



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ-ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**«Επίδραση της σίγασης της καβεολίνης-1 επί του κυτταρικού
κύκλου»**

ΖΗΣΟΠΟΥΛΟΥ ΕΥΘΥΜΙΑ

ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΣ-ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Τραχανά Βαρβάρα Αναπλ. Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας-Κυτταρικής Βιολογίας ΠΘ,
Επιβλέπουσα

Τσέζου Ασπασία Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής ΠΘ, Μέλος

Παπαθανασίου Ιωάννα Επικ. Καθηγήτρια Ιατρικής Βιολογίας ΠΘ, Μέλος

ΛΑΡΙΣΑ, ΕΤΟΣ 2024



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF MEDICINE



POSTGRADUATE MASTER PROGRAM
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”

MASTER’S THESIS
«Effect of Caveolin-1 Silencing on the Cell Cycle»

Zisopoulou Efthimia, Larissa 2024

Ευχαριστίες

Με το πέρας της πτυχιακής εργασίας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τα άτομα που συνέβαλαν στην επιτυχή ολοκλήρωσή της. Αρχικά, οφείλω ένα τεράστιο ευχαριστώ στην επιβλέπουσα μου, κα. Τραχανά, η οποία έδειξε αμέριστη εμπιστοσύνη και βοήθησε στην ολοκλήρωση της πτυχιακής. Ήταν εκεί όταν τη χρειάστηκα, γεμάτη συμβουλές, ιδέες και όρεξη για βοήθεια. Ευχαριστώ επίσης την κα Τσέζου και την κα Παπαθανασίου που με βοήθησαν με τις επισημάνσεις-σχόλιά τους στη συγγραφή της. Τέλος, ευχαριστώ την οικογένειά μου για τη στήριξη.

Περίληψη

Η πτυχιακή εστιάζει στην τεχνολογία της παρεμβολής RNAi για τη σίγαση γονιδίων, με ιδιαίτερη αναφορά στην καβεολίνη-1, μια πρωτεΐνη της πλασματικής μεμβράνης με σημαντικούς ρόλους στη λειτουργία του κυττάρου. Σκοπός της πτυχιακής αυτής είναι η επίδραση της σίγασης της καβεολίνης-1 στον κυτταρικό κύκλο. Η καβεολίνη-1 είναι μία βασική πρωτεΐνη των μικροσπηλαίων (caveolae), που εμπλέκεται σε διάφορες κυτταρικές διαδικασίες, όπως η σηματοδότηση, η ενδοκυττάρωση και η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. Τα αποτελέσματα της σίγασης της καβεολίνης περιλαμβάνουν την αποσταθεροποίηση των caveolae και τη διαταραχή της κυτταρικής σηματοδότησης. Αυτό επηρεάζει την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό, καθώς και τη διαμεσολάβηση σήματος που σχετίζεται με την ανάπτυξη και τη διαίρεση των κυττάρων. Επιπλέον, η απουσία καβεολίνης οδηγεί σε ανώμαλο κυτταρικό κύκλο, με επιπτώσεις που μπορούν να οδηγήσουν σε μη φυσιολογική ανάπτυξη κυττάρων, κυτταρική γήρανση ή ακόμα και σε καρκινογένεση. Η υπερέκφρασή της συσχετίζεται με την πρόωρη κυτταρική γήρανση. Η διαδικασία αυτή συνδέεται με την ενεργοποίηση της οδού p53/p21, η οποία προάγει την παύση του κυτταρικού κύκλου και τη γήρανση των κυττάρων. Η καβεολίνη-1 βρέθηκε επίσης να εμπλέκεται και στην καρκινογένεση, έχοντας διττό ρόλο, καθώς μπορεί να λειτουργεί είτε ως κατασταλτικός παράγοντας όγκων είτε ως ογκογονικός παράγοντας, ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου. Σε καρκίνους όπως του πνεύμονα, του μαστού, του παχέος εντέρου και των ωοθηκών, έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση της καβεολίνης-1. Σε ορισμένους τύπους, η έκφραση της Cav-1 προάγει τη μετάσταση και την επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων προωθεί την ανθεκτικότητα αυτών στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Η σίγαση της καβεολίνης-1 αποτελεί έναν υποσχόμενο μηχανισμό για τον έλεγχο της επιθετικότητας του καρκίνου και την αύξηση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών, ενώ ταυτόχρονα προτείνει νέα μονοπάτια για την κατανόηση της καρκινογένεσης.

Λέξεις-κλειδιά: κυτταρικός κύκλος, καβεολίνη-1, σίγαση, κυτταρική γήρανση, καρκίνος

Abstract

The thesis focuses on RNAi interference technology for gene silencing, with a specific emphasis on caveolin-1, a plasma membrane protein with significant roles in cell function. The purpose of this thesis is to examine the impact of caveolin-1 silencing on the cell cycle. Caveolin-1 is a key protein of caveolae, involved in various cellular processes such as signaling, endocytosis, and regulation of the cell cycle. The results of caveolin-1 silencing include destabilization of caveolae and disruption of cellular signaling. This affects cell survival and proliferation, as well as signal mediation related to cell growth and division. Additionally, the absence of caveolin-1 leads to an abnormal cell cycle, resulting in effects such as abnormal cell growth, cellular senescence, or even carcinogenesis. Overexpression of caveolin-1 is associated with premature cellular aging. This process is linked to the activation of the p53/p21 pathway, which promotes cell cycle arrest and cellular aging. Caveolin-1 has also been found to be involved in carcinogenesis, playing a dual role as it can act either as a tumor suppressor or as an oncogenic factor, depending on the type of cancer. In cancers such as lung, breast, colon, and ovarian cancers, reduced expression of caveolin-1 has been observed. In certain types, Cav-1 expression promotes metastasis and the aggressiveness of cancer cells, enhancing their resistance to chemotherapy and radiotherapy. Silencing caveolin-1 presents a promising mechanism for controlling tumor progression and increasing the effectiveness of therapies, while also offering new pathways for understanding carcinogenesis.

Key words: cell cycle, caveolin-1, silencing, cellular senescence, cancer

Περιεχόμενα

Εισαγωγή.....	7
Κύριο Μέρος.....	7
Μέθοδοι αποσιώπησης γονιδίων	7
Ιστορική αναδρομή RNAi	7
Παρεμβολή RNAi	8
Θεραπευτικές εφαρμογές RNAi	11
Κυτταρικός κύκλος.....	12
Σημεία ελέγχου κυτταρικού κύκλου	13
Σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και καρκίνος	16
Σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και γήρανση	18
Caveolae/Μικροσπήλαια	21
Καβεολίνες	23
Λειτουργίες Καβεολίνης.....	27
Σίγαση της καβεολίνης-1	29
Σίγαση της καβεολίνης-1 και κυτταρική γήρανση	29
Σίγαση της καβεολίνης-1 και καρκίνος	34
Συζήτηση.....	40
Βιβλιογραφία.....	43

Εισαγωγή

Η καβεολίνη-1 είναι μία πρωτεΐνη της πλασματικής μεμβράνης με διάφορους ρόλους που αφορούν την λειτουργία του κυττάρου. Η αποσιώπηση γονιδίων αποτελεί μία συχνή μέθοδος που χρησιμοποιείται για την μελέτη τους. Η παρεμβολή RNAi είναι ευρέως γνωστό και εξελισσόμενο εργαλείο που συχνά επιλέγεται στην στοχευμένη σίγαση γονιδίων. Σε διάφορες μελέτες έχει χρησιμοποιηθεί siRNA που στοχεύουν την καβεολίνη με στόχο να επιτύχουν την σίγασή της. Τα αποτελέσματα των ερευνών αυτών σχετίζονται και με την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, μιας αρκετά ελεγχόμενης διαδικασίας, απαραίτητης για την επιβίωση του κυττάρου.

Κύριο Μέρος

Μέθοδοι αποσιώπησης γονιδίων

Η έκφραση γονιδίων, συγκεκριμένων τμημάτων DNA που μεταγράφονται, οδηγεί στην παραγωγή πρωτεϊνών. Έχοντας ως στόχο την μείωση της έκφρασης συγκεκριμένης πρωτεΐνης, ή ακόμη και καταστολή αυτής, αποσιωπάται το γονίδιο που την κωδικοποιεί. Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι αποσιώπησης γονιδίων με την παρεμβολή RNAi ή RNAi (RNA interference) να είναι ευρέως διαδεδομένες και συνεχώς εξελισσόμενη.

Ιστορική αναδρομή RNAi

Η ιστορία της ανακάλυψης του RNAi ξεκινά το 1990 με βάση την μελέτη φυτών από τους Napolí και Jørgensen, οι οποίοι παρατήρησαν ένα φαινόμενο παρεμβολής. Οι ερευνητές μελέτησαν το ένζυμο συνθάση της χαλκόνης (chalcone synthase - CHS), ένα βασικό ένζυμο στην βιοσύνθεση των φλαβονοειδών. Στόχος του πειράματος ήταν να εξακριβώσουν εάν αυτό το ένζυμο ήταν καθοριστικό σημείο ελέγχου για το μονοπάτι σύνθεσης της ανθοκυανίνης, η οποία είναι υπεύθυνη για το σκούρο βιολετί χρωματισμό της πετούνιας. Όταν το γονίδιο της συνθάσης υπερεκφράστηκε, οι πετούνιες εμφάνισαν λευκό χρώμα. Με μέτρηση παρατηρήθηκε ότι τα επίπεδα του ενδογενούς γονιδίου της συνθάσης και του εισαγόμενου διαγονιδίου ήταν 50 φορές χαμηλότερα σε σύγκριση με τις πετούνιες αγρίου τύπου. Το αποτέλεσμα αυτό οδήγησε στην υπόθεση ότι το εισαγόμενο διαγονίδιο επηρεάζει την έκφραση του ενδογενούς γονιδίου προκαλώντας συνκαταστολή γονιδίων. Το 1992 ένα παρόμοιο φαινόμενο παρατηρήθηκε σε μύκητα *Neurospora crassa*, από τους Romano και Macino (Sen et al, 2006).

Οι Guo και Kemphues ήταν οι πρώτοι, το 1995, που ανέφεραν παρεμβολή RNA στα ζώα. Οι συγγραφείς ανέφεραν ότι το νοηματικό RNA ήταν το ίδιο αποτελεσματικό όπως το αντι-νοηματικό RNA για την καταστολή της έκφρασης του γονιδίου *par-1*, γονίδιο που απαιτείται για τη δημιουργία πολικότητας κατά την ανάπτυξη του οργανισμού μοντέλου *Caenorhabditis (C) elegans*. Ως έλεγχο, χρησιμοποίησαν το νοηματικό RNA *par-1* που δεν θα υβριδοποιούσε στο μετάγραφο του *par-1*. Είναι ενδιαφέρον ότι η αποικοδόμηση του mRNA του *par-1* συνέχιζε να παρατηρείται. Η μέχρι τότε υπόθεση σύμφωνα με την οποία μόνο το αντι-νοηματικό RNA υβριδίζεται

με το ενδογενές mRNA του γονιδίου στόχου, σχηματίζοντας ένα δίκλωνο RNA (dsRNA) το οποίο είτε καταστέλλει την μετάφραση είτε αποτελεί στόχο κυτταρικών ενδονουκλεασών, φαίνεται να μην ισχύει σε όλες τις περιπτώσεις (Sen et al, 2006).

Το 1998, οι Fire and Mello απέδειξαν στον οργανισμό μοντέλο *C. elegans* ότι στη γονιδιακή σίγαση συμμετέχει δίκλωνο RNA (double-strand RNA) και όχι μονόκλωνο RNA (single-strand RNA), και επινόησαν τον όρο «Παρεμβολή RNA, RNAi». Οι συγγραφείς απέδωσαν τα αποτελέσματα των Guo και Kemphues σε μόλυνση του παρασκευάσματος RNA από dsRNA που προκύπτει από τη δράση RNA πολυμερασών βακτηριοφάγων. Αφού διαχώρισαν νοηματικά και αντι-νοηματικά RNA, συνέκριναν τα αποτελέσματά τους στο *unc-22* γονίδιο, που χρησιμοποιείται στην κλασική γενετική και επηρεάζει την μυϊκή λειτουργία του οργανισμού *C. elegans*. Συνολικά, τα στοιχεία τους οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι το εξωγενώς εισαγόμενο dsRNA μειώνει την έκφραση των ομόλογων mRNA στο *C. elegans* ότι η παρεμβολή RNAi περιέχει ένα καταλυτικό στοιχείο (Sioud M, 2021).

Στην αρχή, η χρήση της παρεμβολής RNAi περιοριζόταν σε μύγες, σκουλήκια και φυτά. Η εισαγωγή μακρού dsRNA σε κύτταρα θηλαστικών οδηγούσε σε απόκριση μέσω του μονοπατιού της ιντερφερόνης που πυροδοτούσε μια γενική αναστολή της μετάφρασης, καταργώντας την ειδικότητα του RNAi. Το 2001, ο Tuschl και οι συνεργάτες του έδειξαν ότι τα 21-νουκλεοτίδια dsRNA μπορούν να παρακάμψουν το μονοπάτι της ιντερφερόνης και να στοχεύσουν συγκεκριμένα mRNA και έτσι να αναστείλουν την πρωτεϊνική έκφραση του γονιδίου στόχου. Αυτά τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε καρκινικές κυτταρικές σειρές (Elbashir SM, 2001). Με την πάροδο των χρόνων, η παρεμβολή RNA (RNAi) έχει καταστεί ένας καλά χαρακτηρισμένος ρυθμιστικός μηχανισμός στους ευκαρυώτες καθώς και ένα ισχυρό εργαλείο για την κατανόηση της γονιδιακής λειτουργίας, χάρη στην ανακάλυψη ότι τα συνθετικά μικρά παρεμβαλλόμενα ολιγομερή RNA (siRNA) μπορούν να επάγουν αποτελεσματικά RNAi σε κύτταρα θηλαστικών. Το RNAi έχει επίσης χρησιμοποιηθεί εκτενώς ως νέο «βιολογικό μέρος» για το σχεδιασμό συνθετικών βιολογικών κυκλωμάτων στη συνθετική βιολογία (Cuccato et al, 2011).

Παρεμβολή RNAi

Μέσω του μηχανισμού της παρεμβολής RNAi επιτυγχάνεται μείωση της έκφρασης του ενός συγκεκριμένου γονιδίου. Καταλυτικό στοιχείο του μηχανισμού είναι συμπληρωματικά βραχέα, μικρά σε μήκος RNA. Το αποτέλεσμα μπορεί να προκληθεί είτε σε μεταγραφικό επίπεδο με μεταγραφική σίγαση είτε μετά την μεταγραφή με διάσπαση του παραγόμενου mRNA ή καταστολή μετάφρασης.

Η διαδικασία αρχίζει με εξαρτώμενες από RNA πολυμεράσες RNA (RNA-dependent RNA polymerase, RdRPs) που συνθέτουν μακρύ dsRNA από πρότυπα μονόκλωνου RNA (Mello et al. 2004). Τα ανθρώπινα κύτταρα δεν εκφράζουν RdRP, ωστόσο υποστηρίζεται ότι εκφράζουν άτυπα το ένζυμο αυτό, το οποίο αποτελείται από την καταλυτική υπομονάδα της τελομεράσης και μη κωδικοποιητικό RNA Cuccato, G. et al. 2011b). Το μακρύ dsRNA μεταφέρεται με ενδοκυττάρωση στο κυτταρόπλασμα και υφίσταται επεξεργασία από ενδοριβονουκλεάση Dicer ή δεσμεύεται από την Tar-

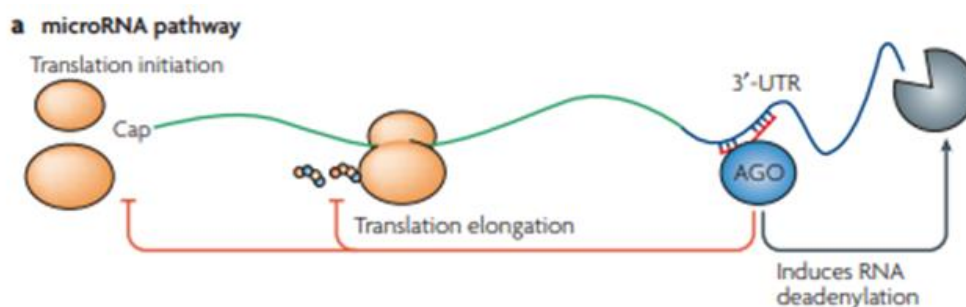
πρωτεΐνη (Tar-RNA-Binding Protein). Η πρωτεΐνη Dicer είναι μέλος της οικογένειας RNase III η δράση της είναι η δημιουργία μικρότερων κατά 21-23 νουκλεοτίδια δίκλωνων RNA. Η Dicer είναι συντηρημένη πρωτεΐνη μεταξύ των ευκαρυωτών και μπορεί να έχει πολλαπλά ομόλογα με διακριτές λειτουργίες. Εξαρτάται από την παρουσία ιόντων Mg^{2+} και παίζει σημαντικό ρόλο στην επεξεργασία του ριβοσωμικού RNA (rRNA), στον μετα-μεταγραφικό έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης και στην άμυνα έναντι ιογενών λοιμώξεων. Όπως όλα τα ένζυμα RNase III, έτσι και η Dicer αφήνει 2-νουκλεοτίδια 3'-προεξοχές-άκρα και 5' φωσφορικές ομάδες. Μερικοί οργανισμοί, συμπεριλαμβανομένων των θηλαστικών και των νηματωδών, έχουν μόνο έναν υπότυπο ενζύμου Dicer που δρα στη βιογένεση τόσο των miRNAs όσο και siRNAs ενώ άλλοι οργανισμοί μοιράζουν την εργασία σε πολλαπλούς υποτύπους Dicer. Για παράδειγμα, εμπλέκονται δύο διαφορετικά ένζυμα στη βιογένεση μικρών ρυθμιστικών RNA στη *Drosophila*. Η πρωτεΐνη Dicer-2 επεξεργάζεται μακρές δίκλωνες πρόδρομες ουσίες και παράγει siRNA, ενώ το Dicer-1 επεξεργάζεται τα προ-miRNA σε ώριμα miRNAs (Setten et al., 2019).

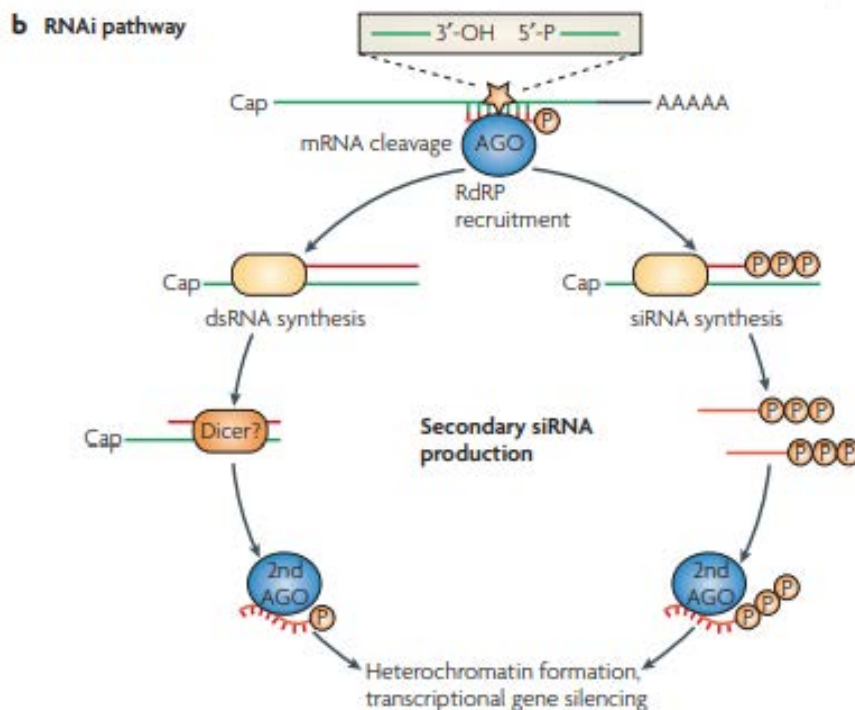
Τα κύτταρα θηλαστικών έχουν μια μοναδική πρωτεΐνη Dicer, με μοριακό βάρος 200 kDa. Η πρωτεΐνη αυτή περιέχει έναν τομέα ελικάσης ATPase/RNA, έναν τομέα DUF, έναν τομέα PAZ, δύο τομείς RNase III και έναν τομέα δέσμησης dsRNA (dsRBD). Η δράση της πρωτεΐνης Dicer οδηγεί στην παραγωγή μικρών μη κωδικοποιητικών μορίων RNA. Τα siRNA και τα miRNA έχουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες αλλά διακριτές λειτουργίες. Και τα δύο είναι μικρά διπλά RNA που στοχεύουν mRNA για να παράγουν ένα αποτέλεσμα γονιδιακής σίγησης, ωστόσο οι μηχανισμοί δράσης τους είναι διακριτοί. Το μόριο siRNA είναι πλήρως συμπληρωματικό του mRNA- στόχου ενώ το miRNA είναι εν μέρει συμπληρωματικό του mRNA-στόχου, τυπικά στοχεύοντας την 3' αμετάφραστη περιοχή του mRNA. Η κύρια διαφορά μεταξύ των siRNA και των miRNAs είναι ότι τα πρώτα αναστέλλουν την έκφραση ενός συγκεκριμένου mRNA στόχου ενώ τα δεύτερα ρυθμίζουν την έκφραση πολλαπλών mRNA. Το siRNA αλληλεπιδρά και ενεργοποιεί το επαγόμενο από RNA σύμπλοκο σίγασης (RNAI-induced-silencing-complex, RISC). Το συστατικό αργοναύτη ενδονουκλεάσης 2 (AGO2) του RISC διασπά τον πληροφοριακό κλώνο του siRNA ενώ ο οδηγός κλώνος (αντινοσηματικός κλώνος) παραμένει συνδεδεμένος με το RISC. Στη συνέχεια, ο κλώνος-οδηγός οδηγεί το ενεργό RISC στο mRNA στόχο του για διάσπαση από το AGO2. Καθώς ο οδηγός κλώνος συνδέεται μόνο με mRNA που είναι πλήρως συμπληρωματικό με αυτό, το siRNA προκαλεί ειδική γονιδιακή σίγηση (Hutvagner et al., 2008).

Οι πρωτεΐνες αργοναύτες ταξινομούνται σε τρεις ομάδες παράλογων γονιδίων: Αργοναυτικές πρωτεΐνες, οι οποίες είναι παρόμοιες με *Arabidopsis thaliana* AGO1, πρωτεΐνες που μοιάζουν με *piwi*, οι οποίες σχετίζονται στενά με το *D. melanogaster* PIWI (P-element induced wimpy testis) και η ειδική ομάδα *Caenorhabditis elegans*, *Argonautes7*. Οι πρωτεΐνες Αργοναύτες αντιπροσωπεύουν μια εξαιρετικά συντηρημένη οικογένεια γονιδίων που βρίσκεται σχεδόν σε όλους τους ευκαρυώτες και βρίσκεται ακόμη και σε βακτήρια και αρχαία. Στον άνθρωπο υπάρχουν 8 γονίδια που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες αυτές. Αποτελούνται από τέσσερις διακριτούς

τομείς: τον τομέα N-terminal, PAZ, Mid και PIWI. Ο τομέας Dicer PAZ συσχετίζεται με τον τομέα PIWI του Ago2. Οι πρωτεΐνες αργοναύτες των ευκαρυωτών που συμμετέχουν στους μηχανισμούς ρύθμισης γονιδίων μέσω μικρών RNA περιέχουν αυτούς τους τομείς (Hutvagner et al.,2008).

Στα ζώα, η πρωτεΐνη αργοναύτης που σχετίζεται με το miRNA συνδέεται με τη 3'-αμετάφραστη περιοχή (3'-UTR) του mRNA στόχου και εμποδίζει την παραγωγή πρωτεϊνών με διαφορετικούς τρόπους. Η στρατολόγηση πρωτεϊνών AGO σε στοχευμένο mRNA μπορεί να προκαλέσει αποαδενυλίωση του πολυαδενυλιωμένου άκρου 3', γεγονός που επάγει την αποικοδόμηση του mRNA. Το σύμπλεγμα πρωτεΐνης AGO-miRNA μπορεί επίσης να επηρεάσει την σύνδεση ριβοσωμάτων στο 5'-άκρο του mRNA στόχου λειτουργώντας ως ανταγωνιστής των παραγόντων έναρξης της μετάφρασης ή ακόμη των ίδιων των υπομονάδων του ριβοσώματος παρεμποδίζοντας την έναρξη της μετάφρασης. Επιπλέον, το σύμπλεγμα AGO-miRNA είναι ικανό να μεταβάλλει παραγωγή πρωτεΐνης στρατολογώντας κυτταρικούς παράγοντες (πεπτιδάσες, μεταμεταφραστικά ένζυμα) που θα στοχεύουν στην καταστροφή του αναπτυσσόμενου πολυπεπτιδίου. Οι AGO που σχετίζονται με μικρά siRNA παρεμβολής σχηματίζουν σύμπλοκο με το RISC, το οποίο μπορεί να προκαλέσει ενδονουκλεολυτική διάσπαση του στοχευμένου mRNA. Στη σύνδεση αυτή συμμετέχουν πρωτεΐνες (heat-shock-protein HSP90) που κρατούν τους Αργοναύτες στη σωστή διαμόρφωση. Μετά το σχηματισμό του συμπλόκου, το συνδεδεμένο siRNA κατευθύνει το RISC στη συμπληρωματική αλληλουχία στόχο του, είτε RNA είτε DNA. Αυτό οδηγεί σε μεθυλίωση του DNA ή τροποποίηση της χρωματίνης που αναστέλλει τη μεταγραφή του DNA (Gebert et al.,2018).





Εικόνα 1.α) Μονοπάτι MicroRNA (miRNA). Στα ζώα, ο Αργοναύτης που σχετίζεται με το miRNA συνδέεται με τη 3'-αμετάφραστη περιοχή (3'-UTR) του mRNA και εμποδίζει την παραγωγή πρωτεϊνών με διαφορετικούς τρόπους. Η στρατολόγηση πρωτεϊνών αργοναυτών σε στοχευμένο mRNA οδηγεί σε αποαδενυλίωση του πολυαδενυλιωμένου άκρου 3' και επάγει την αποικοδόμηση του mRNA. Το σύμπλεγμα AGO-miRNA επίσης επηρεάζει τον σχηματισμό λειτουργικών ριβοσωμάτων στο 5'-άκρο του mRNA. Επιπλέον, το σύμπλεγμα αυτό μπορεί να αλλάξει την παραγωγή πρωτεΐνης στρατολογώντας κυτταρικούς παράγοντες (πεπτιδάσες, μεταμεταφραστικά τροποποιητικά ένζυμα). β) Γονιδιακή σίγαση με παρεμβολή RNAi (Hutvagner et al., 2008).

Θεραπευτικές εφαρμογές RNAi

Ο βιολογικός μηχανισμός άμυνας RNAi είναι ένας εξελικτικά ρυθμιστικός μηχανισμός των κυττάρων και προστατεύει το κύτταρο από εξωγενή εισβολή. Παράλληλα όμως αποτελεί και ένα αρκετά σημαντικό εργαλείο για την επεξεργασία των γονιδίων. Μέσω του μηχανισμού αυτού μπορούν να αποσιωπηθούν γονίδια που σχετίζονται με ασθένειες, προσδίδοντάς του θεραπευτικές εφαρμογές.

Οι επικρατείς γενετικές ασθένειες, στις οποίες ένα μεταλλαγμένο αλληλόμορφο ενός γονιδίου προκαλεί ασθένεια παρουσία ενός δεύτερου φυσιολογικού αντιγράφου, αποτελούν πρόκληση καθώς οι θεραπείες που παρέχονται αφορούν κυρίως την ανακούφιση των συμπτωμάτων. Οι τρέχουσες θεραπείες δεν είναι κατάλληλες για την επιλεκτική στόχευση γονιδίων λόγω των δομικών ομοιοτήτων του φυσιολογικού και του μεταλλαγμένου αλληλομόρφου. Σε περιπτώσεις που ο στόχος αφορά πολυμορφισμό (Single Nucleotide Polymorphism-SNP), είτε πρόκειται για ένζυμο είτε για δομική πρωτεΐνη ή υποδοχέα, τα συμβατικά φάρμακα δεν είναι ιδανικά αφού δεν είναι επιλεκτικά (Ambesajir et al., 2012).

Το RNAi προσφέρει δυνατότητα για θεραπεία ιογενών ασθενειών όπως αυτές που προκαλούνται από τον ιό της ηπατίτιδας C (Hepatitis C virus -HCV) και τον ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Human Immunodeficiency Virus - HIV). Θα μπορούσε ακόμη να αξιοποιηθεί και στη θεραπεία του καρκίνου, στοχεύοντας πρωτεΐνες χωρίς να βλάπτει το κύτταρο, πλεονέκτημα σε σχέση με την

χημειοθεραπεία που στοχεύει τόσο καρκινικά όσο και υγιή κύτταρα. Η παρεμβολή RNAi μπορεί επίσης να αξιοποιηθεί για να αποσιωπήσει μονοπάτια που επηρεάζουν τις επιδράσεις των αντικαρκινικών φαρμάκων (Rondinone et al., 2009).

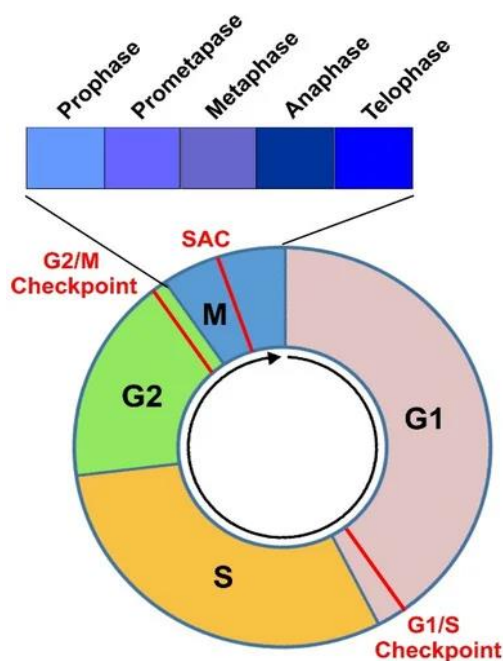
Μέχρι τώρα έχουν εγκριθεί από τον οργανισμό ελέγχου φαρμάκων και τροφίμων της Αμερικής (US Food and Drug Administration-FDA) τέσσερα φάρμακα, η δράση των οποίων βασίζεται στην παρεμβολή RNA και συγκεκριμένα σε siRNA. Το patisiran (Onpattro, 2018) αφορά ενήλικες ασθενείς με πολυνευροπάθεια η οποία προκαλείται από κληρονομική αμυλοείδωση μέσω τρανσθυρετίνης. Το givosiran (Givlaari, 2019) που έχει σχεδιαστεί για οξεία ηπατική πορφυρία, το lumasiran (Oxlumo, 2020) για θεραπεία πρωτοπαθούς υπεροξαλουρίας τύπου 1, και το inclisiran (Leqvio, 2021) για ενήλικες με πρωτοπαθή υπερχοληστερολαιμία (Traber and Yu, 2022).

Κυτταρικός κύκλος

Ο κυτταρικός κύκλος, δηλαδή η σειρά των γεγονότων που συμβαίνουν ώστε ένα κύτταρο να διαιρεθεί σε δύο θυγατρικά κύτταρα, χωρίζεται σε δύο στάδια, τη φάση M και την μεσόφαση (Schafer 1998). Η φάση M περιλαμβάνει την διαίρεση του πυρήνα που καλείται μίτωση και την διαίρεση του κυττάρου που καλείται κυτταροκίνηση. Μεταξύ δύο φάσεων M παρεμβάλλεται η μεσόφαση που χωρίζεται σε φάση S (synthesis), G₁ και G₂. Κατά τη διάρκεια της μεσόφασης το κύτταρο αυξάνει σε μέγεθος, το DNA των χρωμοσωμάτων αντιγράφεται και το κεντροσωμάτιο διπλασιάζεται. Ο διπλασιασμός του DNA συμβαίνει κατά τη φάση S η οποία απαιτεί 10-12 ώρες και καταλαμβάνει περίπου το μισό χρόνο του κυτταρικού κύκλου σε ένα τυπικό κύτταρο θηλαστικού. Οι δύο φάσεις κενού G₁ και G₂ δεν χρησιμεύουν μόνο ως χρονικές καθυστερήσεις για να επιτρέψουν την ανάπτυξη των κυττάρων. Επιτρέπουν στο κύτταρο να παρακολουθεί το εσωτερικό και το εξωτερικό περιβάλλον για να διασφαλίσει ότι οι συνθήκες είναι κατάλληλες και έχουν ολοκληρωθεί οι διεργασίες, πριν το κύτταρο μεταβεί στη φάση S και ύστερα στη μίτωση. Η φάση G₁ είναι ιδιαίτερα σημαντική. Αποτελεί μία περίοδο κυτταρικής αύξησης, έντονης μεταβολικής δραστηριότητας και επιδιόρθωσης. Η διάρκειά της ποικίλλει ανάλογα με τις εξωτερικές συνθήκες και τα εξωκυτταρικά σήματα που δέχεται το κύτταρο. Εάν οι εξωκυτταρικές συνθήκες είναι δυσμενείς, για παράδειγμα, τα κύτταρα καθυστερούν την πάροδο του κυττάρου από τη φάση G₁ στη φάση S και μπορεί ακόμη και να εισέλθουν σε μια εξειδικευμένη κατάσταση ηρεμίας γνωστή ως G₀, στην οποία μπορούν να παραμείνουν για μέρες, εβδομάδες ή και χρόνια πριν ξαναρχίσουν τον πολλαπλασιασμό. Υπάρχουν κύτταρα όπως τα νευρικά, που παραμένουν μόνο στην φάση G₀. Εάν οι εξωκυτταρικές συνθήκες είναι ευνοϊκές και υπάρχουν σήματα για ανάπτυξη και διαίρεση, τα κύτταρα περνούν από το σημείο μετάβασης G₁-S και δεσμεύονται στην αντιγραφή του DNA, ακόμη και αν αφαιρεθούν τα εξωκυτταρικά σήματα που διεγείρουν την κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση (Wang 2022).

Η μίτωση διαχωρίζεται στην πρόφαση, τη προμετάφαση, τη μετάφαση, την ανάφαση και την τελόφαση. Στην πρόφαση τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα που αποτελούνται από δύο αδερφές χρωματίδες συμπυκνώνονται. Στο κυτταρόπλασμα ταυτόχρονα δημιουργείται η μιτωτική άτρακτος ανάμεσα από τα δύο

απομακρυσμένα κεντροσώματα. Η προμετάφαση ξεκινά με την αποικοδόμηση του πυρηνικού περιβλήματος, γεγονός που επιτρέπει στα χρωμοσώματα να προσδεθούν στους μικροσωληνίσκους της ατράκτου. Ακολουθεί το στάδιο της μετάφασης κατά το οποίο τα συσπειρωμένα χρωμοσώματα παρατάσσονται στον ισημερινό της ατράκτου, στο μέσο της απόστασης των δύο πόλων. Για τη διατήρηση των χρωμοσωμάτων σε αυτή τη θέση απαιτούνται κινητήριες πρωτεΐνες καθώς και συνεχής αύξηση και μείωση του μήκους των μικροσωληνίσκων. Η ανάφαση ξεκινά με τον διαχωρισμό των αδερφών χρωματίδων, διεργασία που οφείλεται στην απομάκρυνση συγκεκριμένων πρωτεϊνών, των κοεζινών, που συγκρατούν τις αδερφές χρωματίδες μεταξύ τους. Τα θυγατρικά κύτταρα, στο τέλος της ανάφασης έχουν διαχωριστεί σε δύο ίσες ομάδες, μία σε κάθε πόλο της ατράκτου. Στο τελικό στάδιο της μίτωσης, την τελόφαση, δημιουργείται γύρω από κάθε ομάδα χρωμοσωμάτων πυρηνικό περίβλημα, ολοκληρώνοντας έτσι τον σχηματισμό των δύο πυρήνων. Η φάση M ολοκληρώνεται με την κυτταροκίνηση, διεργασία που διαιρεί το κυτταρόπλασμα στα δύο, ενώ για της πραγματοποίηση της είναι απαραίτητος ο σχηματισμός συσταλτικού δακτυλίου, παροδικής δομής που αποτελείται από νημάτια ακτίνης και μυοσίνης (Alberts, 2014; Wang, 2021).



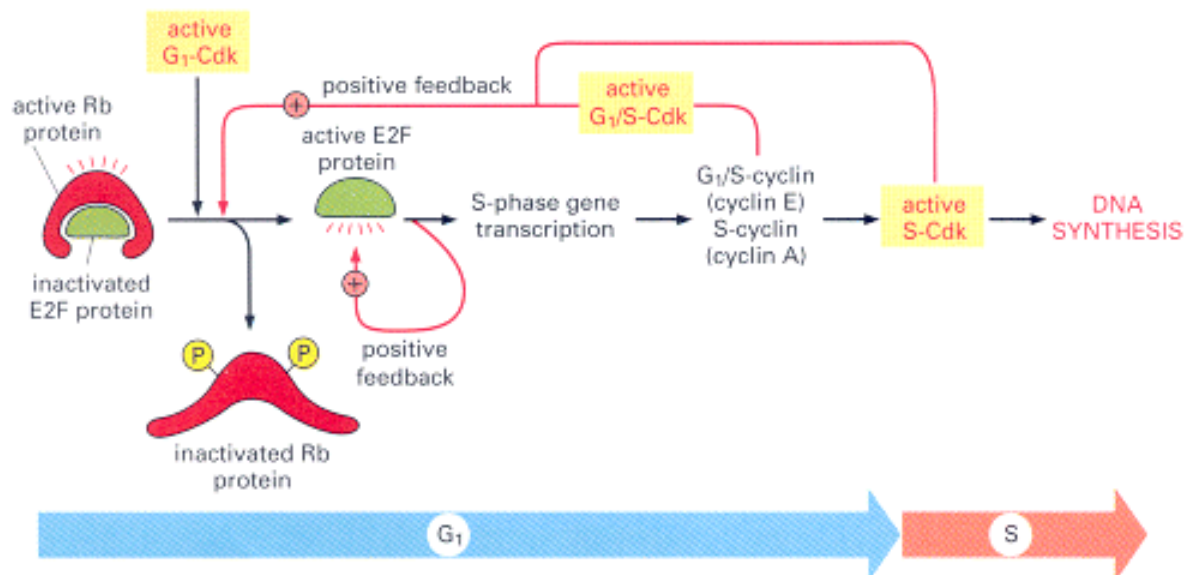
Εικόνα 2. Οι διαφορετικές φάσεις του κυτταρικού κύκλου και τα σημεία ελέγχου αυτού. Μετά τη φάση της μίτωσης (εικονίζεται ως M), ακολουθεί η κυτταροκίνηση (δεν εικονίζεται) (Wang, 2021).

Σημεία ελέγχου κυτταρικού κύκλου

Όλες οι φάσεις του κυτταρικού κύκλου που αναφέρθηκαν πρέπει να ρυθμίζονται με τον κατάλληλο τρόπο έτσι ώστε να διασφαλίζεται η δημιουργία δύο πανομοιότυπων θυγατρικών κυττάρων. Πρωταρχικό ρόλο στη ρύθμιση αυτή παίζουν οι πρωτεϊνικές κινάσες εξαρτώμενες από κυκλίνες (cyclin-dependent protein kinases- Cdk). Η

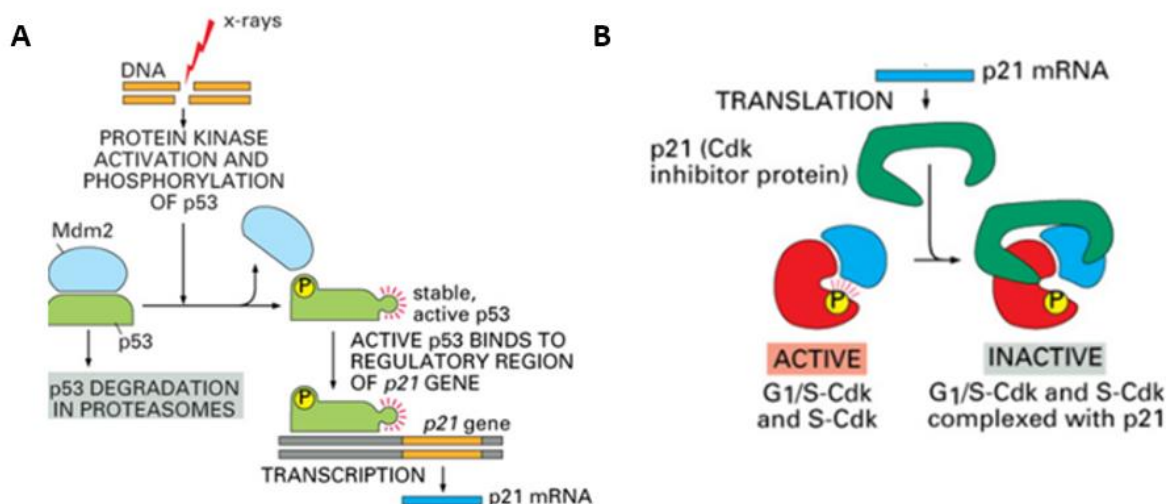
ενεργοποίηση του ενζύμου απαιτεί την πρόσδεση μιας συγκεκριμένης ρυθμιστικής πρωτεΐνης, της κυκλίνης. Με τη βοήθεια των κυκλινών, οι κινάσες Cd καθοδηγούνται στις πρωτεΐνες-στόχους. Οι συγκεντρώσεις των διαφόρων κυκλινών μεταβάλλονται με κυκλικό τρόπο κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου, ενώ οι συγκεντρώσεις των κινασών Cd, παραμένουν σταθερές (Bertoli et al,2013).

Υπάρχουν διαφορετικά σύμπλοκα κυκλινών - κινασών Cd που πυροδοτούν διαφορετικά βήματα του κυτταρικού κύκλου. Το σύμπλοκο G_1 -Cdk (κυκλίνη D-Cdk4,Cdk6) προωθεί την έναρξη του κυτταρικού κύκλου, ώστε το κύτταρο να διαιρεθεί (Van den Heuvel, 2005). Η διέγερση του συμπλόκου βασίζεται σε εξωκυττάρια σήματα-μιτογόνα. Στο συγκεκριμένο σημείο ελέγχου του κυτταρικού κύκλου δρα και η G_1/S -Cdk (κυκλίνη E-Cdk2). Όταν δεν υπάρχουν μιτογόνα στο εξωκυττάριο περιβάλλον, η ενεργοποιημένη, μη φωσφορυλιωμένη πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος Rb (retinoblastoma protein), προσδένεται σε ειδικούς μεταγραφικούς ρυθμιστές και δεν επιτρέπει την διέγερση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Όταν στο εξωκυττάριο περιβάλλον υπάρχουν μιτογόνα, προσδένονται σε συγκεκριμένους υποδοχείς του κυτταροπλάσματος και ενεργοποιούν σηματοδοτικές οδούς που καταλήγουν στην ενεργοποίηση των συμπλόκων G_1 -Cdk και G_1/S -Cdk. Αυτά φωσφορυλιώνουν και απενεργοποιούν την πρωτεΐνη Rb, η οποία απελευθερώνει ειδικούς μεταγραφικούς ρυθμιστές (πχ E2F). Έτσι, ενεργοποιείται η μεταγραφή γονιδίων που απαιτούνται για την είσοδο του κυττάρου στη φάση S (Johansson,2022).



Εικόνα 3.Μονοπάτι σηματοδότησης RB-E2F, όπου η λειτουργία του μεταγραφικού παράγοντα E2F ελέγχεται από την φωσφορυλίωση της Rb

Ο μηχανισμός που λειτουργεί στη μετάβαση G_1 -S, παρεμποδίζει την αντιγραφή του DNA που έχει υποστεί βλάβη, μέσω αναστολέων των Cdk. Σε ένα υγιές κύτταρο, η πρωτεΐνη p53 εκφράζεται συνεχώς. Απουσία βλαβών του DNA, η μη φωσφορυλιωμένη p53 προσδένεται με την πρωτεΐνη mdm2 και αποδομείται από τα πρωτεασώματα του κυττάρου. Όταν προκληθεί βλάβη στο DNA, πχ δίκλωνη ρήξη, τότε ενεργοποιούνται ειδικές πρωτεϊνικές κινάσες που φωσφορυλιώνουν την p53 και με αυτό τον τρόπο την ενεργοποιούν. Η ενεργοποιημένη πρωτεΐνη προσδένεται στη ρυθμιστική περιοχή ενός γονιδίου, του p21, το οποίο λειτουργεί ως αναστολέας Cdk και πυροδοτεί την μεταγραφή και μετάφρασή του. Η πρωτεΐνη p21 προσδένεται στα σύμπλοκα G_1 /S-Cdk και S-Cdk και αναστέλλει την δράση τους, σταματώντας τον κυτταρικό κύκλο στη φάση G_1 . Η στάση του κυτταρικού κύκλου επιτρέπει στο κύτταρο να επιδιορθώσει τη βλάβη, αποφεύγοντας την δημιουργία μεταλλάξεων (Alberts, 2014).



Εικόνα 4. Ο μηχανισμός ελέγχου του κυτταρικού κύκλου στο στάδιο G_1 -S. Α. Βλάβη του DNA πυροδοτεί την έκφραση της πρωτεΐνης p21. Β. Στόχος της p21 είναι η απενεργοποίηση των συμπλόκων G_1 /S-Cdk και S-Cdk (Alberts, 2014).

Το επόμενο σημείο ελέγχου του κυτταρικού κύκλου αφορά την μετάβαση του κυττάρου στην φάση M από την φάση G_2 . Η μετάβαση αυτή απαιτεί την αιφνίδια αύξηση και ενεργοποίηση του συμπλόκου M-Cdk (κυκλίνης B-Cdk1). Μόλις σχηματιστεί το σύμπλοκο M-Cdk, φωσφορυλιώνεται από την κινάση Wee1, γεγονός που οδηγεί σε αναστολή της δράσης του. Η απομάκρυνση των φωσφορικών ομάδων από την φωσφατάση Cdc25, είναι απαραίτητη για να είναι ενεργό το σύμπλοκο M-Cdk. Εάν η αντιγραφή του κυττάρου σταματήσει ή καθυστερήσει και υπάρχει μονόκλωνο DNA, ενεργοποιείται μία συγκεκριμένη οδός στο κύτταρο που αναστέλλει την δράση των φωσφατασών Cdc25. Με αυτόν τον τρόπο οι φωσφορικές ομάδες δεν αφαιρούνται από το σύμπλοκο M-Cdk, αυτό δεν ενεργοποιείται και το κύτταρο δεν προχωρά στη φάση M (Lim and Kaldis 2013).

Το τελευταίο σημείο ελέγχου, το σημείο ελέγχου της συναρμολόγησης της ατράκτου (spindle assembly checkpoint-SAC) αφορά την έξοδο του κυττάρου από την μίτωση.

Το σύμπλοκο προαγωγής της ανάφασης (anaphase-promoting complex, APC/C) ελέγχει τον διαχωρισμό των αδελφών χρωματίδων κατά την αρχή της ανάφασης. Η σεπαράση είναι ένα πρωτεολυτικό ένζυμο που διασπά τις πρωτεΐνες κοεζίνες, που συγκρατούν τις αδερφές χρωματίδες μέχρι το στάδιο της μετάφασης. Η δράση της σεπαράσης αναστέλλεται από την πρωτεΐνη σεκουρίνη. Μόνο όταν το σύμπλοκο APC/C ουμπικουϊτινιώσει την σεκουρίνη, γεγονός που θα οδηγήσει στην αποδόμησή της, η σεπαράση θα καταστεί ενεργή. Επιπλέον, για την έξοδο του κυττάρου από την μίτωση είναι απαραίτητη η αποδόμηση της κυκλίνης M, διεργασία που ελέγχεται από το σύμπλοκο APC/C, πάλι μέσω ουμπικουϊτινίωσης της κυκλίνης και έπειτα αποδόμησής της. Σε περίπτωση που υπάρχει χρωμόσωμα το οποίο δεν έχει προσδεθεί στη μιτωτική άτρακτο, το κύτταρο αποκρίνεται μέσω σηματοδοτικής οδού που έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της ενεργοποίησης του συμπλόκου APC/C και την παρεμπόδιση της αποδόμησης της κυκλίνης M. Έτσι, παρεμποδίζεται η έναρξη της ανάφασης και κατά συνέπεια η έξοδος του κυττάρου από την μίτωση (Alberts, 2014).

Σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και καρκίνος

Ο καρκίνος είναι μια ασθένεια στην οποία ορισμένα από τα κύτταρα του σώματος πολλαπλασιάζονται ανεξέλεγκτα και εξαπλώνονται σε άλλα μέρη του σώματος. Στον ορισμό του καρκίνου συνήθως αναφέρεται και η φυσική επιλογή. Η φυσική επιλογή είναι η δύναμη της εξέλιξης που προωθεί την προσαρμογή. Για να συμβεί η φυσική επιλογή, πρέπει να υπάρχει κληρονομική παραλλαγή (είτε γενετική, επιγενετική, χρωμοσωμική, παραλλαγή αριθμού αντιγράφων, κ.λπ.), ένας ανταγωνισμός για την επιβίωση και η κληρονομική παραλλαγή πρέπει να επηρεάζει την επιτυχία του αγώνα. Ο καρκίνος εμφανίζει όλες αυτές τις ιδιότητες (κληρονομική παραλλαγή, αγώνας και ότι αυτά συνδέονται) που είναι απαραίτητες και επαρκείς για τη φυσική επιλογή. Όταν τα μεταλλαγμένα κύτταρα δεν ανταποκρίνονται κατάλληλα στα σήματα που ελέγχουν τη φυσιολογική συμπεριφορά των κυττάρων, γίνονται καρκινικά, αναπτύσσονται και διαιρούνται με ανεξέλεγκτο τρόπο, εισβάλλοντας σε φυσιολογικούς ιστούς και όργανα και εξαπλώνονται σε όλο το σώμα. Μορφολογικά, το καρκινικό κύτταρο χαρακτηρίζεται από μεγάλο πυρήνα, με ακανόνιστο μέγεθος και σχήμα, συνήθως προεξέχων, ενώ το κυτταρόπλασμα είναι σπάνιο και έντονα χρωματισμένο ή, αντίθετα, αραιοχρωματικό (Wenzel and Singh, 2018).

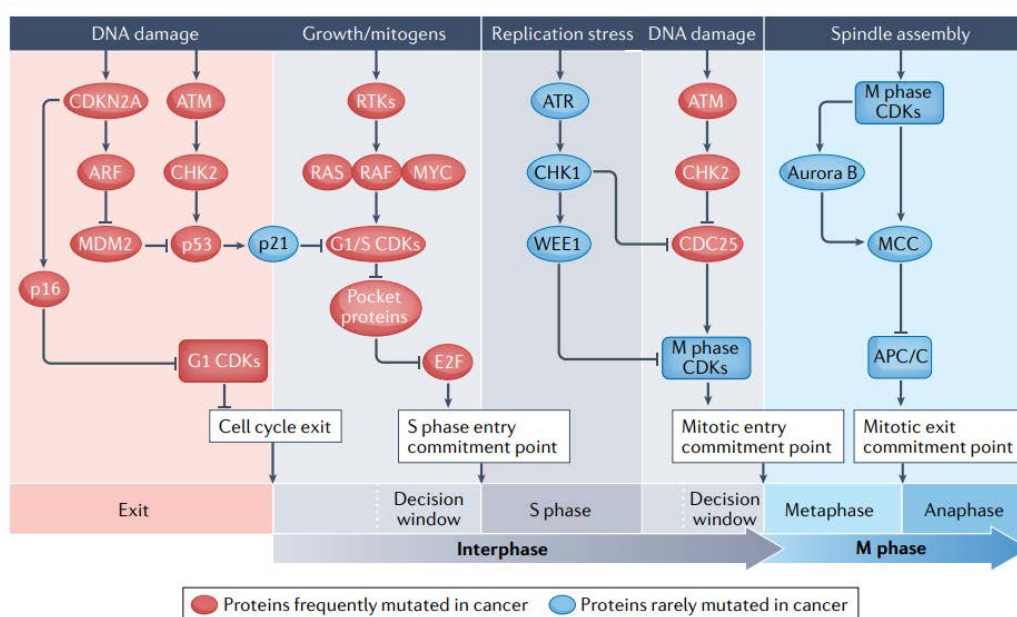
Η μετάσταση είναι η κύρια αιτία θνησιμότητας από καρκίνο. Η μετάσταση είναι μια διαδικασία πολλαπλών σταδίων που περιλαμβάνει τοπική διήθηση καρκινικών κυττάρων στον παρακείμενο ιστό, ενδοθηλιακή μετανάστευση καρκινικών κυττάρων σε αγγεία γνωστή ως ενδοαγγείωση, επιβίωση στο κυκλοφορικό σύστημα, εξαγγείωση και επακόλουθος πολλαπλασιασμός σε όργανα που οδηγεί σε αποικισμό. Ουσίες που προκαλούν καρκίνο, ονομάζονται καρκινογόνες ουσίες, έχουν εντοπιστεί τόσο από μελέτες σε πειραματόζωα όσο και από επιδημιολογική ανάλυση των συχνοτήτων καρκίνου σε ανθρώπινους πληθυσμούς (π.χ. η υψηλή συχνότητα καρκίνου του πνεύμονα στους καπνιστές τσιγάρων). Δεδομένου ότι η ανάπτυξη κακοήθειας είναι μια πολύπλοκη διαδικασία πολλαπλών σταδίων, πολλοί παράγοντες μπορεί να επηρεάσουν την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου και είναι άστοχο να

γίνονται έρευνες για μεμονωμένες αιτίες που προκαλούν καρκίνο. Ωστόσο, πολλοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένης της ακτινοβολίας, των χημικών ουσιών και των ιών, έχουν βρεθεί ότι προκαλούν καρκίνο τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους. Μερικοί από τους παράγοντες έναρξης που συμβάλλουν στους ανθρώπινους καρκίνους περιλαμβάνουν την ηλιακή υπεριώδη ακτινοβολία (η κύρια αιτία καρκίνου του δέρματος), τις καρκινογόνες χημικές ουσίες στον καπνό του τσιγάρου και την αφλατοξίνη (παράγεται από μούχλα). Οι καρκινογόνες ουσίες στον καπνό του τσιγάρου είναι οι κύριες αναγνωρισμένες αιτίες καρκίνου στον άνθρωπο. Το κάπνισμα είναι η αδιαμφισβήτητη αιτία του 80 έως 90% των καρκίνων του πνεύμονα, καθώς και ότι εμπλέκεται σε καρκίνους της στοματικής κοιλότητας, του φάρυγγα, του λάρυγγα, του οισοφάγου και άλλων σημείων. Συνολικά, εκτιμάται ότι το κάπνισμα ευθύνεται για σχεδόν το ένα τρίτο όλων των θανάτων από καρκίνο - ένας εντυπωσιακός αριθμός για έναν μόνο καρκινογόνο παράγοντα (Van Zijl et al., 2011).

Η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη και διαίρεση των κυττάρων είναι χαρακτηριστικά των καρκινικών κυττάρων, που μπορούν να οδηγήσουν στο σχηματισμό όγκου ή εισβολή και εξάπλωση καρκινικών κυττάρων σε άλλες περιοχές του σώματος. Η ανάπτυξη καρκίνου οφείλεται συχνά σε μεταλλάξεις ή αλλαγές των γονιδίων που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο, τα οποία διαταράσσουν τη φυσιολογική ρύθμιση της κυτταρικής ανάπτυξης και διαίρεσης (Baba and Câtoi, 2007). Όπως αναφέρθηκε ο κυτταρικός κύκλος ελέγχεται αυστηρά από μια σειρά ρυθμιστικών πρωτεϊνών και σημείων ελέγχου που διασφαλίζουν ότι τα κύτταρα διαιρούνται μόνο όταν λάθη της αντιγραφής ή ρήξεις του DNA έχουν διορθωθεί. Δύο είδη ρυθμιστικών γονιδίων έχουν βρεθεί ότι σχετίζονται με τον καρκίνο: αυτά που προάγουν την ανάπτυξη του, που ονομάζονται πρώτο – ογκογονίδια όπως Ras, Wnt, Myc, Erk, και αυτά που καταστέλλουν την ανάπτυξη του, που ονομάζονται ογκοκατασταλτικά - γονίδια καταστολής του καρκίνου, όπως p53, INK4 και PTEN. Για παράδειγμα, μεταλλάξεις σε ογκοκατασταλτικά γονίδια, όπως το p53, μπορούν να εμποδίσουν τα κύτταρα να σταματήσουν τον κυτταρικό κύκλο όταν ανιχνεύουν βλάβη στο DNA ή άλλες ανωμαλίες, επιτρέποντας στα κατεστραμμένα κύτταρα να συνεχίσουν να διαιρούνται και να συσσωρεύουν επιπλέον μεταλλάξεις. Ομοίως, μεταλλάξεις σε πρωτο-ογκογονίδια, όπως το Ras, μπορούν να προάγουν την κυτταρική διαίρεση και ανάπτυξη παρακάμπτοντας τους φυσιολογικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς του κυτταρικού κύκλου. Η ανάπτυξη του καρκίνου είναι μια πολύπλοκη διαδικασία που συχνά περιλαμβάνει πολλαπλές μεταλλάξεις ή αλλαγές στα γονίδια που ρυθμίζουν τον κυτταρικό κύκλο, καθώς και άλλες κυτταρικές διεργασίες όπως η απόπτωση (προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος) και η επιδιόρθωση του DNA (Kontomanolis et al., 2020).

Ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος ή η απόπτωση είναι αναπόσπαστο μέρος του προγράμματος διαφοροποίησης πολλών τύπων κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των κυττάρων του αίματος. Πολλά καρκινικά κύτταρα αποτυγχάνουν να υποστούν απόπτωση και ως εκ τούτου παρουσιάζουν αυξημένη

διάρκεια ζωής σε σύγκριση με τα κανονικά αντίστοιχα. Αυτή η αποτυχία των καρκινικών κυττάρων να υποστούν προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο συμβάλλει ουσιαστικά στην ανάπτυξη του όγκου. Για παράδειγμα, η επιβίωση πολλών φυσιολογικών κυττάρων εξαρτάται από σήματα όπως αυξητικούς παράγοντες που εμποδίζουν την απόπτωση. Αντίθετα, τα καρκινικά κύτταρα είναι συχνά ικανά να επιβιώσουν απουσία αυξητικών παραγόντων που απαιτούνται από τα φυσιολογικά αντίστοιχα. Μια τέτοια αποτυχία των καρκινικών κυττάρων να υποστούν απόπτωση όταν στερούνται φυσιολογικών περιβαλλοντικών σημάτων μπορεί να είναι σημαντική όχι μόνο στην ανάπτυξη πρωτογενούς όγκου αλλά και στην επιβίωση και ανάπτυξη μεταστατικών κυττάρων σε μη φυσιολογικές θέσεις ιστού. Τα φυσιολογικά κύτταρα υφίστανται επίσης απόπτωση μετά από βλάβη του DNA, ενώ πολλά καρκινικά κύτταρα αποτυγχάνουν να το κάνουν. Σε αυτή την περίπτωση, η αποτυχία να υποβληθεί σε απόπτωση συμβάλλει στην αντίσταση των καρκινικών κυττάρων στην ακτινοβολία και σε πολλά χημειοθεραπευτικά φάρμακα, τα οποία δρουν καταστρέφοντας το DNA (Elmore, 2007).



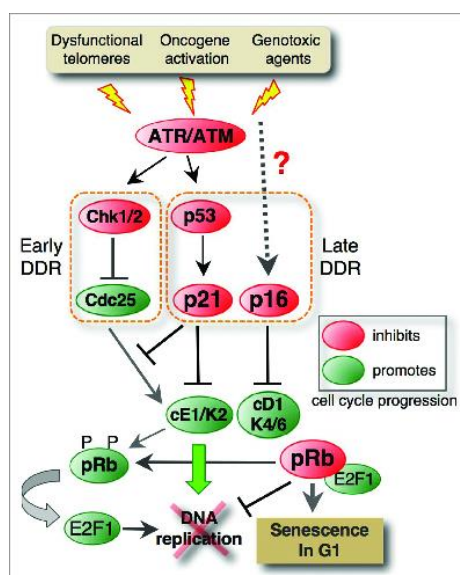
Εικόνα 5. Βασικά μονοπάτια σηματοδότησης που εμπλέκονται στον έλεγχο του κυτταρικού κύκλου και στον καρκίνο (Matthews et al., 2022).

Σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου και γήρανση

Η γήρανση των κυττάρων (senescence), ορίζεται ως μία μη αναστρέψιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου. Αρχικά, η γήρανση περιγράφεται ως μια κατάσταση μόνιμης

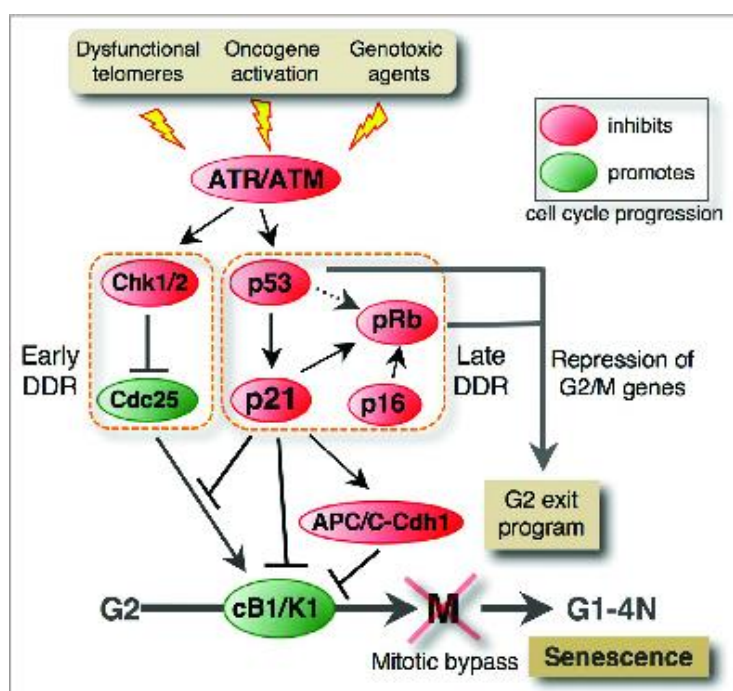
διακοπής στην G1 φάση, η οποία προκαλείται από τη φθορά των τελομερών, κυρίως λόγω της κυτταρικής γήρανσης και της υπερδραστηριότητας ογκογονιδίων. Η γήρανση μπορεί επίσης να προκληθεί από γονοτοξικούς παράγοντες, οι οποίοι ενεργοποιούν τις οδούς απόκρισης βλάβης του DNA και ενεργοποιούν σημεία ελέγχου του κυτταρικού κύκλου για να σταματήσουν τον πολλαπλασιασμό. Αυτή η διακοπή του κυτταρικού κύκλου ενεργοποιείται μέσω της απόκρισης βλαβών στο DNA (DNA damage response, DDR), που ενεργοποιεί αναστολείς κινασών εξαρτώμενων από κυκλίνες (Cdk inhibitors), όπως οι p21 και p16, και μπλοκάρει τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης του ρετινοβλαστώματος (pRb). Η γήρανση δεν περιορίζεται μόνο στη G1 φάση, καθώς η p21 αναστέλλει επίσης τις κυκλινεξαρτώμενες κινάσες και στη Cdk στην G2 φάση, οδηγώντας σε μία μη αναστρέψιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου ακόμα και σε αυτή τη φάση. Αυτό το μοντέλο έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές πρόσφατες μελέτες, συμπεριλαμβανομένων πειραμάτων σε ανθρώπινα κύτταρα και καρκινικά κύτταρα (Kumari et al., 2021).

Τα δυσλειτουργικά τελομερή, τα υπερδραστήρια ογκογονίδια και οι διάφοροι γονοτοξικοί παράγοντες διεγείρουν την οδό απόκρισης βλάβης DNA (DDR) με τη μεσολάβηση ATM/ATR. Οι κινάσες ATM/ATR επάγουν την πρώιμη απόκριση ενεργοποιώντας τις κινάσες του σημείου ελέγχου Chk1/2 που, με τη σειρά τους, αναστέλλοντας τις φωσφατάσες Cdc25, εμποδίζουν την ενεργοποίηση της κυκλίνης E1-Cdk2, η οποία είναι βασικός ρυθμιστής της μετάβασης G1/S. Η ATM φωσφορυλιώνει επίσης τον καταστολέα όγκου p53 που, επάγοντας τον αναστολέα Cdk p21, παίζει κεντρικό ρόλο στο πρόγραμμα εξόδου G1 (όψιμη απόκριση). Εκτός από τα σύμπλοκα κυκλίνης E1-Cdk2, η p21 αναστέλλει επίσης τα σύμπλοκα κυκλίνης D1-Cdk4/6 που φωσφορυλιώνουν και αδρανοποιούν τις πρωτεΐνες Rb. Με τη σειρά του, το ενεργό pRb αναστέλλει την εξαρτώμενη από το E2F1 έκφραση των γονιδίων που ελέγχουν την εξέλιξη του G1/S, εμποδίζοντας έτσι μη αναστρέψιμα την είσοδο στον κυτταρικό κύκλο. Η γήρανση σχετίζεται επίσης με την ανοδική ρύθμιση του p16, αλλά οι οδοί που οδηγούν στην επαγωγή του δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως. Αυτός ο αναστολέας Cdk στοχεύει ειδικά το Cdk4/6 και αποτρέπει τη συσχέτισή τους με κυκλίνες τύπου D. Ενώ η p16 δεν παρεμβαίνει στη διακοπή της G1 (η p16 ρυθμίζεται προς τα πάνω μετά την επαγωγή της διακοπής της p21 και της G1), παίζει βασικό ρόλο στη διατήρηση της γήρανσης (Mombach et al., 2014).



Εικόνα 6. Μοριακά μονοπάτια που εμπλέκονται στη μη αναστρέψιμη γήρανση μέσω διακοπής του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 (Gire and Dulic, 2015).

Η γήρανση είναι επίσης δυνατόν να προκληθεί κατά τη διάρκεια μιας παρατεταμένης σύλληψης του G2. Τα ερεθίσματα υπέρ της γήρανσης ενεργοποιούν το μονοπάτι σηματοδότησης βλάβης του DNA ATM/ATR, οδηγώντας σε σταθερή διακοπή του G2 που συνεπάγεται μιτωτική παράκαμψη και μόνιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου σε μια τετραπλοειδή φάση G1. Η πρώτη ανταπόκριση περιλαμβάνει αναστολή των φωσφατάσης Cdc25 με τη μεσολάβηση Chk1/2, οι οποίες προάγουν τη μίτωση ενεργοποιώντας τα σύμπλοκα κυκλίνης B1-Cdk1 (M-Cdk). Σε κύτταρα με έλλειψη p53, αυτή η οδός μπλοκάρει παροδικά την εξέλιξη του G2/M, αλλά η οδός p53/p21 απαιτείται για να σταθεροποιήσει τη διακοπή του G2. Εκτός από την αναστολή των συμπλεγμάτων κυκλίνης B1-Cdk1, η p21 μεσολαβεί στην πρόωρη ενεργοποίηση του APC/C, οδηγώντας σε αποικοδόμηση της κυκλίνης B1 και άλλων μιτωτικών ρυθμιστών. Όπως και στη διακοπή του G1, το p21 επίσης ενεργοποιεί το pRb αναστέλλοντας τη φωσφορυλίωση του pRb με τη μεσολάβηση Cdk. Το ενεργό pRb αναστέλλει την έκφραση των γονιδίων που ελέγχουν την εξέλιξη του G2/M, οδηγώντας σε μη αναστρέψιμη διακοπή του G2 του κυτταρικού κύκλου. Προτείνεται ότι η p53 μπορεί να προκαλέσει γήρανση ανεξάρτητα από την p21 μέσω μηχανισμών που δεν είναι πλήρως σαφείς. Όπως και στη διακοπή G1, η p16 σταθεροποιεί τη γήρανση στο G2 πιθανώς στοχεύοντας τις κινάσες που φωσφορυλιώνουν την Rb (Gire and Dulic, 2015).



Εικόνα 7. Μονοπάτια απόκρισης βλάβης DNA που εμπλέκονται στο πρόγραμμα εξόδου της φάσης G2 και οδηγούν στη γήρανση (Gire and Dulic, 2015).

Η γήρανση λειτουργεί ως ένας σημαντικός φραγμός κατά του καρκίνου, εμποδίζοντας την ανεξέλεγκτη αναπαραγωγή κυττάρων με κατεστραμμένο DNA. Ωστόσο, αυτή η διαδικασία μπορεί επίσης να συνδεθεί με παθολογικές καταστάσεις, όπως η γήρανση των ιστών και η προαγωγή της καρκινογένεσης, μέσω της έκκρισης των παραγόντων SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype), οι οποίοι μπορούν να προάγουν ή να περιορίζουν τον καρκίνο ανάλογα με τις συνθήκες. Οι παράγοντες SASP μπορούν να δράσουν αυτόνομα στα κύτταρα ενισχύοντας τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και μη αυτόνομα επηρεάζοντας το περιβάλλον και προάγοντας την ανοσολογική επιτήρηση, οδηγώντας στην εξάλειψη των γηρασμένων κυττάρων. Επιπλέον, τα κύτταρα που έχουν υποστεί γήρανση μπορούν να παίξουν ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία, όπως στην αναδόμηση των ιστών κατά την ανάπτυξη των εμβρύων και την πρόληψη της ίνωσης (Gire and Dulic, 2015).

Caveolae/Μικροσπήλαια

Τα caveolae ορίστηκαν κλασικά ως εγκολπώσεις πλασματικής μεμβράνης (invaginations) με διάμετρο μήκους ~50 έως 100 nm. Ωστόσο, τα Caveolae παρατηρούνται ως εγκολπώσεις, επίπεδα εντός του επιπέδου της πλασματικής μεμβράνης ή αποκολλημένα κυστίδια. Επιπλέον, μπορούν να συντηχθούν με μεμβράνες για να σχηματίσουν δομές που μοιάζουν με σταφύλι ή σωληνάριο σε μεγέθη μέχρι και 100 nm (Smart et al., 1999). Τέτοιου είδους δομές εντοπίζονται σε ενδοθηλιακά κύτταρα, γραμμωτά και λεία μυϊκά κύτταρα, στα λιποκύτταρα και στα πνευμονοκύτταρα τύπου I στον πνεύμονα (Parton et al., 2020). Πρόσφατες έρευνες αποδεικνύουν ότι μπορεί να εντοπίζονται και στα κύτταρα του νευρικού συστήματος (Cheng and Nichols, 2016).

Η σύνθεση των Caveolae είναι λιπιδική, αφού αποτελούνται κυρίως από χοληστερόλη και σφιγγολιπίδια (σφιγγομυελίνη και γλυκοσφιγγολιπίδια). Αντίθετα, οι περιοχές της πλασματικής μεμβράνης που αποτελούνται κυρίως από φωσfolιπίδια δεν οδηγούν στον σχηματισμό τους. Η χοληστερόλη και τα σφιγγολιπίδια σχηματίζουν μια φάση υγρής τάξης (l_o), η οποία αντιστέκεται σε διαλυτοποίηση από απορρυπαντικό. Αυτές οι ανθεκτικές σε απορρυπαντικά περιοχές απομονώνονται από κύτταρα και ιστούς θηλαστικών και αναφέρονται ως μεμβράνες πλούσιες σε γλυκολιπίδια αδιάλυτες σε απορρυπαντικά, σχεδίες σφιγγολιπιδίων, μεμβράνες εμπλουτισμένες σε γλυκολιπίδια, μεμβράνες ανθεκτικές σε απορρυπαντικά, μεμβράνες χαμηλής πυκνότητας πλούσιες σε κοιλότητα, μεμβράνες χαμηλής πυκνότητας, πλούσιες σε κοιλότητα, μεμβράνες με χαμηλή πυκνότητα, μεμβράνες πλούσιες σε γλυκολιπίδια, Περιοχές αδιάλυτες σε Τρίτονα, τομείς τύπου caveola και τομείς που σχετίζονται με το caveola. Ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου, τα caveolae περιέχουν από 4 έως 30% χοληστερόλη της κυτταρικής μεμβράνης και έως ~95% κυτταρική σφιγγομυελίνη. Η

μεταβολή των λιπιδίων που συνθέτουν τα caveolae μπορεί να είναι ένα μέσο ρύθμισης της λειτουργίας τους (Radu et al., 2005).

Οι caveolins είναι τα βασικά πρωτεϊνικά συστατικά των caveolae που δεσμεύουν τη χοληστερόλη άμεσα. Η δέσμευση της χοληστερόλης σταθεροποιεί τον σχηματισμό ομο-ολιγομερών συμπλοκών καβεολίνης. Δεδομένου ότι οι περιοχές με τάξη υγρού εμπλουτίζονται δραματικά σε χοληστερόλη, οι καβεολίνες μπορούν να έλκονται ή να διαχωρίζονται σε περιοχές με τάξη υγρού μέσω μιας άμεσης αλληλεπίδρασης με τη χοληστερόλη. Έτσι, τα ομο-ολιγομερή caveolin μπορεί να αλληλεπιδράσουν μεταξύ τους σε περιοχές με τάξη υγρού για να οδηγήσουν τον σχηματισμό των εμβόλιμων περιοχών μεμβράνης σε σχήμα φιάλης που βλέπουμε ως caveolae. Δεδομένου ότι οι περιοχές με τάξη υγρού μπορούν επίσης να σχηματιστούν μέσα στη συσκευή Golgi, η κατανομή των caveolins σε περιοχές υγρής τάξης μπορεί να αρχίσει να συμβαίνει στο επίπεδο της συσκευής Golgi, ξεκινώντας τη βιογένεση των caveolae (Thomas and Smart, 2008)

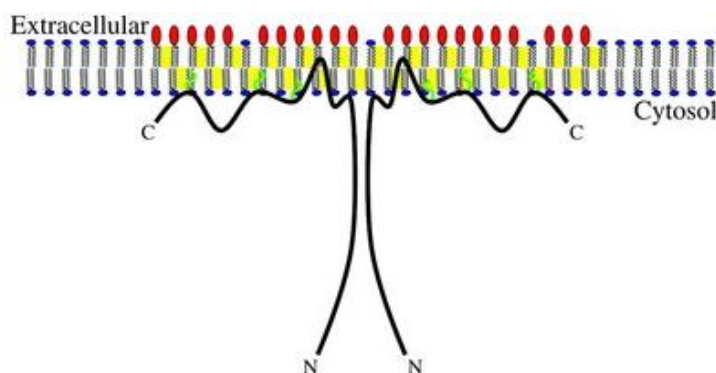
Οι περιοχές Caveolae και οι σχετικές με caveolae αποτελούνται από μόρια που παίζουν καθοριστικό ρόλο στην ενδοκυτταρική μεταγωγή σήματος. Αυτά τα μόρια περιλαμβάνουν υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G, ετεροτριμερείς πρωτεΐνες G, κινάσες τυροσίνης υποδοχέα, συστατικά της οδού κίνησης της ενεργοποιούμενης από μιτογόνο πρωτεΐνη (MAP), κινάσες τυροσίνης οικογένειας Src, πρωτεϊνική κινάση C (PKCs) και συνθάση νιτρικού οξειδίου NOS) (Patel et al., 2008). Επίσης εντός των caveolae υπάρχουν μόρια όπως οι λιπιδικοί μεσολαβητές που παίζουν ρόλο στην μεταγωγή σήματος. Ο αυξητικός παράγοντας νεύρων (nerve growth factor-NGF) συνδέεται στον υποδοχέα NGF p75 και επάγει την παραγωγή κεραμιδίου εντός των caveolae των ολιγοδενδροκυττάρων. Η αύξηση της συγκέντρωσης του κεραμιδίου μπορεί να προκαλέσει απόπτωση των κυττάρων ενεργοποιώντας την ενεργοποιημένη από το στρες πρωτεϊνική κινάση ή κινάση Jun. Το υπόστρωμα για την παραγωγή κεραμιδίου είναι η σφιγγομυελίνη, η οποία είναι ένα κύριο λιπιδικό συστατικό των caveolae και των περιοχών που σχετίζονται με τα caveolae (Smart et al., 1999).

Μία βασική λειτουργία των caveolae είναι η ενδοκυττάρωση, δηλαδή η διαδικασία εγκόλπωσης ουσιών στο κύτταρο, οι οποίες δεν μπορούν να διαπεράσουν την μεμβράνη. Η εκβλάστηση των caveolae ρυθμίζεται από κινάσες και φωσφατάσες. Η ενδοκυτταρική οδός αυτή διαφέρει από την ενδοκυττάρωση που προκαλείται από κλαθρίνη. Πρώτον, πιστεύεται ότι η εσωτερίκευση του συνδέτη από τα caveolae είναι σημαντικά πιο αργή κατά περίπου δύο έως τέσσερις φορές. Δεύτερον, ο αναστολέας της πρωτεϊνικής φωσφατάσης το οκαδαϊκό οξύ διεγείρει την ενδοκυττάρωση με τη μεσολάβηση caveolae αλλά αναστέλλει τον σχηματισμό κυστιδίων επικαλυμμένων με κλαθρίνη. Το οκαδαϊκό οξύ είναι ένας πολυαιθερικός μεταβολίτης, που απομονώνεται από τον μαύρο θαλάσσιο σπόγγο *Halichondria ocadai* και αναστέλλει τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες, ιδιαίτερα τις PP1 και PP2A. Οι PP1 και PP2A είναι δύο κύριες κατηγορίες πρωτεϊνικών φωσφατάσεων σερίνης/θρεονίνης που αποφωσφορυλιώνουν ένα ευρύ φάσμα πρωτεϊνικών κινάσων. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο οι αναστολείς

φωσφατάσης σερίνης/θρεονίνης (PP1 και PP2A) μπορούν να διεγείρουν την ενδοκυττάρωση των σπηλαίων δεν είναι γνωστός. Επειδή το PP2A είναι ένας ειδικός αναστολέας της κινάσης Src, μια πιθανή εξήγηση για την ενεργοποίηση της ενδοκυττάρωσης μέσω caveolae είναι ότι αυτές οι διαδοχικές αναστολές ενεργοποιούν την κινάση Src που μπορεί να φωσφορυλιώνει την καβεολίνη-1 και/ή -2 (Kiss and Botos, 2009).

Καβεολίνες

Η οικογένεια γονιδίων καβεολίνης (CAV – caveolin) έχει τρία μέλη: caveolin-1, caveolin-2, caveolin-3. Η καβεολίνη-1 ήταν το πρώτο γονίδιο που ανακαλύφθηκε και αποτελείται από τρία εξόνια που διατηρούνται σε μεγάλο βαθμό σε αλληλουχία και δομή μεταξύ των ειδών. Η Caveolin-2 ανακαλύφθηκε με ανάλυση αλληλουχιών από απομονωμένες μεμβράνες μικροσπηλαίων λιποκυττάρων. Βρέθηκε μία παρόμοια πεπτιδική αλληλουχία με αυτή της caveolin-1, που διαφέρει σε αρκετά βασικά διατηρημένα αμινοξέα της πρωτεΐνης caveolin-1. Η διασταύρωση αυτής της νέας πεπτιδικής αλληλουχίας με γνωστές ετικέτες αλληλουχίας (expressed sequence tags -EST), αλληλουχίες DNA (200-500 νουκλεοτίδια) που χρησιμοποιούνται για την αναγνώριση ενός γονιδίου που εκφράζεται σε ένα κύτταρο σε μια συγκεκριμένη χρονική στιγμή, αποκάλυψε μία πρωτεΐνη 162 αμινοξέων παρόμοια με την καβεολίνη, που στη συνέχεια ονομάστηκε caveolin-2. Η Caveolin-3 κλωνοποιήθηκε από μια βιβλιοθήκη cDNA χρησιμοποιώντας μια αλληλουχία που σχετίζεται με την caveolin-1, και βρέθηκε αμέσως μετά τον υποδοχέα ωκυτοκίνης αρουραίου (Williams and Lisanti, 2004).



Εικόνα 8. Η καβεολίνη-1 στην πλασματική μεμβράνη (Cohen et al., 2004).

Το γονίδιο CAV1 και το CAV2 βρίσκονται και τα δύο στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 7q31.1, ενώ το CAV3 βρίσκεται στο 3p25. Ύστερα από την ανακάλυψη των διαφορετικών μελών της οικογένειας των γονιδίων καβεολίνης, βρέθηκε ότι τόσο η καβεολίνη-1 όσο και η καβεολίνη-2 διαθέτουν αρκετές ισομορφές. Η Caveolin-1 έχει δύο ισομορφές, που ονομάζονται α και β. Η α-ισόμορφη αποτελείται από τα αμινοξέα 1-178 και η β-ισόμορφη περιέχει τα 32-178, με αποτέλεσμα η β-ισομορφή να κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη ~3 kDa μικρότερη σε μέγεθος. Η β-ισόμορφη πιστεύεται ότι προέρχεται από μια εναλλακτική θέση έναρξης της μετάφρασης που

δημιουργείται λόγω μιας μεθειονίνης στη θέση 32. Όταν εκφράζεται σε κύτταρα εντόμων Sf21, τα οποία στερούνται ενδογενών caveolae, και οι δύο ισομορφές της καβεολίνης-1, Cav-1α και Cav-1β, οδηγούν στον σχηματισμό caveolae. Επιπλέον, η ανάλυση του μεγέθους των caveolae αποκάλυψε μια μέση τιμή $80 \pm 14,8$ nm με το 95% των κοιλοτήτων να είναι μεταξύ 50-105 nm. Επιπλέον, η παρατήρηση με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο των caveolae, οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τόσο η α όσο και η β ισομορφή της καβεολίνης-1 δημιουργούν μορφολογικά παρόμοιες κοιλότητες σε σχήμα κυπέλλου. Διάφορες μελέτες προτείνουν ότι η ισομορφή cav-1α εντοπίζεται κυρίως σε βαθιά εγκολλημένες κοιλότητες και μπορεί να οδηγήσει πιο αποτελεσματικά τον σχηματισμό caveolae από την β-ισομορφή. Η Caveolin-2 έχει τρεις ταυτοποιημένες ισομορφές, την πλήρους μήκους caveolin-2α, και δύο κολοβωμένες παραλλαγές, που ονομάζονται caveolin-2β και -2γ. Η β-ισομορφή πιστεύεται ότι είναι μια εναλλακτική παραλλαγή ματίσματος, με διακριτή υποκυτταρική διαμερισματοποίηση από την πλήρους μήκους caveolin-2α (Cohen et al., 2004).

Οι καβεολίνες διατηρούνται σε μεγάλο βαθμό σε όλη την εξέλιξη. Παρατηρείται σημαντική ομολογία μεταξύ των διαφόρων γονιδίων των καβεολινών (Williams and Lisanti, 2004). Η ανθρώπινη caveolin-2 είναι ~38% πανομοιότυπη και ~58% παρόμοια με την ανθρώπινη caveolin-1, ενώ η caveolin-3 είναι ~65% πανομοιότυπη και ~85% παρόμοια με την caveolin-1. Έχει εντοπιστεί ένα μοτίβο που είναι πανομοιότυπο μεταξύ και των τριών πρωτεϊνών caveolin, συγκεκριμένα ένα μικρό τμήμα οκτώ αμινοξέων (FEDVIAEP) που αποτελεί την «αλληλουχία υπογραφής caveolin».

Τα γονίδια Cav-1 και Cav-2 έχουν ένα συγκεκριμένο πρότυπο κατανομής, σύμφωνα με το οποίο συνεκφράζονται στους περισσότερους διαφοροποιημένους τύπους κυττάρων, με εξαίρεση τις σκελετικές μυϊκές ίνες και τα καρδιακά μυϊκά κύτταρα. Η αρχική εξέταση ιστού ποντικού με στύπωμα κατά Northern έδειξε ότι η έκφραση της καβεολίνης-3 εντοπίζεται στους σκελετικούς μυς, το διάφραγμα και την καρδιά. Επιπρόσθετα, η έκφραση της Cav-3 έχει αποδειχθεί ότι εξαρτάται από τον βαθμό διαφοροποίησης των μυϊκών κυττάρων, καθώς το Cav-3 mRNA είναι ανιχνεύσιμο μόνο σε διαφοροποιημένους μυοβλάστες C2C12, που δεν πολλαπλασιάζονται, σε αντίθεση με το mRNA του Cav-1 και του Cav-2 που εκφράζονται σε μεγάλο βαθμό σε πρόδρομα κύτταρα μυοβλαστών που πολλαπλασιάζονται (Tang et al., 1996).

Ως το πρωτότυπο μέλος της οικογένειας caveolin, η καβεολίνη-1 έχει αποτελέσει το κύριο συστατικό των μελετών. Θα αναφερθούν τα βασικά χαρακτηριστικά της καβεολίνης-1, η πλειονότητα των οποίων όμως ισχύει τόσο για την καβεολίνη-2 όσο και την καβεολίνη-3. Η Cav-1 είναι μια πρωτεΐνη 22 kDa, 178 αμινοξέων, με τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης να εντοπίζονται σε λιποκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ινοβλάστες και πνευμονοκύτταρα τύπου I. Η έκφραση της caveolin-1 είναι επαρκής και απαραίτητη για να οδηγήσει τον σχηματισμό μορφολογικά αναγνωρίσιμων caveolae. Επιπλέον, η έκφραση της είναι απαραίτητη για τη σταθερή έκφραση και τον εντοπισμό της καβεολίνης-2 στη μεμβράνη. Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η caveolin-2 από μόνη της είναι ανεπαρκής για να προκαλέσει βιογένεση

των caveolae. Η πρωτεΐνη Cav-3 είναι ειδική για τους μύες και, όπως και η Cav-1, είναι αρκετή για να οδηγήσει τον σχηματισμό caveolae (Shi et al., 2015).

Οι αρχικές μελέτες που αφορούσαν τον υποκυτταρικό εντοπισμό της καβεολίνης-1 αποκάλυψαν ότι είναι μια ενσωματωμένη πρωτεΐνη μεμβράνης. Επιπλέον, μελέτες συνέβαλαν στη γενικά αποδεκτή άποψη ότι και τα δύο άκρα της, δηλαδή το αμινοτελικό NH₂ και το καρβοξυτελικό COOH, είναι στραμμένα προς το κυτταρόπλασμα, με μια ενδιάμεση υδρόφοβη περιοχή που βοηθάει στην αγκυροβόληση της πρωτεΐνης στη μεμβράνη. Οι ερευνητές Dupree et al. διατύπωσαν την υπόθεση για την τοποθέτηση της πρωτεΐνης στην μεμβράνη όταν σε πείραμά τους τα αντισώματα που κατευθύνονται εναντίον είτε των τελικών περιοχών NH₂ - ή COOH της caveolin-1 δεν μπόρεσαν να επισημάνουν την πρωτεΐνη χωρίς να διαπεράσουν την κυτταρική μεμβράνη. Πρόσθετες μελέτες έδειξαν ότι το άκρο COOH της caveolin-1 είναι παλμιτοϋλιωμένο και το άκρο NH₂ είναι φωσφορυλιωμένο με τυροσίνη, δύο μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις που απαιτούν και τα δύο άκρα της πρωτεΐνης να παραμείνουν κυτταροπλασματικά. Επιπλέον, μελέτες βιοτινυλίωσης, ταχείας και ειδικής διαδικασίας που στηρίζεται στην ομοιοπολική σύνδεσης της βιοτίνης σε μια πρωτεΐνη, νουκλεϊκό οξύ ή άλλο μόριο, απέτυχαν να επισημάνουν την caveolin-1, υποστηρίζοντας περαιτέρω την ιδέα ότι κανένα τμήμα της πρωτεΐνης caveolin-1 δεν είναι εξωκυτταρικό (Cohen et al., 2004).

Αναλύσεις μεταλλάξεων και πειράματα χαρτογράφησης περιοχών έχουν δείξει τη σημασία δύο συγκεκριμένων περιοχών της πρωτεΐνης καβεολίνης-1 για την προσκόλληση της στη μεμβράνη. Είναι ενδιαφέρον ότι η περιοχή που εκτείνεται στη μεμβράνη (κατάλοιπα 102-134 ενδομεμβρανική περιοχή IMD) δεν βρέθηκε να είναι απαραίτητη για αυτήν τη λειτουργία. Αντίθετα, δύο γειτονικές περιοχές που πλαισιώνουν αυτήν την κεντρική υδρόφοβη περιοχή, τα υπολείμματα 82-101 (περιοχή σκαλωσιάς-CSD) και τα υπολείμματα 135-150, βρέθηκαν να συνδέονται με μεμβράνες με μεγάλη συγγένεια. Αυτές οι περιοχές αναφέρονται ως NH₂ - τερματικός τομέας προσάρτησης μεμβράνης (N-MAD) και COOH-τερματικός τομέας σύνδεσης μεμβράνης (C-MAD), αντίστοιχα. Το C-MAD περιέχει μια αλληλουχία στόχευσης Golgi ανόμοια με άλλες γνωστές αλληλουχίες που σχετίζονται με Golgi. Όταν εκφράζεται ως πρωτεΐνη σύντηξης με μία άλλη κυτταροπλασματική πράσινη φθορίζουσα χρωστική, εντοπίζεται στο cis-Golgi. Όταν η GFP συντήχθηκε με το C-MAD της καβεολίνης-1, η πρωτεΐνη που προέκυψε παρουσίασε ανθεκτικότητα στην εκχύλιση τόσο με Triton X-100 στους 4°C όσο και σε αλκαλικό ανθρακικό ρυθμιστικό, δύο ιδιότητες που χαρακτηρίζουν μια ενσωματωμένη πρωτεΐνη μεμβράνης. Αρκετά κρίσιμα πειράματα αποκαλύπτουν τη σημασία των υπολειμμάτων 82-101 (N-MAD) της καβεολίνης-1 στην προσκόλληση της στη μεμβράνη. Η μεταλλαξογένεση αφαίρεσης αμινοξέων έδειξε ότι ένα μετάλλαγμα καβεολίνης που περιέχει μόνο τα κατάλοιπα 1-101 παρέμεινε συνδεδεμένο με τις μεμβράνες, ενώ ένα άλλο μετάλλαγμα που αποτελείται από υπολείμματα 1-81 εντοπίζεται στο κυτταροπλασματικό διαμέρισμα. Όπως το C-MAD, η πρωτεΐνη σύντηξης N-MAD-GFP στοχεύτηκε επίσης σε μεμβράνες. Ωστόσο, ενώ η πρωτεΐνη σύντηξης C-MAD-GFP έδειξε μια κυρίαρχη κατανομή παρόμοια με το Golgi, η πρωτεΐνη σύντηξης N-MAD-

GFP εντοπίστηκε στα caveolae της πλασματικής μεμβράνης. Περαιτέρω ανάλυση μεταλλάξεων της περιοχής N-MAD των 20 αμινοξέων οδήγησε στην ανακάλυψη μιας βραχείας αλληλουχίας προσάρτησης μεμβράνης (KYWFYR) που ήταν επαρκής για να εντοπιστεί η πρωτεΐνη σύντηξης GFP στην μεμβράνη. Αν και το μοτίβο KYWFYR στοχεύει το GFP στη μεμβράνη, ολόκληρο το N-MAD των 20 αμινοξέων απαιτείται για τον εντοπισμό της πρωτεΐνης στα caveolae (Schlegel and Lisanti, 2000).

Η εισαγωγή της caveolin-1 στη μεμβράνη πραγματοποιείται μέσω του κλασικού μηχανισμού ενδοπλασματικού δικτύου (ER). Οι καβεολίνες εισάγονται πρώτα στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου. Στη συνέχεια διέρχονται μέσω της εκκριτικής οδού, σχηματίζουν ομο- και ετερο-ολιγομερή σύμπλοκα στη συσκευή Golgi και πιστεύεται ότι εξέρχονται από το Golgi με τελικό προορισμό την πλασματική μεμβράνη ως συγκροτήματα περίπου 100-200 μορίων καβεολίνης. Το αποτέλεσμα είναι μια ασυνήθιστα μικρή διαμεμβρανική περιοχή 32 υδρόφοβων αμινοξέων (κατάλοιπα 102-134) που θεωρείται ότι σχηματίζουν μια μοναδική διαμόρφωση βρόχου φουρκέτας που αποτρέπει το την πλήρη έκταση της καβεολίνης στην μεμβράνη με διπλή διέλευση (Hoop et al., 2012). Οι καβεολίνες εντοπίζονται στη συσκευή Golgi, το ενδοπλασματικό δίκτυο (ER), τα μιτοχόνδρια, τον πυρήνα, τα υπεροξισώματα, τα σταγονίδια λιπιδίων (LDs) και τις μεμβράνες που σχετίζονται με τα μιτοχόνδρια (Sala-Vila et al., 2016).

Οι ισομορφές Caveolin-1 σχηματίζουν ολιγομερή υψηλής μοριακής μάζας περίπου 400 kDa, όπως αποδεικνύεται χρησιμοποιώντας διαφορική φυγοκέντρηση. Είναι ενδιαφέρον ότι οι μελέτες μεταλλαξογένεσης αφαίρεσης αμινοξέων έδειξαν ότι η caveolin-1 περιέχει περιοχή ολιγομερισμού που χαρτογραφήθηκε στα υπολείμματα 61-101, και η οποία συμμετέχει στον ομο-ολιγομερισμό 14-16 μεμονωμένων μορίων καβεολίνης. Αυτά τα ολιγομερή πιστεύεται ότι υφίστανται ένα δεύτερο στάδιο ολιγομερισμού κατά τη μεταφορά από το *trans*-Golgi μέσω caveolae στην πλασματική μεμβράνη, όπου αρκετά ολιγομερή δημιουργούν περαιτέρω αλληλεπιδράσεις μέσω του COOH-τερματικού άκρου, σχηματίζοντας ένα μεγάλο δίκτυο καβεολινών. Οι ερευνητές Sargiacomo et al. απομόνωσαν και εξέτασαν την υπερδομή ομο-ολιγομερών καβεολίνης-1 που προέρχονται από πνευμονικό ιστό αρουραίου και διαπίστωσαν ότι αυτά τα μεμονωμένα ομο-ολιγομερή εμφανίζονται ως σφαιρικά σωματίδια 4-6 nm παρουσία μη ιοντικού απορρυπαντικού. Μετά την αφαίρεση αυτού του απορρυπαντικού, τα ομο-ολιγομερή caveolin-1 συσχετίζονται σε μεγαλύτερα, μη γραμμικά πολυμερή των ~25 nm δίπλα-δίπλα, υποστηρίζοντας περαιτέρω την ιδέα ότι αυτός μπορεί να είναι ο μηχανισμός με τον οποίο τα μεμονωμένα ομο-ολιγομερή συνδέονται σε μεγαλύτερα πολυμερικά συμπλέγματα τύπου caveolae in vivo (Sargiacomo et al., 1995).

Αντίθετα, η καβεολίνη-2 δεν μπορεί να σχηματίσει ομο-ολιγομερή σύμπλοκα υψηλής μοριακής μάζας, μια ιδιότητα που μπορεί να συμβάλει στην αδυναμία της να σχηματίσει caveolae από μόνη της. Ωστόσο, η καβεολίνη-2 σχηματίζει ετερο-ολιγομερή σύμπλοκα με την caveolin-1 στο ενδοπλασματικό δίκτυο, μια συσχέτιση

που χρησιμεύει τόσο στη σταθεροποίηση της cav-2 και δεν επιτρέπει την αποικοδόμησή της από τα πρωτεασώματα όσο και στη μεταφορά της από το διαμέρισμα του Golgi στην πλασματική μεμβράνη.

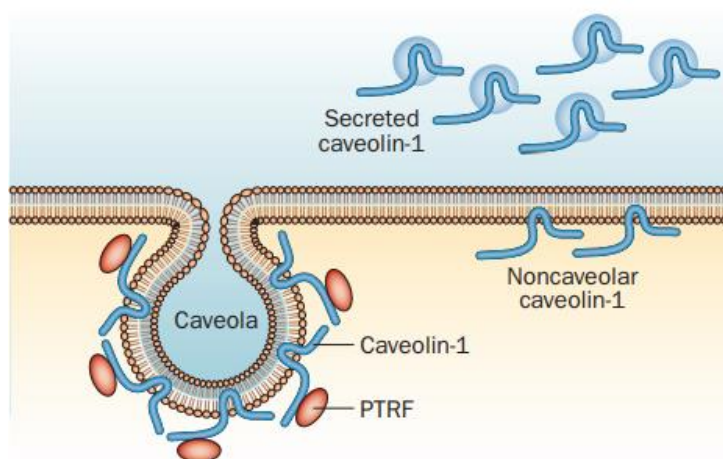
Η Caveolin-3 είναι γνωστό ότι σχηματίζει ομο-ολιγομερή σύμπλοκα υψηλής μοριακής μάζας, με τρόπο παρόμοιο με αυτόν της caveolin-1. Επιπλέον, ενώ στην αρχή υπήρχε η πεποίθηση ότι η caveolin-3 δεν συνδέεται με την caveolin-2, πρόσφατα ευρήματα σε μεμονωμένα νεογνικά καρδιακά μυϊκά κύτταρα και λεία μυϊκά κύτταρα υποδηλώνουν το αντίθετο. Σε αυτά τα συστήματα, βρέθηκε ότι η caveolin-2 κατακρημνίζεται με την caveolin-3 και κλασμάτνεται με την caveolin-3 σε διαφορετική φυγοκέντρωση (Woodman et al., 2004; Rybin et al., 2003).

Η περιοχή σκαλωσιάς έχει αποδειχθεί ότι έχει διπλό ρόλο, ενεργώντας τόσο ως άγκυρα που συγκρατεί διάφορες πρωτεΐνες εντός των κοιλοτήτων όσο και ως ρυθμιστικό στοιχείο ικανό είτε να αναστέλλει είτε να ενισχύει τη σηματοδοτική δραστηριότητα μιας δεδομένης πρωτεΐνης. Η περιοχή αυτή μπορεί να περιέχει μόρια (όπως οι κινάσες της οικογένειας src και οι υπομονάδες πρωτεΐνης G) που περιέχουν ένα μοτίβο δέσμησης καβεολίνης (Caveolin Binding Domain-CBM). Το CBM περιλαμβάνει τρία μοτίβα: ΩΧΩΧΧΧΩΧΧΩ, ΩΧΧΩΧΧΧΩ, και τη συνδυαστική ακολουθία ΩΧΩΧΧΧΩΧΩ (Το Ω μπορεί να είναι φαινυλαλανίνη Phe, Τυροσίνη Tyr ή Τρυπτοφάνη Trp, το Χ μπορεί να είναι οποιοδήποτε αα) (Collins et al., 2012). Οι Couet et al. βρήκε ότι η κινάση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) αλληλεπιδρά απευθείας με την περιοχή σκαλωσιάς caveolin μέσω του συντηρημένου μοτίβου δέσμησης caveolin, το οποίο πιστεύεται ότι μεσολαβεί στη σηματοδότηση των caveolae (Couet et al., 1997). Ωστόσο, ο ρόλος αυτός της περιοχής σκαλωσιάς δεν έχει καθοριστεί πλήρως, είναι αρκετά κρυμμένη στο βάθος των πρωτεϊνών και δύσκολα σχηματίζεται σύζευξη μεταξύ CSD/CBM. Ένα παράδειγμα που δείχνει τη σημαντικότητα της CSD είναι ότι το γλυκολυτικό ένζυμο ενολάση 1 με μια αλληλουχία πυρηνικής αναγνώρισης CBM μπορεί να μεταφερθεί στην κυτταρική μεμβράνη και να συνδυαστεί με το CSD του Cav-1, γεγονός που επηρεάζει τη μετανάστευση των κυττάρων και την κυτταρική εισβολή. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συναινετική CBM της ενολάσης 1 δεν είναι θαμμένη στο κέντρο της πρωτεΐνης αλλά εκτίθεται στην επιφάνεια της πρωτεΐνης, γεγονός που την καθιστά προσβάσιμη για αλληλεπιδράσεις με το CSD (Zakrzewicz et al., 2014). Επιπλέον, έχει δειχθεί ότι η CSD του Cav-1 παίζει βασικό ρόλο στον κυτταρικό κύκλο, τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων (Okada et al., 2019). Συνοπτικά, η καβεολίνη μπορεί να ρυθμίζει άλλες πρωτεϊνικές δραστηριότητες μέσω της δέσμησης CSD στο CBM και η δραστηριότητά της εξαρτάται από τη δέσμηση στη CBM άλλων πρωτεϊνών.

Λειτουργίες Καβεολίνης

Μια σημαντική λειτουργία της Cav-1 είναι ότι δρα ως το βασικό συστατικό των caveolae και να συμμετέχει στη βιογένεσή του. Η οικογένεια των caveolin είναι η κύρια πρωτεΐνη ικριώματος που εμπλέκεται στο σχηματισμό των caveolae, η οποία αναφέρεται κυρίως στην Cav-1. Η οικογένεια των καβινών (συμπεριλαμβανομένων των cavin-1, cavin-2, cavin-3 και cavin-4) βοηθά επίσης στο σχηματισμό των caveolae

(Kovtun et al., 2015). Η Cavin-1, γνωστή και ως πολυμεράση I και παράγοντας απελευθέρωσης μεταγραφής, συνδέεται με την καβεολίνη και με τα λιπίδια, σταθεροποιώντας έτσι την καμπυλότητα των κοιλότητων (Hill et al., 2008). Η Cavin-2 (serum deprivation protein response-SDPR) συνδέεται άμεσα με την cavin-1 και στοχεύει την caveolae-1 συμμετέχοντας στη βιογένεση των caveolae. Συγκεκριμένα, ρυθμίζουν το μέγεθος των caveolae και πυροδοτούν την επέκταση των σωληναρίων, που προέρχονται από caveolae και μοιάζουν με μεμβράνη (Hansen et al., 2009). Η Cavin-3 (προϊόν γονιδίου που συνδέεται με την c-κινάση) ρυθμίζει κυρίως τη λειτουργία στόχευσης μεμβράνης των caveolae. Η Cavin-4, γνωστή ως πρωτεΐνη με εσπειραμένη έλικα που εντοπίζεται κυρίως στα μυϊκά κύτταρα (muscle-restricted coiled-coil protein, MURC), δεν φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των κοιλότητων (Parton et al., 2018). Άλλα συστατικά, όπως ομόλογη περιοχή Eps-15 (EHD2), PACSIN2/Syndapin II (PACSIN2) και ο υποδοχέας κινάσης τυροσίνης 1 (ROR1) συμμετέχουν στη ρύθμιση της λειτουργίας των caveolae (Parton, 2018).



Εικόνα 9. Σχηματισμός caveolae (Nassar et al., 2013).

Η στρατολογημένη περιφερική πρωτεΐνη cavin-1 συνδέεται πρώτα με λιπίδια [όπως η φωσφατιδυλοσερίνη και τη 4,5-διφωσφορική-φωσφατιδυλοϊνοσιτόλη PI(4,5)P₂] και στη συνέχεια συνδέεται με την χοληστερόλη – τον τομέα ικριώματος της Cav-1 για να σταθεροποιήσει την καμπυλότητα της μεμβράνης και να παράγει κλασικά σφαιρικά caveolae (Hill et al., 2008). Η εισαγωγή της EHD2 στην πλασματική μεμβράνη απαιτεί τη δέσμευση του ATP και ολιγομερίζεται για να σχηματίσει έναν δακτύλιο στο λαιμό των κοιλότητων (Morén et al., 2012). Το σύμπλοκο Pacsin2 συνδέεται με την περιοχή EH του EHD2 για να διατηρήσει τη σταθερότητα των κοιλότητων και την κατανομή του Cav-1 στην πλασματική μεμβράνη. Όταν τα caveolae στερούνται τις προαναφερθείσες πρωτεΐνες που σχετίζονται με τα caveolae ή υποβάλλονται σε μηχανικά ερεθίσματα (όπως τάση μεμβράνης ή στρες), για να διατηρήσουν τη σταθερότητά τους, οι Cav-1 και οι cavin απελευθερώνονται στο κυτταρόπλασμα, και μπορούν να αναδιοργανωθούν σε κοίλες κοιλότητες στην πλασματική μεμβράνη ή να αποικοδομηθούν από λυσοσώματα. Επιπλέον, η Cav-1 μπορεί επίσης να έχει σημαντικό ρόλο ανεξάρτητο από το να είναι συστατικό των caveolae (Luo et al., 2021).

Η Cav-1 ρυθμίζει διάφορες ενζυμικές δραστηριότητες ή την έκφραση υποδοχέων και τα στοχεύει στην κυτταρική μεμβράνη. Έχει βρεθεί ότι η αυξημένη έκφραση της στρατολογεί γλυκολυτικά ένζυμα [φωσφοφρουκτοκινάση, αλδολάση, και τρανσλοκάση λιπαρών οξέων (CD36)] και υποδοχείς που σχετίζονται με το νευρικό σύστημα [όπως ο υποδοχέας νευροτροφίνης, ο υποδοχέας νουκλεοτιδίων P2Y₂) και η οξυγενάση αίμης-1 (HO-1)]. Αυτές οι πρωτεΐνες αλληλεπιδρούν με την καβεολίνη-1 μέσω CDS. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μεταγωγή σήματος ή την πρόσληψη λιπαρών οξέων, επηρεάζοντας τελικά τον κυτταρικό μεταβολισμό (Luo et al., 2021).

Η Cav-1 συμμετέχει επίσης στην ενδοκυττάρωση ορισμένων ιών, ενζύμων, μακρομοριακών ουσιών και υποδοχέων. Συγκεκριμένα, η Cav-1 συμμετέχει στην ενδοκυττάρωση του ιού BK, του ιού πιθήκου 40, του ιού της ηπατίτιδας B και του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (Xing et al., 2020). Επιπλέον, μπορεί να μεσολαβεί στην ενδοκυττάρωση του υποδοχέα ακτιβίνης, κινάσης 1 (ALK-1), η οποία περιλαμβάνει τη σηματοδοτική οδό σχηματισμού πρωτεΐνη οστού-9 (BMP-9)/Cav-1/ALK-1 (Tao et al., 2020). Υπάρχουν μελέτες που αποδεικνύουν ότι η Cav-1 μπορεί να μεσολαβήσει στην ενδοκυττάρωση μακρομοριακών πρωτεϊνικών ουσιών, όπως η πρωτεΐνη που δεσμεύει τον αυξητικό παράγοντα ισουλίνης (IGF) 5, η αλβουμίνη, ο μεταφορέας γλυκόζης 4 (Glut-4), χοληστερόλη (low density lipoprotein-LDL), η συνδετική πρωτεΐνη σύνδεσης κενού 36 (Cx36), υποδοχείς που περιλαμβάνουν τον β υποδοχέα GM-CSF, υποδοχέας TGF-β₁ και υποδοχείς γλυκαγόννης (Luo et al., 2021). Μελέτες απέδειξαν ότι, στα ηπατοκύτταρα, η Cav-1 μπορεί να ρυθμίσει την έκφραση μεταβολικών γονιδίων μέσω του υποδοχέα TGF-β (Han et al., 2019).

Η Cav-1 εμπλέκεται επίσης στη ρύθμιση διαφόρων οδών μεταγωγής σήματος στρατολογώντας πολλαπλούς υποδοχείς, όπως υποδοχείς κινάσης τυροσίνης, υποδοχείς συζευγμένους με πρωτεΐνη G, πρωτεΐνες G, πρωτεϊνικές κινάσες και φωσφατάσες, που δεσμεύεται στην ακολουθία του CSD Cav-1, και στη συνέχεια ρυθμίζει θετικά ή αρνητικά τη μεταγωγή σήματος. Για παράδειγμα, οι υποδοχείς κινάσης τυροσίνης Eph (υποδοχέας EphB1 και EphA2) ρυθμίζονται θετικά από την Cav-1 και ενεργοποιούν μόρια σηματοδότησης κατάντη, όπως η εξωκυτταρική ρυθμιστική πρωτεϊνική κινάση (ERK) και η πρωτεϊνική κινάση B (PKB ή AKT) (Vihanto et al. , 2006). Επιπλέον, ο υποδοχέας ισουλίνης (IR) μπορεί να ενεργοποιηθεί από φωσφορυλιωμένη Cav-1 και έπειτα να συνδεθεί με την πρωτεΐνη 6 που σχετίζεται με τον υποδοχέα LDL, μεσολαβώντας έτσι στη σηματοδοτική οδό Akt-mTORC1 και ρυθμίζοντας την αερόβια γλυκόλυση στα καρκινικά κύτταρα (Tahir et al., 2013).

Σίγαση της καβεολίνης-1

Σίγαση της καβεολίνης-1 και κυτταρική γήρανση

Η κυτταρική γήρανση αφορά τη μη αναστρέψιμη αναστολή πολλαπλασιασμού κατεστραμένων φυσιολογικών κυττάρων που έχουν εξέλθει από τον κυτταρικό κύκλο. Αυτά τα κύτταρα εμφανίζουν υψηλή μεταβολική δραστηριότητα, παραμένουν ενεργά και καταστέλλουν την απόπτωση. Τα γηρασμένα κύτταρα παρουσιάζουν

μοναδικά μορφολογικά και μοριακά χαρακτηριστικά και λειτουργίες που τα διακρίνουν από άλλους μη διαιρούμενους κυτταρικούς πληθυσμούς, όπως τα τελικά διαφοροποιημένα κύτταρα (Roger et al., 2021). Η κυτταρική γήρανση διαχωρίζεται στην «αναδιπλασιαστική» ή «αντιγραφική» (Replicative Senescence) και στην «πρώιμη» ή «επαγόμενη» από το στρες γήρανση (Stress-Induced Premature Senescence) (Kumari et al., 2021).

Η γήρανση μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα της φυσιολογικής βράχυνσης των τελομερών του DNA. Πριν από δεκαετίες, ο Leonard Hayflick και ο Paul Moorhead παρατήρησαν ότι τα κύτταρα που αναπτύσσονται *in vitro* έχουν μια πεπερασμένη ικανότητα να υποστούν διαδοχικούς γύρους κυτταρικής διαίρεσης πριν υποστούν μόνιμη διακοπή του κυτταρικού κύκλου - μια διαδικασία που ονομάζεται αντιγραφική γήρανση (Hayflick and Moorhead, 1961). Μεταγενέστερη εργασία έδειξε ότι αυτό το όριο αυτό αφορά το κόψιμο των άκρων των χρωμοσωμάτων – που ονομάζονται τελομερή – και συμβαίνει με κάθε διαδοχικό γύρο διπλασιασμού του DNA πριν από την κυτταρική διαίρεση (Bodnar et al., 1998).

Τα τελομερή είναι εξειδικευμένες δομές στο τέλος των γραμμικών χρωμοσωμάτων. Αποτελούνται από διαδοχικές επαναλήψεις της εξανουκλεοτιδικής αλληλουχίας TTAGGG, καθώς και από ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα που ονομάζεται shelterin. Μαζί, σχηματίζουν μια δομή προστατευτικού βρόχου έναντι της σύντηξης και της αποικοδόμησης των χρωμοσωμάτων. Η βράχυνση ή η βλάβη στα τελομερή και το άνοιγμα του βρόχου επάγουν μια κατάσταση που πυροδοτεί μια απόκριση βλάβης του DNA με αποτέλεσμα τη γήρανση ή την απόπτωση (Saretzki, 2021).

Με κάθε γύρο κυτταρικής διαίρεσης το μήκος των τελομερικών αλληλουχιών μειώνεται λόγω του γεγονότος ότι τα χρωμοσώματα είναι γραμμικοί κλώνοι DNA των οποίων τα άκρα δεν μπορούν να αντιγραφούν πλήρως κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Όταν αυτές οι αλληλουχίες φτάσουν σε ένα κρίσιμο μήκος, ενεργοποιείται ο μηχανισμός επιδιόρθωσης της βλάβης του κυτταρικού DNA που, με τη σειρά του, προκαλεί το κύτταρο να υποστεί γήρανση. Για να αντιμετωπιστεί αυτή η διαδικασία, τα κύτταρα εκφράζουν ένα ένζυμο που ονομάζεται τελομεράση, το οποίο χρησιμεύει για την αποκατάσταση των τελομερικών αλληλουχιών. Ωστόσο, με τη γήρανση και σε ορισμένους τύπους κυττάρων όπου η δραστηριότητα της τελομεράσης είναι χαμηλή, ακολουθεί η αντιγραφική γήρανση. Πολλοί τύποι καρκινικών κυττάρων εμφανίζουν απεριόριστη πολλαπλασιαστική ικανότητα και διαφεύγουν της αντιγραφικής γήρανσης εν μέρει μέσω της ανοδικής ρύθμισης της έκφρασης και της δραστηριότητας της τελομεράσης (Erppard et al., 2023).

Διάφορα επιβλαβή ερεθίσματα που είναι ικανά να προκαλέσουν την γήρανση των κυττάρων. Οι πιο συνηθισμένοι επαγωγείς είναι η βλάβη του DNA (π.χ. βράχυνση ή δυσλειτουργία των τελομερών, ενεργοποίηση ογκογονιδίων, οξειδωτική βλάβη, ακτινοβολία) μεταβολικές καταπονήσεις (π.χ. μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, αλλαγές οξειδοαναγωγικών καταστάσεων), φλεγμονώδεις κυτοκίνες και σήματα βλάβης (π.χ. λανθασμένη αναδίπλωση πρωτεΐνης, διαταραχή της αυτοφαγίας). Λόγω της πολλαπλότητας των σημάτων στρες και των τελεστών που εμπλέκονται στην εκτέλεσή

της, η κυτταρική γήρανση σχετίζεται με διάφορους φαινοτύπους, τα χαρακτηριστικά των οποίων εξαρτώνται από τα σήματα που προκάλεσαν τη γήρανση, τον τύπο κυττάρου προέλευσης, το χρόνο που έχει περάσει από την έναρξη της γήρανσης και την τοποθεσία όπου εντοπίζονται γηρασμένα κύτταρα. Ωστόσο, ορισμένοι τελεστές είναι κοινοί στις διάφορες περιπτώσεις γηρασμένων κυττάρων. Συγκεκριμένα, τα μονοπάτια καταστολής όγκου p53 και RB/p16 δρουν με τέτοιο τρόπο ώστε να μπλοκάρουν τον κυτταρικό κύκλο και να εφαρμόζουν τα προγράμματα γήρανσης. Η ενεργοποίηση μόνο ενός ή και των δύο οδών για την εκτέλεση και τη διατήρηση του προγράμματος γήρανσης υπαγορεύεται από τον τύπο του σήματος στρες, τον ιστό (Courtois-Cox et al, 2008).

Στα γηρασμένα κύτταρα, η μεταγραφική δραστηριότητα του p53 αυξάνεται μέσω σημάτων που εξαρτώνται από την απόκριση βλάβης DNA (DDR) που οδηγούνται κυρίως από ανεπίλυτη σηματοδότηση βλάβης DNA λόγω διάβρωσης τελομερών και υπερπολλαπλασιασμού ογκογονιδίου (d'Adda di Fagagna et al., 2003). Διάφορες μελέτες έχουν δείξει ότι η σηματοδότηση με τη μεσολάβηση caveolin-1 συνδέεται αιτιολογικά με την ανάπτυξη ενός γηρασμένου φαινοτύπου και ρυθμίζει τα εξαρτώμενα από τη γήρανση φυσιολογικά και παθολογικά αποτελέσματα. Υπάρχουν διάφοροι μοριακοί μηχανισμοί μέσω των οποίων η caveolin-1 ρυθμίζει την κυτταρική γήρανση (Volonte et al., 2020).

Τα πειραματικά μεσαγγειακά κύτταρα (GMCs) έχουν πεπερασμένη κυτταρική διάρκεια ζωής και τελικά εισέρχονται σε μη αναστρέψιμη διακοπή της ανάπτυξης γνωστή ως κυτταρική γήρανση (Zhou et al., 2010). Αυτή η μελέτη απέδειξε ότι η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης προκάλεσε γήρανση των κυττάρων σε GMCs. Η caveolin-1 εμπλέκεται στην επαγόμενη από γλυκόζη γήρανση των μεσαγγειακών κυττάρων και η αποσιώπηση της caveolin-1 με siRNA μείωσε σημαντικά τη γήρανση των κυττάρων. Η επίδραση της caveolin-1 πιστεύεται ότι προκαλείται από την μονοπάτι JAK/STAT (Feng et al., 2017).

Οι ερευνητές θέλανε να συνδέσουν τον ρόλο της καβεολίνης-1 με την κυτταρική γήρανση που επάγεται από το διαβήτη. Σε ινοβλάστες που είχαν απομονωθεί από ασθενείς με διαβήτη τύπου 2 βρέθηκε ότι το οξειδωτικό στρες που προκαλείται από τον διαβήτη ρύθμιζε προς τα πάνω την έκφραση της caveolin-1 (Cav-1) και της Cavin-1, γεγονός που οδηγεί σε απομάκρυνση του Mdm2 μακριά από το p53. Αυτή η διαδικασία είχε ως αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της σηματοδοτικής οδού p53/p21 και την επαγωγή πρόωρης γήρανσης στις ινοβλάστες. Μέσω σίγασης της Cav-1 χρησιμοποιώντας siRNA, τα αποτελέσματα έδειξαν αναστολή πρόωρης γήρανσης που προκαλείται από το διαβήτη/το οξειδωτικό στρες και γρηγορότερη επούλωση των ιστών από τραύμα. Συνολικά, τα δεδομένα αναδεικνύουν την Cav-1 ως βασικό παράγοντα μιας νέας οδού σηματοδότησης που μπορεί να συνδέσει μια αυξημένη κατάσταση οξειδωτικού στρες με την κυτταρική γήρανση και την εξασθενημένη επούλωση τραυμάτων στον διαβήτη (Bitar et al., 2013).

Τα αντιδραστικά είδη οξυγόνου (Reactive oxygen species -ROS) μπορούν να προκαλέσουν πρόωρη κυτταρική γήρανση, η οποία πιστεύεται ότι συμβάλλει στη

γήρανση και τις ασθένειες που σχετίζονται με την ηλικία. Ο πυρηνικός ερυθροειδής παράγοντας-2 που σχετίζεται με το p45 (nuclear erythroid 2 p45-related factor-2 - Nrf2) είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας που μεσολαβεί στις προστατευτικές αποκρίσεις του κυττάρου έναντι του στρες. Η caveolin-1 συνδέεται άμεσα με τον Nrf2, συγκεκριμένα η περιοχή σκαλωσιάς της caveolin-1 (αμινοξέα 82-101) στην περιοχή δέσμευσης caveolin του Nrf2 (αμινοξέα 281-289). Ο Nrf2 συγκεντρώνεται σε μικροσπήλαια σε ινοβλάστες ανθρώπου και ποντικού, όπου εντοπίζεται με την caveolin-1, υπό συνθήκες ηρεμίας. Μετά το οξειδωτικό στρες, η caveolin-1 περιορίζει την μετακίνηση του Nrf2 από τα caveolae στον πυρήνα. Αντίθετα, σε εμβρυϊκές ινοβλάστες ποντικού knock-out Caveolin-1, ο Nrf2 εντοπίζεται μόνο στον πυρήνα πριν και μετά το οξειδωτικό στρες. Η έκφραση μιας μεταλλαγμένης μορφής Nrf2 που δεν μπορεί να συνδεθεί με την καβεολίνη-1 υπερενεργοποιεί το αντιοξειδωτικό αποκρινόμενο στοιχείο (antioxidant responsive element ARE) και αναστέλλει την επαγόμενη από το οξειδωτικό στρες ενεργοποίηση της οδού p53/p21 καθώς και την πρόκληση πρόωρης γήρανσης στις ινοβλάστες. Τέλος, η υπερέκφραση της caveolin-1 σε καρκινικά κύτταρα του παχέος εντέρου αναστέλλει την επαγόμενη από οξειδωτικά ενεργοποίηση της εξαρτώμενης από Nrf2 σηματοδότησης, προάγει την πρόωρη γήρανση και αναστέλλει τον μετασχηματισμένο φαινότυπο των καρκινικών κυττάρων. Έτσι, αναστέλλοντας τη σηματοδότηση με τη μεσολάβηση Nrf2, η caveolin-1 συνδέει τις ελεύθερες ρίζες με την ενεργοποίηση της οδού p53/γήρανσης (Volonte et al., 2020).

Παρόμοια αποτελέσματα όπου με σίγαση της Cav-1, επιτεύχθηκε μείωση της έκφρασης πρωτεϊνών p53 και p21 αλλά και προστατευτική δράση έναντι της κυτταρικής γήρανσης που προκαλείται από το οξειδωτικό στρες του ηπατοκυττάρου του μεσοσπονδύλιου δίσκου, ενισχύουν την υπόθεση ότι η caveolin-1 εμπλέκεται στην κυτταρική γήρανση. Έτσι, η caveolin-1 μπορεί να αντιπροσωπεύει έναν νέο θεραπευτικό στόχο για την πρόληψη της εκφύλισης του μεσοσπονδύλιου δίσκου (Ding et al., 2017).

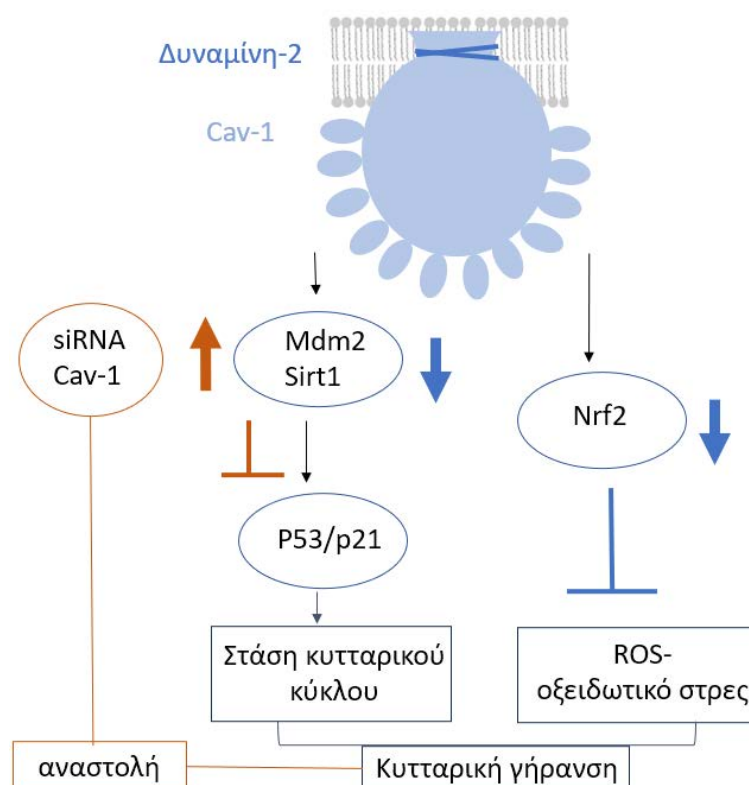
Το οξειδωτικό στρες μπορεί να προκαλέσει πρόωρη κυτταρική γήρανση. Τα γηρασμένα κύτταρα εκκρίνουν διάφορους αυξητικούς παράγοντες και κυτοκίνες, όπως η IL-6, που μπορούν να σηματοδοτήσουν το μικροπεριβάλλον του όγκου και να προάγουν την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων. Η Sirtuin 1 (Sirt1) είναι μια αποακετυλάση ιστόνης που ρυθμίζει μια ποικιλία φυσιολογικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της γήρανσης. Η caveolin-1, δεσμεύεται άμεσα με τη Sirt1, συγκεκριμένα η αλληλεπίδραση γίνεται στην περιοχή ικριώματος της caveolin-1 (αμινοξέα 82-101) και στην περιοχή δέσμευσης caveolin του Sirt1 (αμινοξέα 310-317). Το οξειδωτικό στρες προάγει τη δέσμευση του Sirt1 στα caveolae και την αλληλεπίδραση του Sirt1 με την caveolin-1, που οδηγούν σε αναστολή της δραστηριότητας Sirt1. Σε εμβρυϊκές ινοβλάστες ποντικού άγριου τύπου η διέγερση αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (ROS) προάγει την ακετυλίωση της p53 και την πρόωρη γήρανση αλλά αυτό δεν παρατηρείται σε εμβρυϊκές ινοβλάστες ποντικού Knock out caveolin-1. Είτε η προς τα κάτω ρύθμιση της έκφρασης Sirt1 είτε η επανέκφραση της caveolin-1 σε εμβρυϊκούς ινοβλάστες ποντικού Knock out

caveolin-1 αποκαθιστά την ακετυλίωση της p53 που προκαλείται από αντιδραστικά είδη οξυγόνου και την πρόωρη γήρανση. Επιπλέον, η υπερέκφραση της caveolin-1 προκαλεί πρόωρη γήρανση που προκαλείται από το στρες σε ινοβλάστες άγριου τύπου αλλά όχι p53 knockout ινοβλάστες. Η φωσφορυλίωση της caveolin-1 στην τυροσίνη 14 προάγει την απομόνωση της Sirt1 στις κοιλιακές μεμβράνες και ενεργοποιεί τη σηματοδότηση p53/γήρανσης. Οι γηρασμένοι ινοβλάστες όταν η Cav-1 αναστέλλει τη δράση της Sirt-1, εκκρίνουν μία κυτοκίνη, την ιντερλευκίνη-6, IL-6. Η μεσολαβούμενη από την καβεολίνη έκκριση της IL-6 από γηρασμένες ινοβλάστες διεγείρει την ανάπτυξη καρκινικών κυττάρων. Συνολικά, οι παρατηρήσεις αυτές οδηγούν στο συμπέρασμα, ότι η Cav-1, με την αναστολή του Sirt1, συνδέει τις ελεύθερες ρίζες με την ενεργοποίηση της οδού p53/γήρανσης και τις προογκογονικές ιδιότητες της IL-6 (Volonte et al., 2005).

Η μειωμένη απόκριση των γηρασμένων κυττάρων σε αυξητικούς παράγοντες είναι ένα από τα βασικά χαρακτηριστικά τους. Η υπερέκφραση της καβεολίνης σε γηρασμένες διπλοειδείς ινοβλάστες μειώνει την απόκρισή τους σε αυξητικούς παράγοντες αλλά και τις επακόλουθες οδούς απόκρισης. Σε επόμενη μελέτη, οι ερευνητές θέλοντας να προσδιορίσουν πώς η καβεολίνη επιδρά στον κυτταρικό κύκλο, χρησιμοποίησαν siRNA Cav-1 και μείωσαν το επίπεδο έκφρασης της. Τα αποτελέσματα της σίγασης σε διπλοειδείς ινοβλάστες αφορούσαν την αποκατάσταση φυσιολογικών αποκρίσεων των κυττάρων σε αυξητικό παράγοντα όπως η αυξημένη φωσφορυλίωση του Erk, η πυρηνική μετατόπιση του p-Erk και την επακόλουθη ενεργοποίηση του p-Elk κατά τη διέγερση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα. Επιπλέον, παρατηρήθηκε η σύνθεση DNA και η επανείσοδος των γηρασμένων κυττάρων στον κυτταρικό κύκλο μετά από διέγερση επιδερμικού αυξητικού παράγοντα, ταυτόχρονα με μειώσεις των πρωτεϊνών p53 και p21, που είναι υπεύθυνες για τη στάση του κυτταρικού κύκλου. Συνολικά τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η απώλεια σηματοδότησης μιτογόνου σε γηρασμένα κύτταρα σχετίζεται στενά με τα αυξημένα επίπεδα καβεολίνης-1 και ότι η λειτουργική ανάκτηση των γηρασμένων κυττάρων τουλάχιστον όσον αφορά την ανταπόκριση του αυξητικού παράγοντα και την είσοδο στον κυτταρικό κύκλο μπορεί να επιτευχθεί απλά με τη μείωση του επιπέδου caveolin (Cho et al., 2003).

Σε αντίθεση με τα αποτελέσματα ερευνών που παρουσιάζονται και υποστηρίζουν ότι η αύξηση της έκφρασης της Cav-1 οδηγεί τα κύτταρα σε πρόωρη γήρανση, υπάρχουν έρευνες που υποστηρίζουν το ανάποδο. Η σίγαση Cav-1 προκάλεσε κυτταρική γήρανση μέσω μιας εξαρτώμενης από την p53-p21 οδού, ρυθμίζοντας προς τα κάτω το επίπεδο έκφρασης των ενζύμων βιοσύνθεσης της καρδιολιπίνης και στη συνέχεια μειώνοντας την περιεκτικότητα σε καρδιολιπίνη, ένα κρίσιμο λιπίδιο για τη μιτοχονδριακή αναπνοή. Τα αποτελέσματά έδειξαν ότι η ανεπάρκεια Cav-1 μείωσε τη μιτοχονδριακή αναπνοή, αδρανοποίησε το SIRT 1 και μείωσε την αναλογία NAD + / NADH. Συνολικά από αυτές τις παρατηρήσεις οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η ανεπάρκεια Cav-1 προκαλεί πρόωρη γήρανση μέσω της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας και της αδρανοποίησης του SIRT 1 (Yu et al., 2017). Επιπλέον η προς τα κάτω ρύθμιση της caveolin-1 προάγει την κυτταρική γήρανση σε

ανθρώπινες διπλοειδείς ινοβλάστες μέσω του σχηματισμού του πρωτογενούς μαστιγίου, γεγονός που οδηγεί στη πρωτεασωματική αποικοδόμηση της κινάσης Aurora A (Jeffries et al., 2019).



Εικόνα 10. Σύνοψη αποτελεσμάτων σίγασης καβεολίνης-1 και γήρανση

Σίγαση της καβεολίνης-1 και καρκίνος

Σε ινοβλάστες που μετασχηματίστηκαν από τον ιό του σαρκώματος Rous, βρέθηκαν υψηλά επίπεδα φωσφορυλιωμένης Caveolin-1, υποδηλώνοντας έναν ρόλο της στη διαδικασία μετασχηματισμού των κυττάρων (Glennay, 1998). Πράγματι, η φωσφορυλίωση της CAV1 στην τυροσίνη-14 (Y14, pCAV1) έχει συσχετιστεί με αρκετές σχετιζόμενες με τον καρκίνο διεργασίες όπως η δυναμική της εστιακής προσκόλλησης, η μετανάστευση και εισβολή κυττάρων όγκου, η καταστολή της ανάπτυξης, ο μεταβολισμός των καρκινικών κυττάρων και το μηχανικό και οξειδωτικό στρες (Wong et al., 2020). Άλλες μελέτες έδειξαν τα επίπεδα Caveolin-1 mRNA και πρωτεΐνης μειώνονται σε μετασχηματισμένους από ογκογονίδιο ινοβλάστες σε καλλιέργεια (Koleske et al., 1995). Η επανέκφραση της Caveolin-1 επαναφέρει τον μετασχηματισμένο φαινότυπο των κυττάρων και αποτρέπει την ανάπτυξη των κυττάρων όταν δεν βρίσκονται σε επαφή με την επιφάνεια. Η έκφραση της Cav-1 μειώνεται σε αρκετούς ανθρώπινους όγκους, συμπεριλαμβανομένων των καρκινωμάτων του πνεύμονα, του μαστού, του παχέος εντέρου και των ωοθηκών, καθώς και στα σαρκώματα (Ketteler and Klein, 2018). Σε ποντίκια Caveolin-1 knock-

out, παρατηρείται η υπερπλασία των πνευμόνων και η προδιάθεση για καρκίνο του μαστού, καθώς και η επαγόμενη από καρκινογόνο υπερπλασία του δέρματος και ο σχηματισμός όγκου. Αυτά τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η Caveolin-1 εμφανίζει ιδιότητες και χαρακτηριστικά ενός μορίου καταστολής όγκου. Η απώλεια Caveolin-1 σε όγκους συνδέθηκε με την παρατήρηση ότι το γονίδιο Caveolin-1 εντοπίζεται στον τόπο D7S522, μια θέση που συχνά διαγράφεται στους ανθρώπινους καρκίνους. Είναι πιθανό η απώλεια έκφρασης της καβεολίνης να συμβαίνει μέσω επιγενετικών μηχανισμών, συμπεριλαμβανομένης της μεθυλίωσης του DNA, παρά μέσω αλλαγών μετάλλαξης (Quest et al., 2013). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι μια μετάλλαξη P132L (προλίνη αντί για λευκίνη στη θέση 132) στη Caveolin-1 ανιχνεύθηκε στο 16% των ασθενών με καρκίνο του μαστού που αναλύθηκαν σε μια μελέτη (Hayashi et al., 2001). Σε μία άλλη έρευνα όπου μελετήθηκαν 6 διαφορετικοί πολυμορφισμοί του γονιδίου της καβεολίνης, οι ερευνητές κατέληξαν στο ότι οι γενετικές αλλαγές του CAV-1 ενδέχεται να τροποποιήσουν τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού και υποδεικνύουν τη σημασία περισσότερων μελετών για παραλλαγές αυτού του γονιδίου στον καρκίνο του μαστού (Fard and Nafisi, 2018).

Η Caveolin-1 είναι, αντίθετα με τα όσα παρουσιάστηκαν παραπάνω, και μια πρωτεΐνη που προάγει πιο επιθετικά χαρακτηριστικά στα καρκινικά κύτταρα, όπως η μετάσταση και η αντίσταση σε πολλά φάρμακα. Στο φυσιολογικό ιστό του προστάτη η Caveolin-1 δεν εκφράζεται, αλλά τα επίπεδα της αυξάνονται με το σχηματισμό όγκου σε μοντέλα ποντικών και σε ασθενείς ανθρώπους (Karam et al., 2007). Επιπλέον, η Cav-1 ευνοεί τη μετάσταση των καρκινικών κυττάρων του προστάτη. Ομοίως, η έκφραση της Caveolin-1 αυξάνεται σε ανθεκτικά σε πολλαπλά φάρμακα MCF7 καρκινικά κύτταρα του μαστού και προάγει την ανεξάρτητη από την αγκύρωση επιβίωση (Fiucci et al., 2002). Σε ασθενείς, η παρουσία της Caveolin-1 σχετίζεται με αυξημένη μετάσταση, ανθεκτικότητα σε πολλά φάρμακα και χειρότερη πρόγνωση. Είναι ενδιαφέρον ότι σχετίζεται, επίσης, με την πολωμένη κατανομή των στοιχείων κυτταρικής σηματοδότησης. Επιπλέον, η επανέκφραση της Caveolin-1 σε κύτταρα αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα είναι επαρκής για την προώθηση του σχηματισμού φιλοπόδιων, της κυτταρικής μετανάστευσης και την ενίσχυση του μεταστατικού δυναμικού αυτών των κυττάρων (Ho et al., 2002). Επιπλέον, η φωσφορυλίωση της Caveolin-1 στο κατάλοιπο τυροσίνης ευνοεί τη μετανάστευση των κυττάρων και την ανεξάρτητη από την αγκύρωση σε επιφάνεια ανάπτυξη. Πράγματι, η Caveolin-1 είναι γνωστό ότι προάγει το σχηματισμό όγκων και, στον καρκίνο του προστάτη, η παρουσία του συσχετίζεται με κακή πρόγνωση (Quest et al., 2013).

Το μονοπάτι MAPK/ERK ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων, την κυτταρική ανάπτυξη και την επιβίωση και η μη φυσιολογική σηματοδότηση του οδηγεί στην ανάπτυξη διάφορων καρκίνων. Η αλληλεπίδραση της Cav-1 με το μονοπάτι MAPK/ERK έχει αποδειχθεί αφού όταν η έκφρασή της μειώνεται, ινοβλάστες που μετασχηματίστηκαν σε καρκινικά κύτταρα χάνουν την ικανότητα του μετασχηματισμού αυτού. Όταν η έκφραση της επαναφέρεται οι ινοβλάστες αποκτούν πάλι χαρακτηριστικά καρκινικού κυττάρου (Koleske et al., 1995). Στις ινοβλάστες NIH3T3, η προς τα κάτω ρύθμιση της

έκφρασης της Caveolin-1 με χρήση συγκεκριμένου siRNA είναι αρκετή για να υπερενεργοποιήσει το μονοπάτι MAPK/ERK και να προκαλέσει κυτταρικό μετασχηματισμό (Galbiati et al., 1998). Επίσης, σε ποντίκια Caveolin-1 knock-out, η σηματοδότηση μέσω της οδού MAPK/ERK είναι αυξημένη και σχετίζεται με αυξημένη ευαισθησία σε τοπικά εφαρμοζόμενες καρκινογόνες ουσίες, καρδιακή υπερτροφία (Le Lay et al., 2015). Επιπλέον, στον ανθρώπινο καρκίνο του τραχήλου, η Caveolin-1 αναστέλλει την οδό ERK και την κυτταρική ανάπτυξη, και στις κυτταρικές σειρές ανθρώπινου καρκινώματος του λάρυγγα, η αλληλεπίδραση της Caveolin-1 με τον EGFR σχετίζεται με μειωμένη φωσφορυλίωση MAPK/ERK και αυξημένη αποπτωτικό κυτταρικό θάνατο. Οι χρόνιες παθήσεις των αεραγωγών, συμπεριλαμβανομένου του άσθματος, σχετίζονται με αυξημένη μάζα λείου μυός των αεραγωγών (airway smooth muscle -ASM), πιθανότατα λόγω αυξημένου κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Στα κύτταρα ASM, η προς τα κάτω ρύθμιση του Caveolin-1 χρησιμοποιώντας siRNA οδηγεί σε αυθόρμητη ενεργοποίηση MAPK/ERK και αυξημένο πολλαπλασιασμό απουσία μιτογόνων. Συνολικά, η αναστολή της οδού MAPK/ERK με τη μεσολάβηση Caveolin-1 φαίνεται να αποκλείει τον ακατάλληλο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επίσης να προάγει τον κυτταρικό θάνατο (Quest et al., 2013).

Η οδός 3- φωσφατιδυλινωσιτόλης (PI3K)/Akt κινάσης ενεργοποιείται από αυξητικούς παράγοντες που εμπλέκονται στον έλεγχο της ανάπτυξης και στην κυτταρική επιβίωση (Vanhaesebroeck ET AL., 2010). Η PI3K έχει βρεθεί σε caveolae σε διαφορετικά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων ινοβλαστών, ενδοθηλιακών κυττάρων και κυττάρων που προέρχονται από μυελοειδή και, σύμφωνα με τον ρόλο του ως κατασταλτικό όγκου, η Caveolin-1 πιστεύεται ότι αναστέλλει τη δραστηριότητα του PI3K (Feng et al., 2010).

Η πρωτεΐνη KCNA5 που κωδικοποιεί τασσεοελεγχόμενο δίαυλο ιόντων καλίου έχει βρεθεί ότι σχετίζεται με την επιβίωση κακοήθων όγκων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, χωρίς να είναι γνωστός ο μηχανισμός με τον οποίο το επιτυγχάνει αυτό. Έχει βρεθεί ότι η KCNA5 συν-εκφράζεται με πρωτεΐνη ικρίώματος, την caveolin-1 σε μη ογκογονικό επιθηλιακό κύτταρο MCF-10A-neoT. Όταν η KCNA5 και η caveolin-1 εκφράστηκαν σε ιστούς και κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού παρατηρήθηκαν συγκεκριμένα αποτελέσματα. Μετά τη σίγαση της caveolin-1, η έκφραση του KCNA5 μειώθηκε στα κύτταρα MDA-MB-231 ανθρώπινου καρκίνου του μαστού και στις μη καρκινικές επιθηλιακές κυτταρικές σειρές MCF-10A-neoT. Η αυξημένη έκφραση της καβεολίνης-1 και του KCNA5 προήγαγε την επιβίωση των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του μαστού MCF-7, αλλά η κυτταρική επιβίωση δεν επηρεάστηκε μόνο όταν υπερκφράστηκε η KCNA5. Η σίγαση του γονιδίου KCNA5 σε καρκινικά κύτταρα του μαστού MCF οδήγησε στην παρατήρηση μειωμένου επιπέδου φωσφορυλιωμένης-AKT κινάσης σερίνης/θρεονίνης (AKT). Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η caveolin-1 διευκόλυνε την έκφραση του KCNA5 και μπορεί να σχετίζεται με την ενεργοποίηση AKT (Qu et al, 2018).

Ο φλεγμονώδης καρκίνος του μαστού (inflammatory breast cancer-IBC) είναι αναμφισβήτητα η πιο θανατηφόρα μορφή καρκίνου του μαστού. Η caveolin-1

υπερεκφράζεται στο IBC και ότι η RhoC GTPase λειτουργεί ως διακόπτης υπεύθυνος για τον μεταστατικό φαινότυπο. Η καθοδηγούμενη από RhoC «εισβολή» καρκινικών κυττάρων απαιτεί φωσφορυλίωση από την Akt. Όταν η έκφραση της Caveolin-1 ρυθμίστηκε προς τα κάτω με την εισαγωγή siRNA η ικανότητα των κυττάρων IBC να εισβάλλουν μειώθηκε σημαντικά. Επίσης η ενεργοποίηση της Akt1 δεν παρατηρήθηκε με συνέπεια τη μειωμένη φωσφορυλίωση της RhoC GTPase. Τα αποτελέσματα αυτά οδήγησαν στην υπόθεση ότι η υπερέκφραση της caveolin-1 μεσολαβεί στην εισβολή των κυττάρων IBC μέσω της ενεργοποίησης Akt, η οποία φωσφορυλιώνει την RhoC GTPase (Joglekar et al., 2015).

Η Cav-1 εμπλέκεται στη ρύθμιση ενός σημαντικού αριθμού γονιδίων-στόχων - κατενίνης/Tcf-Lef, συμπεριλαμβανομένων των Cyclin D1, Survivin και Cyclooxygenase-2 (COX-2) (Quest et al, 2013). Η COX-2 προκαλεί δραστηριότητα παρόμοια με τα καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSC) και προάγει την αποπτωτική αντίσταση, τον πολλαπλασιασμό, την αγγειογένεση, τη φλεγμονή, την εισβολή και τη μετάσταση καρκινικών κυττάρων (Hashemi et al., 2019). Η Survivin, μέλος της οικογένειας πρωτεϊνών- αναστολέων της απόπτωσης παρουσιάζει υψηλή έκφραση στα διάφορα είδη καρκίνων (Jaiswal et al., 2015). Η καταστολή του Survivin με τη μεσολάβηση Caveolin-1 παρατηρήθηκε σε μια ποικιλία διαφορετικών κυτταρικών σειρών. Συγκεκριμένα, η έκφραση του Caveolin-1 σε κυτταρική σειρά ανθρώπινου αδενοκαρκινώματος HT29, που ονομάζεται HT29(US), δεν άλλαξε την έκφραση του Survivin ή τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Επειδή η απουσία της E-cadherin συχνά σχετίζεται με μετάσταση, έγινε η υπόθεση ότι η απουσία της E-cadherin μπορεί να συνδέεται με την αδυναμία της Caveolin-1 να ρυθμίζει το Survivin. Αποδείχθηκε ότι τα επίπεδα E-καντερίνης μειώνονται σε κύτταρα HT29(US) και η επανέκφραση της E-καντερίνης αρκούσε για να αποκαταστήσει την ικανότητα της Caveolin-1 στα κύτταρα HT29(US) να δεσμεύει την-κατενίνη στην πλασματική μεμβράνη, να αναστέλλει την έκφραση του Survivin και να ελέγχει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό (Rodriguez et al., 2009).

Σε κύτταρα μεταστατικού μελανώματος ποντικού B16-F10, η ταυτόχρονη έκφραση της Caveolin-1 με την E-cadherin όχι μόνο μείωσε σημαντικά τον πολλαπλασιασμό αλλά επίσης ενίσχυσε τον κυτταρικό θάνατο (Torres et al., 2007). Η ενισχυμένη έκφραση της COX-2 παρατηρείται επίσης συχνά σε ανθρώπινους καρκίνους και, όπως για το Survivin, η αυξημένη παρουσία σχετίζεται με αυξημένη επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Οι μελέτες αποκάλυψαν επίσης ότι η Caveolin-1 μειώνει την έκφραση της COX-2 μέσω ενός μεταγραφικού μηχανισμού που εξαρτάται από την -κατενίνη/Tcf-Lef. Είναι ενδιαφέρον ότι η συσσώρευση της προσταγλανδίνης E2 (PGE2) στο μέσο των καρκινικών κυττάρων μειώνεται από την έκφραση της Caveolin-1 και η εξωγενής προσθήκη PGE2 στα κύτταρα είναι αρκετή για να επαναφέρει τα αποτελέσματα που προκαλούνται από την Caveolin-1. Έτσι, η παρουσία του Caveolin-1 διακόπτει έναν ισχυρό βρόχο ενίσχυσης τροφοδοσίας προς τα εμπρός που περιλαμβάνει τον άξονα COX-2-PGE2 και την επακόλουθη ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων που εξαρτώνται από την -κατενίνη/Tcf-Lef,

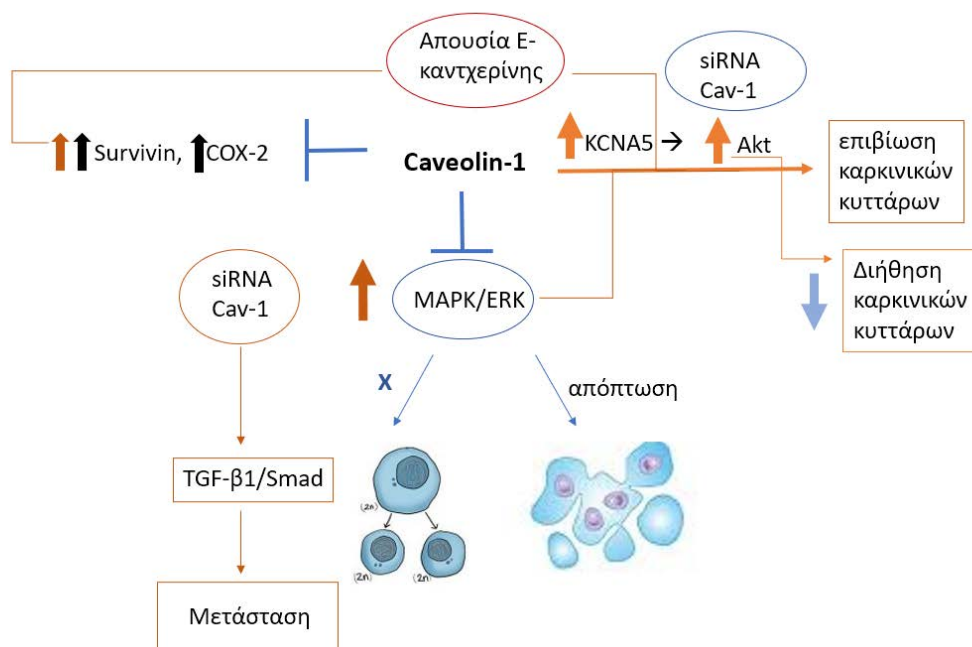
συμπεριλαμβανομένης της ίδιας της COX-2, όπως καθώς και το Survivin, το οποίο προάγει την επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Quest et al, 2013).

Οι ινοβλάστες που σχετίζονται με τον καρκίνο (cancer associated fibroblasts- CAFs) αποτελούν κύρια συστατικά στο στρώμα του όγκου και παίζουν βασικό ρόλο στην εξέλιξη του καρκίνου του μαστού. Ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας-β (transformic-growth-factor TGF-β) είναι γνωστό ότι ρυθμίζει την επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση (epithelial-mesenchymal transition-EMT) και την αναπτυξιακή τους δυνατότητα να ανανεώνονται και να δημιουργούν άλλα καρκινικά κύτταρα. Έχει αποδειχθεί ότι η ανεπάρκεια CAV-1 στο στρώμα του όγκου συσχετίζεται θετικά με απομακρυσμένη μετάσταση, αλλά ο μηχανισμός παραμένει ασαφής. Η μείωση της CAV-1 στις ινοβλάστες ενισχύει την έκκριση του TGF-β1 και στη συνέχεια ενεργοποιεί το μονοπάτι σηματοδότησης TGF-β1/Smad των καρκινικών κυττάρων μαστού (breast cancer cells BCC), προάγοντας έτσι τη μετάσταση και την ανανέωση των BCC. Συλλογικά, τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν έναν απροσδόκητο ρόλο της ανεπάρκειας CAV-1 στις ινοβλάστες και στο μικροπεριβάλλον του όγκου (huang et al., 2022). Η καβεολίνη-1 παρουσιάζει αντίθετα προγνωστικά αποτελέσματα ανάλογα με το σημείο έκφρασής της. Υψηλή έκφραση της καβεολίνης-1 στα καρκινικά κύτταρα σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση και χαμηλότερη επιβίωση (OS) σε καρκίνο του οισοφάγου, του παγκρέατος και του ήπατος, αλλά όχι σε γαστρικό ή παχέος εντέρου. Αντίθετα, η έκφραση στο στρώμα συνδέεται με καλύτερη πρόγνωση και επιβίωση, ιδιαίτερα στον καρκίνο του παχέος εντέρου (Kamposioras et al, 2023).

Μία επιπλέον λειτουργία της Cav-1 στον καρκίνο είναι ότι προάγει την αντίσταση στη χημειοθεραπεία σε μια ποικιλία όγκων. Η έκφραση Caveolin-1 έχει αποδειχθεί ότι σχετίζεται με την ανάπτυξη του όγκου και την αντίσταση στη χημειοθεραπεία στον καρκίνο του παγκρέατος (Kamposioras et al., 2019). Η Cav-1 βρέθηκε ότι σχετίζεται με την χημειοανθεκτικότητα καρκινικών κυττάρων παχέος εντέρου. Παρατηρήθηκε ότι το επίπεδο έκφρασης Cav-1 ήταν σημαντικά υψηλότερο ότι τα κύτταρα ανθεκτικά στο φάρμακο (DRC) σε σύγκριση με αυτό στα γονικά κύτταρα HCT116- κύτταρα ανθρώπινου ορθοκολικού καρκίνου. Όταν η Cav-1 αποσιωπήθηκε με μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (siRNA) επανευαισθητοποιήσαν τα DRC σε 5-φθοροουρακίλης -5-FU. Αυτά τα δεδομένα αποκαλύπτουν ότι το Cav-1 συμμετείχε στην ανάπτυξη αντίστασης, υποδηλώνοντας ότι το Cav-1 είναι ένας πιθανός στόχος για τη θεραπεία της χημειοθεραπείας του καρκίνου του παχέος εντέρου. Επιπλέον, το 5-FU σε συνδυασμό με το Cav-1 siRNA μπορεί να αυξήσει την αποτελεσματικότητα της στρατηγικής θεραπείας (Li et al., 2017). Η ρύθμιση του Cav-1 στη χημειοανθεκτικότητα στον καρκίνο των ωοθηκών είναι ακόμα άγνωστη. Σε μία μελέτη βρέθηκε ότι η μείωση της έκφρασης της Cav-1 οδήγησε σε πτώση της τιμής IC50 (συγκέντρωση που αναστέλλει το 50% της ανάπτυξης των κυττάρων) σε κύτταρα ανθεκτικά στο χημειοθεραπευτικό φάρμακο σισπλατίνη. Η αποπτωτική αναλογία που επάγεται από τη σισπλατίνη σε φυσιολογικά καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών είναι υψηλότερη από τα ανθεκτικά στη σισπλατίνη καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών και η μείωση του Cav-1 θα μπορούσε να ενισχύσει σημαντικά την επαγόμενη από τη σισπλατίνη κυτταρική απόπτωση. Επιπλέον, η μείωση της έκφρασης της Cav-1 ήταν

επίσης ικανή να μειώσει σημαντικά το επίπεδο έκφρασης πρωτεΐνης των Notch-1, p-Akt και p-NF-κB p65 σε ανθεκτικά στη σισπλατίνη καρκινικά κύτταρα των ωοθηκών. Η υπερέκφραση του Cav-1 ρύθμισε προς τα πάνω την τιμή IC50. Τα αποτελέσματα αυτά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η Cav-1 μπορεί να προάγει τη χημειοανθεκτικότητα του καρκίνου των ωοθηκών στοχεύοντας την απόπτωση μέσω της οδού Notch-1/Akt/NF-κB (Zou et al., 2015).

Ο τριπλά αρνητικός καρκίνος του μαστού, ονομάζεται έτσι επειδή στερείται έκφρασης του υποδοχέα οιστρογόνου, του υποδοχέα προγεστερόνης και του HER2 και είναι ο πιο κακοήθης υποτύπος καρκίνου του μαστού (Breast Cancer -BC) με κακή πρόγνωση (Foulkes et al., 2010). Για την αντιμετώπισή του δεν υπάρχουν στοχευμένες θεραπευτικές επιλογές και ασθενείς που υποβάλλονται σε θεραπεία με ακτινοθεραπεία συχνά υποτροπιάζουν. Τα καρκινικά κύτταρα παρουσιάζουν αντίσταση στην ακτινοβολία εξαιτίας της πυρηνικής μετατόπισης του υποδοχέα επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) με τη μεσολάβηση της Cav-1 γεγονός που προάγει την επιδιόρθωση του DNA και συνεπώς την επιβίωση του καρκινικού κυττάρου. Ένα βασικό ερώτημα των ερευνητών ήταν εάν η μείωση έκφρασης της CAV-1 ενισχύει την ραδιοευαισθησία των βασικών κυτταρικών σειρών TNBC (Triple-negative breast cancer) και με ποιους μηχανισμούς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η CAV-1 υπερεκφράζεται σε κυτταρικές σειρές TNBC που και εκφράζεται ελάχιστα σε καρκινικά κύτταρα HER-2+. Επιπλέον, βρέθηκε ότι οι HER-2+ κυτταρικές σειρές είναι πιο ευαίσθητες στην ακτινοβολία από τα βασικά κύτταρα TNBC. Επίσης βρέθηκε ότι η πυρηνική μετατόπιση EGFR που προκαλείται από ακτινοβολία επηρεάστηκε από την εξάλειψη της CAV-1. Παράλληλα, η επαγόμενη από την ακτινοβολία αύξηση έκφρασης των πρωτεϊνών επιδιόρθωσης του DNA παρεμποδίστηκε όταν εισήχθη CAV-1 siRNA στα κύτταρα πριν από την ακτινοβολήση. Η σίγαση του CAV-1 προκάλεσε επίσης βλάβη στο DNA 24 ώρες μετά την ακτινοβολήση. Η ραδιοευαισθησία που παρουσιάζουν τα κύτταρα με CAV-1 siRNA, μπορεί να οφείλεται στη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G2/M και στην ενίσχυση της απόπτωσης. Όλα αυτά τα αποτελέσματα υποστηρίζουν την υπόθεση ότι η σίγαση της CAV-1 από siRNA προκαλεί αυξημένη ραδιοευαισθησία σε καρκινικά κύτταρα TNBC. Οι μηχανισμοί που σχετίζονται με αυτό το αποτέλεσμα είναι η μειωμένη επιδιόρθωση του DNA μέσω καθυστερημένης συσσώρευσης πυρηνικού EGFR και η διακοπή του κυτταρικού κύκλου στο σημείο G2/M που οδηγεί σε απόπτωση, με ταυτόχρονη επίδραση siRNA και ακτινοβολίας (Zou et al., 2017).



Εικόνα 11. Σύνοψη αποτελεσμάτων σίγασης καβεολίνης-1 και καρκίνος.

Συζήτηση

Η συσσώρευση γηρασμένων κυττάρων δημιουργεί ένα προφλεγμονώδες μικροπεριβάλλον που οδηγεί σε προοδευτική μείωση της λειτουργίας των ιστών. Τα καρκινικά κύτταρα πρέπει είτε να διαφύγουν είτε να παρακάμψουν το φράγμα που αντιπροσωπεύεται από την κυτταρική γήρανση προκειμένου να δημιουργηθεί μια κλινικά μάζα όγκου. Η αναγνώριση των μοριακών μηχανισμών που διέπουν την ανάπτυξη και την αποφυγή της κυτταρικής γήρανσης είναι το κλειδί για την καλύτερη κατανόηση της παθογένεσης ασθενειών που σχετίζονται με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Υπάρχουν πολλές μελέτες που να αποδεικνύουν ότι η καβεολίνη-1 είναι σημαντικός παράγοντας που συνεισφέρει στην απόκτηση ενός γερασμένου φαινοτύπου.

Η καβεολίνη-1 (Caveolin-1) αποτελεί μια κρίσιμη πρωτεΐνη που εμπλέκεται σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, όπως η ενδοκυττάρωση, η σηματοδότηση και η ρύθμιση της κυτταρικής μεμβράνης. Παράλληλα, η καβεολίνη-1 έχει συνδεθεί στενά με τη γήρανση των κυττάρων και την ανάπτυξη διαφόρων ασθενειών, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Η σίγαση της καβεολίνης-1 μέσω τεχνικών όπως το μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (siRNA) προσφέρει σημαντικά στοιχεία για τον ρόλο της πρωτεΐνης στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στη γήρανση. Η κυτταρική γήρανση είναι μια διαδικασία που συνδέεται με τη μη αναστρέψιμη αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε κατεστραμμένα κύτταρα. Η καβεολίνη-1 φαίνεται να παίζει καθοριστικό ρόλο σε αυτή τη διαδικασία, καθώς η υπερέκφρασή της συσχετίζεται με την πρόωρη κυτταρική γήρανση. Η διαδικασία αυτή συνδέεται με την ενεργοποίηση της οδού p53/p21, η οποία προάγει την παύση του κυτταρικού κύκλου και τη γήρανση των κυττάρων.

Η καβεολίνη-1 συνδέεται επίσης με την αντίδραση των κυττάρων στο οξειδωτικό στρες, το οποίο αποτελεί κύριο παράγοντα για την πρόκληση γήρανσης. Η

υπερέκφραση της καβεολίνης-1 ενεργοποιεί μοριακές οδούς που οδηγούν στη γήρανση των κυττάρων μέσω της αλληλεπίδρασης με σημαντικούς ρυθμιστές του οξειδωτικού στρες, όπως ο παράγοντας Nrf2. Ο Nrf2 είναι υπεύθυνος για την ενεργοποίηση μηχανισμών αντιοξειδωτικής προστασίας, αλλά η καβεολίνη-1 φαίνεται να τον περιορίζει, εμποδίζοντας τη μεταφορά του στον πυρήνα και την ενεργοποίηση της αντιοξειδωτικής απόκρισης. Αυτό οδηγεί σε αυξημένη ευαισθησία των κυττάρων στο οξειδωτικό στρες και επιταχύνει τη γήρανση. Η σίγαση της καβεολίνης-1 έχει επίσης συνδεθεί με τη μείωση της γήρανσης που προκαλείται από διάφορους παράγοντες. Για παράδειγμα, σε ινοβλάστες από ασθενείς με διαβήτη τύπου 2, η μείωση της καβεολίνης-1 ανέστρεψε τα αποτελέσματα της πρόωρης γήρανσης που προκαλούνταν από το οξειδωτικό στρες και βελτίωσε την επούλωση τραυμάτων. Αυτά τα ευρήματα δείχνουν ότι η σίγαση της καβεολίνης-1 μπορεί να προσφέρει προστατευτικά αποτελέσματα έναντι της κυτταρικής γήρανσης σε ορισμένες περιπτώσεις, ειδικά σε καταστάσεις όπου το οξειδωτικό στρες και οι φλεγμονώδεις παράγοντες είναι κυρίαρχοι. Η καβεολίνη-1 συνδέεται επίσης με τη μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, η οποία αποτελεί κύριο παράγοντα για την κυτταρική γήρανση. Η σίγαση της καβεολίνης-1 έχει δείξει ότι μειώνει τη μιτοχονδριακή αναπνοή και την παραγωγή ενέργειας, οδηγώντας σε δυσλειτουργία των κυττάρων. Αυτή η διαδικασία ενεργοποιεί την οδό p53/p21, προάγοντας την πρόωρη γήρανση των κυττάρων.

Τα ευρήματα από τις μελέτες που αφορούν τη σίγαση της καβεολίνης-1 προσφέρουν νέες προοπτικές για τη θεραπεία ασθενειών που σχετίζονται με τη γήρανση και το οξειδωτικό στρες. Η καβεολίνη-1 μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο για την πρόληψη της κυτταρικής γήρανσης, ειδικά σε περιπτώσεις όπου το οξειδωτικό στρες παίζει σημαντικό ρόλο, όπως στον διαβήτη και τις καρδιαγγειακές παθήσεις. Η σίγαση της καβεολίνης-1 έχει δείξει ότι μπορεί να αναστείλει ή να καθυστερήσει τη γήρανση των κυττάρων σε διάφορα μοντέλα, προσφέροντας ελπίδες για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

Η καβεολίνη-1 βρέθηκε επίσης να εμπλέκεται και στην καρκινογένεση. Η καβεολίνη-1 (Caveolin-1) είναι μία πρωτεΐνη με διπλό ρόλο στην καρκινογένεση, καθώς μπορεί να λειτουργεί είτε ως κατασταλτικός παράγοντας όγκων είτε ως ογκογονικός παράγοντας, ανάλογα με τον τύπο του καρκίνου. Τα ευρήματα από μελέτες που εξετάζουν τη σίγαση της καβεολίνης-1 με μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (siRNA) δείχνουν την πολύπλοκη λειτουργία της πρωτεΐνης και υποδεικνύουν ενδιαφέρουσες προοπτικές για τη θεραπεία καρκίνων. Σε καρκίνους όπως του πνεύμονα, του μαστού, του παχέος εντέρου και των ωοθηκών, έχει βρεθεί μειωμένη έκφραση της καβεολίνης-1. Η μειωμένη αυτή έκφραση συνδέεται με την απώλεια της κατασταλτικής δράσης της πρωτεΐνης, οδηγώντας σε αυξημένη κυτταρική ανάπτυξη και μετασχηματισμό των κυττάρων. Σε μοντέλα ποντικών με ανεπάρκεια καβεολίνης-1, η απουσία της προάγει την υπερπλασία και αυξάνει την ευαισθησία στην καρκινογένεση. Αυτό υποδεικνύει τον ρόλο της καβεολίνης-1 ως ογκοκατασταλτικό σε ορισμένους τύπους καρκίνου.

Από την άλλη πλευρά, η καβεολίνη-1 μπορεί να προάγει τη μετάσταση και την επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων. Στον καρκίνο του προστάτη και σε ανθεκτικά σε χημειοθεραπεία καρκινικά κύτταρα μαστού, η αυξημένη έκφραση της καβεολίνης-1 σχετίζεται με αυξημένη επιβίωση, κινητικότητα και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Η σίγαση της καβεολίνης-1 με siRNA σε τέτοια κύτταρα έχει αποδείξει ότι μειώνει τη μεταστατική ικανότητα, καθιστώντας την έναν πιθανό στόχο για την καταστολή της μετάστασης. Η καβεολίνη-1 εμπλέκεται στη ρύθμιση σηματοδοτικών μονοπατιών που ελέγχουν την επιβίωση και την ανάπτυξη των κυττάρων. Συγκεκριμένα, το μονοπάτι MAPK/ERK, που προάγει τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, ενεργοποιείται όταν η καβεολίνη-1 απουσιάζει. Σε αντίθεση, η υπερέκφραση της καβεολίνης-1 σε μοντέλα καρκίνου του πνεύμονα και του προστάτη έχει δείξει ότι μπορεί να προάγει τον μετασχηματισμό και την ανεξάρτητη από την αγκύρωση ανάπτυξη.

Μια άλλη σημαντική λειτουργία της καβεολίνης-1 είναι η προώθηση της ανθεκτικότητας των καρκινικών κυττάρων στη χημειοθεραπεία και την ακτινοθεραπεία. Μελέτες έχουν δείξει ότι η σίγαση της καβεολίνης-1 σε ανθεκτικά κύτταρα παχέος εντέρου και ωοθηκών επανευαισθητοποιεί τα κύτταρα στη θεραπεία με 5-φθοροουρακίλη και σισπλατίνη αντίστοιχα. Παράλληλα, η σίγαση της καβεολίνης-1 ενισχύει την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων του μαστού στην ακτινοβολία, μειώνοντας την επιδιόρθωση του DNA και αυξάνοντας την απόπτωση. Η Cav - 1 θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως ισχυρός προγνωστικός βιοδείκτης σε καρκίνους όπως είναι του μαστού ή στον καρκίνο του προστάτη. Επίσης αφού η caveolin-1 εμπλέκεται στη ραδιοαντίσταση και συμβάλλει στην επιθετικότητα του όγκου μπορεί χρησιμοποιηθεί ως προγνωστικός βιοδείκτης για την απόκριση στη θεραπεία με ακτινοβολία και την εξέλιξη του όγκου. Τέλος, θα μπορούσε να συμβάλλει ως δείκτης στην χημειοανθεκτικότητα του όγκου.

Τα ευρήματα για τη σίγαση της καβεολίνης-1 δείχνουν ότι η πρωτεΐνη αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο στόχο για τη θεραπεία καρκίνων. Η σίγαση της καβεολίνης-1 μπορεί να επιβραδύνει την ανάπτυξη των όγκων, να μειώσει τη μεταστατική ικανότητα και να αυξήσει την ευαισθησία των καρκινικών κυττάρων σε θεραπείες. Η καβεολίνη-1 είναι μια πρωτεΐνη με ποικίλους ρόλους στην καρκινογένεση, επηρεάζοντας την ανάπτυξη, τη μετάσταση και την ανθεκτικότητα των καρκινικών κυττάρων στη θεραπεία. Η σίγαση της καβεολίνης-1 αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο μηχανισμό για τον έλεγχο της επιθετικότητας του καρκίνου και την αύξηση της αποτελεσματικότητας των θεραπειών, ενώ ταυτόχρονα προτείνει νέα μονοπάτια για την κατανόηση της καρκινογένεσης.

Βιβλιογραφία

Alberts B., Bray D., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. (2014) 'Essential cell biology' W.W. Norton & Company, 4th Edition, Chapter 16, 9781315815015

Ambesajir, A. et al. (2012) 'RNA interference: A futuristic tool and its therapeutic applications', Saudi Journal of Biological Sciences, 19(4), pp. 395–403. doi:10.1016/j.sjbs.2012.08.001.

Baba AI, Câtoi C. (2007) Comparative Oncology. Bucharest (RO): The Publishing House of the Romanian Academy; Chapter 3, TUMOR CELL MORPHOLOGY.

Bertoli, C., Skotheim, J.M. and de Bruin, R.A. (2013) 'Control of cell cycle transcription during G1 and S phases', Nature Reviews Molecular Cell Biology, 14(8), pp. 518–528. doi:10.1038/nrm3629.

Bitar MS, Abdel-Halim SM, Al-Mulla F. (2013) 'Caveolin-1/PTRF upregulation constitutes a mechanism for mediating p53-induced cellular senescence: implications for evidence-based therapy of delayed wound healing in diabetes', Am J Physiol Endocrinol Metab. Oct 15;305(8):E951-63. doi: 10.1152/ajpendo.00189.2013.

Bodnar AG, Ouellette M, Frolkis M, Holt SE, Chiu CP, Morin GB, Harley CB, Shay JW, Lichtsteiner S, Wright WE. (1998) Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. Science. Jan 16;279(5349):349-52. doi: 10.1126/science.279.5349.349

Cheng JPX, Nichols BJ., (2016) 'Caveolae: One Function or Many?' Trends Cell Biol Mar;26(3):177-189. doi: 10.1016/j.tcb.2015.10.010.

Cho KA, Ryu SJ, Park JS, Jang IS, Ahn JS, Kim KT, Park SC. (2003) 'Senescent phenotype can be reversed by reduction of caveolin status'. J Biol Chem. Jul 25;278(30):27789-95. doi: 10.1074/jbc.M208105200.

Cohen AW, Hnasko R, Schubert W, Lisanti MP. (2004) Role of caveolae and caveolins in health and disease. Physiol Rev. Oct;84(4):1341-79. doi: 10.1152/physrev.00046.2003.

Collins BokM, Davis MJ, Hancock JF, Parton RG. (2012) Structure-based reassessment of the caveolin signaling model: do caveolae regulate signaling through caveolin-protein interactions? Dev Cell. Jul 17;23(1):11-20. doi: 10.1016/j.devcel.2012.06.012.

Couet J, Sargiacomo M, and Lisanti MP. Interaction of a receptor tyrosine kinase, EGF-R, with caveolins. Caveolin binding negatively regulates tyrosine and serine/threonine kinase activities. J Biol Chem 272: 30429–30438, 1997.

Courtois-Cox S., Jones S.L., Cichowski K. (2008) 'Many roads lead to oncogene-induced senescence', Oncogene. 27:2801–2809. doi: 10.1038/sj.onc.1210950.

Cuccato, G. et al. (2011b) Modeling RNA interference in mammalian cells - BMC systems biology, BioMed Central. Available at: <https://bmcsystbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1752-0509-5-19>

Cuccato, G., Polynikis, A., Siciliano, V. et al. (2011) Modeling RNA interference in mammalian cells. BMC Syst Biol 5, 19). <https://doi.org/10.1186/1752-0509-5-19>

d'Adda di Fagagna F., Reaper P.M., Clay-Farrace L., Fiegler H., Carr P., von Zglinicki T., Saretzki G., Carter N.P., Jackson S.P. (2003) A DNA Damage Checkpoint Response in Telomere-Initiated Senescence. Nature. ;426:194–198. doi: 10.1038/nature02118.

Ding L, Zeng Q, Wu J, Li D, Wang H, Lu W, Jiang Z, Xu G. (2017) 'Caveolin 1 regulates oxidative stress induced senescence in nucleus pulposus cells primarily via the p53/p21 signaling pathway in vitro'. Mol Med Rep.Dec;16(6):9521-9527. doi: 10.3892/mmr.2017.7789.

Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T (2001) Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. Nature 411:494–498

Elmore S. (2007) 'Apoptosis: a review of programmed cell death', Toxicol Pathol. Jun;35(4):495-516. doi: 10.1080/01926230701320337.

Eppard M, Passos JF, Victorelli S. (2023) Telomeres, cellular senescence, and aging: past and future. Biogerontology. Apr;25(2):329-339. doi: 10.1007/s10522-023-10085-4. Epub 2023 Dec 27. PMID: 38150087; PMCID: PMC11287966.

Escalona-Noguero C., López-Valls M., Sot B. (2021) 'CRISPR/Cas technology as a promising weapon to combat viral infections', BioEssays. 43:2000315. doi: 10.1002/bies.202000315.

Fard ZT, Nafisi N.(2018) The Relationship Between 6 Polymorphisms of Caveolin-1 Gene and the Risk of Breast Cancer. Clin Breast Cancer. Oct;18(5):e893-e898. doi: 10.1016/j.clbc.2018.01.005

Feng S, Wang Y, Wang X (2010) Caveolin-1 gene silencing promotes the activation of PI3K/AKT dependent on Eralpha36 and the transformation of MCF10ACE. Sci China Life Sci 2010; 53(5): 598-605.

Feng X, Gao W, Li Y. (2017) Caveolin-1 is involved in high glucose accelerated human glomerular mesangial cell senescence. Korean J Intern Med. Sep;32(5):883-889. doi: 10.3904/kjim.2015.254.

Fiucci G, Ravid D, Reich R, Liscovitch M. (2002) 'Caveolin-1 inhibits anchorage-independent growth, anoikis and invasiveness in MCF-7 human breast cancer cells', Oncogene ; 21(15): 2365-75.

Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS., (2010) 'Triple-negative breast cancer', *N Engl J Med.* Nov 11;363(20):1938-48. doi: 10.1056/NEJMra1001389.

Galbiati F, Volonte D, Engelman JA, (1998) Targeted downregulation of Caveolin-1 is sufficient to drive cell transformation and hyperactivate the p42/44 MAP kinase cascade. *EMBO J*; 17(22): 6633-48.

Gebert, L.F. and MacRae, I.J. (2018) 'Regulation of microRNA function in animals', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 20(1), pp. 21–37. doi:10.1038/s41580-018-0045-7.

Gire V, Dulic V, (2015) 'Senescence from G2 arrest, revisited'. *Cell Cycle*;14(3):297-304. doi: 10.1080/15384101.2014.1000134. PMID: 25564883; PMCID: PMC4353294.

Glenney JR, Jr. (1989) 'Tyrosine phosphorylation of a 22-kDa protein is correlated with transformation by Rous sarcoma virus', *J Biol Chem*; 264(34): 20163-6.

Gruenzel A, (2011)' The Role of E2F3 Phosphorylation in Rb-mediated Tumorigenesis and Embryonic Development' *JOUR*,

Han M., Nwosu Z. C., Piorońska W., Ebert M. P., Dooley S., Meyer C. (2019). Caveolin-1 Impacts on TGF- β Regulation of Metabolic Gene Signatures in Hepatocytes. *Front. Physiol.* 10, 1606. 10.3389/fphys.2019.01606

Hansen C. G., Bright N. A., Howard G., Nichols B. J. (2009). SDPR induces membrane curvature and functions in the formation of caveolae. *Nat. Cell Biol.* 11, 807–814 10.1038/ncb1887

Hashemi Goradel N, Najafi M, Salehi E, Farhood B, Mortezaee K. 2019. Cyclooxygenase-2 in cancer: a review. *Journal of Cellular Physiology* 234:5683–99, doi: 10.1002/jcp.27411.

Hayashi K, Matsuda S, Machida K (2001), 'Invasion activating Caveolin-1 mutation in human scirrhus breast cancers', *Cancer Res*; 61(6): 2361-4

HAYFLICK L, MOORHEAD PS. (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res.* Dec;25:585-621. doi: 10.1016/0014-4827(61)90192-6.

Hill MM, Bastiani M, Luetterforst R, Kirkham M, Kirkham A, Nixon SJ, Walser P, Abankwa D, Oorschot VM, Martin S, Hancock JF, Parton RG. (2008) PTRF-Cavin, a conserved cytoplasmic protein required for caveola formation and function. *Cell.* Jan 11;132(1):113-24. doi: 10.1016/j.cell.2007.11.042.

Ho CC, Huang PH, Huang HY, Chen YH, Yang PC, Hsu SM (2002) 'Up-regulated Caveolin-1 accentuates the metastasis capability of lung adenocarcinoma by inducing filopodia formation.' *Am J Pathol*; 161(5): 1647-56.

Hoop CL, Sivanandam VN, Kodali R, Srnec MN, van der Wel PC.(2012) Structural characterization of the caveolin scaffolding domain in association with cholesterol-rich membranes. *Biochemistry.* Jan 10;51(1):90-9. doi: 10.1021/bi201356v.

- Huang Q, Wu L, Wang Y, Kong X, Xiao X, Huang Q, Li M, Zhai Y, Shi F, Zhao R, Zhong J, Xiong L. (2022) 'Caveolin-1-deficient fibroblasts promote migration, invasion, and stemness via activating the TGF- β /Smad signaling pathway in breast cancer cells', *Acta Biochim Biophys Sin* (Shanghai). Nov 25;54(11):1587-1598. doi: 10.3724/abbs.2022150.
- Hutvagner, G. and Simard, M.J. (2008) 'Argonaute proteins: Key players in RNA silencing', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 9(1), pp. 22–32. doi:10.1038/nrm2321.
- Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. (2015) 'Survivin: A molecular biomarker in cancer.' *Indian J Med Res*. Apr;141(4):389-97. doi: 10.4103/0971-5916.159250.
- Jeffries EP, Di Filippo M, Galbiati F. (2019) 'Failure to reabsorb the primary cilium induces cellular senescence', *FASEB J*. Apr;33(4):4866-4882. doi: 10.1096/fj.201801382R.
- Joglekar M, Elbezanti WO, Weitzman MD, Lehman HL, van Golen KL., (2015) 'Caveolin-1 mediates inflammatory breast cancer cell invasion via the Akt1 pathway and RhoC GTPase', *J Cell Biochem*. Jun;116(6):923-33. doi: 10.1002/jcb.25025.
- Johansson, M. and Clarke, D.J. (2022) 'Cell cycle checkpoints and cell surface damage', *BioEssays*, 44(7). doi:10.1002/bies.202200079.
- Kamposioras K, Tsimplouli C, Verbeke C, Anthoney A, Daoukopoulou A, Papandreou CN, Sakellaridis N, Vassilopoulos G, Potamianos SP, Liakouli V, Migneco G, Del Galdo F, Dimas K. (2019) Silencing of caveolin-1 in fibroblasts as opposed to epithelial tumor cells results in increased tumor growth rate and chemoresistance in a human pancreatic cancer model. *Int J Oncol*. Feb;54(2):537-549. doi: 10.3892/ijo.2018.4640.
- Kamposioras K, Dinas PC, Barriuso J, Trachana V, Dimas K. (2023) 'Caveolin-1 protein expression as a prognostic biomarker of gastrointestinal tumours: A systematic review and meta-analysis'. *Eur J Clin Invest*. Dec;53(12):e14065. doi: 10.1111/eci.14065.
- Karam JA, Lotan Y, Roehrborn CG, Ashfaq R, Karakiewicz PI, Shariat SF. (2007) 'Caveolin-1 overexpression is associated with aggressive prostate cancer recurrence', *Prostate*; 67(6): 614-22.
- Ketteler, J. and Klein, D. (2018) 'Caveolin-1, cancer and therapy resistance', *International Journal of Cancer*, 143(9), pp. 2092–2104. doi:10.1002/ijc.31369.
- Kiss AL, Botos E. (2009) Endocytosis via caveolae: alternative pathway with distinct cellular compartments to avoid lysosomal degradation? *J Cell Mol Med*. Jul;13(7):1228-37. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00754.x.
- Koleske AJ, Baltimore D, Lisanti MP. (1995) 'Reduction of Caveolin and caveolae in oncogenically transformed cells', *Proc Natl Acad Sci USA*; 92(5): 1381-5.
- Kontomanolis EN, Koutras A, Syllaios A, Schizas D, Mastoraki A, Garmpis N, Diakosavvas M, Angelou K, Tsatsaris G, Pagkalos A, Ntounis T, Fasoulakis Z. (2020) 'Role of

Oncogenes and Tumor-suppressor Genes in Carcinogenesis: A Review', *Anticancer Res.* Nov;40(11):6009-6015. doi: 10.21873/anticancer.14622.

Kovtun O, Tillu VA, Ariotti N, Parton RG, Collins BM. (2015) Cavin family proteins and the assembly of caveolae. *J Cell Sci.* Apr 1;128(7):1269-78. doi: 10.1242/jcs.167866.

Kumari R, Jat P. (2021) 'Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretory Phenotype', *Front Cell Dev Biol.* Mar 29;9:645593. doi: 10.3389/fcell.2021.645593.

Le Lay S, Kurzchalia TV. (2005) Getting rid of Caveolins: phenotypes of Caveolin-deficient animals. *Biochim Biophys Acta*; 1746(3): 322-33.

Li Z, Wang N, Huang C, Bao Y, Jiang Y, Zhu G. (2017) 'Downregulation of caveolin-1 increases the sensitivity of drug-resistant colorectal cancer HCT116 cells to 5-fluorouracil.' *Oncol Lett.* Jan;13(1):483-487. doi: 10.3892/ol.2016.5390.

Lim, S. and Kaldis, P. (2013) 'Cdks, cyclins and cks: Roles beyond cell cycle regulation', *Development*, 140(15), pp. 3079–3093. doi:10.1242/dev.091744.

Luo S, Yang M, Zhao H, Han Y, Jiang N, Yang J, Chen W, Li C, Liu Y, Zhao C, Sun L. (2021) Caveolin-1 Regulates Cellular Metabolism: A Potential Therapeutic Target in Kidney Disease. *Front Pharmacol.* Dec 10;12:768100. doi: 10.3389/fphar.2021.768100.

Mani I. (2021), 'CRISPR-Cas9 for treating hereditary diseases', *Prog Mol Biol Transl Sci.*;181:165-183. doi: 10.1016/bs.pmbts.2021.01.017.

Matthews HK, Bertoli C, de Bruin RAM. (2022) 'Cell cycle control in cancer.' *Nat Rev Mol Cell Biol.* Jan;23(1):74-88. doi: 10.1038/s41580-021-00404-3. Epub 2021 Sep 10. PMID: 34508254.

Mello, C., Conte, D. (2004) Revealing the world of RNA interference. *Nature* 431, 338–342. <https://doi.org/10.1038/nature02872>

Minshall RD, Malik AB. Transport across the endothelium: regulation of endothelial permeability. *Handb Exp Pharmacol.* 2006;(176 Pt 1):107–144.

Mombach JC, Bugs CA, Chaouiya C. (2014) 'Modelling the onset of senescence at the G1/S cell cycle checkpoint', *BMC Genomics.* 2014;15 Suppl 7(Suppl 7):S7. doi: 10.1186/1471-2164-15-S7-S7. Epub Oct 27. PMID: 25573782; PMCID: PMC4243082.

Morén B, Shah C, Howes MT, Schieber NL, McMahon HT, Parton RG, Daumke O, Lundmark R. (2012) EHD2 regulates caveolar dynamics via ATP-driven targeting and oligomerization. *Mol Biol Cell.* Apr;23(7):1316-29. doi: 10.1091/mbc.E11-09-0787.

Nassar, Z. D., Hill, M. M., Parton, R. G. & Parat, M. O. (2013) Caveola-forming proteins caveolin-1 and PTRF in prostate cancer. *Nature reviews. Urology* 10, 529–536, <https://doi.org/10.1038/nrurol.2013.168>

Okada, S., Raja, S. A., Okerblom, J., Boddu, A., Horikawa, Y., Ray, S., Okada, H., Kawamura, I., Murofushi, Y., Murray, F., & Patel, H. H. Deletion of caveolin scaffolding

domain alters cancer cell migration. *Cell Cycle* (Georgetown, Texas), 18(11), 1268–1280 10.1080/15384101.2019.1618118. Parat MO, Riggins GJ. Caveolin-1, caveolae, and glioblastoma. *Neuro Oncol.* 2012;14:679–688.

Parton RG.(2018) Caveolae: Structure, Function, and Relationship to Disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* Oct 6;34:111-136. doi: 10.1146/annurev-cellbio-100617-062737. PMID: 30296391.

Parton Robert, McMahon Kerrie-Ann, Wu Yeping, (2020) 'Caveolae: Formation, dynamics, and function', *Current Opinion in Cell Biology*, V;65:0955-0674. doi:10.1016/j.ceb.2020.02.001.

Patel HH, Murray F, Insel PA. (2008) Caveolae as organizers of pharmacologically relevant signal transduction molecules. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*;48:359-91. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.48.121506.124841.

Qu C, Sun J, Liu Y, Wang X, Wang L, Han C, Chen Q, Guan T, Li H, Zhang Y, Wang Y, Liu J, Zou W, Liu J. (2018) 'Caveolin-1 facilitated KCNA5 expression, promoting breast cancer viability', *Oncol Lett*, Oct;16(4):4829-4838. doi: 10.3892/ol.2018.9261.

Quest AF, Lobos-González L, Nuñez S, Sanhueza C, Fernández JG, Aguirre A, Rodríguez D, Leyton L, Torres V. (2013) 'The caveolin-1 connection to cell death and survival', *Curr Mol Med.* Feb;13(2):266-81. doi: 10.2174/156652413804810745.

Radu V. Stan (2005) 'Structure of caveolae' *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, V;1746: 0167-4889, doi: 10.1016/j.bbamcr.2005.08.008. Rodríguez DA, Tapia JC, Fernandez JG, (2009) 'Caveolin-1-mediated suppression of cyclooxygenase-2 via a beta-catenin-Tcf/Lef-dependent transcriptional mechanism reduced prostaglandin E2 production and survivin expression', *Mol Biol Cell*; 20(8): 2297-310.

Roger L, Tomas F, Gire V. (2021) 'Mechanisms and Regulation of Cellular Senescence', *Int J Mol Sci.* Dec 6;22(23):13173. doi: 10.3390/ijms222313173.

Rondinone, C.M. and Reidhaar-Olson, J.F. (2009) 'Therapeutic applications of rnai', *Methods in Molecular Biology*TM, 555. doi:10.1007/978-1-60327-295-7.

Rybin VO, Grabham PW, Elouardighi H, and Steinberg SF. (2003) Caveolae-associated proteins in cardiomyocytes: caveolin-2 expression and interactions with caveolin-3. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285: H325–H332.

Sala-Vila A, Navarro-Lérida I, Sánchez-Alvarez M, Bosch M, Calvo C, López JA (2016) Interplay between hepatic mitochondria-associated membranes, lipid metabolism and caveolin-1 in mice. *Sci Rep.*;6:27351.

Saretzki G. (2021) 'Telomeres, Telomerase and Ageing', *Subcell Biochem.* 2018;90:221-308. doi: 10.1007/978-981-13-2835-0_9.

Sargiacomo M, Scherer PE, Tang ZL, Kubler E, Song KS, Sanders MC, and Lisanti MP. (1995) Oligomeric structure of caveolin: implications for caveolae membrane organization. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 9407–9411.

Schafer KA. (1998) 'The cell cycle: a review', *Vet Pathol.* Nov;35(6):461-78. doi: 10.1177/030098589803500601.

Schlegel A and Lisanti MP. (2000) A molecular dissection of caveolin-1 membrane attachment and oligomerization. Two separate regions of the caveolin-1 C-terminal domain mediate membrane binding and oligomer/oligomer interactions in vivo. *J Biol Chem* 275: 21605–21617.

Setten, R.L., Rossi, J.J. and Han, S. (2019) 'The current state and future directions of rnai-based therapeutics', *Nature Reviews Drug Discovery*, 18(6), pp. 421–446. doi:10.1038/s41573-019-0017-4.

Shi Y, Tan SH, Ng S, Zhou J, Yang ND, Koo GB, McMahon KA, Parton RG, Hill MM, Del Pozo MA, Kim YS, Shen HM. (2015) Critical role of CAV1/caveolin-1 in cell stress responses in human breast cancer cells via modulation of lysosomal function and autophagy. *Autophagy*;11(5):769-84. doi: 10.1080/15548627.2015.1034411.

Sioud, M. (2021). RNA Interference: Story and Mechanisms. In: Ditzel, H.J., Tuttolomondo, M., Kauppinen, S. (eds) *Design and Delivery of SiRNA Therapeutics. Methods in Molecular Biology*, vol 2282. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1298-9_1

Smart EJ, Graf GA, McNiven MA, Sessa WC, Engelman JA, Scherer PE, Okamoto T, Lisanti MP. (1999) Caveolins, liquid-ordered domains, and signal transduction. *Mol Cell Biol.* Nov;19(11):7289-304. doi: 10.1128/MCB.19.11.7289.

Tahir S. A., Yang G., Goltsov A., Song K. D., Ren C., Wang J., et al. (2013). Caveolin-1-LRP6 Signaling Module Stimulates Aerobic Glycolysis in Prostate Cancer. *Cancer Res.* 73 (6), 1900–1911. 10.1158/0008-5472.Can-12-3040

Tang ZL, Scherer PE, Okamoto T, Song K, Chu C, Kohtz DS, Nishimoto I, Lodish HF, and Lisanti MP.(1996) Molecular cloning of caveolin-3, a novel member of the caveolin gene family expressed predominantly in muscle. *J Biol Chem* 271: 2255–2261.

Tao B., Kraehling J. R., Ghaffari S., Ramirez C. M., Lee S., Fowler J. W. (2020). BMP-9 and LDL Crosstalk Regulates ALK-1 Endocytosis and LDL Transcytosis in Endothelial Cells. *J. Biol. Chem.* 295 (52), 18179–18188. 10.1074/jbc.RA120.015680

Thomas CM, Smart EJ. (2008) 'Caveolae structure and function', *J Cell Mol Med.* Jun;12(3):796-809. doi: 10.1111/j.1582-4934.2008.00295.x.

Torres VA, Tapia JC, Rodriguez DA, (2007) 'E-cadherin is required for Caveolin-1-mediated down-regulation of the inhibitor of apoptosis protein survivin via reduced beta catenin-Tcf/Lef-dependent transcription', *Mol Cell Biol*; 27(21): 7703-17

- Traber, G.M. and Yu, A.-M. (2022) 'RNAi-based therapeutics and novel RNA Bioengineering Technologies', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 384(1), pp. 133–154. doi:10.1124/jpet.122.001234.
- Van den Heuvel, S. (2005) 'Cell-Cycle Regulation', *WormBook*. doi:10.1895/wormbook.1.28.1.
- Van Zijl F, Krupitza G, Mikulits W. (2011) 'Initial steps of metastasis: cell invasion and endothelial transmigration.' *Mutat Res* Jul-Oct;728(1-2):23-34. doi: 10.1016/j.mrrev.2011.05.002.
- Vanhaesebroeck B, Vogt PK, Rommel C. (2010) 'PI3K: from the bench to the clinic and back', *Curr Top Microbiol Immunol* ; 347: 1-19
- Vihanto M. M., Vindis C., Djonov V., Cerretti D. P., Huynh-Do U. (2006). Caveolin-1 Is Required for Signaling and Membrane Targeting of EphB1 Receptor Tyrosine Kinase. *J. Cel Sci* 119 (Pt 11), 2299–2309. 10.1242/jcs.02946
- Volonte D, Galbiati F. (2020) Caveolin-1, a master regulator of cellular senescence. *Cancer Metastasis Rev.* Jun;39(2):397-414. doi: 10.1007/s10555-020-09875-w.
- Volonte D, Liu Z, Musille PM, Stoppani E, Wakabayashi N, Di YP, Lisanti MP, Kensler TW, Galbiati F. (2003) 'Inhibition of nuclear factor-erythroid 2-related factor (Nrf2) by caveolin-1 promotes stress-induced premature senescence'. *Mol Biol Cell.* Jun;24(12):1852-62. doi: 10.1091/mbc.E12-09-0666.
- Volonte D, Zou H, Bartholomew JN, Liu Z, Morel PA, Galbiati F. (2005) 'Oxidative stress-induced inhibition of Sirt1 by caveolin-1 promotes p53-dependent premature senescence and stimulates the secretion of interleukin 6 (IL-6)', *J Biol Chem.* Feb 13;290(7):4202-14. doi: 10.1074/jbc.M114.598268.
- Wang, Z. (2021) 'Regulation of cell cycle progression by growth factor-induced cell signaling', *Cells*, 10(12), p. 3327. doi:10.3390/cells10123327.
- Wang, Z. (2022) 'Cell cycle progression and synchronization: An overview', *Methods in Molecular Biology*, pp. 3–23. doi:10.1007/978-1-0716-2736-5_1.
- Wenzel ES, Singh ATK. (2018) Cell-cycle Checkpoints and Aneuploidy on the Path to Cancer. *In Vivo.* Jan-Feb;32(1):1-5. doi: 10.21873/in vivo.11197.
- Williams TM, Lisanti MP. (2004) The caveolin proteins. *Genome Biol*;5(3):214. doi: 10.1186/gb-2004-5-3-214.
- Wong TH, Dickson FH, Timmins LR, Nabi IR. (2020) 'Tyrosine phosphorylation of tumor cell caveolin-1: impact on cancer progression', *Cancer Metastasis Rev.* Jun;39(2):455-469. doi: 10.1007/s10555-020-09892-9.
- Woodman SE, Cheung MW, Tarr M, North AC, Schubert W, Lagaud G, Marks CB, Russell RG, Hassan GS, Factor SM, Christ GJ, and Lisanti MP. (2004) Urogenital alterations in aged male caveolin-1 knockout mice. *J Urol* 171: 950–957.

Xing Y, Wen Z, Gao W, Lin Z, Zhong J, Jiu Y. (2020) Multifaceted Functions of Host Cell Caveolae/Caveolin-1 in Virus Infections. *Viruses*. Apr 26;12(5):487. doi: 10.3390/v12050487.

Yu DM, Jung SH, An HT, Lee S, Hong J, Park JS, Lee H, Lee H, Bahn MS, Lee HC, Han NK, Ko J, Lee JS, Ko YG. (2017) 'Caveolin-1 deficiency induces premature senescence with mitochondrial dysfunction', *Aging Cell*. Aug;16(4):773-784. doi: 10.1111/accel.12606.

Zakrzewicz D, Didiasova M, Zakrzewicz A, Hocke AC, Uhle F, Markart P, Preissner KT, Wygrecka M. (2014) The interaction of enolase-1 with caveolae-associated proteins regulates its subcellular localization. *Biochem J*. Jun 1;460(2):295-307. doi: 10.1042/BJ20130945.

Zhou H, Huang B, Du J, Wang L. (2010) Role of the JAK2/STAT pathway and losartan in human glomerular mesangial cell senescence. *Mol Med Rep*. May-Jun;3(3):393-8. doi: 10.3892/mmr_00000270.

Zou M, Li Y, Xia S, Chu Q, Xiao X, Qiu H, Chen Y, Zheng Z, Liu F, Zhuang L, Yu S. (2017) 'Knockdown of CAVEOLIN-1 Sensitizes Human Basal-Like Triple-Negative Breast Cancer Cells to Radiation', *Cell Physiol Biochem*.;44(2):778-791. doi: 10.1159/000485291.

Zou W, Ma X, Hua W, Chen B, Cai G. Caveolin-1 mediates chemoresistance in cisplatin-resistant ovarian cancer cells by targeting apoptosis through the Notch-1/Akt/NF- κ B pathway. *Oncol Rep*. 2015 Dec;34(6):3256-63. doi: 10.3892/or.2015.4320.