



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ»**

Hsp70 & ΚΑΡΚΙΝΟΣ 2016

ΣΤΕΦΟΥ ΣΤΑΘΟΥΛΑ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
«ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ - ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ»**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
«ΒΑΣΙΚΕΣ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ»**

Hsp70 & ΚΑΡΚΙΝΟΣ 2016

ΣΤΕΦΟΥ ΣΤΑΘΟΥΛΑ

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ
«ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ - ΜΟΡΙΑΚΗ ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ»**

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2017

«Η έγκριση της Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης από το Τμήμα Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».

ΣΤΕΦΟΥ ΣΤΑΘΟΥΛΑ

Hsp70 & ΚΑΡΚΙΝΟΣ 2016

Ημερομηνία παρουσίασης: 23 Φεβρουαρίου 2017

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

ΑΓΓΕΛΙΔΗΣ ΧΑΡΑΛΑΜΠΟΣ

ΒΕΖΥΡΑΚΗ ΠΑΤΡΩΝΑ

ΚΟΥΚΛΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ

*Το σύγγραμμα αυτό είναι αφιερωμένο στα παιδιά μου Παύλο και Άρτεμη,
και στον σύζυγό μου Χάρη.*

Πρόλογος

Στις μέρες μας, ο καρκίνος, αποτελεί μια από τις πιο διαδεδομένες ασθένειες, σε όλο τον κόσμο και μια από τις πιο συχνές αιτίες θανάτου. Είναι μια ασθένεια επώδυνη και συνήθως μακροχρόνια.

Το αίτιο εκδήλωσή της παραμένει δεν είναι απόλυτα γνωστό, αφού κάθε τύπος καρκίνου, θεωρείται μια διαφορετική ασθένεια, χρήσει διαφορετικό τρόπο αντιμετώπισης και θεραπείας. Επίσης, η αντίδραση, κάθε οργανισμού, είναι διαφορετική στην εφαρμοζόμενη θεραπεία, ή στα χορηγούμενα φάρμακα, κάτι που απαιτεί, τις περισσότερες φορές, μια εξατομικευμένη θεραπεία.

Πολλοί παράγοντες ενοχοποιούνται για την εκδήλωση όγκων, όπως, χημικές ουσίες του περιβάλλοντος, κακή διατροφή, καθιστική ζωή με έλλειψη σωματικής άσκησης, ακτινοβολίες (ιοντίζουσες και μη ιοντίζουσες), συντηρητικά και χρωστικές τροφίμων και πολλά άλλα. Η ανακάλυψη των ακριβών αιτίων, θα βοηθήσει και στην πρόληψη, αλλά και στην αποτελεσματική αντιμετώπιση και θεραπεία του.

Στην εργασία αυτή, θα γίνει προσπάθεια, να αποκαλυφθεί η σχέση που υπάρχει ανάμεσα στην πρωτεΐνη θερμικού σοκ (heat shock protein Hsp) Hsp70 και την εκδήλωση και η εξάπλωση του καρκίνου. Θα αναφερθούν, επίσης, οι τρόποι, με τους οποίους οι επιστήμονες, προσπαθούν να ελέγξουν την έκφραση της πρωτεΐνης αυτής, ώστε να αντιμετωπίσουν τον καρκίνο, που εξαρτάται ή προκαλείται από αυτήν.

Οι περισσότερες θεραπευτικοί μέθοδοι, βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό στάδιο, ενώ μερικές δοκιμάζονται κλινικά.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : Καρκίνος

1.1. Τι είναι καρκίνος	9
1.2. Χαρακτηριστικά καρκινικών κυττάρων	10
1.3. Αλλαγή - μετάβαση κυττάρων σε καρκινικά	12
1.3.1. Απώλεια κορυφαίας και βασηοπλευρικής πολικότητας - Απώλεια διακυτταρικών συνδέσεων	14
1.3.2. Αναδιαμόρφωση κυτταροσκελετού	16
1.3.3. Απώλεια επιθηλιακών χαρακτηριστικών και απόκτηση μεσεγχυματικών	17
1.3.4. Ποια μεταβολικά μονοπάτια αλλάζουν στον καρκίνο	17
➤ TGFβ επαγόμενη EMT	19
➤ Wnt επαγόμενη EMT	20
1.4. Αλλαγές στο DNA	23

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο : Παράγοντες που εμπλέκονται στον καρκίνο

2.1. Παράγοντες που επηρεάζουν ένα κύτταρο ώστε να γίνει καρκινικό	25
2.1.1. Περιβαλλοντικοί παράγοντες – Τρόπος ζωής	28
2.1.2. Κάπνισμα και αλκοόλ	28
2.1.3. Λοιμογόννοι παράγοντες	29
2.1.4. Διατροφή	31
2.1.5. Παχυσαρκία	32
2.1.6. Καρκινογόνες ουσίες περιβάλλοντος	32
2.2. Ενδοκυτταρικοί παράγοντες	33
2.3. Ογκογονίδια – Ογκοκατασταλτικά	34

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο : Hsp70 και καρκίνος

3.1. Hsp70 (Heat shock protein 70)	38
3.2. Δομή της Hsp70	38
3.3. Πότε επάγεται από χημικά – περιβάλλον	41
3.4. Ισομορφές της Hsp70	41
3.5. Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης Hsp70	43

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4° : Κλινικές μελέτες

4.1. Απόπτωση – ενδογενές (μιτοχονδριακό) μονοπάτι	46
4.1.1. Ενδογενές (μιτοχονδριακό) μονοπάτι απόπτωσης	48
4.1.2. Hsp70 και το ενδογενές μονοπάτι απόπτωσης	50
4.1.3. Εξωγενές μονοπάτι απόπτωσης	51
4.1.4. Hsp70 και το εξωγενές (υποδοχέων θανάτου) μονοπάτι απόπτωσης	52
4.1.5. Κασπασοανεξάρτητα αποπτωτικά μονοπάτια	53
➤ Απόπτωση επαγόμενη από τον AIF	53
➤ Απόπτωση μέσω του λυσοσωμικού μονοπατιού	53
4.1.5. Hsp70 και αποπτωτικό μονοπάτι ανεξάρτητο της κασπάσης	53
4.2. Hsp70 σαν καρκινικός ή προκαρκινικός δείκτης	54
4.3. Hsp70 – Καρκίνος – Μετάσταση	56
4.4. Hsp70 και ανοσοβιολογικό σύστημα	58

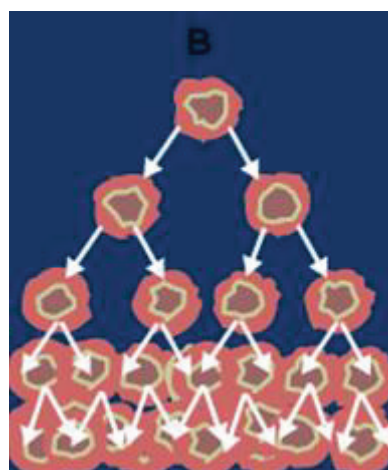
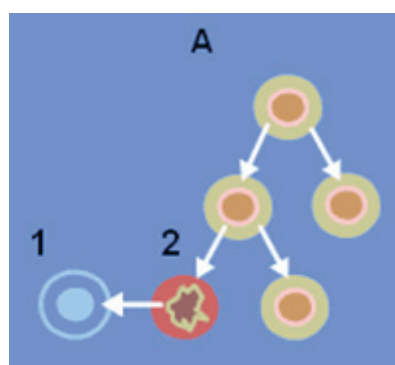
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5° : Μελλοντικοί στόχοι – Σημαντικότητα

5.1. Hsp70 και αντικαρκινική θεραπεία	61
5.2. Hsp70 και κερσετίνη (Quercetin Q)	64
5.3. Η Hsp70 σαν ανοσολογικό φάρμακο	65
 ΠΕΡΙΛΗΨΗ	67
ABSTRACT	68
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	69

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο : Καρκίνος

1.1. Τι είναι καρκίνος

Η λέξη καρκίνος χρησιμοποιείται, για να περιγράψει, ένα σύνολο από συναφείς ασθένειες. Σε όλους τους τύπους καρκίνων, κάποια από τα σωματικά κύτταρα, αρχίζουν να διαιρούνται συνεχώς και να διεισδύουν σε παρακείμενους ιστούς. Ο καρκίνος μπορεί να δημιουργηθεί σχεδόν παντού στο σώμα, το οποίο αποτελείται από τρισεκατομμύρια κύτταρα. Φυσιολογικά τα ανθρώπινα κύτταρα αναπτύσσονται και διαιρούνται ώστε να δημιουργήσουν νέα κύτταρα, όταν αυτό απαιτείται. Όταν τα κύτταρα γεράζουν ή τραυματίζονται, πεθαίνουν και αντικαθίστανται από νέα. («Defining Cancer». National Cancer Institute 2014.)



Εικόνα 1

A) διαίρεση φυσιολογικού κυττάρου

1. απόπτωση

2. γερασμένο ή κατεστραμμένο κύτταρο

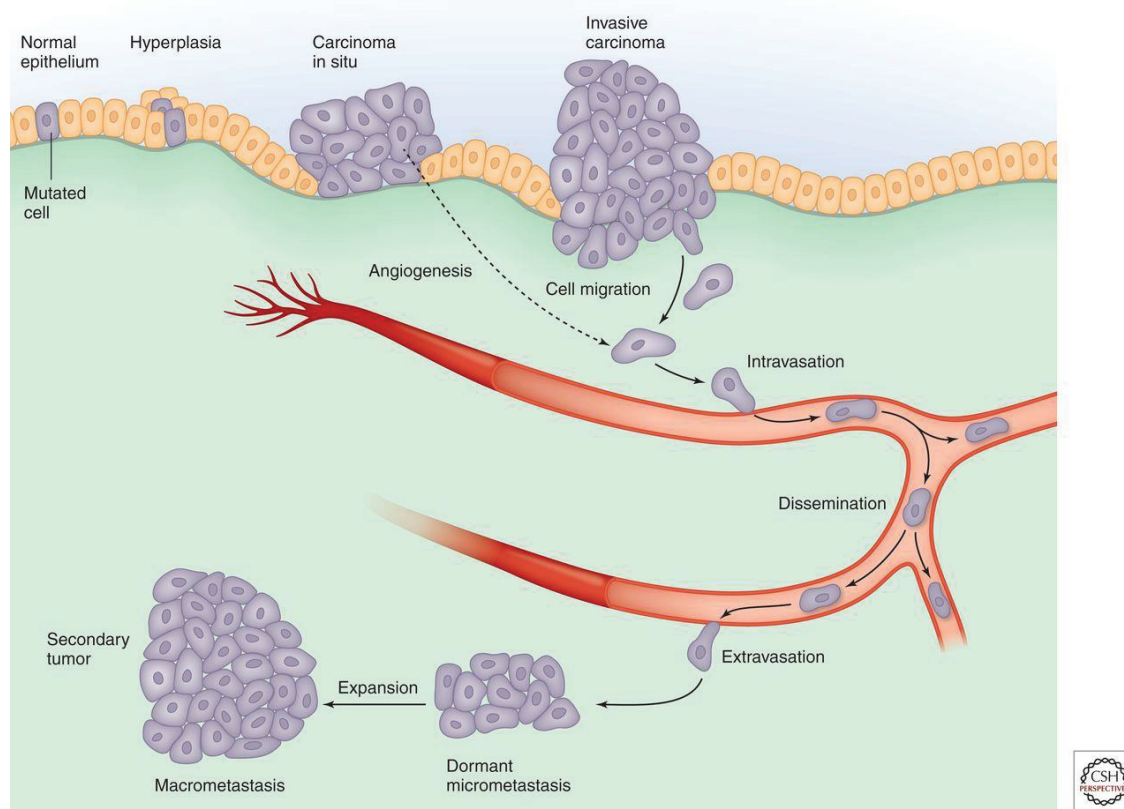
B) διαίρεση καρκινικού κυττάρου

(<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=328544>)

Όταν αναπτυχθεί καρκίνος, αυτή η φυσιολογική διαδικασία σταματά. Τα κύτταρα γίνονται όλο και πιο ανώμαλα, τα γερασμένα ή τραυματισμένα κύτταρα επιβιώνουν και δεν πεθαίνουν και παράγονται νέα κύτταρα, ενώ δεν απαιτούνται. Αυτά τα νέα κύτταρα διαιρούνται ασταμάτητα και δημιουργούν μάζες κυττάρων, τους όγκους. (Εικόνα 1).

Οι καρκινικοί όγκοι είναι συνήθως κακοήθεις, δηλαδή διαχέονται και διεισδύουν σε παρακείμενους ιστούς, και όπως αναπτύσσονται, κάποια κύτταρα αποκόπτονται και

ταξιδεύουν σε μεγάλες αποστάσεις μέσω συστηματικής ή της λεμφικής κυκλοφορίας και δημιουργούν μεταστατικούς καρκίνους, μακριά από τον αρχικό όγκο. (Εικόνα 2).



Εικόνα 2

Η εξέλιξη του καρκίνου

Sever R. et al 2015) ©2015 by Cold Spring Harbor Laboratory Press

Αντίθετα, οι καλοήθεις όγκοι, δεν διαχέονται και δεν διεισδύουν σε παρακείμενου ιστούς. Αυτοί μπορεί μερικές φορές να είναι αρκετά μεγάλοι, αλλά αν αφαιρεθούν, συνήθως δεν ξανααναπτύσσονται, σαν τους κακοήθεις. Κάποιες φορές, όμως, οι καλοήθεις όγκοι του εγκεφάλου, μπορεί να είναι απειλητικοί για τη ζωή. («Defining Cancer». National Cancer Institute 2014.)

1.2. Χαρακτηριστικά καρκινικών κυττάρων

Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν πολλές διαφορές συγκρινόμενα με τα φυσιολογικά κύτταρα, κάτι που τα κάνει ικανά να αναπτύσσονται εκτός ελέγχου και να γίνονται επεμβατικά. Είναι λιγότερο εξειδικευμένα, δηλαδή, δεν ωριμάζουν σε διακριτούς κυτταρικούς τύπους, με συγκεκριμένες λειτουργίες, όπως τα φυσιολογικά.

Τα χαρακτηριστικά, που καθορίζουν τη δυναμική τους, είναι:

- είναι ανθεκτικά στην απόπτωση
- είναι ανθεκτικά σε κυτταρική γήρανση
- είναι ικανά να επάγουν αγγειογένεση, ώστε να οξυγονώνονται, να τρέφονται και να αποβάλλουν τα παραπροϊόντα του μεταβολισμού τους
- μέσω της επιθηλιο-μεσεγγυματικής μετάπτωσης (EMT), μπορούν να μεταναστεύουν, προκαλώντας μεταστατικούς καρκίνους
- είναι ικανά να πολλαπλασιάζονται, παρουσία, αλλά και απουσία, αυξητικών παραγόντων
- είναι ανθεκτικά σε αναστολές του κυτταρικού πολλαπλασιασμού.

Υπάρχουν πολλοί τύποι καρκίνου:

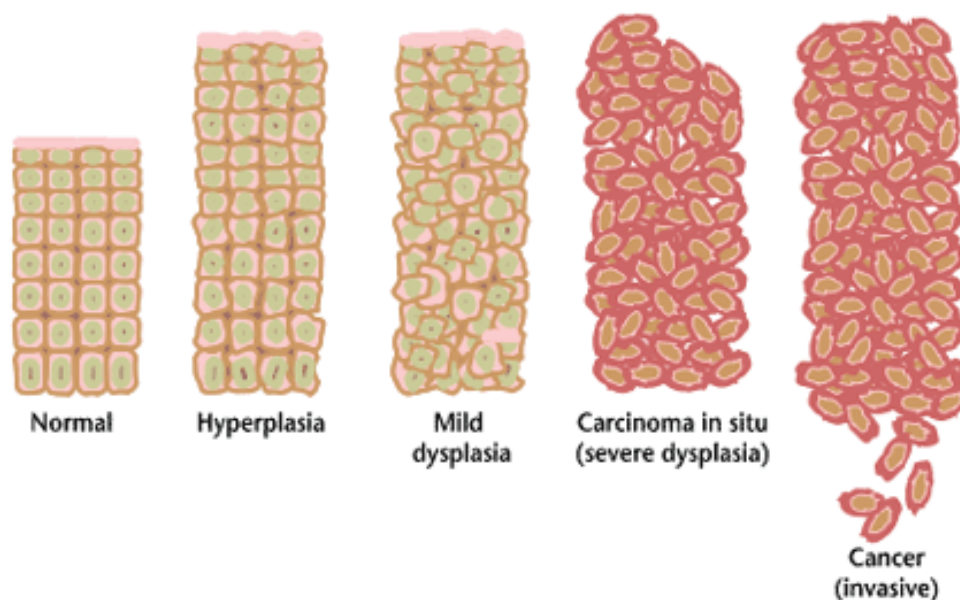
- το καρκίνωμα (επιθηλιακών κυττάρων)
- το σάρκωμα (οστών, μυών, λίπους, αγγείων αίματος, λεμφαγγείων, συνδέσμων, τενόντων)
- οι λευχαιμίες (αιμοποιητικών ιστών μυελού των οστών)
- το λέμφωμα (λεμφοκυττάρων B ή T του ανοσοβιολογικού συστήματος, Hodgkin και Non-Hodgkin)
- το πολλαπλό μυέλωμα (πλασματοκυττάρων)
- το μελάνωμα (μελανοκυττάρων του δέρματος και του ματιού)
- ο καρκίνος του εγκεφάλου και του νωτιαίου μυελού
- ο καρκίνος των γενετικών κυττάρων
- ο νευροενδοκρινικός καρκίνος («Defining Cancer». National Cancer Institute 2014.)

Η ανάπτυξη του καρκίνου, περιλαμβάνει μια σειρά διαδοχικών γενετικών και επιγενετικών αλλαγών, που συμβαίνουν στα κύτταρα και τα κάνουν ικανά, να διαφεύγουν τους ομοιοστατικούς μηχανισμούς ελέγχου της καταστολής του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού.

Οι περισσότεροι καρκίνοι προκύπτουν σε επιθηλιακά κύτταρα (EMT), που εκδηλώνονται σαν καρκινώματα σε όργανα όπως, το ήπαρ, ο μαστός, το δέρμα και το πάγκρεας. Κάποιοι άλλοι τύποι καρκίνων, τα σαρκώματα, προκύπτουν σε μεσεγγυματικούς ιστούς και εμφανίζονται σε ινοβλάστες, οστεοβλάστες, μυοκύτταρα ή λιποκύτταρα. Όγκοι μη επιθηλιακής προέλευσης, μπορούν να εμφανιστούν σε κύτταρα του νευρικού συστήματος, όπως, τα νευροβλαστώματα, τα

μυελοβλαστώματα και τα γλοιώματα, ή και σε αιμοποιητικά κύτταρα, όπως οι λευχαιμίες και τα λεμφώματα. (Sever R. et al. 2015).

Όταν ο όγκος είναι συμπαγής, ο καρκίνος εξελίσσεται από μια μάζα σχετικά καλοήθων πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων (υπερπλασία), σε μια μάζα κυττάρων ανώμαλων τόσο μορφολογικά και κυτταρολογικά, όσο και οργανωτικά. (Εικόνα 3).



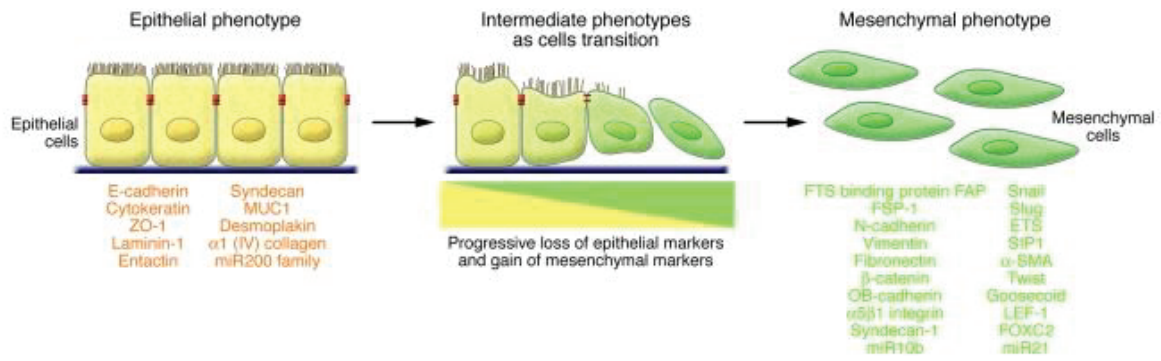
Εικόνα 3

EMT (Αδημοσίευτα αποτελέσματα P. Kasioumi et al)

Ο πυρήνας του όγκου, λόγω αύξησης του μεγέθους του, χάνει την πρόσβαση σε οξυγόνο και θρεπτικά. Αναπτύσσει, λοιπόν, νέα αιμοφόρα αγγεία (αγγειογένεση), ώστε να αποκατασταθεί και η οξυγόνωση και η πρόσβαση σε θρεπτικά συστατικά. Τα κύτταρα αυτά μετατρέπονται σε κακοήθη, καρκινικά, όταν αποκτούν την ικανότητα να μετακινούνται μέσω της συστηματικής, ή στη λεμφικής κυκλοφορίας, να εισβάλουν σε γειτονικούς ιστούς και να δίνουν μεταστατικούς καρκίνους σε άλλες περιοχές του σώματος.

1.3. Αλλαγή - μετάβαση κυττάρων σε καρκινικά

Κατά τη μετατροπή των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά, συμβαίνει μια σειρά αλλαγών, που συνολικά ονομάζονται επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάπτωση (EMT). Στην EMT μειορρυθμίζεται ο επιθηλιακός φαινότυπος και οι επιθηλιακοί δείκτες των κυττάρων και αυξορρυθμίζεται ο μεσεγχυματικός φαινότυπος και οι αντίστοιχοι δείκτες. (Εικόνα 4)

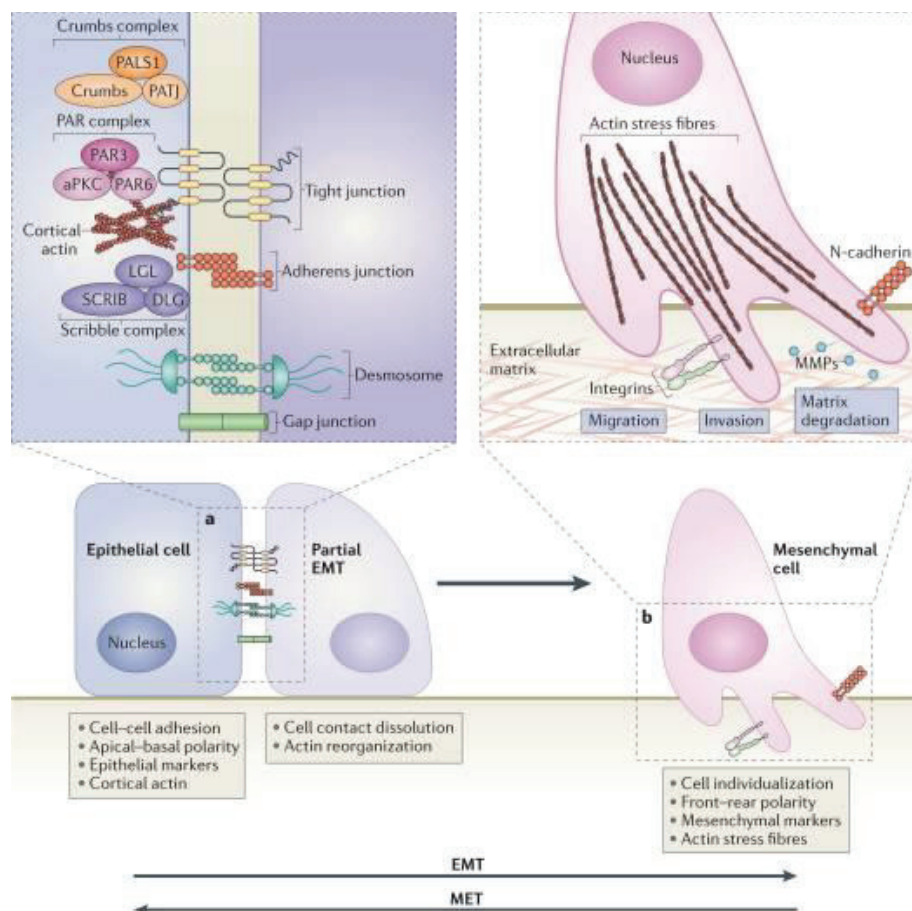


Εικόνα 4

EMT (Kalluri R. et al. 2009)

Συνοπτικά τα στάδια της EMT είναι: (Εικόνα 5)

1. η απώλεια κορυφαίας - βασεοπλευρικής πολικότητας
2. η απώλεια διακυτταρικών συνδέσεων
3. η αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού



Εικόνα 5

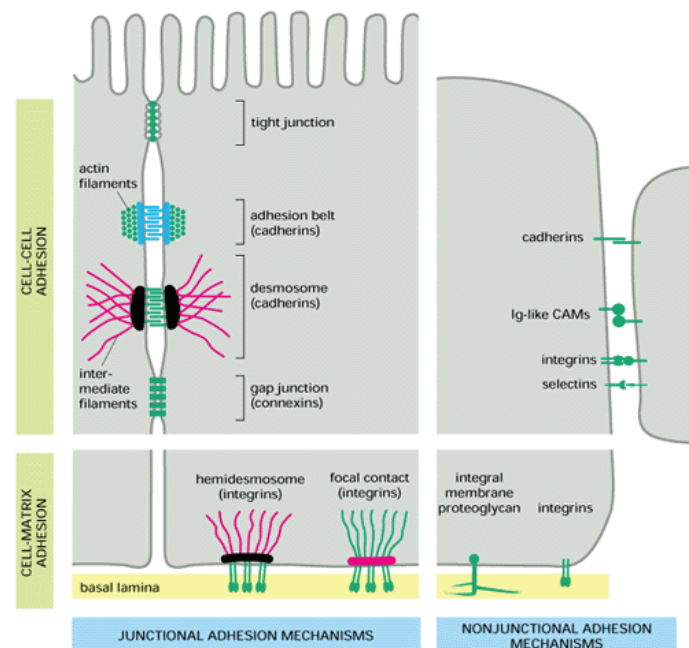
Σύνοψη των σταδίων της EMT. (Lamouille et al 2014).

4. η απώλεια επιθηλιακών χαρακτηριστικών και απόκτηση μεσεγχυματικών και
5. η αυξημένη ικανότητα μετανάστευσης (Lamouille et al. 2014).

Ο όρος μετάπτωση, αντικατέστησε τον όρο μετασχηματισμό, υποδηλώνοντας την παροδική φύση της αλλαγής. Αρχικά τα επιθηλιακά κύτταρα μετατρέπονται σε μεσεγχυματικά, μεταναστεύουν, μιας και έχουν μετατραπεί σε καρκινικά, ενώ στη συνέχεια ξαναγίνονται επιθηλιακά, δίνοντας μεταστατικούς καρκίνους στους ιστούς που καταλήγουν. (Huang et al. 2012).

1.3.1. Απώλεια κορυφαίας και βασεοπλευρικής πολικότητας - Απώλεια διακυτταρικών συνδέσεων

Τα επιθηλιακά κύτταρα, εμφανίζουν κορυφαία και βασεοπλευρική πολικότητα. Η πολικότητα αυτή οργανώνεται και σταθεροποιείται μέσω ειδικών συνδέσεων, με τη βασική μεμβράνη, και με τα παρακείμενα κύτταρα. Οι δομές πρόσφυσης στη βασική μεμβράνη είναι κυρίως τα ημιδεσμοσώματα (Hemidesmosomes) με τις πρωτεΐνες ιντεγκρίνες. Οι δομές διακυτταρικών συνδέσεων, είναι οι σύνδεσμοι προσκόλλησης/πρόσφυσης (Adherens junctions) με τις πρωτεΐνες καντερίνες, οι στεγανοί σύνδεσμοι – στενοσύνδεσμοι (Tight junctions) με τις πρωτεΐνες οκλουδίνες και κλωδίνες, τα δεσμοσώματα (Desmosomes) με τις δεσμοσωμικές καντερίνες και οι χασμοσύνδεσμοι (Gap junctions) με τις πρωτεΐνες κοννεξίνες. (Εικόνα 6).



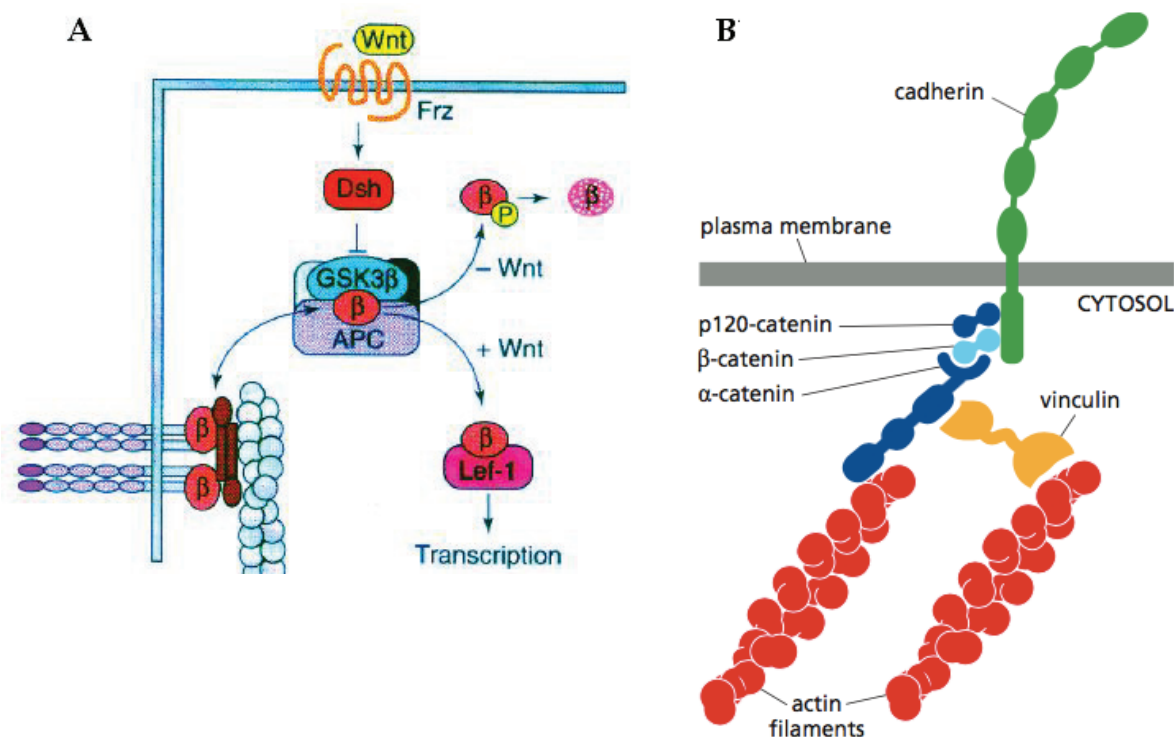
Εικόνα 6

Οργάνωση του κυτταροσκελετού σε πολωμένα επιθηλιακά κύτταρα (Review)

Το κορυφαίο τμήμα των επιθηλιακών κυττάρων, στα κύτταρα των σπονδυλωτών, καθορίζεται από τα σύμπλοκα PAR (παράγοντες PAR6, PAR3 και aPKC) και Crumbs (πρωτεΐνες CRB, PALS1 και PATJ). Το βασεοπλευρικό τμήμα καθορίζεται από τα σύμπλοκα Scribble (SCRIB, DLG και LGL). (St Johnston D. et al. 2010).

Η καταστροφή των επιθηλιακών συνδέσεων οδηγεί στην απώλεια της κορυφαίας και βασεοπλευρικής πολικότητας (EMT), καθώς οι σύνδεσμοι καταστρέφονται και οι πρωτεΐνες σύνδεσης αλλάζουν θέση μέσα στο κύτταρο, ή αποδομούνται. Η καταστροφή των στεγανών συνδέσεων, οδηγεί σε μειορρύθμιση της κλωδίνης και της οκλουδίνης και τη διάχυση της ZO-1. (Huang RY. et al. 2012).

Η αποσταθεροποίηση των δομών προσκόλλησης, οδηγεί σε απομάκρυνση της επιθηλιακής E-καντερίνης από την πλασματική μεμβράνη και σε αποδόμησή της. (Yilmaz M. et al. 2009). Λόγω της απώλειας της επιθηλιακής E-καντερίνης, σταματά η αλληλεπίδρασή της με την β-κατενίνη, η οποία η αποδομείται ή οδηγείται στον πυρήνα, επάγοντας τη μεταγραφή γονιδίων (μονοπάτι Wnt), (Niehrs C. 2012), αλλά και προκαλείται συσσώρευση της κατενίνης p120, στον πυρήνα, όπου επίσης επάγει τη μεταγραφή γονιδίων (Kourtidis A. et al. 2013). (Εικόνα 7Α και 7Β).

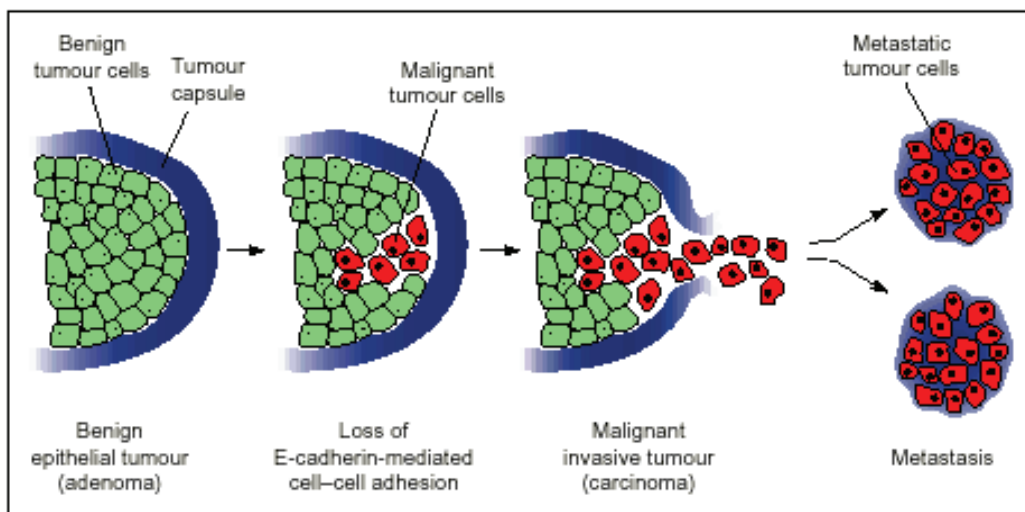


Εικόνα 7

A. Σηματοδότηση (Wnt), μέσω καντερίνης και β-κατενίνης

B. Συνδέσεις καντερίνης με τον κυτταροσκελετό της ακτίνης (Review)

Η EMT αποσταθεροποιεί και τα δεσμοσώματα, λόγω μειωμένων επιπέδων κοννεξινών (Bax N.A. et al. 2011). Οι πρωτεΐνες σύνδεσης, μειορρυθμίζονται μεταγραφικά, κάτι που οδηγεί σε οριστική απώλεια των διακυτταρικών συνδέσεων. Στα καρκινικά κύτταρα η μείωση της έκφρασης της E-καντερίνης, οδηγεί στη δημιουργία μεταστατικών καρκινωμάτων (Εικόνα 8), εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση του συμπλόκου SCRIB, με τη μεμβράνη των γειτονικών κυττάρων, (Navarro C. et al. 2005).



Εικόνα 8

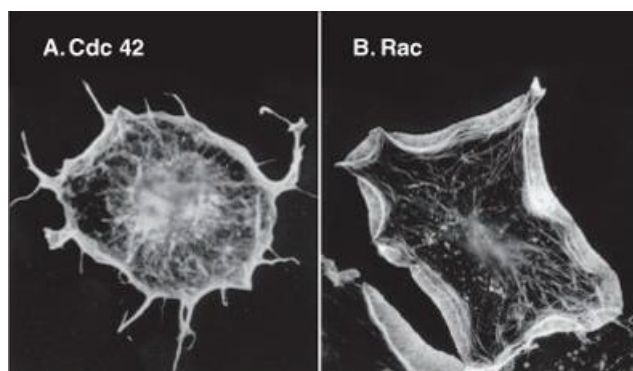
Ρόλος της E-cadherin στο μεταστατικό καρκίνωμα

Η μείωση της έκφρασης της E-καντερίνης, με ταυτόχρονη μείωση της έκφρασης των πρωτεϊνών SCRIB, οδηγεί σε μείωση της κυτταρικής προσκόλλησης και σε παράλληλη αύξηση της κυτταρικής κινητικότητας (EMT). Η έναρξη της EMT, αποσταθεροποιεί περαιτέρω τα παραπάνω σύμπλοκα, με αποτέλεσμα την ολική απώλεια της κυτταρικής πολικότητας (Lamouille et al. 2014), (Moreno-Bueno G. et al. 2008).

1.3.2. Αναδιαμόρφωση κυτταροσκελετού

Όταν τα κύτταρα υπόκεινται σε EMT, μεταβάλλουν την τοπολογία της ακτίνης του κυτταροσκελετού, ώστε να αποκτήσουν την ικανότητα κίνησης, αφού προηγουμένως έχουν επιμηκυνθεί. (Thiery J.P. et al. 2006), (Yilmaz M. et al. 2009), (Yilmaz M. et al. 2010). Τα κύτταρα δημιουργούν προεκβολές, πλούσιες σε ακτίνη, τα φιλοπόδια ή

νηματοπόδια (δομές σαν ακτίνες) και τα ελασματοπόδια (δομές σαν ελασμάτια). (Ridley A.J. 2011). (Εικόνα 9Α και 9Β).



Εικόνα 9

A. Cdc42: νηματοπόδια/φιλοπόδια. B. Rac1: ελασματοπόδια

© Elsevier. Pollard et al: *Cell Biology 2e* – www.studentconsult.com

Οι προεκβολές της ακτίνης των κυττάρων, προκαλούν καταστροφή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, με παράλληλη διήθηση των γύρω ιστών, με τη βοήθεια ειδικών πρωτεϊνών που περιέχουν, των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs). (McNiven M.A. 2013). Οι δομικές αυτές αλλαγές της ακτίνης, ρυθμίζονται από Rho GTPάσες. Σαν αποτέλεσμα, χάνεται η κορυφαία και βασεοπλευρική πολικότητα, και δημιουργείται προσθιο-οπίσθια μετά από αλληλεπίδραση με τις Rho GTPάσες. (Nelson W.J. et al. 2009).

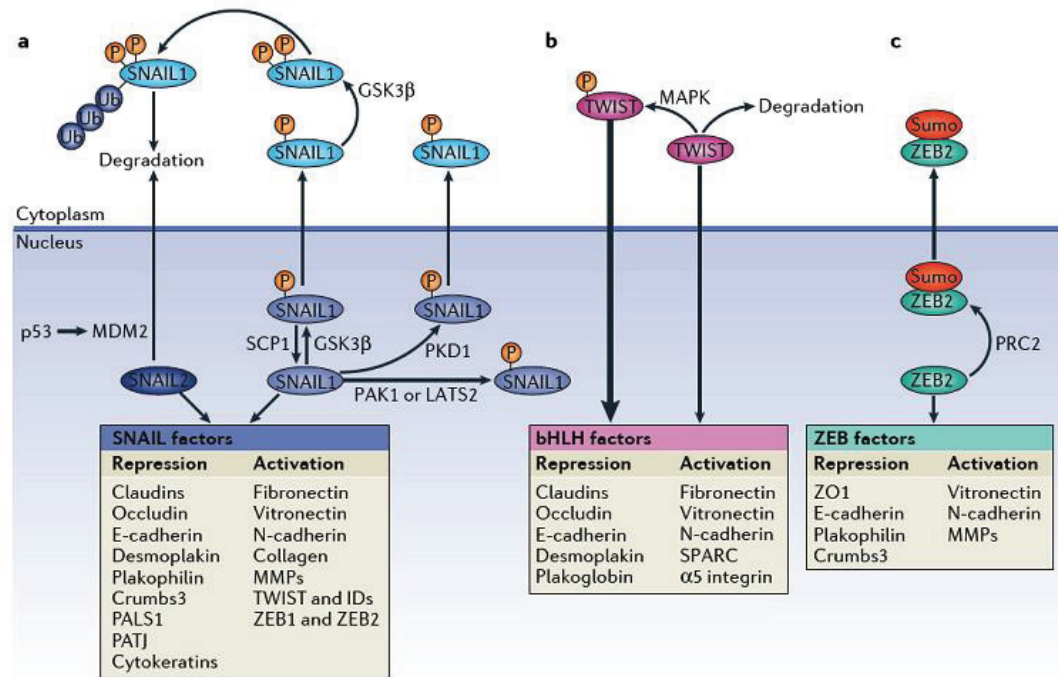
1.3.3. Απώλεια επιθηλιακών χαρακτηριστικών και απόκτηση μεσεγχυματικών

Κατά την EMT, αλλάζει η γονιδιακή έκφραση. Καταστέλλεται ο επιθηλιακός φαινότυπος και μειορρυθμίζονται οι επιθηλιακοί δείκτες (E-καντερίνη, VE-καντερίνη, οκλουδίνη, κλωδίνη κ.α.). (Huang R.Y. et al. 2012). Τα κύτταρα οδηγούνται σε απώλεια του επιθηλιακού φραγμού (Peinado H. et al. 2007). Παράλληλα ενισχύεται ο μεσεγχυματικός φαινότυπος και αυξορρυθμίζονται οι αντίστοιχοι δείκτες (N-καντερίνη, φμπρονεκτίνη, βιμεντίνη, slug, twist, snail κ.α.).

1.3.4. Ποια μεταβολικά μονοπάτια αλλάζουν στον καρκίνο

Οι κύριοι μεταγραφικοί παράγοντες της EMT είναι οι SNAIL, TWIST και ZEB. Ο ένας, συνήθως, ρυθμίζει την έκφραση του άλλου, αλλά έχουν και συνεργιστική δράση στη ρύθμιση των γονιδίων-στόχων (Peinado H. et al. 2007). Οι μεταγραφικοί αυτοί

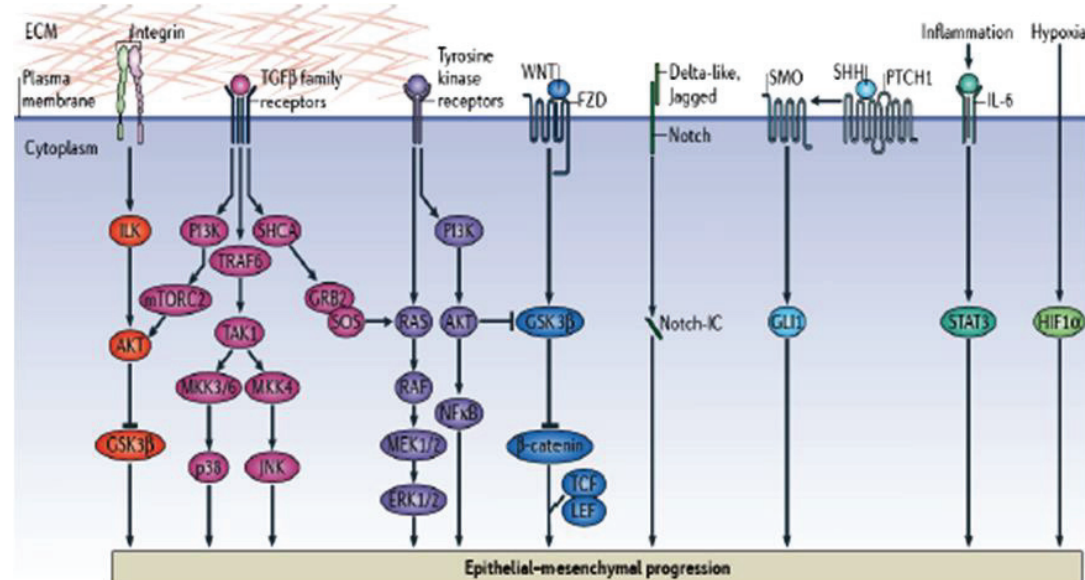
παράγοντες, καταστέλλουν την έκφραση των επιθηλιακών γονιδίων και επάγουν την έκφραση των μεσεγχυματικών. (De Craene B. et al. 2013). (Εικόνα 10).



Εικόνα 10

Μεταγραφικοί παράγοντες της EMT. (Lamouille S. et al. 2014).

Τα μονοπάτια μεταγωγής σήματος που εμπλέκονται στην EMT είναι πολλά και συγκλίνουν στην επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάπτωση EMT. (Εικόνα 11).

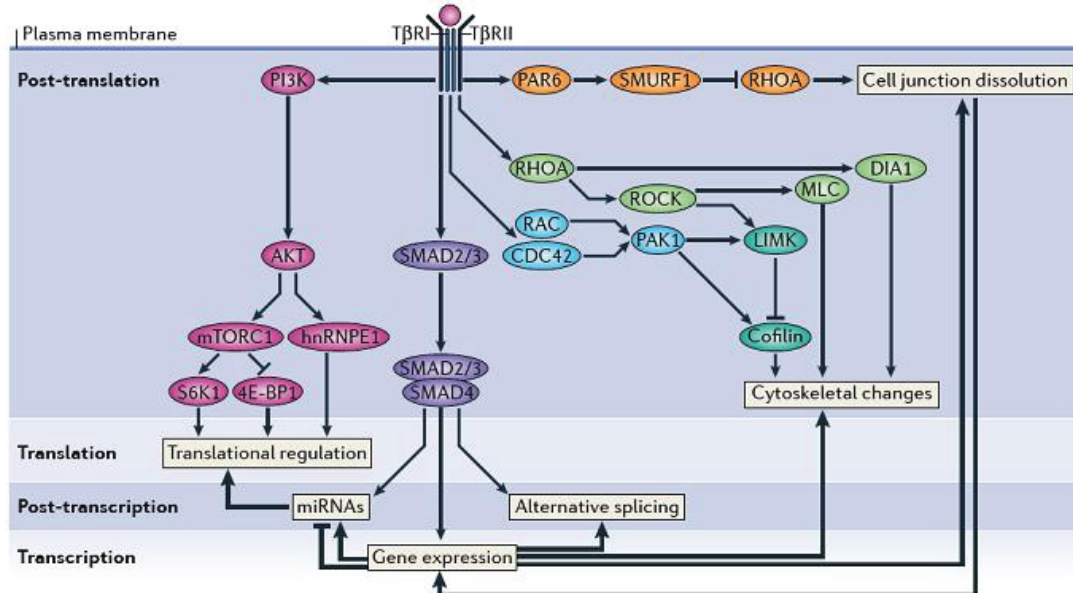


Εικόνα 11

Μονοπάτια μεταγωγής της EMT. (Review).

➤ TGFβ επαγόμενη EMT

Η ρύθμιση της EMT μπορεί να γίνει σε μεταγραφικό, μεταφραστικό και μετα-μεταφραστικό επίπεδο. Εκεί δρα ο TGFβ, μέσω μεταγωγής σημάτων και εξαρτάται ή όχι από τις πρωτεΐνες SMAD. (Εικόνα 12).



Εικόνα 12

TGFβ επαγόμενη EMT. (Lamuille S. et al.2014)

Το σηματοδοτικό μονοπάτι του TGFβ, ξεκινά με τη σύνδεση του προσδέτη στο τετραμερές των υποδοχέων τύπου I και τύπου II (TβRI και TβRII). Η πρόσδεση αυτή, οδηγεί στην ενεργοποίηση των παραγόντων SMAD2/3, οι οποίοι αλληλεπιδρούν με τον SMAD4 και μεταβαίνουν στον πυρήνα, όπου ρυθμίζουν την ενεργοποίηση ή την καταστολή της έκφρασης γονιδίων. Στην περίπτωση της EMT, το σηματοδοτικό μονοπάτι TGFβ–SMAD ενεργοποιεί την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων της. Παράλληλα ο *TGFβ*: (Εικόνα 12).

- ενεργοποιεί την έκφραση microRNAs (miRNAs), τα οποία μειορρυθμίζουν την έκφραση επιθηλιακών πρωτεϊνών και των ESRP (ρυθμιστικές πρωτεΐνες ματίσματος), με αποτέλεσμα εναλλακτικό μάτισμα που οδηγεί σε EMT,
- μέσω του μονοπατιού PI3K–AKT–mTORC1, αυξάνει το κυτταρικό μέγεθος και τη μετάφραση, ενώ η AKT καταστέλλει μέσω της hnRNPE1 τη μετάφραση συγκεκριμένων mRNAs,
- καταστρέφει τις διακυτταρικές συνδέσεις μέσω RHO-GTPασών και δημιουργούνται έτσι αλλαγές στον κυτταροσκελετό,

- φωσφορυλιώνει τον PAR6 (ο TβRII), κάτι που οδηγεί σε στρατολόγηση του SMURF1, την ουβικιτινιλίωση και καταστροφή της RHOA, άρα και την καταστροφή των στενοσυνδέσμων,
- επάγει τη δράση της RHOA, η οποία προάγει την αναδιοργάνωση της ακτίνης οδηγώντας στην ενεργοποίηση των DIA1 και ROCK, φωσφορυλιώνεται η MLC, ενεργοποιείται η LIMK και έτσι καταστέλλεται η κοφιλίνη. Οι RAC και CDC42 επίσης προκαλούν κυτταροσκελετικές αλλαγές μέσω της PAK1 και προκαλούν το σχηματισμό των φιλοποδίων και των ελασματοποδίων. (Lamuille S. et al.2014).

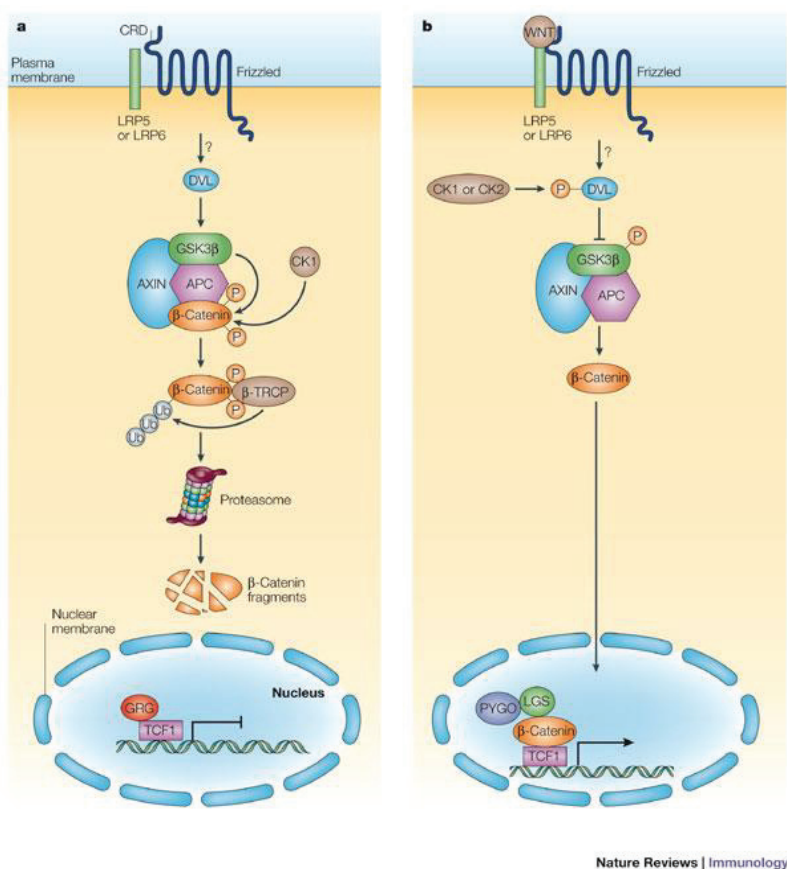
➤ **Wnt επαγόμενη EMT**

Τα Wnt είναι εγκρινόμενοι προσδέτες που συναντώνται σε μια μεγάλη ποικιλία ιστών. Πρωτομελετήθηκαν σε μελέτες εμβρυογένεσης. Το σηματοδοτικό μονοπάτι των Wnt, περιλαμβάνει τη συμμετοχή μορίων όπως η β-κατενίνη και ένα σύμπλοκο στο οποίο συμμετέχουν η Axin, το APC (adenomatus polyposis coli protein), τα PP2A (protein phosphatase 2A catalytic & regulatory) και το GSK-3β (glycogen synthase kinase 3β). Η β-κατενίνη συνδέει την E-καντερίνη της μεμβράνης με τα ινίδια της ακτίνης του κυτταροσκελετού και πρέπει να βρίσκεται ενωμένη με το παραπάνω σύμπλοκο το οποίο φωσφορυλιώνει την β-κατενίνη και την οδηγεί σε αποδόμηση, μέσω ουβικιτινιλίωσης από το πρωτεόσωμα.

Όταν η β-κατενίνη είναι ελεύθερη στο κυτταρόπλασμα, ενώνεται με τον μεταγραφικό παράγοντα TCF και ενεργοποιούν τη μεταγραφή και έκφραση γονιδίων, (που περιέχουν TCG binding elements), όπως MMPs (μεταλλοπρωτεΐνες που διασπούν την εξωκυττάρια μήτρα), κυκλίνη D1, COX-2 και cMyc. Τα γονίδια αυτά διευκολύνουν την μετανάστευση των επιθηλιακών κυττάρων και την ικανότητα διείσδυσης σε γειτονικούς ιστούς, οδηγώντας σε EMT. (Nature reviews Immunology)

Όταν δεν ενεργοποιείται το σηματοδοτικό μονοπάτι, η β-κατενίνη είναι συνδεδεμένη με το σύμπλοκο. Η σύνδεση των προσδετών Wnt, με του διαμεμβρανικούς υποδοχείς FRZ (frizzled), μέσω των πρωτεϊνών Dvl (Dishevelled), ενεργοποιούν την Axin, η οποία διαχωρίζεται από την GSK-3β, η οποία με τη σειρά της χάνει την ικανότητα να φωσφορυλιώνει την β-κατενίνη. Η β-κατενίνη, τότε, εφόσον δεν ουβικιτινιλιώνεται από το πρωτεόσωμα, μετακινείται στον πυρήνα και ενεργοποιεί τη μεταγραφή

γονιδίων, που οδηγούν στην EMT δίνοντας επιθετικό (καρκινικό) χαρακτήρα στο κύτταρο. (Εικόνα 13).



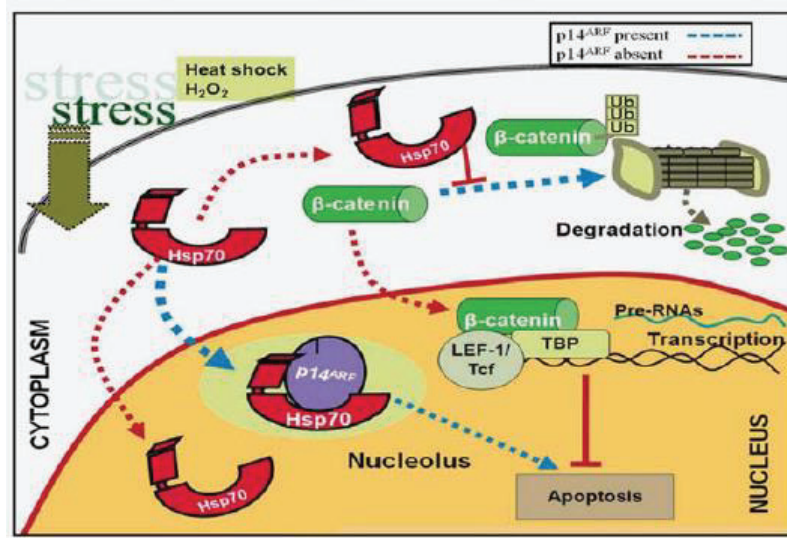
Εικόνα 13

Wnt επαγόμενη EMT Nature reviews Immunology

Στρεσογόνα ερεθίσματα (θερμικό HS, οξειδωτικό OS), προκαλούν μετατόπιση της Hsp70 στον πυρήνα και μάλιστα στον πυρηνίσκο, όπου ενώνεται με την p14^{ARF} και δεν επηρεάζει την αποικοδόμηση της β-κατενίνης μέσω ουβικιτινίωσης (επάγεται απόπτωση). Σε απουσία της p14^{ARF}, αν και συσσωρεύεται λιγότερη Hsp70 στον πυρήνα, αυξάνει το κυτταροπλασματικό της κλάσμα, προστατεύοντας την β-κατενίνη από την αποικοδόμηση (επάγεται επιβίωση). (Damalas A. et al. 2011). Πιστεύεται, ότι η μετατόπιση της Hsp70 στον πυρήνα και στον πυρηνίσκο, οδηγούν στην διατήρηση της ακεραιότητας των μορίων DNA. Αυτός ο προστατευτικός ρόλος της, φαίνεται ότι εμπλέκεται στη ρύθμιση αποπτωτικών οδών, που σχετίζονται με ssDNA. Τα ssDNA, συναντώνται σε τελευταία στάδια αποπτωτικών οδών, όπου η Hsp70 παίζει ένα αντι-αποπτωτικό ρόλο. (Kotoglou P. et al. 2009). (Εικόνα 14).

Αυξημένα επίπεδα και δραστικότητα της β-κατενίνης προσφέρουν προστασία από κυτταρικό θάνατο με απόπτωση. Η β-κατενίνη συνδέει πρωτεΐνες του

κυτταροσκελετού με τις κατενίνες της κυτταροπλασματικής μεμβράνης, εξασφαλίζει, έτσι, τη στενή σύνδεση των κυττάρων μεταξύ τους και αποτρέπει την EMT.

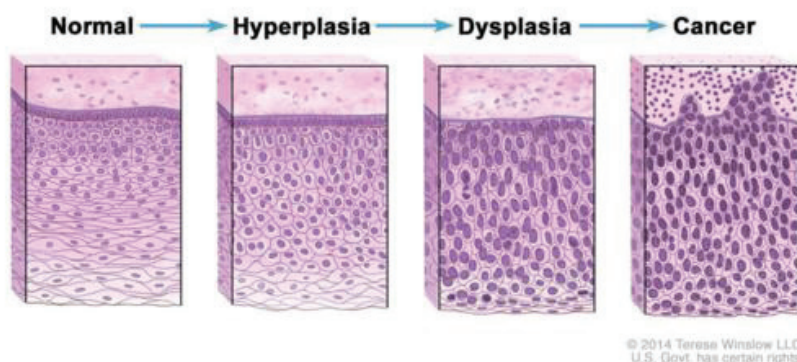


Εικόνα 14

Το προτεινόμενο μοντέλο που απεικονίζει τον μηχανισμό της ρύθμιση της β-κατενίνης με άξονα p14^{ARF}-Hsp70. (Damalas A, et al. 2011).

Αποσιώπηση της β-κατενίνης, έχει σαν αποτέλεσμα αυξημένη απόπτωση που προκαλείται από HS και OS. Κάτι που μπορεί να δοκιμαστεί κλινικά, σε ασθενείς με καρκίνο. (Damalas A, et al. 2011).

Το κύτταρο, μετά την EMT, μετατρέπεται σε καρκινικό και μεταναστεύει. (Εικόνα 15). Εκεί που θα διεισδύσει και θα σταθεροποιηθεί, θα ακολουθήσει την αντίστροφη διαδικασία της EMT, η οποία είναι μεσεγχυματική-επιθηλιακή μετάπτωση (EndoMT).



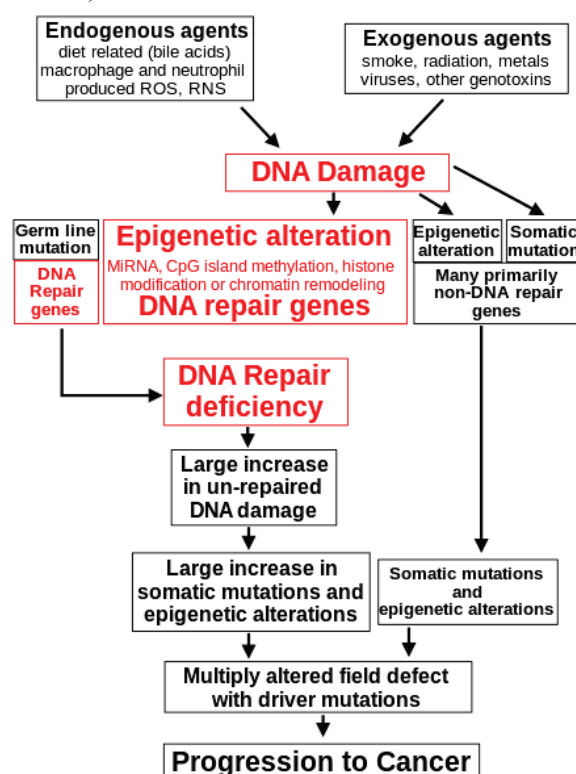
Εικόνα 15

© 2014 Terese Winstow LLC U.S. Govt. has certain rights

Το κύτταρο, δηλαδή, αποκτά ξανά επιθηλιακούς δείκτες, οπότε και δημιουργείται μεταστατικός καρκίνος. Τα καρκινικά αυτά κύτταρα, που έχουν προκύψει από EMT, έχουν την δυνατότητα να παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στη γήρανση και την απόπτωση. (Huang R.Y. et al. 2009), (Thiery J.P. et al. 2009).

1.4. Αλλαγές στο DNA

Σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και εξέλιξη του καρκίνου παίζουν επιγενετικές τροποποιήσεις. (Εικόνα 16).



Εικόνα 16

Η επιπτώσεις των επιγενετικών τροποποιήσεων και των βλαβών του DNA στην δημιουργία και την εξέλιξη του καρκίνου.

(<https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=25317996>. By Bernstein0275 - Own work, CC BY-SA 3.0)

Παραδείγματα τέτοιων τροποποιήσεων είναι η υπερμεθυλίωση ή η υπομεθυλίωση του DNA, αλλαγές σε ιστονικές τροποποιήσεις, (Kanwal R. et al. 2012), καθώς και αλλαγές στην αρχιτεκτονική των χρωμοσωμάτων. Με τις αλλαγές αυτές, επηρεάζεται η έκφραση κάποιων γονιδίων, χωρίς να μεταβάλλεται η αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του. Ονομάζονται epimutations, μπορούν να κληρονομηθούν μέσω

των κυτταρικών διαιρέσεων και να δώσουν απαρχή κάποιας νόσου. Αυτές ονομάζονται πρωτογενείς, όταν δεν συνοδεύονται από γενετικές αλλαγές, και δευτερογενείς, όταν συνοδεύονται και από γενετικές αλλαγές. (McCarrey J.R. et al. 2016).

Επιγενετικές αλλαγές συναντώνται συχνά σε πολλούς τύπους καρκίνου. Στην περίπτωση καρκίνου του παχέος εντέρου, κάποια γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, έχουν τροποποιημένη μεθυλίωσή (27 υπομεθυλιωμένα και 147 υπερμεθυλιωμένα γονίδια). Από τα υπερμεθυλιωμένα γονίδια, τα 10 ήταν στο 100% των καρκίνων του παχέος εντέρου, ενώ άλλα, ήταν στο 50% των καρκίνων αυτών. (Schnekenburger M. et al. 2012). Επιγενετικές τροποποιήσεις μπορεί να συμβούν και σε γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα, που επιδιορθώνουν λάθη του DNA. Κύτταρα με μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA, έχουν αυξημένη πιθανότητα μετάλλαξης και εμφάνισης καρκίνου. (Narayanan L. et al. 1997), (Hegan DC et al. 2006). Σίγουρα, όλες οι μεταλλάξεις δεν οδηγούν σε δημιουργία καρκίνου. Οι περισσότερες απ' αυτές καλούνται απλά “passengers” (μεταλλάξεις-επιβάτες), δεν έχουν δηλαδή μεγάλη επίδραση στη δημιουργία του όγκου. Αντίθετα, δύο έως οκτώ, οι “driver mutations” (μεταλλάξεις-οδηγοί), προκαλούν εξέλιξη του καρκίνου. (Vogelstein et al. 2013).

Οι επιγενετικοί δείκτες αποτελούν σημαντικούς βιοδείκτες και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εργαλεία πρόγνωσης και διάγνωσης του καρκίνου (Falco M1. et al. 2016).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2° : Παράγοντες που εμπλέκονται στον καρκίνο

2.1 Παράγοντες που επηρεάζουν ένα κύτταρο ώστε να γίνει καρκινικό

Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που οδηγούν στην απορρύθμιση της κυτταρικής διαίρεσης και την δημιουργία καρκίνου.

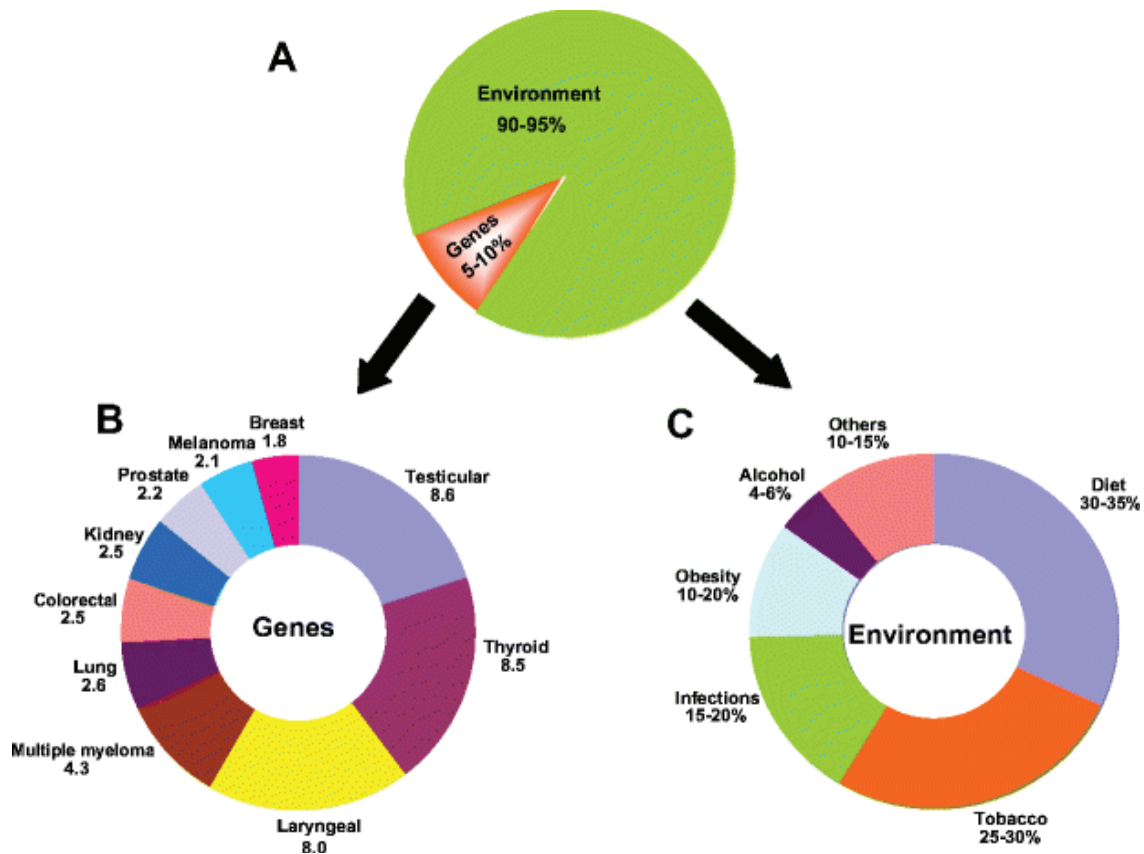
Το σηματοδοτικό μονοπάτι Notch, είναι συντηρημένο εξελικτικά και ελέγχει σε σημαντικό βαθμό την κυτταρική μοίρα. Αυτό γίνεται, μέσω της αλληλεπίδρασης των υποδοχέων του μονοπατιού Noth, με διαφορετικούς, κάθε φορά προσδέτες. (Fazio C. et al.2016).

Το μονοπάτι μπορεί να ενεργοποιηθεί κανονικά, μέσω των προσδετών DLL1, DLL3 και DLL4 και των Jagged1, Jagged2, αλλά και μη κανονικά μέσω μορίων που αλληλεπιδρούν με άλλα σηματοδοτικά μονοπάτια. Δεν έχει ακόμα διευκρινιστεί, αν το σηματοδοτικό αυτό μονοπάτι ενεργοποιεί ή καταστέλλει τις διάφορες μορφές καρκίνου. Η απορρύθμισή του, όμως, θεωρείται σημαντικός παράγοντας στη δημιουργία του. Φαίνεται ότι σχετίζεται με αντιδράσεις φλεγμονής. (Fazio C. et al. 2016).

Η χρόνια φλεγμονή, είναι ένας παράγοντας, που μπορεί να οδηγήσει σε δημιουργία καρκίνου, όπως, στον καρκίνο που σχετίζεται με την κολίτιδα (Colitis-associated cancer CAC), που οφείλεται στην ασθένεια της φλεγμονής του εντέρου (Inflammatory bowel disease (IBD)). Οι πρωτεΐνες του στρες CIRP και HSPA4 σχετίζονται με την κλινική πορεία και την εξέλιξη της CAC.

Η RNA-binding motif protein 3 (RBM3), είναι μια πρωτεΐνη που ενεργοποιείται σε διάφορες καταπονήσεις του οργανισμού και η έκφρασή της αυξάνεται σε περιπτώσεις καρκίνου. Η πρωτεΐνη αυτή, η RBM3, απαιτείται για τη δημιουργία καρκίνου CAC στο ποντίκι, και πιστεύεται ότι μπορεί να αποτελέσει προγνωστικό βιολογικό δείκτη της. Μπορεί επίσης να αποτελέσει στόχο για την πρόληψη ή τη θεραπεία του καρκίνου σε ασθενείς με IBD. (Sakurai T et al. 2016).

Ο καρκίνος, εξακολουθεί να είναι ένας παγκόσμιος δολοφόνος, (Anand P. et al. 2008). Αποτελεί το 23% των θανάτων στις ΗΠΑ, και την δεύτερη πιο συχνή αιτία θανάτου, με πρώτη τα καρδιακά επεισόδια. Και ενώ τα ποσοστά θανάτου από καρδιακά νοσήματα μειώνεται τις τελευταίες δεκαετίες, δεν συμβαίνει κάτι ανάλογο και τα τους θανάτους από τον καρκίνο.



Εικόνα 17

Ο ρόλος των γονιδίων και του περιβάλλοντος στην ανάπτυξη του καρκίνου.

A. Το ποσοστό συμμετοχής των γενετικών (5-10%) και περιβαλλοντικών παραγόντων (90-95%) με τον καρκίνο.

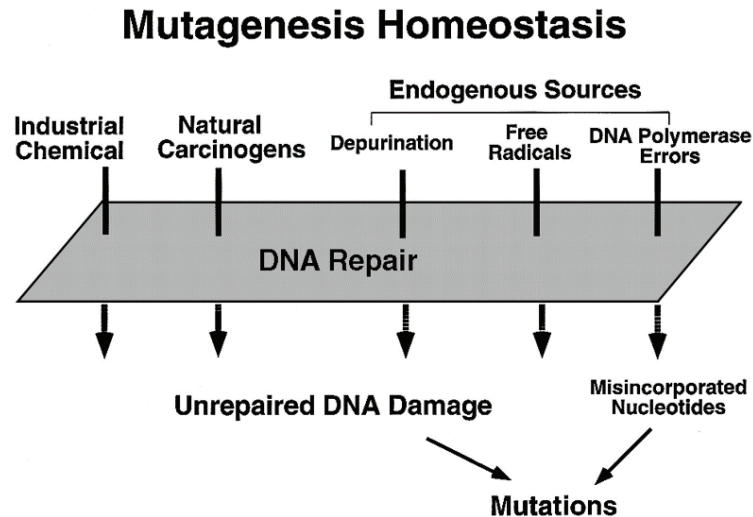
B. Το ποσοστό κινδύνου σε οικογένειες σε συγκεκριμένους τύπους καρκίνων

C. Ποσοστιαία αναλογία θανάτων από κάθε περιβαλλοντικού παράγοντα.

(Anand P. et al. 2008).

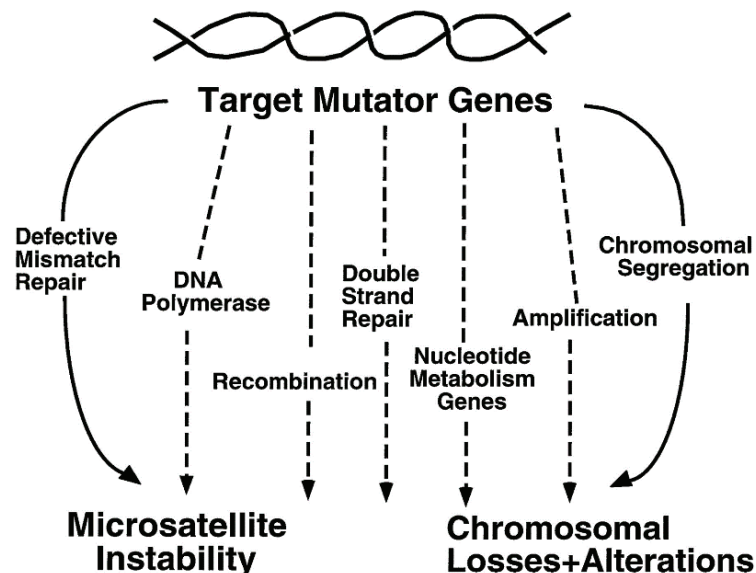
Οι κληρονομούμενες γενετικές αλλαγές (μεταλλάξεις), ευθύνονται μόνο για το 5-10% των θανάτων από καρκίνο, (από μελέτες σε μονοζυγωτικά δίδυμα), (Εικόνα 17). Για το υπόλοιπο 90-95% ευθύνονται το κάπνισμα, η διατροφή και η παχυσαρκία, οι λοιμώξεις, η ακτινοβολίες (ιοντίζουσες και μη), το άγχος, η έλλειψη σωματικής άσκησης και οι χημικές ουσίες από περιβαλλοντικούς ρύπους. (Anand P. et al. 2008). Η συντριπτική πλειοψηφία των καρκίνων είναι μη κληρονομική. Οι κληρονομικοί καρκίνοι, οφείλονται σε γενετική ατέλεια. Το 0,3% του πληθυσμού, είναι φορείς γενετικών μεταλλάξεων, με αυξημένο κίνδυνο, εμφάνισης καρκίνου. Τέτοιες κληρονομούμενες μεταλλάξεις, που οδηγούν σε καρκίνο, είναι μεταλλάξεις, όπως, στα γονίδια BRCA1 και BRCA2 με κίνδυνο περισσότερο από 75% για ανάπτυξη καρκίνου του μαστού και καρκίνο των ωοθηκών. (Roukos D.H. 2009).

Παρά το γεγονός ότι όλοι οι καρκίνοι, είναι αποτέλεσμα πολλαπλών μεταλλάξεων (Loeb K. R. et al. 2000), αυτές οι μεταλλάξεις οφείλονται και σε αλληλεπίδραση με το περιβάλλον. (Εικόνες 18 και 19).



Εικόνα 18

Οι παράγοντες που προκαλούν συσσώρευση μεταλλάξεων σε καρκινικά κύτταρα. Ποικίλοι παράγοντες βλάπτουν το DNA, και ποικίλοι μηχανισμοί επιδιορθώνουν τις βλάβες αυτές. Αυτή η ισορροπία διαταράσσεται σε περιπτώσεις καρκινικών κυττάρων. (Loeb K. R. et al. 2000)

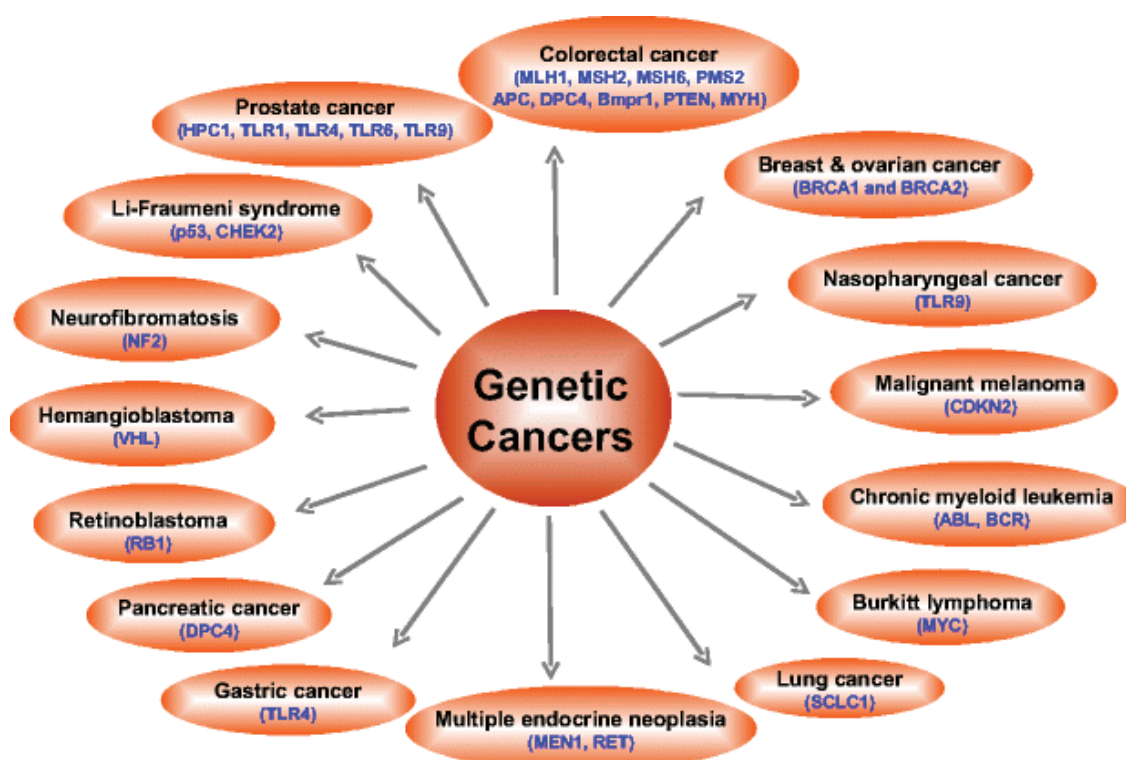


Εικόνα 19

Διαφορετικά μονοπάτια, που οδηγούν σε μεταλλαγμένο φαινότυπο των καρκινικών κυττάρων (Loeb K. R. et al 2000)

2.1.1 Περιβαλλοντικοί παράγοντες – Τρόπος ζωής

Έχουν γίνει πολλές μελέτες για το τι ευθύνεται περισσότερο για την ανάπτυξη καρκίνου, οι περιβαλλοντικές συνθήκες ή τα γονίδια. Μελέτες σε πανομοιότυπα δίδυμα, έχουν προτείνει ότι τα γονίδια, δεν είναι η μόνη αιτία των χρόνιων ασθενειών. Για παράδειγμα, μεταξύ πανομοιότυπων διδύμων το ποσοστό του καρκίνου του μαστού βρέθηκε να είναι μόνο 20% (Hamilton A. S. et al. 2003). Καρκίνοι οι οποίοι οφείλονται σε ελαττωματικά γονίδια φαίνονται στην εικόνα 20.



Εικόνα 20

Τα γονίδια που σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου. (Anand P. et al 2008).

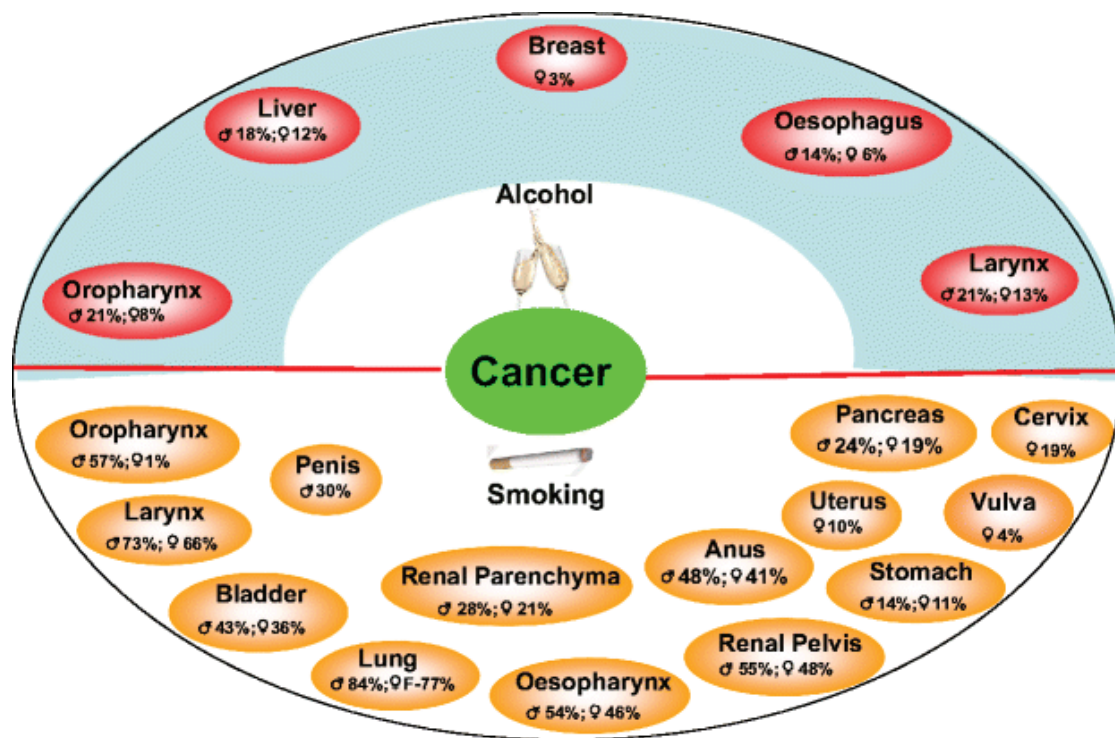
2.1.2. Κάπνισμα και αλκοόλ

Επειδή οι κληρονομικοί παράγοντες δεν γίνεται να τροποποιηθούν, το καλύτερο που μπορούμε να κάνουμε για την πρόληψη του καρκίνου, είναι να προσέχουμε τον τρόπο ζωής μας, ώστε να μειώσουμε ή και να εξαλείψουμε την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου.

Όλοι οι παράγοντες, που προκαλούν καρκίνο, είτε προκαλούν μεταβολές στα γονίδια του κυττάρου, είτε οφείλονται σε ελαττωματικά γονίδια που κληρονομήθηκαν από τους γονείς στους απογόνους. («Heredity and Cancer». American Cancer Society. 2013).

Ένας τέτοιος παράγοντας είναι και ο καπνός του τσιγάρου. Υπάρχουν πάνω από πενήντα διαφορετικές βλαβερές ουσίες που περιέχονται στον καπνό του τσιγάρου και ευθύνονται για μορφές καρκίνου. Από τις πιο επικίνδυνες, είναι οι νιτροζαμίνες και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες. (Kuper H. et al. 2002).

Το κάπνισμα είναι η αιτία θανάτου για το 22% των θανάτων από καρκίνο. (Εικόνα 21). («Cancer Fact sheet N°297». World Health Organization. 2014).



Εικόνα 21

Καρκίνοι που σχετίζονται με αλκοόλ και κάπνισμα.

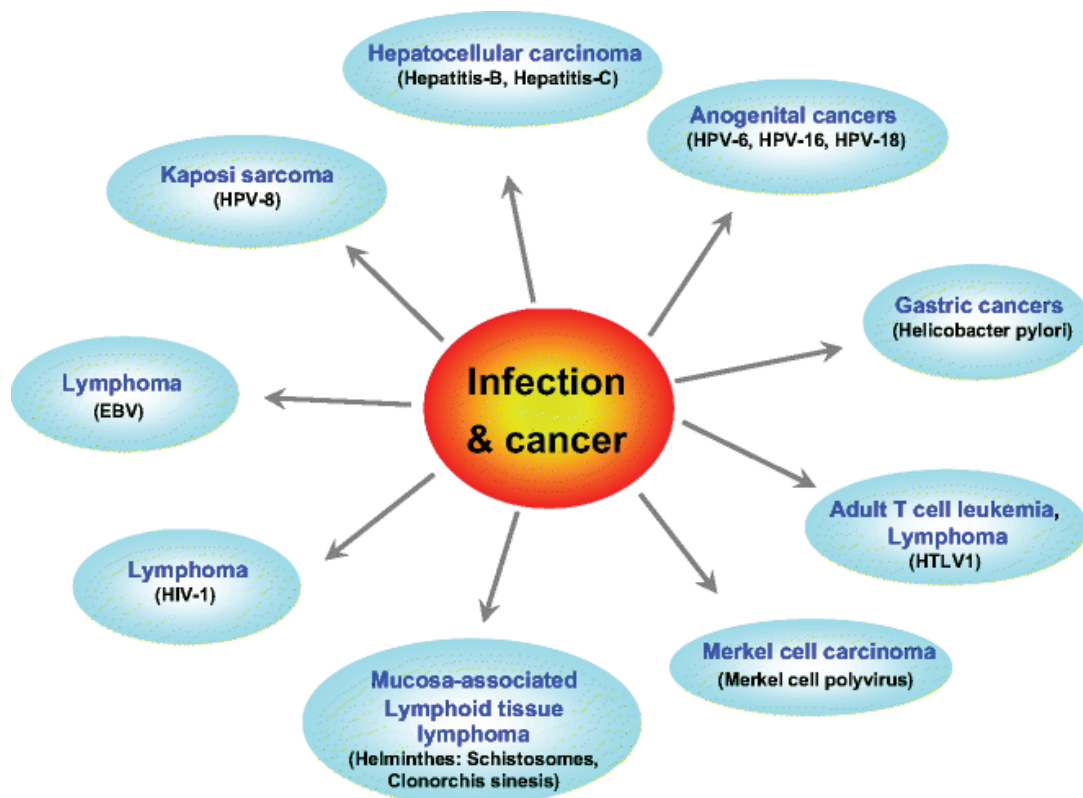
Τα ποσοστά αναφέρονται στους θανάτους από καρκίνους λόγω αλκοόλ και καπνίσματος, σε άνδρες και γυναίκες (Irigaray P. et al. 2007)

Το αλκοόλ είναι ένας ακόμα επιβαρυντικός παράγοντας για την πρόκληση καρκίνου. (Εικόνα 21). Στη χρήση του, αποδίδεται το 10% των καρκίνων των ανδρών, και το 3% των γυναικών, στη Δυτική Ευρώπη, κυρίως του ήπατος και του πεπτικού σωλήνα. (Schütze M et al. 2011).

2.1.3. Λοιμογόνοι παράγοντες

Σε πολλές περιπτώσεις το αίτιο για την πρόκληση καρκίνου, μπορεί να είναι η προσβολή από μολυσματικό παράγοντα. Από τις 12,7 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις καρκίνου που εμφανίστηκαν το 2008, το ποσοστό που αναλογεί (PAF) σε

λοιμογόνους παράγοντες, ήταν 16,1%, πράγμα που σημαίνει ότι περίπου 2 εκατομμύρια νέα κρούσματα καρκίνου μπορούν να αποδοθούν σε λοιμώξεις. Αυτό το ποσοστό ήταν υψηλότερο στις λιγότερο ανεπτυγμένες χώρες (22,9%) από ό, τι στις πιο ανεπτυγμένες χώρες (7,4%), και κυμαινόταν από 3,3% στην Αυστραλία και τη Νέα Ζηλανδία σε 32,7% στην υποσαχάρια Αφρική. Το ελικοβακτήριο του πυλωρού (*Helicobacter pylori*), η ηπατίτιδα Β και C, και ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων HPV, ήταν υπεύθυνοι για 1,9 εκατομμύρια περιπτώσεις, καρκίνων, κυρίως του στομάχου, του ήπατος και του τραχήλου της μήτρας. (De Martel C. et al. 2012). (Εικόνα 22).



Εικόνα 22

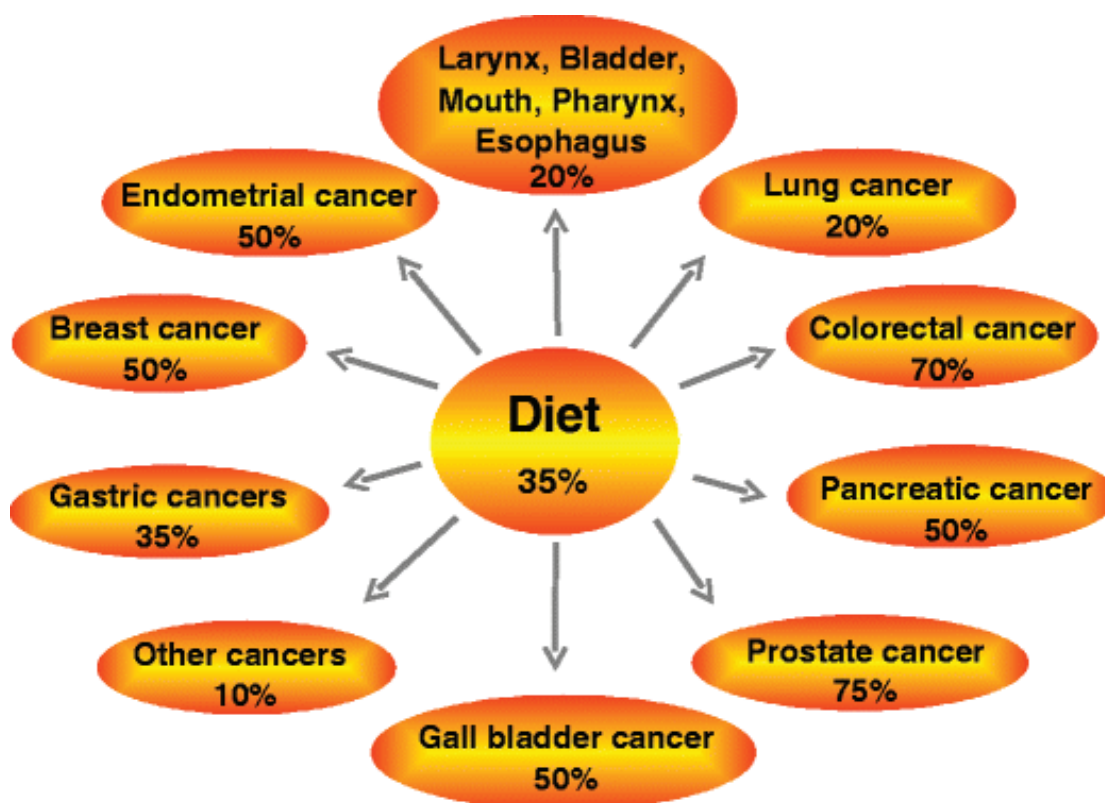
Διάφοροι καρκίνοι που έχουν συνδεθεί με λοιμώξεις..

Οι μολυσματικοί παράγοντες σχετίζονται με τον ιό ανθρώπινου θηλώματος HPV, τον ιό λευχαιμίας των ανθρώπινων κυττάρων T, HTLV, τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας HIV, τον ιό Epstein-Barr EBV. (Anand P. et al 2008) &. (Parkin D. M. 2006)

Στις γυναίκες, ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αναλογεί περίπου το 50% των καρκίνων που οφείλονται σε λοιμογόνους παράγοντες, ενώ στους άνδρες, γαστρικοί καρκίνοι και καρκίνοι του ήπατος, αναλογούν σε περισσότερο από το 80%. Περίπου

το 30% των λοιμώξεων αυτών συμβαίνουν σε άτομα ηλικίας κάτω των 50 ετών. (De Martel C. et al. 2012).

2.1.4. Διατροφή



Εικόνα 23

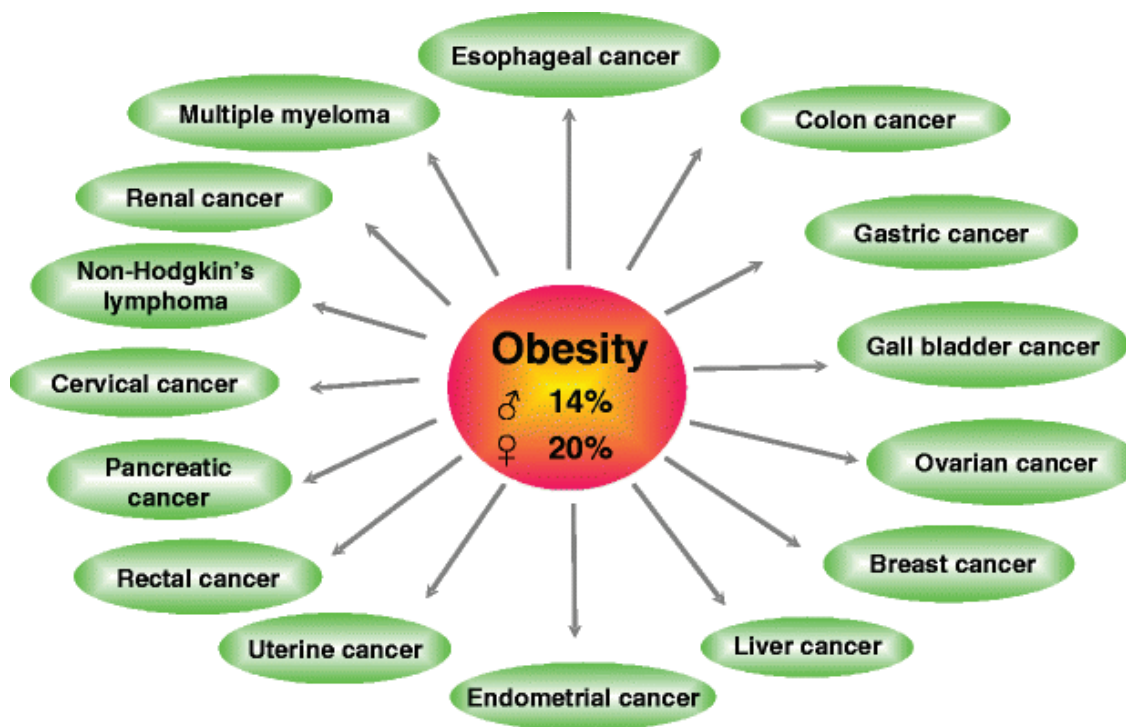
Ποσοστά θανάτων από καρκίνους που σχετίζονται με την διατροφή (W. C. Willett. 2000)& (Anand P. et al.2008)

Τρόφιμα που ενοχοποιούνται για πρόκληση καρκίνου, είναι το αλάτι, για τον καρκίνο του στομάχου, η αφλατοξίνη B1, (πρόσμιξη για κατεργασία τροφίμων), για καρκίνο του ήπατος. (Park S. et al. 2008) και άλλα.

Υπάρχει πολύ μεγάλη διακύμανση στα ποσοστά συσχέτισης μεταξύ διατροφής και καρκίνου. (Εικόνα 23). Οι Ασιάτες για παράδειγμα, έχουν 25 φορές μικρότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του προστάτη και 10 φορές χαμηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού, απ' ότι έχουν άνθρωποι των δυτικών χωρών. Η συχνότητες αυτές αυξάνουν αν οι Ασιάτες μεταναστεύσουν σε δυτικές χώρες. (<http://www.dietandcancerreportorg/?p=ER>).

2.1.5. Παχυσαρκία

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, το 14-20% των θανάτων από καρκίνο, σχετίζεται με το υπερβολικό σωματικό βάρος. (Εικόνα 24). Παράλληλα με τη διατροφή και η έλλειψη φυσικής άσκησης, πιστεύεται ότι συμβάλλει στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου, όχι μόνο γιατί επιδρά στο σωματικό βάρος, αλλά και γιατί επιδρά αρνητικά στο ανοσοποιητικό και στο ενδοκρινικό σύστημα. (Kushi L.H. et al. 2006).



Εικόνα 24

Διάφοροι καρκίνοι που σχετίζονται με την παχυσαρκία.

(Calle E. E. et al. 2003) & (Anand P. et al. 2008)

2.1.6. Καρκινογόνες ουσίες περιβάλλοντος

Πολλές μορφές καρκίνου, έχουν συσχετιστεί με ρυπογόνους παράγοντες του περιβάλλοντος. Η ρύπανση του εξωτερικού μας περιβάλλοντος, σχετίζεται, κυρίως, με πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες (PAH) και σωματίδια του άνθρακα, ενώ η ρύπανση του εσωτερικού μας περιβάλλοντος, σχετίζεται με καπνό, φορμαλδεΰδη, πτητικές οργανικές ενώσεις (βενζόλιο 1,3-βουταδιένιο), καρκινογόνες προσμίξεις και πρόσθετα τροφίμων (νιτρικά οξείδια, φυτοφάρμακα, διοξίνες), καρκινογόνα μέταλλα και μεταλλοειδή, φαρμακευτικές ουσίες και καλλυντικά. (Belpomme D. et al. 2007).

Οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAH) και τα σωματίδια του άνθρακα, βρέθηκε ότι αυξάνουν τον κίνδυνο θανάτου από καρκίνο του πνεύμονα. Το νιτρικό οξύ, βρέθηκε να αυξάνει τον κίνδυνο καρκίνου του πνεύμονα και τις πιθανότητες μετάστασης, ενώ ο αυξημένος κίνδυνος παιδικής λευχαιμίας, σχετίζεται με έκθεση στα καυσαέρια των αυτοκινήτων. (Belpomme D. et al. 2007). (Εικόνα 25).



Εικόνα 25

Καρκίνοι που σχετίζονται με καρκινογόνες ουσίες του περιβάλλοντος (η ουσία φαίνεται στην παρένθεση). (Belpomme D. et al. 2007) & (Anand P. et al. 2008)

2.2 Ενδοκυτταρικοί παράγοντες

Οι περισσότεροι όγκοι, αποτελούν συνέπεια αλλαγών σε γονίδια του κυττάρου. Το αίτιο των περισσότερων όγκων είναι η κληρονόμηση προβληματικών γονιδίων και οι μεταλλάξεις γονιδίων που μπορεί να οφείλονται σε περιβαλλοντικούς παράγοντες ή σε λάθη της αντιγραφής του DNA.

Κάποιες από τις μεταλλάξεις μπορεί να προσφέρουν επιλεκτικό πλεονέκτημα στα κύτταρα που τις φέρουν, μπορεί όμως να προκαλέσουν την δημιουργία ογκογονιδίου, γονιδίου, δηλαδή, που προωθεί την ανάπτυξη και την εξέλιξη όγκου. Μπορεί τέλος, μια μετάλλαξη να οδηγήσει στη αδρανοποίηση ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου,

ενός γονιδίου που σταματά τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κάποιων κυττάρων ή την ικανότητά τους να επιβιώνουν μακριά από την κανονική τους θέση, αναστέλλοντας έτσι, την δημιουργία καρκινικών κυττάρων. (Sever R. et al. 2015).

2.3. Ογκογονίδια - Ογκοκατασταλτικά

Στην εμφάνιση του καρκίνου, σημαντικό ρόλο παίζουν δύο είδη γονιδίων. Τα ογκογονίδια, και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Τα ογκογονίδια επάγουν κυτταρικό πολλαπλασιασμό και ανάπτυξη, ενώ τα ογκοκατασταλτικά, αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την επιβίωση του κυττάρου. Η μετάπτωση των φυσιολογικών κυττάρων σε καρκινικά, προκαλείται από μεταλλάξεις του γενετικού υλικού, από μειορρύθμιση της έκφρασης των ογκοκατασταλτικών γονιδίων ή την αυξορρύθμιση της έκφρασης φυσιολογικών ογκογονιδίων. Επιπρόσθετα, οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης του DNA, υπολειπουργούν ή είναι απόντες, οπότε, προκαλείται γενωματική αστάθεια (Knudson A.G 2001).

Ογκογονίδια: είναι μεταλλαγμένες μορφές κάποιων γονιδίων που λέγονται πρωτογονίδια. Τα πρωτογονίδια, διεγείρουν κάτω από κάποιες φυσιολογικές συνθήκες τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, (σε περιπτώσεις επούλωσης τραυμάτων). Ελέγχουν κυτταρικά σήματα που αφορούν, εκτός από τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την διαφοροποίηση, την κινητικότητα και την επιβίωση του κυττάρου. Όταν το πρωτογονίδιο μεταλλαχθεί σε ογκογονίδιο, το κύτταρο μετατρέπεται σε καρκινικό. Ένα ογκογονίδιο μπορεί να ενεργοποιηθεί, με πολλούς μηχανισμούς:

- με σημειακή μετάλλαξη, που ενεργοποιεί ένα ένζυμο
- με έλλειψη, με την οποία χάνεται μια ρυθμιστική περιοχή ενός ενζύμου
- με αυξημένη έκφραση, λόγω της ενίσχυσης (πολλαπλά αντίγραφα) του γονιδίου, ή διαταραχής της έκφρασης του υποκινητή του γονιδίου.

Τα πρωτογονίδια κωδικοποιούν μόρια που εμπλέκονται στη ρύθμιση της απόκρισης των κυττάρων σε μιτογόνα σήματα. Τέτοια μόρια μπορεί να είναι:

- αντιαποπτωτικά μόρια (Bcl2)
- μεταγραφικοί παράγοντες
- αυξητικοί παράγοντες
- υποδοχείς αυξητικών παραγόντων (π.χ. ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα EGF και το c-erbB-2)

- μόρια υποδοχείς σημάτων (π.χ. μέλη της οικογένειας RAS)
- ρυθμιστές του κυτταρικού κύκλου
- κάποιες κινάσες (π.χ. BCR-ABL, RAF1)

Τα ογκογονίδια που συχνά είναι ενεργοποιημένα στον άνθρωπο είναι

- το *myc* (καρκίνος του οισοφάγου, του μαστού, λευχαιμίες). Η πρωτεΐνη που παράγεται από το ογκογονίδιο αυτό, είναι μεταγραφικός παράγοντας που ενεργοποιείται κατά την είσοδο του κυττάρου στον κυτταρικό κύκλο
- το *c-erbB-2* (καρκίνος μαστού, ωθηκών) και
- μέλη της οικογένειας RAS (καρκίνος παχέος εντέρου, παγκρέατος, πνεύμονα), σχετίζεται με μεταγωγή σημάτων που οδηγούν στην ανάπτυξη.

Ογκοκατασταλτικά γονίδια: η απενεργοποίηση ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου (απαιτείται η απενεργοποίηση και των δύο αλληλομόρφων του), οδηγεί σε απώλεια ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους:

- με έλλειψη χρωμοσωμικού τμήματος, που φέρουν τα αλληλόμορφα του συγκεκριμένου γονιδίου
- με έλλειψη τμημάτων του γονιδίου, που οδηγούν σε λάθη στη μεταγραφή του και παραγωγή διαφορετικού mRNA
- με τροποποίηση του υποκινητή, ώστε να μην είναι δυνατή, η μεταγραφή του γονιδίου
- σε αλλαγή που οδηγεί σε παραγωγή διαφορετικής πολυπεπτιδικής αλυσίδας, άρα και μη λειτουργικής.

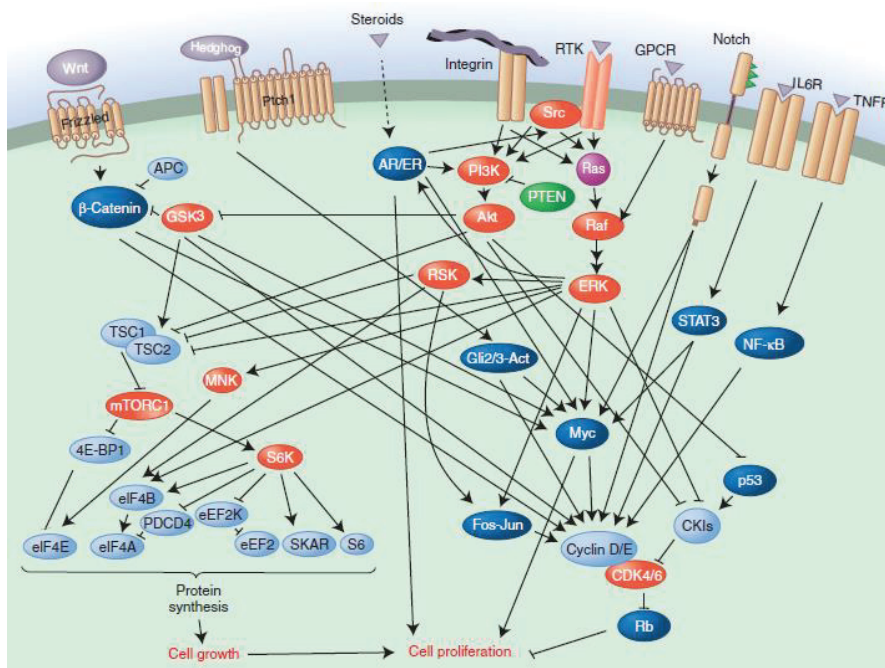
(eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/MED676/ΚΕΦΑΛΑΙΟ%203.doc)

Συνήθως, για την ανάπτυξη καρκίνου, απαιτείται ενεργοποίηση των ογκογονιδίων, απενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων καθώς και απενεργοποίηση των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA. Αυτό οδηγεί σε:

- συνεχή κυτταρικό πολλαπλασιασμό
- διαταραχή στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA, λόγω αυξημένης συχνότητας εμφάνισης γενετικών αλλαγών
- αντοχή στην απόπτωση και επιβίωση
- κινητικότητα, διήθηση ιστών και δημιουργία μεταστάσεων
- νεοαγγειογένεση.

Για την δημιουργία ενός όγκου απαιτούνται δεκάδες ή εκατοντάδες ή ακόμα και χιλιάδες μεταλλάξεις. Μεταλλάξεις – οδηγοί, (driver mutations) μπορεί να είναι

ελλείψεις (PTEN), αναστροφές ή ενισχύσεις (Myc), μετατοπίσεις μεγάλης κλίμακας (BCR-ABL, σύντηξη χρωμοσωμάτων 9 και 22).



Εικόνα 26

Το σηματοδοτικό μονοπάτι Ras-ERK και PI3K.

(Sever R. et al. 2015)



Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine

Μια άλλη γενετική αλλαγή που οδηγεί σε καρκίνο είναι και η απώλεια της ετεροζυγωτίας, είτε λόγω γενετικής αλλαγής ή λόγω μιτωτικού ανασυνδυασμού, μεταξύ φυσιολογικού και μεταλλαγμένου αλληλομόρφου. Αυτό οδηγεί σε απενεργοποίηση καρκινικών καταστολέων, όπως η πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος (pRB) και η p53. Παράγοντας ογκογένεσης μπορεί να είναι η αλλαγή στη μεθυλίωση των υποκινητών γονιδίων (Sandoval et al. 2012), (Suva et al. 2013).

Οι μεταλλάξεις που προκαλούν καρκίνο, επηρεάζουν σημαντικά σηματοδοτικά μονοπάτια του κυττάρου, με αποτέλεσμα την υπερέκφραση κάποιων τροποποιημένων γονιδίων, ή την παραγωγή διαφορετικών πρωτεϊνικών μορίων μη λειτουργικών. Πρωτεΐνες που εμπλέκονται σε πολλές φυσιολογικές αντιδράσεις και τροποποιούνται είναι για παράδειγμα, η τυροσινική κινάση, ο υποδοχέας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (RTK του EGFR), μικρές GTPases (Ras), κινάσες σερίνης/θρεονίνης (Raf και Akt), κυτταροπλασματικές κινάσες τυροσίνης (Src και Abl), λιπιδιοκινάσες

(φωσφοϊνοσιτιδίου 3-κινάσες, PI3K), καθώς και πυρηνικοί υποδοχείς (ο υποδοχέας οιστρογόνου, ER). (Sever R. et al. 2015). (Εικόνα 26).

Τα μόρια αυτά εμπλέκονται στα σηματοδοτικά μονοπάτια όπως το Wnt, το Hedgehog (Hh), Hippo, και Notch τα οποία, μπορούν να ενεργοποιήσουν πυρηνικούς στόχους, όπως μεταγραφικούς παράγοντες (Myc και NF-kB), παράγοντες που τροποποιούν τη χρωματίνη (EZH2), και μόρια που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο (κυκλίνες). Επιπρόσθετα κάποιες μεταλλάξεις μπορεί να αδρανοποιήσουν ρυθμιστές που κανονικά καταστέλλουν όγκους.

Ένα γονίδιο που εμφανίζεται πολύ συχνά μεταλλαγμένο στον καρκίνο είναι η ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53. Η p53 ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και την απόκριση σε βλάβες του DNA. Μεταλλάξεις άλλων ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών όπως των CKIs, pRB, και p16, οδηγούν σε απορρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Πολλοί καταστολείς όγκων, είναι αρνητικοί ρυθμιστές της κυτταροπλασματικής σηματοδότησης, όπως για παράδειγμα, η λιπιδική φωσφατάση PTEN, η οποία, είναι αρνητικός ρυθμιστής στο σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K-Akt και η πρωτεΐνη APC, η οποία, είναι αρνητικός ρυθμιστής στο σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt. Η υπερενεργοποίηση μονοπατιών ογκογονιδίων, μπορεί να οδηγήσει σε μια μη αντιστρεπτή διακοπή του κυτταρικού κύκλου, η οποία ονομάζεται γήρανση του κυττάρου. (Gorgoulis et al. 2010), (Vargas et al. 2012). Αυτό αποτελεί έναν ασφαλή μηχανισμό αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού που οφείλεται σε ανώμαλη ενεργοποίηση ογκοπρωτεϊνών σε φυσιολογικά κύτταρα, και συνοδεύεται από αλλαγές στην κυτταρική δομή, στην οργάνωση της χρωματίνης, σε βλάβες στο DNA, σε έκκριση κυτοκίνης και σε γονιδιακή έκφραση. Ο ογκογόνος μετασχηματισμός απαιτεί αλλαγές που καταργούν την κυτταρική γήρανση, όπως της p53 ή της PTEN. (Sever R. et al. 2015).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3° : Hsp70 και καρκίνος

3.1. Hsp70 (Heat shock protein 70)

Οι οργανισμοί, από τα βακτήρια έως τον άνθρωπο, εκφράζουν μια οικογένεια πρωτεϊνών, που είναι πολύ συντηρημένες εξελικτικά, και επάγονται σαν απάντηση στο περιβαλλοντικό στρες. Πρωτομελετήθηκαν στην *Drosophila melanogaster*, το 1974, (Tissières A. et al. 1974), ύστερα από έκθεση σε υψηλές θερμοκρασίες, όπου παρατηρήθηκε αυξορρhythμισή τους, γι' αυτό και ονομάστηκαν πρωτεΐνες θερμικού σοκ (Heat shock proteins, Hsp). Σε κύτταρα, που εκφράζουν μεγάλες ποσότητες Hsp70, εμφανίζουν σημαντικά μεγαλύτερη θερμοανθεκτικότητα σε θερμοκρασίες, που χωρίς την Hsp70, θα μπορούσαν να είναι θανατηφόρες. (Angelidis C.E. et al. 1991). Βρέθηκε αργότερα, ότι οι πρωτεΐνες Hsp, επάγονται από μια μεγάλη ποικιλία εξωγενών ερεθισμάτων, γι' αυτό και αναφέρονται με τον γενικότερο όρο «πρωτεΐνες του στρες». (Tavaria et al. 1996).

Είναι πρωτεΐνες-συνοδοί, και βοηθούν στη σωστή αναδίπλωση των νεοσυντιθέμενων πολυπεπτιδικών αλυσίδων, στο ξεδίπλωμα πρωτεϊνών που αναδιπλώθηκαν λανθασμένα και τη σωστή επαναδίπλωσή τους, στη μετατόπιση πρωτεϊνών κατά μήκος της πλασματικής μεμβράνης, στην ενδοκυτταρική μεταφορά πρωτεϊνών, στην απομάκρυνση της κλαθρίνης από τα κυστίδια ενδοκύττωσης, στη δημιουργία και διάσπαση πρωτεϊνικών συσσωματωμάτων, στη ρύθμιση της δράσης της σταθερότητας και γενικά της ομοιόστασης των πρωτεϊνών (Mayer M.P. 2010). Βοηθούν επίσης στην εξάλειψη γερασμένων και κατεστραμμένων κυττάρων. (Kumar S. et al. 2016)

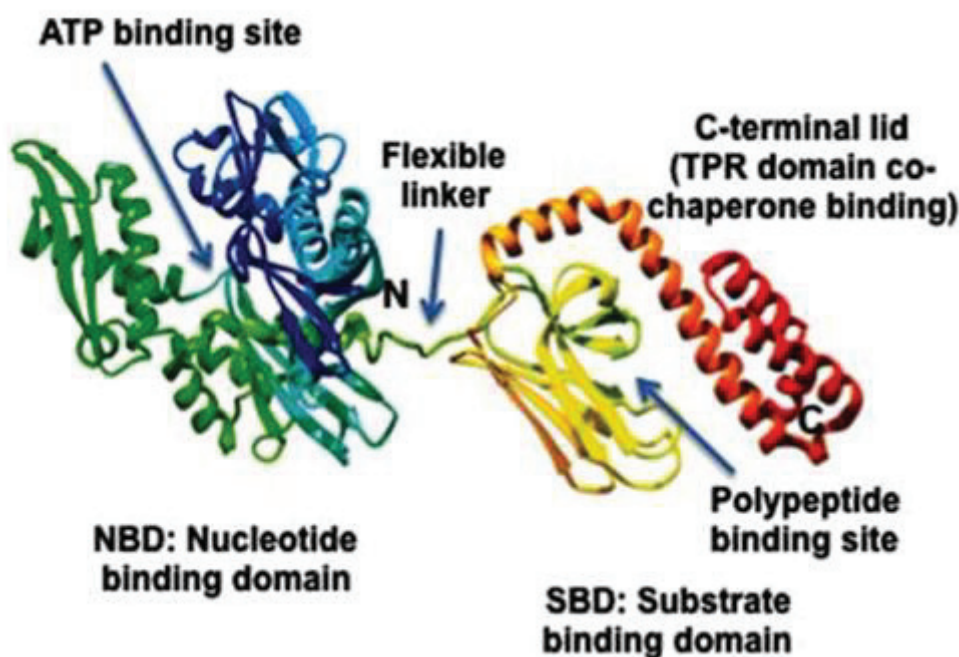
Συχνά αναφέρονται ως housekeeping πρωτεΐνες, και παρουσιάζουν κάποια συγκεκριμένη τοπολογία μέσα στο κύτταρο.

3.2. Δομή της Hsp70

Η πρωτεΐνη Hsp70, αποτελείται από τρεις επικράτειες (domains). Μία επικράτεια NBD (Nucleotide Binding domain), (περίπου 44KDa), που συνδέεται με ATP και ADP, λειτουργεί δηλαδή σαν ATPάση, και βρίσκεται στο N-τελικό άκρο.

Μία επικράτεια SBD (Substrate Binding Domain) σύνδεσης με το υπόστρωμα, που έχει τη μορφή β-βαρελιού και αλληλεπιδρά σχηματίζοντας υδρόφοβους δεσμούς με αμινοξέα του υποστρώματος. (Mayer M.P. 2010).

Τέλος διαθέτει και την C-τελική επικράτεια (15KDa), που περιγράφεται ως «κάλυμμα ή καπάκι» (lid). Όταν οι πρωτεΐνες Hsp70, είναι συνδεδεμένες με ATP, το καπάκι είναι ανοιχτό και οι πολυπεπτιδικές αλυσίδες συνδέονται και αποσυνδέονται εύκολα από το SBD, ενώ όταν είναι συνδεδεμένες με ADP, το καπάκι είναι κλειστό και οι αλυσίδες είναι στενά συνδεδεμένες με το SBD. (Mayer MP. 2010). (Εικόνα 27).



Εικόνα 27

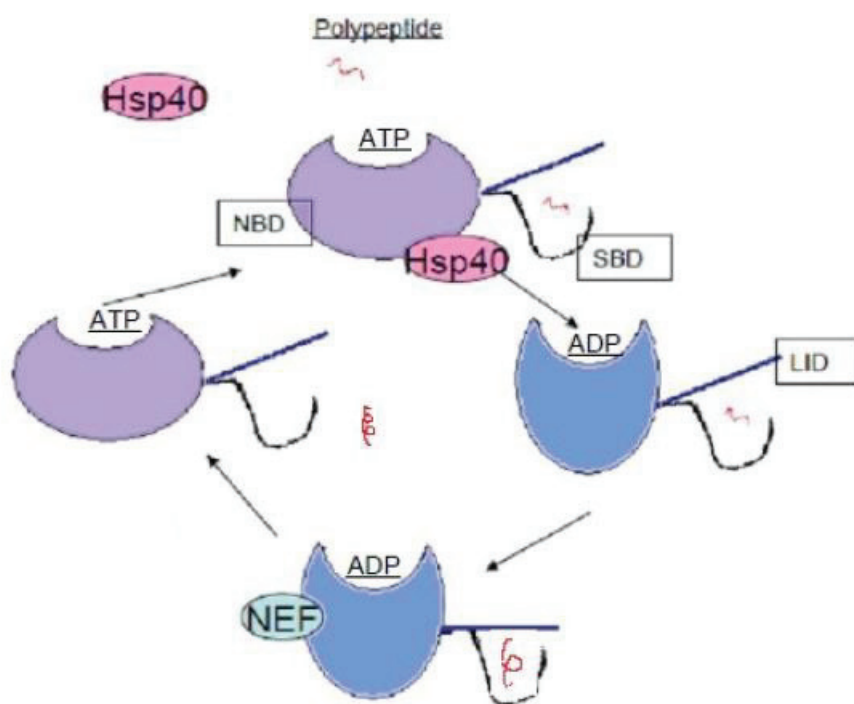
Η δομή της Hsp70 της *E. coli*, όπου φαίνονται οι NBD, SBD and C-τελική περιοχή “καπάκι”(lid).

(*Carcinogenesis*. 2013 June;34(6):1181-1188. *The HSP70 family and cancer*)

Η λειτουργικότητα της Hsp70, εκφράζεται όταν βρίσκεται συνδεδεμένη με ADP, ενώ όταν δεν αντιδρά με κάποια πολυπεπτιδική αλυσίδα, βρίσκεται συνδεδεμένη με ATP. Μόλις μια νεοσυντιθέμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα, σχηματίζεται στο ριβόσωμα, αναγνωρίζεται από την Hsp70, λόγω συγκεκριμένων αλληλουχιών υδρόφοβων αμινοξέων και συνδέεται με αυτή. Η σύνδεση του πεπτιδίου με την SBD επικράτεια της Hsp70, αυξάνει το ρυθμό υδρόλυσής και σύνδεσής της σε ADP, κλείνει το καπάκι “lid”, οπότε το πεπτίδιο συνδέεται πολύ σταθερά με την SBD επικράτεια. (Mayer M.P. 2010).

Παράλληλα, γίνεται και περαιτέρω υδρόλυση του ATP, υποβοηθούμενη από πρωτεΐνες συν-συνοδούς, (J-domain protein), όπως η Hsp40. (Laufen T. et al. 1999). Το πεπτίδιο συνδεόμενο με την SBD επικράτεια της Hsp70, προστατεύεται και

από συσσωμάτωση. Η υδρόλυση του ATP σε ADP, προκαλεί αλλαγή της στερεοδιαμόρφωσης και των τριών επικρατειών της Hsp70. (Zuiderweg E.R. et al. 2013). (Εικόνα 28).



Εικόνα 28

Η λειτουργία της ATPάσης της Hsp70, ρυθμίζεται από JDP, (J-domain protein), την Hsp40, που οδηγεί σε υδρόλυση του ATP σε ADP και NEF (nucleotide exchange factors) που αντικαθιστά το ADP, με άλλο ATP. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα αναδιπλώνεται όταν η Hsp70 είναι συνδεδεμένη με ADP και το «καπάκι» είναι κλειστό.

Στέφου Σταθούλα «Hsp70 και Καρκίνος 2016»

Μόλις το πεπτίδιο αναδιπλωθεί σωστά, παράγοντες NEF (Nucleotide Exchange Factors, όπως BAG-1 και HspBP1), προκαλούν την αντικατάσταση του ADP, με κάποιο άλλο ATP, το «καπάκι» ανοίγει, ενώ το νεοσυντιθέμενο πεπτίδιο μπορεί να πάρει την τελική του μορφή αυτοαναδιπλούμενο, ή μπορεί να οδηγηθεί σε κάποια άλλη πρωτεΐνη-συνοδό. (Bukau B. et al. 2006). Η Hsp70, μπορεί να διατηρήσει το πεπτίδιο σε μια συγκεκριμένη αναδίπλωση, ώστε να μεταφερθεί στη μεμβράνη του κυττάρου και να εκκριθεί.

Όταν εισάγεται ένας αναστολέας της Hsp70, αυτός κρατά το καπάκι ανοικτό, ενώ όταν εισαχθεί κάποιος ενεργοποιητής της Hsp70, αυτός αυξάνει το ρυθμό με τον οποίο ανοιγοκλείνει το καπάκι. (Jinwal et al. 2009). Κύριες πρωτεΐνες θερμικού σοκ

που έχουν δραστηριότητα συνοδού, ανήκουν σε πέντε συντηρημένες κατηγορίες: Hsp33, Hsp60, Hsp70, Hsp90, Hsp100, και υπάρχει ακόμα και η κλάση των μικρών πρωτεϊνών θερμικού σοκ (sHSPs). (Kumar S. et. al. 2016)

Η Hsp70 και η Hsp90 παίζουν σημαντικό ρόλο όχι μόνο στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών, αλλά και στην ουβικιτινίωση και διάσπασή τους, αν αυτό απαιτείται, κρατώντας έτσι ένα σταθερό ισοζύγιο ανάμεσα στις πρωτεΐνες που παράγονται και σε αυτές που αποδομούνται, ανάλογα με τις ανάγκες του κυττάρου και τις συνθήκες που επικρατούν. (Murphy M.E. 2013).

Εάν φωσφορυλιωθεί η C-τελική περιοχή της Hsp70 (ή και της Hsp90), επάγει την πρόσδεση άλλων συν-συνοδών πρωτεϊνών, όπως της CHIP (Carboxyl-terminus of Hsp70 Interacting Protein) και της HOP (Hsp70/Hsp90 Organizing Protein), τα C-τελικά άκρα των οποίων γίνονται στόχοι κινασών όπως CK1, CK2 and GSK3- β , in vitro. Η φωσφορυλίωση των συνοδών πρωτεϊνών σχετίζεται με αυξημένο κυτταρικό πολλαπλασιασμό, χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων. (Muller P. et al. 2013). Επίσης βρέθηκε, ότι ανάλογα με τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος, η Hsp70 και Hsc70 μπορούν να βρίσκονται ή σε μονομερή ή σε σύμπλοκα (διμερή, τριμερή ή ολιγομερή). Στην συσσωματωμένη μορφή, είναι ανενεργά σύμπλοκα. Με την παρουσία μετουσιωμένων πρωτεϊνών, αποσπώνται ενεργά μονομερή, τα οποία λειτουργούν ως ενεργοί μοριακοί συνοδοί. (Angelidis CE. et al. 1999).

3.3. Πότε επάγεται από χημικά – περιβάλλον

Σε περιπτώσεις θερμικού σοκ, υποξίας, παρουσίας βαρέων μετάλλων, μεταβολής του pH ή οξειδωτικού στρες, προκαλείται βλάβη στις πρωτεΐνες του κυττάρου, που αφορούν τόσο στην αναδίπλωσή τους, όσο και στην πιθανή συσσωμάτωσή τους, που καταστρέφει τη λειτουργία τους. Περιορίζεται, έτσι, η τοξικότητα που προκαλείται από μη σωστά αναδιπλωμένες πρωτεΐνες, ή από καταστάσεις στρες για το κύτταρο. Οι διαδικασίες αυτές αναστέλλονται με την σύνδεση των πρωτεϊνών, με την Hsp70, μέσω υδρόφοβων περιοχών που προεξέχουν από τις πρωτεΐνες αυτές. (Murphy M.E. 2013).

3.4. Ισομορφές της Hsp70

Υπάρχουν διαφορετικές Hsp70, που κωδικοποιούνται από 11 διαφορετικά γονίδια που εντοπίζονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα (Tavaria et al. 1996). (Πίνακας 1).

Locus symbol	Alternative names	Intracellular localization	Cognate	Proposed names
HSPA1A	Hsp70, Hsx70, HSP72, Hsp70i, Hsp70-1	Nu/Cyto	Yes	Hsp70-1 <i>hsp70-1a</i>
HSPA1B	Hsp70-2	Nu/Cyto	Yes	Hsp70-1 <i>hsp70-1b</i>
HSPA1L	Hsp70-Hom, Hsp70t	?	Yes	Hsp70-1L <i>hsp70-1l</i>
HSPA2A	Hsp70-3	?	Yes	Hsp70-2A <i>hsp70-2a</i>
HSPA2B	Hsp70-3	?	Yes	Hsp70-2B <i>hsp70-2b</i>
HSPA3	-	?	?	-
HSPA4	Hsp70RY	?	Yes	Hsp70-4 <i>hsp70-4</i>
HSPA5	BiP, GRP78	ER	Yes	Hsp70-5 <i>hsp70-5</i>
HSPA6	Hsp70-6, Hsp70B'	?	No	Hsp70-6 <i>hsp70-6</i>
HSPA7	Hsp70-7, Hsp70B	?	No	Hsp70-7 <i>hsp70-7</i>
HSPA8	HSC70, HSP73	Nu/Cyto	Yes	Hsp70-8 <i>hsp70-8</i>
HSPA9	GRP75, PBP74, mtHSP75	Mito	Yes	Hsp70-9 <i>hsp70-9</i>

Πίνακας 1

Διαφορετικά γονίδια *Hsp70*, ονομασίες, θέση στο κύτταρο και προτεινόμενα ονόματα.

Tavaria M. et al. 1996.

Τα οκτώ μέλη, αν και παρουσιάζουν σημαντική ομολογία μεταξύ τους, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν, ανάλογα με την θέση του κυττάρου που εντοπίζονται, την ιστοειδική τους έκφραση και το είδος του στρες για το οποίο επάγονται (Πίνακας 2) (Murphy M.E. 2013).

	Localization sequence	NBD, 44 kDa	SBD, 15 kDa	Lid, 10 kDa	Tail, EEVD	mRNA expression	Stress-induced?
1a	-	100	100	100	+	constitutive	+
1b	-	99	99	100	+	constitutive	+
1t	-	95	94	74	+	testes	
2	-	88	87	77	+	brain, testes	
5	ER	67	72	53	-	constitutive	
6	-	86	80	58	+	blood, immune	+
8	-	89	92	66	+	constitutive	
9	Mito	52	62	25	-	constitutive	

Percent homology to HSP70-1, each domain

Πίνακας 2

Οι επικράτειες της *Hsp70*, η θέση εντοπισμού τους, τα ποσοστά ομολογίας σε σχέση με την *Hsp70-1*, η έκφραση του mRNA και η σχέση με την κατάσταση στρες. (Murphy M.E 2013).

Δύο από τις ισομορφές, εντοπίζονται στο ενδοπλασματικό δίκτυο και στα μιτοχόνδρια και απαιτούνται για την σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών και για την ομοιοτάσή τους στα οργανίδια αυτά. Η μορφή που εμφανίζεται ειδικά στο ενδοπλασματικό δίκτυο, ονομάζεται HSP70-5 (επίσης γνωστή ως BiP ή Grp78). Ανιχνεύει τις λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες στο ER, και παράγει σήματα κυτταρικού στρες σε αυτό. (ER stress). Παρόμοια λειτουργία έχει και η ισομορφή που εμφανίζεται στα μιτοχόνδρια, και είναι γνωστή ως HSP70-9 ή πρωτεΐνη που σχετίζεται με το θάνατο (mortalin ή Grp75). (Murphy M.E. 2013).

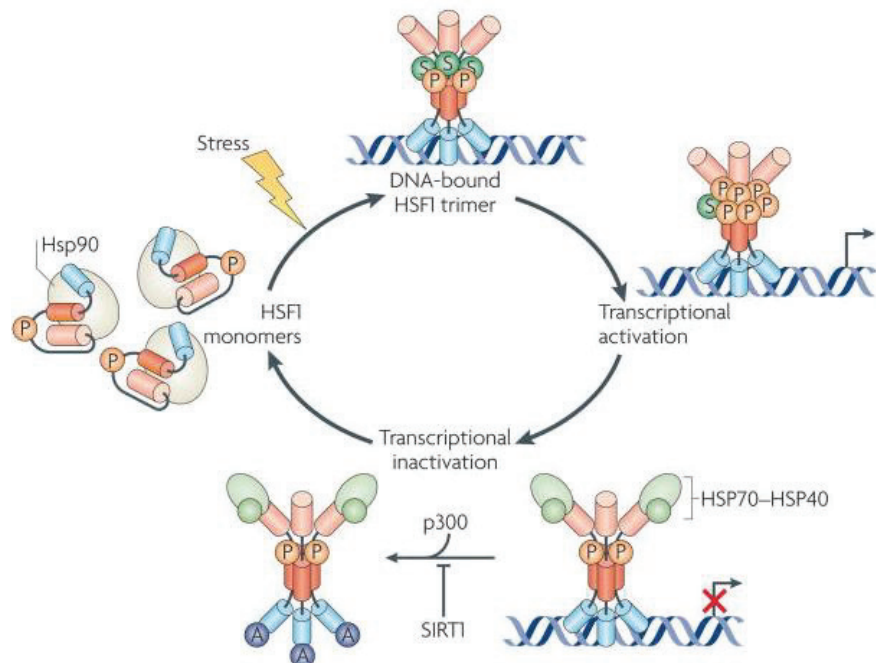
Τα υπόλοιπα έξι μέλη, κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εντοπίζονται κυρίως στο κυτταρόπλασμα ή/και στον πυρήνα. Η πρωτεΐνη Hsp70-2 εκφράζεται σε πολύ μικρές ποσότητες σε όλα τα κύτταρα, αλλά στον εγκέφαλο και στους όρχεις εκφράζεται σε σημαντικές ποσότητες. (Bonnycastle L.L. et al. 1994). Το γονίδιο της Hsp70-1L (γνωστό και ως HSPA1L), εκφράζεται κυρίως στους όρχεις. (Daugaard M. et al. 2007), (Su A.I. et al. 2004). Η Hsp70-6, ενώ είναι μη ανιχνεύσιμη στους περισσότερους ιστούς, εκφράζεται σε μεγάλες ποσότητες στο αίμα και στα κύτταρα του ανοσολογικού συστήματος. (Su A.I. et al. 2004), και μπορεί να παραχθεί μετά από πολύ σοβαρό στρες. (Daugaard M. et al. 2007), (Parsian A.J. et al. 2000).

Δύο γονίδια, τα Hsp70-1a και Hsp70-1b (λέγονται επίσης Hsp70A1A και A1B), συνδέονται στενά στην ομάδα ιστοσυμβατότητας III στο χρωμόσωμα 6p21.3. Είναι ομόλογα γονίδια, διαφέρουν μόνο κατά δύο αμινοξέα, και αναφέρονται γενικά, μαζί ως Hsp70-1. Η Hsp70-1 αποτελεί ως και το 2% της συνολικής πρωτεΐνης σε ένα κύτταρο, υπό συνθήκες στρες. Συμπερασματικά, η Hsc70, λειτουργεί ως πρωτεΐνη-συνοδός, ενώ η Hsp70-1 (Hsp70A1A και A1B), βοηθά στην κυτταρική επιβίωση μετά από έκθεση σε συνθήκες στρες. Η Hsp70-1, είναι η κύρια πρωτεΐνη θερμικού σοκ. (Murphy M.E. 2013).

3.5. Ρύθμιση γονιδιακής έκφρασης της Hsp70

Ο υποκινητής της Hsp70-1, έχει αναλυθεί εκτεταμένα. Η έκφραση του γονιδίου αυτού ελέγχεται από ένα κουτί TATA, δύο κουτιά CCAAT, ένα στοιχείο απόκρισης ορού, ένα στοιχείο απόκρισης μετάλλου και θέσεις πρόσδεσης με τους μεταγραφικούς παράγοντες Sp1, c-myc και Foxa1 (Wu B.J. et al. 1986). (Morgan W.D. 1989), (Morgan W.D. et al. 1987). Ένας από τους μεταγραφικούς παράγοντες που προσδένονται στον υποκινητή, σε περιπτώσεις θερμικού σοκ, είναι ο HSF1 (heat

shock factor 1, HSF1) και προσδένεται στην θέση HSE. Σε περιπτώσεις στρες, συμπεριλαμβανομένου και του θερμικού σοκ, η Hsp70-1, επάγεται και εκφράζεται άμεσα, με τη μεσολάβηση δύο τουλάχιστον στοιχείων θερμικού σοκ (HSEs) στον υποκινητή του γονιδίου. (Akerfelt M. et al. 2010).



Εικόνα 29

Ενεργοποίηση HSF1. (Akerfelt M. et al. 2010).

Όταν το κύτταρο δεν υφίσταται στρες, η HSP70-1 εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα. Η έκφρασή της επάγεται στις φάσεις G1 και S του κυτταρικού κύκλου. (Milarski K.L. et al. 1986), (Taira T. et al. 1997). Παράλληλα, ο υποκινητής της Hsp70-1 παραμένει με την RNA πολυμεράση σε ένα ανενεργό σύμπλοκο. (Mason P.B. Jr. et al. 1997). Ο μεταγραφικός παράγοντας HSF1 διατηρείται ανενεργός στο κυτταρόπλασμα (σε σύμπλοκο με Hsp70 και Hsp90). (Akerfelt M. et al. 2010). Με την αύξηση της θερμοκρασίας ή σε άλλη μορφής στρες, οι λανθασμένα αναδιπλωμένες πρωτεΐνες συσσωρεύονται στο κύτταρο, η Hsp90 ενώνεται με τις πρωτεΐνες αυτές, απελευθερώνεται ο HSF1 και μετατοπίζεται στον πυρήνα, τριμερίζεται και ενώνεται στον HSEs στον υποκινητή των HSP70-1 και HSP70-6. (Akerfelt M. et al. 2010). (Cotto J.J. et al. 1999). (Εικόνα 29)

Η σύνδεση του HSF1 στον HSEs του υποκινητή της Hsp70, ωθεί την RNA πολυμεράση να αποσπαστεί από το ανενεργό σύμπλοκο και να αρχίσει την επιμήκυνση. (Mason P.B. et al. 1997). Τα γονίδια των HSP70-1a και -1b, δεν

περιέχουν εσώνια (Hunt C. et al. 1985), και δεν υπόκεινται σε γενική καταστολή του ματίσματος, κάτι που συμβαίνει κατά τη διάρκεια θερμικού σοκ ή άλλου στρες. (Murphy M.E. 2013).

Η HSP70-1 παίζει σημαντικό ρόλο στον καρκίνο, όπου και ενεργοποιείται ο HSF1. Υπάρχουν τρεις πρωτεΐνες-ρυθμιστές του HSF1, στα καρκινικά κύτταρα, που οδηγούν σε υπερέκφρασή του. Στα θηλαστικά ο στόχος της κινάσης της ραπαμυκίνης, mTORC1, η διακετυλάση και ο παράγοντας μακροζωίας SIRT1 και η DNp63a, μέλος της οικογένειας p53. (Murphy M.E. 2013). Αυτές οι πρωτεΐνες ενεργοποιούνται σε καρκινικά κύτταρα, επάγουν την αυξημένη έκφραση του HSF1, ρυθμίζοντας έτσι και τη λειτουργία του (Chou SD. et al. 2012), (Westerheide SD. et al. 2009), (Wu G. et al. 2005).

Η Hsp70, είναι παράγοντας επιβίωσης για καρκινικά κύτταρα. Εμφανίζεται αυξημένη σε αυτά, αλλά εμποδίζει τη μετάστασή τους. Σχετίζεται με θερμοανθεκτικότητα (heat-shock protein), μεταφορά πρωτεϊνών (chaperone), ρύθμιση πρωτεϊνικής αποικοδόμησης, αντιαποπτωτική λειτουργία, προστασία DNA από μονόκλωνες ρήξεις. (Damalas A. et al. 2011).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4^ο : Κλινικές μελέτες

Η Hsp70 σαν πρωτεΐνη – μοριακός συνοδός, παίζει σημαντικό ρόλο σε πολλές λειτουργίες του κυττάρου, όπως, στη μεταγραφή, στη σηματοδότηση, στην ενδοκυτταρική αλλά και στην διακυτταρική επικοινωνία. (Soti C. et al. 2005). Σε υγιή κύτταρα, που δεν υπόκεινται σε συνθήκες στρες, οι ποσότητές της είναι χαμηλές ή μη ανιχνεύσιμες. Σε καταστάσεις στρες, η έκφρασή της, άρα και οι ποσότητές της, αυξάνονται γρήγορα μέσω των σηματοδοτικών μονοπατιών MAPK/ERK (mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase) και SAPK (stress-activated protein kinase), που ενεργοποιούν παράγοντες θερμικού σοκ HSFs (heat shock factors). (Morimoto R.I. 1993), (Dubois M.F. et al. 1993), (Adler V. et al. 1995).

Σε περίπτωση καρκίνου, τα καρκινικά κύτταρα, μέσα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, υποβάλλονται σε κάποιους στρεσογόνους παράγοντες, όπως, ελεύθερες ρίζες (ROS), οξέωση, υποξία, απουσία θρεπτικών συστατικών, αλλά και αυξημένες ποσότητες μεταλλαγμένων πρωτεϊνών, που τα επηρεάζουν. (Xie K. et al. 2003). Η Hsp70, εκτός από την ανάπτυξη του όγκου, σχετίζεται και με την δημιουργία μεταστάσεων. (Garg M. et al. 2010), (Simard J.P. et al. 2011), (Chiu C.-C. et al. 2011).

4.1. Απόπτωση – ενδογενές (μιτοχονδριακό) μονοπάτι

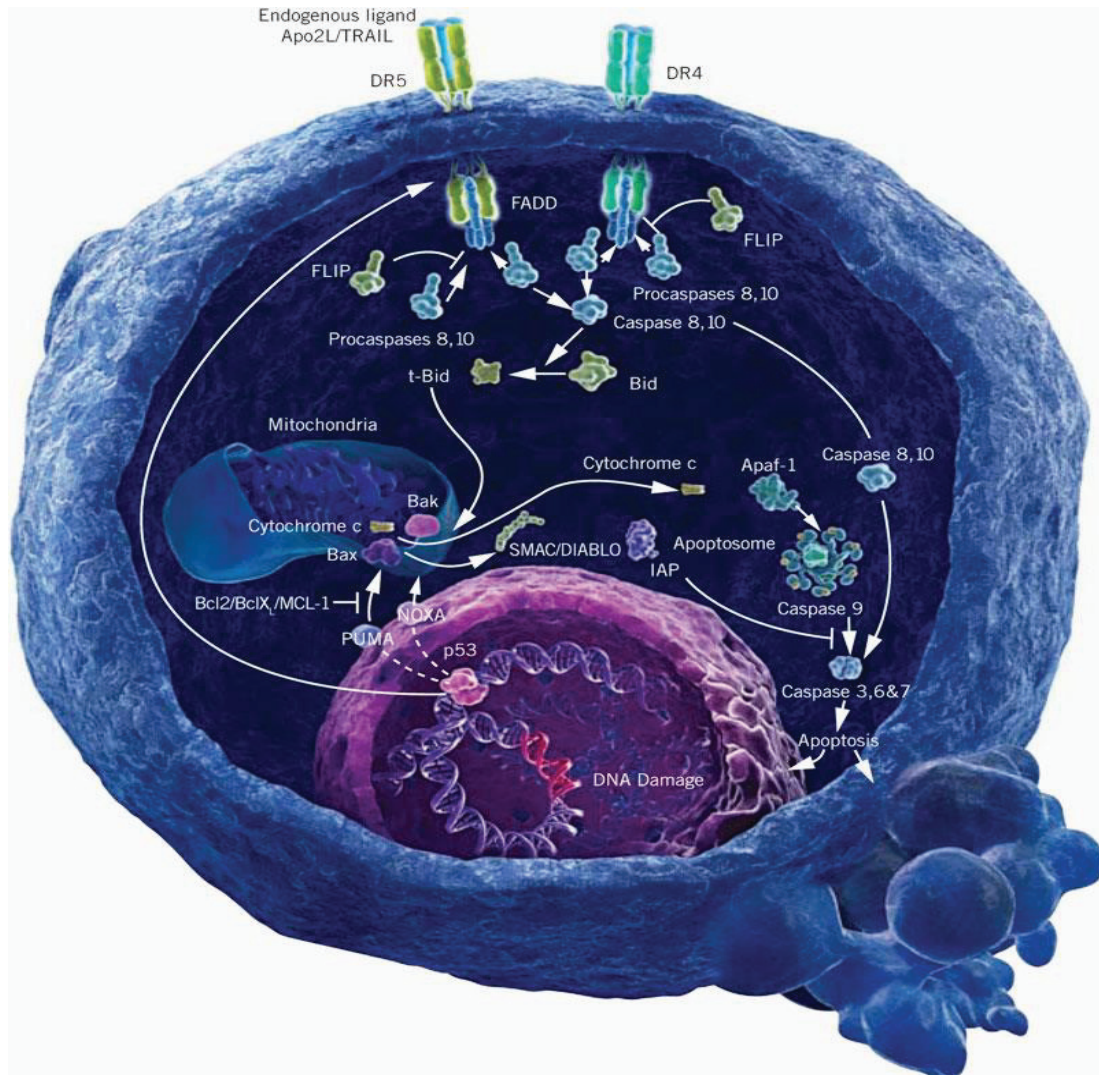
Η κυτταρική μοίρα, που θα ακολουθήσει ένα κύτταρο, δηλαδή, ο πολλαπλασιασμός ή ο κυτταρικός θάνατος, ελέγχονται από μονοπάτια μεταγωγής σήματος, ανάλογα με τους υποδοχείς και τα μόρια τελεστές. Αν συμβούν βλάβες στα μονοπάτια αυτά, μπορεί να προκληθεί αυτοάνοσο νόσημα, νευροεκφυλιστική ασθένεια ή ακόμα και καρκίνος.

Η απόπτωση, ή προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος, είναι μια διαδικασία κυτταρικού θανάτου, απαραίτητη κατά την εμβρυογένεση, την ανάπτυξη, αλλά και την διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης, (Kerr J.F. et al. 1972), (Baehrecke E.H. 2002), την απομάκρυνση των ελαττωματικών ή βλαβερών κυττάρων στους πολυκύτταρους οργανισμούς και την ανοσολογική απόκριση. Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης είναι η:

- διόγκωση του κυττάρου

- απώλεια του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης
- ανακατανομή των λιπιδίων στην εξωτερική πλασματική μεμβράνη και
- συμπύκνωση και θραύση της χρωματίνης. (Εικόνα 30)

Η απόπτωση, είναι αποτέλεσμα είτε του ενδογενούς (μιτοχονδριακού) είτε του εξωγενούς (με υποδοχείς σημάτων θανάτου) μονοπατιού. Η κασπάση-3, εμπλέκεται και στις δύο οδούς και είναι υπεύθυνη για απόπτωση σε κύτταρα στόχους. (Hess C.J. et al. 2007). (Beere HM. 2005).



Εικόνα 30

Απόπτωση

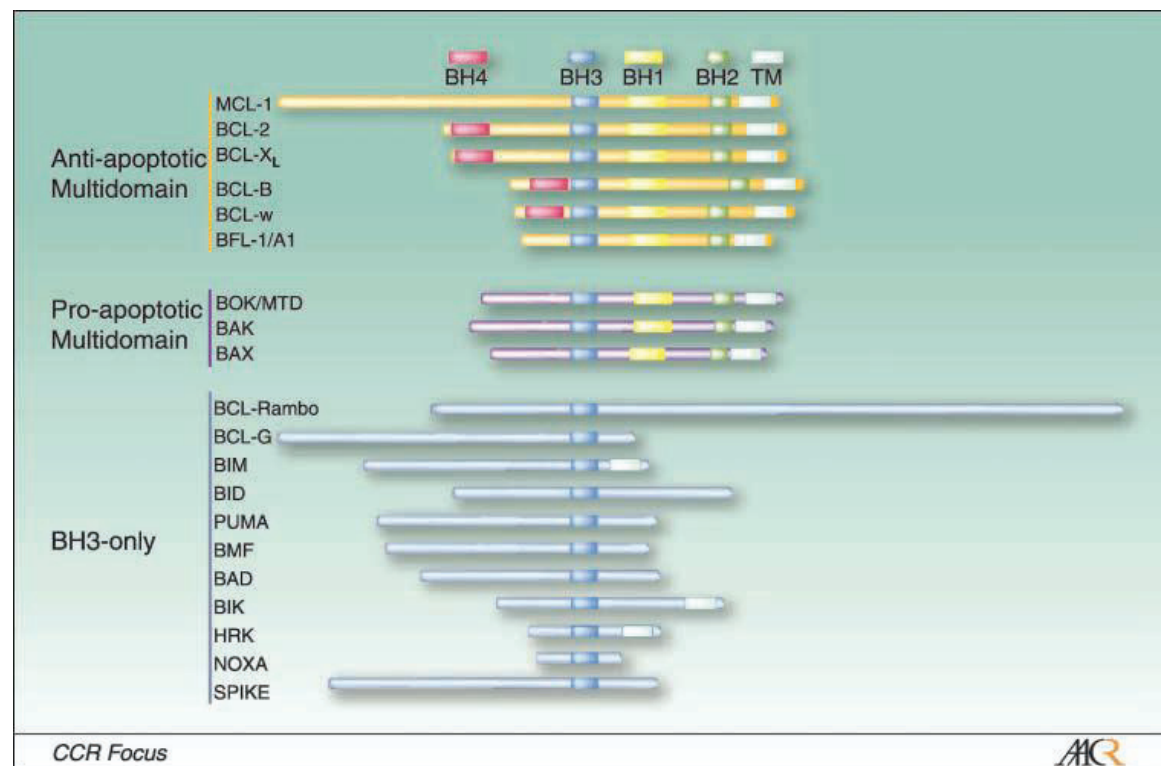
Beere M Helen. St. Jude Children's Research Hospital, Department of Immunology, Memphis, Tennessee, USA, October 2005

Οι κασπάσες, είναι οικογένεια κυστεϊνικών πρωτεασών που παράγονται σαν ανενεργά ζυμογόνα. Διακρίνονται σε εναρκτήριες, που μέσω ενός ειδικού για κάθε

κασπάση μορίου προσαρμογέα, σχηματίζουν ενεργά καταλυτικά διμερή και τελεστές, που γίνονται καταλυτικά ενεργές μόνο μετά από πέψη από τις εναρκτήριες κασπάσες.

4.1.1. Ενδογενές (μιτοχονδριακό) μονοπάτι απόπτωσης

Κατά τη διαδικασία του ενδογενούς (μιτοχονδριακού) μονοπατιού απόπτωσης, διαταράσσεται η μιτοχονδριακή λειτουργία και προκαλείται MOMP (Mitochondrial Outer Membrane Permeabilization) και απελευθερώνονται προαποπτωτικοί παράγοντες, που φυσιολογικά εντοπίζονται ανάμεσα στις μιτοχονδριακές μεμβράνες. Όταν το κύτταρο μπαίνει σε διαδικασία θανάτου, το ενδογενές-μιτοχονδριακό μονοπάτι, καταλήγει σε τροποποιημένη έκφραση των πρωτεϊνών της οικογένειας Bcl2. (Zong W.X. et al. 2001). Η οικογένεια αυτή περιλαμβάνει τις αντιαποπτωτικές πρωτεΐνες Bcl2 και Bcl-xL, τις προ-αποπτωτικές Bax, Bcl-Xs, και Bak και την BH3-only, της οποίας η λειτουργία επιτελείται μόνο με την παρουσία των Bax, Bak, and Bcl-Xs (Zong W.X. et al. 2001), (Breckenridge D.G. et al. 2004), (Cheng E.H. et al. 2001). (Εικόνα 31).

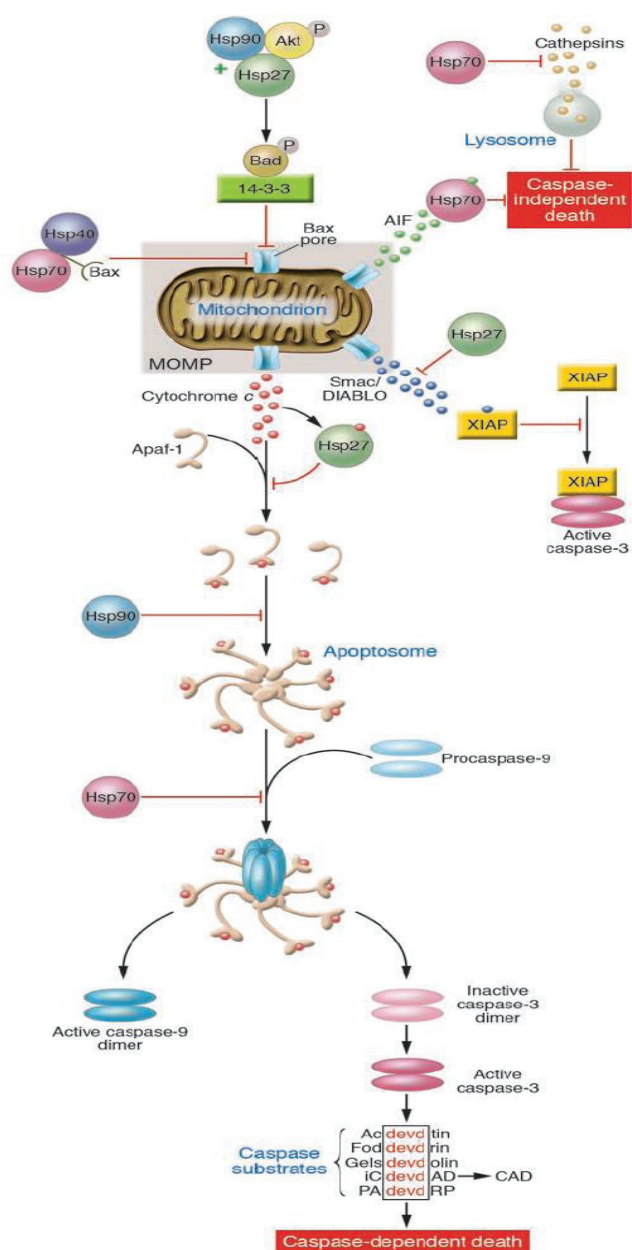


Εικόνα 31

Οικογένεια Bcl-2 πρωτεϊνών.

Clin Cancer Res 2007;7255 13(24) December 15, 2007

Κατά το ενδογενές αποπτωτικό μονοπάτι, το κυτόχρωμα C, που απελευθερώνεται από τα μιτοχόνδρια, αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη ενεργοποίησης της απόπτωσης 1 (Apaf-1), δημιουργώντας το αποπτώσωμα, με την κασπάση-9, η οποία οδηγεί σε ενεργοποίηση άλλων κασπασών. (Beere HM. 2005) (Li P. et al. 1997), (Zhivotovsky B. et al. 1998). Μετά την αύξηση της διαπερατότητας των μιτοχονδρίων απελευθερώνονται αποπτωτικοί παράγοντες όπως η σερινική πρωτεάση HtrA2/Omi, ο Smac/DIABLO, ο AIF, η ενδονουκλεάση G και το κυτόχρωμα C. (Cohem GM. 1997).



Εικόνα 32

Ενδογενές μονοπάτι απόπτωσης. (Beere HM. 2005)

Εκτός από τις Bcl2 πρωτεΐνες, κάποιες άλλες, όπως οι Smac/Diablo και Htra2/Omi επάγουν απόπτωση με δέσμευση των αναστολέων των αποπτωτικών πρωτεϊνών (Du C. et al. 2000), (Verhagen A.M. et al. 2001), (Creagh E.M. et al. 2004). (Εικόνα 32)

4.1.2. Hsp70 και το ενδογενές μονοπάτι απόπτωσης

Η έκφραση της Hsp70, αυξάνει την επιβίωση των κυττάρων σε συνθήκες στρες. Knockdown της Hsp70, οδηγεί σε απόπτωση, ενώ αυξημένη έκφρασή της, αναστέλλει την απόπτωση. Η Hsp70 αλληλεπιδρά με τον αυξητικό παράγοντα των νεύρων και τον αυξητικό παράγοντα των αιμοπεταλίων και ενισχύει την επιβίωση των κυττάρων, ενεργοποιώντας το σηματοδοτικό μονοπάτι PI3K. Ενεργοποιημένη PI3K, οδηγεί σε ενεργοποίηση των κινασών ser/thr (Akt / PKB), με αποτέλεσμα τη δημιουργία σήματος επιβίωσης, μέσω αυξητικών παραγόντων. (Kumar S. et al 2016). Η κίνηση Akt, στοχοποιεί την Bad και την κασπάση-9 στον καταρράκτη απόπτωσης. (Biggs W.H. 3rd, et al. 1999), (Ozes O.N. et al. 1999), (Datta S.R. et al. 1997), (Cardone M.H. et al. 1998). (Εικόνα 32).

Η Hsp70 επηρεάζει την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων που σχετίζονται με πρωτεΐνες της οικογένειας Bcl2 (Jiang B. et al. 2011). Οι Bcl2 και Bax είναι πρωτεΐνες-στόχοι της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53. Όταν υπάρχει βλάβη στο DNA καταστέλλεται η μεταγραφή της Bcl2 και επάγεται η Bax. (Crowe D.L. et al. 2006). Τα καρκινικά κύτταρα έχουν, συχνά, ένα μεταλλαγμένο γονίδιο p53, το οποίο σχηματίζει ένα σύμπλοκο με Hsp70/Hsc70. (Zylicz M. et al. 2001). Η έκφραση της Hsp70, που οφείλεται σε στρες, αναστέλλει την εισαγωγή της p53 στον πυρήνα. (Zylicz M. et al. 2001), (Akakura S. et al. 2001).

Αναστολείς πρωτεϊνών ανάπτυξης (ING), καταστέλλουν τους όγκους. Η έκφρασή τους μειορρυθμίζεται σε ανθρώπινους καρκίνους, και μεταδίδουν σήματα θανάτου, συνδέονται με ιστόνες και έτσι, ελέγχουν την αναδιάταξη της χρωματίνης και την ενεργότητα της p53. (Feng X. et al. 2006), (Coles A.H. et al 2009). Οι πρωτεΐνες αυτές, ενισχύουν τη λειτουργία της Hsp70, η οποία επηρεάζει την απόπτωση μέσω υποδοχέων TNF-α και μπλοκάρουν τα μονοπάτια επιβίωσης NF-kB (Feng X. et al 2006). Επιπρόσθετα, η Hsp70, σε σύνδεση με την Hsp40, αναστέλλουν τη μετατόπιση της Bax, οπότε αποτρέπεται η αποσταθεροποίηση των μιτοχονδριακών μεμβρανών και η επακόλουθη απελευθέρωση του κυτοχρώματος-C και του παράγοντα AIF (apoptosis-inducing factor). (Stankiewicz A.R. et al. 2005).

Η Hsp70, στην απόπτωση μέσω TNF-α, αποτρέπει τις χαρακτηριστικές μορφολογικές αλλαγές του κυττάρου που βρίσκεται σε διαδικασία θανάτου, αλλά δεν αποκλείει την δράση της κασπάσης-3. (Jaattela M. et al 1998). Μετά την ενεργοποίηση της κασπάσης-3, ενεργοποιείται και η CAD (caspase-activated DNase), η οποία ευθύνεται για την αποδόμηση του DNA κατά τη διαδικασία της απόπτωσης. (Kumar S. et al 2016).

Ένα μόριο-στόχος της κασπάσης-3, είναι η poly ADP-ribose πολυμεράση (PARP), η οποία είναι απαραίτητη για την αποτροπή νέκρωσης και φλεγμονής, που συμβαίνουν κατά την απόπτωση. Όταν συμβαίνει σπάσιμο της μονής αλυσίδας του DNA, μετά από θερμικό σοκ, η Hsp70, αλληλεπιδρά με ARP1, XKXX1 και άλλα επιδιορθωτικά ένζυμα του DNA. (Decker P. et al. 2002), (Kotoglou P. et al. 2009).

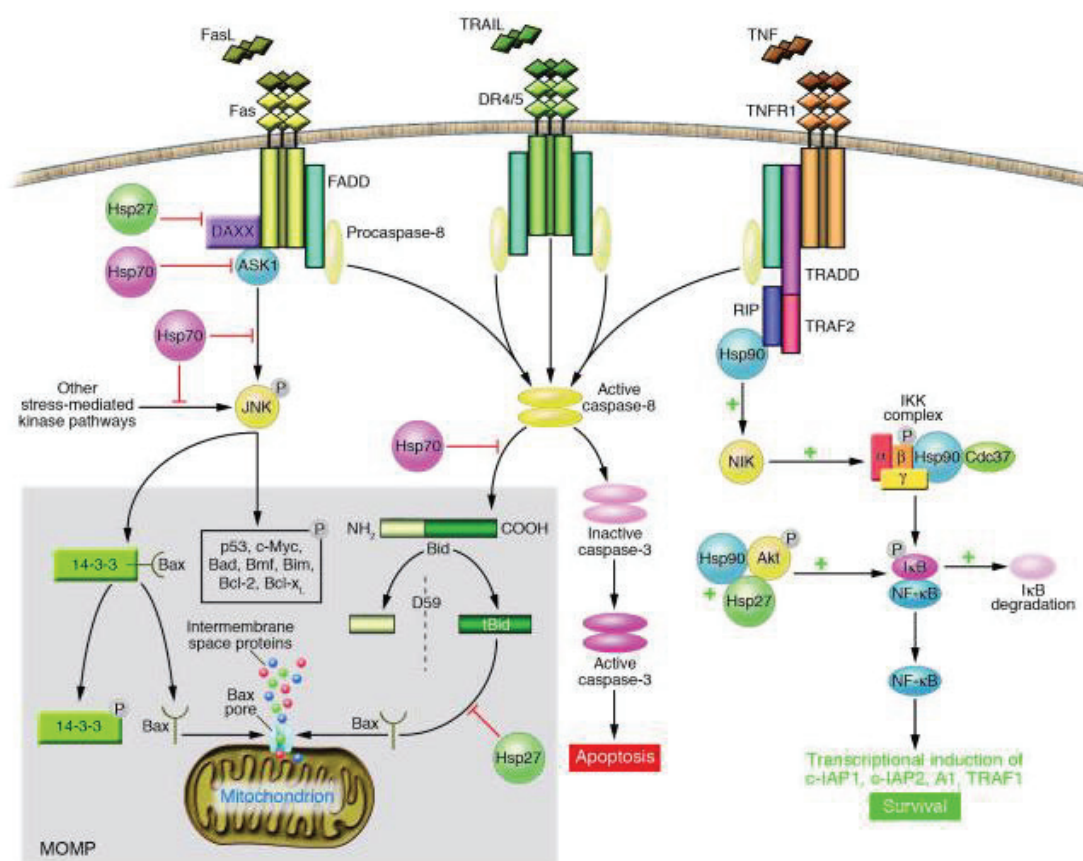
Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η Hsp70, αποκαθιστά την ακεραιότητα του DNA, μέσω της δημιουργίας επισκευαστικού συμπλόκου. Η κασπάση-3 στοχοποιεί τον GATA-1, έναν μεταγραφικό παράγοντα. Η συσσώρευση, όμως, της Hsp70, στον πυρήνα, προστατεύει τον GATA-1, από διάσπαση λόγω της κασπάσης-3, οπότε, αυξάνεται η διαφοροποίηση κυττάρων όπως των ερυθροκυττάρων και η επιβίωση. (Ribeil J.A. et al. 2007)

4.1.3. Εξωγενές μονοπάτι απόπτωσης

Βασικό χαρακτηριστικό στο εξωγενές αποπτωτικό μονοπάτι, είναι οι υποδοχείς θανάτου. Αυτοί ανήκουν σε μια μεγάλη οικογένεια του σχετίζονται με τον υποδοχέα TNF (TNFR1, Fas, DR5 ή TRAILR2). Δεσμεύονται από τριμερή των κατάλληλων ligands (TNF, FasL, και TRAIL αντίστοιχα) και τριμερίζονται για να προκαλέσουν μια πιο γρήγορη επαγωγή της απόπτωσης. Τα DD (death domains) του υποδοχέα στρατολογούν μόρια προσαρμογείς που περιέχουν DD, όπως ο FADD (Fas-associated death domain). Έπεται αλληλεπίδρασή του με την προ-κασπάση-8, σχηματίζεται το DISC (Death Inducing Signaling Complex) και δημιουργούνται ενεργά διμερή κασπάσης-8. (Taylor RC. et al. 2008), (Wajant H. 2002). (Εικόνα 33)

Άρα η ενεργοποίηση του υποδοχέα TNF οδηγεί σε ενεργοποίηση της κασπάσης-8/10 στο DISC (Death Inducing Signaling Complex). (Guo F. et al. 2005). Η κασπάση-8 ή ενεργοποιεί άμεσα εκτελεστικές κασπάσες (κασπάση-3/6/7) ή διασπά την Bid σε t-Bid, η οποία συνδέει το εξωγενές με το ενδογενές αποπτωτικό μονοπάτι. (Muzio M., 1998), (Luo X. et al. 1998), (Schulze-Osthoff K. et al. 1998).

Η Hsp70 αναστέλλει τη δράση των κασπασών άμεσα ή έμμεσα, μπλοκάροντας τα ενδογενές και το εξωγενές μονοπάτι της απόπτωσης. Αυτό επιτυγχάνεται με την αλληλεπίδραση της Hsp70 με βασικές αποπτωτικές πρωτεΐνες, σε τρία επίπεδα: πριν τα μιτοχόνδρια, στα μιτοχόνδρια και μετά τα μιτοχόνδρια. (Kumar S. et al. 2016). Αναστολή (knockdown) του Hsp70 αυξάνει την απόπτωση των κυττάρων. (Aghdassi A., et al. 2007), (Gurbuxani S. et al. 2001), (Nylandsted J. et al.2000). (Εικόνα 33).



Εικόνα 33

Εξωγενές μονοπάτι απόπτωσης. (Beere HM. 2005)

4.1.4. Hsp70 και το εξωγενές (υποδοχέων θανάτου) μονοπάτι απόπτωσης

Η Hsp70, αποτρέπει την απόπτωση μέσω του υποδοχέα του TNF-α. Η διέγερση των αιμοποιητικών κυττάρων από τον TNF-α, επάγει την ενεργοποίηση προαποπτωτικής πρωτεϊνικής κινάσης εξαρτώμενης από δίκλωνο RNA(PKR). (Pang Q. et al. 2001).

Στην απόπτωση που επάγεται μέσω του TNF-α, η Hsp70 αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη FANCC (Fanconianemia complementation group C, αναστολέας της PKR), μέσω μιας επικράτειας ΑΤΡάσης και δημιουργεί ένα τριμερές σύμπλοκο με FANCC και PKR. (Pang Q. et al. 2001), (Pang Q. et al. 2002). Παράλληλα, παρεμποδίζει την

απόπτωση που επάγεται από τον TRAIL και τη δημιουργία συμπλόκου μεταξύ του σήματος θανάτου και των υποδοχέων θανάτου DR4 και DR5. (Guo F. et al 2005).

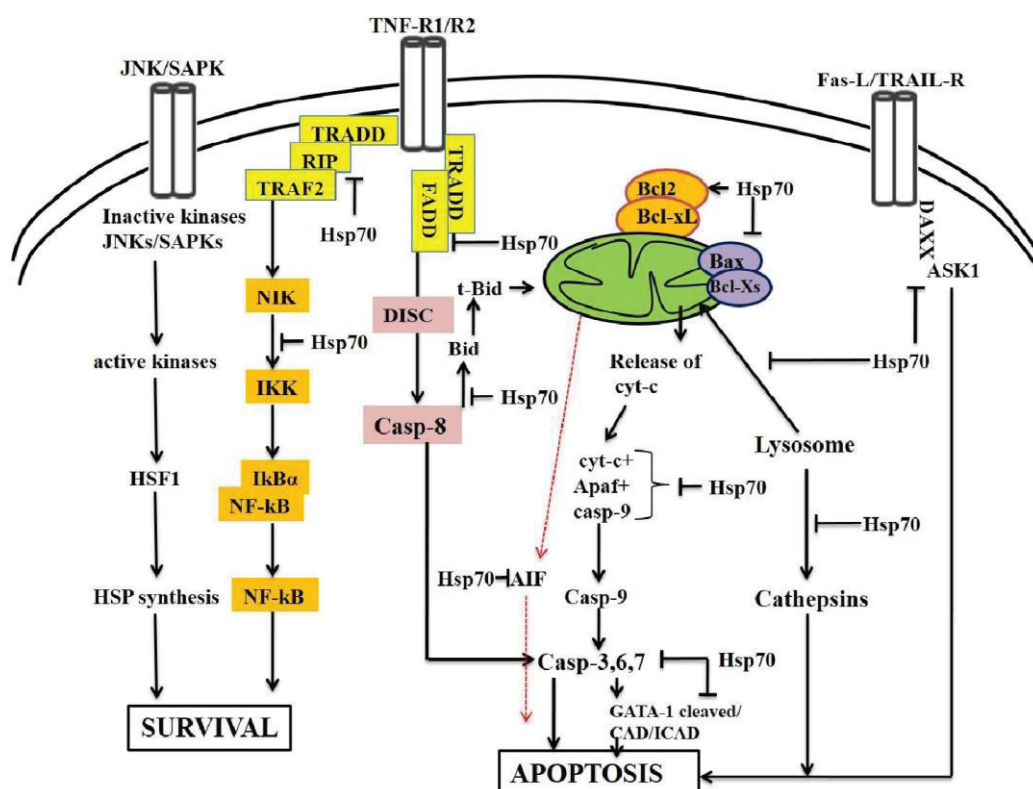
4.1.5. Κασπασοανεξάρτητα αποπτωτικά μονοπάτια

➤ Απόπτωση επαγόμενη από τον AIF

Ο AIF (apoptosis-inducing factor), που απελευθερώνεται κατά τη MOMP, οδηγεί σε απόπτωση, ανεξάρτητη των κασπασών.

➤ Απόπτωση μέσω του λυσοσωμικού μονοπατιού

Μετά από κατάλληλα σήματα, κάποιες πρωτεΐνες που εντοπίζονται στον αυλό των λυσοσωμάτων, όπως καθεψίνες και λυσοσωμικές πρωτεάσες, απελευθερώνονται στο κυτταρόπλασμα. Οι καθεψίνες B, L και D, προκαλούν αύξηση της διαπερατότητας της μιτοχονδριακής μεμβράνης, με συνέπεια την απόπτωση. Κάποια καρκινικά κύτταρα έχουν την ικανότητα διατήρησης της ακεραιότητας της λυσοσωμικής τους μεμβράνης και παρεμποδίζουν, με τον τρόπο αυτό, την απελευθέρωση των ενζύμων τους στο κυτταρόπλασμα, άρα αποτρέπουν την απόπτωση (Nylandsted J. et al 2004).



Εικόνα 34

Σχηματική αναπαράσταση της λειτουργίας του Hsp70 στα αποπτωτικά μονοπάτια σηματοδότησης και επιβίωσης. (Kumar et al 2016)

4.1.5. Hsp70 και αποπτωτικό μονοπάτι ανεξάρτητο της κασπάσης

Η Hsp70, παίζει πολύ σημαντικό ρόλο και στον κυτταρικό θάνατο που συμβαίνει ανεξάρτητα από τις κασπάσες. Έτσι, σε κύτταρα όπου έγινε knockdown της Araf-1 και της caspase-9, η Hsp70, αναστέλλει την απόπτωση (ανεξάρτητα των κασπασών). (Kumar S. et al. 2016)

Η ενδογενής Hsp70, ελέγχει την απόπτωση που προκαλείται από τον AIF. (Kumar S. et al. 2016). Επίσης η Hsp70 βρίσκεται στις μεμβράνες των ενδολυσosomalίων των καρκινικών κυττάρων και αποτρέπει την απελευθέρωση της λυσοσωμικής καθεψίνης στο κυτταρόπλασμα (Εικόνα 34). (Nylandsted J. et al. 2004), (Bivik C. et al. 2007).

4.2. Hsp70 σαν καρκινικός ή προκαρκινικός δείκτης

Όπως, αναφέρθηκε προηγούμενα, κάτω από συνθήκες χωρίς στρες, τα κύτταρα εκφράζουν Hsp70 σε μικρές ποσότητες. Τα καρκινικά κύτταρα ή αυτά που βρίσκονται σε συνθήκες στρες, παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση της Hsp70, κάτι που αυξάνει και την ικανότητά τους για επιβίωση. (Kumar S. et al. 2016).

Η HSP70-1 παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην έναρξη του καρκίνου. Σε πειράματα σε ποντίκια, βρέθηκε ότι υπερέκφρασή της, σε κύτταρα ινοσαρκώματος ποντικού, τους προσδίδει ογκογονικότητα και τα κάνει ικανά να διαφεύγουν τη δράση των T-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων και των μακροφάγων in vitro (Jaattela M. 1995).

Βρέθηκε ότι για ογκογένεση μέσω του υποχοδέα HER2/neu απαιτείται Hsp70-1 (Meng L. et al. 2011), ενώ η HSP70-2 υπερεκφράζεται στον καρκίνο του μαστού (Rohde M. et al. 2005). Συμπερασματικά, λοιπόν, μπορούμε να θεωρήσουμε ότι η Hsp70, μπορεί να λειτουργήσει ως ογκογονίδιο.

Αν και η Hsp70-2, ενέχεται σε καρκίνους του ανθρώπου, όπως, κατά την εξέλιξη του καρκίνου του μαστού, όπου παρουσιάζει αυξημένη έκφραση και καθυστερεί την κυτταρική γήρανση, (Eddy E.M. et al. 1999), η κυρίαρχη μορφή Hsp70, που επάγεται και υπερεκφράζεται μετά από κυτοσολικό στρες, είναι η Hsp70-1, η οποία για συντομία αναφέρεται ως Hsp70 (γονίδιο ή πρωτεΐνη). (Kumar S. et al. 2016). Η αυξημένη έκφραση της Hsp70, αποτελεί κακό προγνωστικό δείκτη. Αυξημένα ποσά Hsp70 παρατηρούνται σε καρκινικά (κακοήθη) κύτταρα, παρά σε φυσιολογικά, κατά την εξέλιξη του όγκου στην χρόνια μυελογενή λευχαιμία (Ray S. et al. 2004) και σε καρκίνους των νεφρικών κυττάρων, του ενδομητρίου και του οστεοσαρκώματος. (Ciocca D.R. et al. 2005), (Pocaly M. et al. 2007).

Υπερέκφραση της Hsp70, παρατηρείται σε καρκίνο των ωοθηκών (Athanassiadou P. et al. 1998), του μαστού (Lazaris Ach. et al. 1997), του τραχήλου της μήτρας (Ralhan R. et al. 1995), του ενδομητρίου (Nanbu K. et al. 1998), του πνεύμονα (Mafusecka E. et al. 2001), του στόματος (Kaur J. et al. 1998), της ουροδόχου κύστης (Syrigos K.N. et al. 2003), και στο μελάνωμα (Lazaris AC. et al. 1995).

Η συσσώρευση της Hsp70, στον πυρήνα, αποτελεί διαγνωστικό δείκτη για επιθηλιακή δυσπλασία. Σε ορό ασθενών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, παρατηρούνται αντισώματα κατά της Hsp70. (Seoane J.M. et al. 2006), (Takashima M. et al. 2006). Υπερέκφραση της Hsp70, χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό ασθενών με καρκίνο του προστάτη, σε αρχικό στάδιο (Abe M. et al. 2004), αλλά και σαν μάρτυρας σε πρώιμο ηπατοκυτταρικό καρκίνο (Chuma M. et al. 2003). Με βάση τα επίπεδα έκφρασής της, μπορεί να γίνει εκτίμηση της εξέλιξης στο οισοφαγικό καρκίνωμα των πλακωδών κυττάρων (Kawanishi K. et al. 1999), (Shiozaki H. et al. 2000).

Αύξηση των επιπέδων της Hsp70, λόγω στρες, προκαλεί καρκινογένεση σε μελάνωμα, σε κύτταρα καρκίνου του παχέος εντέρου και του παγκρεατικού αδενοκαρκινώματος. Αντίθετα, μειορρυθμισή της, φαίνεται να προσδίδει μειωμένη ογκογονικότητα (Gurbuxani S. et al. 2001), (Nylandsted J. et al. 2000), (Gurbuxani S. et al. 2003), (Jaattela M. 1995), (Garrido C. et al. 2003).

Ωστόσο, η αυξημένη έκφραση της Hsp70, δεν μπορεί να θεωρηθεί δείκτης κακής πρόγνωσης, σε όλες τις περιπτώσεις καρκίνων. Στην περίπτωση καρκίνου του στομάχου, δεν έχει καμία προγνωστική σημασία (Sun X.F. et al. 1997), (Maehara Y. et al. 2000). Μπορεί επίσης να αποτελεί και δείκτη καλής πρόγνωσης, όπως σε καρκίνους των νεφρικών κυττάρων (Santarosa M. et al. 1997) και του οισοφάγου (Nakajima M. et al. 2009).

Πρέπει, επομένως, να ληφθεί υπόψη, ο τύπος του καρκίνου και οι συνθήκες στρες του κυττάρου, για να συσχετιστεί η κλινική έκβαση της νόσου, με την μειωμένη ή αυξημένη έκφραση της Hsp70. Η Hsp70, λοιπόν, και συμβάλλει στην ανοσία του όγκου, αλλά και προωθεί την επιβίωση και τη διάδοση των καρκινικών κυττάρων. (Juhasz K. et al. 2013).

Τα επίπεδα της Hsp70, σχετίζονται και με την αντοχή των καρκινικών κυττάρων σε φάρμακα, αλλά και στη δράση των T-κυτταροτοξικών και των μονοκυττάρων (Jaattela M. et al. 1993). Αυξημένη έκφρασή της, προσδίδει αντοχή σε θεραπεία είτε

με χημειοθεραπευτικά, είτε με ακτινοβολίες (Lin et al. 2014), (Vargas-Roig L.M. et al. 1998), (Brondani Da Rocha A. et al. 2004). Επίσης αυξημένη έκφραση της Hsp70, σε HL-60/BCR-ABL και K562 κύτταρα, τα βοηθά ώστε να ανθίστανται στον κυτταρικό θάνατο που θα προκαλούσε το imatinib (ένα χημειοθεραπευτικό φάρμακο), το οποίο αναστέλλει την τυροσινική κινάση της BCR-ABL. (Pocaly M. et al. 2007).

4.3. Hsp70 – Καρκίνος – Μετάσταση.

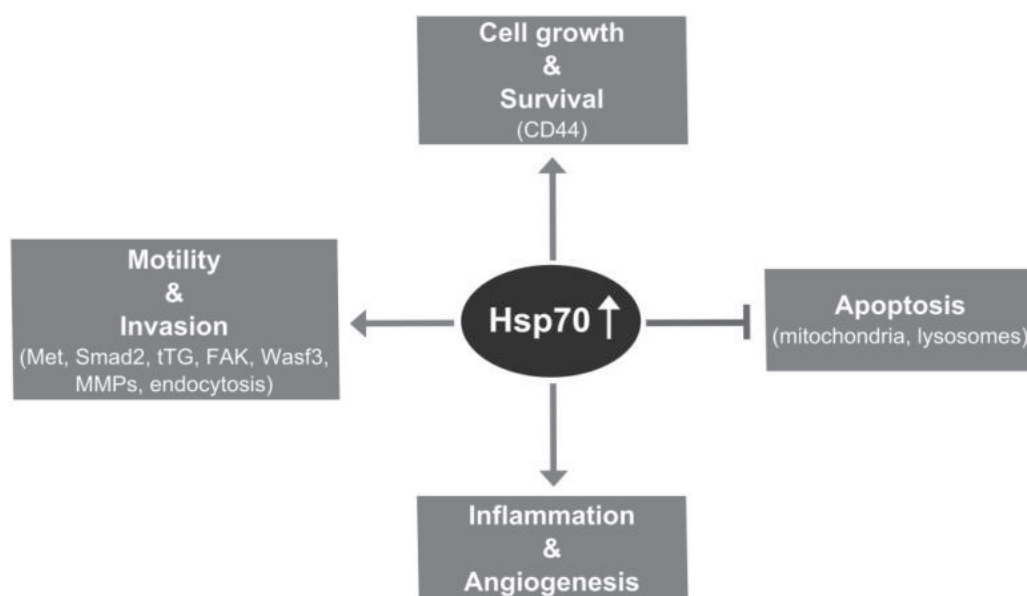
Τα καρκινικά κύτταρα, εμφανίζουν υψηλά επίπεδα της Hsp70. (Santarosa M. et al. 1997), (Nanbu K. et al. 1998). Αυτό προσφέρει αντίσταση στην απόπτωση που προκαλείται από καταστάσεις στρες, αναστέλλει την κυτταρική γήρανση και ευνοεί την κυτταρική επιβίωση και ανάπτυξη. (Juhasz K. et al. 2013). Αναστολή της Hsp70, σε καρκινικά κύτταρα, είναι συχνά θανατηφόρα, (Nylandsted, et al. 2000), ενώ η αποσιώπησή της, σκοτώνει πολλούς τύπους καρκινικών κυττάρων. Αρχικά, θεωρήθηκε, ότι η αυξημένη έκφραση της Hsp70, προκύπτει ως αποτέλεσμα της αύξησης της μεταγραφικής δραστηριότητας του HSF1 (Mosser D.D. et al. 2004), (Whitesell L. et al. 2009), (Powers M.V. et al. 2007), αν και αυτή η αύξηση μπορεί να γίνεται και ανεξάρτητα του HSF1. (Wigmore S.J. et al. 2007).

Η μετάσταση είναι το αποτέλεσμα μιας σειράς γεγονότων, που συμβαίνουν στα καρκινικά κύτταρα, όπως η επιθηλιο-μεσεγχυματική μετάπτωση (EMT), η κυτταρική αποκόλληση και κινητικότητα, η νεοαγγειογένεση, η διείσδυση σε γειτονικούς ιστούς, σε αιμοφόρα και λεμφικά αγγεία. (Kumar S. et al 2016). Η Hsp70, επάγει EMT, επειδή παρεμβαίνει στο σηματοδοτικό μονοπάτι TGF- β , εμποδίζοντας τη φωσφορυλίωση της Smad2. (Li Y. et al. 2011). Θα μπορούσε λοιπόν να εμποδιστεί η μετάσταση των καρκινικών κυττάρων, στοχεύοντας την Hsp70. (Juhasz K. et al. 2013).

Για να γίνει μετάσταση, κατά την EMT, τα καρκινικά κύτταρα, πρέπει να υδρολύσουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, μέσω μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs), ώστε να αποκολληθούν, να αναπτύξουν ελασματοπόδια και φιλοπόδια ώστε να αυξηθεί η κινητικότητά τους και να διεισδύσουν σε παρακείμενους ιστούς ή να εισέλθουν στη συστηματική και τη λεμφική κυκλοφορία. Με απαλοιφή (knockdown) της Hop (Hsp70/Hsp90 organizing protein), παρεμποδίζεται η δημιουργία προεκβολών των καρκινικών κυττάρων (ελασματοπόδια και φιλοπόδια), με μείωση των επιπέδων της

RhoC GTPase, οπότε παρεμποδίζεται και η μετάστασή τους (Willmer T. et al. 2012). Με απαλοιφή (knockdown) της Hsp70 μειώνονται και τα επίπεδα της MMP-2, οπότε μειώνεται και η διείσδυση σε παρακείμενους ιστούς και η μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. (Walsh N. et al. 2011). Με την MMP-2 αλληλεπιδρά και η BAG3 (Bcl2-associated athanogene 3). Η BAG3, πιθανόν διαμορφώνει την εξωκυττάρια μήτρα γιατί όπως βρέθηκε αλληλεπιδρά με την MMP-2. (Suzuki M. et al. 2011). Η BAG3, όμως, συνεργάζεται και με την Hsp70 και προάγει μέσω πολλών σηματοδοτικών μονοπατιών (συμπεριλαμβανομένου του FoxM1), την κυτταρική επιβίωση. (Li X. et al. 2015).

Η Hsp70, σταθεροποιεί την FAK (focal adhesion kinase) (Mao H. et al. 2003) και την Wasf3 (Wiskott-Aldrich syndrome protein family member 3), (Teng Y. et al. 2012), που αναστέλλει τη μετάσταση με το σχηματισμό προεκβολών. (Sossey-Alaoui K. et al. 2007), (Sossey-Alaoui K. et al. 2005), (Teng Y. et al. 2010).



Εικόνα 35

Hsp70 - καρκίνος - μετάσταση. (Juhasz K. et al. 2013).

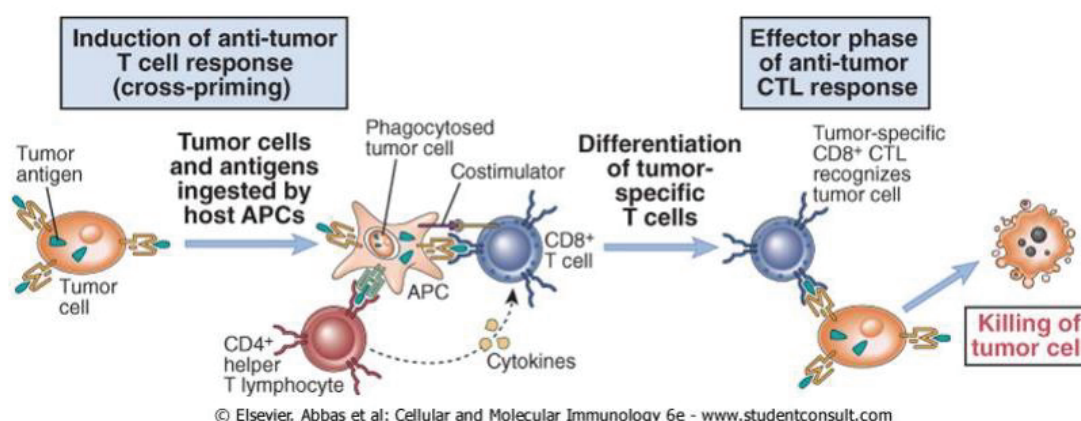
Τα καρκινικά κύτταρα, εκφράζουν στην επιφάνειά τους Hsp70. Hsp70, όμως απελευθερώνεται και στον εξωκυττάριο χώρο, με ειδική δράση στη θέση αυτή, όπως φλεγμονώδες μικροπεριβάλλον και αγγειογένεση. (Juhasz K. et al. 2013). Η εξωκυτταρική Hsp70, επίσης, προκαλεί την απελευθέρωση MMP-2, αλλά και άλλων πρωτεϊνών σχετικές με μετάσταση και ικανότητα διείσδυσης σε άλλους ιστούς. (Walsh N. et al. 2011), (Lee K.J. et al. 2006). Η MMP-2, ενεργοποιεί και τον

υποδοχέα CD44, που σχετίζεται με EMT και μετάσταση (Leber M.F. et al. 2009). (Εικόνα 35).

Η εξωκυτταρική Hsp70, ενώνεται με εξωσώματα ή αντιγονικά πεπτίδια, ανάλογα με τον τρόπο που έχει απελευθερωθεί. (Gastpar R. et al. 2005), (Bausero M.A. et al. 2005), (Lancaster G.I. et al. 2005), (Vega V.L. et al. 2008). Εμφανίζεται σε διαφορετικές μορφές εξωκυτταρικά, στοχεύει διαφορετικά κύτταρα, μέσω διαμεμβρανικών υποδοχέων, και ακολουθεί διαφορετική κάθε φορά σηματοδότηση. (Juhasz K. et al. 2013). Η σηματοδότηση αυτή, σχετίζεται με τους διαμεμβρανικούς υποδοχείς του ανοσοποιητικού συστήματος και τα κύτταρα στο μικροπεριβάλλον του όγκου, όπως, καρκινικά, επιθηλιακά ή ενδοθηλιακά. (Juhasz K. et al. 2013).

4.4. Hsp70 και ανοσοβιολογικό σύστημα

Τα καρκινικά κύτταρα, φέρουν στην επιφάνειά τους, κάποια συγκεκριμένα καρκινικά αντιγόνα, που δεν συναντώνται στα φυσιολογικά κύτταρα. Αυτά τα αντιγόνα, ενεργοποιούν τα $CD8^+$, τα οποία φαγοκυτταρώνουν τα καρκινικά κύτταρα ή τα καρκινικά αντιγόνα, τα επεξεργάζονται και παρουσιάζουν στην επιφάνειά τους, σε ειδικούς υποδοχείς, τα καρκινικά αντιγόνα (αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, APC). Τα APCs μπορεί να ενεργοποιήσουν και τα $CD4^+$ βοηθητικά T-λεμφοκύτταρα, τα οποία εκκρίνουν κυτοκίνες (δεύτερα μηνύματα) για την ανάπτυξη των CTL κυττάρων. Αυτά τα διαφοροποιημένα CTL, σκοτώνουν τα καρκινικά κύτταρα. (Εικόνα 36). (© Elsevier. Abbas et al: Cellulae and Molecular Immunology 6e – www.studentconsult.com).



Εικόνα 36

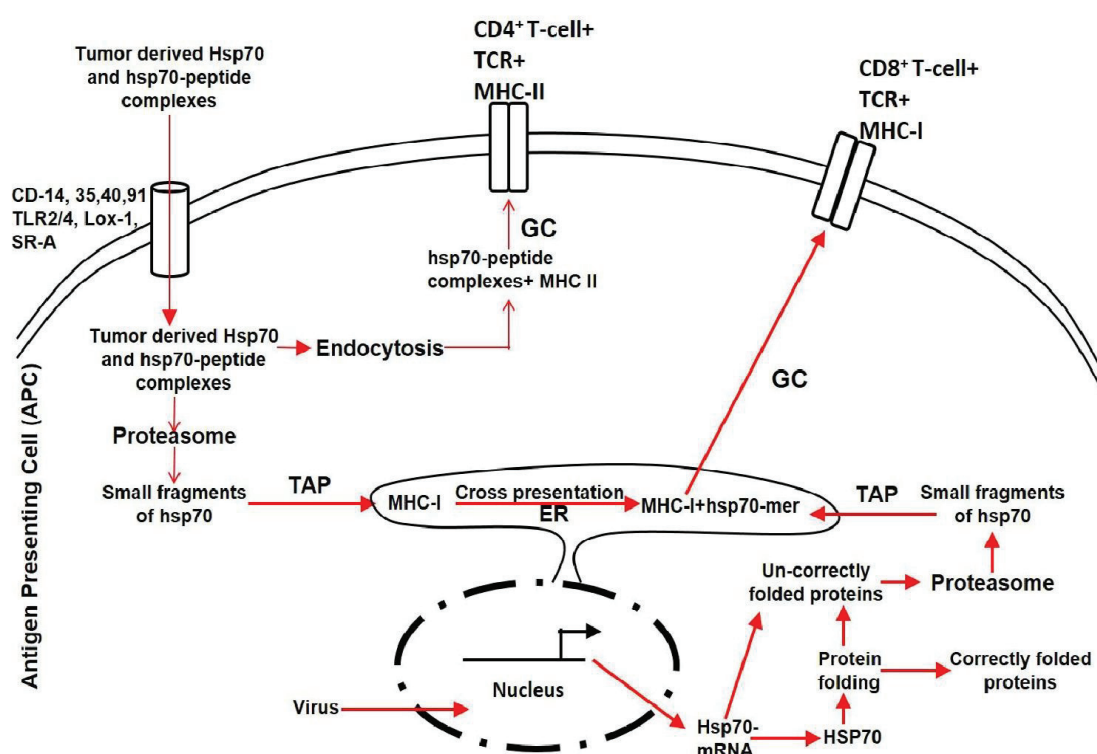
Επαγωγή απόκρισης των T-λεμφοκυττάρων στον καρκίνο.

© Elsevier. Abbas et al: Cellulae and Molecular Immunology 6e – www.studentconsult.com

Στην παραπάνω διαδικασία, εισέρχεται η Hsp70, και υποκινεί τα $CD8^+$ T-λεμφοκύτταρα. (Doody A.D. et al. 2004), (Flehtner J.B. et al. 2006), (Habich C. et al. 2002), (Vabulas R.M. et al. 2001).

Ενώ η ενδοκυτταρική Hsp70, έχει λειτουργία πρωτεΐνης-συνοδού και δεν ενεργοποιεί το ανοσοβιολογικό σύστημα, η εξωγενής Hsp70, που σχετίζεται με τον καρκίνο, το ενεργοποιεί, μέσω κάποιων αντιγονικών πεπτιδίων. (Kumar S. et al. 2009). Κατά την ανάπτυξη του όγκου, η Hsp70 εντοπίζεται στην κυτταρική επιφάνεια των καρκινικών κυττάρων, σε μεγάλες ποσότητες. Η Hsp70, ενεργοποιεί τα NK (natural killer) κύτταρα. Αυτά καταστρέφουν με λύση τα καρκινικά κύτταρα που εκφράζουν στην επιφάνειά τους Hsp70. (Multhoff G. et al. 1997).

Η καρκινική Hsp70, αφού συνδεθεί με κάποια πεπτίδια, ενδοκυτταρώνεται μέσω υποδοχέα, παρουσιάζεται από MHC-II, σε συνεργασία με $CD4^+$ T κύτταρα. Μικρά θραύσματα Hsp70, μετά το πρωτεόσωμα, παρουσιάζονται από MHC-I, σε συνεργασία με $CD8^+$ T κύτταρα, και αυτό ονομάζεται διασταυρούμενης εκκίνησης (cross-priming ή cross-presentation). (Kumar S. et al 2016). (Εικόνα 37).



Εικόνα 37

Η συμμετοχή της Hsp70 στην διαδικασία διασταυρούμενης εκκίνησης (cross-priming ή cross-presentation)

Όταν η Hsp70, βρίσκεται στο εξωκυττάριο χώρο, μετά από θερμικό σοκ, δεν ενεργοποιεί τα μακροφάγα, ενώ αυτή που είναι συνδεδεμένη στη μεμβράνη λειτουργεί ως ενεργοποιητής μακροφάγων. (Vega V.L. et al. 2008). Η Hsp70, εκτός από τα μακροφάγα, ενεργοποιεί και την έμφυτη και την επίκτητη ανοσία. (Srivastava P. 2002), (Nicchitta C.V. 2003).

Η Hsp70, από το κυτταρόπλασμα, μεταφέρεται στην πλασματική μεμβράνη, εκεί αλληλεπιδρά με άλλες πρωτεΐνες, που έχουν διαμεμβρανικές επικράτειες. Στα καρκινικά κύτταρα PC12, η Hsp70 αλληλεπιδρά με φωσφατιδυλοσερίνη (PS) και μεταπηδούν μαζί στην εξωτερική πλευρά της πλασματικής μεμβράνης, μέσω ενός ειδικού μηχανισμού (flipping mechanism). (Schilling D. et al. 2009).

Όταν υπάρχει ο κατάλληλος υποδοχέας, η αλληλεπίδραση της καρκινικής Hsp70, ενεργοποιεί τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα APCs (antigen-presenting cells) και τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα, μέσω του μονοπατιού του MHC-I. (Castellino F. et al. 2000). Άρα, λοιπόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν αντικαρκινικό εμβόλιο. (Udono H. et al. 1993).

Υπάρχουν δύο τρόποι απελευθέρωσης της Hsp70 από τα κύτταρα. Απελευθερώνεται παθητικά, σε περιπτώσεις τραύματος, χειρουργικής επέμβασης ή νέκρωσης, και ενεργητικά μετά από απελευθέρωση πρωτεϊνών από εξωσώματα που είναι ανοσολογικά ενεργά. (Asea A. et al. 2000), (Mambula S.S. et al. 2006).

Η αναστολή του όγκου από την Hsp70, μπορεί να γίνει και με τρόπο ανεξάρτητο από αντιγόνο, από την C-τελική επικράτεια της Hsp70, η οποία ενεργοποιεί τα NK κύτταρα, ενάντια στον καρκίνο. (Mosoian A. 2011). Η Hsp70, προκαλεί απελευθέρωση προ-φλεγμονοδών κυτοκινών, όπως IL-1 β , IL-6, και TNF- α . (Mosoian A. 2011). Στην περίπτωση ύπαρξης μελανώματος, επάγει την παραγωγή TNF- α , συμβάλλοντας επίσης στην ανοσοβιολογική απόκριση. (Sanchez-Perez L. et al. 2006).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5^ο : Μελλοντικοί στόχοι – Σημαντικότητα

Η Hsp70 βοηθά στην επιβίωση των καρκινικών κύτταρων, παρεμβαίνοντας σε αποπτωτικά μονοπάτια. Επομένως, αυξορρύθμιση της Hsp70, αναστέλλει την απόπτωση. Στην περίπτωση των καρκινικών κυττάρων, προσφέρει προστασία από θνησιγόνους παράγοντες, όπως τα χημειοθεραπευτικά. (Lin et al. 2014). Μπορεί να προκληθεί μείωση ή και εξαφάνιση του όγκο, μετά από αναστολή ή και απαλοιφή της, ενώ αν χορηγηθεί εξωγενώς, ενεργοποιεί το ανοσοβιολογικό σύστημα μέσω του MHC-I. (Kumar S. et al. 2016).

5.1. Hsp70 και αντικαρκινική θεραπεία

Εφόσον αποσαφηνίστηκε ο ρόλος που παίζει η Hsp70 στον καρκίνο, (αντιαποπτωτικός και ογκογόνος) γίνονται προσπάθειες, να χρησιμοποιηθεί στην θεραπεία του με διάφορους τρόπους, μειορρυθμίζοντας την έκφρασή της.

Η έκφραση της Hsp70, ρυθμίζεται από τον μεταγραφικό παράγοντα HSF1. Αναστολή της έκφρασής της θα μπορούσε να γίνει με χρήση ενός φλαβονοειδούς, της quercetin (Q κερσετίνης), triptolide ή diterpenetriperoxide. Το σημαντικό στη δράση των ουσιών αυτών, είναι ότι επηρεάζουν την έκφραση της Hsp70, χωρίς να επηρεάζουν την έκφραση άλλων HSPs. (Aghdassi A. et al. 2007), (Westerheide S.D. et al. 2006), (Mujumdar N. et al. 2010), (Antonoff M.B., et al. 2009), (Li M. et al. 2009), (Gong Z. et al 2006). Άλλος αναστολέας της έκφρασης της Hsp70, είναι η resveratrol, η οποία σε κύτταρα K562, που, μέσω της αυξορρύθμισης της ERK1/2 κινάσης, αναστέλλει τη δράση της Akt-κινάσης. (Banerjee Mustafi S. et al. 2010).

Σε απόπτωση μπορεί να οδηγηθεί ένα καρκινικό κύτταρο, με πεπτίδια (150-228aa), που στοχεύουν την Hsp70, και προέρχονται από τον AIF. (Rérole A.L. et al. 2011).

Όπως προαναφέρθηκε, η HSP70 δεσμεύεται στον Araf-1, αποτρέποντας την αλληλεπίδραση της προκασπάσης-9 με το αποπτώσωμα. (Beere HM. et. al. 2000). Επιπλέον, μπορεί να αναστείλει την απόπτωση μέσω του κασπασο-ανεξάρτητου μονοπατιού, εξουδετερώνοντας απευθείας τον AIF (Ravagnan L. et al. 2001).

Μπορεί να γίνει «αρνητική» στόχευση της Hsp70, για μειορρυθμίσει της με τη χρήση siRNAs, ή antisense ολιγονουκλεοτιδίων (Nylandsted J. et al. 2000), (Gurbuxani S. et al. 2001). Μπορεί, όμως, να γίνει και αρνητική ρύθμιση της Hsp70, με τεχνικές που την χημειοευαισθητοποιούν, κατά τις οποίες εισάγεται στα καρκινικά κύτταρα μια

πρωτεΐνη (πεπτίδιο) που είναι ανταγωνιστική της Hsp70. (Rérole A.L. et al. 2011). (Πίνακας 3).

Hsp70 inhibitors	Site of interaction	Tested in clinical trials
1. MKT-077	N-terminal ATP binding domain	Yes
2. Dihydropyrimidines	N-terminal ATP binding domain	
(i) SW02	N-terminal ATP binding domain	Yes
(ii) MAL2-IIB	N-terminal ATP binding domain	Yes
(iii) MAL3-101	N-terminal ATP binding domain	Yes
(iv) NSC630668-R/I	N-terminal ATP binding domain	
3. Sulfoglycolipids	N-terminal ATP binding domain	
(i) Sulfogalactoglycerolipid	N-terminal ATP binding domain	
(ii) Sulfogalactosylceramide	N-terminal ATP binding domain	
(iii) Adamantyl SGC	N-terminal ATP binding domain	
4. Flavonoids	N-terminal ATP binding domain	
(i) Epigallocatechin	N-terminal ATP binding domain	Yes
(ii) Myricetin	N-terminal ATP binding domain	
5. Apoptozole	N-terminal ATP binding domain	
6. VER-155008	N-terminal ATP binding domain	
7. Aptamer A17	N-terminal ATP binding domain	
8. Dibenzyl-8-aminoadenosine analog	N-terminal ATP binding domain	
9. cmHsp70.1mAb	Interact with Hsp70 epitope	Yes
10. PES	C-terminal/peptide binding domain	Yes
11. Pyrrolicoricin	C-terminal/peptide binding domain	
12. Geranylgeranylacetone	C-terminal/peptide binding domain	Yes
13. Fatty acid acyl benzamides	C-terminal/peptide binding domain	
14. Pifichrin-μ	C-terminal/peptide binding domain	
15. Aptamer A8	C-terminal/peptide binding domain	

Πίνακας 3

Μόρια-αναστολείς της Hsp7 και περιοχή δράσης τους. (Kumar S. et al 2016).

Η Hsp70, αφού προσδεθεί ειδικά, στον AIF απομονώνεται στο κυτταρόπλασμα (Gurbuxani S. et al. 2003). Αυτά τα πεπτίδια, έχουν τις περιοχές του AIF, (150-228aa), που απαιτούνται για την πρόσδεση στην PBD περιοχή της Hsp70, αλλά δεν έχουν την προαποπτωτική λειτουργία του AIF. Δημιουργήθηκε ένα μόριο, που κωδικοποιεί μια μικρή περιοχή του AIF, όπου δεσμεύεται η Hsp70. Αυτό το παράγωγο, ονομάστηκε ADD70 (AIF-Derived Decoy for Hsp70), αλληλεπιδρά με την περιοχή του AIF, με το οποίο αλληλεπιδρά η Hsp70, οπότε αναστέλλεται και η δράση της Hsp70. (Rérole A.L. et al. 2011). Ο ADD70 προκαλεί μείωση μεγέθους σε καρκίνους παχέος εντέρου αρουραίου και μελανώματος (B16P10). (Kumar S. et al 2013). Αυξάνει επίσης την διήθηση του όγκου (tumor-infiltrating) σε κυτταροτοξικά CD8⁺ T-κυττάρων. (Schmitt E. et al 2006).

Η αλληλεπίδραση της Hsp70, με ένα μικρό μόριο (small molecule, HS-72), σε κύτταρα λεμφώματος, οδηγεί σε συσσωμάτωση πρωτεϊνών που δεν έχουν αναδιπλωθεί σωστά, σε αποσταθεροποίηση των λυσοσωμικών μεμβρανών και σε κυτταρικό θάνατο μέσω αυτοφαγίας. (Leu J.I. et al 2009).

Μόριο αναστολέας της, είναι και η 2-phenylethynesulfonamide (PES), αλληλεπιδρά με την C-terminal περιοχή της Hsp70 και αναστέλλει την έκφρασή της. (Huang C. et al 2013). Η PES, σε B-CCL κύτταρα, επάγει το κασπασοεξαρτώμενο μονοπάτι της απόπτωσης. (Steele A.J. et al 2009). Η ένωση VER-155008, επιδρά πάνω στην επικράτεια μπλοκάρει την λειτουργία της ATPάσης της Hsp70/hsc70 και, οδηγεί σε θάνατο τα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου HCT116. (Massey A.J. et al 2010). Αναστολή της δράσης της ATPάσης της Hsp70 στα κύτταρα SK-BK-3, άρα και του πολλαπλασιασμού τους προκαλούν και δύο άλλες ενώσεις, η NSC 630668 (διυδροπυριμιδίνη), και η MAL3-101 (ένωση δεύτερης γενιάς). (Evans C.G. et al 2006). Σε καρκινικά κύτταρα, επίσης, αλλά κατά της ABD-Hsp70, δρα και η κατιονική χρωστική MKT-077, (rhodacyanine), η οποία αναστέλλει την μιτοχονδριακή Hsp70, αφού μεταβεί στα μιτοχόνδρια. Η MKT-077 δοκιμάζεται ήδη σε κλινικές δοκιμές φάσης I. (Koya K. et al 1996).

Υπάρχουν πολλές ακόμα ουσίες που πρέπει να δοκιμαστούν κλινικά, στην αντιμετώπιση του καρκίνου, μέσω αναστολής της Hsp70. (Jinwal U.K. et al 2009).

Μια βελτιστοποιημένη διαδικασία του συστήματος yeast 2-hybrid, χρησιμοποιήθηκε για να επιλεγθούν κάποια πεπτίδια-απταμερή, που να έχουν την ικανότητα να συνδέονται με την Hsp70, ώστε να αναστείλουν την δράση της. (Rérole A.L. et al. 2011). Τέσσερα τέτοια απταμερή είναι τα A8, A11, A12, και A17, τα οποία και παρουσιάζουν ισχυρή σύνδεση με την Hsp70. (Rérole A.L. et al. 2011). Από αυτά, το A8 και το A17, προκαλούν κυτταρικό θάνατο σε καρκινικά κύτταρα. Το A17 προκαλεί απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα, μέσω αναστολής της λειτουργίας της Hsp70, ως μοριακός συνοδός, αλλά δεν δρα στην Hsp70/Hsp90. (Rérole A.L. et al. 2011). (Πίνακας 3).

Αν η VER-155008, χορηγηθεί συνδυαστικά με 17-AAG, σε HCT116 κύτταρα καρκίνου του εντέρου προκαλείται απόπτωση (Massey A.J. et al. 2010), ενώ με παράλληλη απενεργοποίηση της Hsp70, η αντικαρκινική δράση της 17-AAG, είναι πιο αποτελεσματική (Schmitt E. et al. 2006).

Μείωση της έκφρασης της Hsp70, μέσω αναστολής της PKC, μπορεί να γίνει με chelerythrine (ένα benzophenenthridine αλκαλοειδές) και staurosporine. (Kumar S. et al. 2013), (Kumar S. et al. 2014).

Επομένως, ένας ελπιδοφόρος τρόπος αντιμετώπισης του καρκίνου, είναι η στόχευση της Hsp70, κυρίως μέσω αναστολέων των Hsp90/Hsp70 (Schmitt E. et al. 2003), (Lee J.H. et al. 1996). Όμως, η αναστολή αυτή, σε ασθενείς με καρκίνο, παρατηρήθηκε ότι

προκάλεσε αυξορρύθμιση της Hsp70, στα καρκινικά κύτταρα, άρα ελάττωση του κυτταρικού θανάτου, κάτι που εμποδίζει και την αποτελεσματικότητα της θεραπείας (Kumar S. et al 2016). Αύξηση της έκφρασης της Hsp70, παρατηρείται και με χρήση χημειοθεραπευτικών φαρμάκων, μέσω επαγωγής του σηματοδοτικού μονοπατιού TGF- β . (Yun C.H. et al. 2010). Με siRNA για knockdown της Hsp70, τα καρκινικά κύτταρα, γίνονται πιο ευαίσθητα σε tanespimycin (17-Nallylamino-17-demethoxygeldanamycin, 17-AAG) και επάγεται απόπτωση μέσω του πρωτεοσώματος, λόγω της αποδόμησης των πρωτεϊνών-πελατών της Hsp90. (Powers M.V. et al. 2009).

Η χρήση αναστολέων των Hsp70 και Hsp90 και αναστολέων των αποακετυλασών των ιστονών στα αιμοποιητικά καρκινικά κύτταρα, προκαλεί αυξημένη έκφραση της Hsp70, στην κυτταρική επιφάνεια (Jensen H. et al. 2009). Παράλληλα, η εξωκυτταρική Hsp70, ενεργοποιεί τα κατεσταλμένα μυελοειδή κύτταρα του ανοσοβιολογικού συστήματος. (Chalmin F. et al. 2010). Επομένως, πρέπει να μελετηθούν συνεργιστικά, οι αναστολείς της Hsp70 και της Hsp90, ως προς το αποτέλεσμα που επιφέρουν (Kumar S. et al. 2016). Αν ανασταλεί η Hsp90, αυξορρυθμίζεται η Hsp70. Η αυξημένη έκφραση της Hsp70 σε καρκινικά κύτταρα, παρεμποδίζει την απόπτωση και τον κυτταρικό θάνατο. Άρα για αντιμετώπιση του καρκίνου, απαιτείται αναστολή και της Hsp70 και της Hsp90. (Tutar Y. 2015)

5.2. Hsp70 και κερσετίνη (Quercetin Q)

Μια πολλά υποσχόμενη ουσία στην αντιμετώπιση του καρκίνου είναι η κερσετίνη (Quercetin Q). Η κερσετίνη είναι φλαβονοειδές που αναστέλλει τη σύνθεση της Hsp70, σε μονοβλαστικά κύτταρα λευχαιμίας U937 ανθρώπου. (Storniolo A. et al. 2015). Η χρήση κερσετίνης ή siRNA για την Hsp70, δεν επιτρέπει την αυξορρύθμιση του IRE1 α (inositol-requiring kinase 1 α) και BiP, (η Hsp70 που εμφανίζεται ειδικά στο ενδοπλασματικό δίκτυο, και ονομάζεται HSP70-5 επίσης γνωστή ως BiP ή Grp78), κατά τη διάρκεια του ER στρες, που προκαλείται από TN ή TG (TN και TG είναι στρεσογόνοι παράγοντες του ενδοπλασματικού δικτύου που επάγουν τον θάνατο των U937 κυττάρων με δοσο-εξαρτώμενο τρόπο και ενεργοποιούν ένα προεπιβιωτικό μονοπάτι σε χαμηλές συγκεντρώσεις). (Raciti M. et al. 2012).

Αυτή η κατάσταση του ER στρες και η απορρύθμισης των IRE1 α και BiP, προάγει τον κυτταρικό θάνατο. Επομένως, κατά τη διάρκεια του ER στρες, η Hsp70 και ο IRE1 α , είναι δυνατοί στόχοι για να σκοτώσουν κύτταρα λευχαιμίας και η κερσετίνη

μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν «φάρμακο», για το σκοπό αυτό. (Storniolio A. et al 2015).

Αυτό που βρέθηκε, είναι ότι η κερσετίνη, αναστέλλει τη δέσμευση του HSF στον HSE τόσο *in vivo* όσο και *in vitro*. Έτσι, η αλληλεπίδραση της κερσετίνη με τον HSF οδηγεί στην αναστολή αυτού του μεταγραφικού παράγοντα άρα και της Hsp70 (Hosokawa N. et al. 1992). Η κερσετίνη έχει αντιαποπτωτική δράση και δράση ενάντια στην τυροσινική κινάση (Ferry DR., et al. 1996).

Η έκφραση της Hsp70, μειώνεται από siRNA ή με τη χρήση κερσετίνης (Hosokawa N. et al 1992).

5.3. Η Hsp70 σαν ανοσολογικό φάρμακο

Η Hsp70, λόγω της ανοσοβιολογικής της λειτουργίας και της ικανότητάς της να επάγει αυτοανοσία στον όγκο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ανοσοθεραπευτικό φάρμακο. (Kottke T. et al. 2007).

Απομονώθηκε Hsp70 από τα A-20 λευχαιμικά κύτταρα. Αυτή, δρα ως αντιγόνο και προκαλεί παραγωγή ειδικών αντι-A-20 αντισωμάτων, με αποτέλεσμα να παρατηρείται κυτταροτοξικότητα ενάντια σε αυτά τα κύτταρα, που εξαρτάται από το συμπλήρωμα. (Jimbo J. et al. 2008).

Η Hsp70, επηρεάζει τα δεντριτικά κύτταρα, τα οποία αυξάνουν την θεραπευτική ικανότητα ενός Cox-2 αναστολέα και επάγουν ανοσία σε B-16 κύτταρα μελανώματος. (Toomey D. et al. 2008).

Η ανοσία του όγκου ισχυροποιείται πολύ περισσότερο αν αντιδράσει η C-τελική περιοχή της Hsp70, με επίτοπο (θέση του αντιγόνου που αναγνωρίζεται από το ανοσολογικό σύστημα), των CD8⁺ και CD4⁺ T-λεμφοκυττάρων, παρά με επίτοπο μόνο των CD8⁺ T-λεμφοκυττάρων, στην εξάλειψη των καρκινικών κυττάρων. (Kumar S. et al. 2009), (Faure O. et al. 2007).

Αλληλεπίδραση της C-τελικής περιοχής της Hsp70, με ένα ανασυνδιασμένο μόριο N-επικράτειας καλρετικουλίνη/E7, δημιουργεί μια αντικαρκινική ανοσολογική απόκριση. (Liu B. et al. 2008). Ενώ αν αλληλεπιδράσει με HPV-16 E7, επάγει αντιγονοειδική απόκριση των κυτταροτοξικών T-λεμφοκυττάρων. (Liu B. et al. 2008). Γίνονται προσπάθειες να δημιουργηθούν εμβόλια, βασισμένα σε πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs), και κάποια από αυτά χρησιμοποιούνται ήδη σε κλινικές δοκιμές. Κάποια πιο βελτιωμένα εμβόλια, προέρχονται από σύντηξη δεντριτικών και καρκινικών κυττάρων, συνδυασμένα με εκχύλιση της Hsp70. (Williams D.R. et al. 2008). Η

σύντηξη δεντритικών και καρκινικών, για παραγωγή εμβολίων, τα κάνει ικανά να αναιρούν την ανοσοανοχή των καρκινικών κυττάρων, περισσότερο, απ' ότι τα εμβόλια που προέρχονται μόνο από καρκινικά κύτταρα. (Enomoto Y. et al. 2006).

Αυτόλογα αντικαρκινικά εμβόλια που παράγονται από μόρια υδροξυηπαπατίτη (hydroxyapatite) με Hsp70/27/Grp96, μπορούν να χρησιμοποιηθούν χωρίς κανένα κίνδυνο για την υγεία (Ciocca D.R. et al. 2007), (Wooldridge L. et al. 2007). Εμβόλια που στοχεύουν την Hsp70, είναι απόλυτα ασφαλή, βρίσκονται σε κλινικές δοκιμές φάσης I και μπορούν να διεγείρουν τα NK κύτταρα. (Specht H.M. et al. 2015), (Juhasz K. et al. 2013). Τα NK κύτταρα, που δρουν στην έμφυτη ανοσοβιολογική απόκριση, δρουν και στην αντικαρκινική ανοσία που προκαλείται ύστερα από χορήγηση εμβολίου που περιέχει πρωτεΐνες συνοδούς και λύματα κυττάρων (Zeng Y. et al. 2006).

Τα A14-mer πεπτίδια, (TKD), είναι πεπτίδια που βρίσκονται στην C-τελική περιοχή της Hsp70 (PBD - 450aa-463aa), εμφανίζουν παρόμοιες ανοσοδιεγερτικές ικανότητες σε NK κύτταρα, με την Hsp70, πλήρους μήκους. (Botzler C. et al. 1998), (Multhoff G. et al. 1999). Αν επωαστούν NK κύτταρα, με μία κυτοκίνη και διάλυμα Hsp70, ή πεπτίδια TKD, αυξάνεται η μετανάστευση των κυττάρων, μέσω ενίσχυσης της έκφρασης του υποδοχέα ενεργοποίησης (CD14). (Gross C. et al. 2003).

Η Hsp70, δεν βρίσκεται στην επιφάνεια των φυσιολογικών κυττάρων, βρίσκεται, όμως, στην επιφάνεια των καρκινικών και θεωρείται καρκινοειδικός στόχος. (Kumar S. et al. 2016).

Σε έρευνες που έγιναν σε ποντίκια, λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος επωάστηκαν με πεπτίδια TKD και IL-2. Αυτό προκάλεσε μετανάστευση των NK κυττάρων, προς τα κύτταρα που είχαν Hsp70 στην επιφάνειά τους. (Stangl S. et al. 2006).

Συμπερασματικά, η Hsp70, εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό και από το κυτταρικό περιβάλλον μέσα στο οποίο εντοπίζεται. Στο μικροπεριβάλλον του όγκου, επηρεάζει τη μετάστασή του και αρνητικά, αλλά και θετικά. (Juhasz K. et al. 2013). Τα εμβόλια που βασίζονται στην Hsp70 και η θεραπεία, που βασίζεται σε NK κύτταρα, στοχεύουν την ενδοκυτταρική Hsp70, μέσω αναστολέων της προκαρκινικής και αντικαρκινικής της δράσης, χρησιμοποιώντας τα αντικαρκινικά χαρακτηριστικά της εξωκυτταρικής Hsp70. (Juhasz K. et al. 2013).

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

«Hsp70 & ΚΑΡΚΙΝΟΣ 2016»

Η Hsp70, είναι μία πρωτεΐνη, που ανήκει στην οικογένεια των πρωτεϊνών θερμικού σοκ. Ο φυσιολογικός της ρόλος, είναι να βοηθά, σαν μοριακός συνοδός, στη σωστή αναδίπλωση των πρωτεϊνών, μέσα στο κύτταρο και να αποτρέπει τη συσσωμάτωσή τους, βοηθώντας με αυτόν τον τρόπο, στη διατήρηση της ομοιόστασης του κυττάρου. Σε καταστάσεις στρες, βοηθά το κύτταρο να επιβιώνει μετά από έκθεση σε αντίξοες συνθήκες, καθώς και μετά από θανατηφόρα τραύματα. Το φυσιολογικό της ρόλο, τον επιτυγχάνει, σε συγκεκριμένα ποσά έκφρασης, κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Όταν η έκφρασή της, αυξορρυθμίζεται, από συγκεκριμένους παράγοντες, αναστέλλει σηματοδοτικά μονοπάτια απόπτωσης, οδηγώντας, έτσι, σε αύξηση της επιβίωσης. Σε περίπτωση εμφάνισης καρκίνου, αυξορρύθμιση της Hsp70, άρα και αύξηση της επιβίωσης, οδηγεί σε ογκογένεση, σε απορρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, σε αύξηση της κινητικότητας των καρκινικών κυττάρων, (μετάσταση) και σε νεοαγγειογένεση. Αυξημένα ποσά της, προσδίδουν, στα καρκινικά κύτταρα, αντοχή στα χορηγούμενα χημειοθεραπευτικά φάρμακα.

Συνεπώς, η μειορρύθμισή της Hsp70, (με παράλληλη μειορρύθμιση και της Hsp90), μέσω αναστολής ή εξάλειψής της (knockdown), μπορεί να προκαλέσει την μείωση ή και την εξάλειψη του όγκου, κάτι που την καθιστά δυνατό θεραπευτικό στόχο στην αντιμετώπισή του. Η αναστολή της Hsp70, μπορεί να γίνει δυνατή, με την αναστολή της δράσης των μεταγραφικών παραγόντων στον υποκινητή του γονιδίου της, με χρήση αντισωμάτων που την αντιμετωπίζουν, με χρήση ειδικών αναστολέων, ή με χρήση εξωκυτταρικής Hsp70 που δρα σαν ανοσογόνο.

ABSTRACT

«Hsp70 & KAPKINOΣ 2016»

Hsp70, is a protein member of the “heat shock proteins” family. Its physiological role, (as a molecule chaperone), is to contribute to the correct protein folding, in the cell and to avoid their congregation, assisting in this way, in cell homeostasis. In stress conditions, it helps cell to survive after exposure in a stress conditions or in lethal injuries. Its physiological role, is achieved, when in certain amounts, during cell cycle. Upregulation of Hsp70, by specific factors, inhibits apoptosis signaling pathways, leading in cell survival. In cancer, upregulation of Hsp70, thus enhancing survival, leads to tumorigenesis, to deregulation of cellular proliferation, to increased mobility of cancer cells (metastasis) and to neovasculogenesis. Elevated amounts, confer to tumor cells, resistant to chemotherapeutic drugs.

Downregulation of the Hsp70, (downregulation of Hsp90 too), by inhibition or knockdown, can reduce or even eliminate the tumor. Therefore, Hsp70, can be a possible therapeutic target in the treatment of cancer. Inhibition of Hsp70, can be possible, by inhibition the activity of its transcription factor, in the gene promoter, using antibodies against Hsp70, using specific inhibitors, or using extracellular Hsp70 that acts as immunogenic.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- «Cancer Fact sheet N°297». World Health Organization. February 2014. Ανακτήθηκε στις 10 June 2014.
- «Heredity and Cancer». American Cancer Society. July 22, 2013.)
- Abe M, Manola JB, Oh WK, Parslow DL, George DJ, Austin CL, Kantoff PW. (2004). Plasma levels of heat shock protein 70 in patients with prostate cancer: a potential biomarker for prostate cancer. Clin. Prostate Cancer. , 3 , 49–53
- Adler, V.; Schaffer, A.; Kim, J.; Dolan, L.; Ronai, Z. UV irradiation and heat shock mediate JNK activation via alternate pathways. J. Biol. Chem. 1995, 270, 26071–26077.
- Aghdassi A, Phillips P, Dudeja V, Dhaulakhandi D, Sharif R, Dawra R, Lerch MM, Saluja A. Heat shock protein 70 increases tumorigenicity and inhibits apoptosis in pancreatic adenocarcinoma, Cancer Res. 67 (2007) 616–625.
- Akakura S., Yoshida M., Yoneda Y., Horinouchi S., A role for Hsc70 in regulating nucleocytoplasmic transport of a temperature-sensitive p53 (p53Val-135), J. Biol. Chem. 276 (2001) 14649–14657
- Akerfelt M, Morimoto RI, Sistonen L. (2010). Heat shock factors: integrators of cell stress, development and lifespan. Nat. Rev. Mol. Cell Biol., 11, 545–555.
- Anand Preetha, Kunnumakara Ajaikumar B., Sundaram Chitra, Harikumar Kuzhuvelil B., Tharakan Sheeja T., Lai Oiki S., Sung Bokyoung, and Aggarwal Bharat B. Cancer is a Preventable Disease that Requires Major Lifestyle Changes. Pharmaceutical Research, Vol. 25, No. 9, September 2008 (# 2008)
- Angelidis CE, Lazaridis I, Pagoulatos GN. Aggregation of hsp70 and hsc70 in vivo is distinct and temperature-dependent and their chaperone function is directly related to non-aggregated forms. Eur J Biochem. 1999 Jan;259(1-2):505-12.
- Angelidis, C.E., Lazaridis, I., Pagoulatos, G.N. (1991) Constitutive expression of heat-shock protein 70 in mammalian cells confers thermoresistance. Eur J Biochem 199: 35-39.
- Antonoff MB, Chugh R, Borja-Cacho D, Dudeja V, Clawson KA, Skube SJ, Sorenson BS, Saltzman DA, Vickers SM, Saluja AK. Triptolide therapy for neuroblastoma decreases cell viability in vitro and inhibits tumor growth in vivo, Surgery 146 (2009) 282–290.

- Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, Stevenson MA, Chen LB, Finberg RW, Koo GC, Calderwood SK. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine, *Nat. Med.* 6 (2000) 435–442.
- Athanassiadou P, Petrakakou E, Sakelariou V, Zerva C, Liossi A, Michalas S, Athanassiades P. (1998). Expression of p53, bcl-2 and heat shock protein (hsp72) in malignant and benign ovarian tumours . *Eur. J. Cancer Prev.* , 7 , 225–231.
- Baehrecke E.H., How death shapes life during development, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 3 (2002) 779–787.
- Banerjee Mustafi S, Chakraborty PK, Raha S. Modulation of Akt and ERK1/2 pathways by resveratrol in chronic myelogenous leukemia (CML) cells results in the downregulation of Hsp70, *PLoS ONE* 5 (2010) e8719.
- Bausero MA, Gastpar R, Multhoff G, Asea A. Alternative mechanism by which IFN-gamma enhances tumor recognition: active release of heat shock protein 72, *J. Immunol.* 175 (2005) 2900–2912.
- Bax NA, Pijnappels DA, van Oorschot AA, Winter EM, de Vries AA, van Tuyn J, et al. Epithelial-to-mesenchymal transformation alters electrical conductivity of human epicardial cells. *J Cell Mol Med.* 2011;15(12):2675-83
- Beere Helen M. St. Jude Children’s Research Hospital, Department of Immunology, Memphis, Tennessee, USA, October 2005
- Beere HM, Wolf BB, Cain K, Mosser DD, Mahboubi A, Kuwana T, et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. *Nat Cell Biol*2000;2:469–75.
- Beere HM. Death versus survival: functional interaction between the apoptotic and stress-inducible heat shock protein pathways. *Clin Inverst.* 2005 Oct;115(10):2633-9
- Belpomme D., Irigaray P., Hardell L., Clapp R., Montagnier L., Epstein S., and Sasco A. J.. The multitude and diversity of environmental carcinogens. *Environ. Res.* 105:414–429 (2007).
- Biggs WH 3rd, Meisenhelder J, Hunter T, Cavenee WK, Arden KC. Protein kinase B/Akt-mediated phosphorylation promotes nuclear exclusion of the winged helix transcription factor FKHR1, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (1999) 7421–7426.

- Bivik C., Rosdahl I., Ollinger K., Hsp70 protects against UVB induced apoptosis by preventing release of cathepsins and cytochrome c in human melanocytes, *Carcinogenesis* 28 (2007) 537–544.
- Bonnycastle LL, Yu CE, Hunt CR, Trask BJ, Clancy KP, Weber JL, Patterson D, Schellenberg GD (1994). Cloning, sequencing, and mapping of the human chromosome 14 heat shock protein gene (HSPA2) . *Genomics.* , 23 , 85–93
- Botzler C., Li G., Issels R.D., Multhoff G., Definition of extracellular localized epitopes of Hsp70 involved in an NK immune response, *Cell Stress Chaperones* 3 (1998) 6–11.
- Breckenridge D.G, Xue D., Regulation of mitochondrial membrane permeabilization by BCL-2 family proteins and caspases, *Curr. Opin. Cell Biol.* 16 (2004) 647–652.
- Brondani Da Rocha A, Regner A, Grivicich I, Pretto Schunemann D, Diel C, Kovalski G, Brunetto De Farias C, Mondadori E, Almeida L, Braga Filho A, Schwartsmann G. Radioresistance is associated to increased Hsp70 content in human glioblastoma cell lines, *Int. J. Oncol.* 25 (2004) 777–785
- Bukau B, Weissman J, Horwich A (2006). Review Molecular chaperones and protein quality control. *Cell.* 2006 May 5; 125(3):443-51.
- Calle E. E., Rodriguez C., Walker-Thurmond K., and Thun M. J.. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med.* 348:1625–1638 (2003).
- Cardone MH, Roy N, Stennicke HR, Salvesen GS, Franke TF, Stanbridge E, Frisch S, Reed JC. Regulation of cell death protease caspase-9 by phosphorylation, *Science* 282 (1998) 1318–1321.
- Castellino F, Boucher PE, Eichelberg K, Mayhew M, Rothman JE, Houghton AN, Germain RN. Receptor-mediated uptake of antigen/heat shock protein complexes results in major histocompatibility complex class I antigen presentation via two distinct processing pathways, *J. Exp. Med.* 191 (2000) 1957–1964.
- Chalmin F, Ladoire S, Mignot G, Vincent J, Bruchard M, Remy-Martin JP, Boireau W, Rouleau A, Simon B, Lanneau D, De Thonel A, Multhoff G, Hamman A, Martin F, Chauffert B, Solary E, Zitvogel L, Garrido C, Ryffel B, Borg C, Apetoh L, Rébé C, Ghiringhelli F. Membrane-associated Hsp72 from tumor-derived exosomes mediates STAT3-dependent immunosuppressive function of

- mouse and human myeloid derived suppressor cells, *J. Clin. Invest.* 120 (2010) 457–471.
- Cheng EH, Wei MC, Weiler S, Flavell RA, Mak TW, Lindsten T, Korsmeyer SJ. BCL-2, BCL-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis, *Mol. Cell* 8 (2001) 705–711.
- Chiu, C.-C.; Lin, C.-Y.; Lee, L.-Y.; Chen, Y.-J.; Lu, Y.-C.; Wang, H.-M.; Liao, C.-T.; Chang, J.T.-C.; Cheng, A.-J. Molecular Chaperones as a Common Set of Proteins That Regulate the Invasion Phenotype of Head and Neck Cancer. *Clin Cancer Res.* 2011 Jul 15;17(14):4629-41.
- Chou SD, Prince T, Gong J, Calderwood SK. (2012). mTOR is essential for the proteotoxic stress response, HSF1 activation and heat shock protein synthesis. *PLoS One.* , 7 , e39679.
- Chuma M, Sakamoto M, Yamazaki K, Ohta T, Ohki M, Asaka M, Hirohashi S (2003). Expression profiling in multistage hepatocarcinogenesis: identification of HSP70 as a molecular marker of early hepatocellular carcinoma. *Hepatology.* , 37 , 198–207
- Ciocca D.R., Calderwood S.K., Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications, *Cell Stress Chaperones* 10 (2005) 86–103.
- Ciocca D.R., Frayssinet P., Cuello-Carrion F.D., A pilot study with a therapeutic vaccine based on hydroxyapatite ceramic particles and self-antigens in cancer patients, *Cell Stress Chaperones* 12 (2007) 33–43.
- Cohem GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J.* 1997 Aug 15;326(Pt 1):1-16
- Coles A.H., Jones S.N., The ING gene family in the regulation of cell growth and tumorigenesis, *J. Cell. Physiol.* 218 (2009) 45–57.
- Correction: peptides and aptamers targeting HSP70: a novel approach for anticancer chemotherapy, *Cancer Res.* 75 (2015) 902.
- Cotto JJ1, Morimoto RI. (1999). Stress-induced activation of the heat-shock response: cell and molecular biology of heat-shock factors. *Biochem. Soc. Symp.*, 64, 105–118.
- Creagh E.M., Murphy B.M., Duriez P.J., Duckett C.S., Martin S.J., Smac/Diablo antagonizes ubiquitin ligase activity of inhibitor of apoptosis proteins, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 26906–26914.

- Crowe D.L., Sinha U.K., p53 apoptotic response to DNA damage dependent on bcl2 but not bax in head and neck squamous cell carcinoma lines, *Head Neck* 28 (2006) 15–23.
- Damalas A, Velimezi G, Kalaitzakis A, Lontos M, Papavassiliou AG, Gorgoulis V, Angelidis C. Loss of p14(ARF) confers resistance to heat shock- and oxidative stress-mediated cell death by upregulating β -catenin. *Int J Cancer*. 2011 Apr 15;128(8):1989-95.
- Datta SR, Dudek H, Tao X, Masters S, Fu H, Gotoh Y, Greenberg ME. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery, *Cell* 91 (1997) 231–241.
- Daugaard M, Rohde M, Jäättelä M. (2007). The heat shock protein 70 family: highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. *FEBS Lett.*, 581, 3702–3710.
- De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer*. 2013;13(2):97-110.
- De martel Catherine, MD, Ferlay Jacques, ME, Franceschi Silvia, MD, Vignat Jérôme, Sc, Bray Freddie, PhD, Forman David, PhD, Dr Plummer Martyn, PhD. Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *THE LANCET Oncology*. Volume 13, No. 6, p607–615, June 2012
- Decker P., Muller S., Modulating poly (ADP-ribose) polymerase activity: potential for the prevention and therapy of pathogenic situations involving DNA damage and oxidative stress, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 3 (2002) 275–283.
- Doody A.D., Kovalchin J.T., Mihalyo M.A., Hagymasi A.T. Drake, C.G., Adler A.J., Glycoprotein 96 can chaperone both MHC class I- and class II-restricted epitopes for in vivo presentation, but selectively primes CD8⁺ T cell effector function, *J. Immunol.* 172 (2004) 6087–6092.
- Du C, Fang M, Li Y, Li L, Wang X. Smac, a mitochondrial protein that promotes cytochrome c-dependent caspase activation by eliminating IAP inhibition, *Cell* 102 (2000) 33–42.
- Dubois, M.F.; Bensaude, O. MAP kinase activation during heat shock in quiescent and exponentially growing mammalian cells. *FEBS Lett.* 1993, 324, 191–195.

- Duncan EJ, Cheetham ME, Chapple JP, van der Spuy J. The role of HSP70 and its co-chaperones in protein misfolding, aggregation and disease, *Subcell Biochem.* 78 (2015) 243–273.
- eclass.uoa.gr/modules/document/file.php/MED676/ΚΕΦΑΛΑΙΟ%203.doc
- Eddy E.M., Role of heat shock protein HSP70-2 in spermatogenesis, *Rev. Reprod.* 4 (1999) 23–30.
- Enomoto Y, Bharti A, Khaleque AA, Song B, Liu C, Apostolopoulos V, Xing PX, Calderwood SK, Gong J. Enhanced immunogenicity of heat shock protein 70 peptide complexes from dendritic cell-tumor fusion cells, *J. Immunol.* 177 (2006) 5946–5955.
- Evans C.G., Wisen S., Gestwicki J.E., Heat shock proteins 70 and 90 inhibit early stages of amyloid beta-(1–42) aggregation in vitro, *J. Biol. Chem.* 281 (2006) 33182–33191.
- Falco M, Palma G, Rea D, De Biase D, Scala S, D'Aiuto M, Facchini G, Perdonà S, Barbieri A, Arra C. Tumour biomarkers: homeostasis as a novel prognostic indicator. *Open Biol.* 2016 Dec;6(12). pii: 160254.
- Faure O, Graff-Dubois S, Alves PM, Cornet S, Duffour MT, Scardino A, Gross DA, Miconnet I, Salcedo M, Chouaib S, Lemonnier FA, Abastado JP, Kosmatopoulos K. Induction of multiple CD8⁺ T cell responses against the inducible Hsp70 employing an Hsp70 oligopeptide peptide, *Oncol. Rep.* 17 (2007) 679–685.
- Fazio C, Ricciardiello L, Inflammation and Notch signaling: a crosstalk with opposite effects on tumorigenesis. *Cell Death Dis.* 2016 Dec 8;7(12):e2515.
- Feng X., Bonni S., Riabowo K., HSP70 induction by ING proteins sensitizes cells to tumor necrosis factor alpha receptor-mediated apoptosis, *Mol. Cell. Biol.* 26 (2006) 9244–9255.
- Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, Fyfe DW, deTakats PG, Anderson D, Baker J, Kerr DJ Clin. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition. *Cancer Res.* 1996 Apr; 2(4):659-68.
- Flechtner JB, Cohane KP, Mehta S, Slusarewicz P, Leonard AK, Barber BH, Levey DL, Andjelic S. High-affinity interactions between peptides and heat shock protein 70 augment CD8⁺ T lymphocyte immune responses, *J. Immunol.* 177 (2006) 1017–1027.

- Garg, M.; Kanojia, D.; Saini, S.; Suri, S.; Gupta, A.; Surolia, A.; Suri, A. Germ cell-specific heat shock protein 70-2 is expressed in cervical carcinoma and is involved in the growth, migration, and invasion of cervical cells. *Cancer* 2010, 116, 3785–3796.
- Garrido C., Brunet M., Didelot C., Zermati Y., Schmitt E., Kroemer G., Heat shock proteins 27 and 70: anti-apoptotic proteins with tumorigenic properties, *Cell Cycle* 5 (2006) 2592–2601.
- Garrido C., Schmitt E., Cande C., Vahsen N., Parcellier A., Kroemer G., HSP27 and HSP70: potentially oncogenic apoptosis inhibitors, *Cell Cycle* 2 (2003) 579–584.
- Gastpar R., Gehrmann M., Bausero M.A., Asea A., Gross C., Schroeder J.A., Multhoff G. Heat shock protein 70 surface-positive tumor exosomes stimulate migratory and cytolytic activity of natural killer cells. *Cancer Res.* 2005;65:5238–5247.
- Gong Z, Yang J, Yang M, Wang F, Wei Q, Tanguay RM, Wu T. Benzo(a)pyrene inhibits expression of inducible heat shock protein 70 in vascular endothelial cells, *Toxicol. Lett.* 166 (2006) 229–236.
- Gorgoulis VG, Halazonetis TD. 2010. Oncogene-induced senescence: The bright and dark side of the response. *Curr Opin Cell Biol* 22: 816 –827.
- Gross C., Hansch D., Gastpar R., Multhoff G., Interaction of heat shock protein 70 peptide with NK cells involves the NK receptor CD94, *Biol. Chem.* 384 (2003) 267–279.
- Guo F, Sigua C, Bali P, George P, Fiskus W, Scuto A, Annavarapu S, Mouttaki A, Sondarva G, Wei S, Wu J, Djeu J, Bhalla K. Mechanistic role of heat shock protein 70 in Bcr-Abl-mediated resistance to apoptosis in human acute leukemia cells, *Blood* 105 (2005) 1246–1255.
- Gurbuxani S, Bruey JM, Fromentin A, Larmonier N, Parcellier A, Jäättelä M, Martin F, Solary E, Garrido C. Selective depletion of inducible HSP70 enhances immunogenicity of rat colon cancer cells, *Oncogene* 20 (2001) 7478–7485.
- Gurbuxani S1, Schmitt E, Cande C, Parcellier A, Hammann A, Daugas E, Kouranti I, Spahr C, Pance A, Kroemer G, Garrido C. Heat shock protein 70 binding inhibits the nuclear import of apoptosisinducing factor, *Oncogene* 22 (2003) 6669–6678.

- Habich C., Baumgart K., Kolb H., Burkart V., The receptor for heat shock protein 60 on macrophages is saturable, specific, and distinct from receptors for other heat shock proteins, *J. Immunol.* 168 (2002) 569–576.
- Hamilton A. S. and Mack T. M.. Puberty and genetic susceptibility to breast cancer in a case-control study in twins. *N. Engl. J. Med.* 348:2313–22 (2003)
- Hegan, DC; Narayanan, L; Jirik, FR; Edelmann, W; Liskay, RM; Glazer, PM (2006)."Differing patterns of genetic instability in mice deficient in the mismatch repair genes Pms2, Mlh1, Msh2, Msh3 and Msh6". *Carcinogenesis.* 27 (12): 2402–8.
- Hess CJ, Berkhof J, Denkers F, Ossenkoppele GJ, Schouten JP, Oudejans JJ, Waisfisz Q, Schuurhuis GJ. Activated intrinsic apoptosis pathway is a key related prognostic parameter in acute myeloid leukemia, *J. Clin. Oncol.* 25 (2007) 1209–1215.
- Hosokawa N., Hirayoshi K., Kudo H., et al. Inhibition of the activation of heat shock factor in vivo and in vitro by flavonoids. *Molecular and Cellular Biology.* 1992;12(8):3490–3498.
- Huang C., Wang J., Chen Z., Wang Y., Zhang W., 2-Phenylethynylsulfonamide prevents induction of pro-inflammatory factors and attenuates LPS-induced liver injury by targeting NHE1-Hsp70 complex in mice, *PLoS ONE* 8 (2013) e67582.
- Huang RY, Guilford P, Thiery JP. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci.* 2012;125(Pt 19):4417-22.
- Hunt C, Morimoto RI. (1985). Conserved features of eukaryotic hsp70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human hsp70. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 82, 6455–6459.
- Irigaray P., Newby J. A., Clapp R., Hardell L., Howard V., Montagnier L., Epstein S., and Belpomme D.. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed. Pharmacother.* 61:640–58 (2007)
- Jäättelä M, Wissing D. (1993). Heat-shock proteins protect cells from monocyte cytotoxicity: possible mechanism of self-protection . *J. Exp. Med.* , 177 , 231–236.
- Jaattela M., Over-expression of hsp70 confers tumorigenicity to mouse fibrosarcoma cells, *Int. J. Cancer* 60 (1995) 689–693.

- Jaattela M., Wissing D., Kokholm K., Kallunki T., Egeblad M., Hsp70 exerts its anti-apoptotic function downstream of caspase-3-like proteases, *EMBO J.* 17 (1998) 6124–6134.
- Jemal A., Siegel R., Ward E., Murray T., Xu J., and Thun M. J.. Cancer statistics, 2007. *CA Cancer J. Clin.* 57:43–66 (2007).
- Jensen H., Andresen L., Hansen K.A., Skov S., Cell-surface expression of Hsp70 on hematopoietic cancer cells after inhibition of HDAC activity, *J. Leukoc. Biol.* 86 (2009) 923–932.
- Jiang B, Liang P, Deng G, Tu Z, Liu M, Xiao X. Increased stability of Bcl-2 in HSP70-mediated protection against apoptosis induced by oxidative stress, *Cell Stress Chaperones* 16 (2011) 143–152.
- Jimbo J, Sato K, Hosoki T, Shindo M, Ikuta K, Torimoto Y, Kohgo Y. Induction of leukemia-specific antibodies by immunotherapy with leukemia-cell-derived heat shock protein 70, *Cancer Sci.* 99 (2008) 1427–1434.
- Jinwal UK, Miyata Y, Koren J, 3rd, Jones JR, Trotter JH, Chang L et al (2009). Chemical manipulation of hsp70 ATPase activity regulates tau stability. *J Neurosci* 29: 12079-88.
- Jinwal UK, Miyata Y, Koren J 3rd, Jones JR, Trotter JH, Chang L, O'Leary J, Morgan D, Lee DC, Shults CL, Rousaki A, Weeber EJ, Zuiderweg ER, Gestwicki JE, Dickey CA. Chemical manipulation of hsp70 ATPase activity regulates tau stability, *J. Neurosci.* 29 (2009) 12079–12088.
- Juhasz K, Lipp AM, Nimmervoll B, Sonnleitner A, Hesse J, Haselgruebler T, Balogi Z. The complex function of hsp70 in metastatic cancer. *Cancers (Basel).* 2013 Dec 20;6(1):42-66.
- Kalluri R, Weinberg RA. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest.* 2009;119(6) : 1420-8. Review. Erratum in: *J Clin Invest.* 2010 May 3;120(5):1786.
- Kampinga, H.H.; Hageman, J.; Vos, M.J.; Kubota, H.; Tanguay, R.M.; Bruford, E.A.; Cheetham, M.E.; Chen, B.; Hightower, L.E. Guidelines for the nomenclature of the human heat shock proteins. *Cell Stress Chaperones* 2009, 14, 105–111.
- Kanwal R, Gupta S. Epigenetic modifications in cancer. *Clin Genet.* 2012 Apr;81(4):303-11.

- Kaur J, Srivastava A, Ralhan R. (1998). Expression of 70-kDa heat shock protein in oral lesions: marker of biological stress or pathogenicity . *Oral Oncol.* , 34 , 496–501.
- Kawanishi K., Shiozaki H., Doki Y., Sakita I., Inoue M., Yano M., Tsujinaka T., Shamma A., Monden M. Prognostic significance of heat shock proteins 27 and 70 in patients with squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer*. 1999;85:1649–1657.
- Kerr J.F., Wyllie A.H., Currie A.R., Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics, *Br. J. Cancer* 26 (1972) 239–257.
- Knudson AG (November 2001). "Two genetic hits (more or less) to cancer". *Nature Reviews Cancer* 1(2): 157–62.
- Kotoglou P, Kalaitzakis A, Vezyraki P, Tzavaras T, Michalis LK, Dantzer F, Jung JU, Angelidis C. Hsp70 translocates to the nuclei and nucleoli, binds to XRCC1 and PARP-1, and protects HeLa cells from single-strand DNA breaks, *Cell Stress Chaperones* 14 (2009) 391–406.
- Kottke T, Sanchez-Perez L, Diaz RM, Thompson J, Chong H, Harrington K, Calderwood SK, Pulido J, Georgopoulos N, Selby P, Melcher A, Vile R. Induction of hsp70-mediated Th17 autoimmunity can be exploited as immunotherapy for metastatic prostate cancer, *Cancer Res.* 67 (2007) 11970–11979.
- Kourtidis A, Ngok SP, Anastasiadis PZ. p120 catenin: an essential regulator of cadherin stability, adhesion-induced signaling, and cancer progression. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2013;116:409-32.
- Koya K, Li Y, Wang H, Ukai T, Tatsuta N, Kawakami M, Shishido, Chen LB. MKT-077, a novel rhodacyanine dye in clinical trials, exhibits anticarcinoma activity in preclinical studies based on selective mitochondrial accumulation, *Cancer Res.* 56 (1996) 538–543.
- Kumar S, Stokes J 3rd, Singh UP, Scissum Gunn K, Acharya A, Manne U, Mishra M. Targeting Hsp70: A possible therapy for cancer *Cancer Lett.* 2016 Apr 28;374(1):156-66. © 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.
- Kumar S, Deepak P, Kumar S Jr, Kishore D, Acharya A. Autologous Hsp70 induces antigen specific Th1 immune responses in a murine T-cell lymphoma, *Immunol. Invest.* 38 (2009) 449–465.

- Kumar S, Deepak P, Kumar S, Gautam PK, Acharya A. A benzophenanthridine alkaloid, chelerythrine induces apoptosis in vitro in a Dalton's lymphoma, *J. Cancer Res. Ther.* 9 (2013) 693–700.
- Kumar S., Acharya A., Chelerythrine induces reactive oxygen species-dependent mitochondrial apoptotic pathway in a murine T cell lymphoma, *Tumour Biol.* 35 (2014) 129–140.
- Kumar S., Tomar M.S., Acharya A., HSF1-mediated regulation of tumor cell apoptosis: a novel target for cancer therapeutics, *Future Oncol.* 9 (2013) 1573–1586.
- Kuper H, Adami HO, Boffetta P (June 2002). "Tobacco use, cancer causation and public health impact". *Journal of Internal Medicine.* 251 (6): 455–66.
- Kushi LH, Byers T, Doyle C, Bandera EV, McCullough M, McTiernan A, Gansler T, Andrews KS, Thun MJ (2006). "American Cancer Society Guidelines on Nutrition and Physical Activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity". *CA Cancer J Clin.* 56 (5): 254–81; quiz 313–4.
- Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(3):178-96.
- Lancaster G.I., Febbraio M.A. Exosome-dependent trafficking of HSP70: A novel secretory pathway for cellular stress proteins. *J. Biol. Chem.* 2005;280:23349–23355.
- Lazaris AC, Theodoropoulos GE, Aroni K, Sietta A, Davaris PS. (1995). Immunohistochemical expression of C-myc oncogene, heat shock protein 70 and HLA-DR molecules in malignant cutaneous melanoma. *Virchows Arch.* , 426 , 461–467.
- Lazaris ACh, Chatzigianni EB, Panoussopoulos D, Tzimas GN, Davaris PS, Golematis BCh. (1997). Proliferating cell nuclear antigen and heat shock protein 70 immunolocalization in invasive ductal breast cancer not otherwise specified. *Breast Cancer Res. Treat.* , 43 , 43–51.
- Laufen T., Laufen T, Mayer MP, Beisel C, Klostermeier D, Mogk A, Reinstein J, Bukau B (1999). Mechanism of regulation of hsp70 chaperones by DnaJ cochaperones. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 96, 5452–5457
- Leber M.F., Efferth T. Molecular principles of cancer invasion and metastasis. *Int. J. Oncol.* 2009;34:881–895.

- Lee JH, Schöffl F. An Hsp70 antisense gene affects the expression of HSP70/HSC70, the regulation of HSF, and the acquisition of thermotolerance in transgenic *Arabidopsis thaliana*, *Mol. Gen. Genet.* 252 (1996) 11–19.
- Lee KJ, Kim YM, Kim DY, Jeoung D, Han K, Lee ST, Lee YS, Park KH, Park JH, Kim DJ, Hahn JH. Release of heat shock protein 70 (Hsp70) and the effects of extracellular Hsp70 on matrix metalloproteinase-9 expression in human monocytic U937 cells. *Exp. Mol. Med.* 2006;38:364–374.
- Leu J.I., Pimkina J., Frank A., Murphy M.E., George D.L., A small molecule inhibitor of inducible heat shock protein 70, *Mol. Cell* 36 (2009) 15–27.
- Li M, Wang J, Jing J, Hua H, Luo T, Xu L, Wang R, Liu D, Jiang Y. Synergistic promotion of breast cancer cells death by targeting molecular chaperone GRP78 and heat shock protein 70, *J. Cell. Mol. Med.* 13 (2009) 4540–4550.
- Li P, Nijhawan D, Budihardjo I, Srinivasula SM, Ahmad M, Alnemri ES, Wang X. Cytochrome c and dATP-dependent formation of Apaf-1/caspase-9 complex initiates an apoptotic protease cascade, *Cell* 91 (1997) 479–489.
- Li X, Colvin T, Rauch JN, Acosta-Alvear D, Kampmann M, Dunyak B, Hann B, Aftab BT, Murnane M, Cho M, Walter P, Weissman JS, Sherman MY, Gestwicki JE. Validation of the Hsp70-Bag3 Protein-Protein Interaction as a Potential Therapeutic Target in Cancer *Mol Cancer Ther.* 2015 March ; 14(3): 642–648.
- Li Y., Kang X., Wang Q. HSP70 decreases receptor-dependent phosphorylation of Smad2 and blocks TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition. *J. Genet. Genomics.* 2011;38:111–116.
- Lin Y, Peng N, Zhuang H, Zhang D, Wang Y, Hua ZC. Heat shock proteins HSP70 and MRJ cooperatively regulate cell adhesion and migration through urokinase receptor. *BMC Cancer* 2014;14:639
- Liu B, Ye D, Song X, Zhao X, Yi L, Song J, Zhang Z, Zhao Q. A novel therapeutic fusion protein vaccine by two different families of heat shock proteins linked with HPV16 E7 generates potent antitumor immunity and antiangiogenesis, *Vaccine* 26 (2008) 1387–1396.
- Loeb K. R., and. Loeb L. A. Significance of multiple mutations in cancer. *Carcinogenesis.* 21:379–85 (2000) doi:10.1093/carcin/21.3.379.

- Maehara Y., Oki E., Abe T., Tokunaga E., Shibahara K., Kakeji Y., Sugimachi K. Overexpression of the heat shock protein HSP70 family and p53 protein and prognosis for patients with gastric cancer. *Oncology*.2000;58:144–151.
- Małusecka E, Zborek A, Krzyzowska-Gruca S, Krawczyk Z. (2001). Expression of heat shock proteins HSP70 and HSP27 in primary non-small cell lung carcinomas. An immunohistochemical study . *Anticancer Res.* , 21 , 1015–1021.
- Mambula S.S., Calderwood S.K., Heat shock protein 70 is secreted from tumor cells by a nonclassical pathway involving lysosomal endosomes, *J. Immunol.* 177 (2006) 7849–7857.
- Mao H., Li F., Ruchalski K., Mosser D.D., Schwartz J.H., Wang Y., Borkan S.C. Hsp72 inhibits focal adhesion kinase degradation in atp-depleted renal epithelial cells. *J. Biol. Chem.* 2003;278:18214–18220.
- Mason PB Jr, Lis JT. (1997). Cooperative and competitive protein interactions at the hsp70 promoter. *J. Biol. Chem.*, 272, 33227–33233.
- Massey AJ, Williamson DS, Browne H, Murray JB, Dokurno P, Shaw T, Macias AT, Daniels Z, Geoffroy S, Dopson M, Lavan P, Matassova N, Francis GL, Graham CJ, Parsons R, Wang Y, Padfield A, Comer M, Drysdale MJ, Wood M. A novel, small molecule inhibitor of Hsc70/Hsp70 potentiates Hsp90 inhibitor induced apoptosis in HCT116 colon carcinoma cells, *Cancer Chemother. Pharmacol.* 66 (2010) 535–545.
- Mayer M P (2010). "Gymnastics of Molecular Chaperones". *Cell* 39: 321–331.
- McCarrey John R. , Lehle Jake D. , Raju Seetha S. , Wang Yufeng , Nilsson Eric E., and Skinner Michael K. Tertiary Epimutations – A Novel Aspect of Epigenetic Transgenerational Inheritance Promoting Genome Instability. *PLoS One.* 2016; 11(12): e0168038.
- McNiven MA. Breaking away: matrix remodeling from the leading edge. *Trends Cell Biol.* 2013;23(1):16-21.
- Meng L, Hunt C, Yaglom JA, Gabai VL, Sherman MY. (2011). Heat shock protein Hsp72 plays an essential role in Her2-induced mammary tumorigenesis . *Oncogene.* , 30 , 2836–2845.
- Milarski KL, Morimoto RI. (1986). Expression of human HSP70 during the synthetic phase of the cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 83, 9517–9521.
- Moreno-Bueno G, Portillo F, Cano A. Transcriptional regulation of cell polarity in EMT and cancer. *Oncogene.* 2008;27(55):6958-69.

- Morgan W.D. (1989). Transcription factor Sp1 binds to and activates a human hsp70 gene promoter. *Mol. Cell. Biol.*, 9, 4099–4104.
- Morgan WD, Williams GT, Morimoto RI, Greene J, Kingston RE, Tjian R. Two transcriptional activators, CCAAT-box-binding transcription factor and heat shock transcription factor, interact with a human hsp70 gene promoter. *Mol. Cell. Biol.*, 1987 Mar;7(3):1129-38. 7, 1129–1138.
- Morimoto, R.I. Cells in stress: Transcriptional activation of heat shock genes. *Science* 1993, 259, 1409–1410.
- Mosoian A., Intracellular and extracellular cytokine-like functions of prothymosin alpha: implications for the development of immunotherapies, *Future Med. Chem.* 3 (2011) 1199–1208.
- Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Meriin AB, Sherman MY, Morimoto RI, Massie B. The chaperone function of hsp70 is required for protection against stress-induced apoptosis, *Mol. Cell. Biol.* 20 (2000) 7146–7159.
- Mosser, D.D.; Morimoto, R.I. Molecular chaperones and the stress of oncogenesis. *Oncogene* 2004, 23, 2907–2918.
- Mujumdar N, Mackenzie TN, Dudeja V, Chugh R, Antonoff MB, Borja-Cacho D, Sangwan V, Dawra R, Vickers SM, Saluja AK. Triptolide induces cell death in pancreatic cancer cells by apoptotic and autophagic pathways, *Gastroenterology* 139 (2010) 598–608.
- Muller P; Ruckova, E; Halada, P; Coates, P J; Hrstka, R; Lane, D P; Vojtesek, B. "C-terminal phosphorylation of Hsp70 and Hsp90 regulates alternate binding to co-chaperones CHIP and HOP to determine cellular protein folding/degradation balances". *Oncogene*. 2013 Jun 20;32(25):3101-10.
- Multhoff G, Mizzen L, Winchester CC, Milner CM, Wenk S, Eissner G, Kampinga HH, Laumbacher B, Johnson J. Heat shock protein 70 (Hsp70) stimulates proliferation and cytolytic activity of natural killer cells, *Exp. Hematol.* 27 (1999) 1627–1636
- Multhoff G, Botzler C., Jennen L., Schmidt J., Ellwart J., Issels R., Heat shock protein 72 on tumor cells: a recognition structure for natural killer cells, *J. Immunol.* 158 (1997) 4341–4350.
- Murphy M. E 2013. The HSP70 family and cancer Carcinogenesis. 2013 June;34(6):1181-1188.

- Nakajima M., Kato H., Miyazaki T., Fukuchi M., Masuda N., Fukai Y., Sohda M., Ahmad F., Kuwano H. Tumor immune systems in esophageal cancer with special reference to heat-shock protein 70 and humoral immunity. *Anticancer Res.* 2009;29:1595–606.
- Nanbu, K.; Konishi, I.; Mandai, M.; Kuroda, H.; Hamid, A.A.; Komatsu, T.; Mori, T. Prognostic significance of heat shock proteins HSP70 and HSP90 in endometrial carcinomas. *Cancer Detect. Prev.* 1998, 22, 549–555.
- Narayanan, L; Fritzell, JA; Baker, SM; Liskay, RM; Glazer, PM (1997). "Elevated levels of mutation in multiple tissues of mice deficient in the DNA mismatch repair gene Pms2". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 94 (7): 3122–7.
- National Cancer Institute. «Defining Cancer». Ανακτήθηκε στις 10 June 2014.
- Navarro C, Nola S, Audebert S, Santoni MJ, Arsanto JP, Ginestier C, et al. Junctional recruitment of mammalian Scribble relies on E-cadherin engagement. *Oncogene.* 2005;24(27):4330-9.
- Nelson WJ. Remodeling epithelial cell organization: transitions between front-rear and apical-basal polarity. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009;1(1):a000513.
- Nicchitta C.V., Re-evaluating the role of heat-shock protein-peptide interactions in tumour immunity, *Nat. Rev. Immunol.* 3 (2003) 427–432
- Nylandsted J, Gyrd-Hansen M, Danielewicz A, Fehrenbacher N, Lademann U, Høyer-Hansen M, Weber E, Multhoff G, Rohde M, Jäättelä M. Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization, *J. Exp. Med.* 200 (2004) 425–435.
- Nylandsted J., Rohde M., Brand K., Bastholm L., Elling F., Jaattela M., Selective depletion of heat shock protein 70 (Hsp70) activates a tumor-specific death program that is independent of caspases and bypasses Bcl-2, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97 (2000) 7871–7876.
- Ozes ON, Mayo LD, Gustin JA, Pfeffer SR, Pfeffer LM, Donner DB. NF-kappaB activation by tumour necrosis factor requires the Akt serine-threonine kinase, *Nature* 401 (1999) 82–85.
- Pang Q., Christianson T.A., Keeble W., Koretsky T., Bagby G.C., The anti-apoptotic function of Hsp70 in the interferon-inducible double-stranded RNA-dependent protein kinase-mediated death signaling pathway requires the Fanconi anemia protein, FANCC, *J. Biol. Chem.* 277 (2002) 49638–49643.

- Pang Q., Keeble W., Christianson T.A., Faulkner G.R., Bagby G.C., FANCC interacts with Hsp70 to protect hematopoietic cells from IFN-gamma/TNF-alpha-mediated cytotoxicity, *EMBO J.* 20 (2001) 4478–4489.
- Park S, Bae J, Nam BH, Yoo KY (2008). "Aetiology of cancer in Asia" (PDF). *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 9 (3): 371–80.
- Parkin D. M.. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int. J. Cancer.* 118:3030–3044 (2006)
- Parsian AJ, Sheren JE, Tao TY, Goswami PC, Malyapa R, Van Rheeden R, Watson MS, Hunt CR. (2000). The human Hsp70B gene at the HSPA7 locus of chromosome 1 is transcribed but non-functional. *Biochim. Biophys. Acta.* , 1494 , 201–205.
- Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nat Rev Cancer.* 2007;7(6):415-28.
- Pocaly M, Lagarde V, Etienne G, Ribeil JA, Claverol S, Bonneau M, Moreau-Gaudry F, Guyonnet-Duperat V, Hermine O, Melo JV, Dupouy M, Turcq B, Mahon FX, Pasquet JM. Overexpression of the heat-shock protein 70 is associated to imatinib resistance in chronic myeloid leukemia, *Leukemia* 21 (2007) 93–101.
- Powers M.V., Clarke P.A., Workman P., Death by chaperone: HSP90, HSP70 or both?, *Cell Cycle* 8 (2009) 518–526.
- Powers M.V., P Clarke.A., Workman P., Dual targeting of HSC70 and HSP72 inhibits HSP90 function and induces tumor-specific apoptosis, *Cancer Cell* 14 (2008) 250–262.
- Powers, M.V.; Workman, P. Inhibitors of the heat shock response: Biology and pharmacology. *FEBS Lett.* 2007, 581, 3758–3769.
- Raciti M, Lotti LV, Valia S, Pulcinelli FM, Di Renzo L. JNK2 is activated during ER stress and promotes cell survival. *Cell Death Dis.* 2012 Nov 22; 3():e429.
- Ralhan R, Kaur J. (1995). Differential expression of Mr 70,000 heat shock protein in normal, premalignant, and malignant human uterine cervix. *Clin. Cancer Res.* , 1 , 1217–1222.
- Ravagnan L, Gurbuxani S, Susin SA, Maisse C, Daugas E, Zamzami N, et al. Heat-shock protein 70 antagonizes apoptosis-inducing factor. *Nat Cell Biol* 2001;3:839–43
- Ray S, Lu Y, Kaufmann SH, Gustafson WC, Karp JE, Boldogh I, Fields AP, Brasier AR. Genomic mechanisms of p210BCR-ABL signaling: induction of heat shock

- protein 70 through the GATA response element confers resistance to paclitaxel-induced apoptosis, *J. Biol. Chem.* 279 (2004) 35604–35615.
- Rérole Anne-Laure, Gobbo Jessica , De Thonel Aurelie , Schmitt Elise , de Barros Jean Paul Pais, Hammann Arlette anneau David, Fourmaux Eric, Deminov Oleg, Micheau Olivier, Lagrost Laurent, Colas Pierre, Kroemer Guido, Garrido Carmen . Peptides and Aptamers Targeting HSP70: A Novel Approach for Anticancer Chemotherapy. *Cancer Research* 2011 71(2):484-95. Correction: peptides and aptamers targeting HSP70: a novel approach for anticancer chemotherapy, *Cancer Res*, 75 2015 902
- Ribeil JA, Zermati Y, Vandekerckhove J, Cathelin S, Kersual J, Dussiot M, Coulon S, Moura IC, Zeuner A, Kirkegaard-Sørensen T, Varet B, Solary E, Garrido C, Hermine O. Hsp70 regulates erythropoiesis by preventing caspase-3-mediated cleavage of GATA-1, *Nature* 445 (2007) 102–105.
- Ridley AJ. Life at the leading edge. *Cell.* 2011;145(7):1012-22.
- Rohde M, Dugaard M, Jensen MH, Helin K, Nylandsted J, Jäättelä M. (2005). Members of the heat-shock protein 70 family promote cancer cell growth by distinct mechanisms . *Genes Dev.* , 19 , 570–582.
- Roodveldt C, Bertoncini CW, Andersson A, van der Goot AT, Hsu ST, Fernández-Montesinos R, de Jong J, van Ham TJ, Nollen EA, Pozo D, Christodoulou J, Dobson CM. Chaperone proteostasis in Parkinson's disease: stabilization of the Hsp70/alpha-synuclein complex by Hip, *EMBO J.* 28 (2009) 3758–3770.
- Roukos DH (April 2009). "Genome-wide association studies: how predictable is a person's cancer risk?". *Expert Rev Anticancer Ther.* 9 (4): 389–92.
- Sakurai T, Kashida H, Komeda Y, Nagai T, Hagiwara S, Watanabe T, Kitano M, Nishida N, Fujita J, Kudo M Stress Response Protein RBM3 Promotes the Development of Colitis-associated Cancer. *Inflamm Bowel Dis.* 2016 Dec 7.
- Sanchez-Perez L, Kottke T, Daniels GA, Diaz RM, Thompson J, Pulido J, Melcher A, Vile RG. Killing of normal melanocytes, combined with heat shock protein 70 and CD40L expression, cures large established melanomas, *J. Immunol.* 177 (2006) 4168–4177.
- Sandoval J, Esteller M. 2012. Cancer epigenomics: Beyond genomics. *Curr Opin Genet Dev* 22: 50–55.

- Santarosa, M.; Favaro, D.; Quaia, M.; Galligioni, E. Expression of heat shock protein 72 in renal cell carcinoma: Possible role and prognostic implications in cancer patients. *Eur. J. Cancer* 1997, 33, 873–877.
- Schilling D, Gehrmann M, Steinem C, De Maio A, Pockley AG, Abend M, Molls M, Multhoff G. Binding of heat shock protein 70 to extracellular phosphatidylserine promotes killing of normoxic and hypoxic tumor cells, *FASEB J.* 23 (2009) 2467–2477.
- Schmitt E, Maingret L, Puig PE, Rerole AL, Ghiringhelli F, Hammann A, Solary E, Kroemer G, Garrido C. Heat shock protein 70 neutralization exerts potent antitumor effects in animal models of colon cancer and melanoma, *Cancer Res.* 66 (2006) 4191–4197.
- Schnekenburger, M; Diederich, M (2012)."Epigenetics Offer New Horizons for Colorectal Cancer Prevention"
- Schütze M, Boeing H, Pischon T, Rehm J, Kehoe T, Gmel G, Olsen A, Tjønneland AM, Dahm CC, Overvad K, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Benetou V, Zylis D, Kaaks R, Rohrmann S, Palli D, Berrino F, Tumino R, Vineis P, Rodríguez L, Agudo A, Sánchez MJ, Dorronsoro M, Chirlaque MD, Barricarte A, Peeters PH, van Gils CH, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Key TJ, Boffetta P, Slimani N, Jenab M, Romaguera D, Wark PA, Riboli E, Bergmann MM (2011). "Alcohol attributable burden of incidence of cancer in eight European countries based on results from prospective cohort study". *BMJ.* 342: d1584
- Seoane JM, Varela-Centelles PI, Ramirez JR, Cameselle-Teijeiro J, Romero MA, Aguirre JM. Heat shock proteins (HSP70 and HSP27) as markers of epithelial dysplasia in oral leukoplakia, *Am. J. Dermatopathol.* 28 (2006) 417–422.
- Sever R., Brugge J. S. (2015) *Signal transduction in cancer*, Cold Spring Harbor Laboratory Press 5, 5
- Shiozaki H., Doki Y., Kawanishi K., Shamma A., Yano M., Inoue M., Monden M. Clinical application of malignancy potential grading as a prognostic factor of human esophageal cancers. *Surgery.* 2000;127:552–561.
- Simard, J.P.; Reynolds, D.N.; Kraguljac, A.P.; Smith, G.S.T.; Mosser, D.D. Overexpression of HSP70 inhibits cofilin phosphorylation and promotes lymphocyte migration in heat-stressed cells. *J. Cell Sci.* 2011, 124, 2367–2374.

- Sossey-Alaoui K., Li X., Ranalli T.A., Cowell J.K. WAVE3-mediated cell migration and lamellipodia formation are regulated downstream of phosphatidylinositol 3-Kinase. *J. Biol. Chem.* 2005;280:21748–21755.
- Sossey-Alaoui K., Safina A., Li X., Vaughan M.M., Hicks D.G., Bakin A.V., Cowell J.K. Down-regulation of WAVE3, a metastasis promoter gene, inhibits invasion and metastasis of breast cancer cells. *Am. J. Pathol.* 2007;170:2112–2121.
- Soti, C.; Pál, C.; Papp, B.; Csermely, P. Molecular chaperones as regulatory elements of cellular networks. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2005, 17, 210–215.
- Specht HM, Ahrens N, Blankenstein C, Duell T, Fietkau R, Gaipl US, Günther C, Gunther S, Habl G, Hautmann H, Hautmann M, Huber RM, Molls M, Offner R, Rödel C, Rödel F, Schütz M, Combs SE, Multhoff G. Heat Shock Protein 70 (Hsp70) Peptide Activated Natural Killer (NK) Cells for the Treatment of Patients with Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) after Radiochemotherapy (RCTx) – From Preclinical Studies to a Clinical Phase II Trial, *Front. Immunol.* 6 (2015) 162.
- Srivastava P., Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity, *Nat. Rev. Immunol.* 2 (2002) 185–194.
- St Johnston D, Ahringer J. Cell polarity in eggs and epithelia: parallels and diversity. *Cell.* 2010;141(5):757-74.
- Stangl S., Wortmann A., Guertler U., Multhoff G., Control of metastasized pancreatic carcinomas in SCID/beige mice with human IL-2/TKD-activated NK cells, *J. Immunol.* 176 (2006) 6270–6276.
- Stankiewicz A.R., Lachapelle G., Foo C.P., Radicioni S.M., Mosser D.D., Hsp70 inhibits heat-induced apoptosis upstream of mitochondria by preventing Bax translocation, *J. Biol. Chem.* 280 (2005) 38729–38739.
- Steele AJ, Prentice AG, Hoffbrand AV, Yogashangary BC, Hart SM, Lowdell MW, Samuel ER, North JM, Nacheva EP, Chanalaris A, Kottaridis P, Cwynarski K, Wickremasinghe RG. 2-Phenylacetylenesulfonamide (PAS) induces p53-independent apoptotic killing of B-chronic lymphocytic leukemia (CLL) cells, *Blood* 114 (2009) 1217–1225.
- Storniolo A., Raciti M., Cucina A., Bizzarri M. and Di Renzo L. Quercetin Affects Hsp70/IRE1 α Mediated Protection from Death Induced by Endoplasmic Reticulum Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2015; 2015: 645157. Published online 2015 Apr 2.

- Su AI, Wiltshire T, Batalov S, Lapp H, Ching KA, Block D, Zhang J, Soden R, Hayakawa M, Kreiman G, Cooke MP, Walker JR, Hogenesch JB. (2004). A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101, 6062–6067.
- Sun X.F., Zhang H., Carstensen J., Jansson A., Nordenskjöld B. Heat shock protein 72/73 in relation to cytoplasmic p53 expression and prognosis in colorectal adenocarcinomas. *Int. J. Cancer*. 1997;74:600–604.
- Suva ML, Riggi N, Bernstein BE. 2013. Epigenetic reprogramming in cancer. *Science* 339: 1567–1570.
- Suzuki M., Iwasaki M., Sugio A., Hishiya A., Tanaka R., Endo T., Takayama S., Saito T. BAG3 (BCL2-associated athanogene 3) interacts with MMP-2 to positively regulate invasion by ovarian carcinoma cells. *Cancer Lett.* 2011;303:65–71.
- Syrigos KN, Harrington KJ, Karayiannakis AJ, Sekara E, Chatziyianni E, Syrigou EI, Waxman J. (2003). Clinical significance of heat shock protein-70 expression in bladder cancer. *Urology*, 61, 677–680.
- Taira T, Narita T, Iguchi-Arigo SM, Ariga H. (1997). A novel G1-specific enhancer identified in the human heat shock protein 70 gene. *Nucleic Acids Res.*, 25, 1975–1983.
- Takashima M, Kuramitsu Y, Yokoyama Y, Iizuka N, Harada T, Fujimoto M, Sakaida I, Okita K, Oka M, Nakamura K. Proteomic analysis of autoantibodies in patients with hepatocellular carcinoma, *Proteomics* 6 (2006) 3894–3900
- Tavaria M, Gabriele T, Kola I, Anderson RL (April 1996). "A hitchhiker's guide to the human Hsp70 family". *Cell Stress Chaperones* 1 (1): 23–8.
- Taylor RC, Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008 May;9(3):231-41.
- Teng Y., Ren M.Q., Cheney R., Sharma S., Cowell J.K. Inactivation of the WASF3 gene in prostate cancer cells leads to suppression of tumorigenicity and metastases. *Br. J. Cancer.* 2010;103:1066–1075.
- Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transition in development and disease. *Cell.* 2009;139(5):871-90.
- Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(2):131-42.
- Tissières A, Mitchell HK, Tracy U: Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol* 1974, 84, 389–398

- Toomey D., Conroy H., Jarnicki A.G., Higgins S.C., Sutton C., Mills K.H.,
Therapeutic vaccination with dendritic cells pulsed with tumor-derived Hsp70
and a COX-2 inhibitor induces protective immunity against B16 melanoma,
Vaccine 26 (2008) 3540–3549.
- Tutar Yusuf, Inhibition of Heat Shock Protein 70 and 90 (Hsp70 And Hsp90) in Target
Spesific Cancer Treatment , *Adv Tech Biol Med* 2015, 3:2
- Udono H., Srivastava P.K., Heat shock protein 70-associated peptides elicit specific
cancer immunity, *J. Exp. Med.* 178 (1993) 1391–1396.
- Vabulas RM, Ahmad-Nejad P, da Costa C, Miethke T, Kirschning CJ, Häcker
H, Wagner H. Endocytosed HSP60s use toll-like receptor 2 (TLR2) and TLR4
to activate the toll/interleukin-1 receptor signaling pathway in innate immune
cells, *J. Biol. Chem.* 276 (2001) 31332–31339.
- Vargas J, Feltes BC, Poloni Jde F, Lenz G, Bonatto D. 2012. Senescence: An
endogenous anticancer mechanism. *Front Biosci (Landmark Ed)* 17: 2616–2643
- Vargas-Roig L.M., Gago F.E., Tello O., Aznar J.C., Ciocca D.R., Heat shock protein
expression and drug resistance in breast cancer patients treated with induction
chemotherapy, *Int. J. Cancer* 79 (1998) 468–475.
- Vega V.L., Rodriguez-Silva M., Frey T., Gehrmann M., Diaz J.C., Steinem C.,
Multhoff G, Arispe N., de Maio A. Hsp70 translocates into the plasma
membrane after stress and is released into the extracellular environment in a
membrane-associated form that activates macrophages. *J.*
Immunol. 2008;180:4299–4307.
- Verhagen A.M., Vaux D.L., Cell death regulation by the mammalian IAP antagonist
Diablo/Smac, *Apoptosis* 7 (2002) 163–166.
- Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA Jr, Kinzler KW.
2013. Cancer genome landscapes. *Science* 339: 1546–1558.
- Wajant H. The Fas signaling pathway: more than a paradigm. *Science*. 2002 May
31;296(5573):1635-6.
- Walsh N., Larkin A., Swan N., Conlon K., Dowling P., McDermott R., Clynes M.
RNAi knockdown of Hop (Hsp70/Hsp90 organising protein) decreases invasion
via MMP-2 down regulation. *Cancer Lett.* 2011;306:180–189.
- Walsh N., Larkin A., Swan N., Conlon K., Dowling P., McDermott R., Clynes M.
RNAi knockdown of Hop (Hsp70/Hsp90 organising protein) decreases invasion
via MMP-2 down regulation. *Cancer Lett.* 2011;306:180–189.

- Westerheide S.D., Kawahara T.L., Orton K., Morimoto R.I., Triptolide, an inhibitor of the human heat shock response that enhances stress-induced cell death, *J. Biol. Chem.* 281 (2006) 9616–9622.
- Westerheide SD, Anckar J, Stevens SM Jr, Sistonen L, Morimoto RI. (2009). Stress-inducible regulation of heat shock factor 1 by the deacetylase SIRT1 .*Science.* , 323 , 1063–1066.
- Whitesell, L.; Lindquist, S. Inhibiting the transcription factor HSF1 as an anticancer strategy. *Expert Opin. Ther. Targets* 2009, 13, 469–478.
- Wigmore, S.J.; Sangster, K.; McNally, S.J.; Harrison, E.M.; Ross, J.A.; Fearon, K.C.H.; Garden, O.J. De-repression of heat shock transcription factor-1 in interleukin-6-treated hepatocytes is mediated by downregulation of glycogen synthase kinase 3beta and MAPK/ERK-1. *Int. J. Mol. Med.* 2007, 19, 413–420
- Willett W. C.. Diet and cancer. *Oncologist.* 5:393–404 (2000).
- Williams D.R., Ko S.K., Park S., Lee M.R., Shin I., An apoptosis-inducing small molecule that binds to heat shock protein 70, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 47 (2008) 7466–7469.
- Willmer T., Contu L., Blatch G.L., Edkins A.L. Knockdown of Hop downregulates RhoC expression, and decreases pseudopodia formation and migration in cancer cell lines. *Cancer Lett.* 2013;328:252–260.
- Wooldridge L, Lissina A, Vernazza J, Gostick E, Laugel B, Hutchinson SL, Mirza F, Dunbar PR, Boulter JM, Glick M, Cerundolo V, van den Berg HA, Price DA, Sewell AK. Enhanced immunogenicity of CTL antigens through mutation of the CD8 binding MHC class I invariant region, *Eur. J. Immunol.* 37 (2007) 1323–1333.
- Wright CM, Seguin SP, Fewell SW, Zhang H, Ishwad C, Vats A, Lingwood CA, Wipf P, Fanning E, Pipas JM, Brodsky JL. Inhibition of Simian Virus 40 replication by targeting the molecular chaperone function and ATPase activity of T antigen, *Virus Res.* 141 (2009) 71–80.
- Wu BJ, Kingston RE, Morimoto RI. (1986). Human HSP70 promoter contains at least two distinct regulatory domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 83, 629–633.
- Wu G, Osada M, Guo Z, Fomenkov A, Begum S, Zhao M, Upadhyay S, Xing M, Wu F, Moon C, Westra WH, Koch WM, Mantovani R, Califano JA, Ratovitski E, Sidransky D, Trink B. (2005). DeltaNp63alpha up-regulates the Hsp70 gene in human cancer . *Cancer Res.* , 65 , 758–766.

- Xie, K.; Huang, S. Regulation of cancer metastasis by stress pathways. *Clin. Exp. Metastasis* 2003, 20, 31–43.
- Yi F., Regan L., A novel class of small molecule inhibitors of Hsp90, *ACS Chem. Biol.* 3 (2008) 645–654.
- Yilmaz M, Christofori G. EMT, the cytoskeleton, and cancer cell invasion. *Cancer Metastasis Rev.* 2009;28(1-2):15-33.
- Yilmaz M, Christofori G. Mechanisms of motility in metastasizing cells. *Mol Cancer Res.* 2010;8(5):629-42.
- Yun CH, Yoon SY, Nguyen TT, Cho HY, Kim TH, Kim ST, Kim BC, Hong YS, Kim SJ, Lee HJ. Geldanamycin inhibits TGF-beta signaling through induction of Hsp70, *Arch. Biochem. Biophys.* 495 (2010) 8–13.
- Zeng Y, Chen X, Larmonier N, Larmonier C, Li G, Sepassi M, Marron M, Andreansky S, Katsanis E. Natural killer cells play a key role in the antitumor immunity generated by chaperone-rich cell lysate vaccination, *Int. J. Cancer* 119 (2006) 2624–2631.
- Zhang H.,W Huang., Fusion proteins of Hsp70 with tumor-associated antigen acting as a potent tumor vaccine and the C-terminal peptide-binding domain of Hsp70 being essential in inducing antigen-independent anti-tumor response in vivo, *Cell Stress Chaperones* 11 (2006) 216–226.
- Zhivotovsky B, Orrenius S, Brustugun OT, Døskeland SO., Injected cytochrome c induces apoptosis, *Nature* 391 (1998) 449–450.
- Zong W.X., Lindsten T., Ross A.J., MacGregor G.R., Thompson C.B., BH3-only proteins that bind pro-survival Bcl-2 family members fail to induce apoptosis in the absence of Bax and Bak, *Genes Dev.* 15 (2001) 1481–1486.
- Zuiderweg ER, Bertelsen EB, Rousaki A, Mayer MP, Gestwicki JE, Ahmad A (2013). Allosteric in the Hsp70 chaperone proteins. *Top. Curr. Chem.*, 328, 99–153
- Zylicz M., King F.W., Wawrzynow A., Hsp70 interactions with the p53 tumour suppressor protein, *EMBO J.* 20 (2001) 4634–4638.