



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«ΣΧΕΣΗ ΚΑΡΚΙΝΟΥ – ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ: ΝΕΑ**  
**ΔΕΔΟΜΕΝΑ»**

**ΠΑΡΑΣΧΟΥ ANNA**  
**ΙΑΤΡΟΣ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, ΕΠΙΚΟΥΡΗ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ**  
**ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ (ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ)**

**ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**(ΜΕΛΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ)**

**ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ**  
**ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ (ΜΕΛΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ)**

**ΛΑΡΙΣΑ, 2018**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**  
**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**  
**«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**«CANCER AND CELLULAR SENESENCE: NEW DATA»**

*Όποιος δεν έκανε ποτέ λάθος, δεν έχει δοκιμάσει ποτέ κάτι καινούργιο.*

*Τίποτα δεν συμβαίνει αν κάτι δεν αλλάξει.*

*(Albert Einstein)*

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω από καρδιάς την επιβλέπουσα της εργασίας κα Βαρβάρα Τραχανά, Επίκουρη Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για το χρόνο και την πολύτιμη καθοδήγησή της στη συγγραφή της διπλωματικής αυτής εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καλό μου φίλο Διονύση, ο οποίος ήταν δίπλα μου όποτε τον χρειάστηκα.

Τέλος, το πιο μεγάλο ευχαριστώ το απευθύνω στους γονείς μου και στην αδερφή μου Τάνια για τη συμπαράσταση και την υπομονή τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Άννα Παράσχου

## Περίληψη

Η κυτταρική γήρανση περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1965 από τον Hayflick και τους συνεργάτες του. Γρήγορα ταυτίστηκε με το γήρας και της αποδόθηκαν αντικαρκινικές ιδιότητες, καθώς αποτελεί μηχανισμό αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Όπως απέδειξαν, όμως, αργότερα, οι επιστήμονες η κυτταρική γήρανση δεν περιορίζεται μόνο στο ρόλο αυτό. Τα γηρασμένα κύτταρα συνθέτουν και απελευθερώνουν έναν πολυποίκιλο και πολυσύνθετο εκκριτικό φαινότυπο. Ο φαινότυπος αυτός επηρεάζει μεγάλο αριθμό βιολογικών διαδικασιών, αλλά και τη σχέση της κυτταρικής γήρανσης με τον καρκίνο. Σκοπός της διπλωματικής αυτής εργασίας ήταν η ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας αναφορικά με τα νεότερα δεδομένα που έχουν προκύψει στη σχέση κυτταρικής γήρανσης και καρκίνου τα τελευταία πέντε χρόνια. Η αναζήτηση έγινε μέσω της βάσης δεδομένων PubMed. Επιπλέον, μελετήθηκαν νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις κατά του καρκίνου με άξονα την κυτταρική γήρανση. Όπως, λοιπόν, προέκυψε, ο ρόλος της κυτταρικής γήρανσης στην καρκινογένεση και στην εξάπλωση του καρκίνου είναι πολυσύνθετος. Ο εκκριτικός φαινότυπος των γηρασμένων κυττάρων φάνηκε ότι συμβάλλει στην πολυπλοκότητα αυτή. Από τη μία επιτείνει την αναστολή του πολλαπλασιασμού δρώντας αντικαρκινικά, από την άλλη αποδείχθηκε ότι σχετίζεται με την καρκινογένεση, τη δημιουργία καρκινικών βλαστικών κυττάρων, την εξάπλωση του καρκίνου και την πρόκληση μεταστάσεων. Οι επιστήμονες, λοιπόν, με βάση το μηχανισμό της κυτταρικής γήρανσης έχουν αναπτύξει μία φαρέτρα θεραπευτικών σχημάτων. Στόχο τους αποτελεί είτε η επαγωγή της κυτταρικής γήρανσης, περιορίζοντας με αυτό τον τρόπο τον καρκίνο, είτε η τροποποίηση του εκκριτικού φαινότυπου των κυττάρων, αποτρέποντας τις βλαπτικές του επιδράσεις είτε η αποτροπή της συσσώρευσης των γηρασμένων κυττάρων. Καταλήγοντας, συμπεραίνουμε ότι η κυτταρική γήρανση αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο μηχανισμό στην αντιμετώπιση του καρκίνου. Χρήζει, όμως, σε κάθε περίπτωση περαιτέρω διερεύνησης και αξιοποίησης στο μέλλον.

## **Abstract**

Cellular senescence was first described by Hayflick and his coworkers in 1965. Soon it was associated with aging and due to its inhibition of cell proliferation, anti-cancer properties were attributed to it. However, as it was later proved by scientists, there is more to senescence than that. Senescent cells compose and release a multipolar and multicomplex secretory phenotype. This phenotype affects several biological processes but also the correlation between senescence and cancer. The goal of this dissertation is to review international bibliography regarding the newest data about the association of cancer and senescence in the last 5 years. The research was conducted through the PubMed database. Furthermore, new therapeutic approaches against cancer based on cellular senescence were studied. As it emerged, the role of senescence in tumorigenesis and the spread of cancer is multicomplex. The secretory phenotype of senescent cells seems to contribute to that. On one hand, it intensifies the arrest of the proliferation and has anti-cancer properties. On the other hand, scientists concluded that it correlates with tumorigenesis, the creation of cancer stem cells, the spread of cancer and causes metastases. Therefore, scientists based on the mechanisms of senescence have developed a range of therapeutic approaches. Their goal is to either induce senescence, thereby limiting the cancer, or to modify the secretory phenotype of the cells, thus limiting its harmful effects or to stop the accumulation of senescent cells. To sum up, senescence is a promising mechanism in the treatment of cancer. In any case, it should be further explored and exploited in the future.

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	1
Abstract .....	2
Εισαγωγή.....	5
<b>Κεφάλαιο 1. Κυτταρική γήρανση.....</b>	<b>7</b>
1.1 Αίτια.....	8
1.2 Τελομερή και τελομεράση .....	8
1.3 Κατηγορίες κυτταρικής γήρανσης.....	10
1.3.1 Αντιγραφική γήρανση.....	12
1.3.2 Κυτταρική γήρανση προκαλούμενη από ογκογονίδια .....	13
1.3.3 Κυτταρική γήρανση επαγόμενη από stress .....	14
1.3.4 Κυτταρική γήρανση κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης.....	15
1.3.5 Γήρανση επαγόμενη από θεραπευτικές παρεμβάσεις .....	15
1.4 Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και βιοδείκτες κυτταρικής γήρανσης.....	16
1.5 Εκκριτικός φαινότυπος γηρασμένων κυττάρων (SASP) .....	18
1.5.1 Εκκρινόμενες ουσίες.....	19
1.5.2 Στάδια του SASP .....	20
1.5.3 Σκοπός του SASP.....	20
1.5.4 Δράση του SASP .....	20
<b>Κεφάλαιο 2. Καρκίνος .....</b>	<b>22</b>
2.1 Γενικά.....	22
2.2 Ορόσημα του καρκίνου και κυτταρική γήρανση.....	24
2.3 Επιδημιολογικά στοιχεία.....	27
2.4 Μοντέλα καρκινογένεσης .....	28
2.4.1 Στοχαστικό μοντέλο.....	28
2.4.2 Ιεραρχικό μοντέλο.....	29
2.4.3 Πλαστικό μοντέλο .....	32
2.5 Μικροπεριβάλλον του όγκου .....	33
2.6 Καρκίνος και ηλικιακή γήρανση.....	36
<b>Κεφάλαιο 3. Σχέση καρκίνου – κυτταρικής γήρανσης.....</b>	<b>38</b>
3.1 Η κυτταρική γήρανση ως ογκοκατασταλτικός μηχανισμός.....	38
3.2 Ο ρόλος του p53/p21 και του p16 <sup>INK4a</sup> /pRb στην κυτταρική γήρανση.....	40
3.3 Κυτταρική γήρανση και αλλαγές στη δομή της χρωματίνης .....	43
3.4 Η «φωτεινή» πλευρά του SASP.....	43

3.5 Μηχανισμοί ρύθμισης του SASP.....	44
3.6 SASP και ανοσολογικός καθαρισμός.....	48
3.7 Αντίλογος .....	50
3.8 Κυτταρική γήρανση και ανταγωνιστικός πλειοτροπισμός .....	51
3.9 Η «σκοτεινή πλευρά» του SASP.....	52
3.10 Ομοιότητα CAFs και γηρασμένων κυττάρων.....	57
3.11 Κυτταρική γήρανση και το μοντέλο πρωτεΐνης AA .....	57
3.12 Κυτταρική γήρανση και ανεπάρκεια ανοσοποιητικού συστήματος.....	58
<b>Κεφάλαιο 4. Θεραπευτικές παρεμβάσεις κατά του καρκίνου με άξονα την κυτταρική γήρανση.....</b>	<b>59</b>
4.1 Ακτινοθεραπεία-Χημειοθεραπεία και κυτταρική γήρανση.....	59
4.2 Επαγωγή κυτταρικής γήρανσης.....	61
4.2.1 Αναστολείς κυκλινοεξαρτώμενων κινασών CDK4/6 .....	61
4.2.2 Ενισχυτές του ογκοκατασταλτικού p53 .....	62
4.2.3 Εισαγωγή του p53 σε καρκινικά κύτταρα με τη χρήση αδενοϊών.....	63
4.2.4 Αναστολείς τελομεράσης .....	63
4.2.5 Ανταγωνιστές υποδοχέων κυτταροκινών .....	63
4.2.6 Άλλοι παράγοντες σε προκλινικό επίπεδο .....	63
4.2.7 Επαναπρογραμματισμός του SASP .....	64
4.2.8 Συνδυασμένη θεραπεία με ανοσοθεραπεία .....	65
4.3 Φαρμακευτικός στόχος: τα γηρασμένα κύτταρα.....	67
4.3.1 Senolytics (Γεροντολυτικά).....	68
4.3.2 Ουσίες που καθαρίζουν – περιορίζουν τα γηρασμένα κύτταρα .....	71
4.4 Επαναπρογραμματισμός γηρασμένων κυττάρων.....	72
<b>Συμπεράσματα .....</b>	<b>74</b>
<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>76</b>



## **Εισαγωγή**

Κατά τη διάρκεια της ζωής του το κύτταρο εκτίθεται σε ένα σύνολο ερεθισμάτων δυνητικά επικίνδυνων για την ακεραιότητά του. Το κύτταρο, βέβαια, είναι ικανό να αναπτύξει κατάλληλους μηχανισμούς επιδιόρθωσης της βλάβης που έχει υποστεί και να συνεχίσει την πορεία του. Στην αντίθετη, όμως, περίπτωση που η βλάβη του δεν επιδιορθωθεί, είτε αποπίπτει (πεθαίνει, δηλαδή, προγραμματισμένα) είτε εισέρχεται σε κατάσταση κυτταρικής γήρανσης.<sup>1</sup> Αν, πάλι, κανένα από τα παραπάνω σενάρια δεν ευοδωθεί, τότε θα επέλθει γενετική αστάθεια.<sup>2</sup> Αν το κύτταρο δε, αποκτήσει πλεονέκτημα επιλογής, θα ξεκινήσει να πολλαπλασιάζεται ανεξέλεγκτα και θα εξαλλαγεί έτσι σε καρκινικό.<sup>3</sup>

Ως μηχανισμός αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού σε κύτταρα που φέρουν βλάβες, η κυτταρική γήρανση φαίνεται ότι ασκεί ογκοκατασταλτική δράση. Επιπλέον, νεότερα δεδομένα παρουσιάζουν την ευεργετική δράση της κυτταρικής γήρανσης στην επούλωση τραυμάτων και την εμβρυϊκή ανάπτυξη.<sup>4</sup> Αξίζει να σημειωθεί στο σημείο αυτό, ότι με τα πειράματα του Hayflick και των συνεργατών του, η κυτταρική γήρανση είχε ταυτισθεί αρχικά με το πεπερασμένο της κυτταρικής διαίρεσης και, κατ' επέκταση, με το γήρας. Όπως αποδείχθηκε, όμως, στην πορεία ασκεί πληθώρα δράσεων.<sup>4 5</sup>

Μία άλλη διάσταση στο χαρακτήρα της κυτταρικής γήρανσης έχει προσδώσει το γεγονός ότι τα γηρασμένα κύτταρα παραμένουν μεταβολικά ενεργά. Πιο συγκεκριμένα, τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν ένα πλήθος ουσιών που επιτρέπουν την επικοινωνία μεταξύ των κυττάρων. Οι ουσίες αυτές μπορούν να ενισχύσουν την κυτταρική γήρανση, δρώντας ογκοκατασταλτικά. Αν συσσωρευθούν, όμως, τα γηρασμένα κύτταρα, φαίνεται ότι οι ουσίες αυτές που εκκρίνουν προάγουν τη φλεγμονή, την αναδιαμόρφωση της θεμέλιας ουσίας και, τελικά, την καρκινογένεση και την ανάπτυξη μεταστάσεων.<sup>6</sup>

Στην παρούσα διπλωματική εργασία, θα αναλυθεί ο μηχανισμός της κυτταρικής γήρανσης, οι κατηγορίες της, τα αίτια που την προκαλούν και ο εκκριτικός φαινότυπος των γηρασμένων κυττάρων. Επίσης, θα περιγραφούν τα μοντέλα καρκινογένεσης. Εκτός των άλλων, θα γίνει αναφορά στα καρκινικά βλαστικά κύτταρα, στα ορόσημα του καρκίνου και στη σημασία του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Στο κυρίως μέρος της εργασίας θα προσπαθήσουμε να ρίξουμε φως στο διττό ρόλο της κυτταρικής γήρανσης

Παράσχου Α., 2018. Σχέση καρκίνου – κυτταρικής γήρανσης: νέα δεδομένα

στον καρκίνο. Τέλος, θα γίνει λόγος για τις νεότερες θεραπευτικές προσεγγίσεις ενάντια στον καρκίνο που έχουν αναπτυχθεί βάσει της κυτταρικής γήρανσης.

## Κεφάλαιο 1. Κυτταρική γήρανση

Η κυτταρική γήρανση πρωτοχρησιμοποιήθηκε ως όρος αρκετές δεκαετίες πριν για να περιγράψει τη διαδικασία διατήρησης της ομοιόστασης των κυττάρων κατά την ηλικιακή γήρανση και αναδείχθηκε ως ορόσημο του γήρατος. Με τα νεότερα δεδομένα και τη μελέτη που έχει εκπονηθεί στο συγκεκριμένο πεδίο, φαίνεται ότι πρόκειται για μια πολυδιάστατη κατάσταση με “διαφορετικά πρόσωπα”, η οποία επηρεάζει ένα πλήθος φυσιολογικών και παθολογικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης και της καρκινογένεσης.<sup>4 5 7</sup>

Γηρασμένα ονομάζουμε τα κύτταρα τα οποία παραμένουν βιώσιμα και μεταβολικά ενεργά, αλλά έχουν χάσει την ικανότητα πολλαπλασιασμού ακόμα και κάτω από την επίδραση μιτογόνων ερεθισμάτων.<sup>4</sup> Τα κύτταρα αυτά, εμφανίζουν αντίσταση στην απόπτωση και συχνά παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα πρωτεϊνοσύνθεσης, γλυκόλυσης και οξειδωτικού stress. Τέλος, εκκρίνουν διάφορα μόρια, γεγονός που τους προσδίδει χαρακτηριστικό φαινότυπο.<sup>8</sup> Η συχνότητα τους είναι χαμηλή, ακόμα και σε πολύ ηλικιωμένα πρωτεύοντα και δεν ξεπερνούν σε ποσοστό το 15% των εμπύρηνων κυττάρων.<sup>9</sup>

Λειτουργικά τα γηρασμένα κύτταρα διακρίνονται σε 3 διακριτές ομάδες:

1. αυτά που εμπλέκονται στη φυσιολογική εμβρυϊκή ανάπτυξη και στην αναγέννηση των ιστών στους ενήλικες (επωφελής προγραμματισμένη κυτταρική γήρανση)
2. τα σχετιζόμενα με ηλικιακή γήρανση και χρόνιες παθήσεις γήρατος (επιβλαβής χρόνια κυτταρική γήρανση)
3. τα κύτταρα που προκύπτουν από θεραπευτικές παρεμβάσεις επιταχυνόμενης πρόωμης γήρανσης TIS (Therapy Induced Senescence), τα οποία μπορεί να έχουν επιβλαβή ή επωφελή δράση.<sup>7</sup>

Λόγω του διττού ρόλου της, έχοντας δηλαδή τόσο θετική όσο και αρνητική επίδραση, η κυτταρική γήρανση χαρακτηρίζεται από τους επιστήμονες ως δίκοπο μαχαίρι και σημειώνεται η ανάγκη της περαιτέρω διερεύνησης της δράσης της.<sup>4</sup>

Αν και η γήρανση ταυτίσθηκε αρχικά, αποκλειστικά και μόνο με τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα, αποδείχθηκε ότι και διαφοροποιημένα (μετά-μιτωτικά) κύτταρα γηράσκουν.<sup>6 9</sup>

Επιπλέον, προέκυψε ότι δεν απαντούν όλοι οι τύποι κυττάρων με τον ίδιο τρόπο. Πιο

συγκεκριμένα, τα στρωματικά κύτταρα εμφανίζουν υψηλά ποσοστά γήρανσης, σε αντίθεση με τα επιθηλιακά που εμφανίζουν υψηλά ποσοστά ανανέωσης και επιλέγουν την απόπτωση αντί την γήρανση για να διατηρήσουν την ομοιόστασή τους. Στα εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα δεν απαντάται γήρανση. Αντίθετα συναντάται στα ενήλικα βλαστοκύτταρα και διαμορφώνει καθοριστικά τα αποθεματικά αυτών και την αναγεννητική ικανότητα των ιστών.<sup>6</sup>

### **1.1 Αίτια**

Η κυτταρική γήρανση επάγεται από ένα πλήθος ενδογενών και εξωγενών ερεθισμάτων και απαντάται τόσο σε φυσιολογικά όσο και σε καρκινικά και προκαρκινικά κύτταρα. Η βλάβη του DNA (κυρίως οι δίκλωνες θραύσεις του), το οξειδωτικό stress, η μείωση του μήκους των τελομερών, χρόνια μιτογόνα ερεθίσματα, η ενεργοποίηση ογκογονιδίων, η απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και επιγενετικές αλλαγές ενοχοποιούνται για την ενεργοποίηση του μηχανισμού αυτού.<sup>10 11</sup>

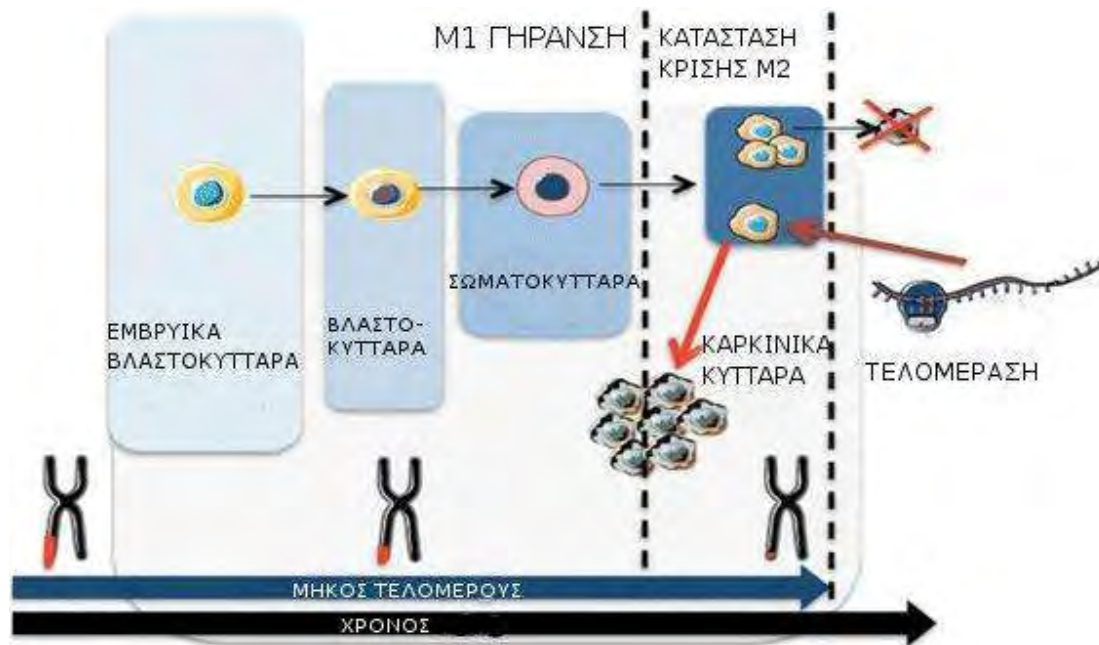
### **1.2 Τελομερή και τελομεράση**

Τα τελομερή απαντώνται στα άκρα των χρωμοσωμάτων και συνιστούν μη κωδικά νουκλεοπρωτεϊνικά σύμπλοκα μήκους 5 με 20 kb. Σύμφωνα με τους Muller και Meier, οι οποίοι περιέγραψαν για πρώτη φορά τη δομή τους το 1938, αποτελούνται από επαναλήψεις της εξανουκλεοτιδικής αλληλουχίας TTAGGG (τελομερικό DNA), μία πλούσια σε γουανίνη θηλιά στο 3' άκρο (T-loop) και το πρωτεϊνικό σύμπλοκο της σελτερίνης (shelterin protein complex). Οι δομές αυτές προστατεύουν τα χρωμοσωμικά άκρα και συμβάλλουν στη διατήρηση της ακεραιότητας των χρωμοσωμάτων, αποτρέποντας την αποδόμηση τους, τον αναίτιο ανασυνδυασμό και τη σύμπτυξη τους.<sup>12</sup>

Σε καλλιέργειες ανθρώπινων ινοβλαστών, αποδείχθηκε το 1961 από τους ερευνητές Hayflick και Moorhead ότι τα κύτταρα δεν δύνανται να πολλαπλασιάζονται απεριόριστα. Το κρίσιμο όριο κυτταρικών διαιρέσεων ονομάστηκε “όριο Hayflick”.<sup>13</sup> Όπως στις κυτταροκαλλιέργειες, έτσι και κατά τη διάρκεια ζωής του κυττάρου in vivo, τα τελομερή μειώνονται σε μήκος μετά από κάθε κύκλο λόγω “προβληματικής” αντιγραφής των άκρων των χρωμοσωμάτων, λόγω οξειδωτικής βλάβης, προχωρημένης ηλικίας και “ανθυγιεινού” τρόπου ζωής (κάπνισμα, επιβαρυντικό επαγγελματικό περιβάλλον, κακή

διατροφή, άγχος).<sup>12</sup> Δικαιολογημένα, λοιπόν, αποκαλούνται από τους επιστήμονες “μοριακό ρολόι” του κυττάρου, αφού από αυτά εξαρτάται ο αριθμός των διαιρέσεων μετά τον οποίο το κύτταρο εισέρχεται σε φάση γήρανσης.<sup>14</sup>

Όπως περιγράφεται στην Εικόνα 1, σε κάθε κυτταρικό κύκλο στην S φάση, χάνεται τελομερικό DNA λόγω της προς μία μόνο κατεύθυνσης δράση της DNA πολυμεράσης και της επακόλουθης αδυναμίας της να συνθέσει νέο κλώνο DNA.<sup>5</sup> Μετά από μία κρίσιμη απώλεια τελομερικού DNA, σταματά η εξέλιξη του κύκλου και το κύτταρο εισέρχεται στην φάση M1, όπου ενεργοποιείται ο μηχανισμός κυτταρικής γήρανσης και το σύστημα σηματοδότησης βλάβης του DNA. Το είδος αυτό της κυτταρικής γήρανσης ονομάζεται αντιγραφική γήρανση και περιγράφεται διεξοδικότερα στην ενότητα 1.4 “Κατηγορίες κυτταρικής γήρανσης”. Με τον τρόπο αυτό, το κύτταρο διαφεύγει τον κίνδυνο εκτροπής του σε μία καρκινική κατάσταση. Στην περίπτωση που το κύτταρο αποφύγει σημαντικά σημεία ελέγχου εισέρχεται στην κρίσιμη φάση M2, όπου τα τελομερικά άκρα είναι ιδιαίτερα κοντά με αποτέλεσμα να ενώνονται μεταξύ τους και να επέρχεται γενετική αστάθεια και τελικά απόπτωση. Σε σπάνιες περιπτώσεις, το κύτταρο διατηρεί την ικανότητα πολλαπλασιασμού και μετατρέπεται σε καρκινικό.<sup>12</sup> Την απεριόριστη αυτή δυνατότητα πολλαπλασιασμού φαίνεται να προσδίδει στο κύτταρο το ένζυμο τελομεράση, που συμβάλλει στη διατήρηση ή επιμήκυνση των τελομερών, επάγοντας την αθανατοποίηση των κυττάρων.<sup>11</sup>



Εικόνα 1: Με την πάροδο του χρόνου το μήκος των τελομερών ελαττώνεται. Το κύτταρο εισέρχεται στην φάση γήρανσης M1. Στο κρίσιμο στάδιο M2 τα κύτταρα εμφανίζουν αστάθεια και τελικά αποπίπτουν.<sup>12</sup>

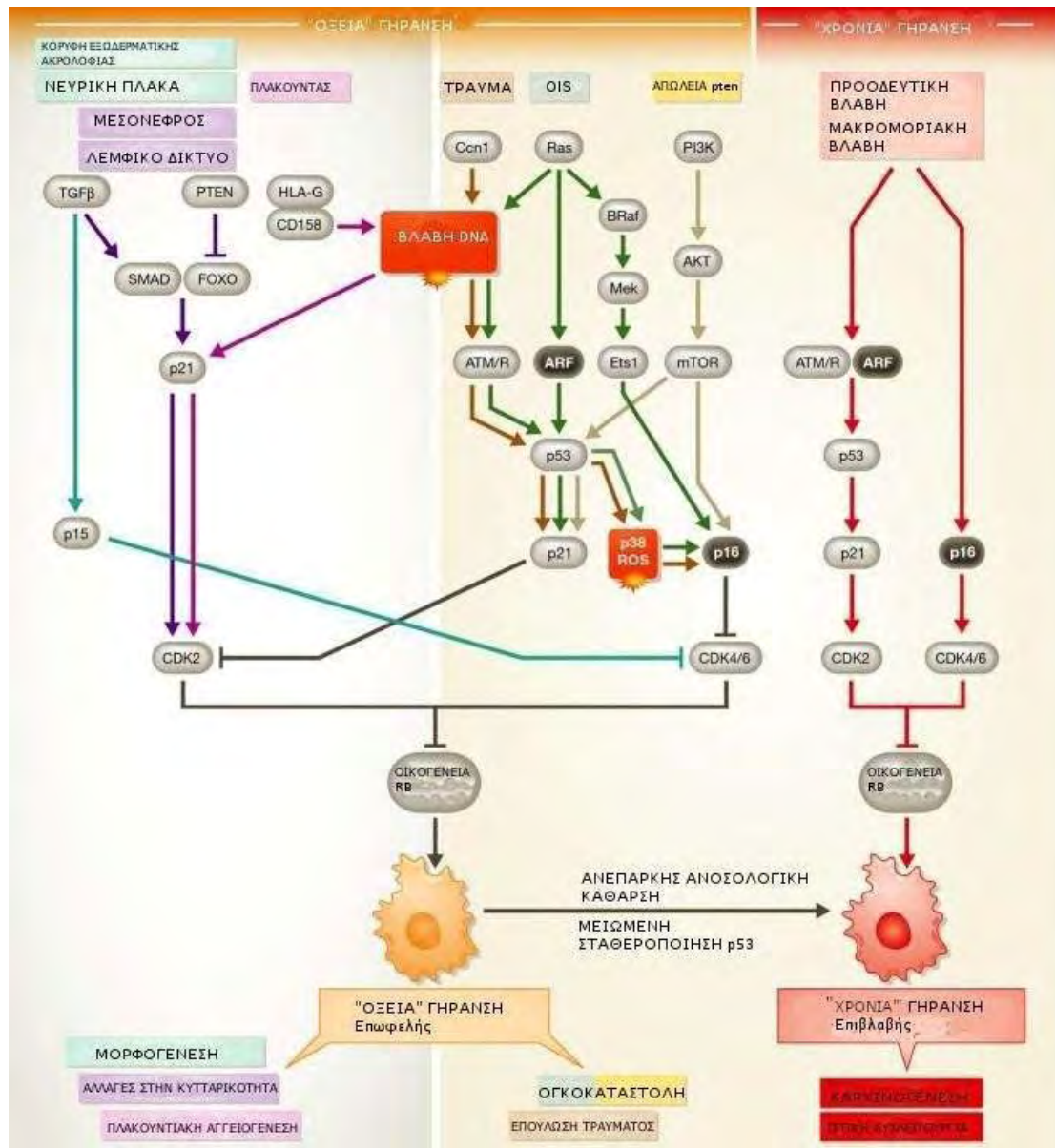
Αν και η ύπαρξη της τελομεράσης ανακαλύφθηκε το 1985, η ικανότητα της να επιμηκύνει τα τελομερή αποδείχθηκε το 1989. Πρόκειται για μία DNA πολυμεράση, η οποία αποτελείται από 2 υπομονάδες: την hTERT (human Telomerase Reverse Transcriptase) μια λειτουργική καταλυτική πρωτεΐνη και τον παράγοντα RNA hTERC (human Telomerase RNA Component) που δρα ως εκμαγείο για τη σύνθεση του τελομερικού DNA. Επιπλέον, ένα πλήθος πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένης της Pontin, Reptin, Gar1, Nhp2, Dyskerin συμμετέχουν στη συγκέντρωση και τη συναρμολόγηση της τελομεράσης πάνω στα χρωμοσώματα.<sup>12</sup> Η τελομεράση εκφράζεται σε καρκινικά κύτταρα, σε εμβρυϊκά βλαστοκύτταρα και βλαστοκύτταρα ενηλίκων αλλά και σε ορισμένα σωματικά κύτταρα (κυρίως στα ενεργοποιημένα T λεμφοκύτταρα).<sup>11</sup>

### 1.3 Κατηγορίες κυτταρικής γήρανσης

Σε γενικές γραμμές, η κυτταρική γήρανση θα μπορούσε να κατηγοριοποιηθεί σε οξεία και χρόνια. Στον πρώτο τύπο, η κυτταρική γήρανση σχετίζεται με την

επούλωση τραυμάτων, την εμβρυϊκή ανάπτυξη και τον περιορισμό των κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη. Η δράση της φαίνεται να είναι ευεργετική για τον οργανισμό. Αντίθετα, η χρόνια κυτταρική γήρανση, η οποία προκύπτει από τη συσσώρευση των γηρασμένων κυττάρων, προκαλεί βλαβερές συνέπειες στον οργανισμό και σχετίζεται με τον καρκίνο και άλλα εκφυλιστικά νοσήματα που συνοδεύουν τη γήρανση. Στην Εικόνα 2, που ακολουθεί, παρουσιάζονται συνοπτικά οι κατηγορίες της κυτταρικής γήρανσης, τα αίτια που τις προκαλούν και οι μηχανισμοί με τους οποίους εκτελούνται.<sup>14</sup>

Αναλυτικότερα, όμως, η κυτταρική γήρανση διακρίνεται σε πέντε κατηγορίες με βάση τα αίτια που την προκαλούν. Η αντιγραφική γήρανση, η κυτταρική γήρανση προκαλούμενη από ογκογονίδια, η κυτταρική γήρανση που επάγεται από stress και από θεραπευτικές παρεμβάσεις καθώς και η κυτταρική γήρανση κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης αποτελούν τις πέντε κατηγορίες της κυτταρικής γήρανσης<sup>14</sup> που θα περιγραφούν διεξοδικά στην ενότητα αυτή.



Εικόνα 2: Η οξεία γήρανση στο έμβρυο και στο φυσιολογικό ενήλικα διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην αναστολή της καρκινογένεσης, στην επούλωση τραυμάτων, στην ανάπτυξη και στη μορφογένεση μέσα από διαφορετικούς μηχανισμούς. Αντίθετα, στη χρόνια γήρανση προάγεται η καρκινογένεση και η δυσλειτουργία των ιστών.<sup>14</sup>

### 1.3.1 Αντιγραφική γήρανση

Όπως περιγράφηκε στην προηγούμενη ενότητα 1.2, η προοδευτική μείωση του μήκους των τελομερών προκαλεί την αντιγραφική γήρανση. Η βλάβη ανιχνεύεται μέσω της ATM, ειδικής πρωτεΐνης αισθητήρα. Έτσι προκαλείται απόκριση στη βλάβη του DNA,



το κύτταρο εκφράζει σε υψηλά ποσοστά τα ογκοκατασταλτικά γονίδια p16<sup>Ink4a</sup>, p21<sup>Cip1</sup>, p53 ή/και το Rb, χάνει την ικανότητα να συνθέτει και να επιδιορθώνει το DNA και σταματά ο κυτταρικός κύκλος. Το κύτταρο καθιλώνεται στην φάση G1 του κυτταρικού κύκλου και δεν μεταβαίνει στη φάση S. Επιπλέον, μέσω του p21<sup>Cip1</sup> το κύτταρο δύναται να καθιλωθεί στην φάση G2, έχοντας ως αποτέλεσμα τη δημιουργία τετραπλοειδικών γηρασμένων κυττάρων.<sup>7 13</sup>

Να σημειωθεί, ότι η διακοπή του κύκλου μεσολαβούμενη από τον αναστολέα p21 είναι παροδική και αφορά συνήθως βλάβες μικρού ή μέτριου βαθμού. Αντίθετα, σε αποτυχία διόρθωσης μεγάλων βλαβών, το κύτταρο καθιλώνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα, επάγεται η έκφραση του αναστολέα p16<sup>Ink4a</sup>, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα Rb.<sup>14</sup>

Ωστόσο, φαίνεται ότι υπάρχουν και άλλοι μηχανισμοί πρόκλησης αντιγραφικής γήρανσης σχετιζόμενοι με βλάβες που εντοπίζονται σε περιοχές διαφορετικές από τα τελομερή, οι οποίες εμποδίζουν την αντιγραφή του DNA.<sup>7 13</sup>

### **1.3.2 Κυτταρική γήρανση προκαλούμενη από ογκογονίδια**

Στην κατηγορία αυτή προκαλείται γήρανση από την ενεργοποίηση ογκογονιδίων ή/και την απώλεια ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Σε πειραματικά μοντέλα καρκινικών κυτταρικών σειρών, ενεργοποιητικές μεταλλάξεις στο ογκογονίδιο Ras οδήγησαν σε κυτταρική γήρανση, λόγω βλαβών του DNA στη φάση του υπέρμετρου πολλαπλασιασμού. Έτσι, αποδείχθηκε ότι η προκαλούμενη από ογκογονίδια κυτταρική γήρανση λειτουργεί ως μηχανισμός εμπόδιο στην καρκινογένεση.<sup>7 14</sup> Με διαφορετικό μηχανισμό, ανεξάρτητο του πολλαπλασιασμού, προκαλούν κυτταρική γήρανση, η απώλεια του ογκοκατασταλτικού γονιδίου PTEN και οι μεταλλάξεις στο γονίδιο BRAF. Στην πρώτη περίπτωση ενέχεται η πρωτεΐνη mTORC1, ενώ στη δεύτερη, καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν η καταστολή του μεταβολικού ενζύμου πυρουβική δευδρογονάση, η ενεργοποίηση του p16<sup>Ink4a</sup> και η έκκριση των ιντερλευκινών IL-6 και IL-8. Σε όλες τις περιπτώσεις, πάντως, κυτταρικής γήρανσης προκαλούμενης από ογκογονίδια παρατηρείται διαμεσολάβηση των p19<sup>Arf</sup> και p16<sup>Ink4a</sup>, ενώ η έλλειψη τους σε ποντίκια τα κατέστησε επιρρεπή σε καρκινογένεση.<sup>14</sup>

Ωστόσο, τα γηρασμένα αυτά κύτταρα δύνανται να διαφύγουν της αναστολής της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου και να μετατραπούν σε καρκινικά μέσω των ακόλουθων 3 μηχανισμών:

1. μετάλλαξη στα γονίδια p53 ή p16<sup>Ink4a</sup>
2. απενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου PTEN και ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K
3. αναδιαμόρφωση της χρωματίνης έτσι ώστε να εκφραστεί η ανθρώπινη τελομεράση hTERT μέσα από την ενεργοποίηση του ογκογονιδίου c-Myc.<sup>7</sup>

### 1.3.3 Κυτταρική γήρανση επαγόμενη από stress

Πρόκειται για κατηγορία κυτταρικής γήρανσης που προκαλείται από οξειδωτικό stress ή φαρμακευτική, μετακτινική ή υποξαιμική βλάβη του DNA. Κυρίαρχος μηχανισμός είναι η ενεργοποίηση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p53, με αποτέλεσμα είτε την απόπτωση του κυττάρου είτε τη διακοπή της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου μέσω του p21. Αυτή χαρακτηρίζεται οξεία ή παροδική κυτταρική γήρανση. Αν δεν επιδιορθωθεί το stress αυτό, τότε, όπως αναφέραμε και προηγουμένως, ενεργοποιείται το p16<sup>Ink4a</sup> με αποτέλεσμα τη μη φωσφορυλίωση της Rb, αναστέλλοντας τη δράση των κινασών CDK4 και CDK6. Οι πρωτεΐνες Rb στη μη φωσφορυλιωμένη τους μορφή συνδέονται με τους E2F μεταγραφικούς παράγοντες και το κύτταρο καθλώνεται στην φάση G1.<sup>7 15</sup>

Στην κατηγορία αυτή εντάχθηκε πρόσφατα άλλη μια μορφή κυτταρικής γήρανσης, η οποία προκύπτει με την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων OCT4, SOX2, KLF4 και cMYC σε διαφοροποιημένα κύτταρα. Είναι γνωστό, ότι η έκτοπη έκφραση των μεταγραφικών αυτών παραγόντων επαναπρογραμματίζει τα διαφοροποιημένα κύτταρα σε (επαγόμενα) πολυδύναμα βλαστικά. Η έκφραση των παραγόντων αυτών είναι επιτυχής σε ένα μικρό αριθμό κυττάρων, ενώ τα περισσότερα κύτταρα υφίστανται κυτταρική γήρανση μέσω της βλάβης που προκαλούν οι μεταγραφικοί αυτοί παράγοντες. Όπως αποδείχθηκε, όμως και τα γηρασμένα αυτά κύτταρα προάγουν τον επαναπρογραμματισμό. Απαραίτητη κρίνεται η συμβολή της ιντερλευκίνης IL-6 και του γενετικού τύπου INK4a/ARF για τη δράση αυτή.<sup>16</sup> Ανάλογα αποτελέσματα που επιβεβαιώνουν την ικανότητα επαναπρογραμματισμού των γηρασμένων κυττάρων

προέκυψαν μετά από μελέτες σε κύτταρα ιστικού τραύματος που έχουν υποστεί κυτταρική γήρανση.<sup>15</sup>

#### **1.3.4 Κυτταρική γήρανση κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης**

Πρόκειται για μια διαδικασία απόλυτα φυσιολογική, παρόμοια με την απόπτωση, η οποία λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια ανάπτυξης του εμβρύου. Είναι ένα φαινόμενο προγραμματισμένο, με παροδική δράση που συμβάλλει στην αναδιαμόρφωση των ιστών μέσω του εκκριτικού φαινοτύπου των γηρασμένων κυττάρων (SASP) και στην διαφοροποιημένη κυτταρική δραστηριότητα μέσω κάθαρσης από τα μακροφάγα. Η συμβολή του μηχανισμού αυτού στην εμβρυϊκή ανάπτυξη αποδείχθηκε πρόσφατα ότι είναι καθοριστικής σημασίας.<sup>7</sup>

Οι Rajagopalan και Long έδειξαν ότι τροφοβλαστικά κύτταρα του πλακούντα εκφράζουν HLA-G, με αποτέλεσμα τη γήρανση NK κυττάρων. Ο SASP των κυττάρων αυτών καθορίζει την αγγείωση του πλακούντα. Άλλοι ερευνητές εντόπισαν γηρασμένα κύτταρα στο λεμφικό δίκτυο, στο μεσόνεφρο, στην κορυφαία εξωδερματική ακρολοφία και στη νευρική πλάκα εμβρύων.<sup>7 17</sup>

Μεγάλη ομοιότητα παρατηρήθηκε στην έκφραση των γονιδίων στα εμβρυϊκά αναπτυσσόμενα κύτταρα με τα γηρασμένα κύτταρα λόγω ενεργοποίησης ογκογονιδίων ή απενεργοποίησης ογκοκατασταλτικών. Η γήρανση στα εμβρυϊκά κύτταρα είναι p21<sup>Cip1</sup> εξαρτώμενη και ανεξάρτητη από την p16<sup>Ink4a</sup>. Καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν οι παράγοντες TGF-β/SMAD και ο άξονας PI3K/Forkhead box-O. Ο παράγοντας TGF-β συμβάλλει στην κάθαρση των γηρασμένων κυττάρων από τα μακροφάγα. Μελέτες σε μοντέλα ζώων με έλλειψη του p21<sup>Cip1</sup> έδειξαν ότι άλλοι μηχανισμοί, όπως πιθανότατα η νέκρωση και η απόπτωση, υποκαθιστούν μόνο σε ένα βαθμό τη γήρανση στις διάφορες διεργασίες εμβρυϊκής ανάπτυξης αλλά δεν την αντικαθιστούν πλήρως. Έτσι, απώλεια του μηχανισμού κυτταρικής γήρανσης κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ανάπτυξης συνεπάγεται διαταραχή στην λειτουργία ιστών και οργάνων που βρίσκεται σε συνάρτηση με το φύλο του εμβρύου.<sup>7 18</sup>

#### **1.3.5 Γήρανση επαγόμενη από θεραπευτικές παρεμβάσεις**

Η επαγόμενη από την χημειοθεραπεία και ακτινοθεραπεία κυτταρική γήρανση έστρεψε τα βλέμματα της επιστημονικής κοινότητας στη δημιουργία θεραπειών που προάγουν τη

γήρανση με σκοπό να αναστείλουν τον κυτταρικό κύκλο και την εξέλιξη του καρκίνου.<sup>19</sup>  
Η προσέγγιση αυτή στρέφεται ως προς τους 3 ακόλουθους άξονες:

1. γήρανση προκαλούμενη από βλάβη στο DNA
2. επανενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων όπως το p53 ή απενεργοποίηση ογκογονιδίων όπως το Myc, το Bcr-Abl και το Pten
3. γήρανση επαγόμενη από κυτταροκίνες.<sup>4</sup>

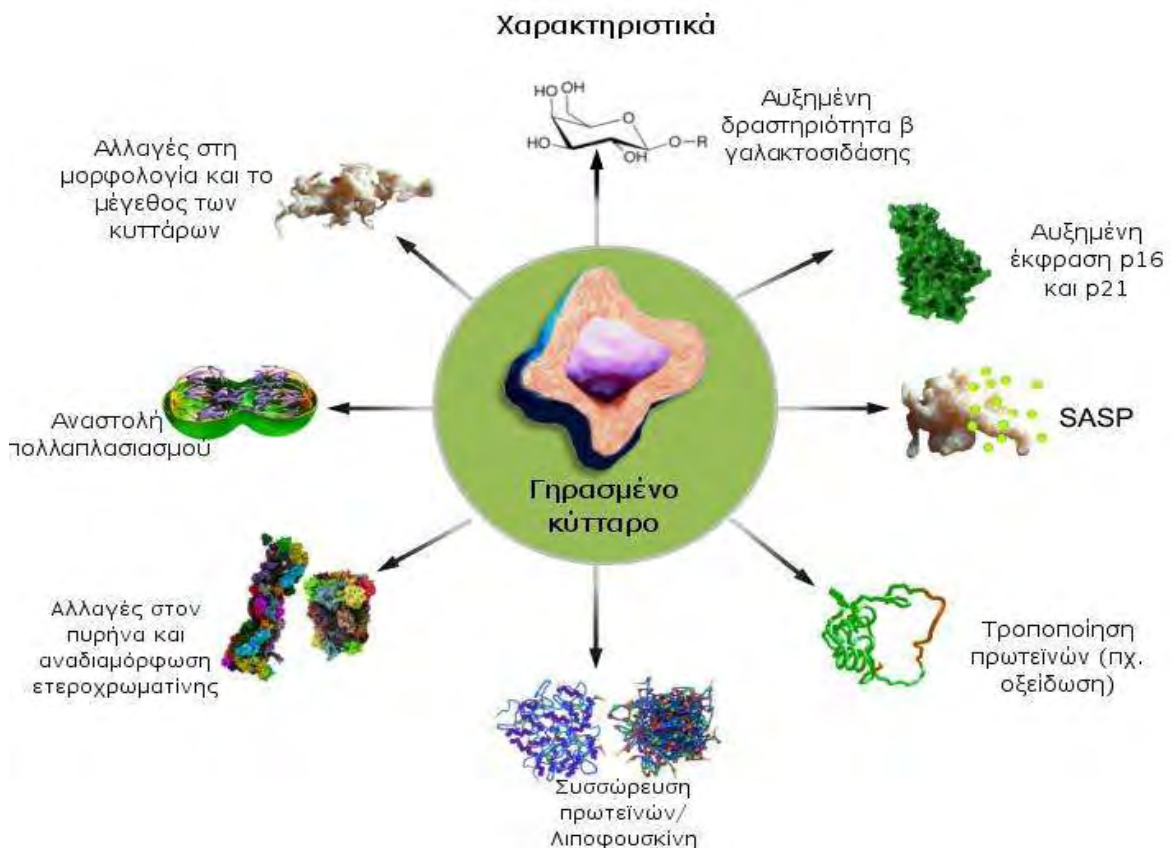
Ωστόσο, τα γηρασμένα αυτά κύτταρα δύνανται να διαφύγουν της κατάστασης αυτής και να επανενταχθούν στον κυτταρικό κύκλο. Επιπλέον, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα κύτταρα αυτά εκκρίνουν ένα σύνολο παραγόντων με αυτοκρινή και παρακρινή δράση με θετική αλλά και αρνητική επίδραση. Μέσω των ουσιών αυτών, το κύτταρο επικοινωνεί με άλλα κύτταρα και με το μικροπεριβάλλον με αποτέλεσμα συχνά να προωθείται η ανάπτυξη και η επέκταση του όγκου, να προάγεται η αγγειογένεση και να αναπτύσσεται αντίσταση στη χημειοθεραπεία.<sup>19</sup> Σε αντίθεση, με τα αποπτωτικά κύτταρα που εκκαθαρίζονται από το ανοσοποιητικό, τα γηρασμένα κύτταρα που δημιουργούνται στο πλαίσιο αντικαρκινικής θεραπείας συσσωρεύονται και συνεχίζουν τη φλεγμονώδη και φιλική προς τον καρκίνο δράση τους. Αξίζει να σημειωθεί ότι με την απομάκρυνση των κυττάρων αυτών, σε ποντίκια ελαττώθηκε δραματικά η αδυναμία και το αίσθημα καταβολής μετά την χημειοθεραπεία αλλά και τα ποσοστά μεταστάσεων και υποτροπών του όγκου.<sup>4</sup> Στο Κεφάλαιο 4, θα δούμε με ποιο τρόπο και αυτή η παρατήρηση έχει αξιοποιηθεί θεραπευτικά.

#### **1.4 Φαινοτυπικά χαρακτηριστικά και βιοδείκτες κυτταρικής γήρανσης**

Στα γηρασμένα κύτταρα παρατηρείται μία πλειάδα αλλαγών στα χαρακτηριστικά και τον φαινότυπο τους με βάση την αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Ωστόσο, δεν έχει βρεθεί μέχρι στιγμής παθολογικός βιοδείκτης για την κατάσταση αυτή.<sup>5 20</sup> Σε κάθε περίπτωση, πάντως απουσιάζουν βιοδείκτες πολλαπλασιασμού.<sup>11</sup> Τα χαρακτηριστικά που θα περιγραφούν παρακάτω δεν παρατηρούνται σε όλα τα γηρασμένα κύτταρα, αλλά ο συνδυασμός τους σε κάθε περίπτωση θέτει τη διάγνωση.<sup>21</sup> Συνοπτικά, στην Εικόνα 3 παρουσιάζονται κάποιες βασικές ιδιότητες των γηρασμένων κυττάρων. Αναλυτικότερα, τα χαρακτηριστικά αυτά περιγράφονται παρακάτω. Προκύπτει λοιπόν ότι

1. Εμφανίζουν αύξηση του μεγέθους, μέχρι και διπλασιασμό αυτού <sup>5</sup> καθώς και αποπλατυσμένη μορφολογία. <sup>11</sup>
2. Εκφράζουν το ένζυμο β γαλακτοσιδάση, γεγονός που υποδηλώνει έμμεσα αυξημένη λυσοσωματική δραστηριότητα. Στην έκφραση αυτή στηρίζεται και μία από τις πλέον χρησιμοποιούμενες μεθόδους ανίχνευσης γηρασμένων κυττάρων. Το ένζυμο αυτό φαίνεται να δίνει θετική χρώση σε pH=6 στα γηρασμένα κύτταρα, σε αντίθεση με την θετικοποίηση στα φυσιολογικά κύτταρα σε pH=4. <sup>11</sup>
3. Οι πιο σημαντικές αλλαγές εμφανίζονται στον πυρήνα, όπου η χρωματίνη υφίσταται σημαντικές αλλαγές λόγω έλλειψης της λαμίνης B1 και η ετεροχρωματίνη αναδιαμορφώνεται, όπως θα δούμε παρακάτω. <sup>22</sup>
4. Παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του ογκοκατασταλτικού γονιδίου p16<sup>Ink4a</sup>, όπως αποδείχτηκε και από το Genotype – Tissue Expression project (GTEx) με αποτέλεσμα αυτό μαζί με το p21<sup>Cip1</sup> να αποτελούν βασικούς μοριακούς βιοδείκτες. <sup>20</sup>
5. Διαθέτουν πυρηνικές δομές που ενισχύουν τη γήρανση και ονομάζονται SCARS (Chromatin Alterations Reinforcing Senescence). Οι δομές αυτές περιλαμβάνουν συνήθως δυσλειτουργικά τελομερή TIFS (Telomere dysfunction Induced Foci) και περιέχουν ενεργοποιημένες πρωτεΐνες που σχετίζονται με βλάβη του DNA, όπως η φωσφορυλιωμένη ATM και ATR. <sup>5</sup> Τα SCARS, συχνά συγχωνεύονται με τα πυρηνικά σωματίδια προμυελοκυτταρικής λευχαιμίας (PML) και εμφανίζονται νωρίτερα από τους άλλους δείκτες. <sup>11</sup>
6. Νεότερα ερευνητικά δεδομένα, αποκάλυψαν την ύπαρξη δομών που σχετίζονται με απώλεια ετεροχρωματίνης. Οι δομές αυτές ονομάζονται SADS (Senescence-Associated Distension of Satellites) και προκύπτουν από την αποσυμπύκνωση της ετεροχρωματίνης σε περικεντρομερικές δορυφορικές περιοχές. <sup>10 23</sup>
7. Όπως περιγράφηκε στην ενότητα 1.3 Κατηγορίες κυτταρικής γήρανσης, τα γηρασμένα κύτταρα παρουσιάζουν πολυπλοειδία και έντονη γενετική αστάθεια. <sup>7</sup>
8. Μία νέα ιδιότητα των γηρασμένων κυττάρων είναι η ικανότητα τους να χρωματίζονται από τη χρωστική sudan black b. Η χρωστική αυτή βάφει τη λιποφουσκίνη, ένα σχηματισμό από οξειδωμένες πρωτεΐνες, λιπίδια και μέταλλα.

- Παρά το γεγονός ότι η λιποφουσκίνη συναντάται και σε άλλους ηλικιακά γηρασμένους ιστούς, η χρώση εμφανίζει ειδικότητα για τα γηρασμένα κύτταρα.<sup>24</sup>
9. Γενικά, η κυτταρική γήρανση χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη τροποποιημένων πρωτεϊνών και από διαταραχή στην ομοιόσταση τους.<sup>21</sup>
10. Εκκρίνουν μία σειρά από μόρια με αυτοκρινή και παρακρινή δράση στο πλαίσιο του εκκριτικού τους φαινοτύπου SASP, όπως αυτός θα περιγραφεί στην επόμενη ενότητα. Να σημειωθεί, εδώ η χρήση της μεταλλοπρωτεϊνάσης MMP12 ως βασικού SASP παράγοντα και βιοδείκτη της κυτταρικής γήρανσης.<sup>20</sup>



Εικόνα 3. Χαρακτηριστικά γνωρίσματα γηρασμένων κυττάρων. (Τροποποιημένη εικόνα)  
21 22

### 1.5 Εκκριτικός φαινότυπος γηρασμένων κυττάρων (SASP)

Ο όρος αποδόθηκε το 2008 σε όλους εκείνους τους παράγοντες, οι οποίοι εκκρίνονται από τα γηρασμένα κύτταρα.<sup>6</sup> Μέσω του SASP τα γηρασμένα κύτταρα επικοινωνούν

μεταξύ τους και με το περιβάλλον τους.<sup>7</sup> Τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του SASP προκαθορίζονται από το είδος των κυττάρων και τον επαγωγή της γήρανσης.<sup>6</sup> Επίσης, το ορμονικό περιβάλλον και διάφορα φάρμακα, όπως τα γλυκοκορτικοειδή, η ραπαμυκίνη, η μεθορμίνη και οι αναστολείς JAK1/2 επηρεάζουν το εκκριτικό προφίλ των κυττάρων. Με άλλα λόγια, το SASP δύναται να τροποποιηθεί. Τα κύτταρα, λοιπόν, πέρα από το να επικοινωνούν, έχουν την ικανότητα να αφογκράζονται τα ερεθίσματα και να τροποποιούν το SASP.<sup>8</sup> Μέσα από το SASP τα κύτταρα επιγενετικά αξιολογούν το συσσωρευτικό stress και αποφασίζουν να προκαλέσουν γήρανση, όταν έχει ξεπεραστεί ένα κρίσιμο όριο.<sup>25 26</sup>

### 1.5.1 Εκκρινόμενες ουσίες

Οι εκκρινόμενες ουσίες δρουν τόσο σε τοπικό επίπεδο όσο και συστηματικά.<sup>7</sup>

Κατηγοριοποιούνται στις 3 ακόλουθες ομάδες:

1. παράγοντες που συνδέονται σε έναν υποδοχέα και πυροδοτούν ενδοκυττάριους σηματοδοτικούς καταρράκτες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν κυτταροκίνες (όπως οι ιντερλευκίνες IL-6, IL-8, IL-1a κ.α.), χημειοκίνες (GRO $\alpha$ , GRO  $\beta$ , CCL-2, CCL-5 κ.α.) και αυξητικοί παράγοντες (όπως ο HGF, FGF, TGF και ο GM-CSF).<sup>6 7</sup> Εάν ο υποδοχέας βρίσκεται στο ίδιο κύτταρο, η δράση καλείται αυτοκρινής, ενώ αν προσδεθεί σε υποδοχέα άλλου κυττάρου, η δράση ονομάζεται παρακρινής.<sup>7</sup>
2. παράγοντες με άμεση δράση, οι οποίοι διασπών πρωτεΐνες συνδεδεμένες στην κυτταρική μεμβράνη, καταστρέφουν σηματοδοτικά μόρια και αναδιαμορφώνουν το μικροπεριβάλλον τους. Την ομάδα αυτή, απαρτίζουν οι μεταλλοπρωτεϊνάσες θεμέλιας ουσίας MMP-1, MMP-10, MMP-3, οι πρωτεϊνάσες σερίνης : ο ενεργοποιητής του ιστικού πλασμινογόνου (tPA) και ο ενεργοποιητής της ουροκινάσης του πλασμινογόνου (uPA).<sup>6</sup>
3. ρυθμιστικοί παράγοντες, οι οποίοι δεν έχουν “δική” τους ενζυμική δράση αλλά με τη σύνδεση τους στους παράγοντες των 2 προηγούμενων ομάδων ρυθμίζουν την δράση τους. Εδώ ανήκουν οι αναστολείς μεταλλοπρωτεϊνάσων, ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και η δεσμευτική πρωτεΐνη του ινσουλινόμορφου παράγοντα (IGFBP).

Ως μέρος του SASP θεωρούνται, επίσης, κυστίδια που σχετίζονται με microRNAs, τα οποία δύνανται να ενεργοποιήσουν ή να καταστείλουν το SASP. <sup>6</sup>

### **1.5.2 Στάδια του SASP**

Ο SASP εμφανίζει τις ακόλουθες φάσεις:

Φάση 1η: Ξεκίνα αμέσως μετά τη βλάβη του DNA και η διάρκεια της υπολογίζεται στις 36 ώρες. Δεν αποδεικνύει την έναρξη της γήρανσης αφού μπορεί να ακολουθήσει απόπτωση ή επιδιόρθωση της βλάβης.

Φάση 2η: Διαρκεί για ημέρες. Κατά την φάση αυτή εκκρίνονται οι σημαντικότεροι παράγοντες όπως η IL-1α. Τις επόμενες ημέρες αυξάνεται η δράση του SASP, λόγω της αυτοκρινούς δράσης των παραγόντων με επίδραση θετικού feedback.

Φάση 3: “Ωριμο” SASP. Εδώ παρατηρείται η κυρίως έκκριση των διαφόρων ουσιών. <sup>6</sup>

### **1.5.3 Σκοπός του SASP**

Τα γηρασμένα κύτταρα εκδηλώνουν το SASP και εκκρίνουν αυτές τις ουσίες για να δηλώσουν την παρουσία τους. Πιο ειδικά, οι χημειοκίνες και κυτταροκίνες προκαλούν φλεγμονή τοπικά και σκοπό έχουν να ενεργοποιήσουν το ανοσοποιητικό προκειμένου να εκκαθαρίσουν γηρασμένα κύτταρα. <sup>6 27</sup> Προσελκύουν δενδριτικά κύτταρα, μακροφάγα, NK κύτταρα, μονοκύτταρα καθώς και B και T λεμφοκύτταρα. <sup>7</sup> Από την άλλη, οι πρωτεΐνες που αναδιαμορφώνουν τη θεμέλια ουσία διευκολύνουν την προσέγγιση των κυττάρων της άμυνας του οργανισμού στην περιοχή αυτή. Οι αυξητικοί παράγοντες, τέλος, αποσκοπούν στην ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό των γειτονικών κυττάρων προκειμένου να αντικαταστήσουν τα κύτταρα που γέρασαν και χάθηκαν. Έτσι, προάγεται η αναγέννηση των ιστών και η διατήρηση της ομοιόστασης τους. <sup>6 27</sup>

### **1.5.4 Δράση του SASP**

Μία λεπτή ισορροπία ανάμεσα στη διάρκεια παραμονής των γηρασμένων κυττάρων και το ρυθμό με τον οποίο αυτά “απομακρύνονται” από το ανοσοποιητικό καθορίζει το αποτέλεσμα που τελικά επιφέρει το SASP. Έτσι, η χρόνια παραμονή γηρασμένων κυττάρων και η φλεγμονή που αυτά επάγουν επιτείνουν την πρόωρη γήρανση στα γειτονικά κύτταρα και διαταράσσουν τη λειτουργία των ιστών προκαλώντας χρόνια



νοσήματα και καρκινογένεση.<sup>6 27</sup> Χρόνια νοσήματα, όπως η αθηροσκληρωτική καρδιοπάθεια, η οστεοπόρωση και οστεοαρθρίτιδα, σχετίζονται με την έκκριση κυρίως μεταλλοπρωτεϊνών από τα γηρασμένα κύτταρα.<sup>6</sup>

Αναφορικά με τη σχέση του SASP με τον καρκίνο, αποδείχθηκε ότι έχει ταυτόχρονα ογκογόνο και ογκοκατασταλτική δράση. Ογκογόνο δράση εκδηλώνει, αφού προάγει τον πολλαπλασιασμό των προ- και καρκινικών κυττάρων, την επιθηλιομεσεγχυματική μετατροπή, τη μετάσταση και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων.<sup>6 28</sup> Στη διαδικασία αυτή καθοριστικός κρίνεται ο ρόλος της ιντερλευκίνης IL-6 και IL-8.<sup>6 26</sup> Αντίθετα, η ογκοκατασταλτική δράση του SASP οφείλεται στην προσέλκυση κυττάρων του ανοσοποιητικού, έτσι ώστε να καταστραφούν τα κύτταρα τα οποία φέρουν βλάβη.<sup>6</sup> Η σχέση του SASP με τον καρκίνο περιγράφεται αναλυτικότερα στο Κεφάλαιο 3.

Ο SASP συμβάλλει στην εμβρυϊκή ανάπτυξη και στην επούλωση τραυμάτων, ειδικά με την δράση αυξητικών παραγόντων. Αν και η παροδική έκθεση στο SASP φαίνεται να προάγει την αναγέννηση των ιστών και προάγει την πλαστικότητα, η παρατεταμένη έκθεση καθηλώνει το κύτταρο και ενισχύει τη γήρανση.<sup>27</sup> Πιο ειδικά, για τα βλαστοκύτταρα, φαίνεται ότι με την επίμονη δράση των ερεθισμάτων αυτών απορρυθμίζονται καθιστώντας το περιβάλλον έτσι επιρρεπές στην καρκινογένεση.<sup>7</sup>

## Κεφάλαιο 2. Καρκίνος

### 2.1 Γενικά

Η ικανότητα του ανθρώπου να αναπτύσσεται, να προσαρμόζεται, να αναρρώνει και τελικά, να ζει, στηρίζεται σε ένα μηχανισμό που ονομάζεται κυτταρική διαίρεση. Τα καρκινικά ωστόσο, κύτταρα έχουν την ικανότητα να προσαρμόζονται ικανοποιητικότερα και να αναπτύσσονται ταχύτατα, συνεπεία μίας διαταραχής του μηχανισμού αυτού. Όπως χαρακτηριστικά αναφέρεται, είναι στην ουσία μία “βελτιωμένη έκδοση κυττάρων” εις βάρος του υπόλοιπου οργανισμού.<sup>2</sup>

Οι επιστήμονες έχουν μελετήσει για πολλά χρόνια το “φαινόμενο” καρκίνος, εστιάζοντας στις γενετικές εκείνες αλλαγές που έχουν ως αποτέλεσμα την ανεξέλεγκτη κυτταρική διαίρεση. Ο Todaro και οι συνεργάτες του απέδειξαν την ογκογόνο δράση του DNA και RNA κάποιων ιών, ανοίγοντας τον δρόμο στην ανακάλυψη των ογκογονιδίων, εκείνων δηλαδή, των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ανάπτυξη και των οποίων οι μεταλλάξεις οδηγούν σε καρκινική εξαλλαγή.<sup>2</sup>

Τα επόμενα χρόνια, ο Knudson ασχολήθηκε διεξοδικά με το ρετινοβλάστωμα και αναγνώρισε την ύπαρξη ογκοκατασταλτικών γονιδίων. Ο ρόλος των γονιδίων αυτών είναι να “μετριάσουν” τη δράση των ογκογονιδίων και στην ουσία να αποτρέψουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό, αν δεν υπάρχουν ανάλογα ερεθίσματα.<sup>2</sup>

Αργότερα, η έρευνα κατά του καρκίνου στράφηκε και προς την επιγενετική. Η πρώτη αναφορά γίνεται το 1939 από τον Waddington, τα επόμενα χρόνια όμως, δίδεται στον όρο η σημασία που έχει σήμερα. Η επιγενετική μελετά όλες εκείνες τις κληρονομήσιμες αλλαγές στη γονιδιακή έκφραση, οι οποίες όμως δεν σχετίζονται με αλλαγές στην αλληλουχία του DNA. Οι τρεις κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί που ρυθμίζουν τη μεταγραφή των γονιδίων είναι η μεθυλίωση του DNA, οι τροποποιήσεις της ιστόνης και η ύπαρξη microRNAs.<sup>2</sup> Η μεθυλίωση αποτελεί τον πλέον μελετημένο επιγενετικό μηχανισμό. Με την προσθήκη μίας μεθυλομάδας στην 5' θέση ενός καταλοΐπου κυτοσίνης αποδείχθηκε, ότι ρυθμίζεται η γονιδιακή έκφραση και η δομή της χρωματίνης. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία μεθυλιωμένης κυτοσίνης στους ενισχυτές των γονιδίων σχετίζεται με μεταγραφική καταστολή, ενώ αντίθετα, η απουσία της σηματοδοτεί μεταγραφική δραστηριότητα.<sup>29</sup> Περίπου το 1980, οι επιστήμονες παρατηρούν ότι στα

περισσότερα καρκινικά κύτταρα παρατηρείται μείωση στα επίπεδα της μεθυλίωσης. Εκείνη την περίοδο καταγράφεται ως φαινόμενο και η ενεργοποίηση ογκογονιδίων μέσω υπομεθυλίωσης. Λίγο αργότερα, περιγράφεται η αποσιώπηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων μέσω υπερμεθυλίωσης. Ένα άλλος μηχανισμός επιγενετικής ρύθμισης, ο οποίος μελετήθηκε μετέπειτα, αφορά τα μη κωδικοποιά γονίδια, όπου με τη δράση των micro RNAs και των ncRNAs ελαττώνεται η έκφραση των mRNAs και των πρωτεϊνών των γονιδίων στόχων.<sup>2</sup>

Αν και η γενετική του καρκίνου έχει μελετηθεί σήμερα περισσότερο από ποτέ, η αντίσταση στη θεραπεία, οι υποτροπές και οι μεταστάσεις μας υπενθυμίζουν την “τέλεια προσαρμοστικότητα” που παρουσιάζει και επιβεβαιώνει τον χαρακτηρισμό του ως “κινούμενο στόχο”. Αν θα μπορούσαμε συνοπτικά να περιγράψουμε την παθοφυσιολογία και τη δυναμική του καρκίνου, θα λέγαμε ότι χαρακτηρίζεται από γενετική τροποποίηση του μεταβολισμού του και των διάφορων σηματοδοτικών μονοπατιών του, με αποτέλεσμα να προκαλείται απορρύθμιση στη ροή της πληροφορίας και αύξηση στην παραγωγή ενέργειας με ικανοποιητικά επίπεδα κυτταρικού ATP και βιοσύνθεση πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεοτιδίων ικανών να καλύψουν τις ανάγκες του όγκου. Τέλος, το μικροπεριβάλλον του όγκου διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην καρκινογένεση και στην εξέλιξη του όγκου, διατηρώντας ως βασικά χαρακτηριστικά τον φλεγμονώδη και ανοσοκατεσταλμένο χαρακτήρα του.<sup>30</sup>

Από την εξελικτική πλευρά, φαίνεται ότι στον καρκίνο, βρίσκει έδαφος η θεωρία του Δαρβίνου. Καθώς λοιπόν, συμβαίνουν γενετικές και επιγενετικές αλλαγές, τα κύτταρα αποκτούν πλεονέκτημα φαινοτύπου. Με αυτό τον τρόπο, προάγεται η κλωνική επέκταση των κυττάρων με το φαινότυπο αυτό.<sup>3</sup> Στην αρχή της εξέλιξης του όγκου, παρατηρείται ότι κάτω από πίεση επιλογής του περιβάλλοντος επέρχεται μετάλλαξη σε ένα φυσιολογικό κύτταρο, δημιουργώντας ένα λειτουργικό μη καρκινικό κύτταρο με αυξημένες δυνατότητες. Στην πορεία της εξέλιξης αυτού του κυττάρου σε ένα περιβάλλον με περιορισμένες δυνατότητες, η επιλογή θα γίνει υπέρ των κυττάρων που έχουν τη δυνατότητα να προσαρμοσθούν καλύτερα σε αυτές τις συνθήκες, να πολλαπλασιαστούν και να μεταναστεύσουν.<sup>31</sup> Κάθε μία από αυτές τις κλωνικές επεκτάσεις δημιουργεί κυτταρικούς πληθυσμούς με αυξημένο “νεοπλασματικό

φαινότυπο”, οδηγώντας έτσι στον τελικό επιθετικό καρκινικό πληθυσμό του πρωτοπαθούς όγκου και των μεταστάσεων.<sup>3</sup>

## **2.2 Ορόσημα του καρκίνου και κυτταρική γήρανση.**

Στα ορόσημα του καρκίνου συγκαταλέγονται 6 βασικές βιολογικές ιδιότητες που τον χαρακτηρίζουν και εξηγούν την πολυπλοκότητα της νόσου<sup>32</sup>, όπως φαίνονται στην Εικόνα 4.

Η διαρκής σηματοδότηση πολλαπλασιασμού αποτελεί, ίσως, το βασικότερο χαρακτηριστικό των καρκινικών κυττάρων. Η σηματοδότηση γίνεται κατά κύριο λόγο μέσω αυξητικών παραγόντων, οι οποίοι συνδέονται με αντίστοιχους υποδοχείς της επιφάνειας των κυττάρων. Οι υποδοχείς αυτοί διαθέτουν ενδοκυττάριας περιοχές κινάσης της τυροσίνης και μεταφέρουν το σήμα για κυτταρικό πολλαπλασιασμό, επιβίωση των κυττάρων και για ρύθμιση του μεταβολισμού τους. Με την παρατεταμένη σηματοδότηση, την έκφραση των ογκογονιδίων και την αύξηση της παραγωγής των πρωτεϊνικών προϊόντων τους αυξάνεται ο πολλαπλασιασμός του κυτταρικού πληθυσμού. Το κύτταρο δύναται να απαντήσει σε αυτό, είτε με απόπτωση, είτε με την πρόκληση της κυτταρικής γήρανσης. Στο Κεφάλαιο 1, περιγράφηκε η κυτταρική γήρανση προκαλούμενη από ογκογονίδια και η ικανότητά της να περιορίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό.<sup>32</sup>

Ένα άλλο γνώρισμα του καρκίνου αποτελεί η αποφυγή ογκοκατασταλτικών μηχανισμών. Στην πράξη, όταν μιλάμε για ογκοκατασταλτικούς μηχανισμούς, αναφερόμαστε κατά κύριο λόγο στα ογκοκατασταλτικά γονίδια και τις πρωτεΐνες τους, με σημαντικότερα τα p53 και Rb. Οι παράγοντες αυτοί, στην ουσία δρουν ελέγχοντας τα διάφορα εξωκυττάρια και ενδοκυττάρια σήματα και αποφασίζουν για το αν το κύτταρο μπορεί να συνεχίσει τον κύκλο ανάπτυξης και διαίρεσης του. Όπως θα δούμε, στο κεφάλαιο 3, το p53 και η πρωτεΐνη Rb ελέγχουν το μηχανισμό της κυτταρικής γήρανσης. Η απώλεια τους αντίθετα, προδιαθέτει σε καρκινογένεση σε προχωρημένη ηλικία.<sup>32</sup>

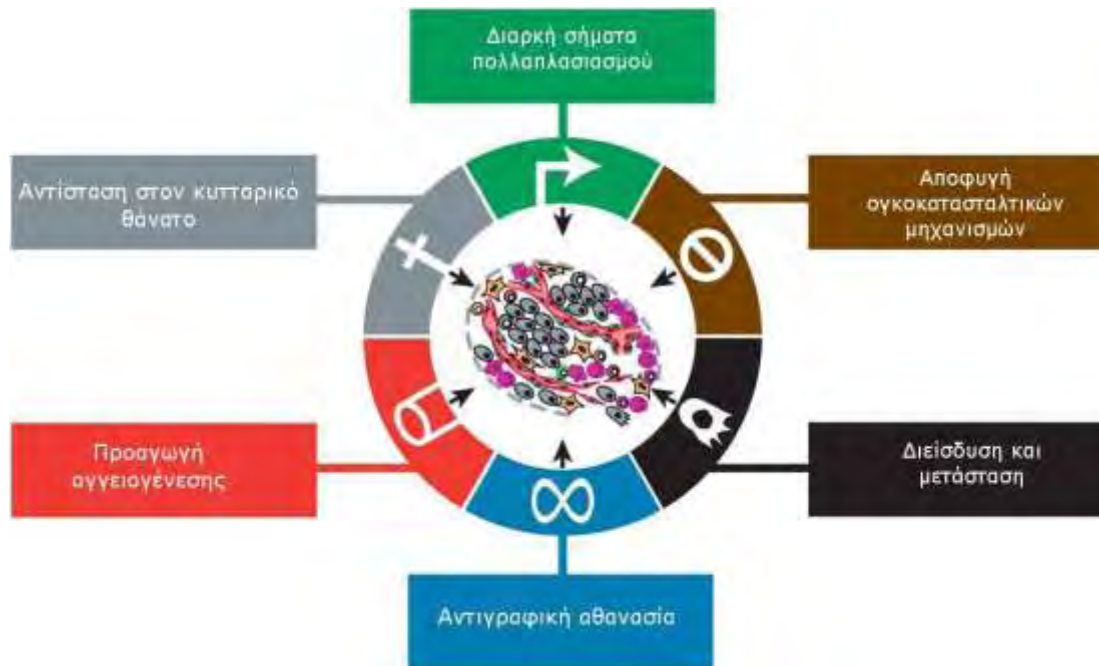
Επίσης, η αντίσταση στον κυτταρικό θάνατο είναι μία ιδιότητα που χαρακτηρίζει τόσο τα καρκινικά όσο και τα γηρασμένα κύτταρα.<sup>8 32</sup> Η απόπτωση, ως γνωστόν, εκτελείται με τη δράση μίας πρωτεάσης (κασπάση 8 ή 9). Αυτή, απαντώντας σε μηνύματα καταστροφής εξωκυττάρια ή ενδοκυττάρια, ενεργοποιεί ένα καταρράκτη πρωτεόλυσης και καταστροφής του κυττάρου. Τα καρκινικά κύτταρα, όμως, έχουν αναπτύξει τρόπους

διαφυγής και αντίστασης στην απόπτωση. Κυρίως, μέσω της απώλειας του p53, αλλά και με την αυξημένη έκφραση σημάτων επιβίωσης (IGF 1/2) και αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών (BCL-2, BCL-XL). Αντίσταση στην απόπτωση επιτυγχάνουν, επίσης, με τη μειωμένη έκφραση των αποπτωτικών παραγόντων. (Bax, Bim, Puma)<sup>32</sup>

Τέταρτο ορόσημο του καρκίνου είναι η αντιγραφική αθανασία. Τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν αθανασία με την έκφραση του ενζύμου τελομεράση ή με την ανάπτυξη ενός άλλου μηχανισμού διατήρησης των τελομερών με ανασυνδυασμό. Αντίθετα, τα φυσιολογικά κύτταρα εμφανίζουν έναν πεπερασμένο αριθμό διαιρέσεων, μετά τον οποίο, εισέρχονται σε κατάσταση αντιγραφικής γήρανσης. Αν το κύτταρο, ξεφύγει της κυτταρικής γήρανσης, οδηγείται σε μία κρίσιμη φάση γενετικής αστάθειας. Τα περισσότερα από αυτά τα κύτταρα αποπίπτουν. Η γήρανση, και στην περίπτωση αυτή (η αντιγραφική γήρανση), παρουσιάζεται ως φραγμός στον ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό.<sup>32</sup>

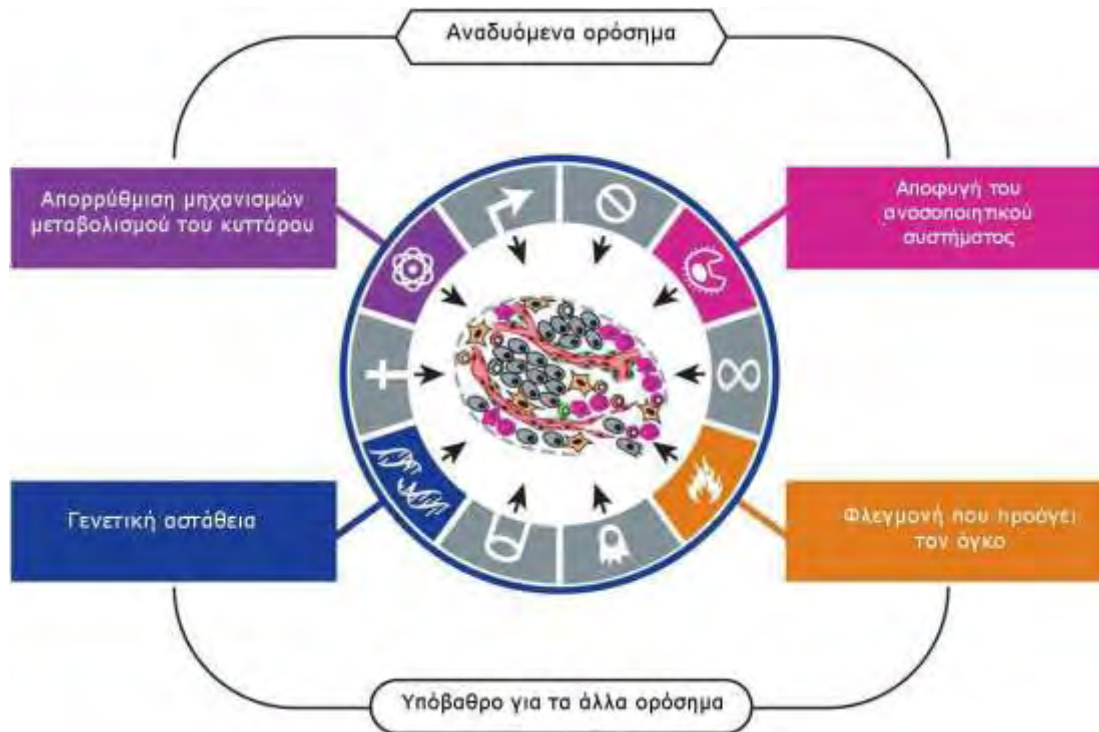
Πέμπτο θεμελιώδες ορόσημο του καρκίνου είναι η προαγωγή της αγγειογένεσης, προκειμένου ο όγκος να καλύψει τις αυξημένες ανάγκες του σε οξυγόνο και θρεπτικά συστατικά. Η αγγειογένεση προωθείται από ένα σύνολο αγγειογενετικών παραγόντων με σημαντικότερο τον VEGF-A.<sup>32</sup> Αγγειογένεση προωθείται, όμως, και με την έκφραση παραγόντων από τα γηρασμένα κύτταρα, στο πλαίσιο του SASP.<sup>33</sup> Το γεγονός αυτό, συμβάλλει στην εξάπλωση του όγκου.<sup>32</sup>

Βασικό γνώρισμα του καρκίνου είναι και η ικανότητα του να διηθεί τους περιβάλλοντες ιστούς και να δίνει μεταστάσεις. Αυτό αποδίδεται σε αλλαγές του σχήματος των καρκινικών κυττάρων και σε διαφοροποιημένη σύνδεση τους με άλλα κύτταρα και με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Στο σημείο, αυτό αξίζει να αναφερθούμε στην επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή. Πρόκειται για το μηχανισμό, με τον οποίο, τα “μεταλλαγμένα” επιθηλιακά κύτταρα αποκτούν “επεκτατικές” ικανότητες και την ιδιότητα να ανθίστανται της απόπτωσης.<sup>32</sup> Η κυτταρική γήρανση, με τη δράση του SASP προάγει τη επιθηλιομεσεγχυματική μετατροπή, τον επεκτατικό χαρακτήρα του όγκου και την ανάπτυξη μεταστάσεων.<sup>6 26</sup>



Εικόνα 4. Τα ορόσημα του καρκίνου όπως αυτά περιγράφησαν το 2000 <sup>32</sup>

Στα ήδη υπάρχοντα ορόσημα έρχονται να προστεθούν 4 επιπλέον, όπως απεικονίζονται στην Εικόνα 5. Το πρώτο αφορά στην ικανότητα προσαρμογής του μεταβολισμού στις αυξημένες ανάγκες των καρκινικών κυττάρων. Το δεύτερο αφορά στην ικανότητα διαφυγής των καρκινικών κυττάρων από το ανοσοποιητικό σύστημα. Στα χαρακτηριστικά αυτά αποδόθηκε ο χαρακτηρισμός «αναδυόμενα» καθώς δεν έχουν εξακριβωθεί πλήρως. Τα άλλα δυο αποτελούν υπόβαθρο για όλα τα προηγούμενα. Αυτά δεν είναι άλλα από την γενετική αστάθεια και την φλεγμονή. Τέλος, πλαίσιο που συμβάλλει στη διατήρηση των χαρακτηριστικών του καρκίνου αποτελεί το μικροπεριβάλλον του όγκου. <sup>32</sup>



Εικόνα 5. Τέσσερα νέα ορόσημα του καρκίνου <sup>32</sup>

Πώς σχετίζεται, όμως η κυτταρική γήρανση με τα νέα αυτά ορόσημα του καρκίνου; Πρώτον, η κυτταρική γήρανση αποτρέπει τη γενετική αστάθεια αναστέλλοντας τον πολλαπλασιασμό κυττάρων με βλάβη. <sup>13</sup> Δεύτερον, μέσω της έκκρισης του SASP προάγει τη φλεγμονή. <sup>6</sup> Τρίτον, βασικός ρόλος του SASP είναι να προσελκύσει κύτταρα του ανοσιακού συστήματος προκειμένου να καθαρίσουν τα γηρασμένα κύτταρα. Με αυτόν τον τρόπο, συμβάλλει στην καταστολή του όγκου και την εξουδετέρωση γηρασμένων καρκινικών κυττάρων. <sup>6</sup> Τέταρτον, τα γηρασμένα κύτταρα εμφανίζουν διαφορετικό μεταβολικό προφίλ ανάλογα με τις ανάγκες τους, όπως και τα καρκινικά κύτταρα. <sup>32 7</sup> Τέλος, η κυτταρική γήρανση, πάλι, μέσω της δράσης του SASP, έχει την ικανότητα να αναδιαμορφώνει το μικροπεριβάλλον του όγκου. <sup>34</sup>

### 2.3 Επιδημιολογικά στοιχεία

Αποτελεί ένα από τα βασικότερα προβλήματα υγείας σε όλο τον κόσμο και την 2η σε συχνότητα αιτία θανάτου στην Ευρώπη και την Αμερική. Μόνο για την Αμερική το

2017, οι καρκινοπαθείς που διαγιγνώσκονται για πρώτη φορά με καρκίνο υπολογίζονται σε περίπου 1.688.780, ενώ οι θάνατοι από καρκίνο ανέρχονται σε 600,920. Σύμφωνα με την Αμερικάνικη Εταιρεία Καρκίνου, η επίπτωση στους άνδρες είναι 20% υψηλότερη συγκριτικά με τις γυναίκες, ενώ τα ποσοστά θνησιμότητας στους άνδρες είναι υψηλότερα κατά 40%. Εντυπωσιακή είναι η μείωση, κατά 25%, στη θνητότητα συγκριτικά με το χρονικό διάστημα 1991-2014. Πτώση κατά 1,5% το χρόνο καταγράφεται στα ποσοστά θνησιμότητας και στα δύο φύλα. Τέλος, σημειώνεται μείωση και στην επίπτωση του καρκίνου στους άνδρες κατά 2%, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τις γυναίκες παραμένει αμετάβλητο συγκριτικά με τη δεκαετία 2004-2013.<sup>35</sup>

## 2.4 Μοντέλα καρκινογένεσης

### 2.4.1 Στοχαστικό μοντέλο

Το μοντέλο αυτό υποστηρίζει ότι υπάρχει ομοιογένεια μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και ότι κάθε κύτταρο έχει τις ίδιες πιθανότητες με τα άλλα να προκαλέσει την καρκινογένεση και να προάγει την εξέλιξη του καρκίνου. Εξωγενείς παράγοντες του περιβάλλοντος του όγκου και ενδογενείς, οι οποίοι αφορούν σηματοδοτικά μονοπάτια και μεταγραφικούς παράγοντες, θα καθορίσουν τη λειτουργικότητα και το ρόλο των καρκινικών κυττάρων. Η αρχή της καρκινογένεσης στο μοντέλο αυτό στηρίζεται σε ογκογόνες μεταλλάξεις που συμβαίνουν τυχαία σε διαφοροποιημένα σωματικά κύτταρα οι οποίες προκαλούν υπερπλασία, ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό, γενετική αστάθεια και “επεκτατική” διάθεση: τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα, δηλαδή, του καρκίνου.<sup>36</sup> Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, η θεραπευτική προσέγγιση πρέπει να δρα ενάντια σε όλα τα καρκινικά κύτταρα, στοχεύοντας κοινούς παράγοντες.<sup>37</sup>

Το στοχαστικό μοντέλο ερμηνεύει την καρκινογένεση τόσο συμπαγών όσο και μη συμπαγών όγκων. Κυρίως όμως, χρησιμοποιείται για να περιγράψει το μηχανισμό ανάπτυξης του ορθοκολικού καρκίνου, του αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα και της λεμφοβλαστικής λευχαιμίας.<sup>36</sup>



#### 2.4.2 Ιεραρχικό μοντέλο

Σύμφωνα με τη θεωρία του ιεραρχικού μοντέλου, τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα είναι υπεύθυνα για την έναρξη της καρκινογένεσης και διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην εξέλιξη, στη μετάσταση και στην υποτροπή του καρκίνου.<sup>38</sup> Τα κύτταρα αυτά έχουν απομονωθεί τόσο από συμπαγείς όσο και από μη συμπαγείς όγκους.<sup>38 39</sup>

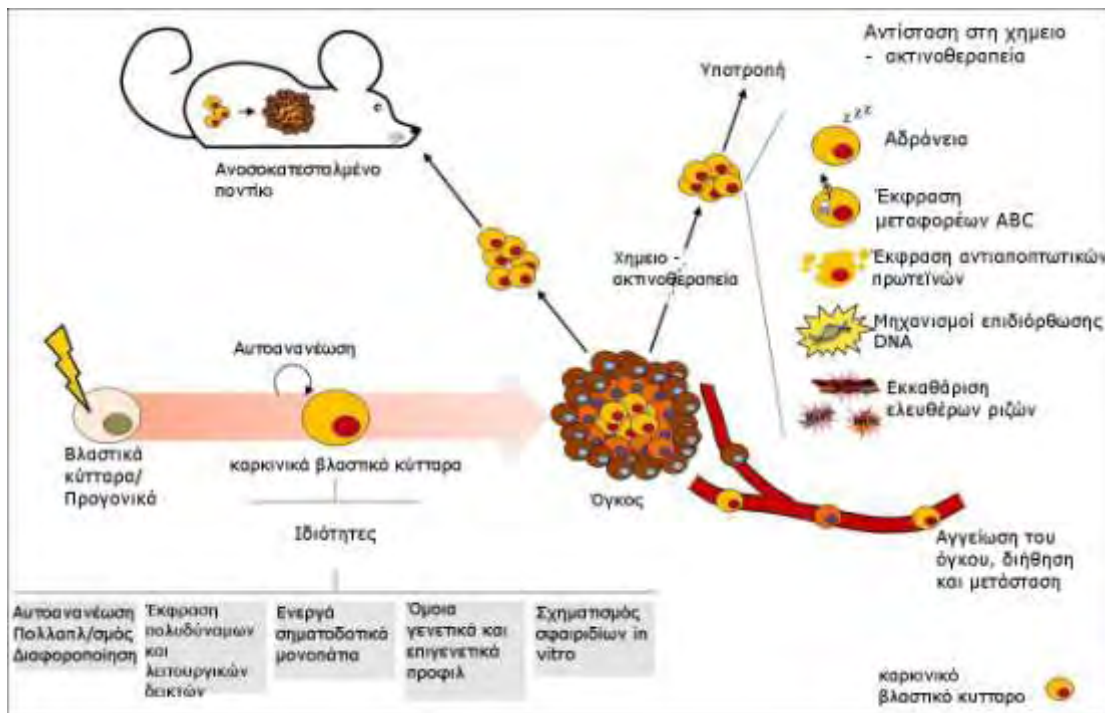
Η πρώτη αναφορά στα κύτταρα αυτά γίνεται από τους Dick και Bonnet μελετώντας την οξεία μυελογενή λευχαιμία.<sup>38 40</sup> Εκεί, αναγνωρίστηκαν λευχαιμικά βλαστοκύτταρα ικανά να προκαλέσουν λευχαιμία σε μη διαβητικά παχύσαρκα ποντικά με σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια.(NOD/SCID). Ανάλογα κύτταρα ταυτοποιήθηκαν και από καλοήθεις όγκους, όπως το αδένωμα της υπόφυσης.<sup>39</sup>

Είναι γνωστό, ότι τα φυσιολογικά βλαστικά κύτταρα βρίσκονται σε συγκεκριμένες θέσεις στα διάφορα όργανα του σώματος και είναι υπεύθυνα για την ομοιόσταση των ιστών και την αναγέννηση των γηρασμένων κυττάρων καθώς και αυτών που έχουν καταστραφεί από τραυματισμό ή άλλη βλάβη.<sup>38 39</sup> Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα παρεκτρέπονται της φυσιολογικής διαδικασίας οργανογένεσης και ομοιόστασης και δημιουργούν φαινοτυπικά ετερογενείς απογόνους.<sup>39</sup> Καθοριστικής σημασίας για τη διατήρηση των ιδιοτήτων των βλαστικών κυττάρων κρίνεται η αλληλεπίδραση με το μικροπεριβάλλον τους, με αποτέλεσμα αυτό να βρίσκεται στο στόχαστρο των ερευνητών για την ανάπτυξη θεραπειών ενάντια στην επιβίωση των καρκινικών βλαστοκυττάρων.<sup>38</sup>

Τόσο τα βλαστοκύτταρα όσο και τα καρκινικά βλαστοκύτταρα εκφράζουν πολυδύναμους δείκτες, όπως το Sox2, το Oct4 και το Nanog, αλλά και λειτουργικούς δείκτες, όπως είναι το ALDH1, το CD133+ (βλαστοκύτταρα στους πνεύμονες) ή CD34+CD38- (βλαστοκύτταρα του αιμοποιητικού συστήματος). Εκτός των άλλων εμφανίζουν κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια, όπως είναι το Notch, το Hedgehog και το Wnt αλλά και κοινά γενετικά και επιγενετικά προφίλ καθώς και την τάση να σχηματίζουν σφαιρίδια in vitro.<sup>39</sup>

Μέσω ασύμμετρης διαίρεσης, διατηρούν την ικανότητα τους να αυτοανανεώνονται και να διαφοροποιούνται, προσδίδοντας στους όγκους ετερογένεια.<sup>38 39</sup> Τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα είναι υπεύθυνα, επίσης, για την ενεργοποίηση μηχανισμών αντίστασης του όγκου στη θεραπεία καθώς αφενός σχετίζονται με μειωμένο δυναμικό

αντιγραφής και πολλαπλασιασμού (G0 φάση) και αφετέρου εκφράζουν συστήματα εξαγωγής φαρμάκων από τα κύτταρα όπως είναι οι μεταφορείς εκροής ABC. Επιπλέον, προκαλούν αντίσταση στην υποξία επάγοντας την αγγειογένεση μέσω της έκφρασης αγγειογενετικών παραγόντων όπως ο VEGF και ο PD-ECGF και ενσωματώνοντας τα επαγόμενα ενδοθηλιακά κύτταρα στα νεοσχηματισμένα τριχοειδή. Εκτός των άλλων, συμβάλλουν στη μετάσταση του όγκου προωθώντας την επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή με την ενεργοποίηση της β κατενίνης και τα χαμηλά επίπεδα E καντχερίνης, αλλά και με την επαγωγή μεσεγχυματικών δεικτών στα καρκινικά βλαστικά κύτταρα, όπως η βιμεντίνη και η N καντχερίνη. Ακόμη, με την δράση των καρκινικών βλαστικών κυττάρων, ελαττώνονται τα ειδικά αντιγόνα του όγκου και αυξάνεται η απελευθέρωση αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων, με αποτέλεσμα ο όγκος να διαφεύγει του ανοσοποιητικού.<sup>38</sup> Τέλος, ενοχοποιούνται για την αυξημένη ικανότητα επιδιόρθωσης του DNA που παρατηρείται και την έκφραση αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών, όπως το Bcl-2.<sup>39</sup> Συνοπτικά, τα χαρακτηριστικά των καρκινικών βλαστικών κυττάρων απεικονίζονται στην Εικόνα 6. Αξίζει να σημειωθεί ότι παρά τον μεγάλο αριθμό των θεραπευτικών μέσων που διαθέτουν οι επιστήμονες στα χέρια τους, καταγράφονται σημαντικά ποσοστά υποτροπής και μεταστάσεων λόγω της ύπαρξης των καρκινικών βλαστικών κυττάρων και των προαναφερθέντων χαρακτηριστικών τους.<sup>41</sup>



Εικόνα 6. Χαρακτηριστικά των καρκινικών βλαστικών κυττάρων.<sup>39</sup>

Για την ανάπτυξη των καρκινικών βλαστικών κυττάρων έχουν διατυπωθεί δύο θεωρίες. Η πρώτη αφορά κυρίως συμπαγείς όγκους και υποστηρίζει τη νεοπλασματική μεταμόρφωση των φυσιολογικών βλαστικών κυττάρων σε υγιείς ιστούς τόσο κατά την διαδικασία ανάπτυξης όσο και αυτοανανέωσης τους.<sup>36</sup> Η θεωρία αυτή αφορά ενήλικα βλαστοκύτταρα αλλά και προγονικά και προδρομικά κύτταρα τα οποία αποκτούν ιδιότητες βλαστικών.<sup>39</sup> Η δεύτερη θεωρία υποστηρίζει την αποδιαφοροποίηση ώριμων διαφοροποιημένων κυττάρων σε καρκινικά βλαστοκύτταρα.<sup>39 40</sup>

Στην πράξη, η ταυτότητα των καρκινικών βλαστικών κυττάρων επιβεβαιώνεται πειραματικά με την πρόκληση καρκινογένεσης. Τα πιθανά καρκινικά βλαστοκύτταρα ταυτοποιούνται με την έκφραση ειδικών δεικτών στην επιφάνεια τους, ανάλογων με αυτών που εκφράζονται στα φυσιολογικά βλαστοκύτταρα και γίνεται διαλογή κυττάρων μέσω φθορισμού.<sup>37</sup>

Καρκινικά βλαστοκύτταρα έχουν ταυτοποιηθεί στην οξεία μυελογενή λευχαιμία, σε καρκίνο μαστού πρωτοπαθή ή μεταστατικό, σε όγκους του εγκεφάλου, σε καρκίνο του παγκρέατος και των ωοθηκών, σε μελανώματα, σε καρκίνο του προστάτη και του πνεύμονα και στο γλοιοβλάστωμα.<sup>36</sup> Η απομόνωση τους από καρκινικές κυτταρικές σειρές ή από πρωτοπαθείς όγκους βασίζεται:

- 1) στην έκφραση ειδικών δεικτών
- 2) στην ανίχνευση τους ως υποπληθυσμό στην κυτταρομετρία ροής διακριτό από τον κύριο πληθυσμό
- 3) στην αντίσταση που παρουσιάζουν στον ανοίκειο θάνατο
- 4) στην αντίσταση στα φάρμακα.<sup>39</sup>

Ωστόσο, παρατηρείται μεγάλη δυσκολία απομόνωσης και μελέτης τους λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης τους στους όγκους και της δυσχερούς σταθεροποίησης και διατήρησης τους.<sup>39</sup>

Συνοπτικά, το ιεραρχικό μοντέλο υποστηρίζει ότι ένας όγκος αποτελείται από ένα πληθυσμό καρκινικών κυττάρων με μη ογκογόνο δράση και μία διακριτή ομάδα καρκινικών βλαστικών κυττάρων με ογκογόνο δυναμικό. Με αυτό τον τρόπο, ο όγκος αποτελεί έναν ετερογενή πληθυσμό με ξεχωριστά υποσύνολα κυττάρων και υπάρχει

ιεραρχική οργάνωση αφού τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα προΐστανται της καρκινογένεσης.<sup>36</sup> Η θεωρία των καρκινικών βλαστικών κυττάρων υποστηρίζει ότι θεραπευτικά, πρωτίστως, πρέπει να στοχευθούν τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα.<sup>37</sup>

Στην πραγματικότητα, τα δύο μοντέλα αλληλοσχετίζονται και δίνουν συμπληρωματικά πληροφορίες για την ανάπτυξη του καρκίνου. Μέσω, δε, της διαδικασίας αποδιαφοροποίησης, όπως αυτή περιγράφεται στην επόμενη ενότητα, προτείνεται ένας μηχανισμός συσχέτισης και αλληλομετατροπής μεταξύ του ιεραρχικού και του στοχαστικού μοντέλου.<sup>36</sup>

### Αποδιαφοροποίηση

Ο όρος αυτός χρησιμοποιείται για να περιγράψει τη διαδικασία αναστροφής όλων εκείνων των χαρακτηριστικών ενός διαφοροποιημένου κυττάρου και ανάκτησης φαινοτύπου βλαστικού κυττάρου. Τα αποδιαφοροποιημένα καρκινικά κύτταρα αποκτούν ιδιότητες βλαστικού κυττάρου, καθώς, επίσης, την ικανότητα αυτοανανέωσης και καρκινογένεσης.<sup>36</sup>

#### 2.4.3 Πλαστικό μοντέλο

Νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα και οι διαφοροποιημένοι απόγονοι τους βρίσκονται σε μία λεπτή ισορροπία. Σε μείωση του πληθυσμού των καρκινικών βλαστικών κυττάρων, σημειώνεται μία εξαλλαγή των καρκινικών κυττάρων σε βλαστικά καρκινικά (πλαστικότητα), προκειμένου να αποκατασταθεί αυτή η ισορροπία. Ενώ φαίνεται ότι μπορεί να συμβεί και το αντίστροφο. Με άλλα λόγια, προκύπτει ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν “αισθητήρες” ανίχνευσης της ύπαρξης ικανής συγκέντρωσης καρκινικών βλαστικών κυττάρων.<sup>37</sup>

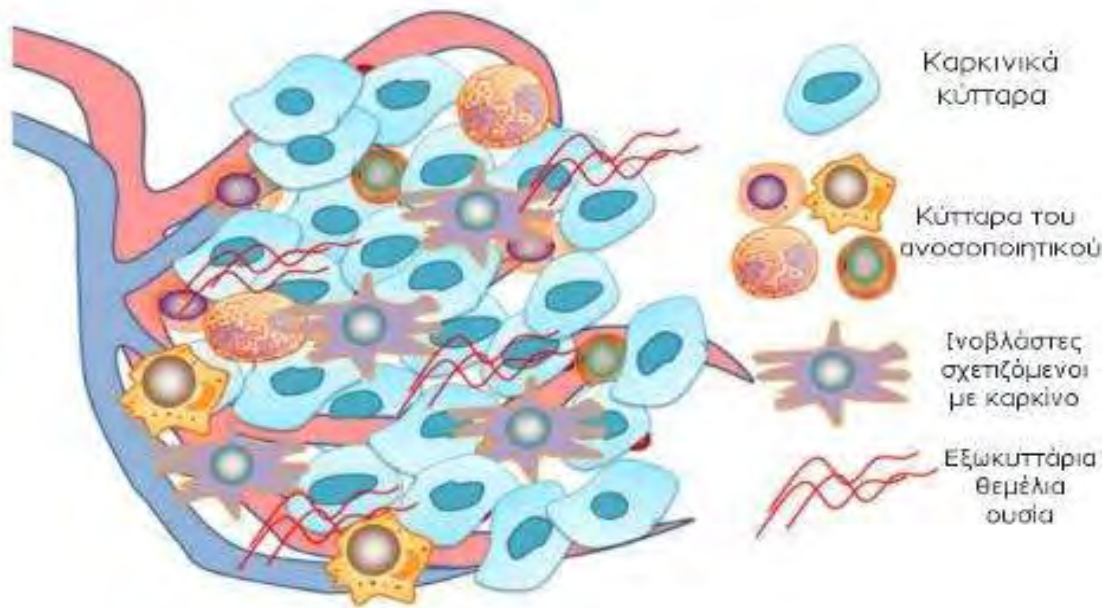
Η πλαστικότητα αυτή ενέχει την ενεργοποίηση ενός σύνθετου δικτύου miRNAs που ρυθμίζει με τη σειρά του κρίσιμα μονοπάτια σηματοδότησης, όπως το Wnt και το PI3K.<sup>37</sup> Ενώ καθοριστικός κρίνεται και ο ρόλος της ακετυλίωσης και της αποακετυλίωσης των ιστονών.<sup>40</sup>

Λόγω λοιπόν, της πλαστικότητας των καρκινικών βλαστικών κυττάρων η θεραπευτική προσέγγιση που υποστηρίζει το ιεραρχικό μοντέλο αμφισβητείται έντονα, αφού στην ουσία επιτίθεται στο πιο “επιθετικό” τμήμα του όγκου.<sup>37</sup> Όπως είδαμε, τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα δύνανται συνεχώς να ανανεώνονται, αφού κύτταρα

αποδιαφοροποιούνται και εισέρχονται σε κατάσταση “καρκινικών βλαστικών κυττάρων”.<sup>3</sup> Το μικροπεριβάλλον της πτυχής όπου “ζουν” τα καρκινικά βλαστικά κύτταρα και η τροποποίηση αυτού με διάφορες μεθόδους έρχεται πλέον στο προσκήνιο στη μάχη ενάντια στον καρκίνο και των υποτροπών του.<sup>37</sup>

## 2.5 Μικροπεριβάλλον του όγκου

Μία καρκινική μάζα δεν αποτελείται αποκλειστικά και μόνο από καρκινικά κύτταρα, αλλά περιλαμβάνει μία πληθώρα μη καρκινικών κυττάρων που δημιουργούν το μικροπεριβάλλον του όγκου. Πιο συγκεκριμένα, αυτό απαρτίζεται από σχετιζόμενους με τον καρκίνο ινοβλάστες (CAFS), σχετιζόμενα με τον καρκίνο μακροφάγα (TAMS), εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, αγγειογενετικούς, αυξητικούς και φλεγμονώδεις παράγοντες, λεία μυϊκά και ενδοθηλιακά κύτταρα.<sup>42 43</sup> Το μικροπεριβάλλον του όγκου σχηματικά απεικονίζεται στην Εικόνα 7.



Εικόνα 7. Το μικροπεριβάλλον του όγκου απαρτίζεται από καρκινικά κύτταρα, κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, CAFs, αγγεία και εξωκυττάρια θεμέλια ουσία.<sup>44</sup>

Ειδικά, τα CAFs και τα TAMs συμβάλλουν ουσιαστικά στην ανάπτυξη του όγκου. Αφενός, τα CAFs προμηθεύουν τα καρκινικά κύτταρα με απαραίτητα συστατικά, γλουταμίνη, λιπαρά οξέα και αμινοξέα. Αφετέρου, τα TAMs μαζί με τα CAFs προάγουν τον φλεγμονώδη και ανοσοκατεσταλμένο χαρακτήρα του μικροπεριβάλλοντος, αποτρέποντας με αυτό τον τρόπο τη δράση του ανοσιακού συστήματος κατά του όγκου.

<sup>30</sup> Είναι δε γνωστό, ότι, οι φυσιολογικοί ινοβλάστες παρεμποδίζουν την ογκογένεση και διατηρούν τη φυσιολογική αρχιτεκτονική του ιστού. Με την ενεργοποίησή τους σε CAFs, διαταράσσεται η δομή του ιστού και πυροδοτούνται ογκογενετικοί και μεταστατικοί μηχανισμοί.<sup>45</sup>

Στην εξέλιξη του όγκου, όμως, φαίνεται ότι τον καθοριστικότερο ρόλο διαδραματίζουν οι διάφορες αλληλεπιδράσεις στο πλαίσιο αυτού του μικροπεριβάλλοντος.<sup>42 43</sup> Σε αυτή την επικοινωνία δράση έχουν αναλάβει τα εξωσωμάτια, “μικροί κυστικοί σχηματισμοί με μεγάλες, όμως, δυνατότητες”. Πρόκειται για κυστίδια διαστάσεων 30-100 nm, τα οποία μεταφέρουν πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα (mRNAs, miRNAs). Διάφορα κύτταρα εκκρίνουν αυτά τα κυστίδια, τα οποία μεταφέρονται και συντήκονται με άλλα κύτταρα, συμβάλλοντας στη διακυτταρική επικοινωνία.<sup>42</sup>

Στο μικροπεριβάλλον του όγκου, ο ρόλος τους είναι ογκογόνος, μεταδίδοντας πληροφορίες σε κύτταρα στόχους, μεταφέροντας ή αποσιωπώντας γονίδια και αναδιαμορφώνοντας το μικροπεριβάλλον του όγκου.<sup>42</sup> Πιο ειδικά, εξωσωμάτια από καρκινικά κύτταρα μεταφέρουν χημειοκίνες και κυτταροκίνες, όπως τον παράγοντα TGF- $\beta$  στα CAFs, προσδίδοντας τους ένα μυοϊνοβλαστικό χαρακτήρα.<sup>42 30</sup> Από την άλλη, η σύντηξη των εξωσωματίων με τα καρκινικά κύτταρα μέσω φωσφατιδυλοσερίνης ενεργοποιεί τον EGFR στα ενδοθηλιακά κύτταρα του μικροπεριβάλλοντος. Η τόσο λοιπόν, κρίσιμη ισορροπία μεταξύ αγγειογενετικών και αντιαγγειογενετικών παραγόντων στο μικροπεριβάλλον του όγκου βρίσκεται υπό τον έλεγχο των εξωσωματίων.<sup>42</sup>

Επιπλέον, εξωσωμάτια προερχόμενα από καρκινικά κύτταρα δύνανται να απελευθερώσουν πρωτεΐνάσες που έχουν ως στόχο τις λαμινίνες και το κολλαγόνο της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, προάγοντας με αυτό τον τρόπο την κινητικότητα των κυττάρων, τη διήθηση και τη μετάσταση.<sup>42</sup> Ειδικά για τη μετάσταση, κρίσιμος αποδείχθηκε ο ρόλος των εξωσωματίων που φέρουν σε μεγάλες ποσότητες την πρωτεΐνη τετρασπανίνη, μία διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία διευκολύνει τη μεταφορά, τη

σύντηξη των κυστιδίων με τα κύτταρα υποδοχείς και αποτρέπει την αποδόμηση τους από το πρωτεόσωμα.<sup>42</sup>

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που προέκυψε για τα εξωσωμάτια που απελευθερώνονται από τα καρκινικά κύτταρα είναι ότι φέρουν ειδικά για τους όγκους miRNAs και πρωτεΐνες. Ενδεικτικά αναφέρουμε την περίπτωση του μελανώματος, όπου τα εξωσωμάτια φέρουν την πρωτεΐνη Mart- 1, ενώ αντίστοιχα σε ασκτικό υγρό καρκίνου των ωοθηκών εντοπίζουμε εξωσωμάτια φέροντα τον παράγοντα Her2/Neu. Παρατηρήθηκε, επίσης, ίδια σύσταση στο καρκινικό κύτταρο και στα εξωσωμάτια τους σε miRNAs, ενώ αυτά δεν ανιχνεύθηκαν σε φυσιολογικά κύτταρα.<sup>42</sup>

Η αγγειογένεση αποτελεί βασικό χαρακτηριστικό του μικροπεριβάλλοντος του όγκου. Είναι, άλλωστε, γνωστή η σημασία του αγγειακού δικτύου για την ογκογένεση και την εξέλιξη του όγκου, αφού αυτό προμηθεύει τον όγκο με όλα τα απαραίτητα συστατικά που αυτός χρειάζεται. Αν θα μπορούσαμε να γενικεύσουμε τον κανόνα θα λέγαμε ότι μικρότεροι όγκοι έχουν μικρότερο αγγειακό δίκτυο, ενώ μεγαλύτεροι και επιθετικότεροι όγκοι φέρουν πιο εκτεταμένο δίκτυο. Ωστόσο, παρατηρείται μία βασική διαφορά ανάμεσα στην αγγείωση ενός όγκου και ενός υγιούς ιστού. Στον όγκο, το δίκτυο είναι εκτεταμένο και εμφανίζει έντονες “διακλαδώσεις”, παρουσιάζει διαταραγμένη μορφολογία στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στη βασική μεμβράνη και φτωχή κάλυψη των αγγείων από περικύτταρα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την κατά τόπους διαταραγμένη διάθεση στον όγκο ζωτικών συστατικών, όπως είναι το οξυγόνο, προσδίδοντας στον όγκο ετερογένεια στην δομή του.<sup>46</sup> Η ανεπαρκής διάθεση σε οξυγόνο σε διάφορες περιοχές ενεργοποιεί τον παράγοντα HIF -1, με αποτέλεσμα τη σύνθεση του VEGF οδηγώντας στην αγγειογένεση. Τόσο, όμως, τα CAFs όσο και τα TAMs δύνανται να προάγουν την αγγειογένεση, απελευθερώνοντας τόσο τον VEGFA όσο και τους λεμφαγγειογενετικούς παράγοντες VEGFC και VEGFD.<sup>46 47</sup>

Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι ήδη από το 1986 ο Dvorak είχε υπογραμμίσει την αξία του μικροπεριβάλλοντος και την άρρηκτη σχέση μεταξύ αυτού και του όγκου. Παρομοίωσε μάλιστα, το μικροπεριβάλλον του όγκου με “πληγή που δεν επουλώνεται”, γεγονός που το καθλώνει σε μία κατάσταση συνεχούς επιδιόρθωσης και ίνωσης. Νεότερα δεδομένα ωστόσο υποστηρίζουν, ότι τα χαρακτηριστικά αυτά φαίνεται ότι δεν συμβάλλουν απλά στην εξέλιξη, στο μεταστατικό χαρακτήρα του όγκου και στην

απόκριση του σε θεραπεία αλλά είναι αυτά υπεύθυνα για την ογκογένεση και για τη δημιουργία μεταστατικών εστιών.<sup>48</sup>

## 2.6 Καρκίνος και ηλικιακή γήρανση

Τον τελευταίο αιώνα παρατηρείται σημαντική αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης λόγω της ουσιαστικής βελτίωσης της ποιότητας της ζωής και των εξελίξεων στο χώρο της επιστήμης και της ιατρικής. Στις περισσότερες “αναπτυγμένες” χώρες, ένας μέσος άνθρωπος αναμένεται να ζήσει περισσότερο από 80 χρόνια. Με την επιμήκυνση του προσδόκιμου επιβίωσης, αυξάνεται το ποσοστό του γηρασμένου πληθυσμού αλλά και της νοσηρότητας.<sup>49</sup> Στην αρχαιότητα, το γήρας θεωρούνταν από μόνο του ασθένεια. Χαρακτηριστικά, ο Αριστοτέλης το περιγράφει ως “μαρασμό”, ενώ ο Ρωμαίος ποιητής Τερέντιος χαρακτηριστικά γράφει “senectus ipsa est morbus”, δηλαδή ότι η ηλικιακή γήρανση αποτελεί ασθένεια. Με τη σύγχρονη ιατρική, οι δύο έννοιες έχουν διαχωρισθεί.<sup>50</sup> Η ηλικιακή γήρανση σε επίπεδο οργανισμού προκαλεί αδυναμία διατήρησης της φυσιολογικής δραστηριότητας του σώματος, γεγονός που σηματοδοτεί επιρρέπεια σε ασθένειες. Σε επίπεδο κυττάρων, η ηλικιακή γήρανση ταυτίζεται με χρόνια, άσηπτη και υποκλινική φλεγμονή.<sup>1 50</sup> Η κυτταρική γήρανση δεν ταυτίζεται με την ηλικιακή γήρανση, απλά αποτελεί έναν από τους κυτταρικούς μηχανισμούς που συμμετέχουν στο γήρας.<sup>1</sup>

Επιπλέον, έχουν αναγνωρισθεί γηριατρικά σύνδρομα και ασθένειες που σχετίζονται με το γήρας ως αυτοτελείς οντότητες. Μία από αυτές τις ασθένειες είναι και ο καρκίνος, αφού το γήρας έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί τον σημαντικότερο παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη του και, για τους περισσότερους τύπους, η συχνότητα εμφάνισης αυξάνεται προοδευτικά με την αύξηση της ηλικίας.<sup>50</sup>

Έτσι, λοιπόν, λόγω της γήρανσης του πληθυσμού ο καρκίνος αποκτά ακόμα μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης και αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα υγείας παγκοσμίως.<sup>49</sup>

Το 50% των καρκινοπαθών αφορά σε ηλικιωμένους μεγαλύτερους των 70 ετών. Επιδημιολογικά δεδομένα έδειξαν, ότι κατά τη διάρκεια της ζωής του το 43% των ανδρών και το 38% των γυναικών θα εμφανίσει καρκίνο. Από αυτούς θα καταλήξει από τη νόσο το 23% των ανδρών και το 19% των γυναικών.<sup>49</sup>



Ο καρκίνος και η γήρανση μοιράζονται ως κοινά και αναπόφευκτα χαρακτηριστικά τη συσσώρευση της κυτταρικής βλάβης. Ωστόσο, διαφέρουν ως προς τον χαρακτήρα των κυττάρων. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν πλεονέκτημα λειτουργίας, ενώ αντίθετα τα (ηλικιακά) γηρασμένα κύτταρα έχουν απωλέσει τη λειτουργικότητα και το “καλώς έχειν” τους. Παρακάτω, παρατίθενται τα χαρακτηριστικά τα οποία μοιράζονται τα καρκινικά και τα γηρασμένα κύτταρα αλλά και αυτά ως προς τα οποία διαφέρουν. <sup>49</sup>

	<b>Γήρας</b>	<b>Καρκίνος</b>
<b>Γενετική αστάθεια</b>	Αυξημένη	Αυξημένη
<b>Βλάβη τελομερών</b>	Κοντά τελομερή	Ενεργοποίηση τελομεράσης και κοντά τελομερή
<b>Επιγενετικές αλλαγές</b>		
Μεθυλίωση DNA	Υπομεθυλίωση	Υπερμεθυλίωση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και υπομεθυλίωση ογκογονιδίων.
Τροποποίηση ιστονών	Πολύπλοκη	Πολύπλοκη
Μη κωδικοποιό DNA	Απορρύθμιση miRNA, π.χ. ↓ miR17-92	Απορρύθμιση miRNA, π.χ. ↑ miR-17-92
<b>Ομοιόσταση πρωτεϊνών</b>		
Δράση συνοδών πρωτεϊνών	Μειωμένη	Αυξημένη
Δραστηριότητα πρωτεοσώματος	Μειωμένη	Αυξημένη
Αυτοφαγία - Δράση λυσοσωμάτων	Μειωμένη	Αυξημένη
<b>Απορρύθμιση αισθητήρων θρεπτικών συστατικών</b>	Αναστολή της δράσης της ινσουλίνης και του σηματοδοτικού μονοπατιού mTOR αυξάνει τη διάρκεια ζωής	Αναστολή της δράσης της ινσουλίνης και του σηματοδοτικού μονοπατιού mTOR έχει αντικαρκινική δράση
<b>Κυτταρική γήρανση</b>	Αυξημένη	Παρατηρείται σε προκαρκινικές βλάβες αλλά εξαφανίζεται σε κακοήθεις όγκους
<b>Βλαστοκύτταρα</b>	Εξάντληση	Δυναμικό καρκινογένεσης

Πίνακας 1. Ομοιότητες και διαφορές γήρατος και καρκίνου <sup>49</sup>

### **Κεφάλαιο 3. Σχέση καρκίνου – κυτταρικής γήρανσης.**

#### **3.1 Η κυτταρική γήρανση ως ογκοκατασταλτικός μηχανισμός.**

Η κυτταρική γήρανση αναγνωρίστηκε αρχικά ως ορόσημο του γήρατος με τα πειράματα των Hayflick και Moorhead σε ανθρώπινους ινοβλάστες το 1965.<sup>51 52</sup> Μετά από ένα πεπερασμένο αριθμό διαιρέσεων και εξάντλησης των τελομερών τα κύτταρα αυτά εισέρχονταν σε κατάσταση αντιγραφικής γήρανσης *in vitro*. *In vivo*, η αναστολή αυτή του πολλαπλασιασμού των κυττάρων παρατηρείται σε ηλικιωμένα άτομα και σε πάσχοντες από νοσήματα σχετιζόμενα με το γήρας.<sup>51</sup> Ο μηχανισμός αυτός σχετίζεται με βλάβη και εξάντληση των τελομερών, ικανή να προκαλέσει χρωμοσωματική αστάθεια. Η κυτταρική γήρανση παρεμβαίνει, λοιπόν, και αποτρέπει το ενδεχόμενο αυτό παρουσιάζοντας, έτσι, αντικαρκινική δράση.<sup>34</sup>

Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ένα παράδοξο φαινόμενο με το μήκος των τελομερών. Όπως είπαμε με τη κρίσιμη μείωση του μήκους τους επέρχεται γενετική αστάθεια. Υπάρχουν, όμως, περιπτώσεις ασθενών με αυξημένου μήκους τελομερή που εμφανίζουν αυξημένη επίπτωση καρκίνου, ενώ από την άλλη πολλά καρκινικά κύτταρα έχουν κοντά τελομερή. Για την εξήγηση αυτού του παράδοξου φαινομένου, οι επιστήμονες, σχετικά πρόσφατα εισήγαγαν την θεωρία των 2 χτύπημάτων. Σύμφωνα με αυτή, το πρώτο χτύπημα είναι ανεξάρτητο από το μήκος των τελομερών, επέρχεται στα βλαστοκύτταρα και προκαλεί την γρήγορη αύξηση καλόηθων κλώνων. Το δεύτερο χτύπημα είναι εξαρτώμενο από το μήκος των τελομερών, συμβαίνει αργότερα χρονικά και οδηγεί στην εξαλλαγή των κλώνων αυτών. Έτσι, λοιπόν, τα κύτταρα με μακριά τελομερή έχουν μεγαλύτερη φάση αύξησης των κλώνων μέχρι να επέλθει κυτταρική γήρανση και, επομένως, αυξημένες πιθανότητες να αποκτήσουν μεταλλάξεις ως το δεύτερο χτύπημα για την καρκινική εξαλλαγή. Ωστόσο, και με την θεωρία αυτή ως ογκοκατασταλτικός μηχανισμός παρουσιάζεται πάλι η κυτταρική γήρανση.<sup>24</sup>

Κυτταρική γήρανση επέρχεται με την επίδραση και άλλων ερεθισμάτων.<sup>4</sup> Αυτό που χαρακτηρίζει τα ερεθίσματα αυτά είναι η ικανότητα τους να προκαλούν ή να προωθούν τον καρκίνο.<sup>53</sup> Ακτινοβολία, παράγοντες βλαβεροί για το DNA των κυττάρων και δραστικές μορφές οξυγόνου προκαλούν μεταλλάξεις και γενετική αστάθεια στα κύτταρα.

<sup>4 52</sup> Τα περισσότερα κύτταρα δεν υφίστανται αντιγραφική γήρανση, αφού εκτίθενται

νωρίτερα σε αυτούς τους παράγοντες.<sup>24</sup> Έρχεται όμως η κυτταρική γήρανση να αποτρέψει τον περαιτέρω πολλαπλασιασμό των κυττάρων αυτών είτε μέσω απόκρισης στη βλάβη του DNA είτε μέσω του μονοπατιού p38/MAPK/PRAK. Επιπλέον, διαταραχές του μεταβολισμού των κυττάρων και της δομή της χρωματίνης επάγουν κυτταρική γήρανση. Δυσλειτουργία των μιτοχονδρίων, όπως συμβαίνει σε απώλεια των μιτοχονδριακών ενζύμων sirtuins, προκαλεί ξεχωριστή υποκατηγορία κυτταρικής γήρανσης η οποία δεν σχετίζεται ούτε με οξειδωτικό stress ούτε με βλάβη του γενετικού υλικού και εμφανίζεται στη βιβλιογραφία ως MiDAS (mitochondrial dysfunction-induced senescence). Τέλος, στην αυξημένη έκφραση ογκογονιδίων όπως είναι το RAS, το BRAF και το MYC και τα μηνύματα πολλαπλασιασμού τα οποία αυτή συνεπάγεται, ο οργανισμός απαντά με κυτταρική γήρανση (προκαλούμενη από ογκογονίδια). Αυτή αποτρέπει την καρκινική εξαλλαγή των προκαρκινικών αλλοιώσεων τόσο σε μοντέλα ποντικών όσο και στον άνθρωπο και αποτελεί θεμελιώδη ογκοκατασταλτικό μηχανισμό. Έχει μελετηθεί περισσότερο από οπουδήποτε αλλού σε σπύλους, οι οποίοι χαρακτηρίζονται από γηρασμένα κύτταρα φέροντα την μετάλλαξη BRAF<sup>V600E/K</sup>.<sup>4 52</sup> Εξαλλαγή των μελανοκυττάρων επέρχεται με μεταλλάξεις που είτε αποτρέπουν είτε “προσπερνούν” τον μηχανισμό αυτό της κυτταρικής γήρανσης.<sup>4</sup>

Την τελευταία δεκαετία, λοιπόν, προκύπτει ένας ολοένα αυξανόμενος αριθμός μελετών που αποδεικνύει την αντικαρκινική δράση του μηχανισμού, την ικανότητα του, δηλαδή, να περιορίζει σε συνεργασία με το ανοσοποιητικό σύστημα κύτταρα με βλάβη, δυνητικά καρκινογόνα.<sup>13</sup>

Όπως είναι αναμενόμενο ανάλογες είναι και οι αλλαγές που παρατηρούνται σε μεταγραφικό επίπεδο. Πιο συγκεκριμένα, στα γηρασμένα κύτταρα παρατηρείται θετική ρύθμιση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων και μειωμένη έκφραση των γονιδίων που προάγουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου.<sup>34</sup>

Την δράση της ως ογκοκατασταλτικού μηχανισμού έρχεται να επιβεβαιώσει και η εντόπιση των γηρασμένων κυττάρων. Τα κύτταρα αυτά ανευρίσκονται σε προκαρκινικές αλλοιώσεις, ενώ απουσιάζουν από κακοήθεις όγκους.<sup>34</sup> Οι επιστήμονες, με βάση τα νέα στοιχεία, συμπεραίνουν ότι στην ουσία, η κυτταρική γήρανση δεν αποτρέπει τον πολλαπλασιασμό των προκαρκινικών αλλοιώσεων αλλά την καρκινική τους εξαλλαγή. Όταν τα ογκογόνα σήματα είναι ικανά να προκαλέσουν ογκογένεση πυροδοτείται ο

μηχανισμός κυτταρικής γήρανσης, ενώ σε αντίθετη περίπτωση σημάτων χαμηλής ισχύος επιτρέπεται ο πολλαπλασιασμός χωρίς να επέρχεται κυτταρική γήρανση. Ιδιαίτερη σημασία δίνεται, επίσης, και στο ρυθμό πυροδότησης κυτταρικής γήρανσης σε σχέση με τον ανοσολογικό καθαρισμό. Αυτός προκύπτει υψηλός στις προκαρκινικές αλλοιώσεις δικαιολογώντας, έτσι, την αυξημένη παρουσία τους σε προκαρκινικές βλάβες.<sup>13</sup>

Επομένως, η κυτταρική γήρανση δρα ως ογκοκατασταλτικός μηχανισμός που αποτρέπει τον πολλαπλασιασμό κυττάρων “υπό stress” με ογκογόνο δυναμική<sup>51</sup>, για αυτό έχει επιλεγθεί εξελικτικά στο χρόνο.<sup>24</sup> Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι και σε προχωρημένα στάδια καρκίνου υφίσταται η κυτταρική γήρανση ως μηχανισμός, όχι μόνο στα πλαίσια θεραπευτικής παρέμβασης αλλά και λόγω εξεσημασμένης ογκογόνου σηματοδότησης. Το τελευταίο στοιχείο χρήζει, όμως, περαιτέρω διερεύνησης.<sup>52</sup>

### 3.2 Ο ρόλος του p53/p21 και του p16<sup>INK4a</sup>/pRb στην κυτταρική γήρανση

Αν και τα διάφορα ερεθίσματα κυτταρικής γήρανσης προκαλούν διαφορετικό τύπο και φαινότυπο κυτταρικής γήρανσης, οι θεμελιώδεις μηχανισμοί που προκαλούν και διατηρούν την κυτταρική γήρανση είναι δύο, το p16<sup>INK4a</sup>/pRb και το p53/p21. Όπως αποδεικνύεται, η ενεργοποίηση και η επιτυχής έκφραση τους επάγει κυτταρική γήρανση, ενώ η διαταραχή τους προδιαθέτει σε ανάπτυξη καρκίνου.<sup>4</sup>

Στην αντιγραφική γήρανση, με την «εξάντληση των τελομερών» και την επικείμενη αστάθεια μεταβιβάζεται σήμα βλάβης του DNA. Το σήμα ανιχνεύεται από την κίνηση ATM (Ataxia-Telangiectasia Mutated) και την ATR (Ataxia Telangiectasia Rad3-related), ενώ η απόκριση μεσολαβείται με τις κινάσες των σημείων ελέγχου του κυττάρου 1 και 2, οι οποίες φωσφορυλιώνουν και σταθεροποιούν το p53 αναστέλλοντας την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου.<sup>34 51</sup>

Με τη σειρά του το σήμα ενεργοποιεί το p21<sup>CIP1/WAF1</sup>, αναστολέα κυκλινοεξαρτώμενων κινασών CDK. Επιπλέον, εκφράζεται ο γενετικός τόπος CDKN2A με τα δύο βασικά ογκοκατασταλτικά γονίδια: τα p14<sup>ARF</sup> και p16<sup>INK4a</sup>.<sup>34 51</sup> Στο σημείο αυτό, αξίζει να σημειωθεί ότι αυτός ο γενετικός τόπος έχει συσχετισθεί περισσότερο από κάθε άλλο με νοσήματα σχετιζόμενα με το γήρας σε μεγάλες γονιδιωματικές μελέτες συσχέτισης.<sup>49</sup> Το p14<sup>ARF</sup> ενισχύει περαιτέρω το μονοπάτι p53/p21 αποδομώντας το πρωτοογκογονίδιο

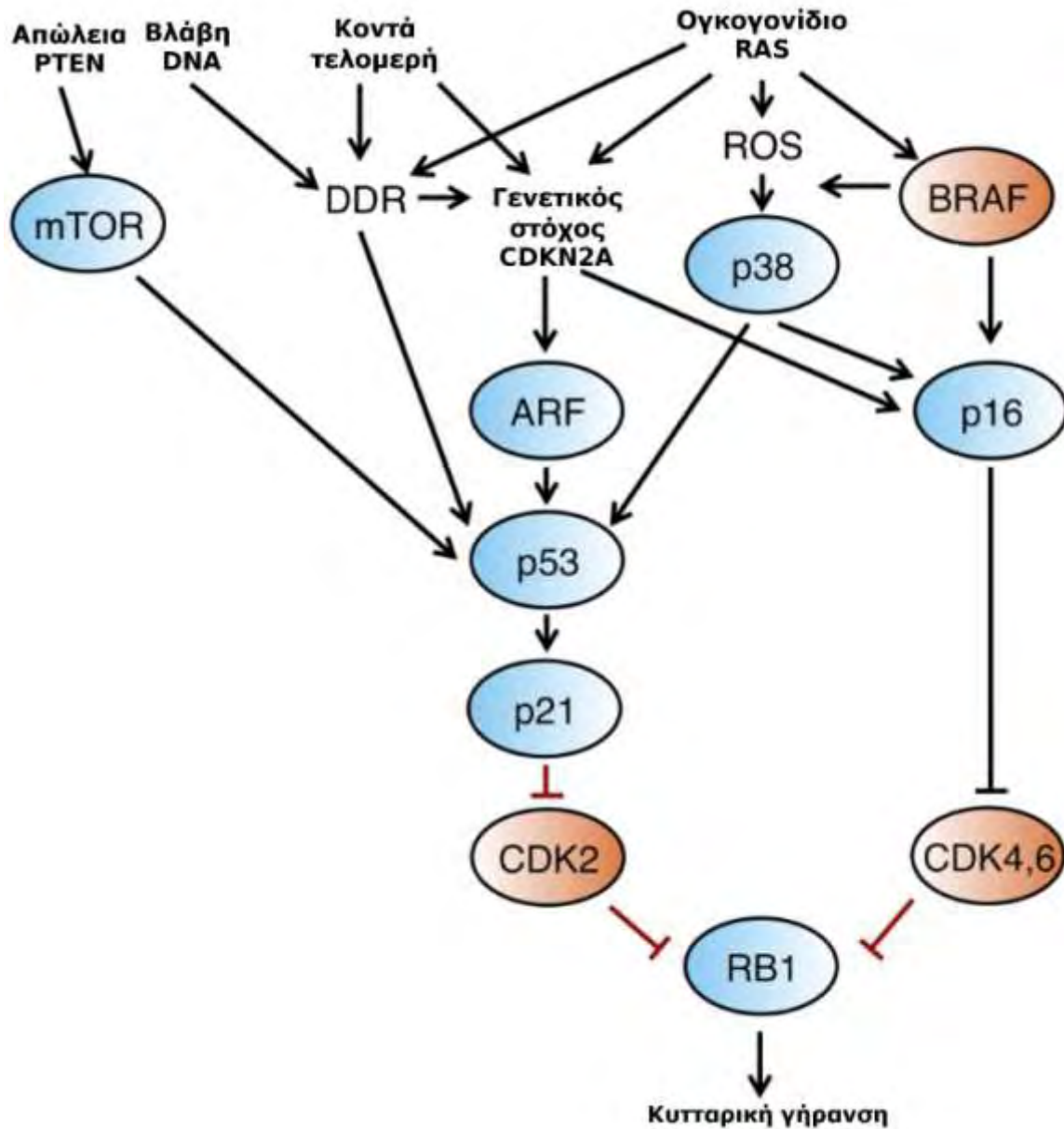
MDM2 και το p16<sup>INK4a</sup> αναστέλλει τις κινάσες CDK4 και CDK6. Με την συνδυασμένη αναστολή των κυκλινοεξαρτώμενων κινασών, τόσο από το p16 όσο και από το p21, επάγεται η υποφωσφορυλίωση και η ενεργοποίηση της Rb. Με αυτό τον τρόπο αναστέλλεται η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και το κύτταρο καθιλώνεται στη φάση G1. Η ενεργοποιημένη Rb δρα, αναστέλλοντας τους μεταγραφικούς παράγοντες E2F.<sup>34</sup>

51

Και στις άλλες κατηγορίες αντιγραφικής γήρανσης υπό την επίδραση άλλων ερεθισμάτων πέραν της «εξάντλησης» των τελομερών ενεργοποιείται το p53 και ακολουθεί είτε απόπτωση είτε αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού μέσω του p21. Σε κυτταρική γήρανση επαγόμενη από αυξημένη παραγωγή ROS, το μονοπάτι p53/p21 ενεργοποιείται μέσω της οδού p38/MAPK. Αν το ερέθισμα επιμένει, η προσωρινή αναστολή του κυτταρικού κύκλου εξελίσσεται σε μόνιμη (κυτταρική γήρανση) μέσω ενεργοποίησης του p16<sup>INK4A</sup>. Σε κυτταρική γήρανση, όπου το ερέθισμα αποτελεί η υπερέκφραση ογκογονιδίων, η κυτταρική γήρανση ενεργοποιείται από διάφορες οδούς. Συνηθέστερα, η αναστολή του κυτταρικού κύκλου επέρχεται με την ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού MAP κινασών, η οποία συνεπάγεται αύξηση των επιπέδων ROS. Σε έκφραση του BRAF, ενεργοποιείται το p16 και αυξάνεται ο μεταβολισμός των μιτοχονδρίων με αποτέλεσμα να παράγονται αυξημένα επίπεδα ROS. Σε κάθε περίπτωση, όταν το ερέθισμα είναι η υπερέκφραση ογκογονιδίων καταστέλλεται η έκφραση του CDKN2A γενετικού τόπου.<sup>34</sup>

Αντιστοίχως, και η απώλεια ογκοκατασταλτικών γονιδίων προκαλεί κυτταρική γήρανση. Σε ομοζυγώτες με απώλεια της Rb1, επάγεται απόκριση ως επί βλάβης του DNA, και έπειτα, κυτταρική γήρανση με τη δράση άλλων μελών της κατηγορίας Rb. Σε απώλεια PTEN αναστέλλεται η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου μέσω της ενεργοποίησης του p53 και του συστήματος mTOR. Επίσης, επί απενεργοποίησης του ογκοκατασταλτικού Hippel-Lindau ενεργοποιείται ο γενετικός τόπος CDKN2A. Τέλος, και άλλα ερεθίσματα, λιγότερο μελετημένα, όπως αυτά που επιδρούν στην μιτωτική άτρακτο, προκαλούν κυτταρική γήρανση με ανάλογους μηχανισμούς. Σε κάθε περίπτωση, καθοριστικό ρόλο διαδραματίζουν το p53 και το p16.<sup>34</sup> Στην Εικόνα 8 απεικονίζονται συνοπτικά τα μονοπάτια και οι μηχανισμοί πρόκλησης κυτταρικής γήρανσης.

Αξίζει να σημειωθεί, ότι στην πράξη ο οργανισμός δέχεται μία πληθώρα από ερεθίσματα σε ένα χρόνο. Το γεγονός αυτό καθιστά τη ρύθμιση της κυτταρικής γήρανσης ακόμα πιο περίπλοκη και πολυσύνθετη.<sup>34</sup>



Εικόνα 8. Μηχανισμοί πρόκλησης και μονοπάτια κυτταρικής γήρανσης. Καθοριστικός ο ρόλος του p53 και του p16 είτε πρόκειται για απόκριση σε βλάβη του DNA είτε όχι.<sup>34</sup>

### **3.3 Κυτταρική γήρανση και αλλαγές στη δομή της χρωματίνης**

Η αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, αρχικά, επέρχεται με αναστολή των σημείων ελέγχου του κυττάρου (cell cycle check points), ενώ αργότερα μονιμοποιείται με αλλαγές στη δομή της χρωματίνης, με δομές όπως τα SAHFs, τα SADS και τα DNA-SCARS, για τα οποία έγινε λόγος στο Κεφάλαιο 1. Ξεκινώντας με τα SAHFs, πρέπει να αναφέρουμε ότι δρουν συμπυκνώνοντας γονίδια πολλαπλασιασμού σε ανενεργή ετεροχρωματίνη. Αυτό προϋποθέτει λειτουργικούς τους παράγοντες p16 και Rb και μεσολαβείται με τη δράση συνοδών πρωτεϊνών των ιστονών, όπως η HIRA (Histone Repressor A) και ο παράγοντας ASF1a. Τα SADS, από την άλλη, αποτελούν περιοχές που σχετίζονται με διάταξη των δορυφόρων και εντοπίζονται σε περιοχές τόσο αντιγραφικής γήρανσης όσο και γήρανσης επαγόμενης από ογκογονίδια. Έχουν καταγραφεί, όμως, και σε καλοήθεις περιπτώσεις παγκρεατικής ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας. Τέλος, όπως προκύπτει τα DNA SCARS, ως δομές τροποποιημένης χρωματίνης, επιτείνουν και “μονιμοποιούν” τη γήρανση και συμβάλλουν στην έκκριση της ιντερλευκίνης IL-6.<sup>4</sup>

### **3.4 Η «φωτεινή» πλευρά του SASP**

Κυτταρική γήρανση δεν είναι, όμως, μόνο αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενη ενότητα, τα γηρασμένα κύτταρα όντας μεταβολικά ενεργά εκκρίνουν ένα σύνολο παραγόντων στο πλαίσιο του SASP.<sup>6</sup> Συγκεκριμένα, περισσότεροι από 40 διαφορετικοί παράγοντες εκκρίνονται στο πλαίσιο του SASP, ανάμεσα στους οποίους ανοσορρυθμιστικές χημειοκίνες και κυτταροκίνες, μεταλλοπρωτεϊνάσες που αναδιαμορφώνουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και αδιάλυτες πρωτεΐνες.<sup>4</sup> Παρατίθεται ακολούθως, η δράση του SASP σε τρία σημεία. Πρώτον, επιτείνει την αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού με έναν τρόπο κυτταρικά αυτόνομο (αυτοκρινής δράση). Δεύτερον, ασκεί παρακρινή δράση, καθώς φαίνεται να έχει τη δυνατότητα να μεταδώσει την κυτταρική γήρανση σε γειτονικά κύτταρα. Αυτό πραγματοποιείται μέσω φλεγμονωδών ουσιών, όπως η IL 1 και ο TGF. Αποτέλεσμα αυτών είναι τα υψηλά ποσοστά ROS, η βλάβη του DNA και, τελικά, η αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Τέλος, το SASP επάγει φλεγμονώδη απόκριση,

προσελκύει κύτταρα του ανοσοποιητικού, ενώ μπορεί να προωθήσει ή να αναστείλει την καρκινογένεση και να αναδιαμορφώσει το μικροπεριβάλλον του όγκου.<sup>34</sup>

Ο σκοπός των εκκρινόμενων ουσιών του SASP είναι να «ενημερώσουν» τον οργανισμό για την ύπαρξη των γηρασμένων κυττάρων. Πιο ειδικά, οι κυτταροκίνες και οι χημειοκίνες δημιουργούν συνθήκες τοπικής φλεγμονής και προσελκύουν κύτταρα του ανοσοποιητικού προκειμένου να εξαλείψουν τα γηρασμένα κύτταρα. Από την άλλη, οι πρωτεΐνες, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, επιτρέπουν στα κύτταρα του ανοσοποιητικού να πλησιάσουν και να προσεγγίσουν τα γηρασμένα κύτταρα. Ενώ, τέλος, οι αυξητικοί παράγοντες προάγουν τον πολλαπλασιασμό των γειτονικών κυττάρων έτσι ώστε να αντικαταστήσουν τα κύτταρα τα οποία φέρουν βλάβη και θα εξαλειφθούν.<sup>6</sup>

Νεότερα δεδομένα παρουσιάζουν την ικανότητα του SASP (όταν αυτό εκφράζεται παροδικά) να επάγει «πλαστικότητα» και ιδιότητες βλαστικών κυττάρων στα γειτονικά κύτταρα, προάγοντας έτσι την αναγέννηση του ιστού.<sup>27</sup> Αυτό συντελεί στην «θετική» πλευρά του SASP με αντικαρκινική δράση. Ο μηχανισμός αυτός λειτουργεί αποτελεσματικότερα σε νέους υγιείς οργανισμούς όπου τα γηρασμένα κύτταρα παραμένουν για μικρό χρονικό διάστημα. Η «σκοτεινή» πλευρά του SASP με καρκινογόνο και φλεγμονώδη δράση παρουσιάζεται όταν οι μηχανισμοί απομάκρυνσης των γηρασμένων κυττάρων είναι διαταραγμένοι και η παρουσία τους στους ιστούς παρατείνεται για μεγάλο χρονικό διάστημα, με επακόλουθο παράταση της δράσης του SASP. Επιπλέον, μεγάλης σημασίας για το τελικό αποτέλεσμα που, τελικά, επιφέρει το SASP κρίνεται, ο ανοσολογικός καθαρισμός των γηρασμένων κυττάρων, μηχανισμός ο οποίος βρίσκεται σε άμεση συνάρτηση με το SASP και ο οποίος θα περιγραφεί σε επόμενη ενότητα.<sup>6</sup>

### **3.5 Μηχανισμοί ρύθμισης του SASP**

Τόσο σε μεταγραφικό όσο και σε μεταμεταγραφικό επίπεδο επιτυγχάνεται η ρύθμιση του SASP. Η έκφραση των παραγόντων του SASP ελέγχεται τόσο από τον NF-κΒ όσο και από τον C/EBPβ, δύο μεταγραφικούς παράγοντες που παρουσιάζουν αυξημένη δράση στην κυτταρική γήρανση.<sup>34</sup> Σύνθετοι ρυθμιστικοί αλγόριθμοι κατά κύριο λόγο ενισχύουν και άλλοτε περιορίζουν το SASP.<sup>6 34</sup> Η IL 1A βρίσκεται σε έναν



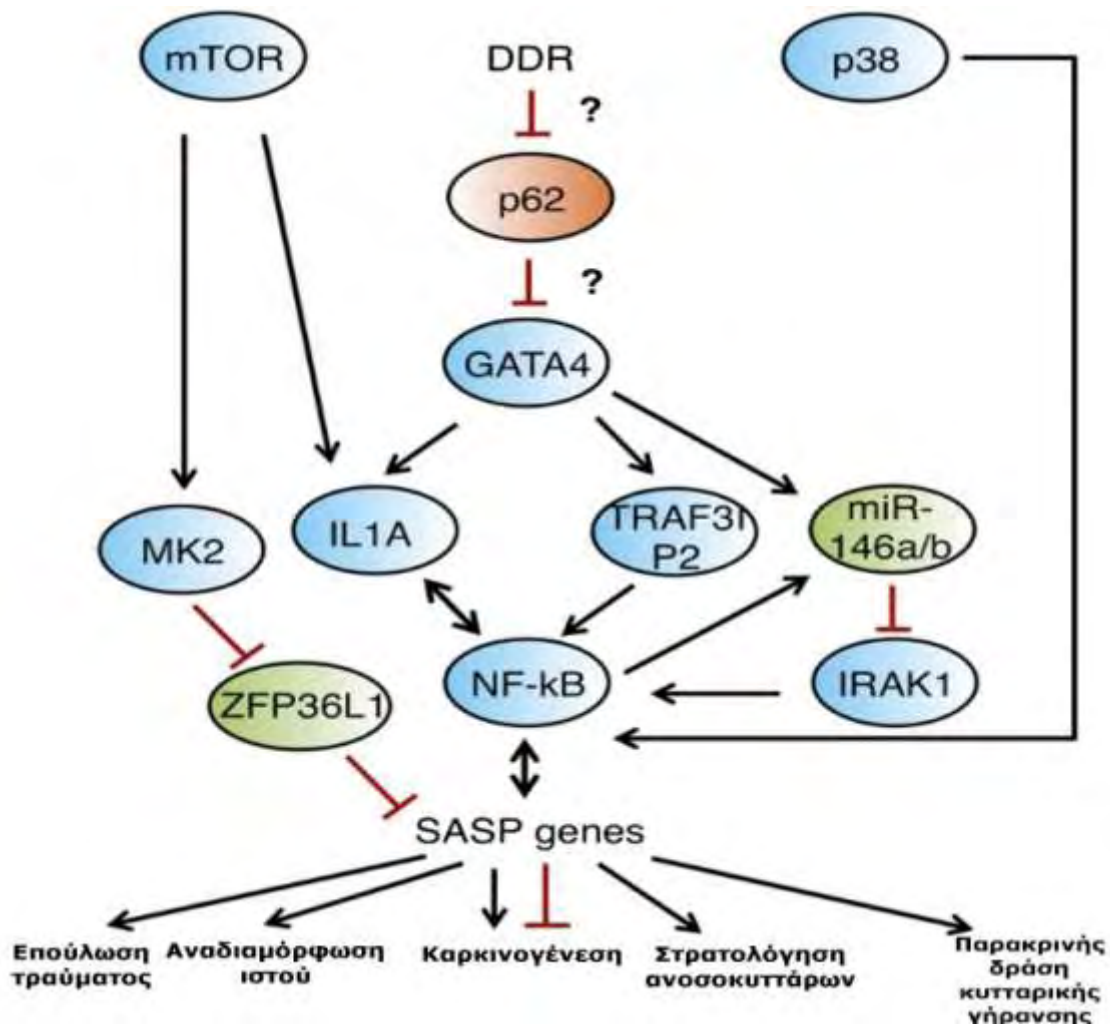
επανατροφοδοτούμενο κύκλο με τον παράγοντα NF-kB. Πιο συγκεκριμένα, η IL 1A ενισχύει την έκφραση του NF-kB και αυτός με τη σειρά του της IL 1A. Ο άλλος μεταγραφικός παράγοντας C/EBPβ προδένεται στον προαγωγέα του γονιδίου IL 6 και ενεργοποιεί την έκφραση του.<sup>6</sup> Ανάλογη και η δράση του NF-kB ο οποίος ενισχύει την έκφραση των παραγόντων του SASP και με θετική ανατροφοδότηση και την δική του έκφραση. Υπάρχει, όμως, και μηχανισμός αρνητικού κυκλώματος, ο οποίος περιορίζει την ανεξέλεγκτη έκκριση ουσιών, η οποία θα μπορούσε να προκαλέσει φλεγμονή και καρκινογένεση. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζουν στο κύκλωμα αυτό τα micro RNAs, τα οποία ενεργοποιούνται επί αυξημένης έκκρισης SASP. Τα miR-146a και miR-146b περιορίζουν το SASP, καταστέλλοντας τη δράση του IRAK1, ρυθμιστή του NF-kB.<sup>34</sup>

Το SASP εκφράζεται στο πλαίσιο απόκρισης βλάβης του DNA. Οι πρωτεΐνες ATM, NBN και οι κινάσες των σημείων ελέγχου του κυττάρου ενέχονται στην ενεργοποίηση και τη διατήρηση του.<sup>34</sup> Βλάβη αυτών των πρωτεϊνών φαίνεται ότι περιορίζει την έκφραση του SASP, κυρίως των IL-6 και IL-8. Καθοριστικός κρίνεται και ο ρόλος της κινάσης ATM στη ρύθμιση του παράγοντα NF-kB. Η ATM, λοιπόν, σε απόκριση της βλάβης του DNA εξέρχεται του πυρήνα και φθάνει στο κυτταρόπλασμα, όπου δημιουργεί σύμπλοκα με την πρωτεΐνη NEMO και έτσι, ενεργοποιείται η κινάση IKK. Με την ενεργοποίηση της κινάσης αυτής προάγεται η αποσύνδεση της πρωτεΐνης αναστολέα IκB από τον NF-kB με αποτέλεσμα αυτός να ενεργοποιείται.<sup>6</sup> Πρόσφατα διευκρινίστηκε η καθοριστικής σημασίας συμμετοχή της πρωτεΐνης GATA4A ως ρυθμιστή του SASP. Σε φυσιολογικά κύτταρα, η πρωτεΐνη αυτή συνδέεται με τον υποδοχέα p62 και υφίσταται εκλεκτική αυτοφαγία. Σε γηρασμένα κύτταρα η αυτοφαγία καταστέλλεται και έτσι υπάρχουν αυξημένα επίπεδα της GATA4, η οποία επάγει το σύμπλοκο TRAF3IP2 με αποτέλεσμα αυξημένη σύνθεση της IL 1A. Αυτά συνεπάγονται την ενεργοποίηση του NF-kB με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση και διατήρηση του SASP. Από την άλλη πλευρά, το GATA4 ενεργοποιεί το miR-146a, το οποίο, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, μετριάξει την έκκριση του SASP. Σε κάθε περίπτωση πρέπει να σημειωθεί ότι το μονοπάτι GATA4 εξαρτάται άμεσα από τις κινάσες απόκρισης σε βλάβη του DNA: ATM και ATR.<sup>34</sup>

Η έκκριση του SASP, όμως, επάγεται ακόμα και αν δεν υπάρχει βλάβη του DNA. Η κινάση p38 μπορεί να προκαλέσει την έκφραση του SASP, αυξάνοντας την μεταγραφή

του NF-κB. <sup>34</sup> Αυτό επιτυγχάνεται με την ενεργοποίηση των κινασών στόχων της p38: MSK1 και MSK2, οι οποίες με την σειρά τους φωσφορυλιώνουν το p65. Ενεργοποιείται, έτσι, ο NF-κB και κατ' επέκταση η έκκριση του SASP. Όπως προκύπτει από μία σειρά μελετών, μόνο η ενεργοποίηση του p38 αρκεί για να εκφρασθεί το SASP ακόμα και αν δεν υπάρχουν άλλα εκλυτικά ερεθίσματα. Να υπενθυμίσουμε, τέλος, τον ρόλο της p38 στην ενεργοποίηση του μονοπατιού p16<sup>INK4a</sup>/Rb και, τελικά, στην αναστολή της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου στα γηρασμένα κύτταρα. <sup>6</sup>

Συγκεντρωτικά, η ρύθμιση του SASP απεικονίζεται στην Εικόνα 9. Στο σημείο, αυτό, κρίνεται βέβαια σκόπιμο να σημειωθεί ότι υπάρχουν γηρασμένα κύτταρα που δεν εκφράζουν το φαινότυπο SASP, γεγονός που υπογραμμίζει την πολυπλοκότητα του μηχανισμού. <sup>34</sup>



Εικόνα 9. Ρύθμιση του SASP. Οι περισσότεροι μηχανισμοί έχουν ως στο επίκεντρο τον παράγοντα NF-κB. Στην εικόνα απεικονίζονται οι βιολογικές διαδικασίες στις οποίες επιδρά το SASP.<sup>34</sup>

Στο στόχαστρο των ερευνητών βρίσκονται και οι πρωτεΐνες οι οποίες ρυθμίζουν το SASP. Σε αυτές περιλαμβάνονται οι Nemo, οι Klotho, η RIG1 αλλά και οι Macro H2A1 και HMGB1. Ιδιαίτερη σημασία έχει δοθεί στις m TOR πρωτεΐνες, για τις οποίες έχουν μάλιστα προταθεί δύο διαφορετικοί μηχανισμοί δράσης. Ο πρώτος δίνει έμφαση στην επίδραση που έχουν στη μετάφραση της IL 1A. Με τη χορήγηση ραπαμυκίνης (γνωστού αναστολέα mTOR) τροποποιείται η έκφραση του SASP και οι γηρασμένοι ινοβλάστες χάνουν την ικανότητα τους για ογκογένεση. Ο άλλος μηχανισμός αποδίδει τη δράση των m TOR στην ικανότητα τους να ρυθμίζουν τη μετάφραση των MK2 κινασών. Οι κινάσες αυτές με την φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης ZFP36L1, αποτρέπουν την αποδόμηση μεταγράφων διαφόρων παραγόντων του SASP.<sup>34</sup> Εκτός από τους μηχανισμούς που προαναφέρθησαν, οι mTOR παρεμβαίνουν στη ρύθμιση του SASP και λόγω θέσης. Πιο συγκεκριμένα, η παρουσία τους σε έναν ειδικό χώρο στην trans πλευρά της συσκευής του Golgi μαζί με αυτολυσοσωμάτια επιταχύνει τη σύνθεση του SASP.<sup>6</sup> Όπως έχει αποδειχθεί, με την αναστολή των mTOR αναστέλλεται η ικανότητα των γηρασμένων κυττάρων όχι μόνο να προάγουν αλλά και να αναστέλλουν τον καρκίνο. Η δράση αυτή, βέβαια, χρήζει περαιτέρω μελέτης.<sup>34</sup>

Σε επίπεδο αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης, οι επιστήμονες χρησιμοποιώντας τη μέθοδο ChIP-Sequencing αναγνώρισαν μία ομάδα υπερενισχυτών που ενεργοποιούνται στην κυτταρική γήρανση και συνδέονται με την έκφραση του SASP. Εμπλουτισμός των ενισχυτών, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για κυτταρική γήρανση με την πρωτεΐνη BRD4, κατέστησε την τελευταία θεραπευτικό στόχο, όπως θα δούμε στο επόμενο κεφάλαιο.<sup>4</sup> Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που προσδένεται στις ακετυλιωμένες ιστόνες και σχετίζεται με τη δράση υπερενισχυτών. Στους υπερενισχυτές αυτούς υπόκειται η δράση πολλών γονιδίων που σχετίζονται με το SASP. Σημειώνεται δε από τους επιστήμονες ότι είναι η απαραίτητη η πρωτεΐνη BRD4 για την έκφραση και την εκτέλεση του προγράμματος του SASP.<sup>25</sup>

Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στους μηχανισμούς ρύθμισης τόσο της κυτταρικής γήρανσης όσο και του SASP. Αυτοί έχουν μελετηθεί ως επί το πλείστον σε καρκινικά κύτταρα και

σε ινοβλάστες. <sup>6</sup> Ο ρόλος τους είναι ιδιαίτερα σημαντικός, γιατί είναι αυτοί οι μηχανισμοί που θα καθορίσουν την αναστολή του κυτταρικού κύκλου, το βαθμό και τη διάρκεια της έκφρασης του SASP, την κινητοποίηση του ανοσοποιητικού συστήματος και, τελικά, όσον αφορά το θέμα της παρούσας διπλωματικής εργασίας, το αν θα επέλθει αναστολή της καρκινογένεσης ή προώθηση αυτής. Πρόκειται για ιδιαίτερα πολύπλοκους μηχανισμούς, οι οποίοι πρέπει να μελετηθούν περαιτέρω και η γνώση αυτή να αξιοποιηθεί προκειμένου να δημιουργηθούν περισσότερο αποτελεσματικά θεραπευτικά σχήματα στη μάχη κατά του καρκίνου. <sup>6 34</sup>

### **3.6 SASP και ανοσολογικός καθαρισμός**

Οι παράγοντες που εκκρίνονται στο πλαίσιο του SASP: κυτταροκίνες, χημειοκίνες, διάφοροι αυξητικοί παράγοντες, πρωτεάσες και μεταβολίτες ενεργοποιούν το ανοσοποιητικό σύστημα του οργανισμού προκειμένου αυτό να απαλείψει τα γηρασμένα κύτταρα. <sup>52</sup> Αυτός ο μηχανισμός είναι ιδιαίτερα σημαντικός, όχι μόνο για την ογκοκατασταλτική δράση της κυτταρικής γήρανσης αλλά και για όλες τις άλλες επωφελείς λειτουργίες που αυτή επιτελεί, όπως είναι η ανάπλαση των ιστών και η ανάπτυξη. <sup>34</sup>

Στο μηχανισμό αυτό ενέχεται τόσο η ειδική όσο και η φυσική ανοσιακή απόκριση. Τ κύτταρα, κύτταρα NK και μακροφάγα ενεργοποιούνται και στρατολογούνται στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Το φαινόμενο αυτό ονομάζεται αλλιώς και επιτήρηση της κυτταρικής γήρανσης και έχει ως σκοπό τον ανοσολογικό καθαρισμό, δηλαδή την εντόπιση και τον περιορισμό των γηρασμένων κυττάρων. <sup>4</sup> Ανάλογα με τους εκάστοτε παράγοντες του SASP και τις συνθήκες του μικροπεριβάλλοντος, στρατολογούνται διαφορετικά κύτταρα του ανοσοποιητικού. Αναφορικά με τα μακροφάγα, οι επιστήμονες έδειξαν ότι γηρασμένα κύτταρα που εκφράζουν το p53 εκφράζουν ουσίες στο πλαίσιο του SASP που πολώνουν τα μακροφάγα στη φάση M1 (κατηγορία μακροφάγων με ογκοκατασταλτική δράση). Επί απουσίας του p53 ενεργοποιούνται μακροφάγα τάξης M2, με ογκογόνο, δηλαδή, δράση. Νέα δεδομένα αποδίδουν στα γηρασμένα κύτταρα την ιδιότητα να μεταφέρουν πρωτεΐνες στα ανοσοκύτταρα, προσδίδοντας, έτσι, μία άλλη διάσταση στην επικοινωνία τους με αυτά. <sup>34</sup>

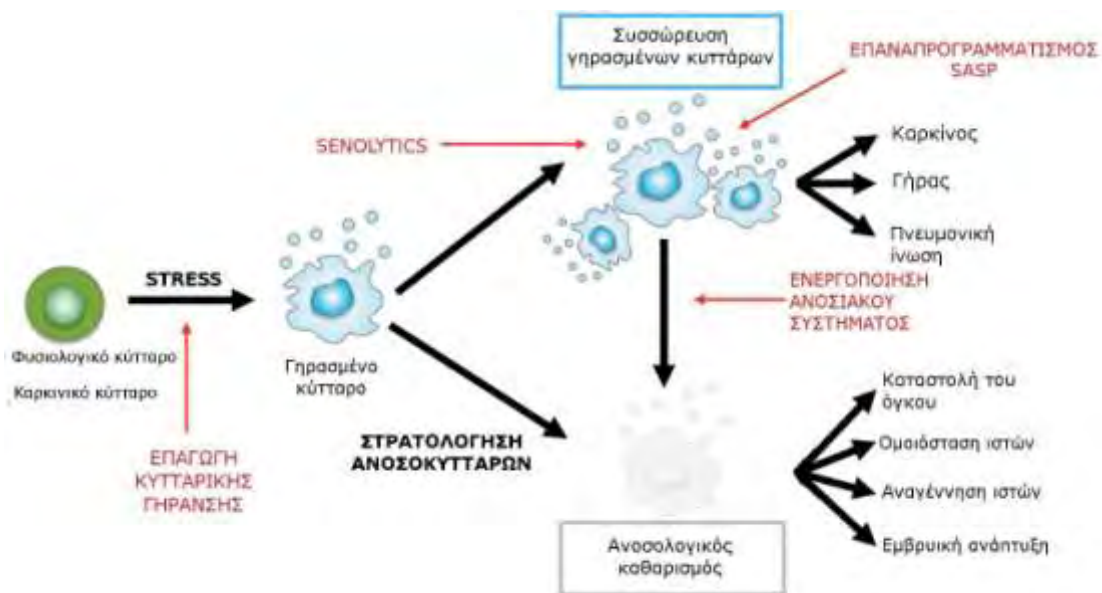
Τα πειράματα που περιγράφονται παρακάτω επιβεβαιώνουν τη σημασία του ανοσολογικού καθαρισμού στο πλαίσιο του SASP στον περιορισμό της εξέλιξης του

καρκίνου. Σε μοντέλα ποντικών, η κυτταρική γήρανση προκαλούμενη από ογκογονίδια και, πιο συγκεκριμένα από την υπερέκφραση του ογκογονιδίου Ras, προκαλεί την έκκριση του SASP. Η ενεργοποίηση CD4<sup>+</sup> διαμεσολαβούμενης ανοσιακής απόκρισης, στο πλαίσιο του SASP, συνεπάγεται περιορισμό των γηρασμένων κυττάρων και δρα ως τροχοπέδη στην εξέλιξη του όγκου.<sup>6</sup> Παρόμοια αποτελέσματα αναδείχθηκαν από μελέτες σε ποντίκια με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Στα πειράματα αυτά, η κυτταρική γήρανση μελετήθηκε στο πλαίσιο υπερέκφρασης του p53 σε ποντίκια όπου ανεστάλη η δράση ενός shRNA, μίας φουρκέτας που παρεμπόδιζε το p53. Οι χημειοκίνες που εκκρίνονται στρατολογούν κύτταρα NK και άλλα κύτταρα προκειμένου να εξαλείψουν τα γηρασμένα κύτταρα. Αντίθετα, απαλοιφή των CCL2 χημειοκινών από αντισώματα αποτρέπει τη στρατολόγηση NK κυττάρων και κατ' επέκταση τον καθαρισμό κυττάρων που έχουν υποστεί κυτταρική γήρανση, με αποτέλεσμα ο καρκίνος να συνεχίζει την καταστροφική του πορεία.<sup>6 34</sup>

Νεότερα δεδομένα ρίχνουν φως σε άγνωστες πτυχές της σχέσης του SASP και του ανοσιακού συστήματος. Επιστήμονες έδειξαν τη σημασία της σύνδεσης του συνδέτη RAE<sub>1ε</sub> των καρκινικών κυττάρων που έχουν υποστεί γήρανση με τα κύτταρα NK και, πιο συγκεκριμένα, με τον υποδοχέα τους NKG2D ή KLRK1. Σε άλλα μοντέλα ποντικών με ορθότοπη μεταμόσχευση μεταστατικών κυττάρων μελανώματος, η φαρμακευτική αναστολή των κινασών *auoiga* προκάλεσε κυτταρική γήρανση και αναστολή του πολλαπλασιασμού. Καθοριστική κρίθηκε η συμβολή των μακροφάγων, σημειώνοντας για άλλη μία φορά την άρρηκτη σχέση και συνεργασία που πρέπει να έχει η κυτταρική γήρανση και το SASP με το ανοσιακό σύστημα προκειμένου να επιτελέσουν την αντικαρκινική τους δράση.<sup>34</sup>

Άλλοι ερευνητές απέδειξαν ότι ο ανοσολογικός καθαρισμός των γηρασμένων κυττάρων όχι απλά περιορίζει την πορεία του όγκου, αλλά αποτρέπει και την καρκινογένεση. Οι ερευνητές αξιολόγησαν ιστούς στους οποίους κάτω από το ογκογόνο stress της μετάλλαξης G12V στο NRas επάγεται κυτταρική γήρανση. Οι προκαρκινικές αλλοιώσεις που προκύπτουν προσελκύουν μονοκύτταρα και μακροφάγα. Πρέπει να σημειωθεί στο σημείο αυτό η συμβολή της CD4<sup>+</sup>TH1 ανοσιακής απόκρισης για τον περιορισμό των γηρασμένων κυττάρων καθώς έχουν τη δυνατότητα να αναγνωρίζουν έναν νέο επίτοπο στο μεταλλαγμένο γονίδιο. Ποντίκια με ανοσοανεπάρκεια των NK κυττάρων ή των NK

κυττάρων ανέπτυξαν ηπατοκυτταρικό καρκίνο. Άλλη ερευνητική ομάδα μελέτησε την κυτταρική γήρανση σε οστά συνεπεία ακτινοβολίας. Αυτή στηρίζεται στην πρωτεΐνη Rb και σχετίζεται με την έκκριση της ιντερλευκίνης 6 (IL-6) και τη διήθηση από κύτταρα NK. Σε βλάβη του μηχανισμού ανοσολογικού καθαρισμού των γηρασμένων κυττάρων, τα ποντίκια εμφάνιζαν προδιάθεση στην ανάπτυξη οστεοσαρκώματος.<sup>34</sup> Στην Εικόνα 10 απεικονίζεται ο ανοσολογικός καθαρισμός των γηρασμένων κυττάρων και δίνεται μία πρώτη ιδέα για τις θεραπευτικές επιλογές που υπάρχουν και βασίζονται στη διαδικασία αυτή.



Εικόνα 10. Ανοσολογικός καθαρισμός γηρασμένων κυττάρων και θεραπευτικές επιλογές. Η συσσώρευση τους προκαλεί ένα σύνολο νοσημάτων. Αντίθετα με τον καθαρισμό τους επέρχονται οι ευεργετικές επιδράσεις του SASP και της κυτταρικής γήρανσης.<sup>34</sup>

### 3.7 Αντίλογος

Αν και η ογκοκατασταλτική δράση της κυτταρικής γήρανσης δεν μπορεί να διαπραγματευθεί, φαίνεται ότι η κυτταρική γήρανση έχει και μία άλλη όψη ικανή να προάγει την καρκινογένεση. Οι επιστήμονες υποστηρίζουν ότι, πρώτον, και τα γηρασμένα κύτταρα είναι επιρρεπή σε μεταλλάξεις, γενετική και επιγενετική αστάθεια γνωρίσματα που χαρακτηρίζουν τον καρκίνο. Δεύτερον, το SASP προάγει την

επικοινωνία των κυττάρων, την εξαλλαγή τους σε καρκινικά και την εξάπλωση τους με την αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.<sup>24</sup> Γενικά, θα λέγαμε ότι η παροδική κυτταρική γήρανση, όταν ακολουθείται από ανοσολογικό καθαρισμό των γηρασμένων κυττάρων και αναδιαμόρφωση του ιστού, είναι επωφελεία του οργανισμού και έχει ογκοκατασταλτική δράση. Χρόνια κυτταρική γήρανση με συσσώρευση γηρασμένων κυττάρων λόγω ανεπαρκούς μηχανισμού καθαρισμού τους οδηγεί σε γήρανση και καρκίνο.<sup>34</sup>

### **3.8 Κυτταρική γήρανση και ανταγωνιστικός πλειοτροπισμός**

Η θεωρία του ανταγωνιστικού πλειοτροπισμού περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Williams το 1957. Σύμφωνα με αυτή, τα γονίδια που ασκούν βλαβερή δράση σε μεγάλη ηλικία, ασκούν ιδιαίτερα θετική δράση επωφελεία του οργανισμού στην αρχή της ζωής των οργανισμών. Αυτό έχει συμβεί στο πλαίσιο της εξέλιξης της γήρανσης, με αποτέλεσμα τα γονίδια αυτά να έχουν αποκτήσει εξελικτικό πλεονέκτημα με τη δράση τους στην αρχή της ζωής, έτσι ώστε να εξισορροπούνται οι αρνητικές συνέπειες που επιφέρουν με την πάροδο της ηλικίας.<sup>54</sup>

Βασικό παράδειγμα της θεωρίας του ανταγωνιστικού πλειοτροπισμού αποτελεί η κυτταρική γήρανση. Σε νεαρή ηλικία, ο μηχανισμός αυτός έχει προστατευτική δράση ενάντια στον καρκίνο. Τα γηρασμένα κύτταρα, όμως, με την πάροδο της ηλικίας δημιουργούν ένα μικροπεριβάλλον που προάγει την καρκινογένεση.<sup>24</sup> Με άλλα λόγια η βιολογική γήρανση που επέρχεται μέσω του μηχανισμού της κυτταρικής γήρανσης αποτελεί το τίμημα για την προστασία από τον καρκίνο. Ανταγωνιστικό πλειοτροπισμό εμφανίζει στη δράση του τόσο το p53 όσο και το p16, τα οποία όπως είδαμε, αποτελούν βασικούς συντελεστές της κυτταρικής γήρανσης. Και σε αυτήν την περίπτωση η προστασία που παρέχουν έναντι του καρκίνου μπορεί να οδηγήσει σε επιταχυνόμενη γήρανση.<sup>49</sup> Το ίδιο ισχύει και για το SASP, το οποίο, όπως φαίνεται, έχει ευεργετική επίδραση σε νεαρά άτομα προάγοντας την επούλωση των τραυμάτων και την αναγέννηση των ιστών, αλλά και την καρκινογένεση με την πάροδο της ηλικίας.<sup>24</sup>

### 3.9 Η «σκοτεινή πλευρά» του SASP

Όπως, λοιπόν, περιγράφηκε σε προηγούμενη ενότητα, οι ουσίες που εκκρίνονται στο πλαίσιο του SASP εξέρχονται των γηρασμένων κυττάρων στον εξωκυττάριο χώρο και με την αυτοκρινή και παρακρινή δράση τους αναστέλλουν την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και τον πολλαπλασιασμό και επάγουν κυτταρική γήρανση στο λοιπό γειτονικό κυτταρικό πληθυσμό, κυρίως με την καθοριστική συμβολή της πρωτεΐνης PAI-1. <sup>6</sup> Όσο είναι παροδική η έκφραση του SASP, δημιουργούνται σήματα αναγέννησης στους ιστούς και προάγεται η ανανέωση αυτών. Νεότερα δεδομένα υποστηρίζουν ότι παρατεταμένα σήματα αναγέννησης φέρνουν στον αντίποδα την παρακρινή δράση του SASP. Τα κύτταρα αναγνωρίζουν αυτά τα παρατεταμένα σήματα ως ογκογόνα και, τελικά, αναπτύσσουν ογκοκατασταλτικούς μηχανισμούς για να προστατευτούν. Αυτό έχει ως συνέπεια την απώλεια της αναγεννητικής ικανότητας του ιστού. <sup>27</sup> Με την παρατεταμένη, όμως, έκφραση του SASP και λόγω μειωμένης κάθαρσης του ανοσοποιητικού, τα γηρασμένα κύτταρα αθροίζονται και προκαλείται περαιτέρω πρόωρη γήρανση του γειτονικού πληθυσμού. Αυτό οδηγεί σε διαταραχή της ομοιόστασης του ιστού, γήρανση αυτού και πρόκληση καρκίνου, όπως και άλλων ασθενειών σχετιζόμενων με το γήρας. Στην «σκοτεινή» αυτή πλευρά του SASP έρχεται να προστεθεί μία νέα κλινική οντότητα: το inflammaging. <sup>6</sup>

Το inflammaging αποτελεί μία χρόνια άσηπτη συστηματική φλεγμονή που συνοδεύει τη γήρανση και προκαλείται από το SASP. <sup>6</sup> Για την πρόκληση και τη διατήρησή της απαιτείται η δράση των κυττάρων του ανοσιακού συστήματος, με σημαντικότερη αυτή των μακροφάγων, κάνοντας τους επιστήμονες να παραφράζουν τον όρο σε macrophaging. Η κλινική οντότητα αυτή δυσχεραίνει τον καθαρισμό των γηρασμένων κυττάρων με αποτέλεσμα να επιτείνει την έκφραση του SASP και των βλαβερών συνεπειών του. <sup>55</sup>

Αναφορικά με την ογκογόνο δράση του SASP φαίνεται ότι διαδραματίζει καταλυτικό ρόλο ο παράγοντας NF-kB. Στο πλαίσιο του SASP με τα μηνύματα αναγέννησης του ιστού και, κυρίως, με τη δράση του παράγοντα αυτού, προωθούνται και πολλαπλασιάζονται τα υπάρχοντα βλαστικά κύτταρα και αποδιαφοροποιούνται προς de novo βλαστικά κύτταρα άλλα διαφοροποιημένα ώριμα κύτταρα. Αυτά έπειτα εξαλλάσσονται σε καρκινικά βλαστικά με την απορρύθμισή τους μέσω μεταλλάξεων.



Αυτό προκύπτει από πειραματικές μελέτες σε ποντίκια με ορθοκολικό καρκίνο. Καθώς το SASP αυξάνει τον αριθμό των βλαστικών κυττάρων υπάρχουν αυξημένες πιθανότητες να αποκτήσουν κάποια μετάλλαξη. Σε κάθε περίπτωση, το SASP φαίνεται να προωθεί τα κύτταρα προς μία πιο «εύπλαστη μορφή» με αποτέλεσμα αυτά να καθίστανται περισσότερο επιρρεπή σε καρκινική εξαλλαγή. Αυτός εμφανίζεται ως ο πλέον πιθανός μηχανισμός με τον οποίο το SASP προκαλεί την καρκινογένεση συσχετίζεται με το μοντέλο των καρκινικών βλαστικών κυττάρων.<sup>27</sup>

Η σχέση πάντως μεταξύ κυτταρικής γήρανσης και αναγέννησης των ιστών έχει ήδη δειχθεί σε μοντέλα ποντικών με την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων OCT4, SOX2, KLF4 και cMYC. Οι παράγοντες αυτοί δύνανται να επαναπρογραμματίσουν κύτταρα και να τους προσδώσουν ιδιότητες βλαστικών κυττάρων. Στους ιστούς των ποντικών αυτών ανευρέθησαν υψηλά ποσοστά γηρασμένων κυττάρων και αυξημένη δεινότητα επαναπρογραμματισμού, ενώ και εδώ καταλυτικός αποδείχθηκε ο ρόλος της IL 6.<sup>16 24</sup>

Ένα σύνολο μελετών υποστηρίζει τον παραπάνω μηχανισμό που βασίζεται στην ικανότητα του SASP να προσδίδει «πλαστικότητα» στους ιστούς και στην ογκογόνο δράση που δύνανται να επιφέρει. Σε προκαρκινικές αλλοιώσεις βρίσκονται ταυτόχρονα θετικοί οι δείκτες κυτταρικής γήρανσης και βλαστικών κυττάρων. Μελέτες απέδειξαν ότι τα CD34 θετικά κύτταρα από τη μία ρυθμίζουν θετικά τα βλαστοκύτταρα στο δέρμα και, από την άλλη, ενοχοποιούνται για καρκίνωμα από πλακώδη κύτταρα με την απώλεια του p53. Άλλα στοιχεία που προέκυψαν από διαφορετικές ερευνητικές ομάδες συνηγορούν και αυτά υπέρ της σχέσης αυτής μεταξύ του SASP και της καρκινογένεσης. Ο δείκτης των βλαστικών κυττάρων nestin, όταν ενεργοποιείται ανεξέλεγκτα στο ήπαρ, προκαλεί καρκινογένεση. Επιπλέον, ένα ιδιαίτερα σημαντικό στοιχείο, είναι ότι τα κύτταρα που διαφεύγουν της κυτταρικής γήρανσης αποκτούν ιδιαίτερα επιθετικές ιδιότητες καρκινικών βλαστικών κυττάρων μέσω της δράσης του NF-kB παράγοντα και της διατήρησης της έκφρασης του SASP. Αυτό αποδείχθηκε τόσο σε μελέτες κυττάρων που διέφυγαν την επαγόμενη από χημειοθεραπεία κυτταρική γήρανση όσο και την κυτταρική γήρανση λόγω απώλειας του p16.<sup>27</sup>

Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί η διαφορά στη δράση της κυτταρικής γήρανσης και του SASP στα βλαστοκύτταρα. Όπως είδαμε, το SASP προάγει τα βλαστοκύτταρα.<sup>27</sup>

Αντίθετος είναι όμως ο ρόλος της κυτταρικής γήρανσης στα ενήλικα βλαστοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά δεν διαθέτουν το ένζυμο τελομεράση και έτσι είναι δυνατό να υποστούν αντιγραφική γήρανση. Επιπλέον, δέχονται διάφορα ερεθίσματα με αποτέλεσμα να υφίστανται πρόωρη γήρανση. Με τη γήρανση των κυττάρων αυτών χάνεται η ικανότητα τους να πολλαπλασιάζονται και να διαφοροποιούνται. Στην ουσία χάνεται το δυναμικό αναγέννησης του ιστού, γιατί τα ενήλικα βλαστοκύτταρα μειώνονται και αριθμητικά και χάνουν την ικανότητά τους να απαντούν στα εξωτερικά ερεθίσματα κατάλληλα.<sup>6</sup>

Η ικανότητα της κυτταρικής γήρανσης να προάγει την καρκινογένεση και την εξέλιξη του όγκου αποδίδεται σχεδόν αποκλειστικά στην δράση του SASP τόσο επί των κυττάρων των προκαρκινικών αλλοιώσεων όσο και επί του μικροπεριβάλλοντος του όγκου.<sup>4</sup> Κυρίως, οι κυτταροκίνες IL 6 και IL 8, ο αυξητικός παράγοντας PDGF, διάφορες μεταλλοπρωτεϊνάσες και εξωκυττάρια κυστίδια με την έκκριση τους στο πλαίσιο του SASP επιφέρουν αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και φλεγμονή στο μικροπεριβάλλον, όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 11. Αναφορικά με τα εξωκυττάρια κυστίδια, αξίζει να αναφερθεί ότι έχουν την ικανότητα να μεταφέρουν μη διαλυτά μακρομόρια του SASP, όπως λιπίδια και υδρογονάνθρακες. Υπερεκκρίνονται στην κυτταρική γήρανση και προάγουν κατά κύριο λόγο τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Η EphA2, η οποία φωσφορυλιώνεται στην κυτταρική γήρανση και «πακετάρεται» στα κυστίδια αυτά εμφανίζεται ως η κύρια υπεύθυνη για την δράση αυτή. Σε συνεργασία με την Ephrin-1, η οποία εκφράζεται από τα καρκινικά κύτταρα, αναστέλλουν τη σηματοδότηση Erk και έτσι προάγουν τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων.<sup>24</sup> Το ίδιο συμβαίνει και με την έκκριση DNA με τα κυστίδια αυτά, η οποία, όπως φαίνεται, σχετίζεται με την πρόκληση φλεγμονής. Ωστόσο, τα κυστίδια, όταν φέρουν άλλο περιεχόμενο μπορεί να δράσουν και ογκοκατασταλτικά.<sup>56</sup>

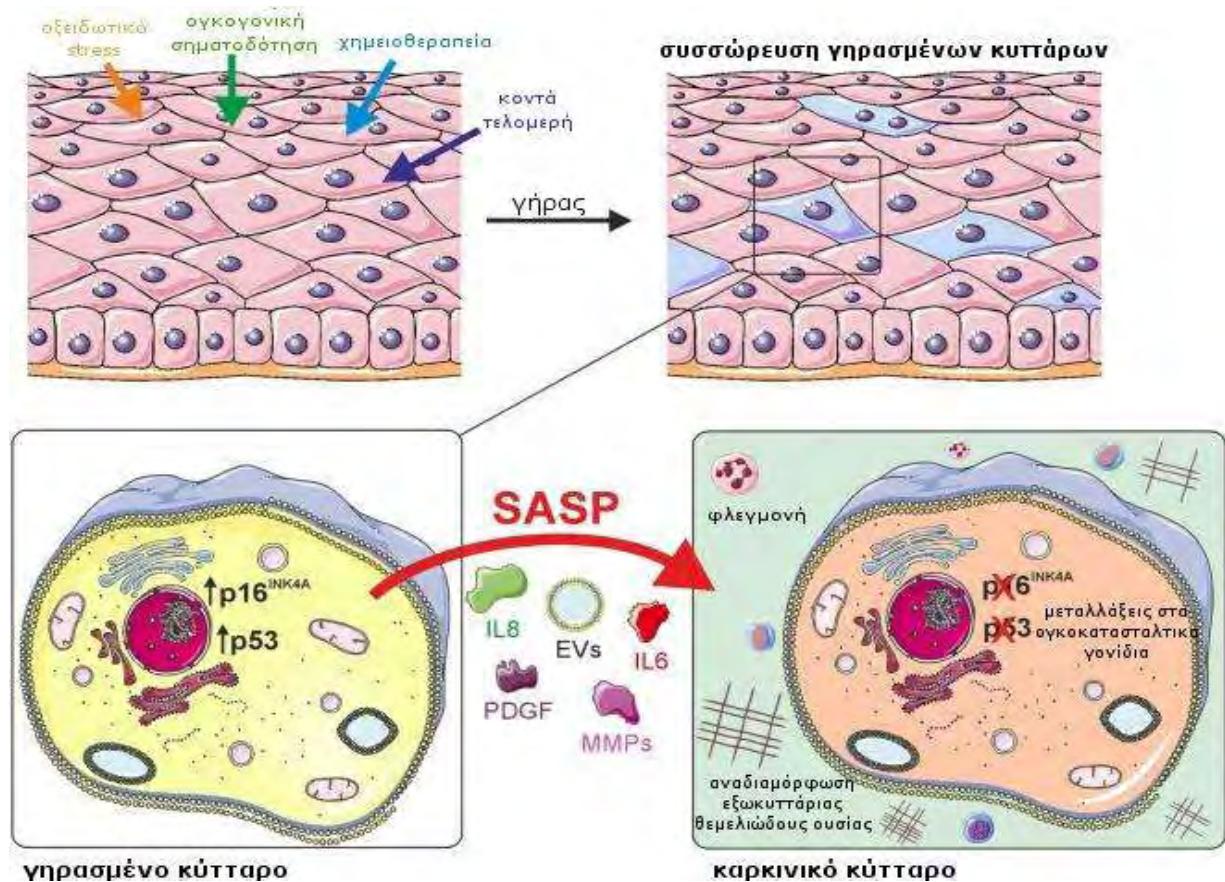
Η δράση του SASP στο μικροπεριβάλλον του όγκου είναι καθοριστικής σημασίας για την καρκινογένεση και την πορεία που αυτός θα σημειώσει. Στρωματικά κύτταρα που έχουν υποστεί γήρανση επάγουν τον πολλαπλασιασμό των παρακείμενων παρεγχυματικών κυττάρων εκκρίνοντας μία σειρά από αυξητικούς παράγοντες. Για τον πολλαπλασιασμό προκαρκινικών ή καρκινικών επιθηλιακών κυττάρων μαστού και προστάτη, κερατινοκυττάρων και μελανοκυττάρων, μελέτες κατέδειξαν ως υπεύθυνη την δράση των γηρασμένων ινοβλαστών. Ξεχωριστός κρίνεται, εκτός των άλλων και ο ρόλος

των μεταλλοπρωτεϊνών. «Χαλαρώνουν» την σύσταση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και έτσι παρεμποδίζουν την αναστολή του πολλαπλασιασμού εξ επαφής. Όπως αποδείχθηκε σε ποντίκια, όσο υψηλότερης συγκέντρωσης σε υαλουρονικό οξύ ήταν η θεμέλια ουσία και άρα μεγαλύτερης μοριακής μάζας τόσο περισσότερο ανθεκτικά ήταν τα ποντίκια σε καταστάσεις stress, αφού ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός αναστελλόταν εξ επαφής.<sup>24</sup> Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες δύνανται να αναδιαμορφώσουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και να διευκολύνουν την ανάπλαση των ιστών. Πέραν αυτού, όμως, ανοίγουν τους δρόμους για την εξάπλωση των καρκινικών κυττάρων, τόσο με τη μορφή διήθησης όσο και μετάστασης.<sup>4</sup>

Το SASP επάγει την επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή, που σχετίζεται άμεσα με την εξέλιξη και την πρόγνωση του καρκίνου. Επιπλέον, αυξάνει τη διεισδυτικότητα των κυττάρων σε καλλιέργειες επιθηλιακής προέλευσης σε προκαρκινικό στάδιο. Η δράση αυτή του SASP έχει αποδοθεί στην IL 6.<sup>6</sup> Οι επιστήμονες απέδειξαν την ικανότητα του SASP να προκαλεί μεταστάσεις στα οστά από καρκινικά κύτταρα του μαστού, δημιουργώντας «ευνοϊκό» περιβάλλον από την γήρανση των οστεοβλαστών. Βασικός παράγοντας για τη δημιουργία μεταστάσεων θεωρείται και στην περίπτωση αυτή η IL 6, αφού μετά τη χορήγηση αντισωμάτων ικανών να εξουδετερώσουν τη δράση της, περιορίστηκε κατακόρυφα το μεταστατικό καρκινικό φορτίο.<sup>4</sup>

Οι κυτταροκίνες και οι ανοσορρυθμιστικές ουσίες που εκκρίνονται στο πλαίσιο του SASP και η δράση τους στον ανοσολογικό καθαρισμό περιγράφηκε σε προηγούμενη ενότητα. Φαίνεται ότι ο ρόλος αυτών των ουσιών δεν είναι μόνο αυτός. Όπως αποδείχθηκε, οι ουσίες αυτές καθιστούν το μικροπεριβάλλον ανοσοανεπαρκές, δίνοντας τη δυνατότητα περαιτέρω εξέλιξης του όγκου. Σε ποντίκια που εμφανίζουν κυτταρική γήρανση λόγω απώλειας του PTEN εντοπισμένα στον προστάτη, εκφράζεται ισχυρό SASP αλλά τα ποντίκια εμφανίζουν διηθητικό αδενοκαρκίνωμα. Οι όγκοι διηθούνται από μυελικά κύτταρα CD11b+Gr1+ με κατασταλτική δράση επί των CD8+ κυτταροτοξικών και NK κυττάρων, με αποτέλεσμα να δημιουργείται ένα μικροπεριβάλλον κατάλληλο για ογκογένεση. Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν από την έρευνα του Ruhland και των συνεργατών του για τα γηρασμένα στρωματικά κύτταρα. Μεγάλης σημασίας θεωρείται η έκκριση της IL 6 από το στρώμα στη δημιουργία αυτού του ογκογόνου ανοσοκατεσταλμένου μικροπεριβάλλοντος.<sup>4</sup>

Την «σκοτεινή» πλευρά του SASP την διαπιστώνουμε, όπως περιγράφεται και στο Κεφάλαιο 4, και στην πρόκληση κυτταρικής γήρανσης για θεραπευτικούς λόγους. Στην παράπλευρη και μη στοχευμένη πρόκληση γήρανσης στα κύτταρα του στρώματος του όγκου αλλά και σε απομακρυσμένες θέσεις και την επακόλουθη έκφραση του SASP οφείλονται σε μεγάλο βαθμό τα ποσοστά υποτροπής, δευτεροπαθών όγκων και βλάβης των ιστών.<sup>24</sup>



Εικόνα 11. Η κυτταρική γήρανση και το SASP διαμορφώνουν ένα μικροπεριβάλλον “φιλικό” προς τον όγκο. Η κυτταρική γήρανση χαρακτηρίζεται από την ενεργοποίηση των ογκοκατασταλτικών p53 και p16. Επιπλέον, στο πλαίσιο του SASP εκκρίνονται κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες, μεταλλοπρωτεϊνάσες και εξωκυττάρια κυστίδια. Αυτά συμβάλλουν στην πρόκληση φλεγμονής και στην αναδιαμόρφωση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.<sup>24</sup>

### **3.10 Ομοιότητα CAFs και γηρασμένων κυττάρων**

Μεγάλη ομοιότητα παρατηρείται μεταξύ των CAFs και των γηρασμένων κυττάρων. Η προέλευση των CAFs ποικίλει. Μπορεί να προέρχονται από ινοβλάστες με την επίδραση του PDGF ή άλλων μελών της οικογένειας TGF-β. Διαφορετικά, φυσιολογικά ενδοθηλιακά ή επιθηλιακά κύτταρα μπορούν να υποστούν επιθηλιακή προς μεσεγχυματική μετατροπή και να εξαλλαγούν σε CAFs. Εναλλακτική πηγή προέλευσης των CAFs είναι τα μεσεγχυματικά βλαστοκύτταρα από τον μυελό των οστών. Τα καρκινικά κύτταρα έχουν την ικανότητα να εκκρίνουν ειδικές ουσίες που προσελκύουν τα CAFs, τα βοηθούν στην επιβίωσή τους στο μικροπεριβάλλον του όγκου και προάγουν την έκκριση ουσιών από αυτά. Τα CAFs, με τη σειρά τους, απελευθερώνουν παράγοντες αποδόμησης της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, αγγειογενετικούς παράγοντες και χημειοκίνες με ογκογόνο και διηθητική δράση. Τα CAFs διακρίνονται σε γηρασμένους ινοβλάστες και μυοϊνοβλάστες, με κοινό χαρακτηριστικό την έκφραση της ακτίνης. Χαρακτηρίζονται δε από την ικανότητα τους να διευκολύνουν την κινητικότητα των καρκινικών κυττάρων και την εξάπλωση του όγκου. Η ογκογόνος δράση των CAFs αποδίδεται σε ένα σύνολο παραγόντων όπως ο SDF-1, ο GROα, ο GROβ, η IL-8, οι MCP 1 και 8. Καταλυτική είναι, όμως, η δράση του CXCL12. Οι παράγοντες αυτοί εκκρίνονται και από τα γηρασμένα κύτταρα στο πλαίσιο του SASP. Επιπλέον, θετική ρύθμιση του miR-335 παρατηρείται τόσο στα CAFs όσο και στα φυσιολογικά γηρασμένα βλαστοκύτταρα και αυτή με τη σειρά της ρυθμίζει το εκκριτικό προφίλ και άλλων κυττάρων. Επομένως, τα γηρασμένα βλαστοκύτταρα και τα CAFs έχουν παρόμοια δράση και προάγουν τον καρκίνο, εκκρίνοντας παρόμοιες ουσίες.<sup>24</sup>

### **3.11 Κυτταρική γήρανση και το μοντέλο πρωτεΐνης ΑΑ**

Όπως παρουσιάστηκε στο Κεφάλαιο 2, δύο είναι τα επικρατέστερα μοντέλα καρκινογένεσης: το στοχαστικό και το ιεραρχικό. Έχει δημιουργηθεί, όμως, τα τελευταία χρόνια μία νέα θεωρία αναφορικά με την καρκινογένεση. Σύμφωνα με αυτή, ο κυρίαρχος ρυθμιστής της καρκινογένεσης είναι μία λειτουργική πρωτεΐνη η οποία έχει υποστεί ρήξη, όχι όμως λόγω μετάλλαξης. Στην ουσία δεν καταργεί τα δύο προαναφερθέντα μοντέλα, αλλά παρουσιάζει τις μεταλλάξεις με τις οποίες σχετίζονται ως δευτερεύοντα

γεγονότα που έπονται της ρήξης. Στην πρωτεΐνη αυτή, έχει δοθεί προς το παρόν η ονομασία ΑΑ. Πώς, όμως, εμπλέκεται η κυτταρική γήρανση; Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, το stress το οποίο απαιτείται για την ρήξη αυτής της πρωτεΐνης συμβαίνει στην αρχή της διαδικασίας της κυτταρικής γήρανσης. Το κύτταρο δραπετεύει από το μηχανισμό αυτό, όμως συνεχίζει να ανθίσταται της απόπτωσης και της δράσης του ανοσιακού συστήματος. Με άλλα λόγια, η θεωρία αυτή βασίζεται στο μηχανισμό της κυτταρικής γήρανσης, αφού τα κύτταρα τα οποία δραπετεύουν, πριν ολοκληρωθεί ο μηχανισμός, έχουν όλα τα απαραίτητα χαρακτηριστικά για να ξεκινήσουν την καρκινογένεση. Η παρούσα θεωρία μελετάται και δίνει μία νέα διάσταση στην καρκινογένεση με βασικό συντελεστή την κυτταρική γήρανση.<sup>57</sup>

### **3.12 Κυτταρική γήρανση και ανεπάρκεια ανοσοποιητικού συστήματος**

Η κυτταρική γήρανση του ανοσοποιητικού συστήματος φαίνεται ότι περιορίζει και αυτή την ανοσιακή απόκριση κατά του όγκου, επιτρέποντας έτσι την ανοσιακή διαφυγή. Κυτταρική γήρανση των «παρθένων» και των αντιδραστικών Τ λεμφοκυττάρων μπορεί να επαχθεί in vitro μέσω ρυθμιστικών Τ κυττάρων καθώς και καρκινικών κυττάρων από κυτταρικές σειρές και πρωτοπαθείς όγκους. Η επαγωγή της κυτταρικής γήρανσης από τα ρυθμιστικά κύτταρα γίνεται μέσω του p38 και των ERK1/2 κλάδων του MAPK σηματοδοτικού μονοπατιού, σε μοριακό επίπεδο. Αντίστοιχα, τα καρκινικά κύτταρα προκαλούν κυτταρική γήρανση σε Τ κύτταρα με τη διακυτταρική μεταφορά cAMP, η οποία μπορεί να ανασταλεί με τη δράση της IL 8. Έτσι, λοιπόν, προκύπτει ότι τόσο μέσω της δράσης του SASP, όσο και των κυττάρων του ανοσιακού και των καρκινικών κυττάρων προκαλείται ανοσοκαταστολή και, τελικά, ανάπτυξη του όγκου.<sup>4</sup>

## **Κεφάλαιο 4. Θεραπευτικές παρεμβάσεις κατά του καρκίνου με άξονα την κυτταρική γήρανση.**

### **4.1 Ακτινοθεραπεία-Χημειοθεραπεία και Κυτταρική Γήρανση**

Η συμβατική αντικαρκινική θεραπεία με ακτινοθεραπεία και χημειοθεραπεία έχει ως στόχο την καταστροφή των καρκινικών κυττάρων. Η δράση της είναι ταχύτατη, αφού μειώνει σε σύντομο χρονικό διάστημα τη μάζα του όγκου, ωστόσο, οι υποτροπές και οι μεταστάσεις είναι συχνές.<sup>53</sup> Για πολλά χρόνια, πίστευαν ότι ο μοναδικός μηχανισμός που σχετιζόταν με τις θεραπείες αυτές ήταν η απόπτωση. Νεότερα δεδομένα, όμως, έφεραν στο προσκήνιο έναν “εναλλακτικό” μηχανισμό, όχι κυτταρικού θανάτου, αλλά αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού: την κυτταρική γήρανση, όπως αυτή προκαλείται στο πλαίσιο θεραπευτικών παρεμβάσεων.<sup>53</sup> Αντιγραφική γήρανση, άλλωστε, δεν υφίσταται στα καρκινικά κύτταρα καθώς σε αυτά εκφράζεται η τελομεράση.<sup>58</sup> Ο τύπος, λοιπόν, αυτός της κυτταρικής γήρανσης, αν και ίσως ο λιγότερο μελετημένος, αναδύεται ως πολλά υποσχόμενη απάντηση στα υψηλά ποσοστά υποτροπών και αντίστασης στη θεραπεία.<sup>53 58</sup>

Η κυτταρική γήρανση στο πλαίσιο της χημειοθεραπείας αποτελεί στρατηγικό στόχο γιατί με το μηχανισμό αυτό δύναται να μειωθεί η δόση των χημειοθεραπευτικών φαρμάκων. Έτσι, λύνεται το θέμα της αντίστασης λόγω διαταραχής της απόπτωσης στα καρκινικά κύτταρα με το μικρότερο δυνατό “βιολογικό κόστος”. Μελέτες έδειξαν, ότι αυτός ο τύπος κυτταρικής γήρανσης είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικός στην αναστολή του υπέρμετρου πολλαπλασιασμού σε χαμηλές δόσεις χημειοθεραπείας. Ωστόσο, η παρουσία και ο αριθμός των γηρασμένων καρκινικών κυττάρων που αφήνει πίσω επηρεάζει δυσμενώς το τελικό αποτέλεσμα και με αυτό τον τρόπο την πρόγνωση των ασθενών.<sup>53</sup>

Ομοίως και η ακτινοθεραπεία έχει ως στόχο την εξόντωση των καρκινικών κυττάρων, προκαλώντας βλάβη στο γενετικό τους υλικό. Η θεραπεία, αυτή, στηρίζεται στο αποτέλεσμα του ιονισμού, στην ιδιότητα, δηλαδή, εκείνη να φορτίζει την ύλη, να δημιουργεί ιόντα και να σπάει τους δεσμούς των χημικών ενώσεων. Περιλαμβάνει ακτινοβολία με φωτόνια (χ και γ) και ειδική ακτινοβολία (α, νετρονίων, ηλεκτρονίων και πρωτονίων). Είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική και αυξάνει σημαντικά τα ποσοστά επιβίωσης των καρκινοπαθών. Προκειμένου, όμως, να βελτιωθεί περαιτέρω η

δραστικότητα της απαιτείται αύξηση της ευαισθησίας των καρκινικών κυττάρων. Αυτή η ευαισθητοποίηση, όπως προέκυψε από μελέτες, μπορεί να επιτευχθεί με ακτινοθεραπεία χαμηλής κλίμακας, η οποία επάγει κυτταρική γήρανση. Άλλες μελέτες, επίσης, κατέδειξαν ότι είναι ο χρόνος και η δόση που καθορίζουν και βελτιώνουν την αποτελεσματικότητα της ακτινοθεραπείας. Το ενδιαφέρον, λοιπόν, στρέφεται προς την ακτινοθεραπεία χαμηλής δόσης και έντασης, η οποία θα είναι ικανή να επάγει την κυτταρική γήρανση σε όλα τα στάδια του καρκίνου και να μειώσει την τοξικότητα της ακτινοβολίας. Εφαρμογή έχει βρει στον καρκίνο του θυρεοειδούς, του πνεύμονα, του μαστού, της κεφαλής και του τραχήλου.<sup>53</sup>

Σε ερευνητικό επίπεδο, έχει αποδειχθεί η ύπαρξη ενισχυτών κυτταρικής γήρανσης που σε συνδυασμό με τη συμβατική θεραπεία έχουν τη δυνατότητα να βελτιώσουν το θεραπευτικό αποτέλεσμα. Όπως έχει αναφερθεί, η κλασική αντικαρκινική θεραπεία έχει ως στόχο την πρόκληση βλάβης στο γενετικό υλικό των κυττάρων, με αποτέλεσμα την επαγωγή κυτταρικής γήρανσης σε κάποια κύτταρα. Έρευνες έδειξαν ότι παράγοντες που αυξάνουν το οξειδωτικό stress στο κύτταρο με επακόλουθες βλάβες σε πρωτεΐνες και άλλα μακρομόρια αυξάνουν τον αριθμό των επαγόμενων γηρασμένων καρκινικών κυττάρων. Η ετοποσίδη και άλλοι αναστολείς τοποϊσομεράσης ως γνωστό δρουν προκαλώντας βλάβη στο DNA. Φαίνεται, όμως, ότι επιτυγχάνουν υψηλότερα ποσοστά κυτταρικής γήρανσης επικουρικά με την κλασική αντικαρκινική θεραπεία, προκαλώντας υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων. Με αυτό τον τρόπο ανοίγεται ένα νέο μονοπάτι για την επίτευξη καλύτερων αποτελεσμάτων με τη συμβατική θεραπεία. Η επαγόμενη από θεραπευτικές παρεμβάσεις κυτταρική γήρανση χρήζει περαιτέρω διερεύνησης αναφορικά με τη συμβολή της στην έκβαση της αντικαρκινικής θεραπείας.

58

Τα γηρασμένα καρκινικά κύτταρα, ωστόσο, παραμένουν στους ιστούς και μετά το πέρας της θεραπείας και διατηρούνται μεταβολικά ενεργά εκκρίνοντας κυτταροκίνες και διάφορους αυξητικούς παράγοντες. Η σημασία τους πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω καθώς, όπως υποστηρίζεται από πολλούς ερευνητές είναι πιθανό να αποτελούν “ρεζερβουάρ” υποτροπής του καρκίνου.<sup>59 60</sup>



## 4.2 Επαγωγή κυτταρικής γήρανσης

Με τη διαπίστωση ότι η κυτταρική γήρανση υφίσταται και στα καρκινικά κύτταρα και την αναγνώριση της αντικαρκινικής της δράσης, οι επιστήμονες αναζητούν σε αυτή την απάντηση στην ελαττωματική απόπτωση που χαρακτηρίζει τον καρκίνο. Όπως είδαμε στην προηγούμενη ενότητα, η κυτταρική γήρανση επάγεται στο πλαίσιο της κλασικής αντικαρκινικής θεραπείας (τόσο στα καρκινικά όσο και σε φυσιολογικά κύτταρα), ενώ γίνονται προσπάθειες να μεγιστοποιηθεί το θεραπευτικό κέρδος, αξιοποιώντας πλήρως το μηχανισμό αυτό. Στο προσκήνιο, όμως, έρχεται μία άλλη προσέγγιση του μηχανισμού αυτού: η επιλεκτική επαγωγή κυτταρικής γήρανσης στα καρκινικά κύτταρα από δραστικούς παράγοντες.<sup>61</sup> Αξίζει να σημειωθεί ότι αν και η απόπτωση επέρχεται ταχύτατα εντός 24ώρου, η έκθεση στους παράγοντες αυτούς επιφέρει κυτταρική γήρανση μετά το πέρας 3 έως 7 ημερών.<sup>62</sup>

Όπως είναι γνωστό, με την επαγωγή της κυτταρικής γήρανσης, προκαλείται φλεγμονώδης απόκριση στο πλαίσιο του SASP ικανή να εξοντώσει τα μη γηρασμένα καρκινικά κύτταρα. Επομένως, η επαγόμενη κυτταρική γήρανση συμβάλλει στην αντιμετώπιση του καρκίνου και μέσω πρόκλησης φλεγμονής. Αυτό που μένει, ωστόσο, να διευκρινιστεί και να στοχευθεί κατάλληλα είναι η υποομάδα εκείνη των καρκινικών κυττάρων προκειμένου να εξολοθρευθεί πλήρως ο όγκος. Τέλος, οι επιστήμονες προτείνουν ένα διαφορετικό θεραπευτικό σχήμα με “2 απανωτά χτυπήματα”. Αυτό περιλαμβάνει, αρχικά την επαγωγή γηρασμένων καρκινικών κυττάρων και μετά την καταστροφή τους. Το συνιστώμενο σχήμα χορήγησης (ταυτόχρονο, σε ακολουθία ή επικαλυπτόμενο) μένει να διερευνηθεί.<sup>52</sup>

### 4.2.1 Αναστολείς κυκλινοεξαρτώμενων κινασών CDK4/6

Δρουν αναστέλλοντας τον κυτταρικό κύκλο μέσω αναστολής φωσφορυλίωσης της πρωτεΐνης Rb. Νεότερες μελέτες δείχνουν ότι οι αναστολείς αυτοί, με σημαντικότερο το Ribociclib, εμπλέκονται στη βιολογία του καρκίνου και μέσω άλλων μηχανισμών.<sup>63</sup> Ο Miettinen και οι συνεργάτες του παρουσιάζουν ως βασικό μηχανισμό επαγωγής κυτταρικής γήρανσης των παραγόντων αυτών την υπέρμετρη ενεργοποίηση των πρωτεοσωμάτων.<sup>52</sup> Το LEE011/Ribociclib/Kisqali (Novartis) έχει πάρει έγκριση για

χρήση το 2017 τόσο στην Αμερική όσο και στην Ευρώπη σε ασθενείς πάσχοντες από καρκίνο του μαστού σε συνδυασμό με ανταγωνιστές ορμονικών υποδοχέων όπως η λετροζόλη.<sup>4 64</sup> Επιπλέον, πολλά υποσχόμενη διαφαίνεται η δράση τους σε συνδυασμό με την σισπλατίνη για την αντιμετώπιση ασθενών υψηλής κακοήθειας καρκίνου των ωοθηκών. Ωστόσο, οι κλινικές δοκιμές είναι αυτές που θα επιβεβαιώσουν την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια του σχήματος αυτού.<sup>65</sup> Στην ομάδα αυτή ανήκουν, τέλος, το Palbociclib (IMBRANCE, Pfizer Inc.) και το Abemaciclib (Eli Lilly and Company) τα οποία έχουν πάρει έγκριση στην Αμερική για την αντιμετώπιση ασθενών με καρκίνο του μαστού με θετικούς οιστρογονικούς υποδοχείς και HER2 αρνητικούς.<sup>4</sup>

#### **4.2.2 Ενίσχυτές του ογκοκατασταλτικού p53**

Με την ενίσχυση του p53 αυξάνεται η σύνθεση της p21, η οποία δρα ως αναστολέας κυκλινοεξαρτώμενων κινασών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την κυτταρική γήρανση και την αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Αναστολείς των MDM 2 (Mouse Double Minute 2 homolog) και ανάλογα PRIMA-1 (Proline Rich Membrane Anchor 1) μελετώνται για τη δράση τους.<sup>61 66</sup> Οι αναστολείς MDM2 ανταγωνίζονται την αρνητική ρύθμιση των MDM 2 στο μονοπάτι p53 και έτσι το ενεργοποιούν. Είναι γνωστό, ότι το 50% των συμπαγών όγκων φέρει μεταλλάξεις ή απαλοιφές του γονιδίου p53, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τις αιματολογικές κακοήθειες είναι μόλις 20%, με αποτέλεσμα οι MDM 2 αναστολείς να παρουσιάζονται περισσότερο αποτελεσματικοί για τα αιματολογικά νοσήματα.<sup>66</sup> Το PRIMA-1 και το ανάλογο του PRIMA-1Met (APR-246) μελετώνται από το 2002 και χρησιμοποιούνται για να αποκαταστήσουν τη δράση του μεταλλαγμένου p53. Εμφανίζουν, ωστόσο, και δράση μη σχετιζόμενη με το p53. Η χρήση των παραγόντων αυτών, σε συνδυασμό με άλλα θεραπευτικά μέσα, ανοίγει το δρόμο για την αντιμετώπιση επιθετικών μορφών μεταστατικού μελανώματος, θυρεοειδικού καρκίνου αναπλαστικού χαρακτήρα και καρκίνου κεφαλής και τραχήλου θετικών στον ιό HPV. Από την πρώτη μελέτη του APR -246 προέκυψε ασφάλεια στο προφίλ χορήγησης και αποτελεσματικότητα στη θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών και καρκίνου του προστάτη.<sup>67</sup>

Παράσχου Α., 2018. Σχέση καρκίνου – κυτταρικής γήρανσης: νέα δεδομένα

Άλλες 3 κλινικές δοκιμές είναι σε εξέλιξη για τον έλεγχο του παράγοντα σε προχωρημένο καρκίνο του οισοφάγου και των ωοθηκών. Τέλος, έχει δρομολογηθεί κλινική δοκιμή φάσης I/II για τη μελέτη του παράγοντα σε συνδυασμό με τον αναστολέα BRAF σε ασθενείς με προχωρημένο μελάνωμα ανθεκτικό στους αναστολείς άντι-BRAF/άντι-MEK. <sup>67</sup>

#### **4.2.3 Εισαγωγή του p53 σε καρκινικά κύτταρα με τη χρήση αδενοϊών**

Στην Κίνα έχουν πάρει έγκριση και χρησιμοποιούνται 2 παράγοντες το Gendicine και το H101 σε ασθενείς πάσχοντες από καρκίνο κεφαλής και τραχήλου. Δεν χρησιμοποιούνται, ωστόσο, σε άλλες χώρες. Πρόκειται για γονιδιακή θεραπεία με ανασυνδυασμένους αδενοϊούς που φέρουν το p53. <sup>61</sup>

#### **4.2.4 Αναστολείς τελομεράσης**

Η τελομεράση είναι ένα ένζυμο που δεν απαντάται φυσιολογικά στα διαφοροποιημένα κύτταρα, αλλά εκφράζεται στα καρκινικά σε ποσοστό 85%. Το Imetelstat αποτελεί ένα ολιγονουκλεοτίδιο που στόχο έχει να αναστείλει την ενζυματική δράση της τελομεράσης. Το φάρμακο βρίσκεται στη φάση των κλινικών δοκιμών τόσο για μυελουπερπλαστικά νοσήματα όσο και για συμπαγείς όγκους. <sup>68 69</sup>

#### **4.2.5 Ανταγωνιστές υποδοχέων κυτταροκινών**

Σε εξέλιξη βρίσκονται κλινικές δοκιμές για την αποτελεσματικότητα και την ασφάλεια ανταγωνιστών του υποδοχέα χημειοκινών CXCR2 σε ασθενείς με καρκίνο του προστάτη και άλλους όγκους. Η δράση τους αποδίδεται στην αναστολή της στρατολόγησης μυελικών κυττάρων ικανών να διηθήσουν τον όγκο. <sup>61</sup>

#### **4.2.6 Άλλοι παράγοντες σε προκλινικό επίπεδο**

Σε προκλινικό επίπεδο μελετάται ένα πλήθος άλλων παραγόντων ικανών να επάγουν κυτταρική γήρανση σε καρκινικά κύτταρα. Βασική κατηγορία αποτελούν οι αναστολείς των ογκογονιδίων MYC. Αυξημένη έκφραση MYC καταγράφεται σε όγκους υψηλής κακοήθειας, κακής πρόγνωσης και πτωχής απάντησης στη χημειοθεραπεία. Παράγοντες

όπως το 10058-F4, αναστολείς πρωτεϊνών BET όπως το JQ1 και συστήματα τεχνολογίας που παρεμβαίνουν στο RNA αναστέλλουν τη δράση των MYC και επάγουν κυτταρική γήρανση. Σε προκλινικά μοντέλα ζώων, έχουν αποδείξει την αποτελεσματικότητά τους και οι αναστολείς της πρωτεΐνης SirT1, η οποία έχει δράση αποακετυλάσης και απορρυθμίζει το p53 στον καρκίνο.<sup>61</sup>

#### 4.2.7 Επαναπρογραμματισμός του SASP

Νέες μελέτες αναζητούν μεθόδους με τις οποίες θα ενισχυθεί ο ογκοκατασταλτικός ρόλος του SASP και θα περιορισθούν οι αρνητικές επιδράσεις που μπορεί αυτό να επιφέρει, προκαλώντας αυξημένη νοσηρότητα, υποτροπή της νόσου, αντίσταση στη θεραπεία και τελικά αυξημένη θνησιμότητα. Μία σειρά από μη ειδικές αντιφλεγμονώδεις ουσίες ευρέως φάσματος δράσης, με κυριότερα τα γλυκοκορτικοειδή, φαίνεται ότι αποτρέπουν το καταστροφικό έργο του SASP. Ωστόσο, ως στόχος έχει τεθεί η δημιουργία πιο ειδικών ουσιών. Τα μιτοχόνδρια, όλοι εκείνοι οι μηχανισμοί ομοιόστασης των πρωτεϊνών, η αυτοφαγία και η αξιοποίηση της γλυκόζης όπως προκύπτει ενδείκνυνται ως στόχοι για τη δημιουργία μιας περισσότερο στοχευμένης θεραπείας, καθώς διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στην έκφραση του SASP, ιδιαίτερα στην εκκριτική του φάση στα γηρασμένα κύτταρα.<sup>70</sup>

Βασικό εκπρόσωπο της κατηγορίας αυτής αποτελούν οι αναστολείς mTOR. Η δράση τους οφείλεται σε ρύθμιση της μετάφρασης της κινάσης MAP MK2 μέσω της πρωτεΐνης 4EBP1, η οποία είναι υπεύθυνη για την έναρξη της μετάφρασης. Ωστόσο, η δράση της δεν περιορίζεται μόνο προς αυτήν την κατεύθυνση αλλά φαίνεται ότι σχετίζεται τόσο με την παρακρινή λειτουργία του SASP όσο και με την επιτήρησή του.<sup>61</sup> Εκτενώς έχει μελετηθεί η ραπαμυκίνη, ένας αναστολέας mTOR για την ικανότητα του να αναστέλλει την σύνθεση της ιντερλευκίνης IL-1α και, κατ' επέκταση, την έκκριση της IL-6 αποτρέποντας την ογκογόνο δράση του SASP σε γηρασμένους ινοβλάστες.<sup>70</sup> Οι μελέτες αυτές έγιναν σε ποντίκια για τον καρκίνο του προστάτη.<sup>61</sup> Επίσης, όπως αποδείχθηκε σε γηρασμένα καρκινικά κύτταρα με απώλεια PTEN, ο μεταγραφικός παράγοντας Stat3 επαναπρογραμματίζει το SASP, διαμορφώνοντας ένα ογκοκατασταλτικό μικροπεριβάλλον και διαταράσσοντας τη ανοσολογική επιτήρηση. Έρχονται λοιπόν, οι αναστολείς της κινάσης JAK 2 (στην ουσία αναστολείς του μονοπατιού JAK 2/STAT 3)

Παράσχου Α., 2018. Σχέση καρκίνου – κυτταρικής γήρανσης: νέα δεδομένα

να επαναπρογραμματίσουν το SASP επάγοντας μία ισχυρή ογκοκατασταλτική ανοσιακή απάντηση, προάγοντας τον καθαρισμό των γηρασμένων καρκινικών κυττάρων και αυξάνοντας την αποτελεσματικότητα της χημειοθεραπείας.<sup>61 71</sup>

Η σιμβαστατίνη (αναστολέας της αναγωγής του 3-υδροξυ-3-μεθυλγλουταρικού συνενζύμου Α), το γνωστό φάρμακο που χρησιμοποιείται παγκοσμίως για την αντιμετώπιση της δυσλιπιδαιμίας, είναι υποψήφια για ένταξη στην κατηγορία αυτή. Η αντιφλεγμονώδης δράση της έχει αποδειχθεί, ενώ, όπως προκύπτει, αποτελεί ισχυρό ρυθμιστή του SASP. Καταστέλλει τις GTPases της Rho οικογένειας RAC1 και CDC42. Το MEK-ERK 1/2 μονοπάτι είναι υπεύθυνο για τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων του μαστού υπό τον έλεγχο του SASP. Μελέτες έδειξαν ότι η σιμβαστατίνη καταστέλλει το μονοπάτι αυτό. Επιπλέον, αναστέλλει την ενδοκρινή αντίσταση των κυττάρων του καρκίνου του μαστού που επάγεται από το SASP.<sup>61 72</sup>

Ρυθμιστής του SASP είναι και η πρωτεΐνη BRD4, που ανήκει στις πρωτεΐνες BET οι οποίες περιέχουν δομικές περιοχές bromodomain. Η BRD4 αποτελεί ακετυλιωμένη πρωτεΐνη που συνδέεται στις ιστόνες και συνιστά βασικό επιγενετικό ρυθμιστή.<sup>25 73</sup> Η αναστολή της BRD4 από τον παράγοντα JQ1 αναστέλλει σημαντικά το SASP.<sup>61</sup>

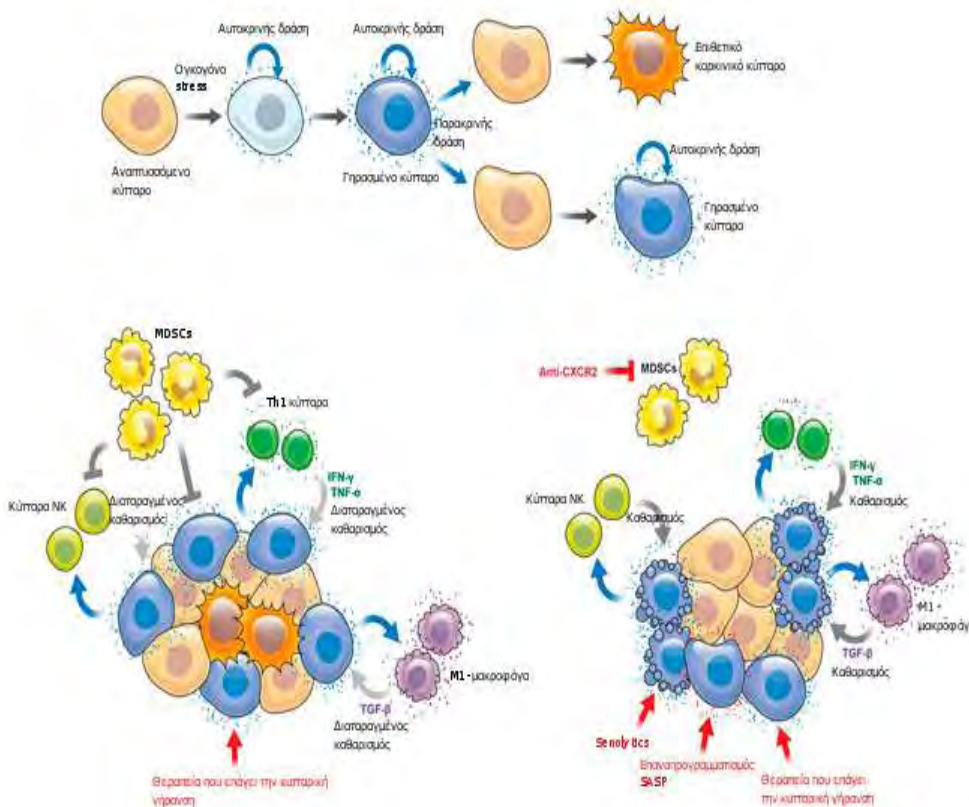
Ως αναστολέας του SASP και της ογκογόνου δράσης του λειτουργεί και ο παράγοντας trabectedin. Δρα επηρεάζοντας την μεταγραφική δραστηριότητα του NF-kB απορρυθμίζοντας τα διάφορα σηματοδοτικά μονοπάτια και τελικά ευαισθητοποιώντας τα καρκινικά κύτταρα σε απόπτωση μέσω της οδού FAS. Ο παράγοντας αυτός εμφανίζεται πολλά υποσχόμενος στον περιορισμό των αρνητικών συνεπειών της κυτταρικής γήρανσης που προκαλείται από θεραπευτικές παρεμβάσεις.<sup>19</sup>

#### **4.2.8 Συνδυασμένη θεραπεία με ανοσοθεραπεία**

Νεότερα δεδομένα παρουσιάζουν την αποτελεσματικότητα κατά του καρκίνου μίας νέας κατηγορίας παραγόντων, των αναστολέων των σημείων ελέγχου του ανοσοποιητικού. Αυτοί φαίνεται να αυξάνουν το προσδόκιμο επιβίωσης και την απόκριση των καρκινοπαθών. Προτείνεται, λοιπόν, η συνδυαστική χορήγησή τους με επαγωγείς κυτταρικής γήρανσης.<sup>61 74</sup> Επιπλέον, θεραπείες με βάση τα CD137 αντισώματα και στόχο την ενεργοποίηση των T κυττάρων, όπως αποδείχθηκε σε πειραματικά μοντέλα

μελανώματος, αυξάνει την αποτελεσματικότητα των επαγωγέων κυτταρικής γήρανσης.<sup>61</sup>  
75

Στην Εικόνα 12, προτείνεται μία συνδυαστική θεραπευτική προσέγγιση προκειμένου να ενισχυθεί η αποτελεσματικότητα της επαγωγής της κυτταρικής γήρανσης. Στο Α, φαίνεται πως επέρχεται κυτταρική γήρανση με την επίδραση ογκογόνου ερεθίσματος και πως με την έκφραση του SASP, είτε ενισχύεται η κυτταρική γήρανση, είτε, τελικά "επιδεινώνεται" η επιθετικότητα των καρκινικών κυττάρων. Στο Β, απεικονίζεται η θεραπευτική επαγωγή κυτταρικής γήρανσης. Η επαγόμενη κυτταρική γήρανση, μέσω του SASP, προσελκύει κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, κυρίως μακροφάγα και NK κύτταρα. Αυτά καθαρίζουν τα γηρασμένα καρκινικά κύτταρα και περιορίζουν την ανάπτυξη του όγκου. Από την άλλη, κατασταλτικά κύτταρα από το μυελό των οστών (MDSCs) εμποδίζουν την επαγωγή κυτταρικής γήρανσης στο μικροπεριβάλλον του όγκου. Στο Γ, τέλος, απεικονίζονται διάφορες τεχνικές για τη βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητας της επαγωγής της κυτταρικής γήρανσης. Η ανοσοθεραπεία μπορεί να συμβάλλει στον καθαρισμό των καρκινικών κυττάρων. Επίσης, ο επαναπρογραμματισμός του SASP ενισχύει την ανοσιακή απάντηση στον όγκο, και ελαχιστοποιεί τις αρνητικές του επιδράσεις. Εκτός των άλλων, τα γεροντολυτικά βοηθούν στον περιορισμό των γηρασμένων κυττάρων. Ενώ, τέλος, οι αναστολείς CXR 2 παρεμποδίζουν τη στρατολόγηση των MDSCs και διευκολύνουν, έτσι την επαγωγή της κυτταρικής γήρανσης.<sup>61</sup>



Εικόνα 12. Επαγωγή κυτταρικής γήρανσης και μέθοδοι βελτίωσης της δράσης της.<sup>61</sup>

### 4.3 Φαρμακευτικός στόχος: τα γηρασμένα κύτταρα

Η παρουσία γηρασμένων κυττάρων σε έναν ιστό αποτελεί εστία φλεγμονής (κυρίως μέσω της δράσης του SASP, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως) και οδηγεί σε γήρανση του ιστού, προκαλώντας δυνητικά όλα τα σχετιζόμενα με τη γήρανση νοσήματα. Ωστόσο, κατά κύριο λόγο, ενοχοποιείται για καρκινογένεση. Δεδομένου του μεγάλου χρόνου ζωής των κυττάρων αυτών, της αντίστασης που εμφανίζουν στην απόπτωση, της ανθεκτικότητας τους εν γένει, του αναστρέψιμου του χαρακτήρα τους καθώς και της ικανότητας τους να πολλαπλασιάζονται ξανά, αποτελούν πρόβλημα στη θεραπευτική αντιμετώπιση του καρκίνου. Για αυτούς τους λόγους, άλλωστε, οι επιστήμονες έχουν στρέψει τα βλέμματα τους στην εξάλειψη των κυττάρων αυτών.<sup>10 76</sup> Είναι εντυπωσιακό, ότι περιορισμός μόνο του 30% των γηρασμένων κυττάρων επιφέρει ιδιαίτερα θετικά αποτελέσματα στη λειτουργία και στο φαινότυπο του οργανισμού. Προς αυτή την κατεύθυνση, οι επιστήμονες έχουν δημιουργήσει δύο κατηγορίες θεραπευτικών ουσιών:

τα senolytics (γεροντολυτικά) και ουσίες που καθαρίζουν-περιορίζουν τα γηρασμένα κύτταρα.<sup>77</sup>

#### 4.3.1 Senolytics (Γεροντολυτικά)

Η αντίσταση των γηρασμένων κυττάρων στην απόπτωση έχει αναγνωρισθεί ως βασικό χαρακτηριστικό τους, καθώς χάρη σε αυτήν παρουσιάζουν μεγάλη ανθεκτικότητα και ικανότητα επιβίωσης. Το γεγονός αυτό, λοιπόν, έστρεψε το ενδιαφέρον των επιστημόνων προς την κατεύθυνση δημιουργίας μικρών μορίων κατά αυτών των μηχανισμών επιβίωσης των γηρασμένων κυττάρων.<sup>77</sup> Ο λόγος για τα senolytics ή γεροντολυτικά, όπως τα συναντάμε στην ελληνική βιβλιογραφία. Τους έχει αποδοθεί ο χαρακτηρισμός “ελιξήριο της νεότητας” και όχι άδικα. Πρόκειται για ουσίες που έχουν την ικανότητα να “σκοτώνουν” τα γηρασμένα κύτταρα.<sup>24</sup>

Τα γηρασμένα κύτταρα εμφανίζουν διάφορους αντιαποπτωτικούς μηχανισμούς, ανάμεσα στους οποίους η πρωτεΐνη B-Cell Lymphoma 2 (BCL-2)/B-cell lymphoma-extra large (BCL-XL), το μονοπάτι PI3kδ/AKT και p53/p21, οι Ephrins, ο παράγοντας HIF-1α και HSP-90 και διάφορα μεταβολικά μονοπάτια. Όπως ήταν αναμενόμενο, οι μηχανισμοί αυτοί έχουν μπει στο στόχαστρο των ερευνητών για την ανάπτυξη κατάλληλων “αντιγηραντικών” θεραπειών. Διαφορετικά γηρασμένα κύτταρα επιστρατεύουν διαφορετικούς μηχανισμούς με αποτέλεσμα ένας παράγοντας να μην είναι αποτελεσματικός για κάθε τύπο γηρασμένου κυττάρου αλλά να απαιτείται συντονισμένη δράση ενός συνδυασμού παραγόντων.<sup>10</sup>

Έχουν μελετηθεί, ιδιαίτερα οι υποδοχείς Ephrin, υποδοχείς κινάσης τυροσίνης και οι συνδέτες τους EFNB1 και EFNB3, καθώς διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην κυτταρική γήρανση. Αυξημένη σηματοδότηση μέσω του EFNB3 επάγει αυξημένη δραστηριότητα του p21, του SASP και της β γαλακτοσιδάσης. Μετά από πειραματικές μελέτες αποδείχθηκε ότι η αποσιώπηση αυτών των συνδετών προκαλεί εκλεκτική απόπτωση των γηρασμένων κυττάρων.<sup>77</sup>

Οι πρώτοι και βασικοί εκπρόσωποι της κατηγορίας των γεροντολυτικών είναι το Dasatinib και το Quercetin (2015).<sup>24</sup> Το Dasatinib αποτελεί αναστολέα του συστήματος σηματοδότησης Ephrin, ενώ το Quercetin έχει ως στόχο το BCL-2/BCL-XL και τα μονοπάτια σηματοδότησης PI3kδ/AKT και p53/p21.<sup>8</sup> Η αποτελεσματικότητά τους έχει



αποδειχθεί, κάτι που δεν συμβαίνει και με την στοχευμένη δράση τους αφού φαίνεται ότι δρουν και ενάντια σε μη γηρασμένα κύτταρα.<sup>24</sup> Οι ουσίες αυτές έχουν πάρει έγκριση ασφάλειας για τη χορήγηση τους σε ανθρώπους και χρησιμοποιούνται τόσο για αιματολογικές κακοήθειες όσο και για διάφορους συμπαγείς όγκους. Επίσης, παρουσιάζουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε ορισμένους τύπους γηρασμένων κυττάρων και καλύτερη δραστηριότητα όταν χορηγούνται συνδυαστικά. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί η μακροχρόνια δράση τους.<sup>77</sup> Ωστόσο, εμφανίζουν και αυτά κάποιες ανεπιθύμητες ενέργειες. Διάφορες αιματολογικές διαταραχές, η επιμήκυνση του QT, κατακράτηση υγρών και η εμφάνιση δερματικού εξανθήματος βρίσκονται ανάμεσα σε αυτές. Τα δύο σκευάσματα εμφανίζουν διαφορετικές ανεπιθύμητες ενέργειες, γεγονός που υποδηλώνει ότι δεν ευθύνεται η “αντιγηραντική” τους δράση για αυτές. Εκτός των άλλων, όπως όλες οι ουσίες της κατηγορίας μειώνουν το δυναμικό αναγέννησης του οργανισμού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση μειωμένης επουλωτικής ικανότητας του τραύματος ή ίνωσης στο πλαίσιο της αναγέννησης του ήπατος. Τέλος, αν και σπάνια ως κλινική οντότητα δεν μπορεί να αποκλεισθεί η εμφάνιση του συνδρόμου κυτταρικής λύσης.<sup>77</sup>

Ένα χρόνο αργότερα, το 2016, παρουσιάστηκε ένας ακόμα παράγοντας με γεροντολυτική δράση, το Navitoclax (N; ABT-263). Ο παράγοντας αυτός στοχεύει το μονοπάτι BCL-2 και εμφανίζει αποτελεσματικότητα σε σειρές ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων ομφαλίου λώρου και σε ινοβλάστες.<sup>8</sup> Ωστόσο, φαίνεται ότι προκαλεί σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες, με βασικότερες τη θρομβοπενία και την ουδετεροπενία. Παρ’ όλα αυτά, η δράση του μελετάται για εφαρμογή σε λευχαιμίες, λεμφώματα και άλλες κακοήθειες. Δύο νέοι εκλεκτικοί αναστολείς της BCL-XL έχουν εμφανισθεί στο προσκήνιο υποσχόμενοι λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες κυρίως όσον αφορά την ουδετεροπενία. Αυτοί δεν είναι άλλοι από τους A1331852 και A1155463.<sup>78</sup>

Νεότερα δεδομένα από τον Doerr και τους συνεργάτες του, αναδεικνύουν το ιδιαίτερο μεταβολικό προφίλ των γηρασμένων κυττάρων και τα μιτοχόνδρια που είναι υπεύθυνα για αυτό ως νέους στόχους για τη δημιουργία καινούριων senolytics. Είναι γνωστό, ότι γηρασμένα κύτταρα που έχουν προκύψει στο πλαίσιο θεραπευτικών παρεμβάσεων έχουν αυξημένες ενεργειακές ανάγκες, οι οποίες, όπως φαίνονται, καλύπτονται σε μεγάλο βαθμό από τα μιτοχόνδρια. Βλάβη ή απαλοιφή της δράσης των μιτοχονδρίων οδηγεί σε

αδυναμία ανάπτυξης γηρασμένων κυττάρων και έκφρασης του εκκριτικού φαινότυπου SASP.<sup>24</sup> Νέες μελέτες προς αυτήν την κατεύθυνση απέδειξαν τη σχέση μεταξύ των πυρηνικών SA-miRNAs και των μιτοχονδρίων. Τα πυρηνικά SA-miRNAs έχουν την ικανότητα να μεταναστεύουν στα μιτοχόνδρια και να επηρεάζουν τη λειτουργία των γονιδίων τους. Τελικά, όπως προκύπτει, ρυθμίζουν το ενεργειακό και φλεγμονώδες προφίλ των γηρασμένων κυττάρων. Με βάση αναφοράς το miR 146a, μελετάται η δράση πληθώρας πυρηνικών-μιτοχονδριακών miRNAs, ανάμεσα τους το let-7b, το miR-1, το miR-130a-3p, το miR-133a, το miR-146a-5p καθώς και τα miR-181c-5p και miR-378-5p.<sup>55</sup>

Στην κατηγορία αυτή ανήκει και το πεπτίδιο FOXO4-DRI. Ο FOXO4 είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας ειδικός για τα γηρασμένα κύτταρα, ο οποίος έχει την ικανότητα να συνδέεται με το p53, να παραμένει στον πυρήνα και να αποτρέπει έτσι τον κυτταρικό θάνατο. Ο FOXO4-DRI αποτελεί πιστή απομίμηση του FOXO4, ενώ περιέχει μόνο D αμινοξέα, αποτρέποντας με αυτό τον τρόπο την αποδόμηση του στα κύτταρα. Με τη χορήγηση του παράγοντα αυτού, το p53 απομακρύνεται από τον πυρήνα και επέρχεται απόπτωση. Η διείσδυση του δε μέσα στα κύτταρα γίνεται μέσω της σύνδεσης τους με την πρωτεΐνη HIV-TAT. Αξίζει να σημειωθεί ότι η δράση του παράγοντα αυτού σε μοντέλα ποντικών είναι εντυπωσιακή.<sup>24</sup>

Ανάμεσα στα άλλα, έχουν αναγνωρισθεί διάφοροι φυσικοί παράγοντες με “γεροντολυτική δράση”. Η φισετίνη (γνωστό φλαβονοειδές), η φλορεντίνη (φαινόλη), τοκοτριενόλες και διάφορα κανναβινοειδή συμπεριλαμβάνονται. Η δράση τους πιθανολογείται ότι σχετίζεται με την ενεργοποίηση του μονοπατιού Nrf2. Το μονοπάτι, αυτό, δρα κυτταροπροστατευτικά στα αρχικά στάδια του καρκίνου, ενώ σε προχωρημένα ασκεί καταστροφική δράση.<sup>10</sup> Η φυσική προέλευση αυτών των ουσιών σε φρούτα και λαχανικά επιτρέπει την διευκόλυνση των διαφόρων κλινικών δοκιμών καθώς είναι ήδη διαθέσιμα σε διάφορα συμπληρώματα διατροφής που κυκλοφορούν στην αγορά. Αυτό το οποίο ξεκαθαρίζουν όμως, οι επιστήμονες, είναι ότι οι φυσικοί αυτοί παράγοντες δεν είναι λιγότερο τοξικοί από συνθετικούς και αυτό επειδή απαιτούνται πολύ μεγαλύτερες δόσεις από αυτές που ήδη κυκλοφορούν στο εμπόριο. Επιπλέον, η δράση των περισσότερων έχει αποδειχθεί ότι είναι πλέον αποτελεσματική σε συνέργεια με άλλους παράγοντες.<sup>10</sup>

Σε κάθε περίπτωση, η εκκαθάριση των γηρασμένων κυττάρων επιφέρει σημαντικό περιορισμό στην ικανότητα αναγέννησης του ιστού, γεγονός που έχει ιδιαίτερη σημασία μετά τη χημειοθεραπεία. Για αυτό το λόγο, απαιτείται “σωστή” επιλογή ασθενών στους οποίους θα χορηγηθούν οι παράγοντες αυτοί περιορισμού γηρασμένων κυτάρων στον κατάλληλο χρόνο και στην κατάλληλη δόση σε συνδυασμό με τη χημειοθεραπεία προκειμένου να επιτευχθεί το καλύτερο θεραπευτικό αποτέλεσμα με τις λιγότερες δυνατές παρενέργειες.<sup>24</sup>

#### **4.3.2 Ουσίες που καθαρίζουν – περιορίζουν τα γηρασμένα κύτταρα**

Δύο διαφορετικά εργαστήρια ανέπτυξαν σχεδόν ταυτόχρονα δύο συστήματα “καθαρισμού” γηρασμένων κυττάρων: το INC-ATTAC και το p16-3MR. Οι παράγοντες αυτοί δύνανται να αναγνωρίσουν τα κύτταρα που εκφράζουν το p16<sup>INK4A</sup> (τα γηρασμένα, δηλαδή, κύτταρα).<sup>24</sup> Με τη χορήγηση του AP20187, ενός φαρμάκου υπεύθυνου για το διμερισμό μίας πρωτεΐνης FK506 που συνδέεται με τη κασπάση 8 (FKBP-Casp8), “εκκαθαρίζονται” τα CDKN2A/p16<sup>INK4A</sup> κύτταρα στο γενετικά τροποποιημένο μοντέλο ποντικών INC-ATTAC.<sup>24 79</sup> Ανάλογη δράση έχει και η γκανσικλοβίρη για το p16-3MR. Η δράση των δύο αυτών παραγόντων που ενεργοποιεί τον μηχανισμό “αυτοκτονίας” σε μοντέλα ποντικών είναι ενθαρρυντική. Πιο ειδικά, το INC-ATTAC φαίνεται να αυξάνει σημαντικά τη διάρκεια ζωής των ποντικών. Ωστόσο, τα αποτελέσματα δεν ήταν τόσο θεαματικά αναφορικά με τα ποσοστά καρκινογένεσης, καθώς αυτά παρέμειναν αμετάβλητα. Στο ίδιο μήκος κύματος εκπέμπει και το p16-3MR, το οποίο φαίνεται να ελαττώνει δραματικά τις ανεπιθύμητες ενέργειες της χορήγησης doxorubicin στο καρδιακό και αιμοποιητικό σύστημα αλλά και τα επίπεδα φλεγμονής. Σε γενικές γραμμές, αυτό το οποίο μειώθηκε σημαντικά με τον καθαρισμό των γηρασμένων κυττάρων με το ένα ή με τον άλλο τρόπο είναι τα ποσοστά υποτροπής του καρκίνου και των μεταστάσεων. Αν και η δράση των δύο αυτών παραγόντων δεν έχει μελετηθεί σε άλλα μοντέλα ζώων και είναι άγνωστη η δράση τους σε κύτταρα που δεν εκφράζουν το p16<sup>INK4A</sup>, πρόκειται για μία πολλά υποσχόμενη μέθοδο όσον αφορά στη μείωση των βραχυπρόθεσμων και μακροπρόθεσμων παρενεργειών της αντικαρκινικής θεραπείας.<sup>24</sup> Μία άλλη μέθοδος η οποία βρίσκεται υπό διερεύνηση και έχει ως στόχο τα γηρασμένα κύτταρα, αξιοποιεί την υψηλή έκφραση της β γαλακτοσιδάσης στα λυσοσώματα των κυττάρων αυτών. Σκοπός της μεθόδου αυτής είναι η στοχευμένη είσοδος

κυτταροτοξικών φαρμάκων μέσω γαλακτο-ολιγοσακχαρίδων μέσα στα γηρασμένα κύτταρα. Η συνδυαστική χορήγηση της μεθόδου αυτής με το φάρμακο palbociclib έφερε πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα στο πεδίο του καρκίνου του μαστού σε ερευνητικό επίπεδο.<sup>18</sup>

Η απαλοιφή των γηρασμένων κυττάρων γίνεται *in vivo* κυρίως μέσω της δράσης των μακροφάγων και των NK κυττάρων, ενώ η απόπτωση φαίνεται να έχει μικρή συμβολή στην κατεύθυνση αυτή.<sup>76 77</sup> Η αναγνώριση των κυττάρων για καθαρισμό από το ανοσοποιητικό σύστημα γίνεται μέσω ειδικών μορίων όπως είναι τα NKG2D, MICA/MICB, ULBP2, η έκφραση των οποίων φαίνεται ότι σχετίζεται με τη δράση της ιντερφερόνης.<sup>76</sup> Αν και γνωστή η αντικαρκινική δράση των ιντερφερονών, η δράση τους στην απαλοιφή των γηρασμένων κυττάρων χρήζει περαιτέρω διερεύνησης προκειμένου να χορηγηθούν κατάλληλες ιντερφερόνες ειδικές για την εκάστοτε περίπτωση για την μεγιστοποίηση των αποτελεσμάτων.<sup>80</sup>

Η κατηγορία αυτή των φαρμάκων που περιορίζει τα γηρασμένα κύτταρα, πέρα από τη συμβολή της στη φαρέτρα των επιστημόνων στην θεραπεία κατά του καρκίνου, υπόσχεται θετικές επιδράσεις και σε άλλους τομείς. Φαίνεται να βελτιώνει ουσιαστικά την καρδιαγγειακή λειτουργία και πνευμονική λειτουργία και να αποτρέπει την αθηροσκλήρωση. Γενικά, θα λέγαμε ότι προάγει την αναγέννηση του οργανισμού, δικαιολογώντας τον χαρακτηρισμό “ελιξήριο της νεότητας”. Ωστόσο, χρήζει περαιτέρω μελέτης και έρευνας προκειμένου να εφαρμοσθεί στην κλινική πράξη.<sup>10</sup>

#### **4.4 Επαναπρογραμματισμός γηρασμένων κυττάρων**

Τόσο για τα αιματολογικά κακοήγη νοσήματα όσο και για τους συμπαγείς όγκους, καθοριστικό ρόλο διαδραματίζει η κυτταρική γήρανση των T κυττάρων, η οποία επάγει ανοσοκαταστολή. Τα γηρασμένα κύτταρα αυτά μπορούν να απομονωθούν και να επαναπρογραμματισθούν σε πολυδύναμα βλαστικά, όπως απέδειξαν οι επιστήμονες. Έπειτα δύνανται να διαφοροποιηθούν προς την T κυτταρική σειρά και στη συνέχεια να υποστούν περαιτέρω επεξεργασία. Έτσι, προκύπτουν τα CAR-T (λεμφοκύτταρα με χημειοκίνητο υποδοχέα αντιγόνου) και τα TCR-T (T λεμφοκύτταρα με επεξεργασμένο υποδοχέα) για αντιγόνα του όγκου. Ο μηχανισμός αυτός σχεδιάζεται για την θεραπεία αιματολογικών κακοηθειών με σκοπό την απαλοιφή των γηρασμένων κυττάρων και την

Παράσχου Α., 2018. Σχέση καρκίνου – κυτταρικής γήρανσης: νέα δεδομένα

αξιοποίησή τους για στη δημιουργία ανοσοθεραπείας. Φυσιολογικά, ωστόσο, ο τυχαίος ανασυνδυασμός των γονιδίων VDJ δημιουργεί μία μεγάλη ποικιλία T αντιγονικών υποδοχέων που τους επιτρέπει να “διαβάζουν” μεγάλο αριθμό αντιγόνων. Για αυτό τον λόγο ο επαναπρογραμματισμός γηρασμένων κυττάρων σε T κύτταρα θεωρείται απρόβλεπτος. Τα CAR-T και τα TCR-T έχουν, όμως αποδεδειγμένη αντικαρκινική αποτελεσματικότητα σε μοντέλα συμπαγών όγκων και αιματολογικών κακοηθειών.<sup>81</sup>

## Συμπεράσματα

Η κυτταρική γήρανση αποτελεί έναν αυτόνομο ογκοκατασταλτικό μηχανισμό που αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη. Πρόκειται για έναν καλά συντηρημένο μηχανισμό<sup>82</sup> που στόχο έχει τη διατήρηση της ομοιόστασης των ιστών.<sup>83</sup> Ωστόσο, ο ρόλος της κυτταρικής γήρανσης είναι πολυδιάστατος. Αυτό συμβαίνει, επειδή προσδίδει στα κύτταρα ιδιαίτερο «μεταβολικό και σηματοδοτικό φαινότυπο», το SASP.<sup>84</sup> Ευεργετική επίδραση φαίνεται ότι έχει η οξεία γήρανση κατά την εμβρυϊκή ανάπτυξη και την επούλωση ιστών μετά από τραυματισμό.<sup>83</sup> Με την χρόνια, όμως, έκφραση του SASP από τα γηρασμένα κύτταρα που συσσωρεύονται, η κυτταρική γήρανση συνδέθηκε με νοσήματα σχετιζόμενα με το γήρας και με τον καρκίνο.<sup>84</sup>

Αναφορικά με τον καρκίνο, ο ρόλος της είναι διττός. Με τη δράση του SASP, όπως αποδείχθηκε, προάγεται η καρκινογένεση, η αγγειογένεση, ο πολλαπλασιασμός των καρκινικών κυττάρων, η διήθηση του καρκίνου και η πρόκληση μεταστάσεων. Επιπλέον, καθοριστικό ρόλο διαδραματίζει στον επαναπρογραμματισμό των κυττάρων και στην αλληλεπίδραση του όγκου με το ανοσιακό σύστημα. Η παρουσία γηρασμένων κυττάρων στο μικροπεριβάλλον του όγκου είναι ενδεικτική για υποτροπή της νόσου και αντίσταση στη θεραπεία.<sup>82</sup> Όπως αποδείχθηκε, πρόσφατα, η κυτταρική γήρανση και το SASP έχουν τη δυνατότητα να προσδώσουν βλαστικές ιδιότητες σε κύτταρα και να δημιουργήσουν καρκινικά βλαστικά κύτταρα. Επιπλέον, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι κύτταρα μπορούν να δραπέτεύσουν της κυτταρικής γήρανσης και να συνεχίσουν τον κυτταρικό κύκλο, αποκτώντας ιδιαίτερα επιθετικές καρκινικές ιδιότητες.<sup>83</sup> Από την άλλη πλευρά, εξ ορισμού ο μηχανισμός έχει ογκοκατασταλτικό ρόλο. Δικαιολογημένα, λοιπόν, οι επιστήμονες χαρακτηρίζουν την κυτταρική γήρανση ως δίκοπο μαχαίρι.<sup>84</sup>

Κυτταρική γήρανση επάγεται, όμως, και στο πλαίσιο της κλασσικής αντικαρκινικής θεραπείας. Αυτός ο εναλλακτικός μηχανισμός συγκεντρώνει το ενδιαφέρον των επιστημόνων γιατί, όπως προκύπτει, περιορίζει τον πολλαπλασιασμό κυττάρων που είναι ανθεκτικά στην απόπτωση. Ωστόσο, η επαγωγή γήρανσης στα κύτταρα σχετίζεται με υποτροπή του καρκίνου και δευτεροπαθείς όγκους.<sup>24</sup>

Οι επιστήμονες, λοιπόν, κατά το σχεδιασμό θεραπειών με άξονα την κυτταρική γήρανση πρέπει να λάβουν υπόψη το διττό ρόλο της στον καρκίνο και να αξιοποιήσουν από τη μία τις ογκοκατασταλτικές ιδιότητες της και, από την άλλη, να περιορίσουν τις βλαπτικές επιδράσεις της.<sup>4</sup> Πολλά έχουν γίνει προς αυτή την κατεύθυνση, με την ανακάλυψη και το σχεδιασμό πληθώρας σκευασμάτων με αντικαρκινική δράση. Βρισκόμαστε, όμως, μόνο στην αρχή.<sup>83</sup> Η κυτταρική γήρανση αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο μηχανισμό στη μάχη κατά του καρκίνου.<sup>4</sup> Επομένως, κατανοώντας καλύτερα τους μοριακούς και ανοσολογικούς μηχανισμούς που καθορίζουν τη φύση του SASP, θα επιτευχθούν καλύτερα αποτελέσματα και θα αποκαλυφθεί, έτσι, η δυναμική της προσέγγισης αυτής.<sup>4</sup>

## Βιβλιογραφία

1. Lidzbarsky G, Gutman D, Shekhidem HA, Sharvit L, Atzmon G. Genomic Instabilities, Cellular Senescence, and Aging: In Vitro, In Vivo and Aging-Like Human Syndromes. *Front Med*. 2018;5:104. doi:10.3389/fmed.2018.00104
2. Llinàs-Arias P, Esteller M. Epigenetic inactivation of tumour suppressor coding and non-coding genes in human cancer: an update. *Open Biol*. 2017;7(9):170152. doi:10.1098/rsob.170152
3. Chaffer CL, Weinberg RA. How Does Multistep Tumorigenesis Really Proceed? *Cancer Discov*. 2015;5(1):22-24. doi:10.1158/2159-8290.CD-14-0788
4. Hinds P, Pietruska J. Senescence and tumor suppression. *F1000Research*. 2017;6:2121. doi:10.12688/f1000research.11671.1
5. Rodier F, Campisi J. Four faces of cellular senescence. *J Cell Biol*. 2011;192(4):547-556. doi:10.1083/jcb.201009094
6. Borodkina A V, Deryabin PI, Giukova AA, Nikolsky NN. "Social Life" of Senescent Cells: What Is SASP and Why Study It? *Acta Naturae*. 2018;10(1):4-14. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29713514>. Accessed June 15, 2018.
7. Lunyak V V., Amaro-Ortiz A, Gaur M. Mesenchymal Stem Cells Secretory Responses: Senescence Messaging Secretome and Immunomodulation Perspective. *Front Genet*. 2017;8:220. doi:10.3389/fgene.2017.00220
8. Kirkland JL, Tchkonja T. Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine*. 2017;21:21-28. doi:10.1016/j.ebiom.2017.04.013
9. Farr JN, Fraser DG, Wang H, et al. Identification of Senescent Cells in the Bone Microenvironment. *J Bone Miner Res*. 2016;31(11):1920-1929. doi:10.1002/jbmr.2892
10. Malavolta M, Bracci M, Santarelli L, et al. Inducers of Senescence, Toxic Compounds, and Senolytics: The Multiple Faces of Nrf2-Activating Phytochemicals in Cancer Adjuvant Therapy. *Mediators Inflamm*. 2018;2018:1-32. doi:10.1155/2018/4159013
11. Campisi J. Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annu Rev Physiol*. 2013;75(1):685-705. doi:10.1146/annurev-physiol-030212-183653
12. Leão R, Apolónio JD, Lee D, Figueiredo A, Tabori U, Castelo-Branco P. Mechanisms of human telomerase reverse transcriptase (hTERT) regulation: clinical impacts in cancer. *J Biomed Sci*. 2018;25(1):22. doi:10.1186/s12929-018-0422-8
13. Parkinson EK, James EL, Prime SS. Senescence-Derived Extracellular Molecules as Modulators of Oral Cancer Development: A Mini-Review. *Gerontology*. 2016;62(4):417-424. doi:10.1159/000440954
14. Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, Campisi J, van Deursen JM. Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Rep*. 2014;15(11):1139-1153. doi:10.15252/embr.201439245
15. Chiche A, Le Roux I, von Joest M, et al. Injury-Induced Senescence Enables In Vivo Reprogramming in Skeletal Muscle. *Cell Stem Cell*. 2017;20(3):407-414.e4.



doi:10.1016/j.stem.2016.11.020

16. Mosteiro L, Pantoja C, Alcazar N, et al. Tissue damage and senescence provide critical signals for cellular reprogramming in vivo. *Science (80- )*. 2016;354(6315):aaf4445. doi:10.1126/science.aaf4445
17. Rajagopalan S, Long EO. Cellular senescence induced by CD158d reprograms natural killer cells to promote vascular remodeling. *Proc Natl Acad Sci*. 2012;109(50):20596-20601. doi:10.1073/pnas.1208248109
18. Muñoz-Espín D, Cañamero M, Maraver A, et al. Programmed Cell Senescence during Mammalian Embryonic Development. *Cell*. 2013;155(5):1104-1118. doi:10.1016/j.cell.2013.10.019
19. Camorani S, Cerchia L, Fedele M, Erba E, D'Incalci M, Crescenzi E. Trabectedin modulates the senescence-associated secretory phenotype and promotes cell death in senescent tumor cells by targeting NF- $\kappa$ B. *Oncotarget*. 2018;9(28):19929-19944. doi:10.18632/oncotarget.24961
20. Hudgins AD, Tazearslan C, Tare A, Zhu Y, Huffman D, Suh Y. Age- and Tissue-Specific Expression of Senescence Biomarkers in Mice. *Front Genet*. 2018;9:59. doi:10.3389/fgene.2018.00059
21. Höhn A, Weber D, Jung T, et al. Happily (n)ever after: Aging in the context of oxidative stress, proteostasis loss and cellular senescence. *Redox Biol*. 2017;11:482-501. doi:10.1016/j.redox.2016.12.001
22. Guerrero A, Gil J. HMGB2 holds the key to the senescence-associated secretory phenotype. *J Cell Biol*. 2016;215(3):297-299. doi:10.1083/jcb.201610044
23. Swanson EC, Rapkin LM, Bazett-Jones DP, Lawrence JB. Unfolding the story of chromatin organization in senescent cells. *Nucleus*. 2015;6(4):254-260. doi:10.1080/19491034.2015.1057670
24. Schosserer M, Grillari J, Breitenbach M. The Dual Role of Cellular Senescence in Developing Tumors and Their Response to Cancer Therapy. *Front Oncol*. 2017;7:278. doi:10.3389/fonc.2017.00278
25. Vizioli MG, Adams PD. Senescence Can Be BETter without the SASP? *Cancer Discov*. 2016;6(6):576-578. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-0485
26. Meyer P, Maity P, Burkovski A, et al. A model of the onset of the senescence associated secretory phenotype after DNA damage induced senescence. Vera-Licona P, ed. *PLOS Comput Biol*. 2017;13(12):e1005741. doi:10.1371/journal.pcbi.1005741
27. Ritschka B, Storer M, Mas A, et al. The senescence-associated secretory phenotype induces cellular plasticity and tissue regeneration. *Genes Dev*. 2017;31(2):172-183. doi:10.1101/gad.290635.116
28. Bartosh TJ. Cancer cell cannibalism and the SASP: Ripples in the murky waters of tumor dormancy. *Mol Cell Oncol*. 2017;4(1):e1263715. doi:10.1080/23723556.2016.1263715
29. Barros-Silva D, Marques C, Henrique R, et al. Profiling DNA Methylation Based on Next-

- Generation Sequencing Approaches: New Insights and Clinical Applications. *Genes (Basel)*. 2018;9(9):429. doi:10.3390/genes9090429
30. Derbal Y. Perspective on the dynamics of cancer. *Theor Biol Med Model*. 2017;14(1):18. doi:10.1186/s12976-017-0066-5
  31. Shlush LI, Hershkovitz D. Clonal Evolution Models of Tumor Heterogeneity. *Am Soc Clin Oncol Educ B*. 2015;35:e662-e665. doi:10.14694/EdBook\_AM.2015.35.e662
  32. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144(5):646-674. doi:10.1016/j.cell.2011.02.013
  33. Robbins PD. Extracellular vesicles and aging. *Stem Cell Investig*. 2017;4(12):98-98. doi:10.21037/sci.2017.12.03
  34. Lujambio A. To clear, or not to clear (senescent cells)? That is the question. *BioEssays*. 2016;38:S56-S64. doi:10.1002/bies.201670910
  35. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017;67(1):7-30. doi:10.3322/caac.21387
  36. Melzer C, von der Ohe J, Lehnert H, Ungefroren H, Hass R. Cancer stem cell niche models and contribution by mesenchymal stroma/stem cells. *Mol Cancer*. 2017;16(1):28. doi:10.1186/s12943-017-0595-x
  37. La Porta CAM, Zapperi S. Complexity in cancer stem cells and tumor evolution: Toward precision medicine. *Semin Cancer Biol*. 2017;44:3-9. doi:10.1016/j.semcancer.2017.02.007
  38. Zhang S, Yang X, Wang L, Zhang C. Interplay between inflammatory tumor microenvironment and cancer stem cells (Review). *Oncol Lett*. 2018;16(1):679-686. doi:10.3892/ol.2018.8716
  39. Franco SS, Raveh-Amit H, Kobolák J, Alqahtani MH, Mobasheri A, Dinnyes A. The crossroads between cancer stem cells and aging. *BMC Cancer*. 2015;15(S1):S1. doi:10.1186/1471-2407-15-S1-S1
  40. Liu N, Li S, Wu N, Cho K-S. Acetylation and deacetylation in cancer stem-like cells. *Oncotarget*. 2017;8(51):89315-89325. doi:10.18632/oncotarget.19167
  41. Guo Y, Feng K, Wang Y, Han W. Targeting cancer stem cells by using chimeric antigen receptor-modified T cells: a potential and curable approach for cancer treatment. *Protein Cell*. 2018;9(6):516-526. doi:10.1007/s13238-017-0394-6
  42. Lu J, Li J, Liu S, et al. Exosomal tetraspanins mediate cancer metastasis by altering host microenvironment. *Oncotarget*. 2017;8(37):62803-62815. doi:10.18632/oncotarget.19119
  43. Brouwers B, Fumagalli D, Brohee S, et al. The footprint of the ageing stroma in older patients with breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2017;19(1):78. doi:10.1186/s13058-017-0871-0
  44. Zhang M, Fujiwara K, Che X, Zheng S, Zheng L. DNA methylation in the tumor microenvironment. *J Zhejiang Univ B*. 2017;18(5):365-372. doi:10.1631/jzus.B1600579

45. Alkasalias T, Moyano-Galceran L, Arsenian-Henriksson M, Lehti K. Fibroblasts in the Tumor Microenvironment: Shield or Spear? *Int J Mol Sci.* 2018;19(5):1532. doi:10.3390/ijms19051532
46. Comen EA, Bowman RL, Kleppe M. Underlying Causes and Therapeutic Targeting of the Inflammatory Tumor Microenvironment. *Front Cell Dev Biol.* 2018;6:56. doi:10.3389/fcell.2018.00056
47. Laitala A, Erler JT. Hypoxic Signalling in Tumour Stroma. *Front Oncol.* 2018;8:189. doi:10.3389/fonc.2018.00189
48. McCarthy JB, El-Ashry D, Turley EA. Hyaluronan, Cancer-Associated Fibroblasts and the Tumor Microenvironment in Malignant Progression. *Front Cell Dev Biol.* 2018;6:48. doi:10.3389/fcell.2018.00048
49. Aunan JR, Cho WC, Sørreide K. The Biology of Aging and Cancer: A Brief Overview of Shared and Divergent Molecular Hallmarks. *Aging Dis.* 2017;8(5):628. doi:10.14336/AD.2017.0103
50. Franceschi C, Garagnani P, Morsiani C, et al. The Continuum of Aging and Age-Related Diseases: Common Mechanisms but Different Rates. *Front Med.* 2018;5:61. doi:10.3389/fmed.2018.00061
51. Nacarelli T, Liu P, Zhang R. Epigenetic Basis of Cellular Senescence and Its Implications in Aging. *Genes (Basel).* 2017;8(12). doi:10.3390/genes8120343
52. Wang L, Leite de Oliveira R, Wang C, et al. High-Throughput Functional Genetic and Compound Screens Identify Targets for Senescence Induction in Cancer. *Cell Rep.* 2017;21(3):773-783. doi:10.1016/j.celrep.2017.09.085
53. Wang Z, Liu H, Xu C. Cellular Senescence in the Treatment of Ovarian Cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2018;28(5):895-902. doi:10.1097/IGC.0000000000001257
54. Giaimo S, d'Adda di Fagagna F. Is cellular senescence an example of antagonistic pleiotropy? *Aging Cell.* 2012;11(3):378-383. doi:10.1111/j.1474-9726.2012.00807.x
55. Olivieri F, Praticchizzo F, Grillari J, Balistreri CR. Cellular Senescence and Inflammation in Age-Related Diseases. *Mediators Inflamm.* 2018;2018:1-6. doi:10.1155/2018/9076485
56. Takasugi M. Emerging roles of extracellular vesicles in cellular senescence and aging. *Aging Cell.* 2018;17(2):e12734. doi:10.1111/acel.12734
57. Adjiri A. Tracing the path of cancer initiation: the AA protein-based model for cancer genesis. *BMC Cancer.* 2018;18(1):831. doi:10.1186/s12885-018-4739-1
58. Flor AC, Doshi AP, Kron SJ. Modulation of therapy-induced senescence by reactive lipid aldehydes. *Cell Death Discov.* 2016;2(1):16045. doi:10.1038/cddiscovery.2016.45
59. Gonzalez LC, Ghadaouia S, Martinez A, Rodier F. Premature aging/senescence in cancer cells facing therapy: good or bad? *Biogerontology.* 2016;17(1):71-87. doi:10.1007/s10522-015-9593-9
60. Fan DNY, Schmitt CA. Detecting Markers of Therapy-Induced Senescence in Cancer Cells. In: *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.).* Vol 1534. ; 2017:41-52. doi:10.1007/978-

1-4939-6670-7\_4

61. Calcinotto A, Alimonti A. Aging tumour cells to cure cancer: “pro-senescence” therapy for cancer. *Swiss Med Wkly* 2017 1470304. 2017;147(0304). doi:10.4414/SMW.2017.14367
62. Ewald JA, Desotelle JA, Wilding G, Jarrard DF. Therapy-induced senescence in cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2010;102(20):1536-1546. doi:10.1093/jnci/djq364
63. Goel S, DeCristo MJ, McAllister SS, Zhao JJ. CDK4/6 Inhibition in Cancer: Beyond Cell Cycle Arrest. *Trends Cell Biol.* 2018;0(0). doi:10.1016/j.tcb.2018.07.002
64. Klein ME, Kovatcheva M, Davis LE, Tap WD, Koff A. CDK4/6 Inhibitors: The Mechanism of Action May Not Be as Simple as Once Thought. *Cancer Cell.* 2018;34(1):9-20. doi:10.1016/j.ccell.2018.03.023
65. Iyengar M, O’Hayer P, Cole A, et al. CDK4/6 inhibition as maintenance and combination therapy for high grade serous ovarian cancer. *Oncotarget.* 2018;9(21):15658-15672. doi:10.18632/oncotarget.24585
66. Secchiero P, di Iasio MG, Gonelli A, Zauli G. The MDM2 inhibitor Nutlins as an innovative therapeutic tool for the treatment of haematological malignancies. *Curr Pharm Des.* 2008;14(21):2100-2110. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18691119>. Accessed August 14, 2018.
67. Perdrix A, Najem A, Saussez S, et al. PRIMA-1 and PRIMA-1Met (APR-246): From Mutant/Wild Type p53 Reactivation to Unexpected Mechanisms Underlying Their Potent Anti-Tumor Effect in Combinatorial Therapies. *Cancers (Basel).* 2017;9(12):172. doi:10.3390/cancers9120172
68. Röth A, Harley CB, Baerlocher GM. Imetelstat (GRN163L) - Telomerase-Based Cancer Therapy. In: *Recent Results in Cancer Research. Fortschritte Der Krebsforschung. Progres Dans Les Recherches Sur Le Cancer.* Vol 184. ; 2010:221-234. doi:10.1007/978-3-642-01222-8\_16
69. Mosoyan G, Kraus T, Ye F, et al. Imetelstat, a telomerase inhibitor, differentially affects normal and malignant megakaryopoiesis. *Leukemia.* 2017;31(11):2458-2467. doi:10.1038/leu.2017.78
70. Saleh T, Tyutynuk-Massey L, Cudjoe EK, et al. Non-Cell Autonomous Effects of the Senescence-Associated Secretory Phenotype in Cancer Therapy. *Front Oncol.* 2018;8:164. doi:10.3389/fonc.2018.00164
71. Toso A, Di Mitri D, Alimonti A. Enhancing chemotherapy efficacy by reprogramming the senescence-associated secretory phenotype of prostate tumors: A way to reactivate the antitumor immunity. *Oncoimmunology.* 2015;4(3):e994380. doi:10.4161/2162402X.2014.994380
72. Liu S, Uppal H, Demaria M, Desprez P-Y, Campisi J, Kapahi P. Simvastatin suppresses breast cancer cell proliferation induced by senescent cells. *Sci Rep.* 2016;5(1):17895. doi:10.1038/srep17895
73. Tasdemir N, Banito A, Roe J-S, et al. BRD4 Connects Enhancer Remodeling to Senescence Immune Surveillance. *Cancer Discov.* 2016;6(6):612-629. doi:10.1158/2159-8290.CD-16-

0217

74. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell*. 2015;161(2):205-214. doi:10.1016/j.cell.2015.03.030
75. Vilgelm AE, Johnson DB, Richmond A. Combinatorial approach to cancer immunotherapy: strength in numbers. *J Leukoc Biol*. 2016;100(2):275-290. doi:10.1189/jlb.5RI0116-013RR
76. Katlinskaya Y V, Carbone CJ, Yu Q, Fuchs SY. Type 1 interferons contribute to the clearance of senescent cell. *Cancer Biol Ther*. 2015;16(8):1214-1219. doi:10.1080/15384047.2015.1056419
77. Zhu Y, Tchkonja T, Pirtskhalava T, et al. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell*. 2015;14(4):644-658. doi:10.1111/accel.12344
78. Zhu Y, Doornebal EJ, Pirtskhalava T, et al. New agents that target senescent cells: the flavone, fisetin, and the BCL-X<sub>L</sub>/sub> inhibitors, A1331852 and A1155463. *Aging (Albany NY)*. 2017;9(3):955-963. doi:10.18632/aging.101202
79. Xu M, Palmer AK, Ding H, et al. Targeting senescent cells enhances adipogenesis and metabolic function in old age. *Elife*. 2015;4. doi:10.7554/eLife.12997
80. Müller L, Aigner P, Stoiber D. Type I Interferons and Natural Killer Cell Regulation in Cancer. *Front Immunol*. 2017;8:304. doi:10.3389/fimmu.2017.00304
81. Kasakovski D, Xu L, Li Y. T cell senescence and CAR-T cell exhaustion in hematological malignancies. *J Hematol Oncol*. 2018;11(1):91. doi:10.1186/s13045-018-0629-x
82. Sun Y, Coppé J-P, Lam EW-F. Cellular Senescence: The Sought or the Unwanted? *Trends Mol Med*. 2018;0(0). doi:10.1016/j.molmed.2018.08.002
83. Myrianthopoulos V, Evangelou K, Vasileiou PVS, et al. Senescence and senotherapeutics: a new field in cancer therapy. *Pharmacol Ther*. August 2018. doi:10.1016/j.pharmthera.2018.08.006
84. Gonzalez-Meljem JM, Apps JR, Fraser HC, Martinez-Barbera JP. Paracrine roles of cellular senescence in promoting tumourigenesis. *Br J Cancer*. 2018;118(10):1283-1288. doi:10.1038/s41416-018-0066-1