

Importance of Epigenetic Changes in the Thyroid Cancer Incidence and Their Therapeutic Applications

Maryam Zarkesh¹, Mahdi Taghaddosi², Fereidoun Azizi³, Azita Zadeh-Vakili⁴, Mahdi Hedayati^{5*}

- 1- M.Sc., Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- Ph.D., Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences (KUMS), Kermanshah, Iran
- 3- Professor, Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran
- 4- Ph.D., Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 5- Associated Professor, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*Corresponding Address: P.O.Code: 19395-4763, Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: hedayati@endocrine.ac.ir

Received: 15/Feb/2014, Accepted: 02/Jun/2014

Abstract

Thyroid cancer, the most common endocrine malignancy worldwide, originates from follicular epithelial cells. It is classified as a well-differentiated thyroid carcinoma (WDTC) -follicular (FTC) and papillary types (PTC)-, poorly differentiated thyroid carcinomas (PDTC), anaplastic thyroid carcinoma (ATC), and parafollicular calcitonin-producing cells include medullary thyroid carcinoma (MTC). "Epigenetic" refers to the study of heritable changes in gene expression that occur without any alteration in the pattern of the primary DNA sequence. Growing evidence shows that epigenetic changes play important roles in thyroid carcinomas and, together with genetic changes, lead to tumorigenesis. Epigenetic silencing of various genes specific for thyroid differentiation have been detected in thyroid tumors. These changes in tumor-promoting and tumor-suppressor genes also contribute to the dysregulation of thyrocyte growth and other aspects of tumorigenesis. However, at present, no promising treatment is available for advanced thyroid cancer, which is unresponsive to radioiodine. Biologically targeted therapies for advanced thyroid carcinomas have been proposed based on the recognition of main oncogenic mutations. In this review we discuss the most frequent epigenetic variations in different types of thyroid cancer, epigenetic strategies for treating this carcinoma, and experimental data and clinical trials, particularly those that use deacetylase inhibitors and demethylating agents.

Keywords: Thyroid carcinoma, Epigenetic, Therapy

Modares Journal of Medical Sciences: *Pathobiology*, Vol 17, No 3, Autumn 2014, Pages: 1-24

اهمیت تغییرات اپی ژنتیک در بروز سرطان تیروئید و کاربرد درمانی این تغییرات

مریم زرکش^۱، مهدی تقدسی^۲، فریدون عزیزی^۳، آریتا زاده وکیلی^۴، مهدی هدایتی^{۵*}

- ۱- کارشناس ارشد، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون ریز، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۲- دکتری تخصصی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
- ۳- استاد، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۴- دکتری تخصصی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون ریز، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۵- دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون ریز، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۴۷۶۳-۱۹۳۹۵، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات

سلولی و مولکولی غدد درون ریز
Email: hedayati@endocrine.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۳/۰۳/۱۲

دریافت مقاله: ۹۲/۱۱/۲۶

چکیده

سرطان تیروئید شایع‌ترین بدخیمی غدد درون ریز در سرتاسر جهان محسوب می‌شود. این سرطان یا از سلول‌های فولیکول اپی‌تلیال طبقه‌بندی شده به اشکال سرطان با تمایز بالا (شامل سرطان‌های پاپیلاری و فولیکولر تیروئید، سرطان تیروئید با تمایز کم و آناپلازیک) یا از سلول‌های پارا- فولیکول تولید کننده کلسی‌تونین (مانند سرطان مدولاری تیروئید) مشتق می‌شود. اپی ژنتیک به مطالعه تغییرات وراثتی در بیان ژن اطلاق می‌شود که بدون تغییر الگوی توالی DNA اولیه رخ می‌دهد. شواهد رو به رشد نشان می‌دهد که تغییرات اپی ژنتیکی نقش مهمی را در این سرطان ایفا کرده و به همراه تغییرات ژنتیکی منجر به تومورزایی می‌شود. خاموش شدن اپی ژنتیکی ژن‌های اختصاصی دخیل در تمایز تیروئید، در تومورهای تیروئید شناسایی شده است. این تغییرات در ژن‌های سرکوب‌گر و همچنین ژن‌های پیش برنده تومور در اختلال رشد سلول‌های تیروئیدی و سایر جوانب تومورزایی دخالت دارد. با این حال، در حال حاضر، هیچ درمان امیدبخشی برای سرطان تیروئید پیشرفته‌ای که به درمان با یدرادیواکتیو پاسخ نمی‌دهد، وجود ندارد. درمان‌های زیستی مورد هدف، برای درمان سرطان تیروئید پیشرفته بر اساس تشخیص جهش‌های اصلی انکوژن پیشنهاد شده است. در این مطالعه مروری، تغییرات اپی ژنتیکی رایج در انواع مختلف سرطان تیروئید، استراتژی‌های اپی ژنتیکی برای درمان این سرطان، داده‌های تجربی و آزمایش‌های بالینی را به‌ویژه با استفاده از مهار کننده‌های داستیلاز و داروهای دمتیله کننده مورد بحث قرار گرفته است.

کلیدواژگان: سرطان تیروئید، اپی ژنتیک، درمان

مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب شناسی زیستی، دوره ۱۷، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۳، صفحات: ۱-۲۴

سرطان غده تیروئید شایع‌ترین بدخیمی غدد درون‌ریز در سرتاسر جهان محسوب می‌شود؛ به طوری که شیوع آن تقریباً ۱-۵ درصد از کل سرطان‌ها در زنان و کمتر از ۲ درصد در مردان است. با این که خطر ابتلا به این سرطان کم است ولی شیوع آن روبه افزایش است [۱]. سرطان تیروئید ناشی از سلول‌های اپی‌تلال فولیکولی که حدود ۹۵ درصد از تمامی تومورهای تیروئید را شامل می‌شود، از گذشته با عناوینی از جمله سرطان تمایز یافته تیروئید (Well-Differentiated Thyroid Carcinoma: WDTC)، شامل انواع پاپیلاری (Papillary Thyroid Carcinoma: PTC) (۸۰ درصد) و فولیکولی (Follicular Thyroid Carcinoma: FTC) (۱۰-۱۵ درصد)، سرطان تیروئید با تمایز کم (Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma: PDTC) و در نهایت سرطان آناپلازیک تیروئید (Anaplastic Thyroid Carcinoma: ATC)، در ۱-۲ درصد از بدخیمی‌های تیروئید، طبقه‌بندی شده است [۲-۴]. به طور معمول اشکال تمایز یافته سرطان تیروئید سیر پیشرفت آهسته‌ای داشته و درمان آن‌ها شامل ترکیبی از جراحی، استفاده از ید رادیواکتیو و مهار هورمون TSH (Thyroid Stimulating Hormone) است. تومورهایی که یا از ابتدا تمایز آن‌ها کم بوده یا در اثر پیشرفت بیماری تمایزشان کاهش پیدا کرده است، همانند سرطان آناپلازیک تیروئید، به طور عموماً در برابر داروهای رایج مورد استفاده مقاوم بوده و در حال حاضر هیچ درمان موفقی برای آن‌ها وجود ندارد [۵-۷]. سرطان مدولاری تیروئید (Medullary Thyroid Carcinoma: MTC) که شیوع کمتری را در بین انواع سرطان‌های این غده دارد، از سلول‌های پارافولیکولی تولید کننده کلسی‌تونین منشأ می‌گیرد. سرطان تیروئید مدولاری که منشأ نورواندوکراین (Neuroendocrine) دارد به درمان‌هایی که اساس آن‌ها مهار هورمون TSH است یا درمان‌هایی که مبنای آن‌ها استفاده از ید رادیواکتیو است، پاسخ نمی‌دهد و درمان رایج آن بیشتر براساس جراحی اولیه و موضعی برای پیش‌گیری از متاستاز

اپی‌ژنتیک سرطان تیروئید

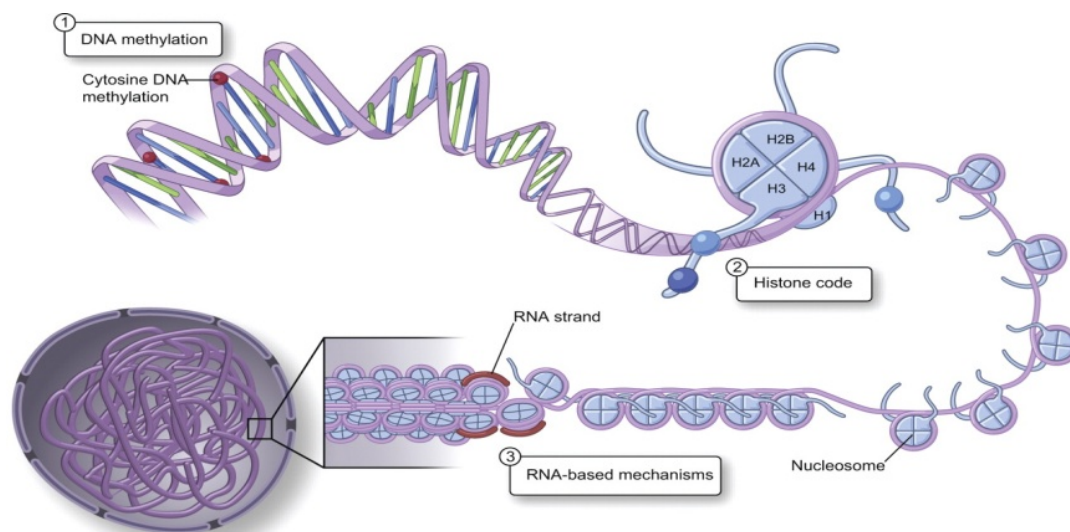
(Metastasis) است. پیامدهای بالینی در بیماران مبتلا به متاستازی این بیماری شبیه به سرطان تمایز یافته تیروئید است و به ید رادیواکتیو پاسخ نمی‌دهد [۸]. بیشتر سرطان‌های تیروئید به صورت میکروکارسینوما (Microcarcinoma) تشخیص داده می‌شود. در این موارد روش‌های تشخیص مولکولی بیماری تهاجمی تیروئید می‌تواند در اتخاذ روش‌های درمانی مؤثر باشد. اکثریت تغییرات ژنتیکی در سرطان تیروئید آثار تومورزایی خود را تاحدی از طریق فعال‌سازی مسیر MAP کیناز / ERK (Mitogen-Activated Protein Kinases/ Extracellular Signal-Regulated Kinases) اعمال می‌کند. فعال‌سازی ساختاری مسیر MAP کیناز/ ERK از طریق تنظیم افزایشی تقسیم سلولی باعث تومورزایی می‌شود [۹]. فعالیت این مسیر یک سازوکار مهم و مشترک در پیدایش و پیشرفت سرطان‌های انسانی است. به دنبال فعال شدن ساختاری، مسیر MAP کیناز باعث تومورزایی می‌شود. علاوه بر این تغییرات، سایر تغییرات مولکولی هم برای القای سرطان تیروئید ضروری است. عوامل اپی‌ژنتیک احتمالاً نقش مهمی را در تنوع چشمگیر الگوی بیان ژن، خصوصیات فنوتیپی و خصوصیات زیستی سرطان تیروئید ایفا می‌کند [۱۰].

تعریف اپی‌ژنتیک

برای اولین بار در اوایل دهه ۴۰ میلادی اصطلاح اپی‌ژنتیک به صورت آثار متقابل علت و معلولی میان ژن‌ها و محصولات آن‌ها، به عنوان عاملی مؤثر در ظهور فنوتیپ، تعریف شد [۱۱]. در حال حاضر واژه اپی‌ژنتیک به مطالعه تغییرات وراثتی در بیان ژن‌ها اشاره دارد. این گونه از تغییرات بدون هیچ اثری در توالی DNA باعث ایجاد حالت‌های فشرده یا غیرفشرده کروماتین به شکل کلی یا موضعی شده و بیان ژن را تحت تاثیر قرار می‌دهد. فعل و انفعالات مداومی که در همه این فرایندها رخ می‌دهد را "اپی‌ژنوم" می‌گویند؛ تغییرات اپی‌ژنتیکی نحوه بروز ژنوم یوکاریوتی را در سلول‌های مختلف تعیین می‌کند. در صورتی که این تغییرات به شکل صحیح عمل نکنند، منجر به پیدایش سرطان

مهارگر تومور که اغلب به صورت اپی ژنتیکی خاموش هستند ارایه شده است [۱۳]. اطلاعات اپی ژنتیکی که واجد شرایط وراثتی است را به سه گروه مجزا طبقه بندی می کنند: متیلاسیون DNA، تغییرات هیستونی و RNAهای غیر کد کننده (شکل ۱).

و سایر بیماری ها خواهد شد. اختلالات اپی ژنتیکی تقریباً در همه سرطان ها مشاهده می شود و به موازات تغییرات ژنتیکی، موجب پیشرفت تومور شده و علاوه بر آن؛ در مراحل نخستین تومورزایی نیز نقش دارد [۱۲]. فهرست رو به رشد ژن های



شکل ۱ عمده سازوکارهایی که ساختار کروماتین را کنترل می کند به سه گروه مجزا شامل: (۱) متیلاسیون DNA، (۲) تغییرات هیستونی و (۳) RNAهای غیر کد کننده تقسیم می شود.

سال های ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۳ استخراج شد. برای جستجوی این مطالعه ها از بررسی منابع اطلاعاتی Elsevier, Pubmed, New Springer link استفاده شد. کلمات کلیدی جستجو شامل "اپی ژنتیک"، "سرطان تیروئید" و "درمان" بود. مقاله های حاصل تنها به زبان انگلیسی بود. از بین ۳۱۰ مقاله حدود ۱۰۰ مقاله انتخاب شد و از میان آن ها مطالعاتی که مبنای طراحی آن ها به شکل مورد-شاهدی یا مروری بود، در این مطالعه استفاده شد.

انواع مختلف تغییرات اپی ژنتیکی در سرطان تیروئید مشخص شده است. شناخت هر یک از این تغییرات که مختص تومورهای مختلف این غده است، قبل از شروع هر نوع رویکرد درمانی، در تعدیل فرآیندهای اپی ژنتیکی کاربرد دارد. در این مطالعه، مرور کوتاهی بر تغییرات اپی ژنتیک سلول های سرطانی تیروئید و روش هایی که در حال حاضر برای بررسی آن ها وجود دارد، انجام خواهد شد و استراتژی های درمان ضدسرطانی که این تغییرات را هدف قرار می دهد، بررسی می شود.

اپی ژنتیک سرطان

تحقیقات اولیه اپی ژنتیک سرطان نشان دهنده آن است که این تغییرات مولکولی نتیجه جهش های ژنتیکی بوده است و بدون ارتباط با شروع تومورزایی تنها با پیشرفت آن ارتباط دارد.

روش بررسی

اطلاعات مورد نظر این مطالعه مروری، از مطالعه های منتشر شده در زمینه اپی ژنتیک سرطان تیروئید در فاصله

اپی ژنتیک سرطان تیروئید

را هدف قرار می دهد. ژنوم سرطانی با هیپومتیلاسیون کلی شناخته می شود که همزمان با هیپرمتیلاسیون نواحی CpG در پروموتورهای ژنهایی رخ می دهد که نقش های مهمی را در تنظیم چرخه سلولی، مرگ سلولی برنامه ریزی شده (Apoptosis)، تمایز و چسبندگی سلولی دارد [۲۰]. الگوهای متیلاسیون DNA به بیان ژنی وابسته است؛ برای مثال متیلاسیون در ناحیه پروموتور یک ژن عموماً رابطه مستقیمی با یک ژن خاموش دارد [۲۱]. متیلاسیون DNA. یا اضافه شدن گروه متیل به باز آلی سیتوزین توسط آنزیم DNA متیل ترانسفراز، محدود به سیتوزین هایی است که در توالی DNA انسان و سایر پستانداران قبل از گوانوزین می آید [دی نوکلئوتید (CpG)] [۲۱]. پراکنش دی نوکلئوتیدهای CpG در ژنوم به طور غیر معمول نامتقارن بوده و در خوشه های کوچکی به نام جزایر CpG واقع شده است. این جزایر اغلب در نواحی پروموتور ژن ها قرار دارد و صرف نظر از حالت رونویسی معمولاً غیر متیله هستند که نشان دهنده اهمیت متیلاسیون DNA در بیان ژن به خصوص در خاموشی رونویسی است [۲۱]. متیلاسیون نا به جای DNA نقش مؤثری در پدیده تومورزایی دارد. کاهش متیلاسیون کلی دی نوکلئوتیدهای CpG که در حد فاصل ژن ها قرار دارد و افزایش متیلاسیون جزایر CpG در نواحی پروموتوری شاخص بسیاری از سرطان ها است [۱۸]. اثر متیلاسیون بیش از حد روی تومورزایی با خاموشی چند ژن مهارگر تومور به خوبی نمایش داده می شود. با توجه به نقش شاخص آن ها در سرطان زایی، این ژن ها عبارتند از ژن های دخیل در گریز از مرگ سلولی برنامه ریزی شده (Caspase-8 و BNIP3, p14ARF, P53)، ژن هایی که در عدم حساسیت در برابر سیگنال های ضد رشد نقش دارد (miR-124a و p16INK4a)، ژن های مؤثر در رگ زایی دایمی (TIMP3 و TSP1)، ژن های دخیل در پتانسیل همانندسازی نامحدود (hTERT) و تهاجم بافتی و متاستازی (E-cadherin و LIMS2). خاموشی رونویسی نتیجه فشرده گی کروماتین است که در اثر تلاقی متیلاسیون DNA و تغییرات

اخیراً این مفهوم با چالش روبرو شده است، چراکه با مطالعه تغییرات اپی ژنتیک مربوط به بافت های طبیعی اطراف تومور ایراد اساسی در این فرضیه به اثبات رسیده است [۱۴، ۱۵]. شواهدی موجود است که نشان دهنده تغییرات اولیه اپی ژنتیک در فرآیند تومورزایی است. بررسی روی ساز و کارهای اپی ژنتیک سرطان زمانی آسان تر شد که روش رسوب ایمونولوژیک کروماتین (Chromatin Immunoprecipitation: ChIP) ابداع شد. در روش ChIP از آنتی بادی های اختصاصی برای جداسازی و تغلیظ توالی های DNA مورد نظر (مثل آن هایی که دارای هیستون تغییر یافته یا متیل سیتوزین است) نمونه ای که دارای پروتئین های فراوان است استفاده می شود [۱۶].

خاموش شدن ژن های تنظیمی به واسطه تغییرات اپی ژنتیک بخشی از تغییرات ژنومیک مشترک در سرطان است که مسیرهای رشد و تمایز سلول بنیادی را تغییر می دهد. این سازوکارها عبارتست از تغییرات کووالانست کروماتین، متیلاسیون باز آلی سیتوزین در DNA، RNA های غیرکد کننده و تغییر مجدد آرایش نوکلئوزومی [۱۳]. پیشنهاد شده است که ناهنجاری های اپی ژنتیکی می توانند در اولین مراحل تومورزایی نقش اصلی داشته باشند [۱۲، ۱۷-۱۹]. از آنجایی که تغییرات اپی ژنتیکی از لحاظ میتوزی قابل وراثت است، می تواند هم راستا با تغییرات ژنتیکی عمل کند و منجر به تومورزایی شود. پایداری بالای خاموش شدن ژن ها طی فرآیند تقسیم میتوزی علاوه بر طبیعت پیش رونده ای که از طریق آن این پدیده اتفاق می افتد، باعث می شود که خاموش شدن پاتولوژیک کنترل رشد سلولی و ژن های دیگر در فرآیند سرطان زایی امری ضروری باشد.

متیلاسیون DNA در دی نوکلئوتیدهای CpG رخ می دهد و در نتیجه باعث خاموش شدن ژن ها و نواحی ژنومی غیر کد کننده می شود. سه نوع DNA متیل ترانسفراز اصلی (DNA Methyltransferases: DNMT) وجود دارد؛ DNMT1 که الگوهای متیلاسیون بعد از همانندسازی DNA را حفظ می کند، DNMT3A و DNMT3B که CpG های غیر متیله شده قبلی

کمبود BRG1 منجر به توقف چرخه سلولی، القای پیری و افزایش سطح کلی H3K9me3 می‌شود [۲۶].

تغییرات اپی‌ژنتیکی در سرطان تیروئید

متیلاسیون DNA

در سرطان تیروئید، متیلاسیون نابه‌جای ژن‌های سرکوبگر تومور متداول است. همچنین مهار کننده‌های CDK (Cyclin-Dependent Kinase) مثل p27KIP1 و p16INK4A اغلب در سرطان تیروئید دچار تنظیم کاهشی می‌شود. متیلاسیون نواحی CpG در p16INK4A در ۳۰ درصد از نئوپلاسم‌های تیروئیدی تشخیص داده شده است [۲۷]. ژن RASSF1A دارای یک دومین متصل به RAS است و در تنظیم چرخه سلولی و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده نقش دارد [۲۸]. در غده تیروئید متیلاسیون پروموتور RASSF1A در بیش از ۳۰ درصد از تومورهای خوش‌خیم و بدخیم تیروئید مشاهده شده است. فراوانی بالای هیپرمتیلاسیون RASSF1A در آدنومای فولیکولر خوش‌خیم (۳۳-۴۴ درصد) و افزایش شیوع آن در سرطان فولیکولر تیروئید (۷۰-۱۰۰ درصد) نشانگر آن است که خاموشی اپی‌ژنتیکی RASSF1A، مرحله اولیه در تومورزایی تیروئید است [۲۹]. پروتئین Rap1 GAP یک پروتئین فعال کننده GTP است که با تسهیل هیدرولیز GTP به GDP باعث مهار پروتئین سوپر خانواده RAS به نام Rap1 می‌شود. در سرطان‌های تیروئید انسانی، بعد از هیپرمتیلاسیون پروموتور یا فقدان هتروزیگوزیته، بیان Rap1 GAP غالباً از بین می‌رود یا به شدت کاهش پیدا می‌کند؛ تحلیل بیان Rap1 GAP رابطه مستقیمی با تهاجمی بودن تومور دارد [۱۰].

ارتباط نزدیک میان جهش BRAF و متیلاسیون غیر طبیعی چندین ژن مهارگر تومور، از جمله ژن‌های TIMP3، DAPK و RARβ2 در سرطان پاپیلاری تیروئید گزارش شده است [۳۰]. این ارتباط با خصوصیات بالینی پاتولوژیکی پرخطر سرطان پاپیلاری تیروئید رابطه مستقیمی دارد که از آن جمله

هیستونی رخ می‌دهد. مولکول DNA متیله شده باعث بسیج شدن پروتئین‌های متصل شونده به متیل (Methyl-CpG Binding Domain Proteins: MBDP) که حاوی دومین‌های متصل به CpG متیله (MBD) است به نواحی متیله شده DNA می‌شود. پروتئین‌های متصل شونده به DNA به هیستون داستیلازها نیز متصل می‌شود؛ در نتیجه آرایش کروماتین مجدداً شکل می‌گیرد و ژن خاموش می‌شود. علاوه بر مکانیسم‌های خاموشی که به آن‌ها اشاره شد، هیستون متیل ترانسفرازها (HMT) با متیلاسیون لیزین ۹ هیستون ۳ (H3K9) یا لیزین ۲۷ هیستون ۳ (H3K27) رونویسی را مهار می‌کند [۲۲]. تغییرات کووالانت هیستونی می‌تواند با متیلاسیون DNA در ارتباط باشد. طی فشرده‌گی کروماتین و خاموشی ژن، متیلاسیون سیتوزین باعث جذب پروتئین‌های متصل شونده به DNA متیله و هیستون داستیلازها به جزایر CpG متیله می‌شود [۲۳]. علاوه بر تغییرات اپی‌ژنتیکی جایگاه‌های شروع رونویسی، شواهدی وجود دارد که تغییرات کلی ساختار کروماتین را نشان می‌دهد. برای مثال کاهش کلی ۵- متیل سیتوزین که در ژنوم‌های سرطانی دیده می‌شود با هیپرمتیلاسیون جزایر CpG ارتباط دارد [۲۵]. تداوم هیپرمتیلاسیون ناشی از تغییرات توزیع ۵- متیل - سیتوزین است و نه به‌خاطر افزایش کلی میزان متیلاسیون. همچنین مشاهدات نشان می‌دهد که رشته‌های بزرگ DNA می‌تواند به‌صورت غیر طبیعی در سرطان متیله شود. در غربالگری ۵۸ رده سلولی از انواع سرطان‌ها نشان داده شد، با استفاده از shRNAهای متمرکز بر عوامل اپی‌ژنومی، BRM/SMARCA2 به‌عنوان یک عامل مهم برای رشد سلول‌های سرطانی که عملکردشان با جهش BRM/SMARCA4 از دست رفته است، ضروری است. BRM/SMARCA2 یک ATPase وابسته به DNA در بازآرایی کروماتین (SWI/SNF) پستانداران است که دسته‌ای از پروتئین‌های تولید شده از ژن‌های SWI و SNF است و در بازآرایی DNA نقش دارد. به‌طوری که کاهش BRM در سلول‌های سرطانی با

اپی ژنتیک سرطان تیروئید

هیستونی بر شکل فضایی کروماتین و در نتیجه رونویسی ژن، ترمیم و همانندسازی DNA و نقطه بررسی (Checkpoint) چرخه سلولی تأثیر دارد [۳۷]. استیل‌اسیون و داستیل‌اسیون هیستون به ترتیب باعث فعالیت و توقف رونویسی ژن می‌شود و آنزیم‌هایی که این تغییرات را کاتالیز می‌کنند، یعنی هیستون استیل ترانسفرازها (HATs) و هیستون داستیل‌ازها (Histone Deacetylase: HDACs) می‌توانند پروتئین‌های غیر هیستونی مانند p53, Hsp90 و آلفا-توبولین را هدف قرار دهند [۳۸]. چهار کلاس از HDACها وجود دارد: ۱) HDAC1, HDAC2, HDAC3, HDAC8 و HDAC9 (۲) HDAC4, HDAC5, HDAC6, HDAC9, HDAC10 (۳) سیرتوئین‌ها (Sirtuin) (Sirtuin 1-7) و (۴) HDAC11. تغییراتی که در مدیفیکاسیون (Modification) هیستونی رخ می‌دهد تأثیر چشمگیری در شروع و پیشرفت سرطان دارد [۳۶]. شایع‌ترین تغییرات اپی ژنتیکی هیستون‌ها در سرطان، استیل‌اسیون و متیل‌اسیون آن‌ها است؛ کاهش H4-K16 مونواستیل و تری‌متیل‌اسیون H4-K20 ویژگی‌های عمومی سلول‌های سرطانی است [۳۹]. تغییر میزان بیان HDACها در نمونه‌های توموری و بیان بیش از حد HDACهای کلاس ۱ در ۴۰-۵۰ درصد از بافت‌های سرطانی گزارش شده است [۴۰]. هیستون داستیل‌از کلاس ۱ در سرطان روده بزرگ و مقعد، دهانه رحم و معده نیز افزایش بیان داشته و همچنین افزایش بیان HDAC6 در نمونه‌های سرطان سینه گزارش شده است [۴۱]. میزان H3 استیل‌ه ژن K18 در سرطان‌های تمایز نیافته از تومورهای با تمایز کم، کمتر بوده و استیل‌اسیون در انتقال تومور تیروئیدی نقشی ندارد [۴۲].

هیپرمتیل‌اسیون نواحی CpG در ناحیه پروموتور عامل رونویسی تیروئید-۱ (TTF-1)، که برای اندام‌زایی تیروئید لازم است، همزمان با افزایش دی‌متیل-H3-K9 و کاهش استیل H3-K9 در زیرمجموعه‌ای از سلول‌های کارسینوما تیروئیدی که بیان TTF-1 خود را از دست داده‌اند، مشاهده می‌شود [۴۳]. به‌علاوه؛ اخیراً ثابت شده است که EZH2 که یک هیستون لایزین

می‌توان به تهاجم خارج تیروئیدی، متاستاز گره لنفاوی و مراحل پیشرفته بیماری (III و IV) اشاره کرد [۳۱]. ژن TIMP3 با جلوگیری از تخریب ماتریکس بینابینی با مهار ماتریکس متالوپروتئیناز-۳ (MMP3) یا از طریق مهار اتصال VEGF (Vascular endothelial growth factor) به گیرنده VEGF، باعث مهار رشد تومور، رگ‌زایی، تهاجم و بدخیمی می‌شود [۳۲]. بنابراین خاموشی ژن TIMP3 به‌واسطه متیل‌اسیون ممکن است نقش منحصر به‌فردی را در تهاجم و پیشرفت تومور در سرطان داشته باشد.

تا آن‌جایی که به تهاجمی بودن تومورها مربوط است، کادهرین-E همراه با اتصال به کاتنین‌ها باعث چسبندگی سلول به سلول وابسته به یون کلسیم می‌شود تا ساختار طبیعی بافت اپی تلیال ایجاد شود. تخریب کمپلکس کادهرین-E/کاتنین در متاستاز تومور نقش داشته و کاهش میزان بیان کادهرین-E در مراحل پیشرفته تومورهای با تمایز کم مشاهده شده است و با تغییر شکل حالت تمایز یافته به حالت سرطان آناپلازیک تیروئید ارتباط دارد [۳۳، ۳۴]. متیل‌اسیون غیر طبیعی می‌تواند ژن‌های اختصاصی تیروئید مثل ناقل همزمان Na⁺/I⁻ (NIS) (Na⁺/I⁻ symporter)، پروموتور گیرنده TSH، ژن‌های انتقال دهنده ید در سطح رأسی سلول فولیکولی تیروئید (پندرین و SCL5A8) را درگیر کند [۳۵]. مهار این مولکول‌های متابولیزه کننده ید در غده تیروئید منجر به تحلیل قابلیت سلول‌های سرطانی برای تغلیظ ید شده و تومورها را در برابر درمان با ید رادیواکتیو مقاوم می‌کند.

تغییرات هیستونی

تغییرات پس از ترجمه‌ای دم‌های پایانه N هیستون‌ها شامل استیل‌اسیون، متیل‌اسیون، فسفریلاسیون، یوبی‌کوئیتیناسیون (Ubiquitination)، سوموئیل‌اسیون (SUMOylation) و ADP ریبوزیلاسیون (Ribosylation) است. تغییرات هیستونی می‌تواند باعث فعال شدن ژن یا سرکوب آن شود که بستگی به باقی تغییرات و نوع آن‌ها دارد [۳۶]. به‌طور کلی تغییرات

ترانسفر از متعلق به خانواده گروه پروتئین پلیکوم (Polycomb) است، به صورت اختصاصی در سرطان آناپلازیک تیروئید بیش بیان می‌شود و نقش مستقیمی در خاموشی رونویسی ژن PAX8 و تمایز سرطان آناپلازیک تیروئید دارد [۴۴].

میکروRNAها

میکروRNAها (miRNAs) مولکول‌های RNA کوچک غیر کد کننده‌ای (۱۹-۲۵ نوکلئوتیدی) است که جدیدترین طبقه مولکولی محسوب می‌شود که در تنظیم اپیژنتیکی نقش دارد و به عنوان تنظیم کننده‌های منفی بیان ژن‌های کد کننده پروتئین عمل می‌کند که در فرآیندهای اصلی از جمله نمو، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، تکثیر سلولی، پاسخ ایمنی و خونسازی نقش دارد و این کار را از طریق اتصال به ناحیه ترجمه نشدنی انتهای mRNA انجام می‌دهد. رونوشت‌های اولیه میکروRNA طی دو مرحله پردازش تبدیل به مولکول بالغ کوتاه‌تری می‌شود. تجزیه و تحلیل مقایسه‌ای بیان miRNAها در بافت طبیعی با بافت نئوپلازیک (Neoplastic) نشان داده است که در نئوپلاسم‌های تیروئیدی، ۳۲ درصد از miRNAها تنظیم افزایشی و ۳۸ درصد تنظیم کاهش‌دهنده دارند. به علاوه؛ الگوهای بیان miRNAها در انواع تومورها به شدت متغیر است [۴۵]. تنظیم کاهش‌دهنده‌های miR-30 و miR-200 ضدتهاجمی، باعث جهت‌گیری EMT (-Epithelial Mesenchymal Transition) و پتانسیل تهاجمی در سرطان آناپلازیک تیروئید می‌شود [۴۶]. مطالعات متعددی داشتن نقش حیاتی میکروRNAهای اختصاصی را به عنوان عوامل کلیدی در گسترش و پیشرفت سرطان تیروئید ارایه داده‌است. به علاوه؛ مطالعات روی عملکرد آن‌ها نشان می‌دهد که تنظیم نادرست میکروRNAها ممکن است نقش اساسی در تومورزایی تیروئید داشته باشد. تجزیه و تحلیل‌های وسیع توسط روش ریزآرایه الگوی بیان نا به جای میکروRNAها به خصوص تنظیم افزایشی miR-221، miR-222 و miR-181b را که به طور واضح باعث تمایز بافت‌های سرطان پاپیلاری تیروئید از

بافت‌های طبیعی می‌شوند، مشخص ساخته است [۴۷]. اطلاعات بیشتر نشانگر آن است که miR-221 و miR-222 تنظیم کننده‌های داخلی بیان پروتئین P27^{Kip1} بوده که این پروتئین یک تنظیم کننده بسیار مهم در چرخه سلولی است [۴۸]. سه میکروRNA شامل miR-221، miR-222 و miR-146 در سرطان پاپیلاری تیروئید در مقایسه با بافت‌های طبیعی تنظیم رونویسی بالایی دارد [۴۹]. همراه با تنظیم افزایشی این سه میکروRNA کاهش رونویسی KIT و پروتئین Kit نشان داده شد که هر دوی آن‌ها در بیماری‌زایی سرطان تیروئید نقش دارد. تجزیه و تحلیل ریزآرایه سرطان پاپیلاری تیروئید نشان می‌دهد که ژن‌های متعددی به طور مستقیم و غیرمستقیم توسط miR-221 تنظیم شده و مطالعات بیشتر در محیط مصنوعی، آزمایشگاهی (*In vitro*) یا در محیط طبیعی (*In vivo*) با استفاده از سیستم تصویربرداری زیست‌تابی (Bioluminescence Imaging System) تنظیم کاهش‌دهنده ژن HOXB5 توسط miR-221 داخلی و خارجی را تأیید کرد [۵۰]. اخیراً گزارش شده است که دو مهارکننده هیستون داستیلاز، به نام‌های تریکوستاتین A (Trichostatin A) و وورینوستات (Vorinostat) باعث القای بیان miR-129-5p، استیل‌سیون هیستون و مرگ سلولی در رده سلولی سرطان آناپلازیک و پاپیلاری و نیز در کشت‌های اولیه سرطان تیروئید پاپیلاری می‌شود [۵۱].

اپیژنتیک سرطان پاپیلاری تیروئید

سرطان پاپیلاری تیروئید بیش از ۹۰ درصد از بدخیمی‌های تیروئید را تشکیل می‌دهد [۵۲]. با روش‌های تشخیصی اصلاح شده، ماهیت سرطان پاپیلاری تیروئید بیشتر از قبل شناخته شده است [۵۳، ۵۴]. تغییرات ژن‌های RET/PTC، BRAF و RAS با تومورزایی پاپیلاری تیروئید ارتباط دارد. بیماری‌زایی سرطان پاپیلاری تیروئید از منظر مولکولی هنوز به طور کامل شناخته نشده است. با توجه به تغییرات ژنی، سرطان‌های پاپیلاری تیروئید در مقایسه با

اپی ژنتیک سرطان تیروئید

تهاجم کم (MI-FTC) و تهاجم گسترده (WI-FTC) تقسیم می‌شود [۵۹]. تا آن‌جا که به انکوژن‌ها مربوط می‌شود، جهش در ژن RAS می‌تواند به‌عنوان اولین مرحله در تومورزایی تیروئید نقش داشته باشد، زیرا این جهش با فراوانی ۲۴-۵۳ درصد در سرطان‌های فولیکولی (FA) و ۱۸-۵۲ درصد در سرطان فولیکولی تیروئید وجود دارد [۶۰]. در سرطان فولیکولی تیروئید، بازآرایی PAX8-PPAR γ نیز گزارش شده است [۶۱]. بازآرایی RET/PTC که خاص سرطان تیروئید پاپیلاری است و در FA یا سرطان فولیکولر تیروئید گزارش نشده است، نشان می‌دهد که سازوکارهای القایی و مؤثر در پیشرفت تومور در این حالت به‌صورت متفاوت است [۶۲]. مولکول PTEN فسفاتازی است که مسیر PI3K/Akt را مهار می‌کند. در بیش از ۵۰ درصد از موارد سرطان فولیکولی و آدنوماها ژن PTEN به‌صورت نا به جا متیله می‌شود که نشان دهنده نقش تغییرات اپی ژنتیک این ژن در تومورزایی تیروئید است [۶۳]. فعالیت تلمورازی از دیگر عوامل مؤثر در تهاجمی بودن سرطان تیروئید است. افزایش فعالیت تلمورازها ناشی از تغییرات بیان ژن hTERT، با استفاده از روش RT-PCR در چند مطالعه بررسی شده است. نتایج نشان داد که در ۷۱ درصد از سرطان‌های فولیکولر تیروئید ارتباط معنی‌داری میان بیان این ژن و فعالیت تلمورازی وجود دارد [۶۴، ۶۵]. اخیراً تجزیه و تحلیل گسترده بیان مجموعه miRNAهای miR-221/222، miR-10b و miR-92a در MI-FTC به‌طور معنی‌داری تنظیم افزایشی را در متاستاز این سرطان نشان داده است [۶۶]. همچنین miR-183 و miR-146b ممکن است توسعه این نوع از سرطان تیروئید را از طریق القای مهاجرت و مهار مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده تحت تأثیر قرار دهد [۶۷].

اپی ژنتیک سرطان مدولاری تیروئید

سرطان مدولاری تیروئید که توموری بدخیم با منشأ سلول‌های پارافولیکولر C مشتق شده از ستیغ عصبی است، ۳-۱۰ درصد از کل انواع سرطان‌های تیروئید را شامل می‌شود و

سرطان‌های فولیکولر تیروئید بدون این که در یک منطقه خاص شیوع بالاتری را نشان دهد، دارای شدت نسبتاً کمی از فقدان هتروزیگوزیته است [۵۵، ۵۶].

تجزیه و تحلیل کمی فرآیند افزایش متیلاسیون پروموتور در سرطان تیروئید مستلزم بررسی ژن‌های TSHR, RASSF1A, TIMP3, CALCA, CDH1, p16, S100, DAPK, RAR β 2 و TGF- β است [۳۰]. هیپرمتیلاسیون دو یا چند نشانگر از جمله RASSF1A, TSHR, RAR β 2, DAPK, CDH1 و TIMP3 در ۲۵ درصد از هیپرپلازیهای تیروئیدی، ۳۸ درصد از آدنوماها (Adenomas)، ۴۸ درصد از سرطان‌های تیروئید و ۱۰۰ درصد از رده سلولی قابل تشخیص است. تجزیه و تحلیل همبستگی رتبه‌ای از هیپرمتیلاسیون نشانگرها حاکی از آن است که زیرمجموعه‌ای از نشانگرها به‌صورت هماهنگ با هم هیپرمتیله می‌شوند که می‌تواند یک فرآیند تنظیمی ویژه غده تیروئید را نشان دهد [۳۰]. به‌علاوه؛ یک رابطه مثبت میان جهش BRAF و RAR β 2 و یک رابطه منفی میان جهش BRAF و RASSF1A دیده شده است [۳۰]. بررسی متیلاسیون DNA در سرطان پاپیلاری تیروئید غالباً با استفاده از روش‌های غیرکمی ویژه لوکوس محدود به ژن‌های مهارگر تومور و ژن‌هایی که در عملکرد غده تیروئید نقش دارند، است. ژن‌های BRAF, RASSF1A, TSHR, ECAD, NIS-L, ATM, DAPK, SLC5A8, TIMP3 و RAR β 2 از لحاظ متیلاسیون DNA تجزیه و تحلیل شده‌اند. افزایش متیلاسیون پروموتور ژن‌های ECAD, NIS-L و ATM به‌ترتیب در ۳۴-۵۹ درصد، ۲۲ درصد، ۵۰ درصد و ۵۶ درصد از بیماران مبتلا به سرطان تیروئید پاپیلاری ثابت شده است [۵۷، ۵۸].

اپی ژنتیک سرطان فولیکولر تیروئید

سرطان فولیکولر تیروئید براساس حضور تهاجم عروقی یا کپسولی یا عدم حضور ویژگی‌های هسته‌ای تشخیصی سرطان پاپیلاری تیروئید تعریف می‌شود. این سرطان به دو حالت با

مستول ۱۳/۴ درصد از موارد مرگ ناشی از سرطان‌های تیروئید است [۶۸]. محصول ژن RET به‌عنوان یک پروتوانکوژن، از طریق مسیر MAPK و PI3K/AKT نقش اساسی در بقای سلول، مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و تکثیر ایفا می‌کند. بنابراین جهش‌های ژن RET که از آن یک انکوژن می‌سازد، به‌عنوان یک هدف مهم تشخیصی و درمانی در سرطان مدولاری تیروئید در نظر گرفته می‌شود [۶۹]. جهش‌های بنیادی ژن RET تقریباً در همه موارد وراثتی این سرطان دیده می‌شود و جهش‌های پیکری (سوماتیک) این ژن در موارد تک‌گیر این بیماری نیز مشاهده شده‌است [۷۰-۷۶]. از سوی دیگر، پروتئین‌های جهش‌یافته فعال‌کننده RET نیز موجب تقویت سیگنال‌رسانی مسیر MAPK می‌شود [۷۷]. تنظیم نا به جای میکروRNAها نیز در ارتباط با وضعیت RET و پیش‌آگهی مربوط به این سرطان در بیماران مبتلا گزارش شده است [۷۸]. مطالعات اخیر نشان دهنده نقش RNAهای غیر کدکننده در دیگر مسیرهای مرتبط با بروز این سرطان است. برای مثال miR-129-5p به‌طور قابل توجهی باعث کاهش رشد سلول، القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و مهار توانایی مهاجرت سلول‌های سرطان مدولاری تیروئید از طریق کاهش فسفریلاسیون AKT به‌عنوان عامل مهارکننده تومور می‌شود. تنظیم کاهشی این مولکول در سرطان مدولاری تیروئید مشاهده شده است [۷۹]. میکروRNAهای miR-10a و miR-375 و miR-455 از دیگر میکروRNAهایی هستند که تغییرات بیان آن‌ها در رابطه با این سرطان گزارش شده است [۸۰].

اپی‌ژنتیک سرطان آناپلازیک تیروئید

در مقایسه با سایر بدخیمی‌های تیروئید، سرطان‌های تیروئید با تمایز کم و سرطان آناپلازیک تیروئید الگوی ژنی پیچیده‌تر و نه چندان مجزایی دارند. جهش‌های شناخته شده BRAF و RAS که در سرطان پاپیلاری تیروئید رخ می‌دهد، در بیش از ۵۰ درصد از موارد سرطان‌های تیروئید با تمایز کم نیز دیده می‌شود [۴]. در حدود یک سوم از سرطان‌های

آناپلازیک تیروئید، احتمالاً آن‌هایی که از سرطان‌های تیروئید با تمایز کم به‌وجود آمده باشد، جهش V600E در ژن BRAF را دارد [۶۰]. همچنین پیشنهاد شده است که سرطان آناپلازیک تیروئید ممکن است از سلول‌های حامل جهش ژن RAS در سرطان فولیکولر مشتق شده باشد، چرا که جهش ژن RAS در ۵۰-۶۰ درصد از سلول‌ها در این نوع از سرطان تشخیص داده شده است [۸۱]. علاوه بر آن؛ جهش در ژن PI3KCA در مسیر AKT و فعالیت ERK در سرطان آناپلازیک تیروئید گزارش شده است [۸۱]. جهش‌های دیگری هم از جمله جهش در ژن‌های p53 و بتاکاتین (β -catenin) به‌طور متداول در سرطان آناپلازیک تیروئید مشاهده شده‌است. ژن مهارگر تومور p53 در پیشرفت سرطان تیروئید از حالت اولیه به حالت تهاجمی نقش اساسی دارد. جهش غیر فعال‌کننده ژن p53 که به ندرت در سرطان‌های کاملاً تمایز یافته تیروئید دیده می‌شود، در ۵۵ درصد از موارد در سرطان‌های تیروئید با تمایز کم و سرطان آناپلازیک تیروئید تشخیص داده شده است [۸۱]. میزان بیان ژن بتاکاتین در غشای همراه با کاهش میزان تمایز تومور به تدریج کاهش میابد که منجر به تهاجمی شدن تومور و باعث افزایش پتانسیل متاستازی می‌شود [۸۲]. اخیراً گروه جدیدی از میکروRNAها با توانایی هدف قرار دادن بیان ژن‌های دخیل در راه‌اندازی اتوفاژی (روند خود تخریبی اندامک‌ها) در حال شناخته شدن است. برای مثال، در مطالعه‌ای نشان داده شده است که miR-30d تنظیم منفی بیان ژن beclin 1 را که پروتئین کلیدی در راه‌اندازی فرآیند اتوفاژی را کد می‌کند، به عهده دارد. این میکروRNA در سطح بسیار پایینی در سلول‌های سرطانی آناپلازیک تیروئید بیان می‌شود [۸۳]. از سوی دیگر؛ توان تهاجم سلول‌های سرطانی تیروئید تا حدی وابسته به فعال شدن مسیر سیگنالی ناشی از اتصال عامل رشد اپیدرمی (EGF) به گیرنده آن است (EGF/EGFR). مطالعات اخیر نشان داده است که خانواده miR-200 نقش تنظیمی در بیان اجزای این مسیر دارد و بنابراین در تعیین توان تهاجم این سلول‌ها دخیل است [۸۴]. بیان افزایشی اعضای خانواده ۲۰۰-miR به‌عنوان رویکرد درمانی جدید برای سرطان‌های تیروئید

اپی ژنتیک سرطان تیروئید

اپی ژنتیک DNA کروموزومی و هیستون‌ها است. یک ویژگی مهم تأثیرات اپی ژنتیک بر بیان ژن، معکوس‌پذیری آن‌ها است. حداقل در تئوری، تغییرات اپی ژنتیکی محرک سرطان، باید برای دارودرمانی هدفمند هم قابل استفاده باشد. دو استراتژی اپی ژنتیک بالقوه برای درمان کارسینومای سرطان پیشنهاد شده‌است: اولی مستلزم تمایز مجدد تومورها برای احیای پاسخ‌گویی آن‌ها به درمان با ید رادیواکتیو است و دومی به خاموشی‌زدایی ژن‌های مهارگر تومور بستگی دارد که می‌تواند مانع رشد سلول توموری یا تهاجمی بودن آن شود.

داروهای اپی ژنتیکی

درمان اپی ژنتیک توسط سازوکارهای اپی ژنتیکی باعث فعال شدن ژن‌هایی می‌شود که در سرطان به‌طور غیر طبیعی خاموش شده‌است. داروهای اپی ژنتیک دو سازوکار اصلی تغییرات اپی ژنتیکی، متیلاسیون و استیلاسیون DNA را هدف قرار می‌دهد. همچنین تمایز و تکثیر سلول‌های تغییر شکل یافته را کنترل می‌کند. تاکنون داروهای اپی ژنتیک مختلفی در آزمایش‌های بالینی برای درمان سرطان تیروئید پیشرفته استفاده شده‌است (جدول ۱). امکان درمان مبتنی بر میکروRNAها در سرطان، با استفاده از این مولکول‌های کوچک به‌عنوان هدف و ابزار، نشان دهنده درمان جدید و جالب است. چندین مطالعه پیش‌بالینی برای بررسی این احتمال انجام شده‌است؛ با این حال تاکنون هیچ آزمایش بالینی در دسترس نیست.

که توان تهاجمی بالایی دارد پیشنهاد شده است.

کاربرد اپی ژنتیک در سرطان تیروئید

پیشرفت در حوزه ژنتیک سرطان منجر به تولید رده جدیدی از داروها به نام "داروهای هدفمند" شده است که به‌صورت گزینشی روی سلول‌های سرطانی عمل می‌کند که دارای اختلالات ژنتیکی خاصی باشند و این عوامل برای درمان کارسینومای تیروئید پیشرفته تحت بررسی بالینی قرار دارد [۸۵، ۸۶]. خصوصیات تمایز و تکثیر سلول‌های سرطان تیروئید قویاً تحت تأثیر تغییرات اپی ژنتیکی قرار دارد [۸۷] که تصور می‌شود به اندازه رویدادهایی که توسط جهش در ژن‌ها ایجاد می‌شود، در تولید و پیشرفت سرطان در انسان اهمیت داشته باشد [۱۲، ۳۶، ۸۸]. نتایج مقدماتی درمورد استراتژی‌های درمان اپی ژنتیک در چند نوع سرطان به‌دست آمده است [۸۹] و شناخت تغییرات اپی ژنتیکی که در کارسینومای تیروئید رخ می‌دهد (اغلب همراه با تغییرات ژنتیکی) می‌تواند روش‌های مؤثرتری برای درمان این نوع تومور را فراهم کند که به تعدیل‌های درمانی که درحال حاضر در دسترس است، پاسخ نداده‌اند. اخیراً روش‌های درمانی هدفمند که مبنای زیستی دارد، برای درمان سرطان تیروئید پیشرفته مورد استفاده قرار می‌گیرد. این رویکردهای درمانی براساس شناسایی جهش‌های کلیدی که منجر به سرطان‌زایی می‌شود، فرآیندهای تسهیل‌کننده رشد تومور مانند رگ‌زایی القا شده توسط کمبود اکسیژن یا تغییرات

جدول ۱ داروهای اپی ژنتیکی مورد استفاده در آزمایش‌های بالینی برای درمان سرطان تیروئید پیشرفته [۹۰]

نام دارو	هدف اپی ژنتیکی	مرحله پیشرفت تومور
دسیتابین (Decitabine)	DNMT	فاز II
دپسی‌پپتید (Depsipeptide)	HDAC1,2	فاز I/II
وورینوستات (SAHA)	HDACs (کلاس I, IIa, IIb و IV)	فاز II
والپوریک اسید (Valproic Acid: VPA)	HDACs (کلاس I, II)	فاز II/III
پانوبینوستات (Panobinostat) (LBH589)	HDACs (کلاس I, IIa, IIb و IV)	فاز II
رومیدپسین (Romidepsin)	HDACs	فاز I/II
بلینوستات (Belinostat) (PXD101)	HDACs	فاز I

رادیواکتیو پاسخ نمی‌دهند، توسط دسیتابین در جریان است. نتایج این آزمایش که هدف اولیه آن تعیین توانایی دسیتابین در احیای دریافت ید ۱۳۱ در بیماران مبتلا به سرطان فولیکولر یا پاپیلاری تیروئید متاستاز بود، تاکنون ارایه نشده است [۱۰۱].

مهارکننده‌های هیستون داستیلاز

استیلاسیون و داستیلاسیون هیستون یکی از روی دادهای کلیدی در کنترل رونویسی ژن محسوب می‌شود؛ هیستون استیل ترانسفرازها (HATها) و هیستون داستیلازها (HDACها) واکنش‌های مربوط را کاتالیز می‌کند و در ضمن پروتئین‌های غیرهیستونی مثل عوامل رونویسی را هدف قرار می‌دهد [۳۸]. مهارکننده‌های هیستون داستیلاز (DCI) به‌عنوان داروهای بسیار جالب برای درمان تومور محسوب می‌شود، زیرا با هدف‌گیری مسیرهای تومورزایی مختلف ترجیحاً سلول‌های تغییر شکل یافته را می‌کشد و نسبتاً برای سلول‌های طبیعی غیرسمی است [۱۰۲]. چند رده ساختاری DCI شامل اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه مثل فنیل بوتیرات و والپوریک اسید (VPA)، تتراپتیدهای حلقوی مثل تراپوکسین A، پپتیدهای حلقوی مثل دپسی پپتید (FK228) و آپیسیدین، بنزامیدها مثل MS27-275 و CI-994، اسیدهای هیدروکسامیک مثل سوپروئیل آنیلید هیدروکسامیک اسید (SAHA)، اکسامپلاتین، تریکوستاتین A و مهارکننده‌های کلی تازه کشف شده به‌نام‌های LAQ824، PXD101 و LBH589 [۱۰۳-۱۰۵] شناسایی شده‌است. در سرطان تیروئید دپسی پپتید، SAHA، اسید والپوریک و پانوبینوستات جزء DCIهای اصلی هستند که مورد بررسی قرار گرفته‌اند. امروزه برای مبارزه با سرطان‌های مقاوم به شیمی درمانی و پرتو درمانی داروهایی که فرآیندهای اتوفاژی را مورد هدف قرار می‌دهد، به‌عنوان یک رویکرد درمانی با ارزش مورد توجه قرار گرفته‌است [۱۰۶، ۱۰۷]. نتایج تجربی متعدد نشان می‌دهند که کارایی این‌گونه از درمان‌ها منحصراً به میزان فرآیند اتوفاژی که در سلول‌های توموری اتفاق

احتمال درمان در تومورهای مدولاری اگر پیش از متاستاز تشخیص داده شود، وجود دارد. اما اگر متاستاز رخ داده باشد، احتمال بهبودی کمتر خواهد بود. در حال حاضر تعدادی از آزمایش‌های بالینی در مورد مهارکننده‌های تیروزین کیناز و عوامل رگ‌زایی در حال انجام است [۹۱]. سرطان آناپلازیک تیروئید تقریباً با درمان‌های سنتی گذشته درمان نمی‌شود؛ بنابراین درمان اپی‌ژنتیکی آن مورد توجه قرار گرفته است. به‌عنوان مثال مهار داستیلاسیون هیستون‌ها در بیان منتقل‌کننده دیدید سدیم تأثیر می‌گذارد و باعث سمیت سلولی ^{131}I در سرطان آناپلازیک تیروئید می‌شود [۹۲]. در واقع یک استراتژی بالقوه برای درمان این سرطان با تغییر بیان ژن، همراه با القای پاسخ به درمان با ید رادیواکتیو است. همچنین راه درمانی نوینی از طریق تمایز مجدد و القای مهارکننده‌های تومور مانند miR-375 و miR-122 توسط پروتئین PAX8/PPAR γ برای درمان این سرطان ارایه شده است [۹۳].

داروهای دمتیله‌کننده

در طول پیشرفت تومور غده تیروئید، بسیاری از ژن‌های تیروئید (مثل NIS و پذیرنده TSH) هیپرمتیله شده و در نتیجه خاموش می‌شود؛ داروهای دمتیله‌کننده می‌تواند فنوتیپ سلولی بدخیم را برعکس کند. در واقع، نشان داده شده است که داروهای دمتیله‌کننده مثل دسیتابین می‌تواند بیان ژن‌های NIS و TSH-R را در رده سلولی کارسینومای تیروئید انسانی احیا کند [۹۴]. همچنین درمان با دسیتابین رشد سلول‌های توموری تمایز نیافته و تمایززدایی شده را مهار می‌کند [۹۴-۹۸]. در حال حاضر مهارکننده‌های متیل ترانسفراز به‌نام‌های آزاسیتیدین (Azacitidine) و دسیتابین برای درمان بالینی نشانگان میلودیسپلاسیک (Myelodysplastic Syndrome) مجوز گرفته‌اند، اما عوامل هیپومتیله‌کننده جدید [از جمله زبولارین (Zebularine)] در مراحل مختلف بررسی درمان سرطان است [۹۹، ۱۰۰]. یک آزمایش بالینی فاز II برای درمان بیماران مبتلا به سرطان تیروئید متاستاز که به درمان با ید

اپیژنتیک سرطان تیروئید

این درمان یک پاسخ جزئی نشان داد، ولی یک بیمار مبتلا به سرطان تیروئید پاپیلاری در اسکن PAI بعد از درمان بهبودهایی را نشان می‌داد [۱۱۶]. بعد از آن، یک آزمایش فاز II انجام گرفت تا مشخص شود آیا SAHA در بیماران مبتلا به سرطان‌های تیروئید بدخیم که به درمان استاندارد پاسخ نمی‌دهند فعال است یا نه؟ ولی متأسفانه این نتیجه به دست آمد که مصرف ۲۰۰ میلی‌گرم از این دارو دوبار در روز برای درمان سرطان تیروئید پیشرفته مؤثر نبوده است [۱۱۷].

اسید والپوریک

اسید والپوریک یک اسید چرب زنجیره کوتاه است که مدت‌ها است برای صرع و اختلال رفتاری استفاده می‌شود [۱۱۸]. این اواخر فعالیت آن به‌عنوان یک DCI و خصوصیات ضد تکثیری و پیش‌تمایزی آن در برخی تومورهای توده‌ای و همولیزی گزارش شده است [۱۱۹-۱۲۱]. در دهه اخیر آزمایشگاه‌ها علاقه زیادی به مطالعه تأثیرات ضدتوموری VPA روی سلول‌های سرطان تیروئید تمایز نیافته نشان داده‌اند. در سال ۲۰۰۴ نشان داده شده است که VPA باعث القای بیان ژن NIS، جایگیری غشایی NIS و انباشتگی ید در سلول‌های سرطان تیروئید با تمایز کم می‌شود [۱۲۲]. همچنین این دارو در مهار رشد رده‌های سلولی سرطان تیروئید با تمایز کم به شدت مؤثر بوده است و باعث القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و چرخه سلولی می‌شود [۱۲۳، ۱۲۴]. در راستای این نتایج، شن (Shen) و همکاران [۱۵] نشان دادند که در رده‌های سلولی فولیکولی متاستاز هم استفاده از VPA باعث مهار محسوس رشد می‌شود. متأسفانه در سلول‌های ATC، القای mRNA NIS با تغییر برداشت ید همراه نبوده است و استفاده از VPA مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده را القا نمی‌کند. به‌طور کلی این یافته‌ها نشان می‌دهد که VPA به تنهایی در درمان سرطان آناپلازیک تیروئید مؤثر نیست؛ با این حال، ثابت شده است که این دارو باعث افزایش سمیت سلولی دوکسوروبیسین در سلول‌های ATC می‌شود و اثر حساسیت

می‌افتد بستگی دارد. پدیده اتوفازای در این سلول‌ها خود توسط دو عامل جهش‌های ژنتیکی و وقایع اپیژنتیک کنترل می‌شود [۱۰۷]. اسید والپوریک به‌عنوان یک مهارکننده HDAC در استیلاز و یک تعدیل‌کننده اپیژنتیک می‌تواند در درمان سرطان آناپلازیک تیروئید نقش داشته باشد [۱۰۸، ۱۰۹].

دپسی پتید

دپسی پتید (FK228 یا FR901228) یک پتید حلقوی است که در غلظت‌های نانومولار مانع فعالیت هیستون داستیلاز می‌شود [۱۰۲]. در سلول‌های SW-1736، این مهارکننده باعث تحریک بیان NIS می‌شود، برداشت ید را احیا و سلول‌ها را در برابر دوکسوروبیسین (Doxorubicin) حساس می‌کند [۱۱۰]. استفاده از این دارو به تنهایی مانع رشد یک کشت اولیه از یک تومور پاپیلاری متاستاز BRAF V600E می‌شود، ولی اگر همراه با پاکلیتاکسال (Paclitaxel)، لاوستاتین (Lovastatin) یا جفتینیب (Gefitinib) استفاده شود، تأثیرات هم‌افزایی خواهد گذاشت. ژن درمانی با p53 همراه با دپسی پتید موجب مهار رشد رده سلولی آناپلازیک FRO می‌شود [۱۱۱، ۱۱۲].

وورینوستات

وورینوستات (SAHA) یک اسید هیدروکسامیک است که مستقیم به جایگاه کاتالیزی HDAC متصل شده و مانع فعالیت آنزیمی DAC می‌شود و باعث القای توقف رشد و مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده وابسته به کاسپاز در سلول‌های FRO تیروئید آناپلازیک می‌شود [۱۱۳، ۱۱۴]. به‌علاوه؛ باعث حساس شدن سلول‌ها به دوکسوروبیسین شده و مانع تکثیر تومورهای آناپلازیک FRO می‌شود که در غده موش‌ها رشد کرده‌اند [۱۱۵].

در فاز I مطالعه‌ای که روی وورینوستات در سرطان‌های پیشرفته انجام شد، شش بیمار مبتلا به سرطان تیروئید ثبت نام کردند؛ یک بیمار که به تومور پاپیلاری پیشرفته دچار بود به

مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده را بهبود می‌بخشد و دوکسوروبیسین باعث القای توقف چرخه سلولی G2 می‌شود [۱۲۵]. همچنین نشان داده شده است که برخی رده‌های سلولی که در این مطالعات *In vitro* استفاده شده‌اند منشأ غیر تیرویدی دارند [۱۲۶]؛ بنابراین نتایجی که با این رده‌های سلولی به دست آمده است باید با احتیاط تفسیر شود. با این حال در مطالعات مشابه، سلول‌های دارای منشأ تیرویدی رفتار مشابهی را نشان داده‌اند.

پانویستات

پانویستات (LBH589) یک اسید هیدروکسامیک با فعالیت ضدتوموری قوی در غلظت نانومولار علیه همه رده‌های آنزیم‌های HDAC است (مهار کننده pan-DAC) [۱۰۵]. درمان با LBH589 به روش *In vitro* در سه رده سلولی سرطان آناپلازیک تیروید (BHT-101, CAL-62 و 8305C) منجر به آسیب حیات سلولی، مهار تشکیل کلونی، توقف چرخه سلولی و القای مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده شد. پانویستات پایداری میکروتوبول را که از روی استیل‌اسیون توبولین و افزایش پلیمریزاسیون آن نشان داده می‌شود، تعیین می‌کند. ویژگی‌های سیتوتوکسیک LBH589 در یک مدل گزینگرافت (Xenograft Model) نقص ایمنی شدید مرکب که با سلول‌های CAL-62 درون کاشت شده بود، تأیید شد [۱۲۷].

داروهای آزانوکلئوزید از عوامل دتمیله کننده‌ای است که در حال حاضر برای درمان نشانگان میلودیسپلاسیک تأیید شده است [۱۲۸، ۱۳]. این داروها به عنوان آنزیم‌های DNA متیل ترانسفراز عمل می‌کند تا بتواند درون DNA جای گرفته و به طور مؤثر بر حالت تمایز یافته تأثیر بگذارد. سایر مهار کننده‌های نوکلئوزید DNA عبارتند از ۵-فلورو-۲-داکسی سائیدین و زبولامین که در حال توسعه و گسترش هستند [۱۲۹]. هیستون داستیلازها و هیستون متیل ترانسفرازها گزینه‌های منطقی دیگری برای تولید دارو محسوب می‌شوند [۱۳۰، ۱۳۱]. هیستون داستیلاز SAHA در حال حاضر از سوی FDA برای درمان لنفومای سلول T

مجوز گرفته است [۱۳۲].

نتیجه گیری

با ارتقای روش‌های تشخیصی، تومورهای اندوکراین بیشتر از قدیم شناسایی می‌شود. سازوکارهای اپی ژنتیک، به خصوص متیلاسیون نا به جای DNA، به احتمال زیاد نقش مهمی در تومورزایی تیروید دارد. به‌طور کلی تجزیه و تحلیل‌های سیستماتیک و منظم بدون جهت‌گیری، روی نواحی متیله در تومور احتمالاً مسیرهای سیگنال‌رسانی را که منجر به گسترش سرطان می‌شود، شناسایی خواهد کرد. تجزیه و تحلیل تغییرات اپی ژنتیکی در سرطان تیروید به شناسایی بیماری‌زایی آن کمک می‌کند و می‌تواند نقش اساسی و مهمی را در طبقه‌بندی و تشخیص تومور ایفا کند. از آنجایی که وقایع متعدد اپی ژنتیک ممکن است به‌صورت هماهنگ با هم روی یک مسیر سلولی تأثیر بگذارند به احتمال زیاد درمان‌های اپی ژنتیک باید به‌صورت همزمان از چندین دارو استفاده کند که هر یک از این داروها به تنهایی بر روی خاموش کردن اپی ژنتیک ژن‌ها تأثیر می‌گذارد و داروهای مذکور در کنار هم اثر یکدیگر را تقویت کنند.

داروهای اپی ژنتیک که دو سازوکار اصلی تغییرات اپی ژنتیکی، یعنی متیلاسیون و استیل‌اسیون DNA را هدف قرار می‌دهد از سوی متخصصین غدد و سرطان شناسان بیشتر از قبل مورد توجه قرار گرفته است. نتایج قطعی آزمایش‌های بالینی در نهایت تأثیرگذاری واقعی داروهای اپی ژنتیک را که به تنهایی برای درمان سرطان تیروید پیشرفته استفاده شده‌است، روشن خواهد کرد. پیچیدگی تداخل میان مسیرهای سیگنال‌رسانی پروتئین نشان دهنده آن است که یک مهار کننده سیگنال‌رسانی تنها تأثیرات متوسطی را ایجاد می‌کند و چندین مسیر باید مهار شود تا تأثیر خوبی روی رشد سرطان تیروید بگذارد. در این راستا، داروهای اپی ژنتیک که همراه با سایر مولکول‌های هدف استفاده می‌شود، می‌تواند افزایش چشمگیری در میزان پاسخ به درمان در سرطان تیروید پیشرفته ایجاد کند که یا با باز کردن ساختار کروماتین و قابل دسترس

اپی ژنتیک سرطان تیروئید

کینازها (Cabozantinib) را هدف قرار می‌دهد، ارجحیت کمتری دارد. آنتاگونیست‌های پروتئین کیناز، اگرچه بدون عوارض جانبی هم نیستند، قطعاً شدت پاسخ بهتری را در آزمایش‌های بالینی تولید کرده‌اند. به هر حال ایمنی و کارایی سایر HDACiها و داروهای دمتیله کننده به تنهایی یا ترکیبی هنوز در حال بررسی است. تا وقتی که نتایج این آزمایش‌ها در دسترس قرار بگیرد، تحقیق روی تغییرات اپی ژنتیک در سرطان غده تیروئید باید با هدف نهایی ابداع درمان‌های مؤثر این تومورها ادامه یابد.

بودن آن برای تأثیر دارویی که DNA را هدف قرار می‌دهد اعمال می‌شود، یا این که تأثیر هم‌افزایی با داروهای ضد میتوزی اعمال می‌کند.

مطالعات اولیه بالینی شواهدی را نشان می‌دهد که داروهای مهار کننده داستیلاسیون و عوامل دمتیله کننده (تریکوستانین A و دکیتابین) در درمان سرطان تیروئید مفید هستند و این داروها علیه کارسینوماهای تیروئید بدخیم که با ید رادیواکتیو درمان نمی‌شود آزمایش شده است. با توجه به این یافته‌های مقدماتی، استراتژی‌های اپی ژنتیک در مقایسه با روش‌هایی که پروتئین

منابع

- [1] Kilfoy BA, Zheng T, Holford TR, Han X, Ward MH, Sjodin A, Zhang Y, Bai Y, Zhu C, Guo GL, Rothman N, Zhang Y. International patterns and trends in thyroid cancer incidence, 1973-2002. *Cancer Causes Control* 2009; 20(5): 525-31.
- [2] Patel KN, Shaha AR. Poorly differentiated and anaplastic thyroid cancer. *Cancer Control* 2006; 13(2): 119-28.
- [3] Fassnacht M, Kreissl MC, Weismann D, Allolio B. New targets and therapeutic approaches for endocrine malignancies. *Pharmacol Ther* 2009; 123(1): 117-41.
- [4] Ghossein R. Problems and controversies in the histopathology of thyroid carcinomas of follicular cell origin. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133(5): 683-91.
- [5] Smith BD, Smith GL, Hurria A, Hortobagyi GN, Buchholz TA. Future of cancer incidence in the United States: burdens upon an aging, changing nation. *J Clin Oncol* 2009; 27(17): 2758-65.
- [6] Sherman SI. Cytotoxic chemotherapy for differentiated thyroid carcinoma. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2010; 22(6): 464-8.
- [7] Catalano MG, Poli R, Pugliese M, Fortunati N, Boccuzzi G. Emerging molecular therapies of advanced thyroid cancer. *Mol Aspects Med* 2010; 31(2): 215-26.
- [8] Roman S, Lin R, Sosa JA. Prognosis of medullary thyroid carcinoma: demographic, clinical, and pathologic predictors of survival in 1252 cases. *Cancer* 2006; 107(9): 2134-42.
- [9] Xing M. BRAF mutation in thyroid cancer. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12(2): 245-62.
- [10] Zuo H, Gandhi M, Edreira MM, Hochbaum D, Nimgaonkar VL, Zhang P, Dipaola J, Evdokimova V, Altschuler DL, Nikiforov YE. Downregulation of Rap1GAP through epigenetic silencing and loss of heterozygosity promotes invasion and progression of thyroid tumors. *Cancer Res* 2010; 70(4): 1389-97.
- [11] Waddington CH. The epigenotype. 1942. *Int J Epidemiol* 2012; 41(1): 10-3.
- [12] Feinberg AP, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer.

- Nat Rev Genet 2006; 7(1): 21-33.
- [13] Jones PA, Baylin SB. The epigenomics of cancer. *Cell* 2007; 128(4): 683-92.
- [14] Shen WT, Chung WY. Treatment of thyroid cancer with histone deacetylase inhibitors and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists. *Thyroid* 2005; 15(6): 594-9.
- [15] Shen WT, Wong TS, Chung WY, Wong MG, Kebebew E, Duh QY, Clark OH. Valproic acid inhibits growth, induces apoptosis, and modulates apoptosis-regulatory and differentiation gene expression in human thyroid cancer cells. *Surgery* 2005; 138(6): 979-84.
- [16] Gilchrist DA, Fargo DC, Adelman K. Using ChIP-chip and ChIP-seq to study the regulation of gene expression: genome-wide localization studies reveal widespread regulation of transcription elongation. *Methods* 2009; 48(4): 398-408.
- [17] Esteller M, Fraga MF, Guo M, Garcia-Foncillas J, Hedenfalk I, Godwin AK, Trojan J, Vaurs-Barrière C, Bignon YJ, Ramus S, Benitez J, Caldes T, Akiyama Y, Yuasa Y, Launonen V, Canal MJ, Rodriguez R, Capella G, Peinado MA, Borg A, Aaltonen LA, Ponder BA, Baylin SB, Herman JG. DNA methylation patterns in hereditary human cancers mimic sporadic tumorigenesis. *Hum Mol Genet* 2001; 10(26): 3001-7.
- [18] Eden A, Gaudet F, Waghmare A, Jaenisch R. Chromosomal instability and tumors promoted by DNA hypomethylation. *Science* 2003; 300(5618): 455.
- [19] Baylin SB, Ohm JE. Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? *Nat Rev Cancer* 2006; 6(2): 107-16.
- [20] Baylin SB, Herman JG. DNA hypermethylation in tumorigenesis: epigenetics joins genetics. *Trends Genet* 2000; 16(4): 168-74.
- [21] Herman JG, Baylin SB. Gene silencing in cancer in association with promoter hypermethylation. *N Engl J Med* 2003; 349(21): 2042-54.
- [22] Iacobuzio-Donahue CA. Epigenetic changes in cancer. *Annu Rev Pathol* 2009; 4: 229-49.
- [23] Jones PL, Veenstra GJ, Wade PA, Vermaak D, Kass SU, Landsberger N, Strouboulis J, Wolffe AP. Methylated DNA and MeCP2 recruit histone deacetylase to repress transcription. *Nat Genet* 1998; 19(2): 187-91.
- [24] Nan X, Ng HH, Johnson CA, Laherty CD, Turner BM, Eisenman RN, Bird A. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 1998; 393(6683): 386-9.
- [25] Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. *Nat Rev Cancer* 2004; 4(2): 143-53.
- [26] Hoffman GR, Rahal R, Buxton F, Xiang K, McAllister G, Frias E, Bagdasarian L, Huber J, Lindeman A, Chen D, Romero R, Ramadan N, Phadke T, Haas K, Jaskeloff M, Wilson BG, Meyer MJ, Saenz-Vash V, Zhai H, Myer VE, Porter JA, Keen N, McLaughlin ME, Mickanin C, Roberts CWM, Stegmeier F, Jagani Z. Functional epigenetics approach identifies BRM/SMARCA2 as a critical synthetic lethal target in BRG1-deficient cancers. *PNAS* 2014; 111(8): 3128-33.
- [27] Elisei R, Shiohara M, Koeffler HP, Fagin JA.

- Genetic and epigenetic alterations of the cyclin-dependent kinase inhibitors p15INK4b and p16INK4a in human thyroid carcinoma cell lines and primary thyroid carcinomas. *Cancer* 1998; 83(10): 2185-93.
- [28] Donniger H, Vos MD, Clark GJ. The RASSF1A tumor suppressor. *J Cell Sci* 2007; 120(Pt 18): 3163-72.
- [29] Schagdarsurengin U, Gimm O, Hoang-Vu C, Dralle H, Pfeifer GP, Dammann R. Frequent epigenetic silencing of the CpG island promoter of RASSF1A in thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62(13): 3698-701.
- [30] Hoque MO, Rosenbaum E, Westra WH, Xing M, Ladenson P, Zeiger MA, Sidransky D, Umbricht CB. Quantitative assessment of promoter methylation profiles in thyroid neoplasms. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(7): 4011-8.
- [31] Hu S, Liu D, Tufano RP, Carson KA, Rosenbaum E, Cohen Y, Holt EH, Kiseljak-Vassiliades K, Rhoden KJ, Tolaney S, Condouris S, Tallini G, Westra WH, Umbricht CB, Zeiger MA, Califano JA, Vasko V, Xing M. Association of aberrant methylation of tumor suppressor genes with tumor aggressiveness and BRAF mutation in papillary thyroid cancer. *Int J Cancer* 2006; 119(10): 2322-9.
- [32] Anand-Apte B, Bao L, Smith R, Iwata K, Olsen BR, Zetter B, Apte SS. A review of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 (TIMP-3) and experimental analysis of its effect on primary tumor growth. *Biochem Cell Biol* 1996; 74(6): 853-62.
- [33] Graff JR, Greenberg VE, Herman JG, Westra WH, Boghaert ER, Ain KB, Saji M, Zeiger MA, Zimmer SG, Baylin SB. Distinct patterns of E-cadherin CpG island methylation in papillary, follicular, Hurthle's cell, and poorly differentiated human thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1998; 58(10): 2063-6.
- [34] Wiseman SM, Masoudi H, Niblock P, Turbin D, Rajput A, Hay J, Filipenko D, Huntsman D, Gilks B. Derangement of the E-cadherin/catenin complex is involved in transformation of differentiated to anaplastic thyroid carcinoma. *Am J Surg* 2006; 191(5): 581-7.
- [35] Xing M. Gene methylation in thyroid tumorigenesis. *Endocrinology* 2007; 148(3): 948-53.
- [36] Chi P, Allis CD, Wang GG. Covalent histone modifications--miswritten, misinterpreted and mis-erased in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2010; 10(7): 457-69.
- [37] Sawan C, Vaissière T, Murr R, Hecceg Z. Epigenetic drivers and genetic passengers on the road to cancer. *Mutat Res* 2008; 642(1-2): 1-13.
- [38] Sterner DE, Berger SL. Acetylation of histones and transcription-related factors. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000; 64(2): 435-59.
- [39] Fraga MF, Ballestar E, Villar-Garea A, Boix-Chornet M, Espada J, Schotta G, Bonaldi T, Haydon C, Ropero S, Petrie K, Iyer NG, Pérez-Rosado A, Calvo E, Lopez JA, Cano A, Calasanz MJ, Colomer D, Piris MA, Ahn N, Imhof A, Caldas C, Jenuwein T, Esteller M. Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer. *Nat Genet* 2005; 37(4): 391-400.
- [40] Nakagawa M, Oda Y, Eguchi T, Aishima S, Yao T, Hosoi F, Basaki Y, Ono M, Kuwano M,

- Tanaka M, Tsuneyoshi M. Expression profile of class I histone deacetylases in human cancer tissues. *Oncol Rep* 2007; 18(4): 769-74.
- [41] Ellis L, Atadja PW, Johnstone RW. Epigenetics in cancer: targeting chromatin modifications. *Mol Cancer Ther* 2009; 8(6): 1409-20.
- [42] Puppin C, Passon N, Lavarone E, Di Loreto C, Frasca F, Vella V, Vigneri R, Damante G. Levels of histone acetylation in thyroid tumors. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 411(4): 679-83.
- [43] Kondo T, Nakazawa T, Ma D, Niu D, Mochizuki K, Kawasaki T, Nakamura N, Yamane T, Kobayashi M, Katoh R. Epigenetic silencing of TTF-1/NKX2-1 through DNA hypermethylation and histone H3 modulation in thyroid carcinomas. *Lab Invest* 2009; 89(7): 791-9.
- [44] Borbone E, Troncone G, Ferraro A, Jasencakova Z, Stojic L, Esposito F, Hornig N, Fusco A, Orlando V. Enhancer of zeste homolog 2 overexpression has a role in the development of anaplastic thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96(4): 1029-38.
- [45] Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, Diorio D, Nikiforov YE. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic utility. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(5): 1600-8.
- [46] Braun J, Hoang-Vu C, Dralle H, Hüttelmaier S. Downregulation of microRNAs directs the EMT and invasive potential of anaplastic thyroid carcinomas. *Oncogene* 2010; 29(29): 4237-44.
- [47] Pallante P, Visone R, Ferracin M, Ferraro A, Berlingieri MT, Troncone G, Chiappetta G, Liu CG, Santoro M, Negrini M, Croce CM, Fusco A. MicroRNA deregulation in human thyroid papillary carcinomas. *Endocr Relat Cancer* 2006; 13(2): 497-508.
- [48] Visone R, Russo L, Pallante P, De Martino I, Ferraro A, Leone V, Borbone E, Petrocca F, Alder H, Croce CM, Fusco A. MicroRNAs (miR)-221 and miR-222, both overexpressed in human thyroid papillary carcinomas, regulate p27Kip1 protein levels and cell cycle. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14(3): 791-8.
- [49] He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S, Calin GA, Liu CG, Franssila K, Suster S, Kloos RT, Croce CM, de la Chapelle A. The role of microRNA genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(52): 19075-80.
- [50] Kim HJ, Kim YH, Lee DS, Chung JK, Kim S. In vivo imaging of functional targeting of miR-221 in papillary thyroid carcinoma. *J Nucl Med* 2008; 49(10): 1686-93.
- [51] Brest P, Lassalle S, Hofman V, Bordone O, Gavric Tanga V, Bonnetaud C, Moreilhon C, Rios G, Santini J, Barbry P, Svanborg C, Mograbi B, Mari B, Hofman P. MiR-129-5p is required for histone deacetylase inhibitor-induced cell death in thyroid cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18(6): 711-9.
- [52] Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60(5): 277-300.
- [53] Davies L, Welch HG. Increasing incidence of thyroid cancer in the United States, 1973-2002. *JAMA* 2006; 295(18): 2164-7.
- [54] Yaghmaei P, Pouyamanesh Z, Oryan Sh, Zarif

- Yeganeh M, Hoghoughirad L, Hedayati M. Relationship of serum leptin level with papillary thyroid cancer in Iranian patients. *Kowsar Medical Journal* 2011; 16(1): 61-5.
- [55] Ishida E, Nakamura M, Shimada K, Higuchi T, Takatsu K, Yane K, Konishi N. DNA hypermethylation status of multiple genes in papillary thyroid carcinomas. *Pathobiology* 2007; 74(6): 344-52.
- [56] Hedayati M, Yaghmaei P, Pooyamanesh Z, Zarif Yeganeh M, Hoghoughi Rad L. Leptin: a correlated peptide to papillary thyroid carcinoma? *J Thyroid Res* 2011; 2011: 832163.
- [57] Xing M, Usadel H, Cohen Y, Tokumaru Y, Guo Z, Westra WB, Tong BC, Tallini G, Udelsman R, Califano JA, Ladenson PW, Sidransky D. Methylation of the thyroid-stimulating hormone receptor gene in epithelial thyroid tumors: a marker of malignancy and a cause of gene silencing. *Cancer Res* 2003; 63(9): 2316-21.
- [58] Smith JA, Fan CY, Zou C, Bodenner D, Kokoska MS. Methylation status of genes in papillary thyroid carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 133(10): 1006-11.
- [59] Ito Y, Hirokawa M, Higashiyama T, Takamura Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Kuma K, Miyauchi A. Prognosis and prognostic factors of follicular carcinoma in Japan: importance of postoperative pathological examination. *World J Surg* 2007; 31(7): 1417-24.
- [60] Nikiforova MN, Kimura ET, Gandhi M, Biddinger PW, Knauf JA, Basolo F, Zhu Z, Giannini R, Salvatore G, Fusco A, Santoro M, Fagin JA, Nikiforov YE. BRAF mutations in thyroid tumors are restricted to papillary carcinomas and anaplastic or poorly differentiated carcinomas arising from papillary carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(11): 5399-404.
- [61] Kroll TG, Sarraf P, Pecciarini L, Chen CJ, Mueller E, Spiegelman BM, Fletcher JA. PAX8-PPARGgamma1 fusion oncogene in human thyroid carcinoma [corrected]. *Science* 2000; 289(5483): 1357-60.
- [62] Wreesmann VB, Singh B. Clinical impact of molecular analysis on thyroid cancer management. *Surg Oncol Clin N Am* 2008; 17(1): 1-35.
- [63] Alvarez-Nuñez F¹, Bussaglia E, Mauricio D, Ybarra J, Vilar M, Lerma E, de Leiva A, Matias-Guiu X; Thyroid Neoplasia Study Group. PTEN promoter methylation in sporadic thyroid carcinomas. *Thyroid* 2006; 16(1): 17-23.
- [64] Hoang-Vu C, Boltze C, Gimm O, Poremba C, Dockhorn-Dworniczak B, Köhrle J, Rath FW, Dralle H. Expression of telomerase genes in thyroid carcinoma. *Int J Oncol* 2002; 21(2): 265-72.
- [65] Takano T, Ito Y, Matsuzuka F, Miya A, Kobayashi K, Yoshida H, Miyauchi A. Quantitative measurement of telomerase reverse transcriptase, thyroglobulin and thyroid transcription factor 1 mRNAs in anaplastic thyroid carcinoma tissues and cell lines. *Oncol Rep* 2007; 18(3): 715-20.
- [66] Jikuzono T, Kawamoto M, Yoshitake H, Kikuchi K, Akasu H, Ishikawa H, Hirokawa M, Miyauchi A, Tsuchiya S, Shimizu K, Takizawa T. The miR-221/222 cluster, miR-10b and miR-92a are highly upregulated in metastatic minimally invasive follicular thyroid carcinoma.

- Int J Oncol 2013; 42(6): 1858-68.
- [67] Wojtas B, Ferraz C, Stokowy T, Hauptmann S, Lange D, Dralle H, Musholt T, Jarzab B, Paschke R, Eszlinger M. Differential miRNA expression defines migration and reduced apoptosis in follicular thyroid carcinomas. *Mol Cell Endocrinol* 2014; 388(1-2): 1-9.
- [68] Kebebew E, Ituarte PH, Siperstein AE, Duh QY, Clark OH. Medullary thyroid carcinoma: clinical characteristics, treatment, prognostic factors, and a comparison of staging systems. *Cancer* 2000; 88(5): 1139-48.
- [69] Santarpia L, Ye L, Gagel RF. Beyond RET: potential therapeutic approaches for advanced and metastatic medullary thyroid carcinoma. *J Intern Med* 2009; 266(1): 99-113.
- [70] Hedayati M, Zarif Yeganeh M, Sheikhol Eslami S, Rezghi Barez S, Hoghooghi Rad L, Azizi F. Predominant RET Germline Mutations in Exons 10, 11, and 16 in Iranian Patients with Hereditary Medullary Thyroid Carcinoma. *J Thyroid Res* 2011; 2011: 264248.
- [71] Alvandi E, Akrami SM, Chiani M, Hedayati M, Nayer BN, Tehrani MR, Nakhjavani M, Pedram M. Molecular analysis of the RET proto-oncogene key exons in patients with medullary thyroid carcinoma: a comprehensive study of the Iranian population. *Thyroid* 2011; 21(4): 373-82.
- [72] Hedayati M, Nabipour I, Rezaei-Ghaleh N, Azizi F. Germline RET mutations in exons 10 and 11: an Iranian survey of 57 medullary thyroid carcinoma cases. *Med J Malaysia* 2006; 61(5): 564-9.
- [73] Shirazi HA, Hedayati M, Daneshpour MS, Shafiee A, Azizi F. Analysis of loss of heterozygosity effect on thyroid tumor with oxyphilia cell locus in familial non medullary thyroid carcinoma in Iranian families. *Indian J Hum Genet* 2012; 18(3): 340-3.
- [74] Hedayati M, Zarif Yeganeh M, Daneshpour M, Delbarpour Ahmadi A, Azizi F. Frequent germ line mutations in RET proto-oncogene exons 10 and 11 in hereditary medullary thyroid carcinomas of Iranian patients. *Kowsar Medical Journal* 2010; 15(1): 17-21.
- [75] Atashi Shirazi H, Zarif Yeganeh M, Shafi'ie A, Daneshpour MS, Azizi F, Hedayati M. Heterozygosity loss of TCO gene in Iranian families with heredity non-medullary thyroid carcinoma. *Kowsar Medical Journal* 2010; 15(2): 83-7.
- [76] Rezghi Barez S, Zarif Yegane M, Sheykhool Eslami S, Hoghooghi Rad L, Azizi F, Hedayati M. Common mutations in exon 10 of RET proto-oncogene in patients with medullary thyroid carcinoma. *Kowsar Medical Journal* 2011; 16(2): 73-8.
- [77] Santoro M, Carlomagno F, Romano A, Bottaro DP, Dathan NA, Grieco M, Fusco A, Vecchio G, Matoskova B, Kraus MH. Activation of RET as a dominant transforming gene by germline mutations of MEN2A and MEN2B. *Science* 1995; 267(5196): 381-3.
- [78] Mian C, Pennelli G, Fassan M, Balistreri M, Barollo S, Cavedon E, Galuppini F, Pizzi M, Vianello F, Pelizzo MR, Girelli ME, Rugge M, Opocher G. MicroRNA profiles in familial and sporadic medullary thyroid carcinoma: preliminary relationships with RET status and outcome. *Thyroid* 2012; 22(9): 890-6.

- [79] Duan L, Hao X, Liu Z, Zhang Y, Zhang G. MiR-129-5p is down-regulated and involved in the growth, apoptosis and migration of medullary thyroid carcinoma cells through targeting RET. *FEBS Lett* 2014; 588(9): 1644-51.
- [80] Hudson J, Duncavage E, Tamburrino A, Salerno P, Xi L, Raffeld M, Moley J, Chernock RD. Overexpression of miR-10a and miR-375 and downregulation of YAP1 in medullary thyroid carcinoma. *Exp Mol Pathol* 2013; 95(1): 62-7.
- [81] Smallridge RC, Marlow LA, Copland JA. Anaplastic thyroid cancer: molecular pathogenesis and emerging therapies. *Endocr Relat Cancer* 2009; 16(1): 17-44.
- [82] Garcia-Rostan G, Camp RL, Herrero A, Carcangiu ML, Rimm DL, Tallini G. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am J Pathol* 2001; 158(3): 987-96.
- [83] Zhang Y, Yang WQ, Zhu H, Qian YY, Zhou L, Ren YJ, Ren XC, Zhang L, Liu XP, Liu CG, Ming ZJ, Li B, Chen B, Wang JR, Liu YB, Yang JM. Regulation of autophagy by miR-30d impacts sensitivity of anaplastic thyroid carcinoma to cisplatin. *Biochem Pharmacol* 2014; 87(4): 562-70.
- [84] Zhang Z, Liu ZB, Ren WM, Ye XG, Zhang YY. The miR-200 family regulates the epithelial-mesenchymal transition induced by EGF/EGFR in anaplastic thyroid cancer cells. *Int J Mol Med* 2012; 30(4): 856-62.
- [85] Sherman SI. Targeted therapy of thyroid cancer. *Biochem Pharmacol* 2010; 80(5): 592-601.
- [86] Schlumberger M, Sherman SI. Clinical trials for progressive differentiated thyroid cancer: patient selection, study design, and recent advances. *Thyroid* 2009; 19(12): 1393-400.
- [87] Kondo T, Asa SL, Ezzat S. Epigenetic dysregulation in thyroid neoplasia. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2008; 37(2): 389-400.
- [88] Taby R, Issa JP. Cancer epigenetics. *CA Cancer J Clin* 2010; 60(6): 376-92.
- [89] Lane AA, Chabner BA. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27(32): 5459-68.
- [90] Catalano MG, Fortunati N, Boccuzzi G. Epigenetics modifications and therapeutic prospects in human thyroid cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2012; 3: 40.
- [91] National Institutes of Health Clinical Center (CC). Vandetanib to treat children and adolescents with medullary thyroid cancer. Available at: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/record/NCT00514046>
- [92] Pugliese M, Fortunati N, Germano A, Asioli S, Marano F, Palestini N, Frairia R, Boccuzzi G, Catalano MG. Histone deacetylase inhibition affects sodium iodide symporter expression and induces ¹³¹I cytotoxicity in anaplastic thyroid cancer cells. *Thyroid* 2013; 23(7): 838-46.
- [93] Reddi HV, Driscoll CB, Madde P, Milosevic D, Hurley RM, McDonough SJ, Hallanger-Johnson J, McIver B, Eberhardt NL. Redifferentiation and induction of tumor suppressors miR-122 and miR-375 by the PAX8/PPAR γ fusion protein inhibits anaplastic thyroid cancer: a novel therapeutic strategy. *Cancer Gene Ther* 2013; 20(5): 267-75.
- [94] Venkataraman GM, Yatin M, Marcinek R,

- Ain KB. Restoration of iodide uptake in dedifferentiated thyroid carcinoma: relationship to human Na⁺/I-symporter gene methylation status. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(7): 2449-57.
- [95] Tuncel M, Aydin D, Yaman E, Tazebay UH, Güç D, Doğan AL, Taşbasan B, Uğur O. The comparative effects of gene modulators on thyroid-specific genes and radioiodine uptake. *Cancer Biother Radiopharm* 2007; 22(3): 443-9.
- [96] Provenzano MJ, Fitzgerald MP, Krager K, Domann FE. Increased iodine uptake in thyroid carcinoma after treatment with sodium butyrate and decitabine (5-Aza-dC). *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007; 137(5): 722-8.
- [97] Miasaki FY, Vivaldi A, Ciampi R, Agate L, Collecchi P, Capodanno A, Pinchera A, Elisei R. Retinoic acid receptor beta2 re-expression and growth inhibition in thyroid carcinoma cell lines after 5-aza-2'-deoxycytidine treatment. *J Endocrinol Invest* 2008; 31(8): 724-30.
- [98] Vivaldi A, Miasaki FY, Ciampi R, Agate L, Collecchi P, Capodanno A, Pinchera A, Elisei R. Re-differentiation of thyroid carcinoma cell lines treated with 5-Aza-2'-deoxycytidine and retinoic acid. *Mol Cell Endocrinol* 2009; 307(1-2): 142-8.
- [99] Kurkjian C, Kummar S, Murgu AJ. DNA methylation: its role in cancer development and therapy. *Curr Probl Cancer* 2008; 32(5): 187-235.
- [100] Gupta P, Kim B, Kim SH, Srivastava SK. Molecular targets of isothiocyanates in cancer: recent advances. *Mol Nutr Food Res* 2014; 58(8): 1685-707.
- [101] National Cancer Institute (NCI). Decitabine in Treating Patients With Metastatic Papillary Thyroid Cancer or Follicular Thyroid Cancer Unresponsive to Iodine I 131. Available at: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00085293>
- [102] Johnstone RW. Histone-deacetylase inhibitors: novel drugs for the treatment of cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2002; 1(4): 287-99.
- [103] Fuino L, Bali P, Wittmann S, Donapaty S, Guo F, Yamaguchi H, Wang HG, Atadja P, Bhalla K. Histone deacetylase inhibitor LAQ824 down-regulates Her-2 and sensitizes human breast cancer cells to trastuzumab, taxotere, gemcitabine, and epothilone B. *Mol Cancer Ther* 2003; 2(10): 971-84.
- [104] Plumb JA, Finn PW, Williams RJ, Bandara MJ, Romero MR, Watkins CJ, La Thangue NB, Brown R. Pharmacodynamic response and inhibition of growth of human tumor xenografts by the novel histone deacetylase inhibitor PXD101. *Mol Cancer Ther* 2003; 2(8): 721-8.
- [105] Atadja P. Development of the pan-DAC inhibitor panobinostat (LBH589): successes and challenges. *Cancer Lett* 2009; 280(2): 233-41.
- [106] Gundara JS, Zhao J, Robinson BG, Sidhu SB. Oncophagy: harnessing regulation of autophagy in cancer therapy. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19(6): R281-95.
- [107] Morani F, Titone R, Pagano L, Galetto A, Alabiso O, Aimaretti G, Isidoro C. Autophagy and thyroid carcinogenesis: genetic and epigenetic links. *Endocr Relat Cancer* 2013; 21(1): R13-29.
- [108] Yang ZJ, Chee CE, Huang S, Sinicrope FA. The role of autophagy in cancer: therapeutic implications. *Mol Cancer Ther* 2011; 10(9): 1533-41.

- [109] Yang X, Zhong X, Tanyi JL, Shen J, Xu C, Gao P, Zheng TM, DeMichele A, Zhang L. mir-30d Regulates multiple genes in the autophagy pathway and impairs autophagy process in human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 431(3): 617-22
- [110] Kitazono M, Robey R, Zhan Z, Sarlis NJ, Skarulis MC, Aikou T, Bates S, Fojo T. Low concentrations of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide (FR901228), increase expression of the Na⁽⁺⁾/I⁽⁻⁾ symporter and iodine accumulation in poorly differentiated thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(7): 3430-5.
- [111] Imanishi R, Ohtsuru A, Iwamatsu M, Iioka T, Namba H, Seto S, Yano K, Yamashita S. A histone deacetylase inhibitor enhances killing of undifferentiated thyroid carcinoma cells by p53 gene therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(10): 4821-4.
- [112] Copland JA, Marlow LA, Williams SF, Grebe SK, Gumz ML, Maples WJ, Silverman VE, Smallridge RC. Molecular diagnosis of a BRAF papillary thyroid carcinoma with multiple chromosome abnormalities and rare adrenal and hypothalamic metastases. *Thyroid* 2006; 16(12): 1293-302.
- [113] Mitsiades CS, Poulaki V, McMullan C, Negri J, Fanourakis G, Goudopoulou A, Richon VM, Marks PA, Mitsiades N. Novel histone deacetylase inhibitors in the treatment of thyroid cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11(10): 3958-65.
- [114] Finnin MS, Donigian JR, Cohen A, Richon VM, Rifkind RA, Marks PA, Breslow R, Pavletich NP. Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature* 1999; 401(6749): 188-93.
- [115] Luong QT, O'Kelly J, Braunstein GD, Hershman JM, Koeffler HP. Antitumor activity of suberoylanilide hydroxamic acid against thyroid cancer cell lines in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2006; 12(18): 5570-7.
- [116] Kelly WK, O'Connor OA, Krug LM, Chiao JH, Heaney M, Curley T, MacGregore-Cortelli B, Tong W, Secrist JP, Schwartz L, Richardson S, Chu E, Olgac S, Marks PA, Scher H, Richon VM. Phase I study of an oral histone deacetylase inhibitor, suberoylanilide hydroxamic acid, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23(17): 3923-31.
- [117] Woyach JA, Kloos RT, Ringel MD, Arbogast D, Collamore M, Zwiebel JA, Grever M, Villalona-Calero M, Shah MH. Lack of therapeutic effect of the histone deacetylase inhibitor vorinostat in patients with metastatic radioiodine-refractory thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(1): 164-70.
- [118] Blaheta RA, Michaelis M, Driever PH, Cinatl J Jr. Evolving anticancer drug valproic acid: insights into the mechanism and clinical studies. *Med Res Rev* 2005; 25(4): 383-97.
- [119] Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, Guenther MG, Lazar MA, Klein PS. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen. *J Biol Chem* 2001; 276(39): 36734-41.
- [120] Göttlicher M, Minucci S, Zhu P, Krämer OH, Schimpf A, Giavara S, Sleeman JP, Lo Coco F, Nervi C, Pelicci PG, Heinzl T. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells. *EMBO J* 2001; 20(24): 6969-78.

- [121] Duenas-Gonzalez A, Candelaria M, Perez-Plascencia C, Perez-Cardenas E, de la Cruz-Hernandez E, Herrera LA. Valproic acid as epigenetic cancer drug: preclinical, clinical and transcriptional effects on solid tumors. *Cancer Treat Rev* 2008; 34(3): 206-22.
- [122] Fortunati N, Catalano MG, Arena K, Brignardello E, Piovesan A, Boccuzzi G. Valproic acid induces the expression of the Na⁺/I⁻ symporter and iodine uptake in poorly differentiated thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(2): 1006-9.
- [123] Catalano MG, Fortunati N, Pugliese M, Costantino L, Poli R, Bosco O, Boccuzzi G. Valproic acid induces apoptosis and cell cycle arrest in poorly differentiated thyroid cancer cells. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(3): 1383-9.
- [124] Cha HY, Lee BS, Kang S, Shin YS, Chang JW, Sung ES, Kim YS, Choi JW, Kim JH, Kim CH. Valproic acid sensitizes TRAIL-resistant anaplastic thyroid carcinoma cells to apoptotic cell death. *Ann Surg Oncol* 2013; 20 Suppl 3: S716-24.
- [125] Catalano MG, Fortunati N, Pugliese M, Poli R, Bosco O, Mastrocola R, Aragno M, Boccuzzi G. Valproic acid, a histone deacetylase inhibitor, enhances sensitivity to doxorubicin in anaplastic thyroid cancer cells. *J Endocrinol* 2006; 191(2): 465-72.
- [126] Schweppe RE, Klopper JP, Korch C, Pugazhenthii U, Benezra M, Knauf JA, Fagin JA, Marlow LA, Copland JA, Smallridge RC, Haugen BR. Deoxyribonucleic acid profiling analysis of 40 human thyroid cancer cell lines reveals cross-contamination resulting in cell line redundancy and misidentification. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(11): 4331-41.
- [127] Catalano MG, Pugliese M, Gargantini E, Grange C, Bussolati B, Asioli S, Bosco O, Poli R, Compagnone A, Bandino A, Mainini F, Fortunati N, Boccuzzi G. Cytotoxic activity of the histone deacetylase inhibitor panobinostat (LBH589) in anaplastic thyroid cancer in vitro and in vivo. *Int J Cancer* 2012; 130(3): 694-704.
- [128] Carling T. Molecular pathology of parathyroid tumors. *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12(2): 53-8.
- [129] Cheng JC, Yoo CB, Weisenberger DJ, Chuang J, Wozniak C, Liang G, Marquez VE, Greer S, Orntoft TF, Thykjaer T, Jones PA. Preferential response of cancer cells to zebularine. *Cancer Cell* 2004; 6(2): 151-8.
- [130] Marks P, Rifkind RA, Richon VM, Breslow R, Miller T, Kelly WK. Histone deacetylases and cancer: causes and therapies. *Nat Rev Cancer* 2001; 1(3): 194-202.
- [131] Minucci S, Pelicci PG. Histone deacetylase inhibitors and the promise of epigenetic (and more) treatments for cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6(1): 38-51.
- [132] Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5(9): 769-84.