



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

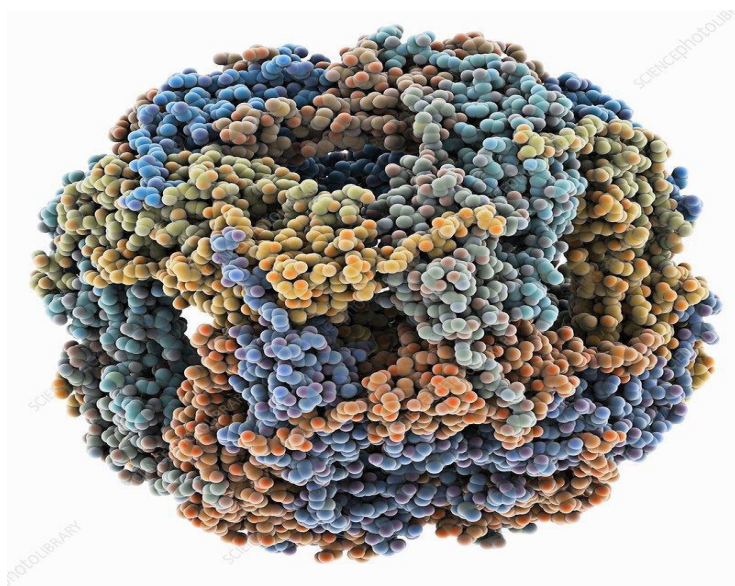
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες (ΒΒΕ)»

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης

Τίτλος: Stress πρωτεΐνες και καρκίνος. Νεότερα δεδομένα.

Όνομα: Λάμπρος Μάριος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: κα Βεζυράκη-Αγγελίδου Πατρώνα



Ιωάννινα 2023



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ-ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ

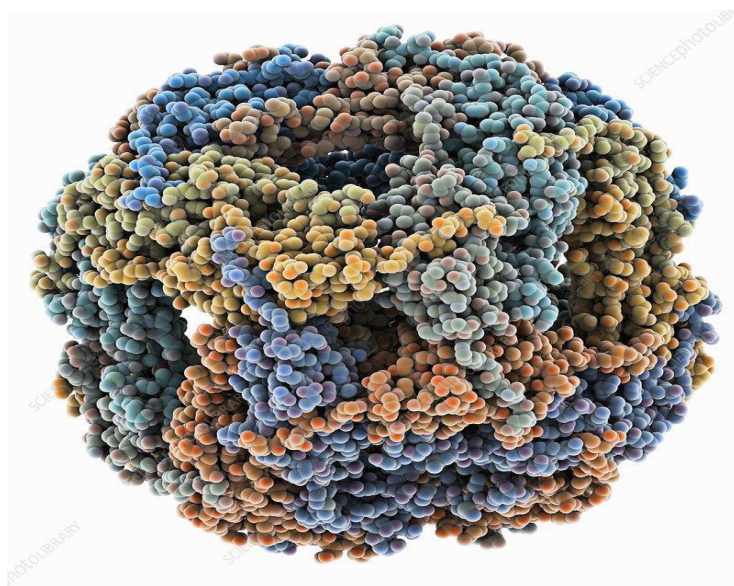
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ «Βασικές Βιοϊατρικές Επιστήμες (ΒΒΕ)»

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης

Τίτλος: Stress πρωτεΐνες και καρκίνος. Νεότερα δεδομένα.

Όνομα: Λάμπρος Μάριος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: κα Βεζυράκη-Αγγελίδου Πατρώνα



Ιωάννινα 2023

<<Η έγκριση του 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)>>

Φοιτητής: Λάμπρος Μάριος

Τίτλος Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης: Stress πρωτεΐνες και
καρκίνος. Νεότερα δεδομένα.

Ημερομηνία παρουσίασης: 12/7/23

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: κα Βεζυράκη-Αγγελίδου Πατρώνα

Εξεταστική επιτροπή:

- Βεζυράκη- Αγγελίδου Πατρώνα
- Αγγελίδης Χαράλαμπος
- Καραγεωργού Μαρία

Η διαδικασία επικυρώνεται από:

- Τον διευθυντή του ΠΜΣ ΒΒΕ
- Την πρόεδρο του τμήματος

Αφιερώσεις

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους συνέβαλαν στην επιτυχή ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας του μεταπτυχιακού προγράμματος ΒΒΕ της Ιατρικής σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού προγράμματος που με βοήθησαν τόσο σε τεχνικό όσο και ερευνητικό επίπεδο στην πραγματοποίηση αυτής της εργασίας. Επιπλέον ευχαριστώ ξεχωριστά κάθε μέλος της τριμελούς επιτροπής για τις συμβολές που μου παρείχαν. Ιδιαίτερα θα ήθελα να ευχαριστήσω την υπεύθυνη του προγράμματος ΒΒΕ και επιβλέπουσα καθηγήτρια της παρούσας εργασίας κα Πατρώνα Βεζυράκη για την συνεχόμενη υποστήριξη της και τις παρατηρήσεις της στα διάφορα στάδια εκπόνησης της παρούσας μελέτης. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω τους συμφοιτητές μου με τους οποίους είχα την ευκαιρία να μοιραστώ εμπειρίες αλλά και συμβουλές που με βοήθησαν στην ολοκλήρωση της μελέτης. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου που σε κάθε στάδιο της ζωής στέκονται δίπλα μου και με στηρίζουν σε όλες τις δύσκολες αποφάσεις.

Πρόλογος

Με την παρούσα εργασία ολοκληρώνεται ο τελευταίος κύκλος σπουδών μου στο πρόγραμμα ΒΒΕ του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων. Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ υπερεκφράζονται σε ένα ευρύ φάσμα ανθρώπινων καρκίνων και φαίνεται να εμπλέκονται στον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, στην διαφοροποίηση, στην περιοχή διήθηση και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Ολοένα και περισσότερες μελέτες δημοσιεύονται την τελευταία δεκαετία που να ερευνούν των ρόλο των πρωτεϊνών θερμικού σοκ σαν πιθανούς καρκινικούς βιοδείκτες πρόγνωσης και θεραπείας για διάφορες μορφές καρκίνου, αλλά και για την πιθανή στόχευση ορισμένων πρωτεϊνών θερμικού σοκ σαν πιθανούς αντικαρκινικούς. Σκοπός της μελέτης είναι να κατανοηθεί ο ρόλος των πρωτεϊνών θερμικού σοκ στην παθοφυσιολογία, διάγνωση, πρόγνωση, και θεραπεία του καρκίνου. Έγινε βιβλιογραφική ανασκόπηση και μια προσπάθεια σύνοψης των σημαντικότερων αποτελεσμάτων προκειμένου να παρουσιαστούν οι πιο πρόσφατες μελέτες των οποίων τα αποτελέσματα τους θα μπορούσαν να έχουν έναν άμεσο ή έμμεσο κλινικό συσχετισμό. Αρχικά παρουσιάζεται ο ρόλος των πρωτεϊνών θερμικού σοκ ως βιοδείκτες διάγνωσης και πρόγνωσης. Ακολουθεί μία σύντομη περιγραφή του ρόλου των πρωτεϊνών θερμικού σοκ στον μεταβολισμό των καρκινικών κυττάρων. Ακολουθεί εκτεταμένη περιγραφή του ρόλου των πρωτεϊνών θερμικού σοκ σαν πιθανούς στόχους κατά του καρκίνου. Τέλος περιγράφεται ο ρόλος που έχουν οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ στην χημειοανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων έναντι χημειοθεραπευτικών ουσιών που χρησιμοποιούνται ευρέως.

Πίνακας περιεχομένων

Κατάλογος Πινάκων	10
Κατάλογος εικόνων	11
Περίληψη.....	13
Abstract.....	15
1. Εισαγωγή.....	16
2. Ο ρόλος των Hsp ως καρκινικοί βιοδείκτες	19
2.1 . HSF-1	20
2.2 . HSP27	21
2.3 . HSP60	23
2.4 . HSP70	25
2.5 . HSP90	27
3 . Ο ρόλος των HSP στο μεταβολισμό του καρκίνου.....	32
3.1 . HSP90	33
3.2 . HSP70 και HSP60	34
4 . Πρωτεΐνες θερμικού σοκ ως θεραπευτικοί στόχοι στον καρκίνο.....	36
4.1 . Αναστολείς HSP για θεραπεία καρκίνου	36
4.1.1 . Αναστολείς HSP90	37
4.1.2 . Αναστολείς HSF-1	42
4.1.3 . Αναστολείς HSP27/60/70	44
4.1.5. Προσαρμογή των CSCs στις πιέσεις του μικροπεριβάλλοντος όγκου	56

4.1.6. Επαγωγή Αγγειογένεσης.....	57
4.1.7. Αναστολή της Απόπτωσης.....	59
4.2 . Ανοσοθεραπείες βασισμένες σε HSP για θεραπεία καρκίνου	61
4.3. Ο ρόλος του Hsp27 στην ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία	65
4.3.1. Δοξορουβικίνη	65
4.3.2. Herceptin/Trastuzumab	73
4.3.3. Γεμισταβίνη.....	74
4.3.4. 5-FU	77
4.3.5. Temozolomide.....	81
4.3.6. Πακλιταξέλη	85
4.4. Άλλοι αναστολείς Hsp27	87
4.5. Κλινικές δοκιμές με αναστολείς Hsp27	89
5 . Συμπεράσματα	90
Βιβλιογραφία.....	93

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. . Ο ρόλος των HSP στη διάγνωση και πρόγνωση του καρκίνου ..	29
Πίνακας 2. Αναστολείς HSP για θεραπεία καρκίνου	46

Κατάλογος εικόνων

Εικόνα 1 . Απόκριση θερμικού σοκ (HSR) σε καρκινικά κύτταρα. Όταν τα καρκινικά κύτταρα εκτίθενται σε παράγοντες στρες από το εξωτερικό περιβάλλον, οι HSF ενεργοποιούνται, μετατοπίζονται στον πυρήνα για να συνδεθούν με το HSE και ξεκινούν τη μεταγραφή των HSPs όπως οι HSP27, HSP60, HSP70 και HSP90. Η έκφραση των HSP που προκαλείται ως απόκριση σε αυτούς τους παράγοντες στρες ονομάζεται απόκριση θερμικού σοκ (HSR). 17

Εικόνα 2. Σχηματικό διάγραμμα των HSP που εμπλέκονται στη ρύθμιση των μεταβολικών οδών. Τα HSP μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μονοπάτια σηματοδότησης HIF1α, cMyc και PI3K/AKT ή/και να ρυθμίσουν τη δραστηριότητα των μεταβολικών ενζύμων (PKM2 και SDH) για τη ρύθμιση των μεταβολικών οδών. HIF1α, παράγοντας 1α που προκαλείται από υποξία; AKT, πρωτεϊνική κινάση B (επίσης γνωστή ως PKB). PI3K, φωσφοϊννοσιτιδική 3-κινάση; PKM2 , πυροσταφυλική κινάση 2; SDH , ηλεκτρική αφυδρογονάση; TCA, Τρικαρβοξυλικό οξύ . 33

Εικόνα 3. Περίληψη των μοριακών μηχανισμών της προαγωγής της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT) με τη μεσολάβηση Hsp27. Το πράσινο υποδεικνύει ενεργοποίηση. Κλειδί: EMT, επιθηλιακή σε μεσεγχυματική μετάβαση. EGF, επιδερμικός αυξητικός παράγοντας; STAT3, μετατροπέας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής 3. NFκb, πυρηνικός παράγοντας κάπα-ελαφριά αλυσίδα-ενισχυτής ενεργοποιημένων B κυττάρων. IL-6, ιντερλευκίνη 6. 53

Εικόνα 4. . Σύνοψη των μοριακών μηχανισμών με τη μεσολάβηση Hsp27 που επιτρέπουν στα καρκινικά βλαστοκύτταρα να επιβιώνουν από τις πιέσεις του

μικροπεριβαλλοντικού όγκου. Το πράσινο υποδεικνύει ενεργοποίηση. Κλειδί: CSC, καρκινικά βλαστοκύτταρα. PI3, φωσφατιδυλινοσιτολ-3-κινάση; mTOR, θηλαστικός στόχος της ραπαμυκίνης 57

Εικόνα 5. Περίληψη της αναστολής της απόπτωσης με τη μεσολάβηση Hsp27. Το πράσινο υποδηλώνει ενεργοποίηση, το κόκκινο υποδηλώνει αναστολή. Κλειδί: PI3, φωσφατιδυλινοσιτολ-3-κινάση. 60

Εικόνα 6. Σύνοψη των προτεινόμενων μηχανισμών με τους οποίους η Hsp27 επάγει τη χημειοαντοχή στη δοxorουβικίνη. Η υπερέκφραση ή η υπερενεργοποίηση της Hsp27 έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της p53, ενός βασικού μορίου που εμπλέκεται στην επαγόμενη από τη δοxorουβικίνη απόπτωση και τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Κλειδί: DOX, δοxorουβικίνη; ROS, δραστικά είδη οξυγόνου. STAT3, μετατροπέας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής 3. NF-kb, πυρηνικός παράγοντας κάπτα-ελαφριά αλυσίδα-ενισχυτή ενεργοποιημένων B κυττάρων. ATM, μεταλλαγμένη κινάση αταξίας-τελαγγειεκτασίας 73

Περίληψη

Η παρούσα εργασία έχει σκοπό να μελετήσει τα νεότερα δεδομένα σχετικά με τον ρόλο των πρωτεϊνών θερμικού στον καρκίνο. Η ερευνητική μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν αυτή της βιβλιογραφικής ανασκόπησης. Πιο συγκεκριμένα, αναζητήθηκαν άρθρα στις βάσεις δεδομένων Google Scholar και Science Direct. Οι λέξεις κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν ήταν: πρωτείνες θερμικού σοκ, καρκίνος, βιοδείκτες. Από τα αποτελέσματα που προέκυψαν απορρίφθηκαν οι μελέτες πριν το 2000.

Από την παρούσα εργασία προέκυψε ότι ο ενεργοποιημένος HSF και τα υψηλά επίπεδα HSP συνδέονται με την έγκαιρη διάγνωση, την προγνωστική πρόβλεψη, την μετεγχειρητική παρακολούθηση και την πρόβλεψη της αντοχής στα φάρμακα σε διάφορους τύπους καρκίνου, γεγονός που τους δίνει προοπτικές για χρήση ως κλινικοί βιοδείκτες. Επιπλέον, τα HSP ρυθμίζουν επίσης τις μεταβολικές οδούς και συμμετέχουν στον μεταβολισμό του καρκίνου, γεγονός που παρέχει περισσότερες ευκαιρίες για αντικαρκινικές θεραπείες.

Επιπλέον, τα HSPs μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως στόχοι για τη θεραπεία του καρκίνου. Πρόσφατα, έχουν γίνει αρκετές σημαντικές πρόοδοι στον τομέα των αναστολέων HSP (Πίνακας 2). Σύμφωνα με προκλινικές και κλινικές μελέτες, ορισμένοι αναστολείς που βασίζονται σε HSP και θεραπείες εμβολίων είναι αποτελεσματικοί και πολλά υποσχόμενοι στη θεραπεία του καρκίνου. Ωστόσο, ο καρκίνος είναι μια εξαιρετικά περίπλοκη ασθένεια που προκαλείται από πολλούς παράγοντες, περιλαμβάνει πολλά γονίδια και εξελίσσεται σε πολλαπλά στάδια. Η χρήση αναστολέων HSP ή εμβολίων από

μόνη της μπορεί να οδηγήσει σε απόκτηση αντοχής στο φάρμακο, μείωση του εύρους ασφάλειας και βλαβερή έκβαση από σοβαρή τοξικότητα ιστών ή οργάνων .

Abstract

This work aims to study the latest data on heat shock proteins and cancer. The research method used was that of the bibliographic review. More specifically, articles were searched in the Google Scholar and Science Direct databases. Key words used were: heat shock proteins, cancer, biomarkers. From the results obtained, studies before 2000 were discarded.

The present work revealed that activated HSF and high HSP levels are associated with early diagnosis, prognostic prediction, postoperative monitoring and drug resistance prediction in various types of cancer, which gives them prospects for use as clinical biomarkers. In addition, HSPs also regulate metabolic pathways and participate in cancer metabolism, which provides more opportunities for anticancer therapies.

In addition, HSPs can also be used as targets for cancer therapy. Recently, several important advances have been made in the field of HSP inhibitors (Table 2). According to preclinical and clinical studies, some HSP-based inhibitors and vaccine therapies are effective and promising in cancer treatment. However, cancer is an extremely complex disease that is caused by many factors, involves many genes and progresses through multiple stages. The use of HSP inhibitors or vaccines alone may lead to the acquisition of drug resistance, a reduction in the margin of safety, and an adverse outcome from severe tissue or organ toxicity.

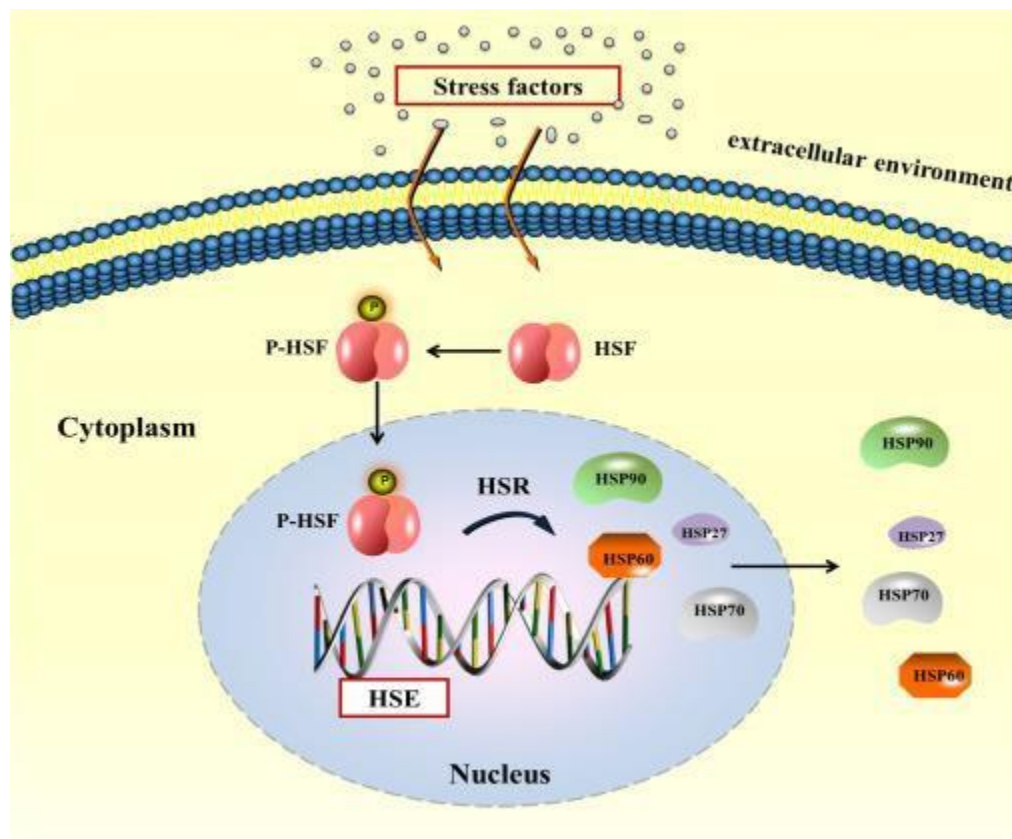
1. Εισαγωγή

Ο καρκίνος αποτελεί ένα μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας. Παρά την πρόοδο που έχει επιτευχθεί τα τελευταία χρόνια, και την εφαρμογή διάφορων διαγνωστικών και θεραπευτικών μεθόδων για τον καρκίνο, ο καρκίνος συνεχίζει να είναι μια από τις κύριες αιτίες θανάτου. Αυτό οφείλεται στα μοναδικά χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων όπως το απεριόριστο δυναμικό αναπαραγωγής, η ικανότητα μετάστασης, η ικανότητα διαφυγής του ανοσοποιητικού και η ετερογένεια.

Οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs) είναι πιθανοί βιοδείκτες για τη διάγνωση, την πρόγνωση και τους θεραπευτικούς στόχους του καρκίνου [1]. Τα HSP είναι μοριακές συνοδούς που βρίσκονται σχεδόν σε όλα τα είδη οργανισμών. Τα HSP ενισχύουν και προστατεύουν την δραστηριότητα των πρωτεϊνών πελατών τους. Οι πρωτεΐνες πελάτη εμπλέκονται με πολλαπλές λειτουργίες που σχετίζονται με τα hallmarks του καρκίνου, όπως η απόπτωση, η διαίρεση των καρκινικών κυττάρων. Για τους παραπάνω λόγους τα Hsp αποτελούν σημαντικούς θεραπευτικούς στόχους για τον καρκίνο [2-6]. Γενικά οι Hsp ταξινομούνται σε kDalton ανάλογα με το μοριακό τους βάρος σε Hsp 27, Hsp 40, Hsp 60, Hsp 70, Hsp 90, καθώς και άλλα ενδιάμεσα μόρια.

Το HSP υπερεκφράζονται όταν τα κύτταρα εκτίθενται σε παράγοντες στρες. Τέτοιοι παράγοντες είναι η υπερθερμία, υποθερμία, ανοξία, και ακτινοβολία [7-

8]. Η έκφραση των HSP που προκαλείται ως απόκριση σε αυτούς τους παράγοντες στρες ονομάζεται απόκριση θερμικού σοκ. Ο HSF-1, είναι ο μεταγραφικός παράγοντας που ενεργοποιείται με το στρές. Όταν ενεργοποιείται συνδέεται με στοιχεία θερμικού σοκ (HSEs), που βρίσκονται στον πυρήνα των κυττάρων, και προκαλεί υπερέκφραση των πρωτεϊνών θερμικού σοκ [9] .



Εικόνα 1 . Απόκριση θερμικού σοκ (HSR) σε καρκινικά κύτταρα. Όταν τα καρκινικά κύτταρα εκτίθενται σε παράγοντες στρες, γίνεται μετατόπιση του HSF στον πυρήνα των κυττάρων και υπερέκφραση των HSP.

Επιπλέον, οι HSPs συχνά υπερεκφράζονται σε διάφορους καρκίνους ως απόκριση στο τοξικό μικροπεριβάλλον [10-14] . Οι υψηλά εκφραζόμενες HSPs ενδέχεται να εμπλέκονται στη δημιουργία ενός ανοσοκατασταλτικού περιβάλλοντος όγκου που σχετίζεται με αντίσταση στην θεραπεία [12-16] . Τα

Hsp επίσης παίζουν σημαντικό ρόλο στην σταθεροποίηση των ογκοπρωτεϊνών, προάγοντας με αυτόν τον τρόπο την καρκινογένεση.

Επομένως γίνεται φανερό ότι η σωστή ρύθμιση της έκφρασης των Hsp είναι σημαντικός καθοριστής της προτεόστασης, καθώς η αποδιοργάνωση της ρύθμισης των Hsp μπορεί να οδηγήσει στην καρκινογένεση ενώ ο έλεγχος της έκφρασης των HSP είναι απαραίτητος για την αποτροπή τους από το να προάγουν την καρκινογένεση [15] . Σε διάφορα είδη καρκίνων έχει φανεί ότι η υπερέκφραση των Hsp σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση [12-19].

Σε αυτήν την ανασκόπηση, συνοψίζουμε την πρόσφατη πρόοδο στην έρευνα HSP ως διαγνωστικούς και προγνωστικούς βιοδείκτες καρκίνου, συζητάμε τον ρόλο των HSP στο μεταβολισμό του καρκίνου και εισάγουμε διαφορετικές στρατηγικές στόχευσης HSP για τη θεραπεία του καρκίνου, όπως ανοσοθεραπεία και αναστολείς HSP, για να προκαλέσουμε ιδέες για περαιτέρω θεραπεία του καρκίνου και έρευνα και ανάπτυξη φαρμάκων.

Στην παρούσα εργασία συνοψίζεται ο ρόλος των πρωτεϊνών θερμικού σοκ στους παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς του καρκίνου, στον ρόλο τους σαν πιθανούς βιοδείκτες για τον καρκίνο, αλλά και ο ρόλος τους στην θεραπεία του καρκίνου και στην εξατομικευμένη θεραπεία.

2 . Ο ρόλος των Hsp ως καρκινικοί βιοδείκτες

Η προσπάθεια μεμονωμένης μελέτης διάφορων μορίων ως πιθανούς βιοδείκτες για τον καρκίνο παρουσιάζει αρκετά προβλήματα, καθώς δεν επιτρέπεται η ταυτόχρονη μελέτη πολλαπλών δεικτών κυρίως λόγω χρονικού και οικονομικού περιορισμού. Η εφαρμογή ογκοπρωτεομικών τεχνικών που επιτρέπει την ταυτόχρονη μελέτη πολλών μορίων οδήγησε στην ανακάλυψη νέων βιοδεικτών για τον καρκίνο [17-20] . Από πολλές πρωτεομικές μελέτες διαπιστώθηκε ο ρόλος των Hsp ως πιθανούς καρκινικούς βιοδείκτες [19-23]. Συγκεκριμένα ο HSF και τα επίπεδα HSPs είναι βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση όγκων, την πρόγνωση, την μετεγχειρητική επιτήρηση, την προοπτική πρόβλεψη της ανταπόκρισης [21-2] . Σε αυτήν την ενότητα, γίνεται περιγραφή του ρόλου των HSP27, HSP 60, HSP 70, HSP 90, και του HSF-1 στη διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου.

2.1 . HSF-1

Το HSF-1 είναι ο σημαντικότερος ρυθμιστής της απόκρισης HSR , δηλαδή της ικανότητας των κυττάρων να ανταποκρίνεται στο πρωτεοτοξικό στρες και επιτρέπει την έγκαιρη έκφραση των HSP που ενισχύουν τη βιωσιμότητα των κυττάρων προάγοντας την πρωτεόσταση [21-23] . Επιπλέον, συμβάλει σε καθοριστικές δυνατότητες των κυττάρων όπως η μετανάστευση, η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, και η αγγειογένεση [22-25] . Ο έλεγχος αυτών των λειτουργιών από τα καρκινικά κύτταρα με την μεσολάβηση του HSF-1 φαίνεται να είναι σημαντικός ρυθμιστής της αγγειογένεσης για αυτό HSF-1 αποτελεί έναν πιθανό βιοδείκτη για πολλαπλούς τύπους καρκίνου [26] . Οι Hoang et al. ήταν η πρώτη ομάδα που ανακάλυψε ότι ο HSF-1 υπερεκφραζόταν στον ανθρώπινο καρκίνο του προστάτη. Έδειξαν μια ανοδική ρύθμιση του HSF-1 στα καρκινικά κύτταρα αλλά όχι σε κύτταρα που δεν είχαν νεοπλασματική εξαλλαγή [20] . Για παράδειγμα, σε μια μελέτη για τον καρκίνο του μαστού φάνηκε η σχέση του HSF-1 με την επιβίωση ασθενών με καρκίνο του μαστού. Επιπλέον τα επίπεδα HSF στα διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα φάνηκαν επίσης να παίζουν σημαντικό ρόλο. [28] . Με παρόμοιο τρόπο μια άλλη μελέτη έδειξε ότι υπάρχει θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων έκφρασης HSF-1 και της φτωχής συνολικής σε όλους τους ασθενείς με καρκίνο του μαστού [29] .

Επίσης ο HSF-1 χρησιμεύει επίσης ως προγνωστικός βιοδείκτης σε άλλους τύπους καρκίνου. Για παράδειγμα, παρατηρήθηκε μια σχέση μεταξύ της υπερέκφρασης του HSF-1 και της εξέλιξης του καρκίνου του ενδομητρίου. Αποδείχθηκε ότι η μεταγραφική ενεργοποίηση του HSF-1 στον καρκίνο του ενδομητρίου σχετιζόταν προφανώς με κακή επιβίωση και πιθανότητα

υποτροπής [30] . Οι Chen et al. αποκάλυψαν ότι ο HSF-1 υπερεκφράζεται στο ηπάτωμα και ότι αυτό συνδέεται με τη συνολική επιβίωση [31]. Επιπλέον, η υψηλή έκφραση του HSF-1 συσχετίστηκε επίσης με φτωχή επιβίωση και επιβίωση χωρίς νόσο σε ασθενείς με καρκίνο στόματος και οισοφλαγού, Όσον αφορά το επίπεδο ρύθμισης του HSF-1 σε επίπεδο φωσφορυλίωσης βρέθηκε ότι η φωσφορυλιωμένη μορφή του HSF σχετίζεται με μειωμένη επιβίωση σε ασθενείς με γυναικολογικούς καρκίνους [34] .

2.2 . HSP27

Η πρωτεΐνη θερμικού σοκ 27 (HSP27) είναι το πιο μελετημένο μέλος της μικρής οικογένειας HSP και παίζει κρίσιμους ρόλους σε διάφορα μονοπάτια σηματοδότησης που σχετίζονται με την καρκινογένεση και με τα hallmark του καρκίνου[45] . Η ρύθμιση της λειτουργίας της HSP βασίζεται σε μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις όπως η φωσφορυλίωση [29-38] . Το HSP 27 έχει φανεί ότι μπορεί να λειτουργήσει ως ένας σημαντικός βιοδείκτης για ρις διάφορες εκβάσεις του καρκίνου [27-40]. Η αυξημένη έκφραση HSP27 σχετίζεται με αυξημένο μεταστατικό δυναμικό και μειωμένη πρόγνωση ασθενών με διάφορα είδη καρκίνων. Επιπλέον, ορισμένοι πολυμορφισμοί του HSP 27 έχουν φανεί ότι μπορούν να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για την ευαισθησία σε διάφορα χημικοθεραπευτικά σκευάσματα [40] .

Σημειωτέον, το επίπεδο έκφρασης του HSP27 είναι ένας προγνωστικός παράγοντας για διάφορα είδη καρκίνων όπως αυτών του ΓΕΣ, των ενδοκρινών αδένων, και γενικά επιθηλιακών καρκινωμάτων. Επιπλέον, δεδομένου ότι τα πρότυπα φωσφορυλίωσης HSP27 στα καρκινικά κύτταρα είναι διαφορετικά

από αυτά στα μη μετασχηματισμένα κύτταρα, η πολλαπλότητα των μορφών φωσφορυλίωσης HSP27 έχει θεωρηθεί ως ένας άλλος αποτελεσματικός βιοδείκτης όγκου [40-46] . Το φωσφορυλιωμένο HSP27 (p-HSP27) χρησιμοποιήθηκε ως βιοδείκτης που μπορεί να προβλέψει την επίδραση της αυτοφαγίας και συγκεκριμένα έχει διαπιστωθεί ότι όταν αναστέλλεται η αυτοφαγία, το αυξημένο επίπεδο του p-HSP27 συσχετίζεται με χημειοευαισθησία.. Συνεπώς, το p-HSP27 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για να προβλέψει εάν η συνδυαστική θεραπεία με ρυθμιστές αυτοφαγίας, αυξάνει την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων σε συγκεκριμένα χημειοθεραπευτικά φάρμακα [45-48].

Επιπλέον, ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις των HSP27 και p-HSP27 σε ασθενείς με χειρουργηθέν ηπάτωμα προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της έκφρασης HSP27 και p-HSP27 στα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά και την πρόγνωση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στην ομάδα που ήταν θετική σε p-HSP27, η διάμετρος του όγκου ήταν μεγαλύτερη και ο ρυθμός εισβολής στην πυλαία φλέβα ήταν υψηλότερος, ενώ η έκφραση της HSP27 δεν συσχετίστηκε με τα κλινικοπαθολογικά χαρακτηριστικά ή την πρόγνωση [48-53]. Με βάση τα προαναφερθέντα ευρήματα, τόσο το HSP27 όσο και το p-HSP27 μπορεί δυνητικά να θεωρηθούν στόχοι για τη θεραπεία του καρκίνου [45]

2.3 . HSP60

Το HSP60, μέλος της δομικά συγγενούς οικογένειας chaperonin , βρίσκεται κυρίως στα μιτοχόνδρια των ευκαρυωτών και παίζει ουσιαστικό ρόλο στην εισαγωγή μιτοχονδριακών πρωτεϊνών και στα μηχανήματα ελέγχου ποιότητας . Ταυτόχρονα, έχει αναφερθεί ότι το HSP60 ενισχύεται στο κυτταρόπλασμα των καρκινικών κυττάρων και έχει αναφερθεί η σημασία του στην παθογένεση των τύπων ανθρώπινου καρκίνου [16]. Έχει βρεθεί ότι το HSP60 δεσμεύεται και αναστέλλει την κλαστερίνη , η οποία είναι μια κυτταρική πρωτεΐνη που μπορεί να ενισχύσει την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων [17] . Έχει βρεθεί ότι η αυξημένη έκφραση του HSP60 στον καρκίνο των ωοθηκών θα μπορούσε να ενισχύσει την εξέλιξη του όγκου ενεργοποιώντας το μονοπάτι σηματοδότησης mTOR [28] . Σε άλλη έρευνα αναφέρεται ότι το HSP60 θα μπορούσε να ρυθμίσει προς τα πάνω την παραγωγή και την απελευθέρωση της IL-8 και του TGF- β στα καρκινικά κύτταρα, μειώνοντας έτσι τη δραστηριότητα της κασπάσης και αναστέλλοντας την απόπτωση των κυττάρων [19] .

Η HSP60 υπερεκφράζεται σε πολλούς όγκους και μπορεί να αποτελέσει δυνητικά βιοδείκτη[10] . Για παράδειγμα, μελέτες έδειξαν ότι τα αυξημένα επίπεδα του HSP60 είναι δείκτης κακής πρόγνωσης στο σωληναριακό αδένωμα [21] . Επιπλέον, σε τοπικά προχωρημένους ασθενείς με καρκίνο προστάτη, η αυξημένη έκφραση του HSP60 συσχετίστηκε σημαντικά με την πρώιμη έναρξη των ορμονοανθεκτικών ασθενειών και τη μειωμένη επιβίωση [20] . Επιπλέον έχει φανεί η συσχέτιση μεταξύ της υπερέκφρασης της HSP60 και των δυσμενών μακροπρόθεσμων εκβάσεων στον καρκίνο της κύστεως . Ωστόσο, η χρήση της έκφρασης HSP60 ως προγνωστικού βιοδείκτη σε αρκετές

έρευνες για τον καρκίνο έχει οδηγήσει σε αντίθετα συμπεράσματα. Σε πρόσφατη μελέτη του καρκινώματος των νεφρικών κυττάρων διαπιστώθηκε ότι η υψηλότερη έκφραση HSP60 γενικά συσχετίστηκε με καλύτερη συνολική επιβίωση [9-14] . Ομοίως, μελέτες στο αδενοκαρκίνωμα του πνεύμονα έδειξαν επίσης ότι ένα αυξημένο επίπεδο έκφρασης HSP60 προφανώς συσχετίστηκε με καλύτερη πρόγνωση [12-15] . Επομένως, η σχέση μεταξύ της έκφρασης του HSP60 με την πρόγνωση του όγκου και την κλινική έκβαση εξακολουθεί να είναι αμφιλεγόμενη.

Το Hsp60 φαίνεται να έχει και συναρτήσεις προεπιβίωσης και προθανάτου [20] . Ένας σημαντικός λόγος είναι ότι το HSP60 μπορεί να αλληλεπιδράσει με ορισμένες από τις βασικές πρωτεΐνες που σχετίζονται με την απόπτωση για να αναστέλλει ή να προάγει τον κυτταρικό θάνατο μέσω πολλαπλών μηχανισμών [14] . Από τη μία πλευρά, το HSP60 μπορεί να προκαλέσει την ωρίμανση της προκασπάσης-3 και, ως εκ τούτου, να προάγει την απόπτωση μέσω της ανεξάρτητης από το Fas οδού [25] . Από την άλλη πλευρά, το Hsp60 μπορεί να διεγείρει αντι-αποπτωτικούς μηχανισμούς που περιλαμβάνουν δέσμευση συμπλοκών που περιέχουν Bax, survivin και p53, ευνοώντας έτσι την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων [16]. Έτσι, ο διπλός υπέρ και αντι-αποπτωτικός ρόλος του Hsp60 οδήγησε τους ερευνητές να διερευνήσουν περαιτέρω τους εμπλεκόμενους βαθύτερους μοριακούς μηχανισμούς. Μέχρι τώρα, οι υποκείμενοι μηχανισμοί του HSP60 σε διαφορετικούς καρκίνους δεν έχουν γίνει πλήρως κατανοητοί. Ούτως ή άλλως, το HSP60 σχετίζεται στενά με την κλινική πρόγνωση και έκβαση σε καρκίνους, που μπορεί να θεωρηθεί ως ένας πιθανός βιοδείκτης στην κλινική.

2.4 . HSP70

Υπάρχουν 13 μέλη στην οικογένεια HSP 70 που κωδικοποιούνται από γονίδια HSPA και είναι κρίσιμα για την αναδίπλωση πρωτεϊνών , την ομοιοστάση των πρωτεϊνών και την προώθηση της κυτταρικής επιβίωσης [25] . Μεταξύ αυτών, πέντε μέλη έχουν αναφερθεί ότι σχετίζονται ισχυρά με τον καρκίνο, συμπεριλαμβανομένων των επαγόμενων από στρες HSP72, HSP70B, HSPA9 και GRP78 (HSPA5) [39]. Όταν η HSP70 απελευθερώνεται στο εξωκυτταρικό περιβάλλον, υπήρχε σε τρεις μορφές, ελεύθερα διαλυτή, συμπλεγμένη με καρκινικά αντιγονικά πεπτίδια και μορφές εξωσώματος . Ως εκ τούτου, το HSP70 έχει λάβει μεγάλη προσοχή στη θεραπεία του καρκίνου [20] .

Στα καρκινικά κύτταρα, το HSP70 επάγει μιτωτικά σήματα, καταστέλλει την απόπτωση και τη γήρανση που προκαλείται από το ογκογονίδιο [31] . Επιπλέον, δεδομένου ότι η HSP70 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε κύτταρα ή ιστούς από μια ποικιλία όγκων και εμπλέκεται στην εξέλιξη του καρκίνου, η υπερέκφραση της HSP70 μπορεί να είναι ένας πιθανός προγνωστικός παράγοντας της διάγνωσης του καρκίνου και της ανταπόκρισης στη θεραπεία [12] . Στη μελέτη του Abe, ανέφεραν ότι παρόλο που τα επίπεδα του HSP70 στο πλάσμα δεν ήταν ανώτερα από το ειδικό προστατικό αντιγόνο (PSA) ως βιοδείκτη για τη διάγνωση του καρκίνου του προστάτη, το HSP70 σε συνδυασμό με το PSA μπορεί να είναι χρήσιμο για την αναγνώριση ασθενών με καρκίνο του προστάτη σε πρώιμο στάδιο. που μπορεί να λείπει μόνο από τον έλεγχο PSA [13] . Σε μια άλλη μελέτη βρέθηκε ότι τα επίπεδα πλάσματος της κυκλοφορούσας HSP70 από ασθενείς με καρκίνο του πνεύμονα ήταν σημαντικά διαφορετική σε σχέση με τα κοντρολ. Με αυτόν τον τρόπο φαίνεται

ο προγνωστικός ρόλο της κυκλοφορούσας HSP70 στη διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα.

Επιπλέον, η αυξημένη έκφραση του HSP70 επηρεάζει την εξέλιξη της νόσου και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων καθώς και την πρόγνωση σε μια ευρεία ποικιλία καρκίνων, όπως το καρκίνωμα του μαστού, ο καρκίνος των ωοθηκών, ο καρκίνος του παχέος εντέρου, το καρκίνωμα του παγκρέατος και το γλοιοβλάστωμα [16]. Για παράδειγμα, μια μελέτη έδειξε ότι η έκφραση του HSP72 (HSPA1) και της γλυκοπρωτεΐνης 96 (gp96) συσχετίστηκε σημαντικά με την εισβολή όγκου και τους λεμφαδένες και την απομακρυσμένη μετάσταση καρκινωμάτων πλακωδών κυττάρων του οισοφάγου [29]. Επιπλέον, η μορταλίνη (HSPA9) έχει αναφερθεί ότι δεσμεύεται στο p53, το εμποδίζει να εισέλθει στον πυρήνα και διαταράσσει την κανονική λειτουργία του. Σε γαστρικό καρκίνο με φυσιολογική έκφραση της p53, η μορταλίνη μπορεί να καταστρέψει τη φυσιολογική αντικαρκινική λειτουργία της p53 και να ωφελήσει τα καρκινικά κύτταρα. Επομένως, ερευνητές έδειξαν ότι η έκφραση της μορταλίνης ήταν ένας πιθανός προγνωστικός βιοδείκτης για τον καρκίνο του στομάχου, ιδιαίτερα σε όγκους με φυσιολογική λειτουργία p53 [20]. Ομοίως, μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η μορταλίνη ήταν αυξημένη ρύθμιση στον καρκίνο του μαστού και ότι μπορεί να είναι όχι μόνο ένας χρήσιμος βιοδείκτης κακής πρόγνωσης αλλά και ένας λανθάνοντας στόχος της θεραπείας του καρκίνου του μαστού [11]. Επιπλέον, η έκφραση HSP70B βρέθηκε ότι συσχετίζεται με την πιθανότητα εμφάνισης ηπατώματος σε ασθενείς με ηπατίτιδα Β [12].

2.5 . HSP90

Κωδικοποιημένη από πολλαπλά γονίδια συμπεριλαμβανομένων των HSPC1 και HSPC, η οικογένεια HSP90 είναι η πιο καλά μελετημένη οικογένεια HSP που αποτελείται από πέντε μέλη, συμπεριλαμβανομένων των ισομορφών του κυτοσολικού HSP90α, HSP90β, HSP90N, του ενδοπλασματικού δικτύου (ER) και της πρωτεΐνης 94 που ρυθμίζεται από τη γλυκόζη (GRP) πρωτεΐνη 1 που σχετίζεται με τον υποδοχέα της μιτοχονδριακής πρωτεΐνης με παράγοντα νέκρωσης όγκου (TRAP1) [2-11] . Το HSP90 διαδραματίζει επίσης βασικούς ρόλους στην σταθεροποίηση, την ενεργοποίηση, τη λειτουργία, τη συσσώρευση και την πρωτεολυτική αποικοδόμηση των ογκοπρωτεϊνών πελατών σε μια ποικιλία καρκίνων [11-13]. Η HSP90 γενικά υπερεκφράζεται στον καρκίνο. εμπλέκεται στην ανάπτυξη του καρκίνου ρυθμίζοντας την ανάπτυξη του όγκου, την προσκόλληση, την εισβολή, τη μετάσταση, την αγγειογένεση και την απόπτωση [1-3] . Επιπλέον, αποδείχθηκε ότι η έκφραση του HSP90 θα μπορούσε να ενεργοποιήσει τα HIF-1α και NF-κΒ και από κοινού να προάγει την EMT καρκινικών κυττάρων , την εισβολή και τη μετανάστευση, η οποία οδηγεί σε μετάσταση όγκου [22-27] . Επιπλέον, το HSP90 ενίσχυσε επίσης τη μεταγραφή και την έκφραση του υποδοχέα αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGFR), ο οποίος είναι ένας κύριος υποδοχέας που εμπλέκεται στην αγγειογένεση. Έτσι, η υπερέκφραση του HSP90 θα μπορούσε να ενισχύσει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων , τη μετανάστευση, την εισβολή και την αγγειογένεση in vitro και in vivo [25].

Το επίπεδο έκφρασης του HSP90 έχει επίσης αναφερθεί ότι είναι ένας πιθανός βιοδείκτης κακής πρόγνωσης στον καρκίνο του πνεύμονα, στο καρκίνωμα του

οισοφάγου, στους καρκίνους της ουροδόχου κύστης, στο μελάνωμα και στη λευχαιμία [38] . Επιπλέον, ερευνητές διαπίστωσαν ότι οι υποτύποι της οικογένειας HSP90 υπερεκφράζονται στον καρκίνο του μαστού (BRAC). Η αυξημένη έκφραση των HSP90AA1, HSP90AB1 και HSP90B1 μπορεί να είναι δυσμενείς προγνωστικοί βιοδείκτες του BRAC, ενώ ο TRAP1 μπορεί να είναι ένας ευνοϊκός προγνωστικός βιοδείκτης [30] . Επιπλέον, σε ασθενείς με θυμόμα , το υψηλό HSP90α χρησιμεύει ως δείκτης κακής πρόγνωσης.

Πρόσφατη μελέτη πρότεινε ότι η συγκέντρωση του Hsp90α στον ορό μπορεί να χρησιμεύσει ως βιοδείκτης καρκίνου αναλύοντας διαχρονικά δεδομένα. Συμπέραναν ότι το HSP90α μπορεί όχι μόνο να παίζει ρόλο στη διάγνωση αλλά και να επηρεάζει την πορεία της θεραπείας [21]. Επιπλέον, μια μελέτη βασισμένη στην πρωτεομική έδειξε ότι τα hnRNPM και HSP90α σε ιστούς όγκου μπορεί να προβλέψουν την ειδική για τη νόσο θνησιμότητα σε ασθενείς με δερματικό μελάνωμα κεφαλής και τραχήλου πρώιμου σταδίου [32] . Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι η HSP90 ήταν γενικά υπερεκφρασμένη στον κακοήγη παιδιατρικό καρκίνο του εγκεφάλου και χαρακτηρίστηκε από μια αξιοσημείωτη θετική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της HSP70 και της HSP90 [23] . Όπως υπογραμμίστηκε παραπάνω, το HSP90 θα πρέπει να είναι ένας πολλά υποσχόμενος δείκτης και αντικαρκινικός στόχος λόγω της ικανότητάς του να ρυθμίζει βασικά συμβάντα ανάπτυξης κακοήθους όγκου.

Συλλογικά, ο ενεργοποιημένος HSF-1 και τα υψηλά επίπεδα HSPs (HSP27, HSP60, HSP70 και HSP90) σχετίζονται με τη διάγνωση και την πρόγνωση του καρκίνου, τα οποία συνοψίζονται στον Πίνακα 1 .

Πίνακας 1. . Ο ρόλος των HSP στη διάγνωση και πρόγνωση του καρκίνου. Πηγή: [14]

Όνομα	Τύπος καρκίνου	Αποτέλεσμα
HSF-1	Καρκίνος του προστάτη	Η έκφραση του HSF-1 ρυθμίστηκε προς τα πάνω στα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα του προστάτη και στα περισσότερα δείγματα καρκίνου του προστάτη
	Καρκίνος του μαστού	Το υψηλό επίπεδο έκφρασης του HSF-1, τόσο σε πρωτεΐνες όσο και σε mRNA, συσχετίστηκε ισχυρά με κακή πρόγνωση σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού θετικούς στο ER
	Καρκίνος του ενδομητρίου	Η πυρηνική χρώση του HSF1 και των σχετικών με τον HSF1 υπογραφών σχετίζεται με επιθετική νόσο και φτωχή επιβίωση στον καρκίνο του ενδομητρίου
	HCC	Η αυξημένη έκφραση του HSF-1 συσχετίστηκε με τη συνολική επιβίωση (OS) και την επιβίωση χωρίς υποτροπή
	ESCC	Η υψηλή έκφραση του HSF-1 συσχετίστηκε με κακή πρόγνωση σε δύο ανεξάρτητες ομάδες ασθενών
	OSCC	Η υψηλότερη πυρηνική έκφραση HSF-1 συσχετίστηκε στενά με το μέγεθος του όγκου και τους ιστοπαθολογικούς τύπους
	Καρκίνος ωοθηκών	Οι υψηλότερες εκφράσεις του HSF1 pSer326 συσχετίστηκαν με χειρότερη πρόγνωση
HSP27	Καρκίνος του προστάτη	Η αυξημένη έκφραση HSP27 αύξησε τη μετάσταση και τη μάζα του πρωτοπαθούς όγκου
	Καρκίνος του πνεύμονα	Προέβλεψε την πορεία των ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα που υποβάλλονται σε θεραπεία με χημειοθεραπεία με βάση την πλατίνα.
	Επιθηλιακός καρκίνος των ωοθηκών	Τα κυκλοφορούντα επίπεδα HSP27 ήταν αυξημένα στον επιθηλιακό καρκίνο των ωοθηκών και συσχετίστηκαν με περιτοναϊκές μεταστάσεις
	NSCLC	Υπήρξε θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων της HSP27 στους ιστούς του καρκίνου του πνεύμονα και στον ορό
	Θυμικοί επιθηλιακοί όγκοι	Η ασθενής έκφραση HSP27 στον όγκο συσχετίστηκε με την πιθανότητα υποτροπής
	Καρκίνος του παχέος εντέρου	Η υψηλή έκφραση HSP27 έδειξε συσχέτιση με χειρότερη κλινική έκβαση στον καρκίνο του παχέος εντέρου
	PDAC	Η μείωση της HSP27 συσχετίστηκε με κακή έκβαση για ασθενείς με PDAC
	EAC	Η υπερέκφραση της HSP27 συσχετίστηκε με κακή επιβίωση στην EAC
	Οστεοσάρκωμα	Η αυξημένη p-HSP27 συσχετίστηκε με αυξημένη ευαισθησία στη θεραπεία με αντικαρκινικά φάρμακα όταν αναστέλλεται η αυτοφαγία

	HCC	Η έκφραση του p-HSP27 θα μπορούσε να βοηθήσει στην εξέταση και τον βαθμό HCC που εμφανίζεται στη ρύθμιση του HCV
HSP60	Σωληναριακό (Tubular) αδένωμα	Τα HSP10 και HSP60 θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην έγκαιρη διάγνωση του σωληναριακού αδενώματος και στη διαφοροποίηση από προχωρημένες κακοήθειες βλάβες
	Καρκίνος του προστάτη	Η έκφραση του HSP60 συσχετίστηκε ισχυρά με προγνωστικές κλινικές παραμέτρους στον καρκίνο του προστάτη
	Καρκίνο της ουροδόχου κύστης	Τα επίπεδα έκφρασης της HSP60 συσχετίστηκαν με μακροπρόθεσμη έκβαση μετά τη θεραπεία με BCG
	ccRCC	Μια κακή πρόγνωση σε ασθενείς με ccRCC συσχετίστηκε με χαμηλή έκφραση HSP60
	Αδενοκαρκίνωμα πνεύμονα	Η έκφραση του HSP60 και του σταδίου TNM του όγκου έδειξε προφανή συσχέτιση.
HSP70	Καρκίνος του προστάτη	Το HSP70 μπορεί να χρησιμεύσει ως διαγνωστικό εργαλείο για πρώιμο καρκίνο του προστάτη που δεν ανιχνεύτηκε από το PSA
	Καρκίνος του πνεύμονα	Η μειωμένη κυκλοφορία HSP70 θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στη διάγνωση πρώιμου (στάδιο I και II) καρκίνου του πνεύμονα
	Ακανθοκυτταρικά καρκινώματα οισοφάγου	Η έκφραση HSP72 και gp96 σε καρκινώματα πλακωδών κυττάρων οισοφάγου με μετάσταση ήταν προφανώς υψηλότερη από εκείνα χωρίς μετάσταση
	Γαστρικός καρκίνος	Σε όγκους με φυσιολογική λειτουργία p53, οι θετικοί στη μορταλίνη όγκοι είχαν χειρότερη πρόγνωση από τους αρνητικούς στη μορταλίνη όγκους
	Καρκίνος του μαστού	Σε σύγκριση με τις καλοήθειες περιπτώσεις, η HSP70 υπερεκφράζεται τόσο σε μεταστατικό όσο και σε μη μεταστατικό καρκίνο του μαστού. Η υπερέκφραση της μορταλίνης συσχετίστηκε στενά με χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης χωρίς νόσο (DFS) και OS σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού
	HCC	Η έκφραση HSPA6 συσχετίστηκε με πρώιμη υποτροπή και κακή πρόγνωση σε ασθενείς με HCC πρώιμου σταδίου που σχετίζονται με τον HBV
HSP90	CML	Τα επίπεδα HSP90 έδειξαν καλή συσχέτιση με την κατάσταση της νόσου
	NSCLC	Η υψηλή έκφραση των HSP90AA1, HSP90AB1, HSP90B1 και TRAP1 συσχετίστηκε με φτωχότερα αποτελέσματα OS σε ασθενείς με MMKP

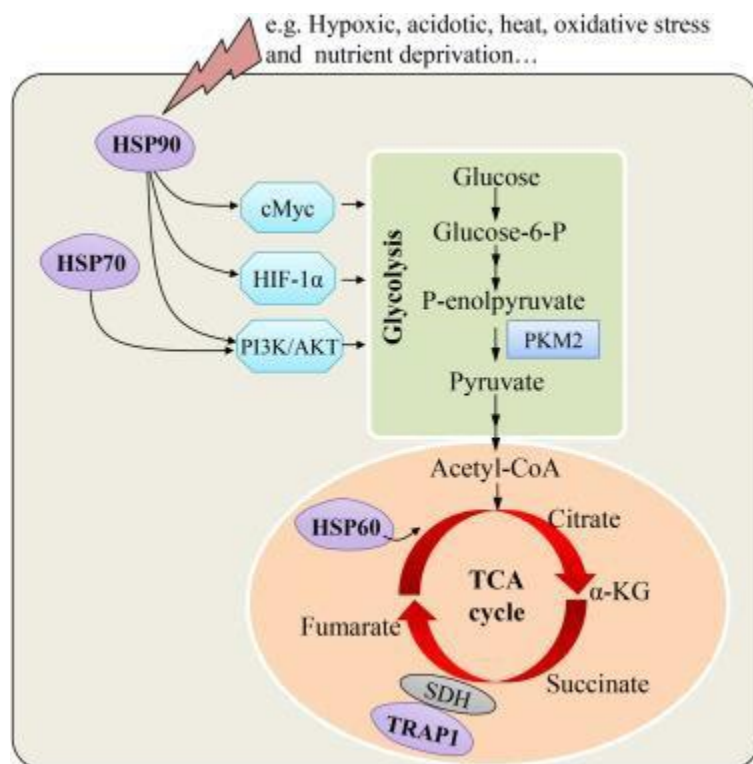
Καρκίνος του μαστού	Η αυξημένη έκφραση των HSP90AA1, HSP90AB1 και HSP90B1 μπορεί να είναι δυσμενείς προγνωστικοί βιοδείκτες του BRAC
Μελάνωμα	Τα hnRNP M και HSP90 ιστού όγκου θα μπορούσαν να προβλέψουν τη θνησιμότητα σε πρώιμους ασθενείς με μελάνωμα κεφαλής και τραχήλου
Καρκίνος του εγκεφάλου	Η HSP90 υπερεκφράστηκε σημαντικά στον κακοήγη παιδιατρικό καρκίνο του εγκεφάλου

Συντμήσεις: HCC, ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα; OS, συνολική επιβίωση. ESCC, καρκίνωμα οισοφάγου; OSCC, ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του στόματος; ccRCC, διαυγές νεφρικό καρκίνωμα. CML, χρόνια μυελοειδής λευχαιμία ; NSCLC, μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα. PDAC, αδενοκαρκίνωμα παγκρεατικού πόρου; EAC, αδενοκαρκίνωμα οισοφάγου; HCV, ιός ηπατίτιδας; PSA, ειδικό για τον προστάτη αντιγόνο. TNM, όγκος-κόμβος-μετάσταση; BRAC, καρκίνος του μαστού.

3. Ο ρόλος των HSP στο μεταβολισμό του καρκίνου

Η στόχευση του μεταβολισμού είναι μια αποτελεσματική θεραπεία για τον καρκίνο. Ο μεταβολισμός των καρκινικών κυττάρων διαφέρει σημαντικά από τον μεταβολισμό των φυσιολογικών κυττάρων. Γενικά ο ενεργειακός μεταβολισμός επαναπρογραμματίζεται στα καρκινικά κύτταρα και γενικά στρέφεται προς τον αναερόβιο μεταβολισμό.[5] . Τα ταχέως πολλαπλασιαζόμενα καρκινικά κύτταρα τυπικά υφίστανται μια μεταβολική μετάβαση από την προτιμώμενη οξειδωτική φωσφορυλίωση (OXPHOS) στην αερόβια γλυκόλυση (Warburg Effect), η οποία παρέχει πλεονέκτημα ανάπτυξης και συμβάλλει στην ανάπτυξη καρκίνου [7] . Όλο και περισσότερα στοιχεία δείχνουν ότι τα HSP, ιδιαίτερα τα HSP70 και HSP90, έχουν ζωτικούς ρόλους

στη ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού των καρκινικών κυττάρων [8](Βλέπε Εικ. 2).



Εικόνα 2. Σχηματικό διάγραμμα των HSP που εμπλέκονται στη ρύθμιση των μεταβολικών οδών. Τα HSP μπορούν να αλληλεπιδράσουν με τα μονοπάτια σηματοδότησης HIF1α, cMyc και PI3K/AKT ή/και να ρυθμίσουν τη δραστηριότητα των μεταβολικών ενζύμων (PKM2 και SDH) για τη ρύθμιση των μεταβολικών οδών.

3.1 . HSP90

Πολλές αναφορές έχουν δείξει ότι το HSP90 μπορεί να ελέγξει τη μεταβολική ανασύνδεση στα καρκινικά κύτταρα για την ογκογένεση [99] . Για παράδειγμα, ο μεταγραφικός παράγοντας c-Myc παίζει κρίσιμο ρόλο στη ρύθμιση του γλυκολυτικού μεταβολισμού στα καρκινικά κύτταρα και το Hsp90 αλληλεπιδρά με το c-Myc για να αποτρέψει την πρωτεολυτική αποδόμηση και να προωθήσει

την εξέλιξη του όγκου [10] . Επιπλέον, η Hsp90 έχει αποδειχθεί ότι αλληλεπιδρά με τον επαγόμενο από την υποξία παράγοντα 1-άλφα (HIF-1α) και συμμετέχει στον έλεγχο του μεταβολικού επαναπρογραμματισμού [11] . Επιπλέον, η αλληλεπίδραση μεταξύ HSP90 και AKT συμβάλλει στη λειτουργική σταθεροποίηση της σηματοδότησης PI3K/AKT που είναι ζωτικής σημασίας για την επιβίωση που εξαρτάται από τη γλυκόλυση [8] .

Το TRAP1 , μέλος της οικογένειας HSP90, μπορεί να αναστείλει την ενεργοποίηση της ευαίσθητης σε θρεπτικά συστατικά AMPK, και να προάγει τη μετάσταση στα καρκινικά κύτταρα περιορίζοντας την ικανότητα της AMPK να προκαλεί αυτοφαγία [12] . Μελέτες έχουν δείξει ότι το TRAP1 αλληλεπιδρά με την ηλεκτρική αφυδρογονάση (SDH) και εμπλέκεται στη διατήρηση της λειτουργία του κύκλου του krebs [13] . Η δυναμική ρύθμιση της έκφρασης της πρωτεΐνης TRAP1 ή η δραστηριότητά της και το συντονισμένο δίκτυο σημάτων της μπορεί να αντικατοπτρίζουν τη διακύμανση της ζήτησης ενέργειας των καρκινικών κυττάρων, η οποία οδηγεί σε αλλαγές στον πολλαπλασιασμό, τη διάχυση, την απορρόφηση θρεπτικών ουσιών και ανταπόκριση στο στρες και τα αντικαρκινικά φάρμακα [4] .

3.2 . HSP70 και HSP60

Η υπερέκφραση της Hsp70 οδηγεί σε αλλαγή στον ενεργειακό μεταβολισμό μέσω αυξημένου γλυκολυτικού μεταβολισμού [15] . Επιπλέον, η HSP70 ρυθμίζει την σηματοδότηση AKT για την αύξηση του γλυκολυτικού μεταβολισμού στο ήπαρ γεγονός που υποδηλώνει ότι το HSP70 παίζει κρίσιμο

ρόλο στη ρύθμιση των μεταβολικών κινασών για τη διαμόρφωση του κυτταρικού μεταβολισμού [16] . Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη η προς τα κάτω ρύθμιση του HSP60 επιδείνωσε τους κλασικούς φαινότυπους Warburg στο νεφροκυτταρικό καρκίνωμα. Η σίγαση HSP60 ενεργοποίησε την οδό MEK/ERK/c-Myc για την ενίσχυση του μεταβολισμού που κατευθύνεται από τη γλουταμίνη και άλλαξε τα μιτοχόνδρια από την παραγωγή ATP στη βιοσύνθεση για να προωθήσει την εξέλιξη του όγκου [3] . Συνοπτικά, οι πρωτεΐνες θερμικού σοκ (HSPs) εμπλέκονται στον μεταβολισμό του όγκου, που μπορεί να παρέχουν νέους θεραπευτικούς στόχους και ιδέες για τη θεραπεία του όγκου. Ωστόσο, επειδή τα μεταβολικά μονοπάτια αποτελούνται από πολύπλοκα και εξελιγμένα δίκτυα, θα πρέπει να διεξαχθεί πιο εντατική έρευνα για την περαιτέρω αποκάλυψη των ειδικών λειτουργιών του HSP στις μεταβολικές οδούς.

4. Πρωτεΐνες θερμικού σοκ ως θεραπευτικοί στόχοι στον καρκίνο

Με τα χρόνια, λόγω της βαθύτερης και λεπτομερέστερης κατανόησης του μηχανισμού και της παθογένειας που σχετίζεται με την ανάπτυξη και εξέλιξη του καρκίνου, οι ερευνητές ανακάλυψαν πολλά μόρια στόχους που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη θεραπεία του καρκίνου. Μεταξύ αυτών, καθώς οι HSPs εμπλέκονται στην ανάπτυξη καρκίνου, θεωρούνται δυνητικοί μοριακοί στόχοι για την ανάπτυξη αντικαρκινικής θεραπείας [21]. Επιπλέον, η στόχευση των HSPs έχει αναγνωριστεί ως απαραίτητη στρατηγική ανεξάρτητης ή επικουρικής θεραπείας για την υπέρβαση των περιορισμών των τρεχουσών αντικαρκινικών θεραπειών [1]. Επί του παρόντος, χρησιμοποιούνται δύο προσεγγίσεις για τη στόχευση των HSP για τη θεραπεία του καρκίνου. Το ένα είναι να ρυθμίσει το επίπεδο έκφρασης και τη δραστηριότητα των HSPs και το άλλο είναι να αναπτυχθεί ανοσοθεραπεία με βάση τα HSPs [107], [18]. Στις ενότητες που ακολουθούν, συζητούνται λεπτομερώς οι δύο διαφορετικές προσεγγίσεις της αντικαρκινικής θεραπείας που στοχεύουν τα HSP.

4.1 . Αναστολείς HSP για θεραπεία καρκίνου

Οι αναστολείς HSP είναι μια κατηγορία φαρμάκων που χρησιμοποιούνται για τη ρύθμιση του επιπέδου έκφρασης και της δραστηριότητας των HSP. Τα

τελευταία χρόνια, μια ποικιλία αναστολέων HSP έχει αναπτυχθεί από ερευνητές. Ωστόσο, μέχρι σήμερα, κανένα φάρμακο δεν έχει εγκριθεί κλινικά για τη ρύθμιση του επιπέδου έκφρασης των HSPs και της δραστηριότητάς του σε μοριακό επίπεδο. Όλοι βρίσκονται σε διάφορα στάδια προκλινικών και κλινικών δοκιμών ως νέοι αντικαρκινικοί παράγοντες [18] .

4.1.1 . Αναστολείς HSP90

Δεδομένου ότι η οικογένεια HSP90 διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στη βιολογία του καρκίνου και πολλές πρωτεΐνες-πελάτες εμπλέκονται στην ανάπτυξη και προώθηση του καρκίνου, το HSP90 προτείνεται να είναι ένας πιθανός θεραπευτικός στόχος που μπορεί να αναστείλει την ανάπτυξη και την εξέλιξη του όγκου [8] . Το HSP90 είναι ένας εξαρτώμενος από το ATP μοριακός συνοδός που προκαλεί διαμορφωτικές αλλαγές στην πρωτεΐνη πελάτη του δεσμεύοντας σε άλλους συνοδηγούς [19]. Ως αντικαρκινικά φάρμακα, οι αναστολείς HSP90 έδειξαν πολλά πλεονεκτήματα: (I) Οι αναστολείς HSP90 μπορούν ταυτόχρονα να στοχεύουν πολλαπλές οδούς σηματοδότησης, καθώς πολλές πρωτεΐνες σηματοδότησης είναι πρωτεΐνες πελάτη της HSP90. Σε μεγάλο βαθμό, η θεραπεία anti-HSP90 έχει χαμηλότερο ποσοστό επιβίωσης καρκινικών κυττάρων από τη θεραπεία ενός στόχου. (II) Οι αναστολείς HSP90 μπορούν να προκαλέσουν στοχευμένη βλάβη στους ιστούς του όγκου, αλλά είναι λιγότερο τοξικοί για τους φυσιολογικούς ιστούς. (III) Οι αναστολείς HSP90 μπορούν να συνδυαστούν με αναστολείς πρωτεασώματος , γεγονός που οδηγεί στη συσσώρευση αδιάλυτων, ξεδιπλωμένων πρωτεϊνών που είναι

τοξικές για τα κύτταρα όγκου [1] , [10] . Επομένως, η χρήση των αναστολέων HSP90 αντιπροσωπεύει μια εφικτή θεραπευτική στρατηγική για διάφορους τύπους καρκίνου .

Πολλοί αναστολείς HSP90 βρίσκονται υπό προκλινικές και κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία μιας ποικιλίας κακοηθειών. Τα φυσικά προϊόντα συμπεριλαμβανομένης της τζελταναμυκίνης (GA), της ριζικόλης (RD) και των ημισυνθετικών παραγώγων τους θεωρούνται ως οι πιο αποτελεσματικοί αναστολείς HSP90 [11] . Το GA, ένα αντιβιοτικό βενζοκινόνης ανασαμυκίνης φυσικής προέλευσης που απομονώθηκε από το *Streptomyces hygroscopicus* , ήταν ο πρώτος αναστολέας HSP90. Ασκήι μια ισχυρή δράση έναντι πολλαπλών τύπων καρκινικών κυττάρων ανταγωνιζόμενος με το ATP για δέσμευση στον N-τερματικό τομέα του HSP90 [12]. Αν και έχει αναφερθεί ότι προκαλεί ισχυρές κυτταροτοξικές επιδράσεις *in vivo* και *in vitro*, η κλινική δοκιμή φάσης I ανεστάλη λόγω της δομικής του αστάθειας και της ηπατοτοξικότητας [13] . Για να ξεπεραστούν αυτά τα προβλήματα, έχουν αναπτυχθεί και συντεθεί η 17-αλλυλαμινο-17-δεμεθοξυ γελδαναμυκίνη (17-AAG) και η 17-διμεθυλαμινοαιθυλαμινο-17-δεμεθοξυγελδαναμυκίνη (17-DMAG) [14], [15] . Η μονοθεραπεία 17-AAG δεν έδειξε σημαντική κλινική αποτελεσματικότητα σε μελέτες φάσης I και II, εκτός από έναν μικρό αριθμό ασθενών [16] . Για παράδειγμα, μελετητές πραγματοποίησαν μια δοκιμή φάσης II με ασθενείς που είχαν διαγνωστεί με μεταστατικό μελάνωμα. Το 17-AAG χορηγήθηκε εβδομαδιαία. Δεν σημειώθηκε σημαντική αποτελεσματικότητα [17] . Επιπλέον, σε μια δοκιμή φάσης II ασθενών με καρκίνο του μαστού που έλαβαν θεραπεία με 17-AAG, μόνο τρεις ασθενείς είχαν σταθερή νόσο. Πέντε ασθενείς παρουσίασαν προχωρημένες ηπατικές και πνευμονικές τοξικότητες και η

δοκιμή στη συνέχεια διακόπηκε [18] . Πιο πρόσφατα, πραγματοποιήθηκαν κλινικές δοκιμές φάσης III του 17-AAG σε ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα . Οι δοκιμές έχουν ολοκληρωθεί αλλά τα αποτελέσματα δεν είναι ακόμη διαθέσιμα. Παρόλο που το 17-AAG υποβάλλεται τώρα σε κλινικές δοκιμές φάσης I–III, η πιθανή ηπατική τοξικότητα και ο σύντομος βιολογικός χρόνος ημιζωής του έχουν περιορίσει την κλινική του χρήση. Το 17-DMAG είναι πιο αποτελεσματικό κλινικό φάρμακο από το 17-AAG και ήταν σε διάφορες κλινικές δοκιμές φάσης I για ΧΛΛ , ΜΜΚΠ, λεμφώματα, καρκίνος του μαστού και καρκίνος του προστάτη [8]. Ο ρόλος του 17-DMAG στη θεραπεία του καρκίνου αυτή τη στιγμή βρίσκεται σε εξέλιξη. Συνολικά, τόσο το 17-AAG όσο και το 17-DMAG πρέπει να αξιολογηθούν σε περισσότερες κλινικές δοκιμές.

Ένας άλλος σημαντικός φυσικός αναστολέας του HSP90, το RD, ένα μακροκυκλικό αντιβιοτικό που απομονώθηκε από το *Monosporium bonorden* , θα μπορούσε να επιτεθεί στον πυρήνα θύλακα δέσμευσης ATP του HSP90, ο οποίος έδειξε ισχυρή αντικαρκινική απόδοση *in vitro*, αλλά επιβεβαιώθηκε ότι είναι αναποτελεσματικός *in vivo* λόγω της δομικής αστάθειας . [21] . Αργότερα, παράγωγα δεύτερης γενιάς του RD αναπτύχθηκαν ως πιο ισχυροί αναστολείς HSP90. Για παράδειγμα, ένα νέο ρεσορκινυλικό ισοξαζολαμίδιο γνωστό ως NVP-AUY922 θα μπορούσε να μειώσει τη βιωσιμότητα των καρκινικών κυττάρων καταστέλλοντας την έκφραση των πρωτεϊνών επιβίωσης που προέρχονται από όγκους, οι οποίες λειτουργικά παρεμποδίζουν την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης και την κυτταρική απόπτωση [22] . Επιπλέον, έχει επίσης αποδειχθεί ότι το NVP-AUY922 θα μπορούσε να αναστείλει την κυτταρική ανάπτυξη σε HER2-θετικά και ανθεκτικά στην τραστουζουμάμπη κύτταρα καρκίνου του μαστού [23] . Ως εκ τούτου, το NVP-AUY922 έχει

μεταφραστεί από την προκλινική επιτυχία σε αρκετές κλινικές μελέτες όπως σε καρκίνο του μαστού, καρκίνο του παχέος εντέρου και προχωρημένο γαστρικό καρκίνο [24] . Μια άλλη ένωση δεύτερης γενιάς, το ganetespib , ο πιο πολλά υποσχόμενος αναστολέας της συνθετικής ρεσορκινόλης HSP90 έχει καλά αντικαρκινικά αποτελέσματα και προφίλ ασφάλειας. Το Ganetespib καταστέλλει αποτελεσματικά την εξέλιξη του καρκίνου προάγοντας την απόπτωση που προκαλείται από την κασπάση-3 και επάγοντας G2/MΔιακοπή του κυτταρικού κύκλου αναστέλλοντας τις οδούς RAS/RAF/ERK και PI3K/AKT/mTOR [25] .

Χρησιμοποιήθηκε για τη θεραπεία του επιρρεπούς σε μεταστάσεις, του καρκίνου των ωοθηκών , του καρκινώματος του μαστού και του ΜΜΚΠ και επί του παρόντος βρίσκεται υπό κλινικές δοκιμές [126] , [127] , [128] . Σε μελέτες φάσης I και II, το ganetespib έδειξε καλή ανεκτικότητα , με την κόπωση και τη διάρροια ως διαχειρίσιμες παρενέργειες [129] . Επιπλέον, το ganetespib σε συνδυασμό με άλλα φάρμακα θεωρήθηκε επίσης για τη θεραπεία ασθενών με καρκίνο. Ορισμένα συνδυαστικά σχήματα με βάση το ganetespib βρίσκονται επί του παρόντος υπό κλινική αξιολόγηση. Για παράδειγμα, μια δοκιμή φάσης IIb/III του συνδυασμού gatenespib καιΗ docetaxel έχει διεξαχθεί σε ασθενείς με ΜΜΚΠ. Δυστυχώς, η προσθήκη του ganetespib στη docetaxel δεν είχε ως αποτέλεσμα τη βελτίωση της επιβίωσης για τη θεραπεία διάσωσης ασθενών με καρκίνο του πνεύμονα προχωρημένου σταδίου [130] .

Επιπλέον, τα δεδομένα κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ διευκόλυναν τον ορθολογικό σχεδιασμό νέων αναστολέων HSP90 δεύτερης γενιάς. Με τη χρήση αυτών των νέων τεχνολογιών έχουν δημιουργηθεί πολλά ανάλογα πουρίνης και

πουρίνης που μπορούν να αναστείλουν σημαντικά το HSP90. Το PU-H71 είναι ένας αναστολέας HSP90 αυτής της οικογένειας, ο οποίος εμφανίζει αντικαρκινική δράση σε πολλαπλούς καρκίνους [8] . Οι Guo et al. απέδειξε ότι το PU-H71 θα μπορούσε να μειώσει τις κινάσες των υποδοχέων των B-κυττάρων (BCR) και να προκαλέσει χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (CLL) απόπτωση των κυττάρων [11] . Επιπλέον, το PU-H71 αποδείχθηκε ότι έχει ισχυρά και διαρκή ανασταλτικά αποτελέσματα ανάπτυξης σε ξενομοσχεύματα ποντικών τριπλού αρνητικού καρκίνου του μαστού , λεμφώματος, μυελώματος, παγκρέατος και ηπατοκυτταρικού καρκινώματος[13] . Εξαιτίας αυτού, το PU-H71 έχει εισέλθει σε κλινική δοκιμή φάσης I που περιλαμβάνει ασθενείς με λέμφωμα, προχωρημένους συμπαγείς όγκους και μυελοπολλαπλασιαστικές διαταραχές [14] . Επιπλέον, οι Mielczarek-Lewandowska et al. έδειξε ότι το SNX-2112 ήταν ένας αναστολέας HSP90 μη-ρεζορκινολικής πυραζόλης που ανέστειλε αποτελεσματικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του μελανώματος και σταμάτησε τα κύτταρα στη φάση G0/G1 του κυτταρικού κύκλου. Οι πρωτεΐνες πελάτη HSP90, όπως AKT, IKKα, BRAF και GSK-3β, είναι ζωτικής σημασίας για τη συντήρηση των κυττάρων μελανώματος και το SNX-2112 μπορεί να προκαλέσει εξαρτώμενη από το χρόνο αποικοδόμηση αυτών των μορίων [14] . Το Sansalvamide A και τα παράγωγά του θεωρούνται ως πιθανοί αναστολείς HSP90 σε κύτταρα μελανώματος. Προσδένονται στο N-τερματικό θραύσμα της μεσαίας περιοχής του HSP90 και διαταράσσουν αλλοστερικά τις αλληλεπιδράσεις των συν-συνοδηγών τελικής δέσμευσης και των πρωτεϊνών πελάτη. Ανέστειλαν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του μελανώματος με τρόπο που εξαρτάται από τη συγκέντρωση και τον χρόνο [14] . Κλινικές δοκιμές για το SNX-2112 και τη σανσαλβαμίδα A στο μελάνωμα δεν

έχουν διεξαχθεί και η αποτελεσματικότητά τους μένει να αξιολογηθεί περαιτέρω. Συνολικά, αρκετοί αναστολείς HSP90 έχουν μελετηθεί σε προκλινικές και κλινικές δοκιμές και ενδέχεται να αναπτυχθούν ως αντικαρκινικά φάρμακα στο μέλλον.

4.1.2 . Αναστολείς HSF-1

Εκτός από τους αναστολείς HSP90, οι ερευνητές έχουν αναπτύξει και άλλους αναστολείς HSP και αναστολείς HSF-1 τα τελευταία χρόνια. Για παράδειγμα, η ταυτοποιημένη *dorsomorphin* θα μπορούσε να μειώσει τη συστατική και την επαγόμενη από το στρες έκφραση HSP μειώνοντας τη θερμοδιεγερμένη φωσφορυλίωση του HSF-1 Ser320 και την πυρηνική μετατόπιση, καθώς και τα επίπεδα πυρηνικής HSF-1 σε ηρεμία σε κύτταρα όγκου [135] . Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν υπάρχουν στοιχεία που να υποδηλώνουν άμεση αλληλεπίδραση μεταξύ της *dorsomorphin* και του HSF-1. Η ομάδα του Kim ανέφερε ότι η φισετίνη , ένα διατροφικό φλαβονοειδές , καταστέλλει τη δραστηριότητα του HSF-1, προκάλεσε την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου HCT-116 αναστέλλοντας τη σύνδεση του HSF-1 στους προαγωγείς των HSP70 και BAG3 [36]. Ωστόσο, δεν έχουν ξεκινήσει αντικαρκινικές κλινικές δοκιμές φισετίνης λόγω έλλειψης δεδομένων τοξικότητας [37] . Επιπλέον, ως φυσικός αναστολέας HSF-1, η σχιζανδρίνη A (Sch A) συνδέεται με τον HSF-1, μειώνει την έκφραση των γονιδίων-στόχων του HSF-1 που προκαλείται από θερμικό σοκ και αναστέλλει τη βασική ενεργοποίηση της σηματοδότησης HSF1. Αυτό παρενέβη στην ανάπτυξη των κυττάρων CRC προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου

και απόπτωση [38] . Επί του παρόντος, το Sch A εξακολουθεί να υποβάλλεται σε προκλινικές αξιολογήσεις και η επίδρασή του απαιτεί περισσότερη επαλήθευση.

Επιπλέον, άλλοι αναστολείς HSF-1, όπως η κανθαριδίνη (CTD), η βιτεξίνη και η 2,4-δισ(4-υδροξυβενζυλ) φαινόλη, έχουν επίσης αναπτυχθεί τα τελευταία χρόνια. Το CTD είναι μια τερπενοειδής ένωση που απομονώνεται από σκαθάρια με φουσκάλες και χρησιμοποιείται σε παραδοσιακά κινέζικα φάρμακα . Η CTD ανέστειλε τη στρατολόγηση του HSF-1 και του p-TEFb στους προαγωγείς γονιδίων στόχευσης και αναγνωρίστηκε ως αναστολέας του HSF-1 [39] . Οι Monika Bhardwaj et al. ήταν οι πρώτοι που απέδειξαν ότι η βιτεξίνη ανέστειλε τη δραστηριότητα του HSF-1 δεσμεύοντας σε μια περιοχή του HSF-1. Η βιτεξίνη μείωσε αποτελεσματικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων καρκινώματος του παχέος εντέρου , προκάλεσε αυτοφαγία που προκαλείται από την ενεργοποίηση JNK και ApoL1 και οδήγησε σε κυτταρικό θάνατο [139]. Επιπλέον, το I_{HSF} 115, μια συνθετική ένωση, συνδέεται απευθείας με τον τομέα δέσμευσης DNA του HSF-1 (HSF-1-DBD) και αναστέλλει τη μεταγραφική δραστηριότητα του HSF-1. Το I_{HSF} 115 θα μπορούσε να στοχεύσει άμεσα τον HSF-1 και έδειξε κυτταροτοξικότητα έναντι αρκετών ανθρώπινων καρκινικών κυτταρικών σειρών, ιδιαίτερα του πολλαπλού μυελώματος , του καρκίνου του μαστού και του σαρκώματος Ewing [13]. Ωστόσο, κανένα από αυτά τα μόρια δεν έχει εισέλθει μέχρι στιγμής σε κλινικές δοκιμές. Συμπερασματικά, οι επί του παρόντος διαθέσιμοι αναστολείς HSF-1 στερούνται ειδικότητας και επαρκούς προκλινικής δυνατότητας, και ως εκ τούτου δεν έχουν εισέλθει στην κλινική έρευνα.

4.1.3 . Αναστολείς HSP27/60/70

Το HSP27 θεωρείται στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου, όπως έχουν δείξει πολλές μελέτες [45]. Για παράδειγμα, η μελέτη του Zhengyong Liu αποκάλυψε ότι η αναστολή της έκφρασης του HSP27 από το RNA της κοντής φουρκέτας μείωσε την έκφραση του NOTCH1 στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου [14] . Ως εκ τούτου, οι αναστολείς HSP27 έχουν λάβει σημαντική προσοχή τα τελευταία χρόνια. Η Ιβερμεκτίνη (IVM) αναστέλλει τη φωσφορυλίωση του HSP27, εμποδίζοντας έτσι τη ρυθμιζόμενη από το HSP27 σηματοδότηση επιβίωσης και τις αλληλεπιδράσεις πελάτη-ογκοπρωτεΐνης. Αυτό ενισχύει συνεργικά τους υποδοχείς ανδρογόνων (AR) και τους αναστολείς της οδού EGFR για να καθυστερήσει την εμφάνιση αντίστασης στην αναστολή της οδού ογκογονιδίου μέσω μιας νέας προσέγγισης επαναχρησιμοποίησης [35] . Επιπλέον, αναστολείς HSP27, συμπεριλαμβανομένης της κερκετίνης και RP101, έχουν αναφερθεί ότι ενισχύουν τη δράση κατά του όγκου σε διάφορες κυτταρικές σειρές, όπως η λευχαιμία, το γλοιοβλάστωμα και τα καρκινικά κύτταρα του στόματος [40] . Η κερκετίνη έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας ισχυρός χημειοευαισθητοποιητής και συμμετείχε σε κλινικές δοκιμές για τη θεραπεία μη κακοήθων ασθενειών [150] . Ωστόσο, δεν υπάρχουν εν εξελίξει αντικαρκινικές κλινικές δοκιμές που να περιλαμβάνουν αυτόν τον αναστολέα. Παρόμοια με την κερκετίνη, το RP101 δρα επίσης ως χημειοευαισθητοποιητικός παράγοντας για την πρόληψη της ανάπτυξης αντοχής. Πρόσφατα, σε μια δοκιμή φάσης II που αφορούσε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος , το RP101 σε συνδυασμό με γεμισιταβίνη αύξησε την επιβίωση κατά 8,5 μήνες σε σύγκριση με τους

ιστορικούς ελέγχους [19] . Αργότερα, η δοκιμή διακόπηκε λόγω παρενεργειών που προκλήθηκαν από τη γεμισιταβίνη, δεν αναφέρθηκαν παρενέργειες για το RP101 και ένα παράγωγο δεύτερης γενιάς του RP101 βρίσκεται επί του παρόντος υπό ανάπτυξη. Είναι σημαντικό ότι το HSP60 έχει αναφερθεί ότι εμπλέκεται στη μεσολάβηση της αντοχής στα φάρμακα. Έχει αποδειχθεί ότι η αναστολή της έκφρασης του HSP60 σε κύτταρα SW480 ανθεκτικά στο 5-Fu είχε ως αποτέλεσμα την αναστροφή της αντοχής στο φάρμακο [11] . Το Sinularin, μια βιοδραστική ένωση που προέρχεται από το κοράλλι *Sinularia flexibilis* , λειτουργεί ως αναστολέας HSP60 και έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζει αντικαρκινική δράση μειώνοντας τα επίπεδα έκφρασης του HSP60 και ρυθμίζοντας προς τα πάνω την προαποπτωτική κασπάση σύστημα σε κύτταρα μελανώματος A2058 [12] . Το Sinularin βρίσκεται ακόμα στα αρχικά στάδια ανάπτυξης και δεν έχει ακόμη εισέλθει σε κλινικές δοκιμές.

Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει σημειωθεί μεγάλη πρόοδος στην ανάπτυξη αναστολέων HSP70. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η μιννελίδη, ένα υδατοδιαλυτό προφάρμακο παράγωγο της τριπτολίδης , ανέστειλε την έκφραση του HSP70 στον καρκίνο του παγκρέατος [3] . Μια άλλη μελέτη έδειξε ότι το artesunate θα μπορούσε να αναστείλει τη δραστηριότητα της HSP70 ATPase in vitro ($p < 0,001$). Η μελέτη έδειξε περαιτέρω ότι το artesunate προκάλεσε απόπτωση εξαρτώμενη από κασπάση μέσω της αναστολής της έκφρασης HSP70 σε καρκινικά κύτταρα του μαστού [4]. Επιπλέον, ένας αναστολέας HSP70 γνωστός ως πιφιθρίνη-μ (PES) άσκησε αντικαρκινική δράση μέσω της διακοπής του κυτταρικού κύκλου της φάσης G0/G1 και της προώθησης της έκφρασης των υποδοχέων θανάτου 4 και 5 σε διάφορους τύπους καρκίνου όπως το NSCLC [5], ενώ ένας άλλος O αναστολέας HSP70 που ονομάζεται

αποπτοζόλη ενίσχυσε την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων [16] . Οι παραπάνω αναστολείς, συμπεριλαμβανομένης της minnelide, της artesunate, του PES και της αποπτοζόλης, βρίσκονται μόνο στο προκλινικό στάδιο. Ο μόνος αναστολέας HSP70 που έχει εισέλθει σε κλινική δοκιμή είναι το MKT-077, το οποίο είναι ανάλογο της ροδακυανίνης και μπορεί να διαταράξει τον τομέα ATPase του HSP70. Το MKT-077 εντοπίζεται στα μιτοχόνδρια και προκαλεί διακοπή του G1και απόπτωση. Επιπλέον, το MKT-077 επέδειξε ισχυρή κυτταροτοξική αποτελεσματικότητα in vitro και in vivo, γεγονός που το προώθησε σε μια κλινική δοκιμή φάσης I [17] . Ωστόσο, η δοκιμή ανεστάλη λόγω νεφροτοξικών παρενεργειών και χρειάστηκε περαιτέρω διερεύνηση. Το πιο συναρπαστικό είναι ότι ο συνδυασμός δύο ή περισσότερων αναστολέων HSP έχει επίσης αποδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την επίτευξη βελτιωμένων αντικαρκινικών επιδράσεων στη θεραπεία του καρκίνου. Μελετητές διαπίστωσαν ότι η ταυτόχρονη στόχευση των HSP90 και HSP70 θα μπορούσε να προκαλέσει απόπτωση των κυττάρων και να ενισχύσει την αντικαρκινική δράση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων σε προχωρημένο καρκίνο της ουροδόχου κύστης [45] . Ομοίως, ο αναστολέας HSP70 PES ενίσχυσε την επίδραση του 17-AAG (αναστολέας HSP90) [18] . Με βάση τα προαναφερθέντα ευρήματα, καταγράψαμε τους διάφορους αναστολείς

Πίνακας 2. Αναστολείς HSP για θεραπεία καρκίνου. Πηγή [14]

Όνομα	Αναστολείς	Φάση	Ευρήματα
HSF-1	Δορσομορφίνη	—	Προκάλεσε απόπτωση καρκινικών κυττάρων με μείωση της θερμοδιεγερμένης φωσφορυλίωσης του HSF-1 Ser320 και της πυρηνικής μετατόπισης, καθώς και ηρεμίας πυρηνικών επιπέδων

		HSF-1 στα καρκινικά κύτταρα
Φισετίνη	—	Προκάλεσε απόπτωση των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου αναστέλλοντας τη σύνδεση του HSF-1 σε προαγωγείς γονιδίων-στόχων όπως το HSP70 και το BAG3
Σχιζανδρίν Α	—	Προκάλεσε διακοπή του κυτταρικού κύκλου και απόπτωση μέσω δέσμησης στον HSF-1 και ανέστειλε την ανάπτυξη των κυττάρων CRC
Κανθαριδίνη	—	Παρεμβαίνει στην ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων αναστέλλοντας τον HSF-1
Vitexin	—	Συνδέεται σε μια περιοχή του HSF-1 για να καταστέλλει αποτελεσματικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων καρκινώματος του παχέος εντέρου
2,4-δισ(4-υδροξυβενζυλ)φαινόλη	—	Προκάλεσε την αποικοδόμηση του HSF-1, η οποία είχε ως αποτέλεσμα τη διακοπή της ανάπτυξης καρκινικών κυττάρων και την απόπτωση
I _{HSF} 115	—	Παρενέβη στη συναρμολόγηση των συμπλεγμάτων μεταγραφής για την αναστολή της μεταγραφικής δραστηριότητας του HSF-1
HSP27 Κερσετίνη	—	Κατέστειλε τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, προκάλεσε απόπτωση μειώνοντας την αναλογία

		BCL2/BAX και ανέστειλε τη διήθηση όγκου μέσω απενεργοποίησης της οδού Notch/AKT/mTOR και των HIF1α και VEGF
Ιβερμεκτίνη	—	Συνδεδεμένο σε θύλακα φωσφορυλίωσης HSP27, συνεργικά ενισχυμένοι αναστολείς οδού AR και EGFR για να καθυστερήσει την εμφάνιση αντοχής στην αναστολή της οδού ογκογονιδίου
RP101	II	Προώθησε την επιβίωση ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος σε συνδυασμό με γεμισιταβίνη και κατέστειλε την επαγόμενη από το HSP27 αντίσταση στα φάρμακα
HSP60 Αναλύθηκε	—	Ρύθμισε προς τα πάνω το σύστημα προαποπτωτικής κασπάσης μειώνοντας το επίπεδο HSP60 και παρήγαγε αντικαρκινική δράση
HSP70 -	—	Ανέστειλε την έκφραση HSP70 στον καρκίνο του παγκρέατος επάγοντας microRNA miR-142-3p που δεσμεύεται στο 3'UTR και με μείωση του επιπέδου του HSP70 mRNA
Artesunate	—	Προκάλεσε απόπτωση εξαρτώμενη από κασπάση μέσω της αναστολής της έκφρασης HSP70 σε καρκινικά κύτταρα μαστού.
PES	—	Άσκησε αντικαρκινικά αποτελέσματα σε διάφορους τύπους καρκίνου μέσω της διακοπής του κυτταρικού κύκλου φάσης G0/G1 και

		της προώθησης της έκφρασης των υποδοχέων θανάτου 4 και 5
Αποπτοζόλη	—	Ανέστειλε την προστατευτική αυτοφαγία και προώθησε την κυτταρική απόπτωση σε πολλαπλές καρκινικές κυτταρικές σειρές
MKT-077	I	Προκάλεσε διακοπή και απόπτωση G1 και παρουσίασε ισχυρή κυτταροτοξική αποτελεσματικότητα in vitro και in vivo
GA	I	Έδειξε μια ισχυρή δράση κατά των καρκινικών κυττάρων ανταγωνιζόμενος με το ATP για τη δέσμευση στη N-τερματική περιοχή του HSP90
17-AAG	I/ II/ III	Προκάλεσε απόπτωση και διακοπή του κυτταρικού κύκλου σε καρκινικά κύτταρα και ασκούσε δραστηριότητα σε ένα ευρύ φάσμα μοντέλων ξενομοσχευμάτων
17-DMAG	I	Πιο ισχυρό από το 17-AAG και αποδεδειγμένα αντικαρκινικά αποτελέσματα σε μια ποικιλία μοντέλων ξενομοσχευμάτων
RD	—	Η αντικαρκινική του δράση προκλήθηκε από τη δέσμευση στη N-τερματική θέση δέσμευσης ATP/ADP του HSP90 και την αποσταθεροποίηση των πρωτεϊνών πελάτη HSP90
NVP-AUY922	I/ II	Προκάλεσε απόπτωση ρυθμίζοντας προς τα κάτω το επίπεδο της

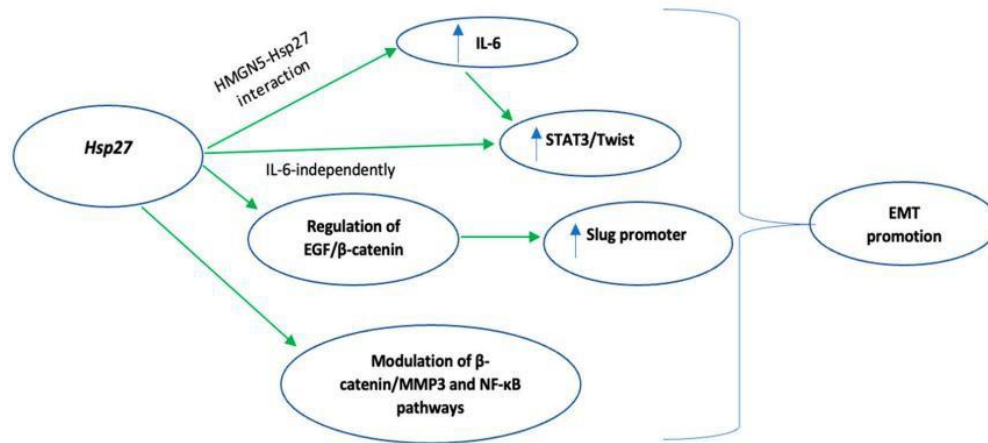
		πρωτεΐνης επιβίωσης στα καρκινικά κύτταρα
Ganetespib	I/ II/ III	Κατέστειλε την εξέλιξη του καρκίνου προκαλώντας διακοπή του κυτταρικού κύκλου G2/M και προάγοντας την απόπτωση που προκαλείται από την κασπάση-3
PU-H71	I	Ανέστειλε το HSP90, αποσταθεροποιημένη BCR κινάση και προκάλεσε απόπτωση καρκινικών κυττάρων μέσω της οδού μιτοχονδριακής απόπτωσης
SNX-2112	—	Ανέστειλε αποτελεσματικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μελανώματος και σταμάτησε τα κύτταρα στη φάση G0/G1 του κυτταρικού κύκλου με δόσοεξαρτώμενο τρόπο
Σανσαλβαμίδα Α	—	Συνδέθηκε στο N-τελικό θραύσμα της μεσαίας περιοχής του HSP90 και ανέστειλε τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μελανώματος.

4.1.3.1. Προώθηση της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT)

Δύο μελέτες διερεύνησαν πώς η Hsp27 διευκόλυνε την επιθηλιακή σε μεσεγχυματική μετάβαση (EMT) σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη in vitro [41,42]. Η EMT παίζει καθοριστικό ρόλο στη διάδοση των καρκινικών κυττάρων σε δευτερεύουσες θέσεις, επιτρέποντας στα κακοήγη επιθηλιακά κύτταρα να

αποκτήσουν μεσεγγυματικά χαρακτηριστικά με καθορισμένη μορφολογία, έκφραση πρωτεΐνης και γονιδιακές υπογραφές. Πολλά διαφορετικά μονοπάτια σηματοδότησης εμπλέκονται σε αυτή την πολύπλοκη διαδικασία, με το TGF- β να είναι το πιο δημοφιλές. Ο TGF- β συνδέεται με τον υποδοχέα TGF- β τύπου II ο οποίος, με τη σειρά του, φωσφορυλιώνει τον υποδοχέα TGF- β τύπου I, προάγοντας τη δράση κινάσης του είτε μέσω εξαρτώμενων από Smad είτε ανεξάρτητων από Smad καταρράκτες σηματοδότησης. Στην πρώτη περίπτωση, το σύμπλεγμα Smad2/3, μετά τη φωσφορυλίωση του, συνδέεται με το Smad4 και το σύμπλοκο στη συνέχεια μετατοπίζεται στον πυρήνα, ενώ στους ανεξάρτητους από το Smad καταρράκτες σηματοδότησης, εμπλέκεται ένας αριθμός κατάντη μοριακών οδών, συμπεριλαμβανομένων των Wnt/ β -Κατενίνη, PI3K/Akt, JNK, ERK, p38/MAPK και μικρές GTPases Ras. Τόσο οι οδοί σηματοδότησης που εξαρτώνται από το Smad όσο και οι ανεξάρτητες από το Smad αλληλεπιδρούν με διάφορους μεταγραφικούς καταστολείς στον πυρήνα, όπως το Twist 1/2 και το SNAIL (SNAI) 1/2, το LEF-1 και το zinc finger e-box binding (ZEB)1/2, οδηγώντας τελικά σε κυτταροσκελετικές αλλαγές όπως απώλεια E-cadherin [43,44]. Άλλα μονοπάτια σηματοδότησης που παίζουν σημαντικό ρόλο στο EMT περιλαμβάνουν τα μονοπάτια σηματοδότησης Notch, Wnt/ β -κατενίνης και Hedgehog. Ο ρόλος τους στην προώθηση EMT έχει περιγραφεί σε προηγούμενες ανασκοπήσεις [44,45]. Όσον αφορά τον ρόλο του Hsp27 στη ρύθμιση EMT [46,47], οι Shiota et al. διαπίστωσε ότι η Hsp27 επάγει τη φωσφορυλίωση STAT3, είτε μέσω της μεσολάβησης της IL-6 είτε ανεξάρτητα, και η επακόλουθη πυρηνική μετατόπιση STAT3 και σύνδεση με τον προαγωγέα TWIST, ενισχύει το EMT [41]. Η προς τα πάνω ρύθμιση με τη μεσολάβηση Hsp27 της ίδιας οδού σηματοδότησης (IL-

6/STAT3/Twist) προήγαγε την EMT σε τέσσερις διαφορετικές κυτταρικές σειρές καρκίνου της ουροδόχου κύστης. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ανοδική ρύθμιση της προαναφερθείσας οδού σηματοδότησης διευκολύνθηκε από την αλληλεπίδραση του Hsp27 με τον τομέα δέσμευσης νουκλεοσωμάτων της ομάδας υψηλής κινητικότητας (HMGN5), ένα μόριο που σχετίζεται με την ογκογένεση [48]. Οι Cordonnier et al. [42], χρησιμοποιώντας την ίδια κυτταρική σειρά καρκίνου του προστάτη (LNCaP) με τους Shiota et al. [41] πρότεινε ότι η υπερέκφραση Hsp27, μέσω της ρύθμισης του καταρράκτη EGF/β-κατενίνης, υποστήριξε την πυρηνική μετατόπιση της β-κατενίνης και την επακόλουθη δέσμευσή της στον προαγωγέα SNAIL 2 (Slug), προάγοντας τελικά την EMT [42,49]. Επιπλέον, τέσσερις διαφορετικές μελέτες [50-53] υποστήριξαν το ρόλο του Hsp27 στη διευκόλυνση του EMT που προκαλείται από τον TGFβ1 είτε προστατεύοντας το SNAIL από την αποικοδόμηση του πρωτεασώματος [51] είτε ρυθμίζοντας προς τα πάνω την οδό TGF-β1/p38 [53]. Οι Fang et al., στην *in vitro* μελέτη τους, χρησιμοποιώντας κυτταρικές σειρές αδενοκαρκινώματος του παγκρεατικού πόρου, τόνισαν την επαγόμενη από Hsp27 διαμόρφωση του καταρράκτη σηματοδότησης β-κατενίνης/MMP3 [54], μια κρίσιμη οδό του EMT, ενώ οι Zhu et al. πρότεινε ότι το Hsp27 προάγει το EMT μέσω της ρύθμισης προς τα πάνω της οδού σηματοδότησης NF-kB [55]. Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το Hsp27 προάγει την EMT συνοψίζονται στο Σχήμα παρακάτω.



Εικόνα 3. Περίληψη των μοριακών μηχανισμών της προαγωγής της επιθηλιακής-μεσεγχυματικής μετάβασης (EMT) με τη μεσολάβηση Hsp27. Το πράσινο υποδεικνύει ενεργοποίηση. Κλειδί: EMT, επιθηλιακή σε μεσεγχυματική μετάβαση. EGF, επιδερμικός αυξητικός παράγοντας; STAT3, μετατροπέας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής 3. NFκb, πυρηνικός παράγοντας κάπα-ελαφριά αλυσίδα-ενισχυτής ενεργοποιημένων B κυττάρων. IL-6, ιντερλευκίνη 6.

Προσαρμογή των CSCs στις πιέσεις του μικροπεριβάλλοντος όγκου

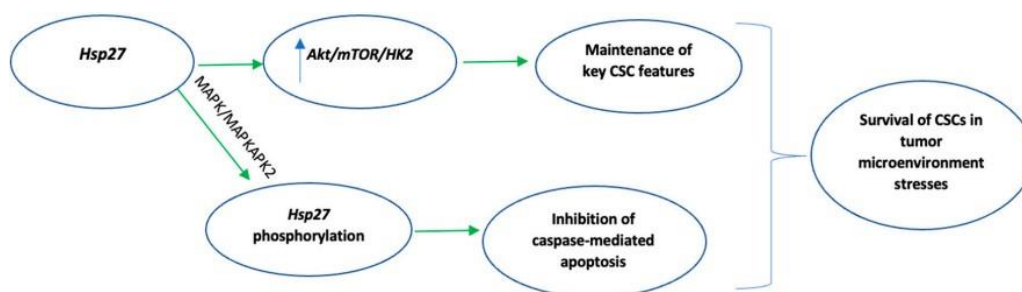
Σε καλλιέργειες ανθρώπινων πλακωδών καρκινικών κυττάρων οισοφάγου (CE81T και TE1), ένας υποπληθυσμός έδειξε ιδιότητες καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSC), συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης δραστηριότητας αφυδρογονάσης αλδεϋδης (ALDH), ενός δείκτη που σχετίζεται με τα βλαστοκύτταρα όγκου σε πολλούς τύπους καρκίνου [56]. Σύμφωνα με την υπόθεση CSC, τα CSC συμβάλλουν στην έναρξη και την εξέλιξη διαφόρων κακοηθειών [57,58]. Οι Liu et al. ανέφερε ότι στον υποπληθυσμό των CSC του οισοφάγου, αυτά τα CSC παρουσίασαν υπερέκφραση της Hsp27 που τους βοήθησε να διατηρήσουν βασικά χαρακτηριστικά CSC, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης γλυκόλυσης και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Αυτά τα χαρακτηριστικά CSC αποδίδονται στην ενεργοποίηση της οδού AKT/mTOR/HK2 μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης της Hsp27 με την AKT, με αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση HK2, η οποία σύμφωνα με τους συγγραφείς, είναι απαραίτητη για τα CSC του οισοφάγου να διατηρήσουν το προαναφερθέν διακριτό μεταβολικό φαινότυπο [56]. Οι Lin et al. περιέγραψε ότι τα CD133+ CSC από τέσσερις διαφορετικούς τύπους καρκίνου (καρκίνος του παχέος εντέρου, του εγκεφάλου, του πνεύμονα και του στόματος) κατάφεραν να επιβιώσουν από την υποξία και την απόπτωση που προκαλείται από εξάντληση του ορού μέσω της ρύθμισης προς τα πάνω της οδού p38 MAPK/MAPKAPK2, της φωσφορυλίωσης της Hsp27 και της αναστολής της απόπτωσης που προκαλείται από κασπάση [59]. Η ενεργοποίηση της τελευταίας οδού (p38 MAPK/MAPKAPK2/Hsp27) επέτρεψε στα CSC του παχέος εντέρου CD133+ να αντιστέκονται στην απόπτωση που προκαλείται

από αντιαγγειογένεση, σύμφωνα με τους Lin et al. [60]. Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το Hsp27 έχει ως αποτέλεσμα την προσαρμογή των CSCs στις πιέσεις του μικροπεριβάλλοντος του όγκου συνοψίζονται στο παρακάτω σχήμα.

4.1.5. Προσαρμογή των CSCs στις πιέσεις του μικροπεριβάλλοντος όγκου

Σε καλλιέργειες ανθρώπινων πλακωδών καρκινικών κυττάρων οισοφάγου (CE81T και TE1), ένας υποπληθυσμός έδειξε ιδιότητες καρκινικών βλαστικών κυττάρων (CSC), συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης δραστηριότητας αφυδρογονάσης αλδεϋδης (ALDH), ενός δείκτη που σχετίζεται με τα βλαστοκύτταρα όγκου σε πολλούς τύπους καρκίνου [56]. Σύμφωνα με την υπόθεση CSC, τα CSC συμβάλλουν στην έναρξη και την εξέλιξη διαφόρων κακοηθειών [57,58]. Οι Liu et al. ανέφερε ότι στον υποπληθυσμό των CSC του οισοφάγου, αυτά τα CSC παρουσίασαν υπερέκφραση της Hsp27 που τους βοήθησε να διατηρήσουν βασικά χαρακτηριστικά CSC, συμπεριλαμβανομένης της αυξημένης γλυκόλυσης και της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης. Αυτά τα χαρακτηριστικά CSC αποδίδονται στην ενεργοποίηση της οδού AKT/mTOR/HK2 μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης της Hsp27 με την AKT, με αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση HK2, η οποία σύμφωνα με τους συγγραφείς, είναι απαραίτητη για τα CSC του οισοφάγου να διατηρήσουν το προαναφερθέν διακριτό μεταβολικό φαινότυπο [56]. Οι Lin et al. περιέγραψε ότι τα CD133+ CSC από τέσσερις διαφορετικούς τύπους καρκίνου (καρκίνος του παχέος εντέρου, του εγκεφάλου, του πνεύμονα και του στόματος) κατάφεραν να επιβιώσουν από την υποξία και την απόπτωση που προκαλείται από εξάντληση του ορού μέσω της ρύθμισης προς τα πάνω της οδού p38 MAPK/MAPKAPK2, της φωσφορυλίωσης της Hsp27 και της αναστολής της απόπτωσης που προκαλείται από κασπάση [59]. Η ενεργοποίηση της τελευταίας οδού (p38 MAPK/MAPKAPK2/Hsp27) επέτρεψε στα CSC του

παχέος εντέρου CD133+ να αντιστέκονται στην απόπτωση που προκαλείται από αντιαγγειογένεση, σύμφωνα με τους Lin et al. [60]. Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το Hsp27 έχει ως αποτέλεσμα την προσαρμογή των CSCs στις πιέσεις του μικροπεριβάλλοντος του όγκου συνοψίζονται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 4. . Σύνοψη των μοριακών μηχανισμών με τη μεσολάβηση Hsp27 που επιτρέπουν στα καρκινικά βλαστοκύτταρα να επιβιώνουν από τις πιέσεις του μικροπεριβαλλοντικού όγκου. Το πράσινο υποδεικνύει ενεργοποίηση. Κλειδί: CSC, καρκινικά βλαστοκύτταρα. PI3, φωσφατιδυλνινοσιτολ-3-κινάση; mTOR, θηλαστικός στόχος της ραπαμυκίνης

4.1.6. Επαγωγή Αγγειογένεσης

Η Hsp27 στο περιφερικό αίμα, μέσω έμμεσης αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα 3 (TLR3) και την επακόλουθη ενεργοποίηση NF-κΒ, αύξησε την έκκριση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και τον ενεργοποιημένο υποδοχέα VEGF τύπου 2 στα καρκινικά κύτταρα του μαστού, προάγοντας τελικά την αγγειογένεση [61,62]. Straume et al. πρότεινε ότι η καταστολή της Hsp27 στα καρκινικά κύτταρα του μαστού οδήγησε σε μείωση

της έκφρασης των VEGF-A, VEGF-C και βασικού αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών μέσω της μείωσης της ρύθμισης του NF-κB και του STAT3, υπογραμμίζοντας έτσι τον προαγγειογενετικό ρόλο του Hsp27 [63].

2.5. Αναστολή της απόπτωσης

Πολυάριθμες μελέτες έχουν υπογραμμίσει τον ανασταλτικό ρόλο της Hsp27 τόσο στις εξαρτώμενες από την κασπάση όσο και στις ανεξάρτητες από κασπάση αποπτωτικές οδούς [62,64-72]. Όσον αφορά την αναστολή της απόπτωσης που προκαλείται από κασπάση, η Hsp27 είτε αλληλεπιδρά απευθείας με την κασπάση-3 ή το κυτόχρωμα c, απενεργοποιώντας τα έτσι [64,65], είτε ρυθμίζει προς τα πάνω την PI3-κινάση που ενεργοποιεί Akt και την επακόλουθη επαγόμενη από Akt Akt/Bax η αλληλεπίδραση τελικά μπλοκάρει τη μετατόπιση του Bax στα μιτοχόνδρια [66,70,71]. Σε κυτταρικές σειρές μυελώματος, το Hsp27 βρέθηκε να αλληλεπιδρά απευθείας με το Smac (δεύτερος ενεργοποιητής της κασπάσης που προέρχεται από μιτοχόνδρια), επομένως αναστέλλει την ενεργοποίηση της κασπάσης-3 [65,67]. Το Hsp27 απενεργοποιεί επίσης την p53, η οποία είναι γνωστό ότι ρυθμίζει την p21, έναν αναστολέα κινάσης που εξαρτάται από την κυκλίνη που ρυθμίζει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη φωσφορυλίωση της p21, μετατόπιση στο κυτταρόπλασμα και, τελικά, αυξημένη κυτταρική επιβίωση [62,70,71]. Επιπλέον, η Hsp27 επηρεάζει αποπτωτικά μονοπάτια ανεξάρτητα από κασπάση μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης με το Daxx (πρωτεΐνη 6 που σχετίζεται με τον τομέα θανάτου), εμποδίζοντας έτσι τη δέσμευση του Daxx στο σύμπλεγμα Akt1 (ρυθμιζόμενη με σήμα απόπτωσης κινάση 1)/Fas (ρυθμιστής κυτταρικού θανάτου) και τελικά αναστέλλοντας την απόπτωση που προκαλείται από Akt1/Fas [62,64,71-73].

Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το Hsp27 αναστέλλει την εξαρτώμενη

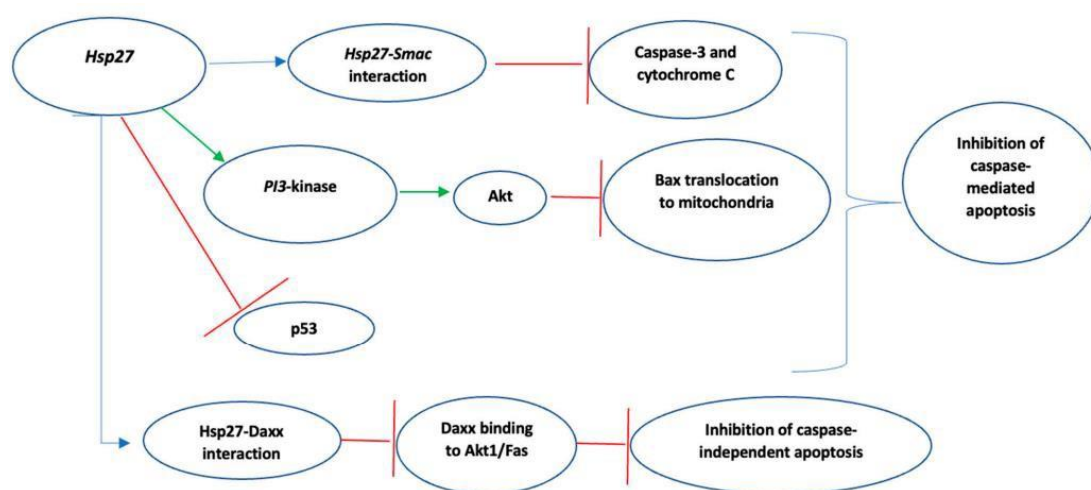
από κασπάση και την ανεξάρτητη από κασπάση απόπτωση συνοψίζονται στο Σχήμα 4. *Biomedicines* 2022, 10, x FOR REVIEW 5 of 23

2.4. Η επαγωγή της αγγειογένεσης Hsp27 στο περιφερικό αίμα, μέσω έμμεσης αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα 3 (TLR3) και την επακόλουθη ενεργοποίηση του NF-κΒ, αύξησε την έκκριση του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF) και του ενεργοποιημένου υποδοχέα VEGF τύπου 2 στα καρκινικά κύτταρα του μαστού. προάγοντας τελικά την αγγειογένεση [61,62]. Straume et al. πρότεινε ότι η καταστολή της Hsp27 στα καρκινικά κύτταρα του μαστού οδήγησε σε μείωση της έκφρασης των VEGF-A, VEGF-C και βασικού αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών μέσω της μείωσης της ρύθμισης του NF-κΒ και του STAT3, υπογραμμίζοντας έτσι τον προαγγειογενετικό ρόλο του Hsp27 [63].

4.1.7. Αναστολή της Απόπτωσης

Πολυάριθμες μελέτες έχουν επισημάνει τον ανασταλτικό ρόλο της Hsp27 τόσο στις εξαρτώμενες από την κασπάση όσο και στις ανεξάρτητες από την κασπάση αποπτωτικές οδούς [62,64-72]. Όσον αφορά την αναστολή της απόπτωσης που προκαλείται από κασπάση, η Hsp27 είτε αλληλεπιδρά απευθείας με την κασπάση-3 ή το κυτόχρωμα c, απενεργοποιώντας τα έτσι [64,65], είτε ρυθμίζει προς τα πάνω την PI3-κινάση που ενεργοποιεί Akt και την επακόλουθη επαγόμενη από Akt Akt/Bax η αλληλεπίδραση τελικά μπλοκάρει τη μετατόπιση του Bax στα μιτοχόνδρια [66,70,71]. Σε κυτταρικές σειρές μυελώματος, το Hsp27 βρέθηκε να αλληλεπιδρά απευθείας με το Smac (δεύτερος ενεργοποιητής της κασπάσης που προέρχεται από μιτοχόνδρια),

επομένως αναστέλλει την ενεργοποίηση της κασπάσης-3 [65,67]. Το Hsp27 απενεργοποιεί επίσης την p53, η οποία είναι γνωστό ότι ρυθμίζει την p21, έναν αναστολέα κινάσης που εξαρτάται από την κυκλίνη που ρυθμίζει την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη φωσφορυλίωση της p21, μετατόπιση στο κυτταρόπλασμα και, τελικά, αυξημένη κυτταρική επιβίωση [62,70,71]. Επιπλέον, η Hsp27 επηρεάζει αποπτωτικά μονοπάτια ανεξάρτητα από κασπάση μέσω άμεσης αλληλεπίδρασης με το Daxx (πρωτεΐνη 6 που σχετίζεται με τον τομέα θανάτου), εμποδίζοντας έτσι τη δέσμευση του Daxx στο σύμπλεγμα Akt1 (ρυθμιζόμενη με σήμα απόπτωσης κινάση 1)/Fas (ρυθμιστής κυτταρικού θανάτου) και τελικά αναστέλλοντας την απόπτωση που προκαλείται από Akt1/Fas [62,64,71-73]. Οι μοριακοί μηχανισμοί με τους οποίους το Hsp27 αναστέλλει την απόπτωση που εξαρτάται από κασπάση και ανεξάρτητη από κασπάση συνοψίζονται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 5. Περίληψη της αναστολής της απόπτωσης με τη μεσολάβηση Hsp27. Το πράσινο υποδηλώνει ενεργοποίηση, το κόκκινο υποδηλώνει αναστολή. Κλειδί: PI3, φωσφατιδυλινοσιτολ-3-κινάση.

4.2 . Ανοσοθεραπείες βασισμένες σε HSP για θεραπεία καρκίνου

Δεδομένου ότι τα HSP υπερεκφράζονται σε καρκινικά κύτταρα υπό φυσιολογικές συνθήκες, η δυνατότητα των HSP που προέρχονται από καρκίνο ως θεραπευτικοί στόχοι για ανοσοθεραπεία έχει εκτιμηθεί όλο και περισσότερο τις τελευταίες δεκαετίες [15] . Για παράδειγμα, τα HSPs θα μπορούσαν να στοχεύουν σημαντικά τα κύτταρα που επεξεργάζονται αντιγόνα (APCs) [18] . Μελέτες έχουν δείξει ότι τα πεπτιδία όγκου που συνδέονται με HSP θα μπορούσαν να απελευθερωθούν στο εξωκυτταρικό μέσο ως απόκριση σε σήματα άγχους ή ανοσολογικού κινδύνου λόγω της δραστηριότητας συνοδού της HSP [19] . Τα εξωκυτταρικά HSPs μπορούν να συνδεθούν σε συγκεκριμένους υποδοχείς στα APC για να προάγουν τη διασταυρούμενη παρουσίαση των καρκινικών πεπτιδίων τους σε CD8 + T κύτταρα μέσω μορίων μείζονος συμπλόκου ιστοσυμβατότητας κατηγορίας I (MHC I) [10] . Επιπλέον, μελέτες ανέφεραν επίσης ότι τα HSPs θα μπορούσαν να διεγείρουν την ανοσολογική δραστηριότητα των φυσικών φονικών κυττάρων (NK) και να σκοτώσουν τα καρκινικά κύτταρα [11] . Όλες οι παραπάνω μελέτες καταδεικνύουν ότι τα HSP παίζουν ουσιαστικό ρόλο στην αντικαρκινική ανοσία.

Τα τελευταία χρόνια, έχουν γίνει αρκετές σημαντικές πρόοδοι στον τομέα της ογκοανοσολογίας που βασίζεται σε HSP. Για παράδειγμα, ο Li και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τα HSP27 και HSP90 γενικά υπερεκφράζονται σε κύτταρα μυελώματος και ότι εκφράζονται φυσικά στο πλαίσιο των μορίων MHC I. Είναι ενδιαφέρον ότι τα κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα που στοχεύουν πεπτιδία ειδικά για HSP27 και HSP90 μείωσαν σημαντικά την ανάπτυξη όγκου

σε μοντέλο ποντικού ξενομοσχεύματος μυελώματος, γεγονός που επιβεβαίωσε ότι τα HSP μπορεί να είναι νέα αντιγόνα όγκου για την ανοσοθεραπεία μυελώματος [12]. Ομοίως, η HSP70 υπερεκφράζεται γενικά σε καρκινικά κύτταρα και ο φαινότυπος της μεμβράνης HSP70 (mHSP70) έχει συσχετιστεί με εξαιρετικά επιθετικούς καρκίνους, που χαρακτηρίζονται από αυξημένη εισβολή, μετάσταση και αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο. Μια πρόσφατη έρευνα διαπίστωσε ότι τα κύτταρα NK, αντί για T κύτταρα, θα μπορούσαν να σκοτώσουν τα θετικά στο mHSP70 καρκινικά κύτταρα [13]. Επιπλέον, μελέτες έδειξαν ότι όταν τα κύτταρα NK ενεργοποιήθηκαν από το φυσικώς απαντώμενο πεπτίδιο HSP70 και την IL-2 σε προκλινικά μοντέλα όγκων, η ικανότητα των κυττάρων NK να καταπολεμούν τον καρκίνο του πνεύμονα και το γλοιοβλάστωμα ενισχύθηκε [14].

Εκτός από τις ειδικές για το αντιγόνο ενεργές ανοσοθεραπείες για τη θεραπεία του καρκίνου, πολλά εμβόλια έχουν επίσης αναπτυχθεί με βάση τα HSPs. Τα HSP έχουν χρησιμοποιηθεί για την τόνωση της ανοσίας σε ένα ευρύ φάσμα καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου του γλοιοβλαστώματος, του μελανώματος, του καρκίνου του παχέος εντέρου και του καρκίνου του παγκρέατος, και τα κλινικά αποτελέσματα είναι ενθαρρυντικά. Οι HSP μπορούν να χρησιμοποιήσουν τους μοναδικούς μικροτομείς τους για να συλλάβουν αποτελεσματικά αντιγόνα που σχετίζονται με τον όγκο και να σχηματίσουν σταθερά σύμπλοκα HSP-αντιγόνου. Με βάση τις μελέτες του μηχανισμού του ως ανοσοδιεγέρτη, ο εμβολιασμός HSP υποτίθεται ότι είναι μια αποτελεσματική στρατηγική με το πλεονέκτημα της ενίσχυσης των αντικαρκινικών ανοσολογικών αποκρίσεων. Για παράδειγμα, μια αυτοσυναρμολογούμενη νανοσαπερόνη (nChap), εμπνευσμένη από τα HSP, αναπτύχθηκε ως νέο

νανοεμβόλιο και αναμένεται να εξελιχθεί σε αποτελεσματική ανοσοθεραπεία κατά του καρκίνου [15]. Αρκετές μελέτες έχουν αναφέρει τη δυνατότητα αυτόλογων συμπλεγμάτων αντικαρκινικών εμβολίων που βασίζονται σε HSP στην ανοσολογική απόκριση ασθενών με καρκίνο [19]. Στη μελέτη του Orin, κλινικές δοκιμές φάσης I και II εξέτασαν την αποτελεσματικότητα του εμβολίου HSP πεπτιδικού συμπλέγματος-96 σε ασθενείς με υποτροπιάζον γλοιοβλάστωμα [16]. Ομοίως, μελέτες έχουν δείξει ότι το Vitespen, ένα αυτόλογο εμβόλιο κατά του καρκίνου που προέρχεται από ειδικό για όγκο HSP90, έχει δείξει πολλά υποσχόμενα αποτελέσματα σε κλινικές δοκιμές φάσης III στο μελάνωμα και τον καρκίνο των νεφρών [15].

Επιπλέον, μόρια HSP έχουν επίσης χρησιμοποιηθεί σε εμβόλια που βασίζονται στο DNA ως αντιγόνα ή ανοσοενισχυτικά κατά του καρκίνου ή των μολυσματικών ασθενειών [19]. Για παράδειγμα, το HerpV είναι ένα εμβόλιο που περιέχει 32 συνθετικά πεπτίδια HSV-2 μη ομοιοπολικά συμπλεγμένα με την ανασυνδυασμένη ανθρώπινη πρωτεΐνη HSP70 και η ασφάλεια και η καλή του ανοχή είχαν επιβεβαιωθεί. Αυτό ήταν το πρώτο εμβόλιο βασισμένο σε HSP που προκάλεσε σημαντικά ανοσοαποκρίσεις των T-κυττάρων CD4 + και CD8 + έναντι των αντιγόνων HSV-2 [10]. Επιπλέον, ερευνητές σχεδίασαν ένα χιμαιρικό εμβόλιο Mucin 1 (Muc1) που κωδικοποιεί το γονίδιο Muc1 (ΔTM) συντηγμένο με το ανθρώπινο γονίδιο HSP70 για να ενισχύσει την παρουσίαση αντιγόνου και την ογκοκατασταλτική αποτελεσματικότητα. Παρατηρήθηκε ότι τα ποντίκια που εμβολιάστηκαν με το χιμαιρικό εμβόλιο Muc1 θα μπορούσαν να προκαλέσουν αποτελεσματικά ειδικό για αντιγόνοπολλαπλασιασμός λεμφοκυττάρων και κυτταροτοξικές αποκρίσεις. Σημειωτέον, η ανάπτυξη κυττάρων μελανώματος B16 που εκφράζουν ανθρώπινο Muc1 σε ποντικούς

C57BL/6 παρεμποδίστηκε σημαντικά από το εμβόλιο χιμαιρικού DNA Muc1-HSP70 [11] .

Επιπλέον, ο συνδυασμός ανοσοθεραπείας που βασίζεται σε HSP με άλλες αντικαρκινικές θεραπείες έχει επίσης επιβεβαιωθεί ότι είναι μια πολλά υποσχόμενη προσέγγιση για την ενίσχυση των αντικαρκινικών επιδράσεων. Για παράδειγμα, έχει εντοπιστεί ότι το 17-DMAG (αναστολέας HSP90) είναι ένα ανοσοενισχυτικό σε εμβόλια που στοχεύουν την πρωτεΐνη πελάτη HSP90 EphA2, η οποία μπορεί να αναδιαμορφώσει το μικροπεριβάλλον του όγκου και να ενισχύσει τις ανοσολογικές αποκρίσεις των ασθενών. Ο συνδυασμός 17-DMAG και αντισώματος έναντι της πρωτεΐνης πελάτη HSP90 EphA2 μείωσε σημαντικά τους ανοσοκατασταλτικούς κυτταρικούς πληθυσμούς, όπως κατασταλτικά κύτταρα προερχόμενα από μυελοειδή και ρυθμιστικά T κύτταρα, καθώς και στρατολογημένα τελεστικά κύτταρα Type-1T και ενίσχυσε την ικανότητα των CD8 + T κυττάρων να αναγνωρίζουν τα καρκινικά κύτταρα [13]

4.3. Ο ρόλος του Hsp27 στην ανθεκτικότητα στη χημειοθεραπεία

4.3.1. Δοξορουβικίνη

Η δοξορουβικίνη είναι ένας αποτελεσματικός παράγοντας χημειοθεραπείας που χρησιμοποιείται σε πολλαπλούς τύπους καρκίνου όπως του μαστού, του πνεύμονα, των λεμφωμάτων και του γαστρεντερικού καρκίνου. Οι αντικαρκινικές του επιδράσεις μεσολαβούνται κυρίως μέσω της παρεμβολής στο DNA και της αναστολής της τοποϊσομεράσης II, προάγοντας έτσι τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου G2/M. Η δοξορουβικίνη προκαλεί επίσης οξειδωτικό στρες στα καρκινικά κύτταρα μέσω ενός πολύπλοκου μηχανισμού που περιλαμβάνει την οξείδωσή της σε ημικινόνη, έναν ασταθή μεταβολίτη, που οδηγεί στο σχηματισμό ελεύθερων ριζών. Επιπλέον, η δοξορουβικίνη ρυθμίζει προς τα πάνω τους συνδέτες Fas. Οι δύο τελευταίοι μηχανισμοί οδηγούν σε μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, ενεργοποίηση κασπάσης και επακόλουθη ενεργοποίηση αποπτωτικών οδών [74]. Το 1992, οι Ciocca et al., στην *in vitro* μελέτη τους, διαπίστωσαν ότι τα αυξημένα επίπεδα έκφρασης των Hsp27 και Hsp70 σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού σχετίζονταν με αυξημένη αντίσταση στη χημειοθεραπεία έναντι της δοξορουβικίνης και αυτό ήταν ανεξάρτητο από την υπερέκφραση που προκαλείται από θερμικό σοκ. του P-gp, του κύριου μορίου που εμπλέκεται στην αντοχή σε πολλά φάρμακα (MDR). Οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν δύο κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού, την κυτταρική σειρά MCF-7/BK στην οποία η Hsp27 εκφράζεται συστατικά ενώ τα επίπεδα έκφρασης δεν κυμαίνονται σημαντικά μετά από θερμικό σοκ και την

κυτταρική σειρά MDA-MB-231 που έχει χαμηλή αρχική τιμή Hsp27 έκφραση, που αυξάνεται σημαντικά υπό συνθήκες θερμικού σοκ. Στους 37 °C, η σειρά MCF-7/BK ήταν επτά φορές πιο ανθεκτική στη δοξορουβικίνη σε σύγκριση με το MDA-MB-231. Μετά από θερμικό σοκ, στην κυτταρική σειρά MDA-MB-231, το επίπεδο αντίστασης ήταν 17 φορές υψηλότερο σε σύγκριση με την αρχική γραμμή, ενώ στην κυτταρική σειρά MCF-7/Bk, ήταν τρεις φορές υψηλότερο σε σύγκριση με την αρχική. Αυτή η επίδραση δεν παρατηρήθηκε με άλλα συχνά χρησιμοποιούμενα φάρμακα χημειοθεραπείας όπως η σισπλατίνη, η ακτινομυκίνη, η μεθοτρεξάτη και η 5-FU. Τέλος, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η αντίσταση στη δοξορουβικίνη δεν αυξήθηκε σημαντικά στην πολυανθεκτική κυτταρική σειρά MDA-A1R μετά από έκθεση σε θερμικό σοκ, υποδεικνύοντας πιθανώς ότι η MDR δεν μεσολάβησε μέσω ενός μηχανισμού με τη μεσολάβηση Hsp27 [75]. Ένα παρόμοιο αποτέλεσμα στα επιμολυσμένα με Hsp27 κύτταρα MDA-MB-231 μετά από θεραπεία με δοξορουβικίνη αναφέρθηκε από τους Oesterreich et al., αλλά επιπλέον, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η υπερέκφραση της Hsp27 σε αυτά τα κύτταρα ενισχύει την εξαρτώμενη από την αγκύρωση και την ανεξάρτητη από την αγκύρωση ανάπτυξη σε vitro [76]. Επιπλέον, μια κυτταροπροστατευτική δράση του Hsp27 έναντι της δοξορουβικίνης, μέσω ενός μηχανισμού ανεξάρτητου από MDR, παρατηρήθηκε επίσης από μια άλλη in vitro μελέτη, στην οποία δέκα θερμοανθεκτικές κυτταρικές σειρές κινέζικου χάμστερ επιμολύνθηκαν με ένα πλασμίδιο που περιείχε ολόκληρο το γονίδιο του ανθρώπινου Hsp27 [77] ως καθώς και σε μια μελέτη στην οποία κυτταρικές γραμμές ανθρώπινου καρκίνου του παχέος εντέρου HT-29 επιμολύνθηκαν με το γονίδιο Hsp27 [78]. Στην πρώτη περίπτωση, οι Huot et al. ανέφερε μια στατιστικά σημαντική, θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων έκφρασης της

Hsp27 και της κυτταρικής επιβίωσης μετά από έκθεση σε δοξορουβικίνη, ενώ τα επίπεδα έκφρασης της Pgp ή οι ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις της δοξορουβικίνης ήταν παρόμοια μεταξύ διαφορετικών κλώνων με διαφορετικά επίπεδα έκφρασης Hsp27 ή με διαφορετικές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις δοξορουβικίνης [77]. Οι Garrido et al. παρατήρησε ότι αν και τα επίπεδα έκφρασης της Hsp27 στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του παχέος εντέρου HT-29 ή CaCo2 συσχετίστηκαν με αυξημένη αντίσταση έναντι της δοξορουβικίνης, αυτό αντιστράφηκε όταν τα κύτταρα είχαν προηγουμένως εκτεθεί σε σισπλατίνη. Τα επαγόμενα από σισπλατίνη κύτταρα που υπερέκφραζαν Hsp27 είχαν, παραδόξως, μειωμένη χημειοανθεκτικότητα στη δοξορουβικίνη. Η σισπλατίνη είναι ένας παράγοντας χημειοθεραπείας που διασυνδέει τις πουρινικές βάσεις του DNA και επηρεάζει τον κυτταρικό κύκλο, προκαλώντας ανακοπή κυττάρων στη φάση S. Σε αυτή τη φάση του κυτταρικού κύκλου, τα επίπεδα της τοποϊσομεράσης II, του κύριου στόχου της ανθρακυκλίνης, είναι αυξημένα και ως εκ τούτου η κυτταροπροστατευτική δράση της Hsp27 έναντι της δοξορουβικίνης θα μπορούσε να καλυφθεί από την αυξημένη στόχευση της τοποϊσομεράσης II [78]. Σε μια άλλη μελέτη, οι Hansen et al. διαπίστωσε ότι η έκφραση της τοποϊσομεράσης II ήταν χαμηλότερη στα επιμολυσμένα με Hsp27 MDA-MB-231 καρκινικά κύτταρα του μαστού σε σχέση με τους μάρτυρες και ανέστειλε την επαγόμενη από τη δοξορουβικίνη απόπτωση, υποδηλώνοντας έναν πιθανό μηχανισμό που εξηγεί την αντίσταση στον καρκίνο που προκαλείται από Hsp27. Συγκεκριμένα, οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι σε κύτταρα που υπερεκφράζουν Hsp27, η βασική έκφραση της τοποϊσομεράσης IIa και της τοποϊσομεράσης IIb ήταν σημαντικά ($p < 0,05$) μειωμένη σε σύγκριση με τον έλεγχο. Μετά από θεραπεία με 0,1 mg/dL

δοξορουβικίνης, τα επίπεδα έκφρασης αυξήθηκαν και στις δύο κυτταρικές σειρές, αλλά συνολικά, παρατηρήθηκε μείωση –περίπου διπλάσια– της τοποϊσομεράσης IIa και IIb στην κυτταρική σειρά που υπερεκφράζει Hsp27. Αν και το τελευταίο υποδεικνύει ότι η Hsp27 μειώνει τα επίπεδα έκφρασης της p53, ο ακριβής μηχανισμός αυτής της μείωσης της τοποϊσομεράσης II που προκαλείται από το Hsp27 παραμένει ασαφής [79]. Ωστόσο, έχει προταθεί ότι η p53 μπορεί να διεγείρει την ενεργοποίηση της τοποϊσομεράσης II [80,81].

Η δοξορουβικίνη μπορεί να προκαλέσει το σχηματισμό ROS, το οποίο με τη σειρά του διεγείρει την ενεργοποίηση του p53. Το Hsp27 είναι ένας αναστολέας της ενεργοποίησης του p53. Ως εκ τούτου, σε κύτταρα που υπερεκφράζουν Hsp27, η αναστολή της p53 με τη μεσολάβηση Hsp27 θα μπορούσε να εξηγήσει τη μείωση στα επίπεδα έκφρασης των τοποϊσομερασών II. Ωστόσο, ο τελευταίος μηχανισμός είναι υποθετικός και θα πρέπει να διεξαχθούν μελλοντικές μελέτες για να διευκρινιστεί ο ακριβής μηχανισμός της αναστολής με τη μεσολάβηση Hsp27. Είναι ενδιαφέρον ότι οι συγγραφείς δεν παρατήρησαν διαφορές στα επίπεδα αρκετών γνωστών προ-αποπτωτικών και αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών της εγγενούς αποπτωτικής οδού, όπως το bak και το Bcl-2. Επιπλέον, η συγκεκριμένη κυτταρική σειρά έχει ένα γνωστό μεταλλαγμένο γονίδιο p-53. Έτσι, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ρύθμιση της απόπτωσης που προκαλείται από τη δοξορουβικίνη πιθανώς μεσολαβείται από έναν μηχανισμό που περιλαμβάνει την καταστολή των αποπτωτικών γονιδίων [82]. Η πακλιταξέλη, ένας στόχος τουμπουλίνης, έχει προταθεί ότι μειώνει τα επίπεδα έκφρασης της Hsp27 και ως εκ τούτου θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τη μείωση της αντίστασης στη δοξορουβικίνη σε κύτταρα όγκου που υπερεκφράζουν Hsp27 [83,84]. Στην *in vitro* μελέτη τους,

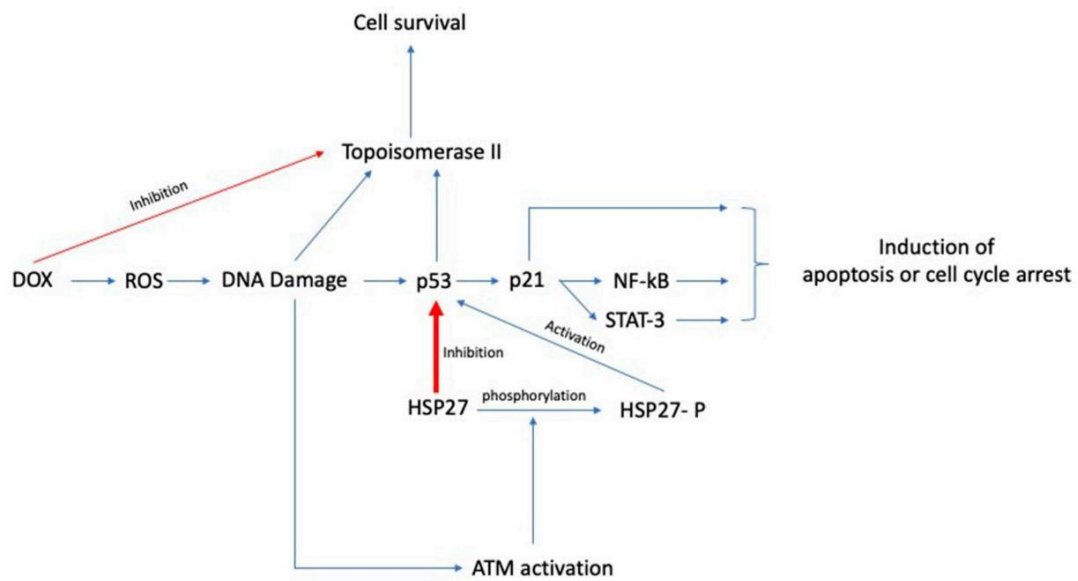
οι Shi et al. χρησιμοποίησε τρεις διακριτές κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού, την MCF-7 και MDA-MB-435 που υπερεκφράζει Hsp27 και την κυτταρική σειρά MDA-MB-231 με χαμηλή έκφραση. Η πακλιταξέλη μείωσε τα επίπεδα έκφρασης της Hsp27 μόνο στις κυτταρικές σειρές που υπερεκφράζουν Hsp27, ενώ είχε ελάχιστη μόνο επίδραση στη γραμμή MDA-MB-231. Αυτή η καθοδική ρύθμιση συνδυάστηκε με αύξηση των επιπέδων έκφρασης των τοποϊσομερασών IIa και IIb στις κυτταρικές γραμμές MDA-MB-435 και MCF-7 και η χορήγηση πακλιταξέλης-δοξορουβικίνης ήταν πιο αποτελεσματική σε σύγκριση με τη χορήγηση δοξορουβικίνης-πακλιταξέλης, καθώς η πρώτη έδωσε υψηλότερο ποσοστό απόπτωσης. Ωστόσο, ο ακριβής μηχανισμός πίσω από την επαγόμενη από την πακλιταξέλη μείωση της ρύθμισης της Hsp27 δεν περιγράφηκε [82]. Παρόλο που η προστατευτική δράση του Hsp27 στον κυτταρικό θάνατο που προκαλείται από τη δοξορουβικίνη έχει περιγραφεί από αρκετές μελέτες, υπάρχουν μόνο περιορισμένα δεδομένα σχετικά με τον ακριβή μηχανισμό κυτταροπροστασίας. Οι O'Callaghan-Sunol et al., στην in vitro μελέτη τους, σημείωσαν ότι η Hsp27 επάγει την αναστολή της p53 και την επακόλουθη αδρανοποίηση της p21, ενός αναστολέα κινάσης που εξαρτάται από κυκλίνη, με αποτέλεσμα τελικά την αναστολή της απόπτωσης και την προώθηση της κυτταρικής επιβίωσης [85]. Ο ειδικός μηχανισμός της επαγόμενης από Hsp27 αναστολής της p53 δεν διερευνήθηκε σε βάθος. Το p53 είναι ένα κρίσιμο μόριο στην απόπτωση που προκαλείται από δοξορουβικίνη καθώς ενεργοποιεί πολλά μόρια που εμπλέκονται στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την απόπτωση, συμπεριλαμβανομένων των p21, NF-κB και STAT3. Έτσι, η αναστολή της p53 με τη μεσολάβηση Hsp27 έχει ως αποτέλεσμα την προς τα κάτω ρύθμιση όλων αυτών των οδών και την

επακόλουθη αναστολή της απόπτωσης [86]. Ωστόσο, οι Xu et al. διαπιστώθηκε ότι η κατάσταση φωσφορυλίωσης του Hsp27, παρά η συνολική ποσότητα του Hsp27, συνδέεται με την ενεργοποίηση του p53. Συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι η επαγόμενη από τη δοξορουβική βλάβη στο DNA προκάλεσε την ενεργοποίηση του ATM, η οποία είχε ως αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση της Hsp27, την επακόλουθη ενεργοποίηση της p53 και τελικά τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου, ενώ η αποφωσφορυλιωμένη μορφή αδρανοποίησε την p53 και προώθησε την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου [32]. Σε μια άλλη μελέτη *in vitro*, υπήρξε εξασθένηση της αντίστασης στη δοξορουβική όταν τα καρκινικά κύτταρα υποβλήθηκαν σε θεραπεία με imatinib, έναν αναστολέα της τυροσινοπρωτεϊνικής κινάσης. Το Imatinib αναστρέφει τόσο την εγγενή όσο και την επίκτητη αντίσταση στη δοξορουβική στα καρκινικά κύτταρα με την εξαιρετικά ενεργή τυροσινο-πρωτεϊνική κινάση c-Abl, μια κινάση που υπερενεργοποιείται σε αρκετούς μεταστατικούς καρκίνους συμπαγών οργάνων και κακοήθειες του αίματος. Σε αντίθεση με τις προαναφερθείσες μελέτες που υποδηλώνουν έναν ανεξάρτητο Pgp μηχανισμό αντίστασης στη δοξορουβική, οι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι το imatinib αναστέλλει άμεσα την P-gp. Το STAT3 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που συνήθως υπερενεργοποιείται σε αρκετές προχωρημένες κακοήθειες και εμπλέκεται στην κυτταρική επιβίωση, την επεμβατικότητα, την αγγειογένεση και την αντίσταση στα φάρμακα. Το STAT3 έχει κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη αντοχής στη δοξορουβική. Συγκεκριμένα, φαίνεται να προάγει τη μεσολαβούμενη από δοξορουβική ενδοπυρηνική μετατόπιση του NF-kb/p65, καταστέλλοντας έτσι τόσο την έκφραση αντιαποπτωτικής πρωτεΐνης όσο και την ενεργοποίηση της οδού επιβίωσης Hsp27/p38/Akt. Το imatinib αναστέλλει άμεσα το STAT3 και την ενεργοποίηση

των προαναφερθέντων μονοπατιών, αναστρέφοντας τελικά την αντίσταση στη δοξορουβικίνη [84]. Ομοίως, οι Zhang et al. ανέφερε ότι η αντίσταση στη δοξορουβικίνη στην κυτταρική σειρά του καρκίνου του μαστού MCF-7 αντιστράφηκε μετά την καταστροφή της πρωτεΐνης 29 του ενδοπλασματικού δικτύου (ERp29), μιας δικτυοπλασμίνης που εμπλέκεται στην πρωτεόσταση του ενδοπλασματικού δικτύου και στην απέκκριση πρωτεΐνης. Συγκεκριμένα, παρατήρησαν ότι η ERp29 προκάλεσε την υπερέκφραση της Hsp27 μειώνοντας την έκφραση του ευκαρυωτικού μεταφραστικού παράγοντα 2α (eIF2α), ενώ η καταστροφή της Hsp27 στα καρκινικά κύτταρα του μαστού MDA-MB-231 που υπερέκφραζαν ERp29, εξασθένησε την αντίσταση στη δοξορουβίνη.

Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το eIF2α ρυθμίζει προς τα κάτω την έκφραση Hsp27 σε μεταφραστικό επίπεδο, αλλά ο ακριβής μηχανισμός παραμένει ασαφής. Σε απόκριση στο στρες ER, το eIF2α φωσφορυλιώνεται από την κινάση ER που μοιάζει με PKR (PERK) και η φωσφορυλίωση του έχει ως αποτέλεσμα τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 [88]. Ωστόσο, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι η σχετική φωσφορυλίωση του eIF2α δεν ήταν σημαντικά διαφορετική μεταξύ των κυττάρων που υπερέκφραζαν ERp29 και του ελέγχου, ενώ η βασική έκφραση του eIF2α μειώθηκε σημαντικά, περίπου στο 2,5 φορές. Ως εκ τούτου, τα τελευταία δεδομένα υποδεικνύουν ότι το ERp29 αναστέλλει το eIF2α μέσω της μείωσης των επιπέδων έκφρασής του, αντί να εμπλέκεται στη ρύθμισή του φωσφόρου. Επιπλέον, η Hsp27 φαίνεται να έχει κυτταροπροστατευτικό ρόλο στην ανθεκτική σε ευνουχισμό κυτταρική σειρά καρκίνου του προστάτη (LNCaP) συνοδεύοντας απευθείας τον ευκαρυωτικό

παράγοντα έναρξης μετάφρασης 4E (eIF4E) και προστατεύοντάς τον με ουβικουΐτινοποίηση, προάγοντας κατά συνέπεια την κυτταρική ανάπτυξη και επιβίωση [89]. Αντίθετα, οι Kanagabasai et al. διαπίστωσε ότι η υπερέκφραση της Hsp27 είχε ως αποτέλεσμα την αναστροφή της αντίστασης στη δοξορουβικίνη σε ανθεκτικά στη δοξορουβικίνη MCF-7 κύτταρα καρκίνου του μαστού με μείωση της έκφρασης MDR1/P-gp. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αναστολή της Hsp27, η οποία συνήθως οδηγεί σε αύξηση της πρωτεασωμικής αποικοδόμησης της p53, αναστέλλεται στην ανθεκτική στη δοξορουβικίνη κυτταρική σειρά MCF-7, με αποτέλεσμα την ενδοκυτταρική συσσώρευση p53 και αυξημένη MDR1/P-gp εξαρτώμενη από τον πυρηνικό παράγοντα NF-kB έκφραση. Η αναγκαστική έκφραση της Hsp27 με μεταγραφική ενεργοποίηση της Hsp27 είχε ως αποτέλεσμα την αναστροφή της αντίστασης στη δοξορουβικίνη [90]. Οι Mahvi et al. διαπίστωσε ότι η τορεμιφένη, ένα αντιοιστρογόνο με παρόμοια δομή με την ταμοξιφαίνη, μπορεί επίσης να μειώσει την αντίσταση στη δοξορουβικίνη σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού MDAMD-231 που υπερεκφράζουν Hsp27 και να προκαλέσει διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M του κυτταρικού κύκλου, αλλά ο μηχανισμός της δράσης δεν διερευνήθηκε [91]. Μια περίληψη των προτεινόμενων μηχανισμών της επαγόμενης από το Hsp27 χημειοαντοχής στη δοξορουβικίνη παρουσιάζεται στο παρακάτω σχήμα.



Εικόνα 6. Σύνοψη των προτεινόμενων μηχανισμών με τους οποίους η Hsp27 επάγει τη χημειοαντοχή στη δοξορουβικίνη. Η υπερέκφραση ή η υπερενεργοποίηση της Hsp27 έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της p53, ενός βασικού μορίου που εμπλέκεται στην επαγόμενη από τη δοξορουβικίνη απόπτωση και τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Κλειδί: DOX, δοξορουβικίνη; ROS, δραστικά είδη οξυγόνου. STAT3, μετατροπéας σήματος και ενεργοποιητής μεταγραφής 3. NF-kb, πυρηνικός παράγοντας κάππα-ελαφριά αλυσίδα-ενισχυτή ενεργοποιημένων B κυττάρων. ATM, μεταλλαγμένη κινάση αταξίας-τελαγγειεκτασίας

4.3.2. Herceptin/Trastuzumab

Οι Kang et al. ανέφερε ότι η Hsp27 πιθανώς εμπλέκεται στην αντίσταση των καρκινικών κυττάρων του μαστού στην ερσεπτίνη (trastuzumab) [92]. Το Herceptin είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που στοχεύει τους υποδοχείς HER2 σε καρκίνους που υπερεκφράζουν το HER2, όπως σε ορισμένους υποτύπους καρκίνου του μαστού και του στομάχου. Το HER2 είναι μια κινάση τυροσίνης διαμεμβρανικού υποδοχέα που ενεργοποιεί αρκετές σημαντικές κυτταρικές οδούς επιβίωσης και πολλαπλασιασμού ενδοκυτταρικής σηματοδότησης όπως τα PI3/Akt και Ras/RAF/MEK/ERK. Ενίσχυση ή υπερενεργοποίηση του ογκογονιδίου HER2/Neu, του γονιδίου που κωδικοποιεί το HER2, παρατηρείται

στο 30% περίπου όλων των καρκίνων του μαστού, τους λεγόμενους καρκίνους του μαστού HER2(+). Ωστόσο, οι περισσότεροι ασθενείς που έλαβαν θεραπεία με Herceptin αναπτύσσουν αντοχή μετά τον πρώτο χρόνο θεραπείας. Στην *in vitro* μελέτη τους, οι συγγραφείς απομόνωσαν έναν υποτύπο καρκίνων μαστού SK-BR-3 με αντοχή στο Herceptin, το SK-BR-3-HR. Τα κύτταρα SK-BR-3-HR εξέφρασαν υψηλά επίπεδα Hsp27, ενώ η καθοδική ρύθμιση του Hsp27 με siRNA είχε ως αποτέλεσμα την αναστροφή της αντίστασης στη δοξορουβικίνη. Με μελέτες ανοσοχημείας, οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το Hsp27 συνδέεται με το HER2 και αυξάνει τη σταθερότητά του [92]. Οι Hwang et al. βρήκε ότι η φωσφορυλίωση της Hsp27 στο υπόλειμμα S15 είναι ένα κρίσιμο γεγονός στην επαγωγή της προαναφερθείσας αντίστασης που προκαλείται από Hsp27 στην ερσεπτίνη. Συγκεκριμένα, η φωσφορυλίωση S15 προάγει τον ενδοπυρηνικό εντοπισμό της Hsp27 και στη συνέχεια την ενεργοποίηση της οδού επιβίωσης AKT. Το J2 είναι ένας λειτουργικός αναστολέας της Hsp27 που βλάπτει τον διμερισμό της Hsp27 και τη φωσφορυλίωση στο υπόλειμμα S15 και αναστέλλει τον ενδοπυρηνικό εντοπισμό της Hsp27, οδηγώντας τελικά σε ευαισθητοποίηση της ερσεπτίνης [92].

4.3.3. Γεμισταβίνη

Η γεμισταβίνη είναι ένα συνθετικό ανάλογο πυριμιδίνης που χρησιμοποιείται ως θεραπεία πρώτης γραμμής για τον καρκίνο του παγκρέατος, ασκώντας την αντικαρκινική της δράση μέσω της επαγωγής απόπτωσης και της αναστολής

της σύνθεσης του DNA στα καρκινικά κύτταρα. Ωστόσο, οι περισσότεροι ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος αναπτύσσουν αντίσταση στη γεμισιταβίνη, οδηγώντας τελικά σε κακή έκβαση των ασθενών [91]. Επί του παρόντος, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις από πρωτεομικές και μεταγραφικές μελέτες ότι η υπερέκφραση της Hsp27 εμπλέκεται σε μεγάλο βαθμό στην αντίσταση της γεμισιταβίνης στον καρκίνο του παγκρέατος, ενώ η μείωση της ρύθμισης της Hsp27, από siRNA ή άλλα μόρια που αναστέλλουν άμεσα τη δραστηριότητα της Hsp27 [9], αποκαθιστά την ευαισθησία στη γεμισιταβίνη σε κυτταρικές σειρές καρκίνου του παγκρέατος [4]. Οι Zhang et al., στην *in vitro* μελέτη τους [76], χρησιμοποίησαν παγκρεατικά κύτταρα ευαίσθητα σε SW1990/gemcitabine και παγκρεατικά κύτταρα ανθεκτικά σε SW1990/gemcitabine. Σε σύγκριση με την πρώτη, η τελευταία κυτταρική σειρά έδειξε σημαντική αύξηση στην έκφραση Hsp27, μαζί με υπερέκφραση του Σαλιγκάρι, μιας πρωτεΐνης ψευδαργύρου που δεσμεύει το DNA και του μεταγραφικού καταστολέα της E-καντερίνης, η οποία επίσης εμπλέκεται στην επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων. Και οι δύο κυτταρικές σειρές στη συνέχεια επιμολύνθηκαν με Hsp27 μικρή φουρκέτα RNA (shRNA) που ρυθμίζει προς τα κάτω την έκφραση Hsp27. Αυτή η προς τα κάτω ρύθμιση της Hsp27 οδήγησε σε επαγωγή απόπτωσης, μείωση του Snail και του ERCC1 και αύξηση των επιπέδων E-cadherin. Αν και οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί δεν διευκρινίστηκαν, οι συγγραφείς πρότειναν ότι η προκαλούμενη από Hsp27 ανοδική ρύθμιση του Snail είχε ως αποτέλεσμα κυτταροσκελετικές αλλαγές, όπως μείωση της E-cadherin, προάγοντας τελικά την EMT των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος, ενώ η αυξημένη έκφραση του ERCC1 έχει συσχετιστεί με αποκατάσταση νουκλεοτιδικής εκτομής μετά

από χημειοθεραπεία [51]. Σε μια άλλη *in vitro* μελέτη, οι Kang et al. χρησιμοποίησε τρεις διαφορετικές παγκρεατικές κυτταρικές σειρές ανθεκτικές στη γεμισιταβίνη: HPAC, MiaPaCa-2 και BxPC3. Η καθοδική ρύθμιση Hsp27 από ανασυνδυασμένο αδενοϊό που εκφράζει TRAIL και Hsp27 shRNA είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη κυτταρική βιωσιμότητα σε μεταλλαγμένα K-ras παγκρεατικά κύτταρα συμπεριλαμβανομένων των HPAC και MiaPaCa-2 μετά από θεραπεία με γεμισιταβίνη. Ωστόσο, αυτός ο θάνατος καρκινικών κυττάρων ήταν νεκρωτικός και όχι αποπτωτικός, όπως υποδηλώθηκε από την αύξηση του νεκρωτικού δείκτη εξωκυτταρικής ομάδας υψηλής κινητικότητας 1 (HMGB1). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι συγγραφείς πρότειναν ότι η αναλογία φωσφορυλιωμένης προς μη φωσφορυλιωμένη Hsp27 είναι ο πιο καθοριστικός παράγοντας για την πρόβλεψη της αντοχής στη γεμισιταβίνη. Επιπλέον, πρότειναν ότι η επαγόμενη από τη γεμισιταβίνη ενεργοποίηση p38/MAPK, η οποία οδηγεί σε φωσφορυλίωση του Hsp27, μπορεί τελικά να οδηγήσει σε αλληλεπίδραση Hsp27-CHK1 [13]. Η CHK1 είναι μια κινάση σερίνης/θρεονίνης που, υπό κανονικές κυτταρικές συνθήκες, ρυθμίζει την αντιγραφή του DNA στη φάση S, την εξέλιξη από τη φάση G2 στη μίτωση και την μιτωτική έξοδο, ενώ υπό κυτταρικό στρες αλληλεπιδρά με άλλες κινάσες, καθυστερώντας την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου, επιτρέποντας έτσι χρόνο για αποκατάσταση βλάβης στο DNA [16].

Κατά συνέπεια, η αλληλεπίδραση Hsp27-CDK1 οδηγεί πιθανώς σε ενεργοποίηση CDK1, περισσότερο χρόνο για την αποκατάσταση της βλάβης του DNA που προκαλείται από τη γεμισιταβίνη και τελικά σε αυξημένη χημειοανθεκτικότητα [103]. Nakashima et al. απέδειξε ότι η γεμισιταβίνη μπορεί να προκαλέσει την ενεργοποίηση της ενεργοποιημένης από μιτογόνο

πρωτεΐνης κινάσης p38 (MAPK) και της ενεργοποιημένης με MAPK πρωτεΐνης κινάσης 2 (MAPKAPK-2) στην κυτταρική σειρά του καρκίνου του παγκρέατος Panc1 και η ενεργοποίηση αυτών των κινασών έχει ως αποτέλεσμα τη φωσφορυλίωση της Hsp27 στο Ser15, 78 και 82 υπολείμματα. Προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο ρόλος του φωσφορυλιωμένου Hsp27, οι συγγραφείς δημιούργησαν δύο τύπους μεταλλαγμένων κυττάρων Panc1 που έχουν διαμολυνθεί με HSP27: κύτταρα 3A που υπερεκφράζουν μη φωσφορυλιώσιμο Hsp27 και κύτταρα 3D που μιμούνται τα κύτταρα Hsp27 Panc-1 που υπερεκφράζουν. Μετά τη θεραπεία με γεμισιταβίνη, τα 3D κύτταρα έδειξαν σημαντική εξασθένηση της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων σε σύγκριση με τα κύτταρα 3A, υποδεικνύοντας ότι η φωσφορυλιωμένη Hsp27 προάγει την επαγόμενη από τη γεμισιταβίνη καταστολή της ανάπτυξης του όγκου [104]. Σε μια νέα μελέτη, οι Baylot et al. διαπίστωσε ότι το OGX-427, ένα αντιπληροφοριακό ολιγονουκλεοτίδιο που λειτουργεί ως αναστολέας HSP27, μπορεί να αυξήσει την ευαισθησία στη γεμισιταβίνη στην κυτταρική σειρά MiaPaCa-2 του καρκίνου του παγκρέατος μέσω της μείωσης της έκφρασης του ευκαρυωτικού μεταφραστικού παράγοντα έναρξης 4E (eIF4E), ενός κατάντη μορίου mTORC μονοπάτι που ρυθμίζεται προς τα πάνω σε πολλούς καρκίνους και σχετίζεται με την επιθετικότητα του όγκου και τη χημειοανθεκτικότητα [107].

4.3.4. 5-FU

Επί του παρόντος, υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι η Hsp27 εμπλέκεται επίσης στη χημειοανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων του παχέος εντέρου

στην 5-φθοροουρακίλη (5-FU) [32]. Χρησιμοποιούμενο ευρέως ως χημειοθεραπευτικός παράγοντας σε πολλαπλούς τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένων αρκετών καρκίνων του γαστρεντερικού σωλήνα, καθώς και καρκίνου του μαστού και του πνεύμονα, το 5-FU είναι ένας αναστολέας της θυμιδυλικής κινάσης που εμποδίζει την αντιγραφή του DNA. Ασκήει την αντικαρκινική του δράση μέσω διαφόρων μοριακών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της επαγωγής απόπτωσης και της διακοπής της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων [12]. Η απόπτωση που προκαλείται από το 5-FU προκαλείται κυρίως μέσω της προς τα κάτω ρύθμισης της οδού σηματοδότησης Akt/mTOR, ενός αρνητικού ρυθμιστή της απόπτωσης, ενώ η αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων είναι το αποτέλεσμα της επαγόμενης από 5-FU ενεργοποίησης της p53, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε Διακοπή του κυτταρικού κύκλου G1/S [12].

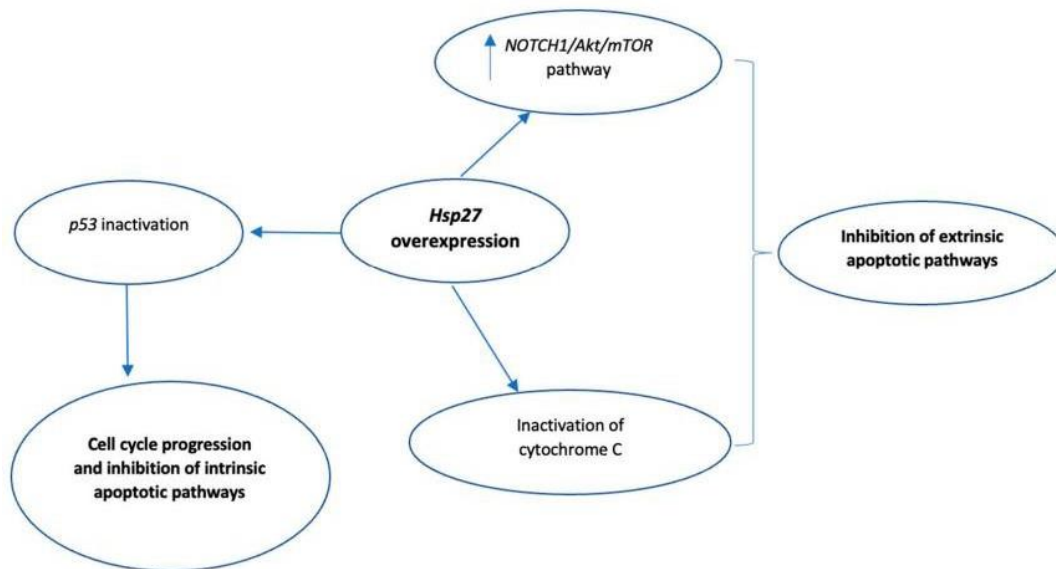
Οι Liu et al. διαπίστωσε ότι τα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου SW480, τα οποία είχαν διαμολυνθεί με φορέα φακοΐου που περιείχε shHsp27 (μόρια RNA βραχείας φουρκέτας που ρυθμίζουν προς τα κάτω το Hsp27), είχαν αυξημένη ευαισθησία στο 5-FU σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου (μεταμολυσμένα με έναν κενό φορέα φακοΐου) [11]. Η τελευταία αύξησε τη χημειοευαισθησία, λόγω επαγωγής απόπτωσης, διαμεσολαβήθηκε από την καταστολή του Hsp27 που είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της έκφρασης NOTCH-1 και επακόλουθη καταστολή της οδού AKT-mTOR, δρώντας έτσι συνεργικά με το 5-FU. Αυτά τα αποτελέσματα επιβεβαιώθηκαν επίσης *in vivo* σε ποντίκια που είχαν ξενομοσχευθεί με καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου SW480 [11]. Σε μια άλλη μελέτη, οι κυτταρικές σειρές καρκίνου του παχέος εντέρου HT-29 και LoVo καλλιεργήθηκαν με υψηλές δόσεις 5-FU για να γίνουν

ανθεκτικές στο 5-FU. Σε σύγκριση με τα γονικά καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου, τα ανθεκτικά σε 5-FU καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου εμφάνισαν μείωση της ρύθμισης του MiR-214, ενός μικρού μη κωδικοποιητικού RNA που έχει βρεθεί ότι δρα ως κατασταλτικός όγκου στα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου. Όταν τα ανθεκτικά καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου διαμολύνθηκαν με μιμήσεις miR-214, οδηγώντας έτσι σε υπερέκφραση του MiR-214, αυτά τα κύτταρα εμφάνισαν αυξημένη αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης του 5-FU. Αυτό έδειξε ότι το miR-214 ευαισθητοποιεί τα καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου σε 5-FU. Α

ξίζει να σημειωθεί ότι οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι αυτή η ευαισθητοποίηση είναι το αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης του MiR-214 με το Hsp27, συγκεκριμένα με τη δέσμευση στο 3' UTR του Hsp27 και έτσι μειώνοντάς το [13]. Ομοίως, οι Jiang et al. πρότεινε ότι ένα άλλο microRNA, το MiR-577, είχε επίσης ιδιότητες καταστολής όγκου σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου SW480 ανθεκτικά σε 5-FU μέσω της άμεσης αλληλεπίδρασης MiR-577 και Hsp27 και επακόλουθης επαγωγής διακοπής του κυτταρικού κύκλου G0/G1, αλλά οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί πίσω από αυτό δεν περιγράφηκε η διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Αυτά τα αποτελέσματα επικυρώθηκαν επίσης *in vivo* καθώς τα ποντίκια που είχαν ξενομοσχευθεί με κύτταρα SW480 που υπερεκφράζουν το MiR-577 παρουσίασαν εξασθένηση της ανάπτυξης του όγκου σε σύγκριση με τους όγκους ελέγχου [114]. Σε μια άλλη μελέτη, οι Sharma et al. διαπίστωσε ότι ο συνδυασμός 5-FU και καρβοπλατίνης αυξάνει την έκφραση των Hsp27 και Hsp40 σε κυτταρικές σειρές ηπατώματος Hep3B και HepG2. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, αυτή η επαγόμενη από 5-FU

υπερέκφραση του Hsp27 βοηθά τα κύτταρα να επιβιώσουν από την κυτταροτοξικότητα του φαρμάκου.

Το τελευταίο επιβεβαιώθηκε από περαιτέρω *in vitro* μελέτες στις οποίες η Hsp27 ρυθμίστηκε προς τα κάτω είτε με κερκετίνη (αναστολέας Hsp) είτε με ειδικό για το Hsp27 siRNA, το οποίο οδήγησε σε μείωση της ρύθμισης της Hsp27 και στη συνέχεια ενίσχυσε την κυτταροτοξικότητα του 5-FU και στις δύο κυτταρικές σειρές ηπατώματος. Αυτή η κυτταροτοξικότητα περιλάμβανε διακοπή του κυτταρικού κύκλου G1/S, πιθανώς λόγω της αδρανοποίησης της Hsp27 (και κατά συνέπεια της ενεργοποίησης της p53), επομένως με τη μεσολάβηση της p53 διακοπής του κυτταρικού κύκλου G1/S [86], καθώς και επαγωγή απόπτωσης που αποδίδεται στην έλλειψη αλληλεπίδραση μεταξύ Hsp27 και κυτοχρώματος C [15]. Μια περίληψη των μοριακών μηχανισμών της αντίστασης στη χημειοθεραπεία με τη μεσολάβηση Hsp27 έναντι του 5-FU παρουσιάζεται στο Σχήμα που ακολουθεί.



Εικόνα 7. Περίληψη των μοριακών μηχανισμών της αντίστασης που προκαλείται από Hsp27 έναντι της 5-φθοροουρακίλης (5-FU). Η αναστολή τόσο των ενδογενών όσο και των εξωγενών αποπτωτικών οδών παίζει βασικό ρόλο στην αντίσταση 5-FU. Κλειδί: NOTCH1, ομόλογο εγκοπής 1; mTOR, θηλαστικός στόχος της ραπαμυκίνης

4.3.5. Temozolomide

Το Temozolomide (TMZ) είναι ένας από του στόματος αλκυλιωτικός παράγοντας που, σε συνδυασμό με ακτινοθεραπεία, έχει βρεθεί ότι προάγει τη συνολική επιβίωση σε ασθενείς με γλοίωμα. Το TMZ ασκεί τις αντικαρκινικές του ιδιότητες μέσω του σχηματισμού της Ο6-μεθυλγουανίνης στο DNA που ζευγαρώνει λάθος με τη θυμίνη κατά την αντιγραφή του DNA, με αποτέλεσμα τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου της φάσης G2/M και τελικά τον κυτταρικό θάνατο από απόπτωση ή αυτοφαγία [25].

Η κερσετίνη (3,30,40,5,7-πενταϋδροξυφλαβόνη) είναι ένα флаβονοειδές που βρίσκεται σε φρούτα και λαχανικά που σχετίζεται με διάφορες αντικαρκινικές επιδράσεις, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της αντίστασης στον καρκίνο στις κυτταρικές γραμμές του ανθρώπινου γλοιοβλαστώματος, της λευχαιμίας και των καρκίνων του στόματος [14].

Στις κυτταρικές σειρές ανθρώπινου γλοιοβλαστώματος (GBM) U251 και U87, η κερκετίνη ενεπλάκη στην απόπτωση που προκαλείται από την TMZ, όπως υποδηλώνεται από τα αυξημένα επίπεδα δραστηριότητας της κασπάσης 3. Ειδικότερα, ο συνδυασμός κερκετίνης και TMZ άσκησε καλύτερη κυτταροτοξική δράση *in vitro* σε σύγκριση μόνο στο TMZ. Χρησιμοποιώντας Hsp27-ειδικά siRNAs, οι συγγραφείς πρότειναν ότι αυτή η χημειοευαισθητοποίηση οφειλόταν στην επαγόμενη από την κερκετίνη αναστολή Hsp27, η οποία με τη σειρά της οδήγησε στην προώθηση των μιτοχονδριακών αποπτωτικών οδών, ενισχύοντας τελικά τα αποπτωτικά αποτελέσματα της TMZ [18]. Οι Li et al., χρησιμοποιώντας κυτταρικές σειρές U251 και U87 GBM *in vitro*, διαπίστωσαν ότι η επεξεργασία αυτών των κυττάρων με t-AUCB, έναν διαλυτό αναστολέα εποξειδικής υδρολάσης με αντικαρκινικές ιδιότητες, προκάλεσε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1.

Οι συγγραφείς ανέφεραν επίσης ότι η θεραπεία με t-AUCB οδήγησε σε ενεργοποίηση Hsp27, η οποία με τη σειρά της ενίσχυσε την έκφραση COX-2, έναν βασικό δείκτη φλεγμονής που σχετίζεται με κακή πρόγνωση στα γλοιώματα. Ωστόσο, όταν τα κύτταρα GBM υποβλήθηκαν σε θεραπεία για πρώτη φορά με κερκετίνη, η οποία μπλοκάρει τόσο την Hsp27 όσο και την COX-2, ο συνδυασμός t-AUCB και κερκετίνης επέδειξε καλύτερα αντιπολλαπλασιαστικά αποτελέσματα σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία με t-

AUCB, υποδηλώνοντας σημαντικό ρόλο της Hsp27 και της COX- Αντίσταση 2 σε t-AUCB. Ωστόσο, οι μοριακές πτυχές της αντίστασης t-AUCB που προκαλείται από Hsp27- και COX-2 δεν διευκρινίστηκαν. Η ευαισθητοποίηση των κυττάρων GBM στο t-AUCB με τη χρήση κερκετίνης παρατηρήθηκε επίσης *in vivo* σε ποντίκια ξενομοσχευμένα με κύτταρα U87 GBM [21]. Σε μια άλλη μελέτη, οι ίδιοι συγγραφείς, χρησιμοποιώντας τις ίδιες κυτταρικές σειρές GBM *in vitro*, ανέφεραν ότι η t-AUCB ενίσχυσε την έκφραση του Atg7, ενός μορίου της Hsp27 που συμμετέχει όχι μόνο στον σχηματισμό αυτοφαγοσωμάτων αλλά και στην αποπτωτική αντίσταση των κυττάρων GBM σε t-AUCB. Επιπλέον, ο συνδυασμός κερκετίνης και t-AUCB είχε καλύτερη αντιπολλαπλασιαστική δράση σε σύγκριση με την t-AUCB μόνο, που αποδίδεται στην επαγόμενη από την κερκετίνη απόφραξη της αυτοφαγίας που προκαλείται από Atg7 [22]. Οι Jakubowicz-Gil et al., χρησιμοποιώντας ανθρώπινα κύτταρα GBM T98G *in vitro*, ανέφεραν ότι η κερκετίνη αύξησε το στρες ER που προκαλείται από την TMZ και διευκόλυνε την απόπτωση που προκαλείται από την TMZ. Και τα δύο ήταν αποτέλεσμα αποκλεισμού του Hsp27 με τη μεσολάβηση κερκετίνης, ωστόσο οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί παρέμειναν άγνωστοι [23].

Η πρόκληση απόπτωσης, όπως υποδεικνύεται από την αυξημένη δραστηριότητα της κασπάσης-3 και της κασπάσης-9, ήταν ο κύριος κυτταροτοξικός μηχανισμός του συνδυασμού φαρμάκου κερκετίνης και TMZ όχι μόνο στα κύτταρα GBM T98G αλλά και στα κύτταρα MOGGCCM αστροκυτώματος ανθρώπινου εγκεφάλου. Για άλλη μια φορά, ο συνδυασμός φαρμάκων δεν επηρέασε την πρόκληση αυτοφαγίας [24]. Αν και οι προαναφερθείσες μελέτες δεν παρείχαν στοιχεία σχετικά με τις μοριακές πτυχές της κυτταροπροστασίας με τη μεσολάβηση Hsp27 έναντι της

τεμοζολομίδης, υπάρχουν *in vitro* μελέτες που υποδηλώνουν ότι η υπερέκφραση της Hsp27 αυξάνει την έκφραση του Akt και μειώνει τα επίπεδα ROS [15]. Το πρώτο έχει ως αποτέλεσμα την ανοδική ρύθμιση της οδού σηματοδότησης Akt/mTOR και την επακόλουθη αναστολή της απόπτωσης, ενώ το δεύτερο αποτέλεσμα οδηγεί σε καταστολή των εγγενών μιτοχονδριακών αποπτωτικών οδών [16].

4.3.6. Πακλιταξέλη

Η πακλιταξέλη είναι ένα φάρμακο χημειοθεραπείας που χρησιμοποιείται συχνά για τη θεραπεία διαφόρων μορφών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου των ωοθηκών, του μαστού και του πνεύμονα. Όσον αφορά τον μηχανισμό δράσης της, η πακλιταξέλη συνδέεται με την πρωτεΐνη β-τουμπουλίνη του μικροσωληνίσκου και σταθεροποιεί τη μιτωτική άτρακτο, οδηγώντας τελικά στην αναστολή της μίτωσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Αν και το φάρμακο χρησιμοποιείται συνήθως στη θεραπεία του καρκίνου των ωοθηκών, η ανάπτυξη αντίστασης σε αυτόν δεν είναι ασυνήθιστη, οδηγώντας τελικά σε κακά αποτελέσματα. Η Hsp27 υπερεκφράζεται σε επιθετικές μορφές καρκίνου των ωοθηκών και φαίνεται να εμπλέκεται σε αυτή την αντίσταση στην πακλιταξέλη. Μια ανασταλτική επίδραση της πακλιταξέλης στην έκφραση της Hsp27 παρατηρήθηκε σε μελέτες που χρησιμοποιούσαν κυτταρικές σειρές καρκίνου των ωοθηκών *in vitro* [17].

Εκτός από τη σύνδεση με μικροσωληνίσκους, η πακλιταξέλη προάγει τον σχηματισμό ελεύθερων ριζών και την επαγωγή κυτταρικού οξειδωτικού στρες, πιθανώς ενεργοποιώντας την οξειδάση NADPH. Ως εκ τούτου, είναι λογικό να υποθέσουμε ότι η υπερέκφραση της Hsp27, ενός παράγοντα προστασίας από το οξειδωτικό στρες, μπορεί να περιορίσει την αποτελεσματικότητα της πακλιταξέλης. Αναφέρθηκε ότι η υπορρύθμιση της Hsp27 από μικρά παρεμβαλλόμενα RNA (siRNA) και η επακόλουθη αναστολή της συνοδευτικής της δράσης στο οξειδωτικό στρες φαίνεται να ενισχύουν την ευαισθησία της πακλιταξέλης στα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών (HO8910)

καθώς και στα καρκινικά κύτταρα της ουροδόχου κύστης αυξάνοντας ποσοστό απόπτωσης [19]. Η εμπλοκή των ελεύθερων ριζών στο τελευταίο αποτέλεσμα ενισχύεται από το γεγονός ότι η χρήση της N-ακετυλο-κυστεΐνης, ενός καθαριστή ROS, περιορίζει την επίδραση της διαμεσολαβούμενης από si-RNA σίγησης Hsp27 [18].

Σε κύτταρο UMUC-3 του ανθρώπινου καρκίνου της ουροδόχου κύστης *in vitro*, η προς τα κάτω ρύθμιση Hsp27 μέσω siRNA ή OGX-427 (ένα αντιπληροφοριακό ολιγονουκλεοτίδιο που στοχεύει Hsp27) έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης των καρκινικών κυττάρων και την αύξηση του αποπτωτικού ρυθμού μετά από θεραπεία με πακλιταξέλη. Το UMUC-3 έχει ένα μεταλλαγμένο γονίδιο p53, επομένως ο μηχανισμός της αναστολής της απόπτωσης είναι πιθανώς ανεξάρτητος από το p53 και το αποτέλεσμα πιθανώς προκαλείται μέσω της μείωσης της ενεργοποίησης της κασπάσης-3. Το OGX-427 φαίνεται να ενισχύει την αποτελεσματικότητα της πακλιταξέλης *in vitro* και τον αποπτωτικό ρυθμό *in vivo* σε ποντίκια που έχουν ξενομοσχευθεί με UMUC-3 [29].

Όσον αφορά τις επιδράσεις της ντοσεταξέλης (άλλο ταξάνιο) στην ανάπτυξη αντοχής στα φάρμακα, οι Stope et al. διαπίστωσε ότι προκάλεσε την ενεργοποίηση της ενεργοποιημένης από μιτογόνο πρωτεΐνη κινάσης p38 (p38 MAPK) και της πρωτεϊνικής κινάσης D1 (PKD1) σε καρκινικά κύτταρα του προστάτη. Η ενεργοποίηση αυτών των κινασών είχε ως αποτέλεσμα μια ταχεία αλλά παροδική (διάρκεια περίπου 48 ωρών) φωσφορυλίωση της Hsp27 που σχετίζεται με αυξημένη ευαισθησία έναντι της ντοσεταξέλης, ενώ η μόνιμη φωσφορυλίωση της Hsp27 οδήγησε σε αυξημένη αντίσταση στη δοσεταξέλη [10].

4.4. Άλλοι αναστολείς Hsp27

Το RP101 (Brivudine) είναι ένας νουκλεοζίτης που αλληλεπιδρά άμεσα με το Hsp27 μέσω δέσμευσης π-στοίβαξης με Phe33 και Phe29 του Hsp27, μειώνοντας τελικά την προαγωγή της απόπτωσης που προκαλείται από το Hsp27 [1]. Στα κύτταρα σαρκώματος αρουραίου AH13r, ο συνδυασμός RP101 με μιτομυκίνη C πέτυχε καλύτερο έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε σύγκριση με τη μιτομυκίνη C μόνο, ενώ στα ανθρώπινα κύτταρα ινοσάρκωμα HT-1080, η γεμισιταβίνη και η RP101 μείωσαν τη διεισδυτικότητα του όγκου κατά περίπου 40% σε σύγκριση με μόνη της gemcitabine. . In vivo, το RP101 μαζί με κυκλοφωσφαμίδη ή σισπλατίνη άσκησε ανώτερα αντιπολλαπλασιαστικά αποτελέσματα σε σύγκριση με τη μονοθεραπεία σε αρουραίους Sprague–Dawley (SD) ξενομοσχευμένους με κύτταρα σαρκώματος AH13r [1].

Επιπλέον, σε μια πιλοτική κλινική μελέτη σε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος, ο συνδυασμός RP101 και γεμισιταβίνης παρήγαγε όφελος επιβίωσης 8,5 μηνών σε σύγκριση με τη γεμισιταβίνη μόνη της, αλλά σε μια κλινική δοκιμή φάσης II, η συνδυαστική θεραπεία αύξησε τη διάμεση επιβίωση κατά περίπου 2,20 μήνες σε σύγκριση με στη μονοθεραπεία με ορισμένες ανεπιθύμητες ενέργειες που προκαλούνται από τη γεμισιταβίνη, ιδιαίτερα σε ελαφριούς ασθενείς [11]. Η ιβερμεκτίνη είναι ένα αντιπαράσιτικό φάρμακο που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία πολλών παρασίτων, όπως στη μόλυνση από νηματοσκώληκες (*Strongyloides stercoralis*), *onchocerca volvulus* (τύφλωση ποταμού), φιλαρίαση και ψώρα. Σε μια νέα μελέτη, οι Nappi et al. διαπίστωσε ότι η ιβερμεκτίνη αναστέλλει τη φωσφορυλίωση της Hsp27 που προκαλείται

από το MAPKAPK2 σε υπολείμματα σερίνης στους θύλακες φωσφορυλίωσης των 24-μερών του Hsp27 που σχηματίζονται από δώδεκα διμερή Hsp27. Η φωσφορυλίωση αυτών των υπολειμμάτων σερίνης υπό κανονικές συνθήκες έχει ως αποτέλεσμα τον αποπολυμερισμό των 24-μερών και την επακόλουθη ενεργοποίηση πολλών οδών σηματοδότησης. Ως εκ τούτου, η ιβερμεκτίνη βλάπτει τη φωσφορορύθμιση της Hsp27 και έχει ως αποτέλεσμα την κατάρρευση αυτών των οδών σηματοδότησης, συμπεριλαμβανομένων των EGFR και HER2. Στη μελέτη τους, ανέφεραν επίσης ότι το Hsp27 αναστέλλει τη φωσφατάση SHPTP1, η οποία αποφωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί τον EGFR. Η ερλοτινίμπη, ένας αναστολέας EGFR που χρησιμοποιείται στον καρκίνο του πνεύμονα, μπορεί να προκαλέσει αύξηση στην ενεργοποίηση της Hsp27 και επακόλουθη αναστολή του SHPTP1, γεγονός που μπορεί να περιορίσει την αποτελεσματικότητά του. Η ιβερμεκτίνη μείωσε την αναστολή του SHPTP1 με τη μεσολάβηση Hsp27 και μείωσε την αντίσταση στην erlotinib. Η ιβερμεκτίνη ευαισθητοποίησε επίσης τη θεραπεία στέρησης των καρκινικών κυττάρων του προστάτη με αντοχή σε ευνουχισμό, πιθανώς με την εξασθένιση της πυρηνικής μεταφοράς υποδοχέων ανδρογόνων με τη μεσολάβηση Hsp27 [2]. Ο Πίνακας 1 συνοψίζει τους αναστολείς Hsp27, τους παράγοντες χημειοθεραπείας των οποίων η δραστηριότητα ενισχύθηκε και κάθε τύπο καρκίνου.

4.5. Κλινικές δοκιμές με αναστολείς Hsp27

Επί του παρόντος, μόνο λίγες κλινικές δοκιμές έχουν μελετήσει εάν οι αναστολείς Hsp27 μπορούν να ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα των καθιερωμένων παραγόντων χημειοθεραπείας στον άνθρωπο [56]. Σε μια μελέτη φάσης I σε 42 ασθενείς με ανθεκτικό στον ευνουχισμό καρκίνο του προστάτη, ο παράγοντας OGX-427 μείωσε τον αριθμό των κυττάρων που κυκλοφορούν στον όγκο και τα επίπεδα ειδικού προστατικού αντιγόνου (το τελευταίο μειώθηκε κατά πάνω από 50% στο 10% των ασθενών) [33]. Σε μια πολυκεντρική κλινική δοκιμή φάσης II («Borealis») με 99 ασθενείς, ο συνδυασμός OGX-427 και docetaxel βελτίωσε τη συνολική επιβίωση ασθενών με μεταστατικό ουροθηλιακό καρκίνο σε σύγκριση με τη docetaxel μόνη της. Είναι ενδιαφέρον ότι οι ασθενείς με πιο ευνοϊκά αποτελέσματα εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα Hsp27 [14]. Αντίθετα, σε μια άλλη δοκιμή φάσης II με μη πλακώδες καρκίνωμα, το OGX-427 δεν βελτίωσε τη συνολική επιβίωση σε ασθενείς που έλαβαν την τυπική θεραπεία με καρβοπλατίνη [35]. Ομοίως, στη δοκιμή φάσης II RAINIER σε ασθενείς με μεταστατικό

καρκίνος του παγκρέατος, το OGX-427 δεν βελτίωσε τη συνολική επιβίωση των ασθενών που έλαβαν θεραπεία με OGX-427 και γεμισιταβίνη/πακλιταξέλη έναντι της τυπικής θεραπείας. Ωστόσο, οι ασθενείς με πιο ευνοϊκή πρόγνωση εμφάνισαν χαμηλότερα επίπεδα Hsp27 [13]. Όσον αφορά τους άλλους αναστολείς Hsp27, μόνο η βριβουδίνη έχει αξιολογηθεί σε κλινική δοκιμή φάσης II σε ασθενείς με καρκίνο του παγκρέατος.

5 . Συμπεράσματα

Οι HSPs ανακαλύφθηκαν το 1974 και οι επιστήμονες άρχισαν να ενδιαφέρονται ευρέως για αυτήν την οικογένεια πρωτεϊνών. Αργότερα, έγινε σταδιακά σαφές ότι τα HSP έπαιξαν σημαντικό ρόλο στην καρκινογένεση και την κακοήγη εξέλιξη ρυθμίζοντας την αγγειογένεση, τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την απόπτωση, τη μετανάστευση, την εισβολή και τη μετάσταση. Ως εκ τούτου, οι HSPs έχουν λάβει αυξανόμενη προσοχή ως διαγνωστικοί βιοδείκτες καρκίνου και θεραπευτικοί στόχοι καρκίνου. Όπως φαίνεται στον Πίνακα 1, ο ενεργοποιημένος HSF και τα υψηλά επίπεδα HSP συνδέθηκαν με την έγκαιρη διάγνωση, την προγνωστική πρόβλεψη, την μετεγχειρητική παρακολούθηση και την πρόβλεψη της αντοχής στα φάρμακα σε διάφορους τύπους καρκίνου, γεγονός που τους δίνει προοπτικές ως κλινικοί βιοδείκτες. Επιπλέον, τα HSP ρυθμίζουν επίσης τις μεταβολικές οδούς και συμμετέχουν στον μεταβολισμό του καρκίνου, γεγονός που παρέχει περισσότερες ευκαιρίες για αντικαρκινικές θεραπείες.

Επιπλέον, τα HSPs μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως στόχοι για τη θεραπεία του καρκίνου. Πρόσφατα, έχουν γίνει αρκετές σημαντικές πρόοδοι στον τομέα των αναστολέων HSP (Πίνακας 2). Σύμφωνα με προκλινικές και κλινικές μελέτες, ορισμένοι αναστολείς που βασίζονται σε HSP και θεραπείες εμβολίων είναι αποτελεσματικοί και πολλά υποσχόμενοι στη θεραπεία του καρκίνου. Ωστόσο, ο καρκίνος είναι μια εξαιρετικά περίπλοκη ασθένεια που

προκαλείται από πολλούς παράγοντες, περιλαμβάνει πολλά γονίδια και εξελίσσεται σε πολλαπλά στάδια. Η χρήση αναστολέων HSP ή εμβολίων από μόνη της μπορεί να οδηγήσει σε απόκτηση αντοχής στο φάρμακο, μείωση του εύρους ασφάλειας και βλαβερή έκβαση από σοβαρή τοξικότητα ιστών ή οργάνων . Ως εκ τούτου, η χρήση συνδυαστικών θεραπειών, όπως οι αναστολείς HSP90 σε συνδυασμό με τη συμβατική κυτταροτοξική θεραπεία, στοχευμένοι βιολογικοί παράγοντες ή/και ακτινοθεραπεία , μπορεί να είναι μια πολλά υποσχόμενη κατεύθυνση για τη βελτίωση της ασφάλειας και της αποτελεσματικότητας για τη θεραπεία του καρκίνου.

Δεδομένης της πολυπλοκότητας των συσχετίσεων HSP, περαιτέρω μελέτες θα πρέπει να παρέχουν βαθύτερη κατανόηση της βασικής βιολογίας, φαρμακολογίας και θεραπευτικών δυνατοτήτων των HSP, και θα πρέπει επίσης να προσπαθήσουμε να κατανοήσουμε περαιτέρω τον ρόλο των HSP στη ρύθμιση του μικροπεριβάλλοντος του όγκου, το οποίο θα συμβάλει στο σχεδιασμό του αποτελεσματικότερες στρατηγικές ανοσοθεραπείας. Συμπερασματικά, η στόχευση ή η ανοσοθεραπεία που βασίζεται σε HSP θα παραμείνει μια σημαντική εστίαση στον τομέα της θεραπείας του καρκίνου και αναμένουμε ότι θα οδηγήσει στην ανακάλυψη πιο αποτελεσματικών και ασφαλέστερων αντικαρκινικών φαρμάκων.

Η Hsp27 σχετίζεται με την ανάπτυξη αντοχής έναντι πολλαπλών χημειοθεραπευτικών παραγόντων, σε διάφορους τύπους καρκίνου και με διαφορετικούς μοριακούς μηχανισμούς, ενώ η μείωση ή η αναστολή της Hsp27 οδηγεί στην αναστροφή της αντίστασης. Ωστόσο, οι ακριβείς μηχανισμοί της αντίστασης που προκαλείται από το Hsp27 παραμένουν ασαφείς και ποικίλλουν σε διαφορετικούς τύπους καρκίνου, καθιστώντας έτσι αναγκαία τη

διεξαγωγή περαιτέρω μελετών για την αποσαφήνιση τους. Η μεσολαβούμενη από Hsp27 αναστολή του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53 από έναν προς το παρόν άγνωστο μηχανισμό συνδέεται με την αντίσταση στη δοξορουβικίνη πιθανώς μέσω μειωμένης ενεργοποίησης των προς τα κάτω στόχων της p53, όπως η p21 και η STAT3 που εμπλέκονται στην κυτταρική γήρανση και την επαγωγή απόπτωσης, αντίστοιχα. Επιπλέον, η αναστολή της p53 πιθανώς μειώνει την ενεργοποίηση της τοποϊσομεράσης II, ενός πρωταρχικού στόχου δοξορουβικίνης, και ως εκ τούτου η εξαρτώμενη από το Hsp27 αναστολή της p53 μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη αντίσταση στη δοξορουβικίνη. Αντίθετα, η κυτταροπροστατευτική δράση του Hsp27 από το επαγόμενο από την πακλιταξέλη κυτταρικό στρες φαίνεται να προκαλείται μέσω ενός μηχανισμού ανεξάρτητου από το p53. Τέλος, τα δεδομένα σχετικά με το ρόλο της Hsp27 στην αντίσταση στην ερσεπτίνη παραμένουν στην αρχή τους, αλλά η Hsp27 φαίνεται να δεσμεύει και να σταθεροποιεί τον υποδοχέα HER2.

Βιβλιογραφία

1. C.W. Yun, H.J. Kim, J.H. Lim, S.H. Lee Heat shock proteins: agents of cancer development and therapeutic targets in anti-cancer therapy *Cells*, 9 (2019), p. 9, 10.3390/cells9010060
2. R.J. Ellis. Protein misassembly: macromolecular crowding and molecular chaperones *Adv. Exp. Med. Biol.*, 594 (2007), pp. 1-13, 10.1007/978-0-387-39975-1_1
3. S. Lindquist, E.A. Craig. The heat-shock proteins *Annu. Rev. Genet.*, 22 (1988), pp. 631-677, 10.1146/annurev.ge.22.120188.003215 View article View in ScopusGoogle Scholar
4. M. Haslbeck, E. Vierling A first line of stress defense: small heat shock proteins and their function in protein homeostasis *J. Mol. Biol.*, 427 (2015), pp. 1537-1548, 10.1016/j.jmb.2015.02.002
5. A. Bepperling, F. Alte, T. Kriehuber, N. Braun, S. Weinkauff, M. Groll, M. Haslbeck, J. Buchner Iternative bacterial two-component small heat shock protein systems *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109 (2012), pp. 20407-20412, 10.1073/pnas.1209565109
6. S. Grosicki, M.. Bednarczyk, G. Janikowska. Heat shock proteins as a new, promising target of multiple myeloma therapy *Expert Rev. Hematol.*, 13 (2020), pp. 117-126, 10.1080/17474086.2020.1711730

7. M. Jäättelä. Heat shock proteins as cellular lifeguards *Ann. Med.*, 31 (1999), pp. 261-271, 10.3109/07853899908995889
8. S. Chatterjee, T.F. Burns. Targeting heat shock proteins in cancer: a promising therapeutic approach *Int. J. Mol. Sci.*, 18 (2017), p. 18, 10.3390/ijms18091978
9. E. de Billy, M.V. Powers, J.R. Smith, P. Workman. Drugging the heat shock factor 1 pathway: exploitation of the critical cancer cell dependence on the guardian of the proteome. *Cell Cycle*, 8 (2009), pp. 3806-3808, 10.4161/cc.8.23.10423
10. E.A. Taha, K. Ono, T. Eguchi. Roles of extracellular HSPs as biomarkers in immune surveillance and immune evasion. *Int. J. Mol. Sci.*, 20 (2019), p. 20, 10.3390/ijms20184588
11. A. Hoter, H.Y. Naim. Heat shock proteins and ovarian cancer: important roles and therapeutic opportunities *Cancers*, 11 (2019), p. 11, 10.3390/cancers11091389
12. R. Bagatell, L. Whitesell. Altered Hsp90 function in cancer: a unique therapeutic opportunity. *Mol. Cancer Ther.*, 3 (2004), pp. 1021-1030
13. S. Chatterjee, S. Bhattacharya, M.A. Socinski, T.F. Burns. HSP90 inhibitors in lung cancer: promise still unfulfilled. *Clin. Adv. Hematol. Oncol.*, 14 (2016), pp. 346-356
14. S.K. Calderwood, J. Gong. Heat shock proteins promote cancer: it's a protection racket. *Trends Biochem. Sci.*, 41 (2016), pp. 311-323, 10.1016/j.tibs.2016.01.003

15. J.K. Das, X. Xiong, X. Ren, J.M. Yang, J. Song. Heat shock proteins in cancer immunotherapy. *J. Oncol.*, 2019 (2019), Article 3267207, 10.1155/2019/3267207

16. O. Straume, T. Shimamura, M.J. Lampa, J. Carretero, A.M. Øyan, D. Jia, C.L. Borgman, M. Soucheray, S.R. Downing, S.M. Short, S.Y. Kang, S. Wang, L. Chen, K. Collett, I. Bachmann, K.K. Wong, G.I. Shapiro, K.H. Kalland, J. Folkman, R.S. Watnick, L.A. Akslen, G.N. Naumov. Suppression of heat shock protein 27 induces long-term dormancy in human breast cancer

17. M. Gehrmann, M. Cervello, G. Montalto, F. Cappello, A. Gulino, C. Knape, H.M. Specht, G. Multhoff

Heat shock protein 70 serum levels differ significantly in patients with chronic hepatitis, liver cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Front. Immunol.*, 5 (2014), p. 307, 10.3389/fimmu.2014.00307

18. W.C. Cho. Contribution of oncoproteomics to cancer biomarker discovery
Mol. Cancer, 6 (2007), p. 25, 10.1186/1476-4598-6-25

19. C. Jolly, R.I. Morimoto. Role of the heat shock response and molecular chaperones in oncogenesis and cell death. *J. Natl. Cancer Inst.*, 92 (2000), pp. 1564-1572, 10.1093/jnci/92.19.1564

20. A.T. Hoang, J. Huang, N. Rudra-Ganguly, J. Zheng, W.C. Powell, S.K. Rabindran, C. Wu, P. Roy-Burman. A novel association between the human heat shock transcription factor 1 (HSF1) and prostate adenocarcinoma
Am. J. Pathol., 156 (2000), pp. 857-864, 10.1016/s0002-9440(10)64954-1

21. L. Shi, Y. Chevolot, E. Souteyrand, E. Laurenceau. Autoantibodies against heat shock proteins as biomarkers for the diagnosis and prognosis of cancer
Cancer Biomark. Sect. A Dis. Markers, 18 (2017), pp. 105-116, 10.3233/cbm-160117
22. D.R. Ciocca, S.K. Calderwood. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications
Cell Stress Chaperon.-., 10 (2005), pp. 86-103, 10.1379/csc-99r.1
23. T.L. Prince, B.J. Lang, M.E. Guerrero-Gimenez, J.M. Fernandez-Muñoz, A. Ackerman, S.K. Calderwood
HSF1: primary factor in molecular chaperone expression and a major contributor to cancer morbidity. Cells, 9 (2020), p. 9, 10.3390/cells9041046
24. C. Dai, S.B. Sampson. HSF1: guardian of proteostasis in cancer
Trends Cell Biol., 26 (2016), pp. 17-28, 10.1016/j.tcb.2015.10.011
25. S. Jiang, K. Tu, Q. Fu, D.C. Schmitt, L. Zhou, N. Lu, Y. Zhao. Multifaceted roles of HSF1 in cancer. Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodev. Biol. Med., 36 (2015), pp. 4923-4931, 10.1007/s13277-015-3674-x
26. R.L. Carpenter, Y. Gökmen-Polar. HSF1 as a cancer biomarker and therapeutic target. Curr. Cancer Drug Targets, 19 (2019), pp. 515-524, 10.2174/1568009618666181018162117
27. T. Wan, J. Shao, B. Hu, G. Liu, P. Luo, Y. Zhou. Prognostic role of HSF1 overexpression in solid tumors: a pooled analysis of 3,159 patients. OncoTargets Ther., 11 (2018), pp. 383-393, 10.2147/ott.s153682

28. S. Santagata, R. Hu, N.U. Lin, M.L. Mendillo, L.C. Collins, S.E. Hankinson, S.J. Schnitt, L. Whitesell, R.M. Tamimi, S. Lindquist, T.A. Ince. High levels of nuclear heat-shock factor 1 (HSF1) are associated with poor prognosis in breast cancer

29. Y. Gökmen-Polar, S. Badve. Upregulation of HSF1 in estrogen receptor positive breast cancer

Oncotarget, 7 (2016), pp. 84239-84245, 10.18632/oncotarget.12438

30. H. Engerud, I.L. Tangen, A. Berg, K. Kusonmano, M.K. Halle, A.M. Oyan, K.H. Kalland, I. Stefansson, J. Trovik, H.B. Salvesen, C. Krakstad

High level of HSF1 associates with aggressive endometrial carcinoma and suggests potential for HSP90 inhibitors

31. Y. Chen, J. Chen, A. Loo, S. Jaeger, L. Bagdasarian, J. Yu, F. Chung, J. Korn, D. Ruddy, R. Guo, M.E. McLaughlin, F. Feng, P. Zhu, F. Stegmeier, R. Pagliarini, D. Porter, W. Zhou. Targeting HSF1 sensitizes cancer cells to HSP90 inhibition. Oncotarget, 4 (2013), pp. 816-829, 10.18632/oncotarget.991

32. Y. Tsukao, M. Yamasaki, Y. Miyazaki, T. Makino, T. Takahashi, Y. Kurokawa, H. Miyata, K. Nakajima, S. Takiguchi, K. Mimori, M. Mori, Y. Doki

Overexpression of heat-shock factor 1 is associated with a poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma

33. J. Ishiwata, A. Kasamatsu, K. Sakuma, M. Iyoda, M. Yamatoji, K. Usukura, S. Ishige, T. Shimizu, Y. Yamano, K. Ogawara, M. Shiiba, H. Tanzawa, K. Uzawa. State of heat shock factor 1 expression as a putative diagnostic marker for oral squamous cell carcinoma

Int. J. Oncol., 40 (2012), pp. 47-52, 10.3892/ijo.2011.1178

34.K. Yasuda, Y. Hirohashi, T. Mariya, A. Murai, Y. Tabuchi, T. Kuroda, H. Kusumoto, A. Takaya, E. Yamamoto, T. Kubo, M. Nakatsugawa, T. Kanaseki, T. Tsukahara, Y. Tamura, H. Hirano, T. Hasegawa, T. Saito, N. Sato, T. Torigoe. Phosphorylation of HSF1 at serine 326 residue is related to the maintenance of gynecologic cancer stem cells through expression of HSP27

Oncotarget, 8 (2017), pp. 31540-31553, 10.18632/oncotarget.16361

35.H.S. Hsu, J.H. Lin, W.C. Huang, T.W. Hsu, K. Su, S.H. Chiou, Y.T. Tsai, S.C. Hung. Chemoresistance of lung cancer stemlike cells depends on activation of Hsp27. Cancer, 117 (2011), pp. 1516-1528, 10.1002/cncr.25599

36.J. Acunzo, M. Katsogiannou, P. Rocchi. Small heat shock proteins HSP27 (HspB1), α B-crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as regulators of cell death. Int. J. Biochem. Cell Biol., 44 (2012), pp. 1622-1631, 10.1016/j.biocel.2012.04.002

37.M. Katsogiannou, C. Andrieu, P. Rocchi. Heat shock protein 27 phosphorylation state is associated with cancer progression. Front. Genet., 5 (2014), p. 346, 10.3389/fgene.2014.00346

38.J.D. Konda, M. Olivero, D. Musiani, S. Lamba, M.F. Di Renzo. Heat-shock protein 27 (HSP27, HSPB1) is synthetic lethal to cells with oncogenic activation of MET, EGFR and BRAF. Mol. Oncol., 11 (2017), pp. 599-611, 10.1002/1878-0261.12042

39.E.A. Voll, I.M. Ogden, J.M. Pavese, X. Huang, L. Xu, B.D. Jovanovic, R.C. Bergan. Heat shock protein 27 regulates human prostate cancer cell motility and

metastatic progression. *Oncotarget*, 5 (2014), pp. 2648-2663, 10.18632/oncotarget.1917

40. T. Zou, J.Y. Liu, L. She, J.Y. Yin, X. Li, X.P. Li, H.H. Zhou, J. Chen, Z.Q. Liu. The association between heat-shock protein polymorphisms and prognosis in lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Front. Pharmacol.*, 11 (2020), p. 1029, 10.3389/fphar.2020.01029

41. M. Zhao, J.X. Ding, K. Zeng, J. Zhao, F. Shen, Y.X. Yin, Q. Chen

Heat shock protein 27: a potential biomarker of peritoneal metastasis in epithelial ovarian cancer? *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodev. Biol. Med.*, 35 (2014), pp. 1051-1056, 10.1007/s13277-013-1139-7

42. B. Sheng, C. Qi, B. Liu, Y. Lin, T. Fu, Q. Zeng. Increased HSP27 correlates with malignant biological behavior of non-small cell lung cancer and predicts patient's survival. *Sci. Rep.*, 7 (2017), p. 13807, 10.1038/s41598-017-13956-2

43. S. Janik, A.I. Schiefer, C. Bekos, P. Hacker, T. Haider, J. Moser, W. Klepetko, L. Müllauer, H.J. Ankersmit, B. Moser. HSP27 and 70 expression in thymic epithelial tumors and benign thymic alterations: diagnostic, prognostic and physiologic implications. *Sci. Rep.*, 6 (2016), p. 24267,

44. K. Bauer, U. Nitsche, J. Slotta-Huspenina, E. Drecol, C.H. von Weyhern, R. Rosenberg, H. Höfler, R. Langer

High HSP27 and HSP70 expression levels are independent adverse prognostic factors in primary resected colon cancer

Cell. Oncol., 35 (2012), pp. 197-205, 10.1007/s13402-012-0079-3

[View article](#) [View in Scopus](#) [Google Scholar](#)

45. Lampros, M., Vlachos, N., Voulgaris, S., & Alexiou, G. A.
The role of hsp27 in chemotherapy resistance. *Biomedicines*, 10(4), 897.
(2022)
46. Roche, J. The Epithelial-To-Mesenchymal Transition in Cancer. *Cancers*
2018, 10, 52. [CrossRef]
47. Brabletz, T.; Kalluri, R.; Nieto, M.A.; Weinberg, R.A. EMT in Cancer. *Nat.*
Rev. Cancer 2018, 18, 128–134. [CrossRef]
48. Yao, K.; He, L.; Gan, Y.; Liu, J.; Tang, J.; Long, Z.; Tan, J. HMGN5
Promotes IL-6-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition of
Bladder Cancer by Interacting with Hsp27. *Aging* 2020, 12, 7282–7298.
[CrossRef]
49. Zheng, M.; Jiang, Y.; Chen, W.; Li, K.; Liu, X.; Gao, S.; Feng, H.; Wang, S.;
Jiang, J.; Ma, X.; et al. Snail and Slug Collaborate on
EMT and Tumor Metastasis through MiR-101-Mediated EZH2 Axis in Oral
Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Oncotarget* 2015, 6,
6794–6810. [CrossRef]
50. Mizutani, H.; Okano, T.; Minegishi, Y.; Matsuda, K.; Sudoh, J.; Kitamura,
K.; Noro, R.; Soeno, C.; Yoshimura, A.; Seike, M.; et al.
HSP27 Modulates Epithelial to Mesenchymal Transition of Lung Cancer Cells
in a Smad-Independent Manner. *Oncol. Lett.* 2010,
1, 1011–1016. [CrossRef]
51. Wettstein, G.; Bellaye, P.-S.; Kolb, M.; Hammann, A.; Crestani, B.; Soler,
P.; Marchal-Somme, J.; Hazoume, A.; Gauldie, J.; Gunther,

A.; et al. Inhibition of HSP27 Blocks Fibrosis Development and EMT Features by Promoting Snail Degradation. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 2013, 27, 1549–1560. [CrossRef] [PubMed]

52. Chen, W.; Ren, X.; Wu, J.; Gao, X.; Cen, X.; Wang, S.; Sheng, S.; Chen, Q.; Tang, Y.-J.; Liang, X.-H.; et al. HSP27 Associates with Epithelial-Mesenchymal Transition, Stemness and Radioresistance of Salivary Adenoid Cystic Carcinoma. *J. Cell. Mol. Med.* 2018, 22, 2283–2298. [CrossRef] [PubMed]

53. Liu, Y.; Qian, J.; Li, X.; Chen, W.; Xu, A.; Zhao, K.; Hua, Y.; Huang, Z.; Zhang, J.; Liang, C.; et al. Long Noncoding RNA BX357664 Regulates Cell Proliferation and Epithelial-To-Mesenchymal Transition via Inhibition of TGF- β 1/P38/HSP27 Signaling in Renal Cell Carcinoma. *Oncotarget* 2016, 7, 81410–81422. [CrossRef] [PubMed]

54. Fang, Z.; Liang, W.; Luo, L. HSP27 Promotes Epithelial-Mesenchymal Transition through Activation of the β -Catenin/MMP3 Pathway in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Cells. *Transl. Cancer Res.* 2019, 8, 1268–1278. [CrossRef]

55. Zhu, Y.; Liu, Y.; Qian, Y.; Dai, X.; Yang, L.; Chen, J.; Guo, S.; Hisamitsu, T. Research on the Efficacy of *Celastrus Orbiculatus* in Suppressing TGF- β 1-Induced Epithelial-Mesenchymal Transition by Inhibiting HSP27 and TNF- α -Induced NF- κ B/Snail Signaling Pathway in Human Gastric Adenocarcinoma. *BMC Complement. Altern. Med.* 2014, 14, 433. [CrossRef]

56. Liu, C.; Chou, K.; Hsu, J.; Lin, J.; Hsu, T.; Yen, D.H.; Hung, S.; Hsu, H. High Metabolic Rate and Stem Cell Characteristics of Esophageal Cancer Stem-like Cells Depend on the Hsp27–AKT–HK2 Pathway. *Int. J. Cancer* 2019, 145, 2144–2156. [CrossRef]
57. Tan, B.T.; Park, C.Y.; Ailles, L.E.; Weissman, I.L. The Cancer Stem Cell Hypothesis: A Work in Progress. *Lab. Investig.* 2006, 86, 1203–1207. [CrossRef]
58. O’Flaherty, J.D.; Barr, M.; Fennell, D.; Richard, D.; Reynolds, J.; O’Leary, J.; O’Byrne, K. The Cancer Stem-Cell Hypothesis: Its Emerging Role in Lung Cancer Biology and Its Relevance for Future Therapy. *J. Thorac. Oncol. Off. Publ. Int. Assoc. Study Lung Cancer* 2012, 7, 1880–1890. [CrossRef]
59. Lin, S.-P.; Lee, Y.-T.; Wang, J.-Y.; Miller, S.A.; Chiou, S.-H.; Hung, M.-C.; Hung, S.-C. Survival of Cancer Stem Cells under Hypoxia and Serum Depletion via Decrease in PP2A Activity and Activation of P38-MAPKAPK2-Hsp27. *PLoS ONE* 2012, 7, e49605. [CrossRef]
60. Lin, S.-P.; Lee, Y.-T.; Yang, S.-H.; Miller, S.A.; Chiou, S.-H.; Hung, M.-C.; Hung, S.-C. Colon Cancer Stem Cells Resist Antiangiogenesis Therapy-Induced Apoptosis. *Cancer Lett.* 2013, 328, 226–234. [CrossRef]
61. Thuringer, D.; Jegou, G.; Wettstein, G.; Terrier, O.; Cronier, L.; Yousfi, N.; Hébrard, S.; Bouchot, A.; Hazoumé, A.; Joly, A.-L.; et al. Extracellular HSP27 Mediates Angiogenesis through Toll-like Receptor 3. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 2013, 27, 4169–4183. [CrossRef] [PubMed]

62. Wu, J.; Liu, T.; Rios, Z.; Mei, Q.; Lin, X.; Cao, S. Heat Shock Proteins and Cancer. *Trends Pharmacol. Sci.* 2017, 38, 226–256.

[CrossRef] [PubMed]

63. Straume, O.; Shimamura, T.; Lampa, M.J.G.; Carretero, J.; Oyan, A.M.; Jia, D.; Borgman, C.L.; Soucheray, M.; Downing, S.R.; Short, S.M.; et al. Suppression of Heat Shock Protein 27 Induces Long-Term Dormancy in Human Breast Cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012, 109, 8699–8704.

[CrossRef] [PubMed]

64. 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* 2006, 5, 2592–2601.

[CrossRef] [PubMed]

65. Arrigo, A.-P. The Cellular “Networking” of Mammalian Hsp27 and Its Functions in the Control of Protein Folding, Redox State and Apoptosis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007, 594, 14–26.

66. Havasi, A.; Li, Z.; Wang, Z.; Martin, J.L.; Botla, V.; Ruchalski, K.; Schwartz, J.H.; Borkan, S.C. Hsp27 Inhibits Bax Activation and Apoptosis via a Phosphatidylinositol 3-Kinase-Dependent Mechanism. *J. Biol. Chem.* 2008, 283, 12305–12313.

67. Chauhan, D.; Li, G.; Hideshima, T.; Podar, K.; Mitsiades, C.; Mitsiades, N.; Catley, L.; Tai, Y.T.; Hayashi, T.; Shringarpure, R.; et al.

Hsp27 Inhibits Release of Mitochondrial Protein Smac in Multiple Myeloma Cells and Confers Dexamethasone Resistance. *Blood* 2003, 102, 3379–3386.

[CrossRef]

68. Schmitt, E.; Gehrmann, M.; Brunet, M.; Multhoff, G.; Garrido, C. Intracellular and Extracellular Functions of Heat Shock Proteins: Repercussions in Cancer Therapy. *J. Leukoc. Biol.* 2007, 81, 15–27. [CrossRef]
69. Voss, O.H.; Batra, S.; Kolattukudy, S.J.; Gonzalez-Mejia, M.E.; Smith, J.B.; Doseff, A.I. Binding of Caspase-3 Prodomain to Heat Shock Protein 27 Regulates Monocyte Apoptosis by Inhibiting Caspase-3 Proteolytic Activation. *J. Biol. Chem.* 2007, 282, 25088–25099. [CrossRef]
70. Acunzo, J.; Katsogiannou, M.; Rocchi, P. Small Heat Shock Proteins HSP27 (HspB1), AB-Crystallin (HspB5) and HSP22 (HspB8) as Regulators of Cell Death. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2012, 44, 1622–1631. [CrossRef]
71. WANG, X.; CHEN, M.; ZHOU, J.; ZHANG, X. HSP27, 70 and 90, Anti-Apoptotic Proteins, in Clinical Cancer Therapy. *Int. J. Oncol.* 2014, 45, 18–30. [CrossRef]
72. Kabakov, A.; Yakimova, A.; Matchuk, O. Molecular Chaperones in Cancer Stem Cells: Determinants of Stemness and Potential Targets for Antitumor Therapy. *Cells* 2020, 9, 892. [CrossRef] [PubMed]
73. Zhou, Z.-B.; Huang, G.-X.; Lu, J.-J.; Ma, J.; Yuan, Q.-J.; Cao, Y.; Zhu, L. Up-Regulation of Heat Shock Protein 27 Inhibits Apoptosis in Lumbosacral Nerve Root Avulsion-Induced Neurons. *Sci. Rep.* 2019, 9, 11468. [CrossRef] [PubMed]
74. Thorn, C.F.; Oshiro, C.; Marsh, S.; Hernandez-Boussard, T.; McLeod, H.; Klein, T.E.; Altman, R.B. Doxorubicin Pathways. *Pharm. Genom.* 2011, 21, 440–446. [CrossRef] [PubMed]

75. Ciocca, D.R.; Fuqua, S.A.; Lock-Lim, S.; Toft, D.O.; Welch, W.J.; McGuire, W.L. Response of Human Breast Cancer Cells to Heat Shock and Chemotherapeutic Drugs. *Cancer Res.* 1992, 52, 3648–3654.
76. Oesterreich, S.; Weng, C.N.; Qiu, M.; Hilsenbeck, S.G.; Osborne, C.K.; Fuqua, S.A. The Small Heat Shock Protein Hsp27 Is Correlated with Growth and Drug Resistance in Human Breast Cancer Cell Lines. *Cancer Res.* 1993, 53, 4443–4448.
77. Huot, J.; Roy, G.; Lambert, H.; Chrétien, P.; Landry, J. Increased Survival after Treatments with Anticancer Agents of Chinese Hamster Cells Expressing the Human Mr 27,000 Heat Shock Protein. *Cancer Res.* 1991, 51, 5245–5252.
78. Garrido, C.; Mehlen, P.; Fromentin, A.; Hammann, A.; Assem, M.; Arrigo, A.-P.; Chauffert, B. Inconstant Association between 27-KDa Heat-Shock Protein (Hsp27) Content and Doxorubicin Resistance in Human Colon Cancer Cells. The Doxorubicin-Protecting Effect of Hsp27. *Eur. J. Biochem.* 1996, 237, 653–659. [CrossRef]
79. Hansen, R.K.; Parra, I.; Lemieux, P.; Oesterreich, S.; Hilsenbeck, S.G.; Fuqua, S.A.W. Hsp27 Overexpression Inhibits Doxorubicin-Induced Apoptosis in Human Breast Cancer Cells. *Breast Cancer Res. Treat.* 1999, 56, 185–194. [CrossRef]
80. Kwon, Y.; Shin, B.S.; Chung, I.K. The P53 Tumor Suppressor Stimulates the Catalytic Activity of Human Topoisomerase IIalpha by Enhancing the Rate of ATP Hydrolysis. *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 18503–18510. [CrossRef]

81. Stros, M.; Bacikova, A.; Polanska, E.; Stokrova, J.; Strauss, F. HMGB1 Interacts with Human Topoisomerase II and Stimulates Its Catalytic Activity. *Nucleic Acids Res.* 2007, 35, 5001–5013. [CrossRef] [PubMed]
82. Shi, P.; Wang, M.; Jiang, L.; Liu, H.; Sun, J. Paclitaxel-Doxorubicin Sequence Is More Effective in Breast Cancer Cells with Heat Shock Protein 27 Overexpression. *Chin. Med. J.* 2008, 121, 1975–1979. [CrossRef] [PubMed]
83. Tanaka, Y.; Fujiwara, K.; Tanaka, H.; Maehata, K.; Kohno, I. Paclitaxel Inhibits Expression of Heat Shock Protein 27 in Ovarian and Uterine Cancer Cells. *Int. J. Gynecol. Cancer* 2004, 14, 616–620. [CrossRef] [PubMed]
84. Sims, J.T.; Ganguly, S.S.; Bennett, H.; Friend, J.W.; Tepe, J.; Plattner, R. Imatinib Reverses Doxorubicin Resistance by Affecting Activation of STAT3-Dependent NF-KB and HSP27/P38/AKT Pathways and by Inhibiting ABCB1. *PLoS ONE* 2013, 8, e55509. [CrossRef] [PubMed]
85. O’Callaghan-Sunol, C.; Gabai, V.L.; Sherman, M.Y. Hsp27 Modulates P53 Signaling and Suppresses Cellular Senescence. *Cancer Res.* 2007, 67, 11779–11788. [CrossRef]
86. Ramani, S.; Park, S. HSP27 Role in Cardioprotection by Modulating Chemotherapeutic Doxorubicin-Induced Cell Death. *J. Mol. Med.* 2021, 99, 771–784. [CrossRef]
87. Zhang, D.; Putti, T.C. Over-Expression of ERp29 Attenuates Doxorubicin-Induced Cell Apoptosis through Up-Regulation of

Hsp27 in Breast Cancer Cells. *Exp. Cell Res.* 2010, 316, 3522–3531.

[CrossRef]

88. Cnop, M.; Toivonen, S.; Igoillo-Esteve, M.; Salpea, P. Endoplasmic Reticulum Stress and EIF2 α Phosphorylation: The Achilles

Heel of Pancreatic β Cells. *Mol. Metab.* 2017, 6, 1024–1039. [CrossRef]

89. Andrieu, C.; Taieb, D.; Baylot, V.; Ettinger, S.; Soubeyran, P.; De-Thonel, A.; Nelson, C.; Garrido, C.; So, A.; Fazli, L.; et al. Heat

Shock Protein 27 Confers Resistance to Androgen Ablation and Chemotherapy in Prostate Cancer Cells through EIF4E. *Oncogene*

2010, 29, 1883–1896. [CrossRef]

90. Kanagasabai, R.; Krishnamurthy, K.; Druhan, L.J.; Ilangovan, G. Forced Expression of Heat Shock Protein 27 (Hsp27) Reverses

P-Glycoprotein (ABCB1)-Mediated Drug Efflux AndMDR1Gene Expression in Adriamycin-Resistant Human Breast Cancer Cells.

J. Biol. Chem. 2011, 286, 33289–33300. [CrossRef]

91. Mahvi, D.M.; Carper, S.W.; Yu, C.O.; McCausland, T.A.; Kristian Storm, F. Toremifene, a Novel Antiestrogen, Can Overcome

Hsp27-Induced Drug Resistance in Human Breast Cancer Cells. *Endocrine* 1996, 4, 269–275. [CrossRef] [PubMed]

92. Kang, S.H.; Kang, K.W.; Kim, K.-H.; Kwon, B.; Kim, S.-K.; Lee, H.-Y.; Kong, S.-Y.; Lee, E.S.; Jang, S.-G.; Yoo, B.C. Upregulated

HSP27 in Human Breast Cancer Cells Reduces Herceptin Susceptibility by Increasing Her2 Protein Stability. *BMC Cancer* 2008,

8, 286. [CrossRef] [PubMed]