kanser tedavisi için yeni bir stratejik hedef haline getirmektedir (191, 192). Kanser hücrelerinde genellikle miRNA ifade düzeyi azalmakla birlikte bazı onkogenik miRNA'ların ifade düzeyi artmaktadır. Antagomir kullanılarak bu artan miRNA'ların baskılanması bu stratejilere örnek olarak gösterilebilir (193, 194). Yakın gelecekte miRNA hedefli tedavi yöntemlerin, kullanılan geleneksel kemoterapilerle birlikte kullanılması kanser tedavisi için yeni bir strateji olabilir (195).

#### SONUÇ

Klasik kalıtım anlayı ına göre DNA, kalıtımı sa layan ve organizmaların biyolojik i levlerde gereksinim duydu u proteinleri üretimine karar veren yegâne moleküldür. Fakat insan genom projesinin tamamlanmasıyla birlikte 100.000 olarak tahmin edilen gen sayısının 20.000-25.000 oldu u ve insanların DNA dizilimlerinin % 99,9 oranında aynı oldu u bulunmu tur. Bu % 0,1'ik DNA dizilim farklılı ı, insanlar arasında ki fenotipik farklılıkları (tek yumurta ikizleri olsa bile) ve insanların ilaçlara verdi i farklı cevapları açıklamada yetersiz kalmaktaydı. Ayrıca aynı DNA dizilimine sahip hücrelerin, nasıl 200 farklı hücre türüne dönü tü ü gibi konular, bilim adamlarını yeni mekanizmaların arayı ına itti. Epigenetik mekanizmaların ke fedilmesiyle birlikte DNA diziliminin yanısıra post-translasyonel epigenetik mekanizmaların da gerek gen ifadesinde gerekse kalıtımda rol aldı ı anlaşılmalıdır. Epigenetik mekanizmaların dinamik bir yapıda olup çevresel etkilere hızlı bir ekilde cevap

olu turması, genotip ile çevreyle etkile im sonrası olu an fenotip arasındaki bo lu u doldurmaya yardım etmi tir. Ayrıca organizmada ki biyolojik i levlerde önemli rol oynayan bu epigenetik dengenin bozulması durumunda ise kanser gibi hastalıkların ortaya çıkabildi i ve organizmanın ilaçlara verdi i cevabın olu turulmasında epigenetik profilin önemli oldu u gösterilmi tir. Elde edilen bu veriler 'Farmakoepigenetik' olarak adlandırılabilen yeni ve özel bir çalı ma alanı ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Umuyoruz bu alanda yapılacak çalı malar sonucunda kanser gibi ölümcül olabilen hastalıkların tedavisi mümkün olur.

#### KAYNAKLAR

- Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease, *Nature* 2009; 461(7267):1071-8.
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics, *CA Cancer J Clin* 2011; 61(2):69-90.
- Podlaha O, Riestler M, De S, Michor F. Evolution of the cancer genome, *Trends Genet* 2012; 28(4):155-63.
- You JS, Jones PA. Cancer genetics and epigenetics: two sides of the same coin? *Cancer Cell* 2012; 22(1):9-20.
- Chervona Y, Costa M. Histone modifications and cancer: biomarkers of prognosis, *Am J Cancer Res.* 2012; 2(5):589-97.
- Pogribny IP, Rusyn I. Environmental toxicants, epigenetics, and cancer, *Adv Exp Med Biol.* 2013; 754:215-32.
- Holwerda S, de Laat W. Chromatin loops, gene positioning, and gene expression, *Front Genet.* 2012; 3:217.
- Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy, *Cell* 2012; 150(1):12-27.
- Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer, *Carcinogenesis* 2010; 31(1):27-36.
- Rando OJ. Combinatorial complexity in chromatin structure and function: revisiting the histone code, *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22(2):148-55.
- Waddington, C.H. The epigenotype. 1942, *Int J Epidemiol* 2012; 41(1):10-3.
- Hassler MR, Egger G. Epigenomics of cancer - emerging new concepts. *Biochimie* 2012 (Epub ahead of print).
- Gerhauser C. Cancer Chemoprevention and Nutri-Epigenetics: State of the Art and Future Challenges, *Top Curr Chem* 2012 [Epub ahead of print]
- Martín-Subero JI. How epigenomics brings phenotype into being, *Pediatr Endocrinol Rev* 2011; 9 Suppl 1:506-10.
- Sandoval J, Esteller M. Cancer epigenomics: beyond genomics, *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22(1):50-5.
- Lansdorp PM, Falconer E, Tao J, Brind'amour J, Naumann U. Epigenetic differences between sister chromatids? *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1266(1):1-6.
- Carone DM, Lawrence JB. Heterochromatin instability in cancer: From the Barr body to satellites and the nuclear periphery, *Semin Cancer Biol* 2012 [Epub ahead of print]
- Hatziaepostolou M, Iliopoulos D. Epigenetic aberrations during oncogenesis, *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(10):1681-702.
- Chin SP, Dickinson JL, Holloway AF. Clin Epigenetics. Epigenetic regulation of prostate cancer, 2011; 2(2):151-69.
- Catalano MG, Fortunati N, Boccuzzi G. Epigenetics modifications and therapeutic prospects in human thyroid cancer, *Front Endocrinol (Lausanne)* 2012; 3:40.
- Gigek CO, Chen ES, Calcagno DQ, Wisniewski F, Burbano RR, Smith MA. Epigenetic mechanisms in gastric cancer, *Epigenomics* 2012; 4(3):279-94.
- Dubuc AM, Mack S, Unterberger A, Northcott PA, Taylor MD. The epigenetics of brain tumors, *Methods Mol Biol* 2012; 863:139-53.
- Liloglou T, Bediaga NG, Brown BR, Field JK, Davies MP. Epigenetic biomarkers in lung cancer, *Cancer Lett* 2012 [Epub ahead of print]
- Kim WJ, Kim YJ. Epigenetics of bladder cancer, *Methods Mol Biol* 2012; 863:111-8.
- Khare S, Verma M. Epigenetics of colon cancer, *Methods Mol Biol* 2012; 863:177-85.
- Seeber LM, Van Diest PJ. Epigenetics in ovarian cancer, *Methods Mol Biol* 2012; 863:253-69.
- Rawson JB, Bapat B. Epigenetic biomarkers in colorectal cancer diagnostics, *Expert Rev Mol Diagn* 2012; 12(5):499-509.
- Mascolo M, Siano M, Iardi G, Russo D, Merolla F, De Rosa G, Staibano S. Epigenetic dysregulation in oral cancer, *Int J Mol Sci* 2012; 13(2):2331-53.
- Greenberg ES, Chong KK, Huynh KT, Tanaka R, Hoon DS. Epigenetic biomarkers in skin cancer, *Cancer Lett.* 2012 [Epub ahead of print]
- Stecklein SR, Jensen RA, Pal A. Genetic and epigenetic signatures of breast cancer subtypes, *Front Biosci (Elite Ed)* 2012; 4:934-49.
- Vincent A, Van Seuning I. On the epigenetic origin of cancer stem cells, *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826(1):83-8.
- Lister R, Pelizzola M, Dowen RH, Hawkins RD, Hon G, Tonti-Filippini J, Nery JR, Lee L, Ye Z, Ngo QM, Edsall L, Antosiewicz-Bourget J, Stewart R, Ruotti V, Millar AH, Thomson JA, Ren B, Ecker JR. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences, *Nature* 2009; 462(7271):315-22.
- Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E. Epigenetics: a landscape takes shape, *Cell* 2007; 128(4):635-8.
- Umer M, Herceg Z. Deciphering the Epigenetic Code: An Overview of DNA methylation Analysis Methods, *Antioxid Redox Signal* 2012 [Epub ahead of print]
- Zuo T, Tycko B, Liu TM, Lin JJ, Huang TH. Methods in DNA methylation profiling, *Epigenomics* 2009; 1(2):331-45.
- Goel A. DNA methylation-based fecal biomarkers for the noninvasive screening of GI cancers, *Future Oncol* 2010; 6(3):333-6.
- Antequera F, Bird A. Number of CpG islands and genes in human and Mouse, *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90(24):11995-9.
- Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease, *Nat Biotechnol* 2010; 28(10):1057-68.
- Nguyen C, Liang G, Nguyen TT, Tsao-Wei D, Groshen S, Lübbert M, Zhou JH, Benedict WF, Jones PA. Susceptibility of nonpromoter CpG islands to de novo methylation in normal and neoplastic cells, *J Natl Cancer Inst* 2001; 93(19):1465-72.
- Ndlovu MN, Denis H, Fuks F. Exposing the DNA methylome iceberg, *Trends Biochem Sci* 2011; 36(7):381-7.
- Kulis M, Esteller M. DNA methylation and cancer, *Adv Genet* 2010; 70:27-56.
- Smallwood SA, Kelsey G. De novo DNA methylation: a germ cell perspective, *Trends Genet* 2012; 28(1):33-42.

43. Aran D, Toperoff G, Rosenberg M, Hellman A. Replication timing-related and gene body-specific methylation of active human genes, *Hum Mol Genet* 2011; 20(4):670-80.
44. Li Y, Zhu J, Tian G, Li N, Li Q, Ye M, Zheng H, Yu J, Wu H, Sun J, Zhang H, Chen Q, Luo R, Chen M, He Y, Jin X, Zhang Q, Yu C, Zhou G, Sun J, Huang Y, Zheng H, Cao H, Zhou X, Guo S, Hu X, Li X, Kristiansen K, Bolund L, Xu J, Wang W, Yang H, Wang J, Li R, Beck S, Wang J, Zhang X. The DNA methylome of human peripheral blood mononuclear cells, *PLoS Biol* 2010; 9:8(11).
45. Miller CA, Sweatt JD. Covalent modification of DNA regulates memory formation, *Neuron* 2007; 53(6):857-69.
46. Klose RJ, Bird AP. Genomic DNA methylation: the mark and its mediators, *Trends Biochem Sci* 2006; 31(2):89-97.
47. Robertson KD. DNA methylation and chromatin - unraveling the tangled web, *Oncogene* 2002; 21(35):5361-79.
48. Li Y, Tollefsbol TO. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components, *Curr Med Chem* 2010; 17(20):2141-51.
49. Holz-Schietinger C, Reich NO. The inherent processivity of the human de novo methyltransferase 3A (DNMT3A) is enhanced by DNMT3L, *J Biol Chem* 2010; 285(38):29091-100.
50. Okano M, Bell DW, Haber DA, Li E. DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development, *Cell* 1999; 99(3):247-57.
51. Jurkowska RZ, Rajavelu A, Anspach N, Urbanke C, Jankevicius G, Ragozin S, Nellen W, Jeltsch A. Oligomerization and binding of the Dnmt3a DNA methyltransferase to parallel DNA molecules: heterochromatic localization and role of Dnmt3L, *J Biol Chem* 2011; 286(27):24200-7.
52. Yang XX, He XQ, Li FX, Wu YS, Gao Y, Li M. Risk-association of DNA methyltransferases polymorphisms with gastric cancer in the southern Chinese population, *Int J Mol Sci* 2012; 13(7):8364-78.
53. Sun MY, Yang XX, Xu WW, Yao GY, Pan HZ, Li M. Association of DNMT1 and DNMT3B polymorphisms with breast cancer risk in Han Chinese women from South China, *Genet Mol Res* 2012; [Epub ahead of print].
54. Ley TJ, Ding L, Walter MJ, McLellan MD, Lamprecht T, Larson DE, Kandoth C, Payton JE, Baty J, Welch J, Harris CC, Lichti CF, Townsend RR, Fulton RS, Dooling DJ, Koboldt DC, Schmidt H, Zhang Q, Osborne JR, Lin L, O'Laughlin M, McMichael JF, Delehaunty KD, McGrath SD, Fulton LA, Magrini VJ, Vickery TL, Hundal J, Cook LL, Conyers JJ, Swift GW, Reed JP, Alldredge PA, Wylie T, Walker J, Kalicki J, Watson MA, Heath S, Shannon WD, Varghese N, Nagarajan R, Westervelt P, Tomasson MH, Link DC, Graubert TA, DiPersio JF, Mardis ER, Wilson RK. DNMT3A mutations in acute myeloid leukemia, *N Engl J Med* 2010; 363(25):2424-33.
55. Feinberg AP, Vogelstein B. Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts, *Nature* 1983; 301(5895):89-92.
56. Ehrlich M. DNA hypomethylation in cancer cells, *Epigenomics* 2009; 1(2):239-59.
57. Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Erkek E, Bozdogan O, Peinado H, Niveleau A, Mao JH, Balmain A, Cano A, Esteller M. A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors, *Cancer Res* 2004; 64(16):5527-34.
58. Costa FF, Paixão VA, Cavalher FP, Ribeiro KB, Cunha IW, Rinck JA Jr, O'Hare M, Mackay A, Soares FA, Brentani RR, Camargo AA. SATR-1 hypomethylation is a common and early event in breast cancer, *Cancer Genet Cytogenet* 2006; 165(2):135-43.
59. Gupta A, Godwin AK, Vanderveer L, Lu A, Liu J. Hypomethylation of the synuclein gamma gene CpG island promotes its aberrant expression in breast carcinoma and ovarian carcinoma, *Cancer Res* 2003; 63(3):664-73.
60. Badal V, Chuang LS, Tan EH, Badal S, Villa LL, Wheeler CM, Li BF, Bernard HU. CpG methylation of human papillomavirus type 16 DNA in cervical cancer cell lines and in clinical specimens: genomic hypomethylation correlates with carcinogenic progression, *J Virol* 2003; 77(11):6227-34.
61. Kim KH, Choi JS, Kim IJ, Ku JL, Park JG. Promoter hypomethylation and reactivation of MAGE-A1 and MAGE-A3 genes in colorectal cancer cell lines and cancer tissues, *World J Gastroenterol* 2006; 12(35):5651-7.
62. Roman-Gomez J, Jimenez-Velasco A, Agirre X, Cervantes F, Sanchez J, Garate L, Barrios M, Castillejo JA, Navarro G, Colomer D, Prosper F, Heiniger A, Torres A. Promoter hypomethylation of the LINE-1 retrotransposable elements activates sense/antisense transcription and marks the progression of chronic myeloid leukemia, *Oncogene* 2005; 24(48):7213-23.
63. Bedford MT, van Helden PD. Hypomethylation of DNA in pathological conditions of the human prostate, *Cancer Res* 1987; 47(20):5274-6.
64. Brothman AR, Swanson G, Maxwell TM, Cui J, Murphy KJ, Herrick J, Speights VO, Isaac J, Rohr LR. Global hypomethylation is common in prostate cancer cells: a quantitative predictor for clinical outcome? *Cancer Genet Cytogenet* 2005; 156(1):31-6.
65. Seifert HH, Schmiemann V, Mueller M, Kazimirek M, Onofre F, Neuhausen A, Florl AR, Ackermann R, Boecking A, Schulz WA, Grote HJ. In situ detection of global DNA hypomethylation in exfoliative urine cytology of patients with suspected bladder cancer, *Exp Mol Pathol* 2007; 82(3):292-7.
66. Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer, *Cell* 2007; 128(4):683-92.
67. Baylin SB, Jones PA. A decade of exploring the cancer epigenome - biological and translational implications, *Nat Rev Cancer* 2011; 11(10):726-34.
68. Girault I, Tozlu S, Lidereau R, Bièche I. Expression analysis of DNA methyltransferases 1, 3A, and 3B in sporadic breast carcinomas, *Clin Cancer Res* 2003; 9(12):4415-22.
69. Ben Gacem R, Hachana M, Ziadi S, Ben Abdelkarim S, Hidar S, Trimeche M. Clinicopathologic significance of DNA methyltransferase 1, 3a, and 3b overexpression in Tunisian breast cancers, *Hum Pathol* 2012; 43(10):1731-8.
70. Chen CL, Yan X, Gao YN, Liao QP. Expression of DNA methyltransferase 1, 3A and 3B mRNA in the epithelial ovarian carcinoma, *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi* 2005; 40(11):770-4.
71. Nakagawa T, Kanai Y, Saito Y, Kitamura T, Kakizoe T, Hirohashi S. Increased DNA methyltransferase 1 protein expression in human transitional cell carcinoma of the bladder, *J Urol*. 2003; 170(6Pt1):2463-6.
72. Gros C, Fahy J, Halby L, Dufau I, Erdmann A, Gregoire JM, Ausseil F, Vispé S, Arimondo PB. DNA methylation inhibitors in cancer: Recent and future approaches, *Biochimie* 2012; 94(11):2280-96.

73. Billam M, Sobolewski MD, Davidson NE. Effects of a novel DNA methyltransferase inhibitor zebularine on human breast cancer cells, *Breast Cancer Res Treat* 2010; 120(3):581-92.
74. Flotho C, Claus R, Batz C, Schneider M, Sandrock I, Ihde S, Plass C, Niemeyer CM, Lübbert M. The DNA methyltransferase inhibitors azacitidine, decitabine and zebularine exert differential effects on cancer gene expression in acute myeloid leukemia cells, *Leukemia* 2009; 23(6):1019-28.
75. Yan L, Nass SJ, Smith D, Nelson WG, Herman JG, Davidson NE. Specific inhibition of DNMT1 by antisense oligonucleotides induces re-expression of estrogen receptor-alpha (ER) in ER-negative human breast cancer cell lines, *Cancer Biol Ther* 2003; 2(5):552-6.
76. Arasaradnam RP, Commane DM, Bradburn D, Mathers JC. A review of dietary factors and its influence on DNA methylation in colorectal carcinogenesis, *Epigenetics* 2008; 3(4):193-8.
77. Jaenisch R, Bird A. Epigenetic regulation of gene expression: how the genome integrates intrinsic and environmental signals, *Nat Genet.* 2003; 33 Suppl:245-54.
78. Cedar H, Bergman Y. Programming of DNA methylation patterns, *Annu Rev Biochem* 2012; 81:97-117.
79. Cedar H, Bergman Y. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms, *Nat Rev Genet* 2009; 10(5):295-304.
80. Rando OJ. Combinatorial complexity in chromatin structure and function: revisiting the histone code, *Curr Opin Genet Dev* 2012; 22(2):148-55.
81. Wolffe AP, Hayes JJ. Chromatin disruption and modification, *Nucleic Acids Res* 1999; 1:27(3):711-20.
82. Allfrey VG, Faulkner R, Mirsky AE. Acetylation and methylation of histones and their possible role in the regulation of RNA synthesis, *Proc Natl Acad Sci USA* 1964; 51:786-94.
83. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code, *Science* 2001; 293(5532):1074-80.
84. Strahl BD, Allis CD. The language of covalent histone modifications, *Nature* 2000; 403(6765):41-5.
85. Verrier L, Vandromme M, Trouche D. Histone demethylases in chromatin cross-talks, *Biol Cell* 2011; 103(8):381-401.
86. Lee JS, Smith E, Shilatifard A. The language of histone crosstalk, *Cell* 2010; 142(5):682-5.
87. Zippo A, Serafini R, Rocchigiani M, Pennacchini S, Krepelova A, Oliviero S. Histone crosstalk between H3S10ph and H4K16ac generates a histone code that mediates transcription elongation, *Cell* 2009; 138(6):1122-36.
88. Suganuma T, Workman JL. Crosstalk among Histone Modifications, *Cell.* 2008; 135(4):604-7.
89. Ooi L, Wood IC. Chromatin crosstalk in development and disease: lessons from REST, *Nat Rev Genet.* 2007; 8(7):544-54.
90. Füllgrabe J, Kavanagh E, Joseph B. Histone onco-modifications, *Oncogene* 2011; 30(31):3391-403.
91. Grunstein M. Histone acetylation in chromatin structure and transcription, *Nature* 1997; 389(6649):349-52.
92. Struhl K. Histone acetylation and transcriptional regulatory mechanisms, *Genes Dev* 1998; 12(5):599-606.
93. Turner BM. Histone acetylation and an epigenetic code, *Bioessays* 2000; 22(9):836-45.
94. Icardi L, De Bosscher K, Tavernier J. The HAT/HDAC interplay: Multilevel control of STAT signaling, *Cytokine Growth Factor Rev* 2012 [Epub ahead of print]
95. Masumi A. Histone acetyltransferases as regulators of nonhistone proteins: the role of interferon regulatory factor acetylation on gene transcription, *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011:640610.
96. Bannister AJ, Kouzarides T. The CBP co-activator is a histone acetyltransferase, *Nature* 1996; 384(6610):641-3.
97. Fu S, Kurzrock R. Development of curcumin as an epigenetic agent, *Cancer* 2010; 116(20):4670-6.
98. Shahbazian MD, Grunstein M. Functions of site-specific histone acetylation and deacetylation, *Annu Rev Biochem* 2007; 76:75-100.
99. Hodawadekar SC, Marmorstein R. Chemistry of acetyl transfer by histone modifying enzymes: structure, mechanism and implications for effector design, *Oncogene* 2007; 26(37):5528-40.
100. Bannister AJ, Kouzarides T. Regulation of chromatin by histone modifications, *Cell Res* 2011; 21(3):381-95.
101. Haberland M, Montgomery RL, Olson EN. The many roles of histone deacetylases in development and physiology: implications for disease and therapy, *Nat Rev Genet* 2009; 10(1):32-42.
102. Prince HM, Bishton MJ, Harrison SJ. Clinical studies of histone deacetylase inhibitors. *Clin Cancer Res* 2009; 15(12):3958-69.
103. Hayakawa T, Nakayama J. Physiological roles of class I HDAC complex and histone demethylase, *J Biomed Biotechnol.* 2011; 2011:129383.
104. Haberland M, Johnson A, Mokalled MH, Montgomery RL, Olson EN. Genetic dissection of histone deacetylase requirement in tumor cells, *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106(19):7751-5.
105. Barneda-Zahonero B, Parra M. Histone deacetylases and cancer *Mol Oncol* 2012 [Epub ahead of print]
106. Sun WJ, Zhou X, Zheng JH, Lu MD, Nie JY, Yang XJ, Zheng ZQ. Histone acetyltransferases and deacetylases: molecular and clinical implications to gastrointestinal carcinogenesis, *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2012; 44(1):80-91.
107. Krusche CA, Wülfing P, Kersting C, Vloet A, Böcker W, Kiesel L, Beier HM, Alfer J. Histone deacetylase-1 and -3 protein expression in human breast cancer: a tissue microarray analysis. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90(1):15-23.
108. Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Omoto Y, Ando Y, Mita K, Hamaguchi M, Hayashi S, Iwase H. HDAC6 expression is correlated with better survival in breast cancer, *Clin Cancer Res* 2004; 10(20):6962-8.
109. Choi JH, Kwon HJ, Yoon BI, Kim JH, Han SU, Joo HJ, Kim DY. Expression profile of histone deacetylase 1 in gastric cancer tissues, *Jpn J Cancer Res* 2001; 92(12):1300-4.
110. Jung KH, Noh JH, Kim JK, Eun JW, Bae HJ, Xie HJ, Chang YG, Kim MG, Park H, Lee JY, Nam SW. HDAC2 overexpression confers oncogenic potential to human lung cancer cells by deregulating expression of apoptosis and cell cycle proteins, *J Cell Biochem* 2012; 113(6):2167-77.
111. Moreno DA, Scrideli CA, Cortez MA, de Paula Queiroz R, Valera ET, da Silva Silveira V, Yunes JA, Brandalise SR, Tone LG. Differential expression of HDAC3, HDAC7 and HDAC9 is associated with prognosis and survival in childhood acute lymphoblastic leukaemia, *Br J Haematol* 2010; 150(6):665-73.
112. Ouaiissi M, Sielezneff I, Silvestre R, Sastre B, Bernard JP, Lafontaine JS, Payan MJ, Dahan L, Pirrò N, Seitz JF, Mas E, Lombardo D, Ouaiissi A. gh histone deacetylase 7 (HDAC7) expression is significantly associated with adenocarcinomas of the pancreas, *Ann Surg Oncol* 2008; 15(8):2318-28.
113. Huang Y, Nayak S, Jankowitz R, Davidson NE, Oesterreich S. Epigenetics in breast cancer: what's new? *Breast Cancer Res* 2011; 13(6):225.



114. Arts J, de Schepper S, Van Emelen K. Histone deacetylase inhibitors: from chromatin remodeling to experimental cancer therapeutics. *Curr Med Chem* 2003; (22):2343-50.
115. Dokmanovic M, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: discovery and development as anticancer agents, *J Cell Biochem* 2005; 96(2):293-304.
116. Lee JH, Choy ML, Marks PA. Mechanisms of resistance to histone deacetylase inhibitors, *Adv Cancer Res* 2012; 116:39-86.
117. Munster PN, Thurn KT, Thomas S, Raha P, Lacevic M, Miller A, Melisko M, Ismail-Khan R, Rugo H, Moasser M, Minton SE. A phase II study of the histone deacetylase inhibitor vorinostat combined with tamoxifen for the treatment of patients with hormone therapy-resistant breast cancer, *Br J Cancer* 2011; 104(12):1828-35.
118. Sato A, Asano T, Ito K, Asano T. Vorinostat and Bortezomib Synergistically Cause Ubiquitinated Protein Accumulation in Prostate Cancer Cells, *J Urol* 2012 [Epub ahead of print]
119. Decarlo D, Hadden MK. Oncoepigenomics: Making histone lysine methylation count, *Eur J Med Chem* 2012; 56:179-94.
120. Vo AT, Millis RM. Epigenetics and breast cancers, *Obstet Gynecol Int* 2012 (E pub).
121. Wood A, Shilatfard A. Posttranslational modifications of histones by methylation, *Adv Protein Chem* 2004; 67:201-22.
122. Campagna-Slater V, Mok MW, Nguyen KT, Feher M, Najmanovich R, Schapira M. Structural chemistry of the histone methyltransferases cofactor binding site, *J Chem Inf Model* 2011; 28;51(3):612-23.
123. Martin C, Zhang Y. The diverse functions of histone lysine methylation, *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005; 6(11):838-49.
124. Sawan C, Herceg Z. Histone modifications and cancer, *Adv Genet* 2010; 70:57-85.
125. Barski A, Cuddapah S, Cui K, Roh TY, Schones DE, Wang Z, Wei G, Chepelev I, Zhao K. High-resolution profiling of histone methylations in the human genome, *Cell* 2007; 129(4):823-37.
126. Bedford MT, Richard S. Arginine methylation an emerging regulator of protein function, *Mol Cell* 2005; 18(3):263-72.
127. Bedford MT. Arginine methylation at a glance, *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 24):4243-6.
128. Di Lorenzo A, Bedford MT. Histone arginine methylation, *FEBS Lett* 2011; 585(13):2024-31.
129. Tian X, Fang J. Current perspectives on histone demethylases, *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2007; 39(2):81-8.
130. Mosammaparast N, Shi Y. Reversal of histone methylation: biochemical and molecular mechanisms of histone demethylases, *Annu Rev Biochem* 2010; 79:155-79.
131. Greer EL, Shi Y. Histone methylation: a dynamic mark in health, disease and inheritance, *Nat Rev Genet.* 2012; 13(5):343-57.
132. Varier RA, Timmers HT. Histone lysine methylation and demethylation pathways in cancer, *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815(1):75-89.
133. Albert M, Helin K. Histone methyltransferases in cancer, *Semin Cell Dev Biol* 2010; 21(2):209-20.
134. Cao R, Wang L, Wang H, Xia L, Erdjument-Bromage H, Tempst P, Jones RS, Zhang Y (2002) Role of histone H3 lysine 27 methylation in Polycomb-group silencing. *Science.* 2002; 298(5595):1039-43.
135. Kleer CG, Cao Q, Varambally S, Shen R, Ota I, Tomlins SA, Ghosh D, Sewalt RG, Otte AP, Hayes DF, Sabel MS, Livant D, Weiss SJ, Rubin MA, Chinnaiyan AM. EZH2 is a marker of aggressive breast cancer and promotes neoplastic transformation of breast epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(20):11606-11.
136. Arisan S, Buyuktuncer ED, Palavan-Unsal N, Ca kurlu T, Cakir OO, Ergenekon E. Increased expression of EZH2, a polycomb group protein, in bladder carcinoma, *Urol Int* 2005; 75(3):252-7.
137. Mimori K, Ogawa K, Okamoto M, Sudo T, Inoue H, Mori M. Clinical significance of enhancer of zeste homolog 2 expression in colorectal cancer cases, *Eur J Surg Oncol* 2005; 31(4):376-80.
138. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, Ghosh D, Pienta KJ, Sewalt RG, Otte AP, Rubin MA, Chinnaiyan AM. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature* 2002; 419(6907):624-9.
139. Watanabe Y, Toyota M, Kondo Y, Suzuki H, Imai T, Ohe-Toyota M, Maruyama R, Nojima M, Sasaki Y, Sekido Y, Hiratsuka H, Shinomura Y, Imai K, Itoh F, Tokino T. PRDM5 identified as a target of epigenetic silencing in colorectal and gastric cancer, *Clin Cancer Res* 2007; 13(16):4786-94.
140. Visser HP, Gunster MJ, Kluijn-Nelemans HC, Manders EM, Raaphorst FM, Meijer CJ, Willemze R, Otte AP. The Polycomb group protein EZH2 is upregulated in proliferating, cultured human mantle cell lymphoma, *Br J Haematol.* 2001; 112(4):950-8.
141. Chase A, Cross NC. Aberrations of EZH2 in cancer, *Clin Cancer Res* 2011; 17(9):2613-8
142. Nikoloski G, Langemeijer SM, Kuiper RP, Knops R, Massop M, Tönnissen ER, van der Heijden A, Scheele TN, Vandenberghe P, de Witte T, van der Reijden BA, Jansen JH. Somatic mutations of the histone methyltransferase gene EZH2 in myelodysplastic syndromes, *Nat Genet* 2010; 42(8):665-7.
143. Krivtsov AV, Feng Z, Lemieux ME, Faber J, Vempati S, Sinha AU, Xia X, Jesneck J, Bracken AP, Silverman LB, Kutok JL, Kung AL, Armstrong SA. H3K79 methylation profiles define murine and human MLL-AF4 leukemias, *Cancer Cell* 2008; 14(5):355-68.
144. Okada Y, Feng Q, Lin Y, Jiang Q, Li Y, Coffield VM, Su L, Xu G, Zhang Y. hDOT1L links histone methylation to leukemogenesis, *Cell* 2005; 121(2):167-78.
145. Whitman SP, Hackanson B, Liyanarachchi S, Liu S, Rush LJ, Maharry K, Margeson D, Davuluri R, Wen J, Witte T, Yu L, Liu C, Bloomfield CD, Marcucci G, Plass C, Caligiuri MA. DNA hypermethylation and epigenetic silencing of the tumor suppressor gene, SLC5A8, in acute myeloid leukemia with the MLL partial tandem duplication, *Blood* 2008; 112(5):2013-6.
146. Jaju RJ, Fidler C, Haas OA, Strickson AJ, Watkins F, Clark K, Cross NC, Cheng JF, Aplan PD, Kearney L, Boultonwood J, Wainscoat JS. A novel gene, NSD1, is fused to NUP98 in the t(5;11)(q35;p15.5) in de novo childhood acute myeloid leukemia, *Blood* 2001; 98(4):1264-7.
147. Kim JY, Kee HJ, Choe NW, Kim SM, Eom GH, Baek HJ, Kook H, Kook H, Seo SB. Multiple-myeloma-related WHSC1/MMSET isoform RE-IIBP is a histone methyltransferase with transcriptional repression activity, *Mol Cell Biol* 2008; 28(6):2023-34.

148. Rosati R, La Starza R, Veronese A, Aventin A, Schwienbacher C, Vallespi T, Negrini M, Martelli MF, Mecucci C. NUP98 is fused to the NSD3 gene in acute myeloid leukemia associated with t(8;11)(p11.2;p15), *Blood* 2002; 99(10):3857-60.
149. Le Romancer M, Treilleux I, Leconte N, Robin-Lespinasse Y, Sentis S, Bouchekioua-Bouzaghoul K, Goddard S, Gobert-Gosse S, Corbo L. Regulation of estrogen rapid signaling through arginine methylation by PRMT1, *Mol Cell* 2008; 31(2):212-21.
150. Pedersen MT, Helin K. Histone demethylases in development and disease, *Trends Cell Biol.* 2010; 20(11):662-71.
151. Shi Y, Lan F, Matson C, Mulligan P, Whetstone JR, Cole PA, Casero RA, Shi Y. Histone demethylation mediated by the nuclear amine oxidase homolog LSD1, *Cell* 2004; 119(7):941-53.
152. Metzger E, Wissmann M, Yin N, Müller JM, Schneider R, Peters AH, Günther T, Buettner R, Schüle R. LSD1 demethylates repressive histone marks to promote androgen-receptor-dependent transcription, *Nature* 2005; 437(7057):436-9.
153. Huang J, Sengupta R, Espejo AB, Lee MG, Dorsey JA, Richter M, Opravil S, Shiekhhattar R, Bedford MT, Jenuwein T, Berger SL. p53 is regulated by the lysine demethylase LSD1, *Nature* 2007; 449(7158):105-8.
154. Wang J, Hevi S, Kurash JK, Lei H, Gay F, Bajko J, Su H, Sun W, Chang H, Xu G, Gaudet F, Li E, Chen T. The lysine demethylase LSD1 (KDM1) is required for maintenance of global DNA methylation, *Nat Genet* 2009; 41(1):125-9.
155. Hayami S, Kelly JD, Cho HS, Yoshimatsu M, Unoki M, Tsunoda T, Field HI, Neal DE, Yamaue H, Ponder BA, Nakamura Y, Hamamoto R. Overexpression of LSD1 contributes to human carcinogenesis through chromatin regulation in various cancers, *Int J Cancer* 2011; 128(3):574-86.
156. Lim S, Janzer A, Becker A, Zimmer A, Schüle R, Buettner R, Kirfel J. Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) is highly expressed in ER-negative breast cancers and a biomarker predicting aggressive biology, *Carcinogenesis* 2010; 31(3):512-20.
157. Wang Y, Zhang H, Chen Y, Sun Y, Yang F, Yu W, Liang J, Sun L, Yang X, Shi L, Li R, Li Y, Zhang Y, Li Q, Yi X, Shang Y. LSD1 is a subunit of the NuRD complex and targets the metastasis programs in breast cancer, *Cell* 2009; 138(4):660-72.
158. Rotili D, Mai A. Targeting Histone Demethylases: A New Avenue for the Fight against Cancer, *Genes Cancer* 2011; 2(6):663-79.
159. Yamane K, Tateishi K, Klose RJ, Fang J, Fabrizio LA, Erdjument-Bromage H, Taylor-Papadimitriou J, Tempst P, Zhang Y. PLU-1 is an H3K4 demethylase involved in transcriptional repression and breast cancer cell proliferation, *Mol Cell* 2007; 25(6):801-12.
160. Shi L, Sun L, Li Q, Liang J, Yu W, Yi X, Yang X, Li Y, Han X, Zhang Y, Xuan C, Yao Z, Shang Y. Histone demethylase JMJD2B coordinates H3K4/H3K9 methylation and promotes hormonally responsive breast carcinogenesis, *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108(18):7541-6.
161. Kawazu M, Saso K, Tong KI, McQuire T, Goto K, Son DO, Wakeham A, Miyagishi M, Mak TW, Okada H. Histone demethylase JMJD2B functions as a co-factor of estrogen receptor in breast cancer proliferation and mammary gland development, *PLoS One* 2011; 6(3):e17830.
162. Liu G, Bollig-Fischer A, Kreike B, van de Vijver MJ, Abrams J, Ethier SP, Yang ZQ. Genomic amplification and oncogenic properties of the GASC1 histone demethylase gene in breast cancer, *Oncogene* 2009; 28(50):4491-500.
163. Tsukada Y, Fang J, Erdjument-Bromage H, Warren ME, Borchers CH, Tempst P, Zhang Y. Histone demethylation by a family of JmjC domain-containing proteins, *Nature* 2006; 439(7078):811-6.
164. Agger K, Christensen J, Cloos PA, Helin K. The emerging functions of histone demethylases, *Curr Opin Genet Dev* 2008; 18(2):159-68.
165. Islam AB, Richter WF, Jacobs LA, Lopez-Bigas N, Benevolenskaya EV. Co-regulation of histone-modifying enzymes in cancer, *PLoS One* 2011; 6(8):e24023.
166. Gauthier N, Caron M, Pedro L, Arcand M, Blouin J, Labonté A, Normand C, Paquet V, Rodenbrock A, Roy M, Rouleau N, Beaudet L, Padrós J, Rodriguez-Suarez R. Development of homogeneous nonradioactive methyltransferase and demethylase assays targeting histone H3 lysine 4, *J Biomol Screen* 2012; 17(1):49-58.
167. Spannhoff A, Sippl W, Jung M. Cancer treatment of the future: inhibitors of histone methyltransferases, *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41(1):4-11.
168. Cha B, Jho EH. Protein arginine methyltransferases (PRMTs) as therapeutic targets, *Expert Opin Ther Targets.* 2012; 16(7):651-64.
169. Hoffmann I, Roatsch M, Schmitt ML, Carlino L, Pippel M, Sippl W, Jung M. The role of histone demethylases in cancer therapy, *Mol Oncol.* 2012 [Epub ahead of print]
170. Guil S, Esteller M. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: tying it all together, *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41(1):87-95.
171. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*, *Cell* 1993; 75(5):843-54.
172. Ruvkun G. Molecular biology. Glimpses of a tiny RNA World, *Science* 2001; 294(5543):797-9.
173. Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions, *Cell* 2009; 136(2):215-33.
174. Jansson MD, Lund AH. MicroRNA and cancer, *Mol Oncol* 2012 [Epub ahead of print]
175. Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation, *Nat Cell Biol* 2009; 11(3):228-34.
176. Kusenda B, Mraz M, Mayer J, Pospisilova S. MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2006; 150(2):205-15.
177. Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs, *Genome Res* 2009; 19(1):92-105.
178. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. MicroRNAs as oncogenes and tumor suppressors, *Dev Biol* 2007; 302(1):1-12.
179. O'Day E, Lal A. MicroRNAs and their target gene networks in breast cancer, *Breast Cancer Res* 2010; 12(2):201.
180. Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers, *Nature* 2005; 435(7043):834-8.
181. Meltzer PS. Cancer genomics: small RNAs with big impacts. *Nature* 2005; 435(7043):745-6.

182. Paone A, Galli R, Fabbri M. MicroRNAs as New Characters in the Plot between Epigenetics and Prostate Cancer, *Front Genet* 2011; 2:62.
183. Davoren PA, McNeill RE, Lowery AJ, Kerin MJ, Miller N. Identification of suitable endogenous control genes for microRNA gene expression analysis in human breast cancer, *BMC Mol Biol* 2008; 9:76
184. Farazi TA, Horlings HM, Ten Hoeve JJ, Mihailovic A, Halfwerk H, Morozov P, Brown M, Hafner M, Reyal F, van Kouwenhove M, Kreike B, Sie D, Hovestadt V, Wessels LF, van de Vijver MJ, Tuschl T. MicroRNA sequence and expression analysis in breast tumors by deep sequencing, *Cancer Res* 2011; 71(13):4443-53.
185. Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, Magri E, Pedriali M, Fabbri M, Campiglio M, Ménard S, Palazzo JP, Rosenberg A, Musiani P, Volinia S, Nenci I, Calin GA, Querzoli P, Negrini M, Croce CM. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer, *Cancer Res* 2005; 65(16):7065-70.
186. Hayashita Y, Osada H, Tatematsu Y, Yamada H, Yanagisawa K, Tomida S, Yatabe Y, Kawahara K, Sekido Y, Takahashi T. A polycistronic microRNA cluster, miR-17-92, is overexpressed in human lung cancers and enhances cell proliferation, *Cancer Res* 2005; 65(21):9628-32.
187. Goel A, Boland CR. Epigenetics of Colorectal Cancer, *Gastroenterology*. 2012 [Epub ahead of print]
188. Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers, *Nat Rev Cancer* 2006; 6(11):857-66.
189. Lopez-Serra P, Esteller M. DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer, *Oncogene* 2012; 31(13):1609-22.
190. Wong KY, Yu L, Chim CS. DNA methylation of tumor suppressor miRNA genes: a lesson from the miR-34 family, *Epigenomics* 2011; 3(1):83-92.
191. Fabbri E, Brognara E, Borgatti M, Lampronti I, Finotti A, Bianchi N, Sforza S, Tedeschi T, Manicardi A, Marchelli R, Corradini R, Gambari R. MiRNA therapeutics: delivery and biological activity of peptide nucleic acids targeting miRNAs, *Epigenomics* 2011; 3(6):733-45.
192. Czech MP. MicroRNAs as therapeutic targets, *N Engl J Med* 2006; 354(11):1194-5.
193. Kasinski AL, Slack FJ. Epigenetics and genetics. MicroRNAs en route to the clinic: progress in validating and targeting microRNAs for cancer therapy, *Nat Rev Cancer* 2011; 11(12):849-64.
194. Krützfeldt J, Rajewsky N, Braich R, Rajeev KG, Tuschl T, Manoharan M, Stoffel M. Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs', *Nature* 2005; 438(7068):685-9.
195. Kutanzi KR, Yurchenko OV, Beland FA, Checkhun VF, Pogribny IP. MicroRNA-mediated drug resistance in breast cancer, *Clin Epigenetics* 2011; 2(2):171-185.