

## ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ГЛИОМ

© *Е. В. Семенова, М. В. Филатов*

*Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова, Гатчина;  
электронный адрес: semenova\_el.spb@mail.ru*

Злокачественная глиома — агрессивное и летальное онкологическое заболевание, характеризующееся различными генетическими и эпигенетическими изменениями. В первую очередь эти изменения затрагивают гены, контролирующие клеточное деление, апоптоз, инвазивность, ангиогенез и клеточный метаболизм. Роль эпигенетических механизмов в злокачественной трансформации глиом, несмотря на достигнутый в последние годы прогресс, остается во многом неясной и интенсивно исследуется. В обзоре описываются основные механизмы эпигенетической регуляции активности генов — посттранскрипционные модификации гистонов, метилирование промоторной области ДНК и экспрессия микроРНК, рассматриваются особенности патогенеза глиом и возможное взаимодействие генетических и эпигенетических факторов в этом процессе, обсуждаются потенциальные эпигенетические мишени, которые могут быть использованы для диагностики и при разработке новых терапевтических подходов.

**Ключевые слова:** генетические особенности, глиома, эпигенетические изменения.

В последние годы произошел коренной перелом в нашем понимании изменений на генетическом, эпигенетическом и клеточном уровнях, регулирующих возникновение, развитие и инвазивность глиом. Известно, что злокачественный фенотип глиом — это результат дисфункции нескольких сигнальных путей. Гиперэкспрессия и амплификация онкогенов и инактивация генов, белковыми продуктами которых являются онкосупрессоры, приводят к злокачественной трансформации. Сегодня не вызывает сомнения факт, что существенная роль в этих процессах принадлежит эпигенетическим факторам. Эпигенетические нарушения могут появляться на самых ранних этапах канцерогенеза, изменяя характер генной экспрессии онкогенов и антионкогенов и в значительной степени влияя на геномную целостность и(или) хромосомную сегрегацию (Bannister, Kouzarides, 2011). Эпигенетические нарушения, так же как и генетические, отражают механизмы инициации опухолевого процесса и его прогрессию. При этом эпигенетические модификации могут влиять на канцерогенез как самостоятельно, так и в кооперации с генетическими механизмами. Более того, aberrантный эпигенетический профиль увеличивает риск приобретения дополнительных генетических дефектов (Gronbaek et al., 2007). Все это позволяет с уверенностью утверждать, что в онкологии наступила эра эпигенетики (Rutka et al., 2009).

Причины и последствия разнообразных эпигенетических изменений в злокачественной трансформации глиом, несмотря на достигнутый прогресс, остаются во многом неясными и являются предметом пристального внимания и интенсивного изучения. Идентификация эпигенетических детерминант исключительно важна не только для понимания молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе глиомогенеза, но и для диагностики и прогноза течения заболевания, оценки вероятности воз-

никновения рецидивов и анализа эффективности используемой терапии.

Именно этим проблемам посвящен представленный обзор, в котором приводятся основные эпигенетические маркеры патогенеза глиом, известные сегодня: нарушение статуса ДНК-метилирования, изменение «гистонового кода» и aberrантная экспрессия микроРНК. Кроме того, в работе обсуждаются потенциальные эпигенетические мишени, которые могут быть использованы как при разработке новых терапевтических подходов, так и для оптимизации уже существующих методов лечения.

### Генетические особенности глиом

Глиомы — широко распространенная и разнообразная группа опухолей головного мозга нейроэктодермального происхождения. Невозможность радикального хирургического удаления опухолей данного типа вследствие их глубокого прорастания в прилежащее вещество мозга и относительная устойчивость к химио- и радиотерапии позволяют отнести глиомы к разряду наиболее трудно излечиваемых злокачественных новообразований.

К основным типам глиом относят астроцитомы и глиобластомы (злокачественный аналог астроцитом), составляющие 60—70 % всех злокачественных первичных опухолей головного мозга, олигодендроглиомы (8—10 %) и смешанные глиомы.

По степени злокачественности в соответствии с классификацией глиальных опухолей Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) астроцитомы делятся следующим образом: I степень — пилоцитарная астроцитомы (ювенильная), субэпендимальная гигантоклеточная астроцитомы и плеоморфная ксантоастроцитомы; II степень — диффузная астроцитомы (фибрилярная, прото-

плазматическая и гемистоцитарная); III степень — анапластическая астроцитомы; IV степень — мультиформная глиобластома.

Мультиформная глиобластома — наиболее агрессивный тип глиом со средней продолжительностью жизни пациентов после установления диагноза не более 1 года. По данным некоторых авторов (Stewart, 2002; Ohgaki et al., 2004), только 42 % пациентов доживают до 6 мес в случае оперативного вмешательства и применения радио- и химиотерапии, 18 % живут около 1 года и 3 % — около 2 лет. Таким образом, несмотря на заметные успехи в клинической нейроонкологии, прогноз при глиобластоме остается плохим.

Считается, что приблизительно 70 % астроцитом эволюционируют в глиомы III и IV степеней злокачественности в течение 5—10 лет (Burgess et al., 2008).

Что касается олигодендроглиом, то различают собственно олигодендроглиомы (II степень злокачественности глиом) и анапластические олигодендроглиомы (III степень злокачественности глиом). Следует отметить, что в чистом виде олигодендроглиомы встречаются редко. В большинстве случаев они входят в состав смешанных глиом.

Детальный молекулярно-клеточный анализ глиом позволил идентифицировать многочисленные гены, играющие определяющую роль в их злокачественной трансформации. В частности, инактивация *RB*, *TP53*, *p16*, *CDK4/6* и некоторых других вызывает нарушение контроля клеточного цикла, приводящее к неконтролируемой клеточной пролиферации. Следствием амплификации и гиперэкспрессии генов, кодирующих рецепторы некоторых ростовых факторов, в том числе *EGFR*, *PDGFRA*, *FGFR* и *IGF-1R*, является активация сигнальных путей, в первую очередь Ras/MAPK-пути, регулирующего клеточную пролиферацию, и PI3K/Akt-пути, влияющего на клеточное деление, апоптоз, инвазивность, ангиогенез и клеточный метаболизм (Knobbe et al., 2002; Gonzalez, de Groot, 2008; Navis et al., 2010). Белок-онкосупрессор PTEN, нарушение функций которого приводит к aberrантной активации Akt, играет существенную биологическую роль в образовании и развитии глиобластом (Tunca et al., 2007; Cecener et al., 2009; Alexiou, Voulgaris, 2010; Kim et al., 2010; Navis et al., 2010).

Определены два субтипа глиобластом — первичная и вторичная. Первичная глиобластома, или глиобластома *de novo*, — вполне сформировавшаяся обширная опухоль с короткой клинической историей (в большинстве случаев менее 3 мес) и отсутствием каких-либо доказательств существования предшествующих изменений. Первичной глиобластомой, как правило, страдают люди пожилого возраста. Данный субтип глиобластом характеризуется потерей гетерозиготности (LOH) хромосомы 10q (70 %), амплификацией *EGFR*, делецией *p16* и мутациями *TP53* и *PTEN* с частотой 24—34 %. Вторичная глиобластома последовательно развивается из глиом более низких степеней (диффузной и анапластической астроцитомы) у более молодых пациентов (около 45 лет) и характеризуется высоким уровнем мутаций *TP53* (65 %) и LOH 10q (63 %) (Maher et al., 2001; Ohgaki et al., 2004).

Различные генетические изменения в первичных и вторичных глиобластомах отражаются в различных экспрессионных профилях. Ярко выраженная гиперэкспрессия *VEGF*, *Fas* (*APO-1/CD95*), *IGFB* и *MMP-9* встречается значительно чаще в первичных глиобластомах, чем во вторичных. В частности, гиперэкспрессия *MMP-9* зафик-

сирована в 69 % первичных и только в 14 % вторичных глиобластом (Choe et al., 2002; Godard et al., 2003; Ohgaki, Kleihues, 2007). Гиперэкспрессия *EGFR* и *mdm2* также более типична для первичных глиобластом (Watanabe et al., 1996; Biernat et al., 1997). С другой стороны, уровень экспрессии *ASCL1* существенно повышен в 86 % диффузных астроцитом и в 88 % вторичных глиобластом, в то время как в подавляющем большинстве первичных глиобластом (67 %) этот уровень совпадает или даже снижен по сравнению с уровнем нормальных клеток мозга (Somasundaram et al., 2005). Уникальными для первичных глиобластом являются ассоциированный с centrosомой белок CEP350 и энлаза 1, а для вторичных — ERCC6, DUOX2, HNPPA3, ADAMTS-19 и некоторые другие (Futura et al., 2004). Белок EGF-A чаще встречается в первичных, ростовой фактор АВ — во вторичных глиобластомах (Huang et al., 1997). Все эти данные свидетельствуют о том, что первичная и вторичная глиобластомы — существенно различающиеся с генетической точки зрения онкологические заболевания. Как будет следовать из дальнейшего рассмотрения, эпигенетические профили двух субтипов глиобластом также существенно различаются.

### Основные эпигенетические механизмы

Посттрансляционные модификации гистонов, метилирование промоторной области ДНК и экспрессия микроРНК — основные механизмы эпигенетической регуляции активности генов.

NH<sub>2</sub>-концевые области коровых гистонов — субстраты для многочисленных ковалентных модификаций, таких как ацетилирование, метилирование, фосфорилирование, убиквитилирование, сумоилирование, биотинилирование, АДФ-рибозилирование и др. Эти модификации влияют на структуру хроматина, изменяя взаимодействия между ДНК и гистонами, межнуклеосомные взаимодействия и взаимодействия между негистоновыми регуляторными белками и хроматином (Turner, 2005). Сегодня известно более 60 посттрансляционных модификаций гистонов. Набор специфических комбинаций гистоновых модификаций — так называемый гистоновый код — регулирует важнейшие клеточные процессы, связанные с ДНК, в том числе репликацию, репарацию, рекомбинацию, транскрипцию, а также конденсацию хроматина и ядерную организацию (Berger, 2007; Kouzarides, 2007; Li et al., 2007).

Ацетилирование лизинов и метилирование лизинов и аргининов — две наиболее хорошо изученные модификации, которые, как установлено, существенны для канцерогенеза. Эти модификации обратимы: известно несколько групп ферментов, катализирующих присоединение (ацетилтрансферазы и метилтрансферазы) или удаление (деацетилазы и деметилазы) этих функциональных групп. Ацетилирование связывают с транскрипционно-активным эухроматином, деацетилирование способствует образованию транскрипционно-инертных гетерохроматиновых структур. Метилирование гистонов может быть связано как с генной экспрессией, так и с транскрипционной инактивацией, в зависимости от типа гистонов, порядкового номера аминокислотных остатков, по которым происходит метилирование, и количества присоединенных метильных групп (Bhaumik et al., 2007). Различные модификации гистонов можно представить как буквы гистонового алфавита, из комбинаций которых

складываются слова с определенным биологическим значением.

Еще один важный эпигенетический маркер — метилирование ДНК. Метилирование ДНК — это ковалентное присоединение метильных групп к цитозинам динуклеотидов CpG. Процесс катализируется специфическими ферментами — ДНК-метилтрансферазами. У человека 50—70 % всех CpG-сайтов метилировано, преимущественно в гетерохроматиновых областях. Полагают, что эта модификация ДНК отрицательно влияет на генную экспрессию, блокируя связывание транскрипционных факторов и(или), напротив, способствуя присоединению белков, репрессирующих транскрипцию. Кроме того, с большой долей вероятности ДНК-метилирование существенно для регуляции хромосомной стабильности (Bird, 2002; Kanwal, Gupta, 2010). В областях эухроматина CpG-островки, как правило, не метилированы, что обеспечивает свободный доступ транскрипционным факторам и хроматинсвязывающим белкам к большинству генов «домашнего хозяйства» и некоторым другим регуляторным генам (Villa et al., 2004). CpG-островки — это участки ДНК размером 500—1000 пар оснований, в которых динуклеотиды CpG встречаются приблизительно в 5 раз чаще, чем в остальных областях генома. В раковых клетках различной природы глобальное гипометилирование сопровождается локальным гиперметилированием CpG-островков промоторных областей генов, которые в нормальных клетках, как правило, не метилированы. В первую очередь это относится к генам, белковыми продуктами которых являются онкосупрессоры (Baylin, Bestor, 2002; Jones, Baylin, 2002; van Noesel et al., 2003; Feinberg, 2004; Feinberg, Tycko, 2004; Laird, 2005).

Оба упомянутых механизма эпигенетической регуляции активности генов (ковалентные модификации гистонов и ДНК-метилирование) могут действовать кооперативно. Например, белок UHRF1 связывается с нуклеосомами, в которых гистон H3 модифицирован меткой транскрипционной инертности H3K9me3, и это взаимодействие значительно усиливается, если ДНК, накрученная на гистоновый октамер, метилирована. С другой стороны, метилированная ДНК может ингибировать взаимодействие хроматинсвязывающих белков с коровыми гистонами, маркированными специфическими модификациями. Так, белковый фактор KDM2A взаимодействует с нуклеосомами, обогащенными модификациями H3K9me3, только если ДНК не метилирована (Bannister, Kouzarides, 2011). Кроме того, показано, что метил-CpG-связывающие белки (MECP2, MBD1, MBD2, MBD3, MBD4 и Kaiso) могут при взаимодействии с метилированными цитозинами образовывать комплексы с гистоновыми деацетилазами, что в свою очередь способствует компактизации хроматина и инактивации транскрипции соответствующих генов (Kanwal, Gupta, 2010).

Наряду с ДНК-метилированием и посттрансляционными изменениями модификаций гистонов в эпигенетической регуляции генной экспрессии принимают участие так называемые микроРНК (miRNA), которые могут выполнять как онкосупрессорную функцию, снижая уровень экспрессии онкогенов, так и онкогенную, влияя на экспрессию генов, белковыми продуктами которых являются онкосупрессоры (Anguera et al., 2006; He et al., 2007; Costa, 2008; Gartel, Kandel, 2008). МикроРНК — некодирующие регуляторные РНК длиной 21—23 нуклеотида — играют важную роль в регуляции трансляции и деграда-

ции мРНК. При РНК-интерференции микроРНК (miRNA), находящиеся в комплексе с определенными белками, узнают и деградируют гомологичные мРНК (Stefani, Slack, 2008). При этом одна-единственная молекула микроРНК может взаимодействовать с большим числом транскриптов, кодирующих различные белки (Griffiths-Jones et al., 2008; Kanwal, Gupta, 2010). Известно, что в процессе канцерогенеза существенно изменяется экспрессионный профиль различных микроРНК (Calin, Croce, 2006; Esque-la-Kersch, Slack, 2006; Hammond, 2006; Gartel, Kandel, 2008; Kanwal, Gupta, 2010).

В последнее время появляется все больше данных, указывающих на то, что все вышеперечисленные механизмы эпигенетической регуляции активности генов могут действовать кооперативно, оказывая взаимно усиливающие эффекты. При этом существует определенная иерархическая последовательность эпигенетических изменений, приводящая к закреплению уже приобретенного признака, важного для злокачественной трансформации. Есть основания полагать, что в канцерогенезе ДНК-метилирование — вторичная эпигенетическая модификация, возникающая после изменений «гистоновой коды» (рост количества гистоновых маркеров инактивации транскрипции и деацетилирование гистонов в промоторных областях генов-супрессоров) (Bachman et al., 2003). А появление aberrантно экспрессирующихся микроРНК — еще более позднее событие, являющееся следствием изменения структуры хроматина посредством ковалентных модификаций гистонов и ДНК (Saito, Jones, 2006).

Многочисленные исследования последних лет свидетельствуют о важности эпигенетической регуляции генной экспрессии для патогенеза глиом. Более того, в одной из работ предполагается, что нарушение эпигенетических механизмов является основным дефектом глиомогенеза (Nagarajan, Costello, 2009).

### Роль ДНК-метилирования в патогенезе глиом

Как и в случае других онкологических заболеваний, наибольшее число исследований эпигенетических изменений в глиомах посвящено ДНК-метилированию. Сегодня не вызывает сомнения тот факт, что CpG-островки промоторных областей сотен генов гиперметилированы в астроцитомах и глиобластомах (Nagarajan, Costello, 2009). Именно по этому параметру идентифицировано значительное число генов-супрессоров, транскрипционно инактивированных в опухолях данного типа. С другой стороны, в ряде работ зафиксировано локус-специфическое снижение уровня ДНК-метилирования (ДНК-гипометилирование) в злокачественных глиомах (Gama-Sosa et al., 1983; Cadieux et al., 2006; Nagarajan, Costello, 2009). Установлено, что различные субтипы глиом демонстрируют определенный профиль ДНК-метилирования (Uhlmann et al., 2003).

ДНК-гипометилирование. Глобальное гипометилирование — явление, характерное главным образом для глиобластом de novo: в 80 % первичных глиобластом обнаружено ДНК-гипометилирование (Gama-Sosa et al., 1983; Cadieux et al., 2006). При этом степень метилирования существенно варьирует в различных опухолях: от уровней, близких к нормальным тканям мозга, до 50 % от нормы, что свидетельствует о деметилировании прибли-

зительно 10 млн CpG-сайтов на трансформированную клетку. Биологическая роль этих эпигенетических изменений в патогенезе глиом не вполне ясна, однако и повторяющиеся фрагменты ДНК (например, Sat2 и D4Z4), и локусы, представленные единственной копией (MAGEA1), могут быть гипометилированы в глиобlastомах. Предположительно следствием гипометилирования tandemных последовательностей ДНК в глиобlastомах мультиформных являются предрасположенность к хромосомным разрывам и изменение числа копий этих последовательностей (Yu et al., 2004; Cadieux et al., 2006; Fanelli et al., 2008; Nagarajan, Costello, 2009).

Гиперметилирование CpG-островков промоторных областей. Локус-специфическое гиперметилирование ДНК — достаточно частое событие в глиомогенезе. В глиобlastомах гиперметилирование CpG-островков характерно для генов с различными функциями, играющих важную роль в процессах возникновения и развития опухоли (регуляция клеточного цикла, ДНК-репарация, пролиферация, апоптоз, ангиогенез и инвазивность) (Nagarajan, Costello, 2009). В частности, в злокачественных глиомах нередко гиперметилированы промоторы генов *p16*, *RB*, *PTEN*, *TP53*, *p14*, *MGMT*, *EMP3*, *PCDH-γ-A11*, *SOCS1* и некоторые другие (Costello et al., 1996; Park et al., 2000; Nakamura et al., 2001b; Watanabe et al., 2001; Zardo et al., 2002; Baeza et al., 2003; Alaminos et al., 2005; Amatya et al., 2005; Hegi et al., 2005; Waha et al., 2005; Bello, Rey, 2006; Kunitz et al., 2007; Zhou et al., 2007). Эпигенетическая инактивация различных генов может служить показателем молекулярно-клеточных различий между первичными и вторичными глиобlastомами. В целом для вторичных глиобlastом характерна более высокая частота промоторного метилирования, чем для первичных (Ohgaki, Kleihues, 2007). Так, у вторичных глиобlastом значительно чаще, чем у первичных, встречается гиперметилирование промоторов генов *p14*, *p16*, *RBI*, *PTEN*, *MGMT* и *TIMP-3* (Ohgaki, Kleihues, 2007). В частности, в 74 % вторичных глиобlastом уровень белка p16 существенно снижен, в 77 % этих случаев обнаружены изменение структуры хроматина и ДНК-метилирование промоторной области *p16* (Costello et al., 1996; Park et al., 2000). Злокачественную прогрессию и сокращение времени жизни пациентов, страдающих астроцитомы, связывают с гиперметилированием промоторов гена *p14* (Watanabe et al., 2007). Гиперметилирование CpG-островков промоторной области проапоптотического гена каспазы 8 — также показатель плохого прогноза при вторичных глиобlastомах (Martinez et al., 2007a).

Белок PTEN считается специфическим молекулярным маркером патогенеза глиом (Tunca et al., 2007; Gonzalez, de Groot, 2008; Cecener et al., 2009; Alexiou, Voulgaris, 2010; Kim et al., 2010; Navis et al., 2010). Промотор *PTEN* обогащен CpG-островками, расположенными между нуклеотидами -2420 и -2211, -2113 и -1775, -1018 и -389, -372 и -155, что указывает на возможную роль ДНК-метилирования в регуляции генной транскрипции. Публикации последних лет подтверждают важность этих эпигенетических механизмов инактивации *PTEN* для злокачественной трансформации глиом (Knobbe et al., 2002; Wiencke et al., 2007; Gonzalez, de Groot, 2008; Muller et al., 2010). При этом авторы одного исследования делают смелое предположение о том, что предпочтительный фактор активации Akt в глиомах — подавление транскрипции *PTEN* с помощью метилирования промоторной области, а

не мутации *PTEN* (Wiencke et al., 2007). Действительно, у глиом низких степеней злокачественности и вторичных глиобlastом достаточно часто фиксируется гиперметилирование промоторных областей *PTEN* и как следствие — активация PI3K/Akt-сигнального пути, в то время как для первичных глиобlastом это более редкое явление (Wiencke et al., 2007). Эпигенетические нарушения экспрессии *PTEN* играют существенную роль в канцерогенезе олигодендроглиом (Kuo et al., 2009). В цитируемой работе из 49 исследованных олигодендроглиом в 21 опухоли (43 %) обнаружено промоторное метилирование *PTEN*, и этот показатель оказался весьма важным для продолжительности жизни.

Еще один пример эпигенетически модифицированного гена, характеризующего злокачественную прогрессию глиом, — ген эпителиального мембранного белка 3 (*EMP3*). Считается, что ДНК-метилирование промотора *EMP3* происходит уже на ранних стадиях развития астроцитом и рассматривается как неблагоприятный прогностический фактор (Alaminos et al., 2005). Гиперметилирование *EMP3* зафиксировано в 80 % анапластических и диффузных астроцитом и вторичных глиобlastом и только в 17 % первичных глиобlastом (Kunitz et al., 2007).

В 43 % первичных глиобlastом гиперметилированы CpG-островки гена *TMS1/ASC*, кодирующего белок, принимающий участие в регуляции апоптоза, активации NF-κB и созревании цитокинов. Предположительно это важные показатели глиомогенеза (Stone et al., 2004). При этом нередко у пациентов, страдающих глиобlastомами, ДНК-метилирование промотора *TMS1/ASC* совпадает с ДНК-метилированием промотора *MGMT* (Martinez et al., 2007b). Таким образом, различные эпигенетические маркеры кооперативно оказывают влияние на злокачественную трансформацию глиом.

Наконец, потеря экспрессии *MGMT*, вызванная метилированием CpG-островков, определена в 75 % вторичных глиобlastом и только в 36 % первичных (Nakamura et al., 2001a; Blanc et al., 2004). Белковый продукт этого гена принимает активное участие в ДНК-репарации, и, очевидно, подавление экспрессии *MGMT* увеличивает риск злокачественной трансформации. При этом большинство (92 %) астроцитом низких степеней злокачественности с метилированным *MGMT* содержит мутации *TP53* (против 39 % у астроцитом без метилированного *MGMT*). Более того, замены G : C на A : T в CpG-сайтах *TP53* с большей частотой встречаются в астроцитомах с метилированным *MGMT* (58 %) по сравнению с таковыми без метилированного *MGMT* (11 %) (Nakamura et al., 2001a). Эти находки указывают на взаимосвязь генетических и эпигенетических повреждений в глиомах. Таким образом, возможно, мутации *TP53* в этих случаях являются следствием эпигенетической инактивации *MGMT*.

Поэтому не случайно все чаще звучат утверждения о том, что эпимутации — это более ранние шаги в патогенезе глиом, чем собственно генетические мутации (Gronbaek et al., 2007; Wiencke et al., 2007).

По всей видимости, эпигенетические нарушения (в частности, гиперметилирование промоторных областей некоторых генов), возникающие уже на самых ранних этапах глиомогенеза, могут не только взаимодействовать между собой, усиливая неблагоприятные последствия приобретенных признаков, но и способствовать возникновению новых генетических повреждений.

### Изменения «гистонового кода» в глиомах

Изменение профиля посттрансляционных модификаций гистонов — также важный показатель молекулярной патологии глиом. Установлено, что общий уровень ацетилирования гистона H3 повышен в мультиформных глиобластомах (Lucio-Eterovic et al., 2008). В первую очередь это связано с aberrантным уровнем экспрессии некоторых гистоновых деацетилаз. В частности, количество мРНК гистоновых деацетилаз II (HDAC5, HDAC6, HDAC7, HDAC9 и HDAC10) и IV (HDAC11) классов существенно снижено в глиобластомах по сравнению с диффузными астроцитомами и нормальными клетками мозга (Lucio-Eterovic et al., 2008). В злокачественных глиомах зафиксировано заметное снижение экспрессии гистоновой деацетилазы III класса SIRT2 (Fraga, Esteller, 2007; Kanwal, Gupta, 2010; He et al., 2012). Зато в медуллобластомах уровень экспрессии гена гистоновой деацетилазы I класса (HDAC2) в несколько раз превышал таковой в нормальных тканях мозга (Rutka et al., 2009). Кроме того, в глиобластомах обнаружены мутации генов гистоновых деацетилаз I (HDAC2) и II (HDAC9) классов (Parsons et al., 2008). Зафиксировано несколько случаев aberrантной экспрессии и(или) мутаций генов, кодирующих другие гистонмодифицирующие энзимы в глиомах высокой степени злокачественности, в том числе гистоновых деметилаз JMJD1A и JMJD1B и гистоновых метилтрансфераз SET7, SETD7, MLL и MLL4 (Parsons et al., 2008). В диффузных и анапластических астроцитомах и глиобластомах изменено число копий гена *Bmi1*, белковый продукт которого является членом поликомб-групп комплекса, регулирующего метилирование H3K27 (Häyry et al., 2008). Делецию *Bmi1* связывают с плохим прогнозом у пациентов, страдающих глиобластомами.

Уже подчеркивалось, что снижение экспрессионного уровня *P TEN* коррелирует с процессами злокачественной трансформации глиом (Sano et al., 1999; Zhou et al., 2003; Johnston et al., 2006; Yakut et al., 2007; Cecener et al., 2009). В 60—70 % мультиформных глиобластом утрачена нормальная функция *P TEN* вследствие мутаций и эпигенетических нарушений, результатом чего являются злокачественные фенотипические изменения (Johnston et al., 2006). Недавно зафиксировано снижение или полное отсутствие экспрессии *P TEN* в абсолютном большинстве глиом (более 70 %) даже низких степеней злокачественности (I и II степени) (Cecener et al., 2009). Известно, что мутации *P TEN* сравнительно часто встречаются в мультиформных глиобластомах и значительно реже — в глиомах более низких степеней злокачественности. В частности, в цитируемой работе мутации *P TEN* обнаружены только в 7 % случаев. Таким образом, с большой вероятностью на уровень экспрессии *P TEN* в глиомах влияют именно эпигенетические механизмы.

Мы исследовали транскрипционную активность гена *P TEN* в ряде первичных культур глиом с помощью эпигенетических маркеров посттрансляционных модификаций гистона H3 — маркера транскрипционной инертности H3K9me3 и маркера активно транскрибируемого хроматина H3K4ac. Используя метод иммунопреципитации хроматина с дальнейшим ПЦР-анализом мы обнаружили наличие модификации H3K9me3 вблизи сайтов инициации транскрипции *P TEN* в большинстве (6 из 7) проанализированных злокачественных глиом. При этом в данной области гена *P TEN* зафиксировано деацетилиро-

вание гистона H3 (отсутствие модификации H3K4ac). Полученные результаты свидетельствуют о подавлении транскрипционной активности антионкогена *P TEN* в абсолютном большинстве глиом посредством эпигенетического механизма регуляции экспрессии — измененного «гистонового кода» (Семенова и др., 2012).

Как уже упоминалось, характерное для вторичных глиобластом событие — ДНК-метилирование промотора гена *MGMT* (обнаружено приблизительно в 70 % случаев) (Nakamura et al., 2001a; Blanc et al., 2004). Кроме того, в промоторной области *MGMT* дополнительно обнаружены еще два эпигенетических маркера подавления транскрипционной активности — H3K9me2 и деацетилирование гистона H3, т. е., по всей видимости, несколько эпигенетических механизмов действует кооперативно для инактивации *MGMT* в глиобластомах (Nakagawachi et al., 2003). Учитывая важную роль гена *MGMT* для ДНК-репарации и, как следствие, рост числа мутаций при его инактивации, неудивительно, что такие эпигенетические нарушения рассматриваются как биомаркеры плохого прогноза для пациентов (Komine et al., 2003).

### Аберрантная экспрессия микроРНК в глиомах

Посттрансляционные модификации гистонов и метилирование промоторной области ДНК — два теперь уже классических эпигенетических механизма регуляции структуры хроматина и генной экспрессии. В последнее время стало очевидно, что некодирующие молекулы РНК — микроРНК (miRNA) — также выполняют эти функции в нормальных и опухолевых клетках, координируя важнейшие клеточные процессы, такие как дифференцировка, пролиферация и апоптоз (Bartel, 2004). Имеются многочисленные указания на нарушение экспрессии микроРНК при злокачественной трансформации (Calin, Croce, 2006; Esquela-Kerscher, Slack, 2006; Hammond, 2006).

В злокачественных глиомах также определено несколько aberrантно экспрессирующихся микроРНК (Nicoloso, Calin, 2008). В частности, для первичных глиобластом характерна гиперэкспрессия miR-221, в то время как уровень miR-128, miR-181a, miR-181b и miR-181c — микроРНК, активно экспрессирующихся в нормальных тканях мозга, — существенно снижен (Ciafre et al., 2005; Godlewski et al., 2008). Уровень miR-124 и miR-137 снижен не только в первичных глиобластомах, но и в анапластических астроцитомах, что, по всей видимости, указывает на их онкосупрессорную роль в опухолях данного типа (Silber et al., 2008). Считается, что функционально эти микроРНК ингибируют клеточную пролиферацию в глиобластомах. Экспрессия miR-124 снижена также в медуллобластомах, при этом искусственное увеличение количества этих микроРНК в клеточных линиях приводило к снижению экспрессии онкогена *CDK6* и замедлению пролиферации (Pierson et al., 2008).

Еще одна некодирующая РНК — miR-21 — несет антиапоптотическую и проинвазивную функции в биологии глиом (Chan et al., 2005; Nagarajan, Costello, 2009). Кроме того, возможно, miR-21 регулирует гены, вовлеченные в процессы миграции клеток (Gabriely et al., 2008). Уровень miR-21 существенно выше в глиобластомах и клеточных линиях глиобластом по сравнению с нормальными клетками мозга. В ряде работ показано, что ингибирование

miR-21 в клеточных линиях глиобластом вызывает активацию каспаз и как следствие индукцию апоптоза (Chan et al., 2005; Corsten et al., 2007).

Как уже упоминалось, уровень miR-128 значительно снижен в первичных глиобластомах. Недостаток miR-128 отрицательно сказывается на контроле клеточного деления. Предполагается, что в этих опухолях miR-128 выполняет роль онкосупрессора, репрессирующего онкоген *Bmi1* (Godlewski et al., 2008).

### Эпигенетическая терапия

Как следует из всего вышесказанного, эпигенетические изменения существенны для возникновения и злокачественной трансформации глиом. Следует отметить, что приведенные в обзоре эпигенетические нарушения не являются специфической отличительной чертой глиомогенеза, но характерны для процессов развития различных типов раков. Поэтому дальнейшее изучение эпигенетических механизмов будет способствовать лучшему пониманию биологии канцерогенеза в целом, позволит идентифицировать новые эпигенетические детерминанты патогенеза глиом и определить новые молекулярные мишени для лекарственной терапии. Анализ эпигенетических модификаций представляет огромный практический интерес, поскольку такие нарушения, как ДНК-гиперметилирование и измененный «гистоновый код», в отличие от генетических мутаций, по всей видимости, носят обратимый характер (Jones, Yoo, 2006). Теоретически эпимутации могут быть ликвидированы, а нормальные функции генома восстановлены с помощью специфических лекарственных препаратов и, возможно, определенных диет. Поэтому весьма перспективным направлением представляется разработка эпигенетической лекарственной терапии. Главным препятствием на пути решения этой задачи остается недостаток наших знаний о специфических молекулярных мишенях. В последние несколько лет заметно активизировались поиски потенциальных эпигенетических маркеров aberrантных сигнальных путей в глиобластомах для оптимизации уже существующих методов лечения и развития новых терапевтических подходов (Ohgaki, Kleihues, 2007). Большой интерес в этой связи вызывают поиски ингибиторов гистоновых деацетилаз и метилтрансфераз с целью восстановления транскрипционной активности генов, белковыми продуктами которых являются онкосупрессоры и регуляторы клеточного цикла (Minucci, Pelicci, 2006; Yoo, Jones, 2006).

В настоящее время наиболее перспективными для внедрения в клиническую практику лечения глиобластом считаются такие ингибиторы гистоновых деацетилаз, как SAHA (вориностат), TSA (трихостатин А) и бутираты (бутират натрия, препарат AN-9, VPA — вальпроевая кислота и некоторые другие производные масляной кислоты, эффективно действующие в нетоксичных миллимолярных концентрациях) (Sawa et al., 2002; Haggarty et al., 2003; Ugur et al., 2007; Yin et al., 2007; Burgess et al., 2008; Egler et al., 2008; Guo et al., 2011). Полагают, что ингибиторы гистоновых деацетилаз способствуют реэкспрессии генов, эпигенетически инактивированных в злокачественных глиомах, что в свою очередь приводит к необратимому блоку клеточного цикла и индукции апоптоза с помощью ДНК-повреждающих агентов (Sathornsumetee et al., 2007). Хотя механизм действия каждого конкретного ингибитора не вполне понятен, очевидно, что все они

способствуют формированию менее конденсированных структур хроматина, облегчая доступ ДНК-повреждающих агентов и увеличивая чувствительность к радио- и химиотерапии. При этом известно, что нормальные клетки более устойчивы к действию ингибиторов гистоновых деацетилаз по сравнению с трансформированными (Qiu et al., 1999; Lee et al., 2010). К сожалению, причины такой селективной чувствительности непонятны. Предполагается, что структуры хроматина в областях локализации эпигенетически инактивированных генов более доступны для лекарственных препаратов, следовательно, функции таких генов должны восстанавливаться значительно легче (меньшими лекарственными дозами) по сравнению с генами, транскрипционно-неактивными в соответствии с генетической программой нормального функционирования клетки.

Препарат SAHA — производное гидроксамовой кислоты — успешно применялся *in vitro* и *in vivo*. Эффективен при лечении глиом различной степени злокачественности, в том числе и глиобластом (Galanis et al., 1998; Ugur et al., 2007). Установлено, что данный ингибитор блокирует продвижение клеток по циклу, индуцирует апоптоз и вызывает существенное замедление опухолевого роста. К сожалению, молекулярные мишени этого ингибитора гистоновых деацетилаз пока не определены (Euyüoglu et al., 2005; Ugur et al., 2007; Yin et al., 2007).

Бутират натрия — соль жирной кислоты с короткой цепью — является ингибитором деацетилаз I и II классов. Комбинированное использование бутирата натрия с некоторыми другими протопухолевыми агентами приводит к синергетическому эффекту, активируя программу апоптоза и вызывая остановку клеточного цикла в клетках глиом (Haggarty et al., 2003; Kim et al., 2005; Guo et al., 2011). В частности, стратегия, основанная на применении бутирата натрия и TRIAL *in vitro*, усиливает уровень экспрессии *p21*, одновременно существенно снижая уровень таких белков, как циклин А и циклин В, и двух основных ингибиторов каспаз — XIAP и сурвивин (Kim et al., 2005). Предположительно одним из решающих факторов, приводящих к блоку клеточного цикла в опухолевых клетках под действием бутирата натрия, является усиление транскрипционной активности гена *TP53* (Букреева и др., 2009; Guo et al., 2011).

Новый ингибитор гистоновых деацетилаз MS275 способствует активации программы апоптоза в клетках глиобластомы, значительно увеличивая чувствительность к противоопухолевым препаратам (Bangert et al., 2011). Еще один новый ингибитор гистоновых деацетилаз с противоопухолевой активностью назван NBM-HD-1. В экспериментах на клеточных линиях (в том числе глиом) было показано, что применение этого препарата в нетоксичных миллимолярных концентрациях приводит к значительному росту экспрессии таких генов, как *TP53* и *p21* (Huang et al., 2012).

На клеточных линиях глиобластом и в экспериментах с лабораторными животными было показано, что FK228 вызывает апоптоз и супрессирует клеточную пролиферацию, увеличивая экспрессию генов, кодирующих белки регуляции клеточного цикла, в первую очередь *p21* (Sawa et al., 2004).

Несомненный практический интерес представляют поиски ингибиторов гистоновых метилтрансфераз и деметилаз, так как по сравнению с гистоновыми деацетилазами эти ферменты обладают большей селективностью и, по всей видимости, будут более специфичны, поскольку

воздействуют на строго определенные модификации ко-ровых гистонов. К сожалению, в литературе практически отсутствуют данные о применении для лечения глиобла-стом таких препаратов. Одним из кандидатов на эту роль может быть DZNeP (S-adenosylhomocysteine hydrolase inhibitor 3-Deazaneplanocin A). По предварительным дан-ным, DZNeP ингибирует ковалентное присоединение к гистону H3 модификации H3K27me3, являющейся эпиге-нетическим маркером подавления транскрипционной ак-тивности генов, и, следовательно, способствует восста-новлению нормальной экспрессии антионкогенов (Tan et al., 2007).

## Выводы

Анализ эпигенетических изменений генной экспрес-сии исключительно важен для понимания процессов зло-качественной трансформации вообще и глиомогенеза в частности. По-видимому, дальнейшее движение в этом направлении лежит в плоскости идентификации и по-дробного описания всех значимых эпигенетических изме-нений, приводящих к возникновению и развитию кон-кретного онкологического заболевания, и поиска ключе-вых молекулярных мишеней для эффективной лекарственной терапии. От этого в значительной степени будет зависеть успех при лечении такого смертельного заболевания, как злокачественная глиома.

## Список литературы

- Букреева Е. И., Аксенов Н. Д., Бардин А. А., Поспелов В. А., Поспелова Т. В. 2009. Действие ингибитора гистоновых деацетилаз на трансформанты E1A + cHa-Ras, экспрессирующие p53 дикого типа с подавленной трансктивирующей активностью. Цитология. 51 (8) : 697—705.
- Семенова Е. В., Волницкий А. В., Филатов М. В. 2012. Гис-тоновый код и эпигенетическая регуляция гена PTEN в злокаче-ственных глиомах. Сиб. онкол. журнал. 51 (3) : 74—78
- Alaminos M., Dávalos V., Ropero S., Setién F., Paz M. F., Herranz M., Fraga M. F., Mora J., Cheung N. K., Gerald W. L., Esteller M. 2005. EMP3, a myelin-related gene located in the criti- cal 19q13.3 region, is epigenetically silenced and exhibits features of a candidate tumor suppressor in glioma and neuroblastoma. Can- cer Res. 65 : 2565—2571.
- Alexiou G. A., Voulgaris S. 2010. The role of the PTEN gene in malignant gliomas. Neurol. Neurochir. Pol. 44 : 80—86.
- Amatya V. J., Naumann U., Weller M., Ohgaki H. 2005. TP53 promoter methylation in human gliomas. Acta Neuropathol. 110 : 178—184.
- Anguera M. C., Sun B. K., Xu N., Lee J. T. 2006. X-chromo- some kiss and tell: how the Xs go their separate ways. Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 71 : 429—437.
- Bachman K. E., Park B. H., Rhee I., Rajagopalan H., Her- man J. G., Baylin S. B., Kinzler K. W., Vogelstein B. 2003. Histone modifications and silencing prior to DNA methylation of a tumor suppressor gene. Cancer Cell. 3 : 89—95.
- Baeza N., Weller M., Yonekawa Y., Kleihues P., Ohgaki H. 2003. PTEN methylation and expression in glioblastomas. Acta Neuropathol. 106 : 479—485.
- Bangert A., Häcker S., Cristofanon S., Debatin K. M., Ful- da S. 2011. Chemosensitization of glioblastoma cells by the his- tone deacetylase inhibitor MS275. Anticancer Drugs. 22 : 494—499.
- Bannister A. J., Kouzarides T. 2011. Regulation of chromatin by histone modifications. Cell Res. 21 : 381—395.
- Bartel D. P. 2004. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mecha- nism, and function. Cell. 116 : 281—297.
- Baylin S., Bestor T. H. 2002. Altered methylation patterns in cancer cell genomes: cause or consequence? Cancer Cell. 1 : 299—305.
- Bello M. J., Rey J. A. 2006. The p53/Mdm2/p14ARF cell cycle control pathway genes may be inactivated by genetic and epigenetic mechanisms in gliomas. Cancer Genet. Cytogenet. 164 : 172—173.
- Berger S. L. 2007. The complex language of chromatin regula- tion during transcription. Nature. 447 : 407—412.
- Bhaumik S. R., Smith E., Shilatifard A. 2007. Covalent modifi- cations of histones during development and disease pathogenesis. Nat. Struct. Mol. Biol. 14 : 1008—1016.
- Biernat W., Kleihues P., Yonekawa Y., Ohgaki H. 1997. Amp- lification and overexpression of MDM2 in primary (de novo) gliob- lastomas. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 56 : 180—185.
- Bird A. 2002. DNA methylation patterns and epigenetic me- mory. Genes Develop. 16 : 6—21.
- Blanc J. L., Wager M., Guilhot J., Kusy S., Bataille B., Chante- reau T., Lapiere F., Larsen C. J., Karayan-Tapon L. 2004. Corre- lation of clinical features and methylation status of MGMT gene promoter in glioblastomas. J. Neurooncol. 68 : 275—283.
- Burgess R., Jenkins R., Zhang Z. 2008. Epigenetic changes in gliomas. Cancer Biol. Ther. 7 : 1326—1334.
- Cadiex B., Ching T. T., VandenBerg S. R., Costello J. F. 2006. Genome-wide hypomethylation in human glioblastomas as- sociated with specific copy number alteration, methylenetetrahy- drofolate reductase allele status, and increased proliferation. Cancer Res. 66 : 8469—8476.
- Calin G. A., Croce C. M. 2006. MicroRNA signatures in hu- man cancers. Nat. Rev. Cancer. 6 : 857—866.
- Cecener G., Tunca B., Egeli U., Bekar A., Guler G., Vatan O., Tolunay S. 2009. Investigation of MMAC/PTEN gene mutations and protein expression in low grade gliomas. Cell Mol. Neurobiol. 29 : 733—738.
- Chan J. A., Krichevsky A. M., Kosik K. S. 2005. MicroRNA-21 is an antiapoptotic factor in human glioblastoma cells. Cancer Res. 65 : 6029—6033.
- Choe G., Park J. K., Jouben-Steele L., Kremen T. J., Liau L. M., Vinters H. V., Cloughesy T. F., Mischel P. S. 2002. Ac- tive matrix metalloproteinase 9 expression is associated with pri- mary glioblastoma subtype. Clin. Cancer Res. 8 : 2894—2901.
- Ciafrè S. A., Galardi S., Mangiola A., Ferracin M., Liu C. G., Sabatino G., Negrini M., Maira G., Croce C. M., Farace M. G. 2005. Extensive modulation of a set of microRNAs in primary glioblastoma. Biochem. Biophys. Res. Commun. 334 : 1351—1358.
- Corsten M. F., Miranda R., Kasmieh R., Krichevsky A. M., Weissleder R., Shah K. 2007. MicroRNA-21 knockdown disrupts glioma growth *in vivo* and displays synergistic cytotoxicity with neural precursor cell delivered S-TRAIL in human gliomas. Cancer Res. 67 : 8994—9000.
- Costa F. F. 2008. Non-coding RNAs, epigenetics and comple- xity. Gene. 410 : 9—17.
- Costello J. F., Berger M. S., Huang H. S., Cavenee W. K. 1996. Silencing of p16/CDKN2 expression in human gliomas by methylation and chromatin condensation. Cancer Res. 56 : 2405—2410.
- Egler V., Korur S., Faily M., Boulay J. L., Imber R., Li- no M. M., Merlo A. 2008. Histone deacetylase inhibition and bloc- kade of the glycolytic pathway synergistically induce glioblastoma cell death. Clin. Cancer Res. 14 : 3132—3140.
- Esquela-Kerscher A., Slack F. J. 2006. Oncomirs — microRNAs with a role in cancer. Nat. Rev. Cancer. 6 : 259—269.
- Eyüpoglu I. Y., Hahnen E., Buslei R., Stebzehrübl F. A., Sa- vaskan N. E., Lüders M., Tränkle C., Wick W., Weller M., Fahl- busch R., Blümcke I. 2005. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) has potent anti-glioma properties *in vitro*, *ex vivo* and *in vivo*. J. Neurochem. 93 : 992—999.
- Fanelli M., Caprodossi S., Ricci-Vitiani L., Porcellini A., To- massoni-Ardori F., Amatori S., Andreoni F., Magnani M., De Ma- ria R., Santoni A., Minucci S., Pelicci P. G. 2008. Loss of pericen- tomeric DNA methylation pattern in human glioblastoma is associ-

- ated with altered DNA methyltransferases expression and involves the stem cell compartment. *Oncogene*. 27 : 358—365.
- Feinberg A. P. 2004. The epigenetics of cancer etiology. *Semin. Cancer Biol.* 14 : 427—432.
- Feinberg A. P., Tycko B. 2004. The history of cancer epigenetics. *Nat. Rev. Cancer*. 4 : 143—153.
- Fraga M. F., Esteller M. 2007. Epigenetics and aging: the targets and the marks. *Trends Genet.* 23 : 413—418.
- Furuta M., Weil R. J., Vortmeyer A. O., Huang S., Lei J., Huang T. N., Lee Y. S., Bhowmick D. A., Lubensky I. A., Oldfield E. H., Zhuang Z. 2004. Protein patterns and proteins that identify subtypes of glioblastoma multiforme. *Oncogene*. 23 : 6806—6814.
- Gabrieli G., Wurdinger T., Kesari S., Esau C. C., Burchard J., Linsley P. S., Krichevsky A. M. 2008. MicroRNA 21 promotes glioma invasion by targeting matrix metalloproteinase regulators. *Mol. Cell. Biol.* 28 : 5369—5380.
- Galanis E., Buckner J. C., Burch P. A., Schaefer P. L., Dinapoli R. P., Novotny P. J., Scheithauer B. W., Rowland K. M., Vukov A. M., Mailliard J. A., Morton R. F. 1998. Phase II trial of nitrogen mustard, vincristine, and procarbazine in patients with recurrent glioma: North Central Cancer Treatment Group results. *J. Clin. Oncol.* 16 : 2953—2958.
- Gama-Sosa M. A., Slagel V. A., Trewyn R. W., Oxenhandler R., Kuo K. C., Gehrke C. W., Ehrlich M. 1983. The 5-methylcytosine content of DNA from human tumors. *Nucleic Acids Res.* 11 : 6883—6894.
- Gartel A. L., Kandel E. S. 2008. miRNAs: Little known mediators of oncogenesis. *Semin. Cancer Biol.* 18 : 103—110.
- Godard S., Getz G., Delorenzi M., Farmer P., Kobayashi H., Desbaillets I., Nozaki M., Diserens A. C., Hamou M. F., Dietrich P. Y., Regli L., Janzer R. C., Bucher P., Stupp R., de Tribolet N., Domany E., Hegi M. E. 2003. Classification of human astrocytic gliomas on the basis of gene expression: a correlated group of genes with angiogenic activity emerges as a strong predictor of subtypes. *Cancer Res.* 63 : 6613—6625.
- Godlewski J., Nowicki M. O., Bronisz A., Williams S., Otsuki A., Nuovo G., Raychaudhury A., Newton H. B., Chiocca E. A., Lawler S. 2008. Targeting of the Bmi-1 oncogene/stem cell renewal factor by microRNA-128 inhibits glioma proliferation and self-renewal. *Cancer Res.* 68 : 9125—9130.
- Gonzalez J., de Groot J. 2008. Combination therapy for malignant glioma based on PTEN status. *Exp. Rev. Anticancer Ther.* 8 : 1767—1779.
- Griffiths-Jones S., Saini H. K., van Dongen S., Enright A. J. 2008. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res.* 36 : D154—D158.
- Gronbaek K., Hother C., Jones P. A. 2007. Epigenetic changes in cancer. *APMIS*. 115 : 1039—1059.
- Guo H., Choudhury Y., Yang J., Chen C., Tay F. C., Lim T. M., Wang S. 2011. Antiglioma effects of combined use of a baculoviral vector expressing wild-type p53 and sodium butyrate. *J. Gene Med.* 13 : 26—36.
- Haggarty S. J., Koeller K. M., Wong J. C., Grozinger C. M., Schreiber S. L. 2003. Domain-selective small-molecule inhibitor of histone deacetylase 6 (HDAC6)-mediated tubulin deacetylation. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 100 : 4389—4394.
- Hammond S. M. 2006. MicroRNAs as oncogenes. *Curr. Opin. Genet. Develop.* 16 : 4—9.
- Häyry V., Tanner M., Blom T., Tynninen O., Roselli A., Ollikainen M., Sariola H., Wartiovaara K., Nupponen N. N. 2008. Copy number alterations of the polycomb gene BMI1 in gliomas. *Acta Neuropathol.* 116 : 97—102.
- He L., He X., Lowe S. W., Hannon G. J. 2007. MicroRNAs join the p53 network — another piece in the tumour-suppression puzzle. *Nat. Rev. Cancer*. 7 : 819—822.
- He X., Nie H., Hong Y., Sheng C., Xia W., Ying W. 2012. SIRT2 activity is required for the survival of C6 glioma cells. *Biophys. Res. Commun.* 417 : 468—472.
- Hegi M. E., Diserens A. C., Gorlia T., Hamou M. F., de Tribolet N., Weller M., Kros J. M., Hainfellner J. A., Mason W., Mariani L., Bromberg J. E., Hau P., Mirimanoff R. O., Cairncross J. G., Janzer R. C., Stupp R. 2005. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* 352 : 997—1003.
- Huang H. S., Nagane M., Klingbeil C. K., Lin H., Nishikawa R., Ji X. D., Huang C. M., Gill G. N., Wiley H. S., Cavenee W. K. 1997. The enhanced tumorigenic activity of a mutant epidermal growth factor receptor common in human cancers is mediated by threshold levels of constitutive tyrosine phosphorylation and unattenuated signaling. *J. Biol. Chem.* 272 : 2927—2935.
- Huang W. J., Liang Y. C., Chuang S. E., Chi L. L., Lee C. Y., Lin C. W., Chen A. L., Huang J. S., Chiu C. J., Lee C. F., Huang C. Y., Chen C. N. 2012. NBM-HD-1 : A novel histone deacetylase inhibitor with anticancer activity. *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 781 : 417—428.
- Johnston J. B., Navaratnam S., Pitz M. W., Maniate J. M., Wietchec E., Baust H., Gingerich J., Skliris G. P., Murphy L. C., Los M. 2006. Targeting the EGFR pathway for cancer therapy. *Curr. Med. Chem.* 13 : 483—492.
- Jones P. A., Baylin S. B. 2002. The fundamental role of epigenetic events in cancer. *Nat. Rev. Genet.* 3 : 415—428.
- Jones P. A., Yoo C. B. 2006. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5 : 37—50.
- Kanwal R., Gupta S. 2010. Epigenetics and cancer. *J. Appl. Physiol.* 109 : 598—605.
- Kim B., Myung J. K., Seo J. H., Park C. K., Paek S. H., Kim D. G., Jung H. W., Park S. H. 2010. The clinicopathologic values of the molecules associated with the main pathogenesis of the glioblastoma. *J. Neurol. Sci.* 294 : 112—118.
- Kim E. H., Kim H. S., Kim S. U., Noh E. J., Lee J. S., Choi K. S. 2005. Sodium butyrate sensitizes human glioma cells to TRAIL-mediated apoptosis through inhibition of Cdc2 and the subsequent downregulation of survivin and XIAP. *Oncogene*. 24 : 6877—6889.
- Knobbe C. B., Merlo A., Reifenberger G. 2002. Pten signaling in gliomas. *Neurooncology*. 4 : 196—211.
- Komine C., Watanabe T., Katayama Y., Yoshino A., Yokoyama T., Fukushima T. 2003. Promoter hypermethylation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase is an independent predictor of shortened progression free survival in patients with low-grade diffuse astrocytomas. *Brain Pathol.* 13 : 176—184.
- Kouzarides T. 2007. Chromatin modifications and their function. *Cell*. 128 : 693—705.
- Kunitz A., Wolter M., van den Boom J., Felsberg J., Tews B., Hahn M., Benner A., Sabel M., Lichter P., Reifenberger G., von Deimling A., Hartmann C. 2007. DNA hypermethylation and aberrant expression of the EMP3 gene at 19q13.3 in Human Gliomas. *Brain Pathol.* 17 : 363—370.
- Kuo L. T., Kuo K. T., Lee M. J., Wei C. C., Scaravilli F., Tsai J. C., Tseng H. M., Kuo M. F., Tu Y. K. 2009. Correlation among pathology, genetic and epigenetic profiles and clinical outcome in oligodendroglial tumors. *IJC*. 124 : 2872—2879.
- Laird P. W. 2005. Cancer epigenetics. *Hum. Mol. Genet.* 14 (Spec. № 1) : R65—R76.
- Lee J. H., Choy M. L., Ngo L., Foster S. S., Marks P. A. 2010. Histone deacetylase inhibitor induces DNA damage, which normal but not transformed cells can repair. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 107 : 14 639—14 644.
- Li B., Carey M., Workman J. L. 2007. The role of chromatin during transcription. *Cell*. 128 : 707—719.
- Lim L. P., Lau N. C., Garrett-Engle P., Grimson A., Schelter J. M., Castle J., Bartel D. P., Linsley P. S., Johnson J. M. 2005. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature*. 433 : 769—773.
- Lucio-Eterovic A. K., Cortez M. A., Valera E. T., Motta F. J., Queiroz R. G., Machado H. R., Carlotti C. G., Jr., Neder L., Scrideli C. A., Tone L. G. 2008. Differential expression of 12 histone deacetylase (HDAC) genes in astrocytomas and normal brain tissue: class II and IV are hypoexpressed in glioblastomas. *BMC Cancer*. 8 : 243—253.
- Maher E. A., Furnari F. B., Bachoo R. M., Rowitch D. H., Louis D. N., Cavenee W. K., DePinho R. A. 2001. Malignant glioma

ma: genetics and biology of a grave matter. *Genes Develop.* 15 : 1311—1333.

Martinez R., Schackert G., Esteller M. 2007a. Hypermethylation of the proapoptotic gene TMS1/ASC: prognostic importance in glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 82 : 133—139.

Martinez R., Setien F., Voelter C., Casado S., Quesada M. P., Schackert G., Esteller M. 2007b. CpG island promoter hypermethylation of the pro-apoptotic gene caspase-8 is a common hallmark of relapsed glioblastoma multiforme. *Carcinogenesis.* 28 : 1264—1268.

Minucci S., Pelicci P. G. 2006. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat. Rev. Cancer.* 6 : 38—51.

Müller I., Wischnewski F., Pantel K., Schwarzenbach H. 2010. Promoter- and cell-specific epigenetic regulation of CD44, Cyclin D2, GLIPR1 and PTEN by methyl-CpG binding proteins and histone modifications. *BMC Cancer.* 10 : 297.

Nagarajan R. P., Costello J. F. 2009. Epigenetic mechanisms in glioblastoma multiforme. *Semin. Cancer Biol.* 19 : 188—197.

Nakagawachi T., Soejima H., Urano T., Zhao W., Higashimoto K., Satoh Y., Matsukura S., Kudo S., Kitajima Y., Harada H., Furukawa K., Matsuzaki H., Emi M., Nakabeppu Y., Miyazaki K., Sekiguchi M., Mukai T. 2003. Silencing effect of CpG island hypermethylation and histone modifications on O6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene expression in human cancer. *Oncogene.* 22 : 8835—8844.

Nakamura M., Watanabe T., Yonekawa Y., Kleihues P., Ohgaki H. 2001a. Promoter hypermethylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G : C → A : T mutations of the TP53 tumor suppressor gene. *Carcinogenesis.* 22 : 1715—1719.

Nakamura M., Yonekawa Y., Kleihues P., Ohgaki H. 2001b. Promoter hypermethylation of the RB1 gene in glioblastomas. *Lab. Invest.* 81 : 77—82.

Navis A. C., van den Eijnden M., Schepens J. T., Hooft van Huijsduijnen R., Wesseling P., Hendriks W. J. 2010. Protein tyrosine phosphatases in glioma biology. *Acta Neuropathol.* 119 : 157—175.

Nicoloso M. S., Calin G. A. 2008. MicroRNA involvement in brain tumors: from bench to bedside. *Brain Pathol.* 18 : 122—129.

Noesel M. M., van, van Bezouw S., Voûte P. A., Herman J. G., Pieters R., Versteeg R. 2003. Clustering of hypermethylated genes in neuroblastoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 38 : 226—233.

Ohgaki H., Dessen P., Jourde B., Horstmann S., Nishikawa T., Di Patre P. L., Burkhard C., Schüller D., Probst-Hensch N. M., Maiorka P. C., Baeza N., Pisani P., Yonekawa Y., Yasargil M. G., Lutolf U. M., Kleihues P. 2004. Pathways to glioblastoma: a population based study on incidence, survival rates, and genetic alterations. *Cancer Res.* 64 : 6892—6899.

Ohgaki H., Kleihues P. 2007. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Amer. J. Pathol.* 170 : 1445—1453.

Park S. H., Jung K. C., Ro J. Y., Kang G. H., Khang S. K. 2000. 5' CpG island methylation of p16 is associated with absence of p16 expression in glioblastomas. *J. Korean Med. Sci.* 15 : 555—559.

Parsons D. W., Jones S., Zhang X., Lin J. C., Leary R. J., Angenendt P., Mankoo P., Carter H., Siu I. M., Gallia G. L., Olivi A., McLendon R., Rasheed B. A., Keir S., Nikolskaya T., Nikolsky Y., Busam D. A., Tekleab H., Diaz L. A., Jr., Hartigan J., Smith D. R., Strausberg R. L., Marie S. K., Shinjo S. M., Yan H., Riggins G. J., Bigner D. D., Karchin R., Papadopoulos N., Parmigiani G., Vogelstein B., Velculescu V. E., Kinzler K. W. 2008. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science.* 321 : 1807—1812.

Pierson J., Hostager B., Fan R., Vibhakar R. 2008. Regulation of cyclin dependent kinase 6 by microRNA 124 in medulloblastoma. *J. Neurooncol.* 90 : 1—7.

Qiu L., Kelso M. J., Hansen C., West M. L., Fairlie D. P., Parsons P. G. 1999. Anti-tumour activity *in vitro* and *in vivo* of selective differentiating agents containing hydroxamate. *Br. J. Cancer.* 80 : 1252—1258.

Rutka J. T., Kongkham P., Northcott P., Carlotti C., Guduk M., Osawa H., Moreno O., Seol H. J., Restrepo A., Weeks A., Nagai S., Smith C. 2009. The evolution and application of techniques in molecular biology to human brain tumors: a 25 year perspective. *J. Neurooncol.* 92 : 261—273.

Saito Y., Jones P. A. 2006. Epigenetic activation of tumor suppressor microRNAs in human cancer cells. *Cell Cycle.* 5 : 2220—2222.

Sano T., Lin H., Chen X., Langford L. A., Koul D., Bondy M. L., Hess K. R., Myers J. N., Hong Y. K., Yung W. K., Steck P. A. 1999. Differential expression of MMAC/PTEN in glioblastoma multiforme: relationship to localization and prognosis. *Cancer Res.* 59 : 1820—1824.

Sathornsumetee S., Reardon D. A., Desjardins A., Quinn J. A., Vredenburgh J. J., Rich J. N. 2007. Molecularly targeted therapy for malignant glioma. *Cancer.* 110 : 13—24.

Sawa H., Murakami H., Kumagai M., Nakasato M., Yamachi S., Matsuyama N., Tamura Y., Satone A., Ide W., Hashimoto I., Kamada H. 2004. Histone deacetylase inhibitor, FK228, induces apoptosis and suppresses cell proliferation of human glioblastoma cells *in vitro* and *in vivo*. *Acta Neuropathol.* 107 : 523—531.

Sawa H., Murakami H., Ohshima Y., Murakami M., Yamazaki I., Tamura Y., Mima T., Satone A., Ide W., Hashimoto I., Kamada H. 2002. Histone deacetylase inhibitors such as sodium butyrate and trichostatin A inhibit vascular endothelial growth factor (VEGF) secretion from human glioblastoma cells. *Brain Tumor Pathol.* 19 : 77—81.

Silber J., Lim D. A., Petrutsch C., Persson A. I., Maunakea A. K., Yu M., Vandenberg S. R., Ginzinger D. G., James C. D., Costello J. F., Bergers G., Weiss W. A., Alvarez-Buylla A., Hodgson J. G. 2008. miR-124 and miR-137 inhibit proliferation of glioblastoma multiforme cells and induce differentiation of brain tumor stem cells. *BMC Med.* 6 : 14.

Somasundaram K., Reddy S. P., Vinnakota K., Britto R., Subbarayan M., Nambiar S., Hebbar A., Samuel C., Shetty M., Sreepathi H. K., Santosh V., Hegde A. S., Hegde S., Kondiah P., Rao M. R. 2005. Upregulation of ASCL1 and inhibition of Notch signaling pathway characterize progressive astrocytoma. *Oncogene.* 24 : 7073—7083.

Stefani G., Slack F. J. 2008. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 9 : 219—230.

Stewart L. A. 2002. Chemotherapy in adult high-grade glioma: a systematic review and meta-analysis of individual patient data from 12 randomised trials. *Lancet.* 359 : 1011—1018.

Stone A. R., Bobo W., Brat D. J., Devi N. S., Van Meir E. G., Vertino P. M. 2004. Aberrant methylation and down-regulation of TMS1/ASC in human glioblastoma. *Amer. J. Pathol.* 165 : 1151—1161.

Tan J., Yang X., Zhuang L., Jiang X., Chen W., Lee P. L., Karuturi R. K., Tan P. B., Liu E. T., Yu Q. 2007. Pharmacologic disruption of Polycomb-repressive complex 2-mediated gene repression selectively induces apoptosis in cancer cells. *Genes Develop.* 21 : 1050—1063.

Tunca B., Bekar A., Cecener G., Egeli U., Vatan O., Tolunay S., Kocaeli H., Aksoy K. 2007. Impact of novel PTEN mutations in Turkish patients with glioblastoma multiforme. *J. Neurooncol.* 82 : 263—269.

Turner B. M. 2005. Reading signals on the nucleosome with a new nomenclature for modified histones. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 12 : 110—112.

Ugur H. C., Ramakrishna N., Bello L., Menon L. G., Kim S. K., Black P. M., Carroll R. S. 2007. Continuous intracranial administration of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) inhibits tumor growth in an orthotopic glioma model. *J. Neurooncol.* 83 : 267—275.

Uhlmann K., Rohde K., Zeller C., Szymas J., Vogel S., Marczynek K., Thiel G., Nurnberg P., Laird P. W. 2003. Distinct methylation profiles of glioma subtypes. *Int. J. Cancer.* 106 : 52—59.

Villa R., De Santis F., Gutierrez A., Minucci S., Pelicci P. G., Di Croce L. 2004. Epigenetic gene silencing in acute promyelocytic leukemia. *Biochem. Pharmacol.* 68 : 1247—1254.

Waha A., Güntner S., Huang T. H., Yan P. S., Arslan B., Pietsch T., Wiestler O. D., Waha A. 2005. Epigenetic silencing of the protocadherin family member PCDH-gamma-A11 in astrocytomas. *Neoplasia*. 7 : 193—199.

Watanabe K., Tachibana O., Sato K., Yonekawa Y., Kleihues P., Ohgaki H. 1996. Overexpression of the EGF receptor and p53 mutations are mutually exclusive in the evolution of primary and secondary glioblastomas. *Brain Pathol.* 6 : 217—224.

Watanabe T., Katayama Y., Yoshino A., Yachi K., Ohta T., Ogino A., Komine C., Fukushima T. 2007. Aberrant hypermethylation of p14ARF and O6-methylguanine-DNA methyltransferase genes in astrocytoma progression. *Brain Pathol.* 17 : 5—10.

Watanabe T., Yokoo H., Yokoo M., Yonekawa Y., Kleihues P., Ohgaki H. 2001. Concurrent inactivation of RB1 and TP53 pathways in anaplastic oligodendrogliomas. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 60 : 1181—1189.

Wiencke J. K., Zheng S., Jelluma N., Tihan T., Vandenberg S., Tamguney T., Baumber R., Parsons R., Lamborn K. R., Berger M. S., Wrensch M. R., Haas-Kogan D. A., Stokoe D. 2007. Methylation of the PTEN promoter defines low-grade gliomas and secondary glioblastoma. *Neurooncology*. 9 : 271—279.

Yakut T., Gutenberg A., Bekar A., Ege U., Gunawan B., Erkan I., Tolunay S., Doygun M., Schulten H. J. 2007. Correlation of chromosomal imbalances by comparative genomic hybridization and expression of EGFR, PTEN, p53, and MIB-1 in diffuse gliomas. *Oncol. Rep.* 17 : 1037—1043.

Yin D., Ong J. M., Hu J., Desmond J. C., Kawamata N., Konada B. M., Black K. L., Koeffler H. P. 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.* 13 : 1045—1052.

Yoo C. B., Jones P. A. 2006. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nat. Rev. Drug Discov.* 5 : 37—50.

Yu J., Zhang H., Gu J., Lin S., Li J., Lu W., Wang Y., Zhu J. 2004. Methylation profiles of thirty four promoter-CpG islands and concordant methylation behaviours of sixteen genes that may contribute to carcinogenesis of astrocytoma. *BMC Cancer*. 4 : 65.

Zardo G., Tiirikainen M. I., Hong C., Misra A., Feuerstein B. G., Volik S., Collins C. C., Lamborn K. R., Bollen A., Pinkel D., Albertson D. G., Costello J. F. 2002. Integrated genomic and epigenomic analyses pinpoint biallelic gene inactivation in tumors. *Nat. Genet.* 32 : 453—458.

Zhou H., Miki R., Eeva M., Fike F. M., Seligson D., Yang L., Yoshimura A., Teitell M. A., Jamieson C. A., Cacalano N. A. 2007. Reciprocal regulation of SOCS 1 and SOCS3 enhances resistance to ionizing radiation in glioblastoma multiforme. *Clin. Cancer Res.* 13 : 2344—2353.

Zhou Y. H., Tan F., Hess K. R., Yung W. K. 2003. The expression of PAX6, PTEN, vascular endothelial growth factor, and epidermal growth factor receptor in gliomas: relationship to tumor grade and survival. *Clin. Cancer Res.* 9 : 3369—3375.

Поступила 5 II 2013

## GENETIC AND EPIGENETIC MARKERS OF GLIOMAS

*E. V. Semenova, M. V. Filatov*

B. P. Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute, Gatchina;  
e-mail: semenova\_el.spb@mail.ru

Malignant gliomas, aggressive and highly invasive tumors with a great number of genetic and epigenetic alterations in genes involved in the cell cycle regulation, the apoptotic pathways, cell invasion ability, and angiogenesis, are considered to be among the deadliest of human cancers. The role of epigenetic mechanisms in the pathogenesis of malignant transformation despite recent progress is not yet clear elucidated and remains under intensive study. This review describes the mechanisms of epigenetic regulation of gene expression, including post-translational modification of histones, DNA methylation in the promoter regions, and microRNA regulation. The genetic and epigenetic factors driving the pathogenesis of gliomas in their possible mutual influence and the potential epigenetic targets that can be used in the development of diagnostics and new therapeutic approaches are also discussed.

**Key words:** genetic particularity, gliomas, epigenetic alterations.