



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ**

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

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Υπεριώδης ακτινοβολία και βλάβες στο DNA: φωτογήρανση και καρκίνος  
του δέρματος»**

**ΡΩΜΑΙΔΗΣ ΡΩΜΑΝ**

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΟΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΤΡΑΧΑΝΑ ΒΑΡΒΑΡΑ, Επίκουρος Καθηγήτρια Κυτταρικής Βιολογίας, Επιβλέπουσα**

**ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ, Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, Μέλος**

**ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ, Αναπληρωτής Καθηγητής Φαρμακολογίας, Μέλος**



**UNIVERSITY OF THESSALY  
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES  
FACULTY OF MEDICINE**



**POSTGRADUATE MASTER PROGRAM  
“HUMAN GENETICS – GENETIC COUNSELING”**

**MASTER’S THESIS**

**«UV Radiation and DNA Damage: Senescence and Skin Cancer**

**NAME :ROMAIDIS ROMAN**

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα καθηγήτρια μου κυρία Βαρβάρα Τραχανά, η οποία με καθοδήγησε και με βοήθησε καθόλη την διάρκεια της συγγραφής της διπλωματικής μου εργασίας. Ιδιαίτερα η διάλεξη που περιείχε τους Μηχανισμούς Επιδιόρθωσης του DNA στο μάθημα της Μοριακής Γενετικής, με ενέπνευσε για να καταλήξω στο θέμα της διπλωματικής μου.

Επιπλέον, θέλω να ευχαριστήσω πολύ την κυρία Τσέζου Ασπασία και τον κύριο Κωνσταντίνο Δήμα για τις γνώσεις που μου προσέφεραν από την αρχή του μεταπτυχιακού μέσω των διαλέξεων τους. Οι διαλέξεις τους έθεσαν την βάση για να μπορέσω να κατανοήσω επαρκώς αρκετά κομμάτια της διπλωματικής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους συναδέλφους μου στην εργασία μου, που με τον δικό τους τρόπο με βοήθησαν να καταφέρω να ανταπεξέλθω στο πρόγραμμα του μεταπτυχιακού.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αν και όχι τόσο γνωστό, ο πιο κοινός τύπος καρκίνου είναι ο καρκίνος του δέρματος. Η βασικότερη αιτία εμφάνισης του καρκίνου του δέρματος είναι εξωγενείς παράγοντες και το 90% οφείλεται στην UV ακτινοβολία. Στην βιβλιογραφική διπλωματική μου εργασία στο πρώτο μέρος, θα αναφερθούν οι μηχανισμοί της υπεριώδους ακτινοβολίας, που ευθύνονται για τον σχηματισμό των DNA βλαβών αλλά και οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης των βλαβών αυτών. Αποτέλεσμα της απορρόφησης της UV ακτινοβολίας από το DNA, είναι ο σχηματισμός φωτοχημικών βλαβών. Οι φωτοχημικές αυτές βλάβες ονομάζονται **φωτοπροϊόντα**, στα οποία και ανήκουν τα **διμερή κυκλοβουτανίου (CPD)** και **οι ενώσεις 6-4 πυριμιδίνης-πυριμιδόνης**. Οι μεταλλάξεις που προκαλούνται από τα **φωτοπροϊόντα**, μπορούν να επιδιορθωθούν με ενζυμικούς μηχανισμούς επιδιόρθωσης που εξειδικεύονται στην απαλοιφή των φωτοπροϊόντων. Ο βασικότερος μηχανισμός επιδιόρθωσης των φωτοχημικών βλαβών είναι η επιδιόρθωση μέσω εκτομής νουκλεοτιδίου (**Nucleotide Excision Repair-NER**). Σε κάποιες περιπτώσεις οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης δεν λειτουργούν αποτελεσματικά, λόγω διαφόρων μεταλλάξεων σε κρίσιμα λειτουργικά γονίδια τους, και προκύπτουν σπάνιες ασθένειες όπως το **σύνδρομο της μελαγχρωματικής ξηροδερμίας (Xeroderma Pigmentosum)** και το **σύνδρομο Cockayne**.

Στο δεύτερο μέρος γίνεται αναφορά στους μηχανισμούς που οδηγούν στην εμφάνιση καρκίνου του δέρματος και φωτογήρανσης. Συνήθως άτομα με ανοιχτόχρωμους τύπους δέρματος είναι πιο ευάλωτα στην UV στην εμφάνιση καρκίνου και σημάδιων γήρανσης του δέρματος. Κάποιοι μηχανισμοί της UV ακτινοβολίας, είναι κοινοί στην **φωτογήρανση** και στον **καρκίνο του δέρματος, όπως ο σχηματισμός των οξειδωτικών βλαβών**.

Στο τελευταίο κομμάτι της διπλωματικής θα γίνει αναφορά σε θεραπευτικές και προληπτικές προσεγγίσεις. Τα τελευταία χρόνια, έχουν αναπτυχθεί διάφορες θεραπευτικές προσεγγίσεις που στηρίζονται στη χρήση DNA επιδιορθωτικών ενζύμων όπως η **Φωτολύση** και η **T4 Ενδονουκλεάση V**, που δίνουν ελπίδες αναφορικά με τη μείωση και πρόληψη των φωτοχημικών βλαβών. Επιπλέον ο τομέας της Γενετικής μέσω των μεθόδων γονιδιακής θεραπείας, έχει ανοίξει τον δρόμο για αποτελεσματικότερες θεραπευτικές μεθόδους. Μερικές από αυτές συμπεριλαμβάνουν, την θεραπεία με την **χρήση τροποποιημένων ιικών φορέων** αλλά και τη μεταφορά DNA με διάφορα φυσικά μέσα όπως το **γονιδιακό όπλο και τα οι μικροβελόνες (micro needles)**.

Λέξεις- Κλειδιά: NER, φωτοπροϊόντα, Καρκίνος του Δέρματος, Φωτογήρανση, Γονιδιακή Θεραπεία.

**ABSTRACT:** UV radiation is responsible for the 90% of the skin cancer cases worldwide. Unfortunately, we are constantly exposed to UVR, so it becomes inevitable to avoid the deleterious effects of UV such as carcinogenesis and skin aging.

In the first part of this literature review-based thesis, molecular mechanisms of the formation of UV induced DNA photolesions and repair mechanisms of these DNA lesions will be presented.

It is known that, the exposure of cellular DNA to UV radiation, leads to the formation of photochemical DNA lesions. These DNA lesions are known as photoproducts, which include **cyclobutane pyrimidine dimers (CPDs)** and **6-4 PPs**. DNA damage induced by UV can be removed by excision repair mechanisms such as **Nucleotide Excision Repair (NER)**. However, sometimes mutations of critical genes of NER mechanism, lead to rare genetic disorders such as **Xeroderma Pigmentosum** and **Cockayne's syndrome**.

Apart from, cellular damage that leads to skin cancer, exposure to UV radiation contributes to **skin photoaging**. Usually, lightly skinned people are more susceptible to skin aging and occurrence of skin cancer caused by UV radiation. There are common UV damage mechanisms that cause both skin cancer and photoaging. In the second part of this literature review, biological mechanisms that are responsible for skin carcinogenesis and skin ageing will be presented.

Lastly, concerning the therapeutic field, during the last years, new therapeutic methods have been developed, to treat and prevent skin cancer. The use of DNA repair enzymes such as **Photolyase** and **T4 Endonuclease V** proved to reduce efficiently the UV induced photolesions and can be used as a preventive measure. Specifically, the field of Genetics, through genetic engineering tools, leads the way to create effective treatment methods via gene therapy. In the last chapter of this thesis, we will describe the use of **genetically modified viral vectors** and transfer of DNA via various physical vectors (**gene gun, micro needles**).

**Key-Words:** NER, DNA Lesions, Skin Photoaging, Skin Cancer, Gene Therapy

## Περιεχόμενα

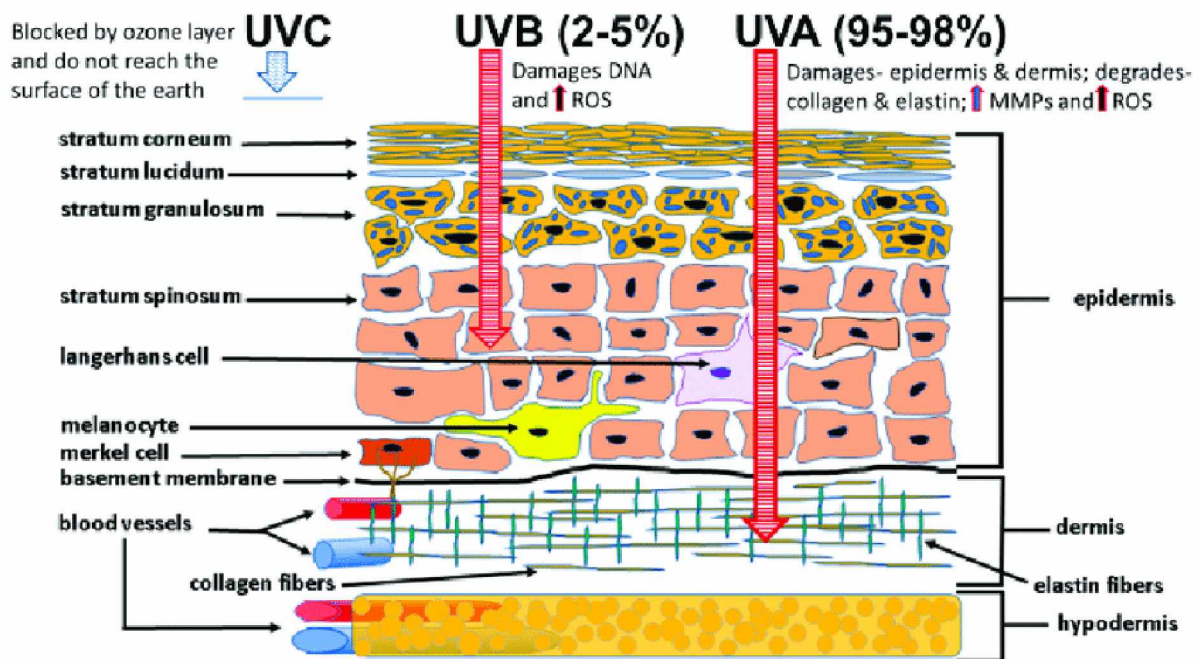
1.1 UV ακτινοβολία (Ultraviolet Radiation-UVR) και αρνητικές επιπτώσεις στον άνθρωπο.	8
1.1.2 Φωτοπροϊόντα: Διμερή Κυκλοβουτανίου (CPDs) και 6-4 PPs	11
1.2 Μηχανισμοί επιδιόρθωσης DNA βλαβών σχετιζόμενων με UV ακτινοβολία.	13
1.2.1 Photoreactivation mechanism- Μηχανισμός Φωτοεπαενεργοποίησης	13
1.2.2 Nucleotide Excision Repair (NER) Mechanism-Επιδιόρθωση Μέσω Εκτομής Νουκλεοτιδίου	15
1.2.2.1 GC-NER	17
1.2.2.2 TC NER	18
1.2.3 Base Excision Repair (BER) – Επιδιόρθωση μέσω εκτομής βάσης	19
1.2.4 Μηχανισμός επιδιόρθωσης μέσω της ATR Κινάσης	20
1.3.1 Μεταλλάξεις στον Μηχανισμό NER : Σύνδρομο Xeroderma Pigmentosum	21
1.3.2 Μεταλλάξεις στον Μηχανισμό NER- Ελλατωματική Λειτουργία TC-NER : Σύνδρομο Cockayne	23
1.4 UV Induced Aporptosis-Απόπτωση που προκαλείται από UV Ακτινοβολία	24
1.4.1 Ο ρόλος του ογκοσταλτικού γονιδίου p53 στην Απόπτωση	25
2.1 UV Ακτινοβολία και Καρκίνος του Δέρματος.	25
2.2 DNA Βλάβες και μεταλλάξεις από την UV ακτινοβολία.	27
2.2.1 Οξειδωτική Βλάβη από UV , μεταλλαξιογένεση και μεταγραφικός παράγοντας NRF2	28
2.2.2 Μεταλλάξεις του Υποδοχέα Μελανοκορτίνης 1 και αύξηση ρίσκου εμφάνισης καρκίνου του δέρματος (MC1R)	30
2.2.3 Συσχετισμός Ηλιακή Ακτινοβολίας , Βιταμίνης D και καρκίνου του δέρματος.	31
3.2 Ο ρόλος της UV στην Φωτογήρανση	33
3.3 Ο ρόλος της UV επαγόμενης αυτοφαγίας στην φωτογήρανση.	36

3.4 UV ένζυμα σχετιζόμενα με την φωτογήρανση	37
3.5 Δερματικές Διαταραχές Φωτογήρανσης: Συσχετισμός Μελάσματος και Φωτογήρανσης	38
3.6 Άλλοι Εξωτερικοί Παράγοντες Φωτογήρανσης	39
3.7 Ομοιότητες στους μηχανισμούς φωτογήρανσης και καρκίνου του δέρματος	40
4.1 Πρόληψη Και Θεραπευτικές Προσεγγίσεις κατά του Καρκίνου του Δέρματος	42
4.1.1 Αποφυγή της UV ακτινοβολίας για την πρόληψη καρκίνου του δέρματος.	42
4.2 Μοριακοί Στόχοι για την πρόληψη του καρκίνου	42
4.3 Καφεΐνη και συσχετισμός με τον ATR μηχανισμό για την πρόληψη του καρκίνου του δέρματος.	43
4.4 Μοριακές Μέθοδοι Θεραπείας κατά του καρκίνου του δέρματος	44
4.4.1 Gene Gun Therapy	46
4.4.2 Χρήση Microneedles για μεταφορά γονιδίων	48
4.4.3 Γονιδιακή Θεραπεία Μελανώματος με ιικούς φορείς (viral vector):T-VEC	50
4.4.4 Γονιδιακή Θεραπεία Μελανώματος με ιικούς φορείς (viral vectors):Ρετροϊοί/Λεντιοί	51
4.5 Φωτοδυναμική Θεραπεία	52
4.5.1 Το πλεονέκτημα της επιλεκτικότητας των Φωτοευαισθητοποιητών.	53
4.5.2 Παραλλαγές της Φωτοδυναμικής Θεραπείας: Χρήση Νανοτεχνολογίας και Λιποσωμάτων/Λιποπρωτεϊνών	54
4.6 Χρήση DNA επιδιορθωτικών ενζύμων	55
4.6.1 Φωτολύαση ( Photolyase)	56
4.6.2 T4 Endonuclease V	57
4.6.3 Χρήση Λιποσωμάτων ως μέσα μεταφοράς DNA επιδιορθωτικών ενζύμων	58
4.6.4 Σύγκριση απλών αντηλιακών προϊόντων με αντηλιακά εμπλουτισμένα με DNA επιδιορθωτικά ένζυμα.	58
Συμπεράσματα	59

## 1.1 UV ακτινοβολία (Ultraviolet Radiation-UVR) και αρνητικές επιπτώσεις στον άνθρωπο.

Η UVR παράγεται από τον ήλιο αλλά και από τεχνητές πηγές. Υπάρχουν τρεις τύποι υπεριώδους ακτινοβολίας :UV-A (Χαμηλής ενέργειας) ,UV-B(Μέσης Ενέργειας) και UV-C (Υψηλής Ενέργειας).

(Κωστας Παππας and Θεοδώρου, 2017)



Εικόνα 1: Τα 3 είδη της UVR και οι επιπτώσεις τους. Πηγή:(Lephart, 2018)

1. Η UV-A (320-400 nm) ευθύνεται κυρίως για την πρόωγη γήρανση αλλά και για την καρκινογένεση, κομμάτι που θα μας απασχολήσει παρακάτω.(Schuch et al., 2017)
2. Η UV-B (280-320 nm) , είναι η ακτινοβολία που προκαλεί τις σοβαρότερες επιδράσεις στην υγεία του ανθρώπου, μέσα σε αυτές και ο καρκίνος του δέρματος

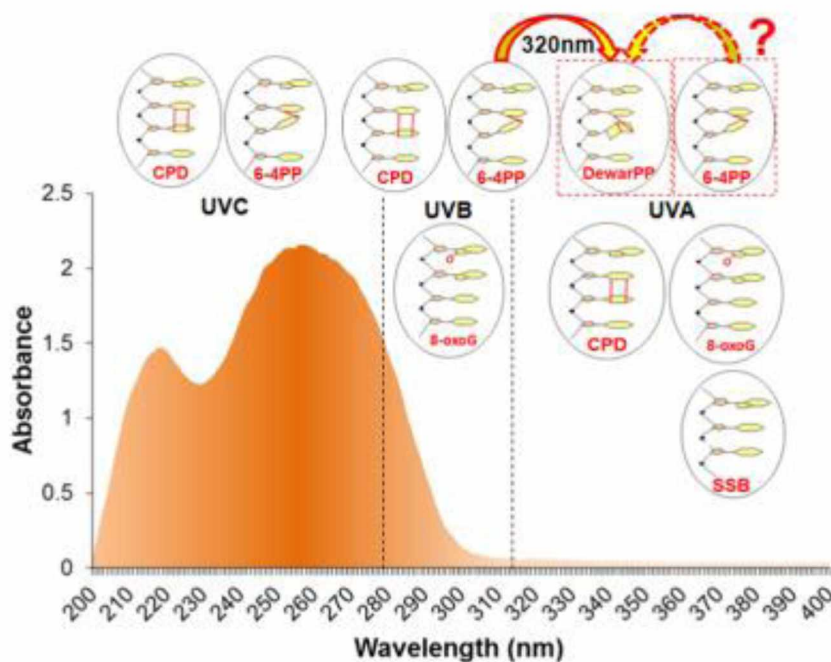


3. **Η UV-C** (100-280nm), είναι άκρως επικίνδυνη , ωστόσο δεν φτάνει στην επιφάνεια της γής, λόγω της ύπαρξης του στρώματος του όζοντος στην ατμόσφαιρα του πλανήτη μας.(Schuch et al., 2017)

Ονομάζεται υπεριώδης ακτινοβολία διότι είναι πρακτικά η ακτινοβολία μετά το ιώδες φάσμα. Είναι γνωστό πως οι άνθρωποι εκτίθενται στην UVR συνεχώς λόγω της συνεχόμενης έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία. Η έκθεση μπορεί να προκαλέσει **από εγκαύματα έως και καρκινογένεση**. (JW et al., 2020) Παρακάτω θα αναφερθούν κυρίως η UV-B και η UV-A, η δεύτερη πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι προκαλεί και αυτή καρκίνο. Επειδή η έκθεση στην UV ακτινοβολία προκαλεί την παραγωγή του ενδογενούς οπιούχου β-ενδορφίνης στο δέρμα, δημιουργείται μια εθιστική συμπεριφορά στο ηλιακό (JW et al., 2020) Αυτό έχει ως αποτέλεσμα οι άνθρωποι να θέλουν να εκτεθούν στην UV, κάτι που συνεπάγεται χρόνια έκθεση σε UV και αυξάνει **σημαντικά το ρίσκο της δερματικής καρκινογένεσης**.(JW et al., 2020).

Πλέον έχει αποδειχθεί ότι η UVB σε σχέση με την UV-A δεν μπορεί να εισχωρήσει σε βάθος στο δέρμα, καταστρέφει την βιταμίνη Α αλλά και οδηγεί στην δημιουργία μη φυσιολογικών ομοιοπολικών δεσμών μεταξύ βάσεων κυτοσίνης, χημικές ενώσεις που ονομάζονται φωτοπροϊόντα ,τα λεγόμενα **διμερή κυκλοβουτανίου ( διμερή θυμίνης ή κυτοσίνης) ,τα οποία και θα αναλυθούν παρακάτω αναλυτικότερα μιας και σχετίζονται άμεσα με την εμφάνιση του καρκίνου του δέρματος.**

Ο τύπος βλαβών και ο αριθμός των βλαβών που δημιουργείται από την UV ακτινοβολία εξαρτάται από τα UV μήκη κύματος. Μικρότερα μήκη κύματος δημιουργούν DNA βλάβες πιο αποτελεσματικά. **Η UVC** είναι **100** φορές πιο αποτελεσματική στον σχηματισμό των CPDs από **την UVB**. Από την άλλη η **UVB** είναι **1000** φορές πιο αποτελεσματική από την **UVA**. Και η **UVB** και η **UVC** σχηματίζουν διμερή κυκλοβουτανίου (CPDs) και 6-4 Φωτοπροϊόντα, από την άλλη η **UVA** προκαλεί μόνο CPDs.(JW et al., 2020)



Εικόνα 2 : Τα μήκη κύματος και τα είδη βλαβών από κάθε είδος UV. Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584917300382>

Η UVA εκτός από την φωτογήρανση, προκαλεί μαζί με την UVB μεταλλάξεις και καρκίνο. Ο βασικός τύπος ακτινοβολίας UV που ευθύνεται για τον UV σχετιζόμενη δερματική καρκινογένεση είναι ο UVB. Τα 315 nm ακτινοβολίας προκαλούν παραπάνω μεταλλάξεις και καρκίνους από όλες τα άλλα μήκη κύματος της UV.

Επιπλέον η UVA προκαλεί οξειδωτικές βλάβες στον DNA, που οδηγούν σε μεταλλάξεις. (JW et al., 2020). Οι οξειδωτικές βλάβες θα αναλυθούν σε παρακάτω κεφάλαιο.

Εκτός από τις αρνητικές επιδράσεις, υπάρχουν και θετικές επιδράσεις στον άνθρωπο, όπως είναι η συμμετοχή στην διαδικασία παραγωγής της βιταμίνης D. (Schuch et al., 2017).

### 1.1.2 Φωτοπροϊόντα: Διμερή Κυκλοβουτανίου (CPDs) και 6-4 PPs

Τα φωτοπροϊόντα που αφορούν γειτονικές βάσεις πυριμιδίνης είναι οι πιο συχνές βλάβες που σχετίζονται με την UV ακτινοβολία, στο DNA. (J & T, 2018). Τα πρώτα διμερή κυκλοβουτανίου ανακαλύφθηκαν πριν από 60 χρόνια. (J & T, 2018) **Ο συσχετισμός τους με τον καρκίνο του δέρματος έχει καθιερωθεί** μέσω πολλαπλών παρατηρήσεων διαφόρων μεταλλάξεων στις *hygimpridine* περιοχές συγκεκριμένων γονιδίων μη μελανωματικών καρκίνων του δέρματος. (J & T, 2018)

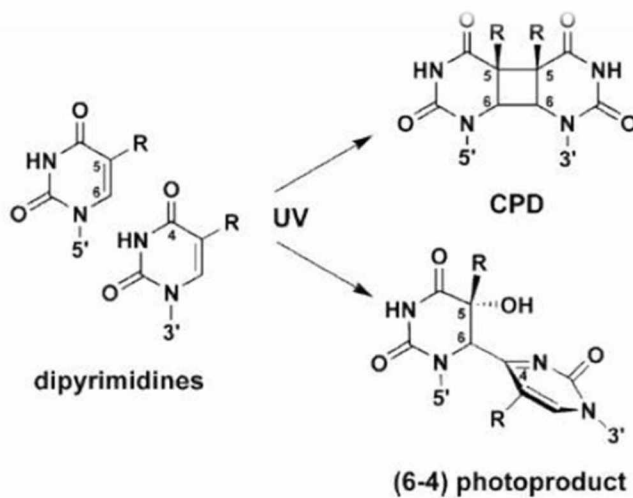


Figure 1: Structures of DNA lesions induced by UV Light

Εικόνα 3: Δομές των DNA βλαβών προκαλούμενων από την UV ακτινοβολία Πηγή: <https://www.biocompare.com/25138-Assay-Kit/8084308-OxiSelect-UV-Induced-DNA-Damage-ELISA-Combo-Kit-CPD-6-4PP-Quantitation/>

et al., 2020b). Ωστόσο και η λιγότερο ενεργητική, αλλά 20 φορές πιο ισχυρή UVA(320-400nm) οδηγεί στον σχηματισμό των CPDs μαζί με άλλες οξειδωτικές βλάβες. (J & T, 2018).

Η UVB ακτινοβολία είναι ο βασικός λόγος του σχηματισμού των φωτοπροϊόντων 6-4PPs. Τα 6-4PP προκαλούμενα από την UV έχουν διάφορες βλαβερές συνέπειες στα κύτταρα. Έχει παρατηρηθεί πως τα κύτταρα μπορούν να επιδιορθώσουν πιο εύκολα τα 6-4 Φωτοπροϊόντα σε σχέση με τα CPDs.

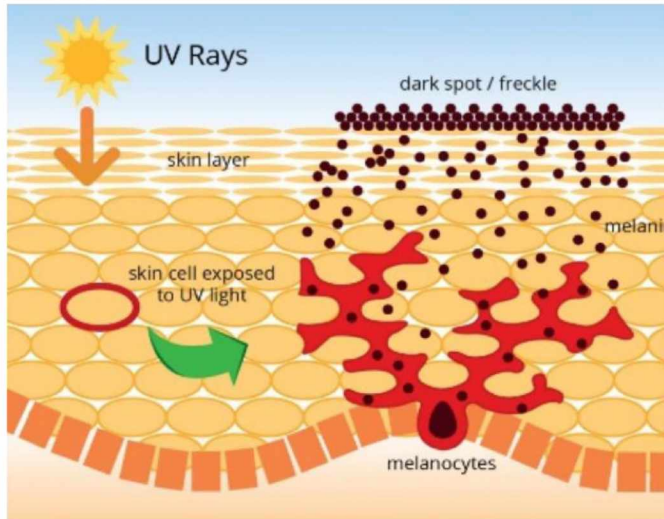
Η άμεση απορρόφηση της UVB ακτινοβολίας από το DNA, οδηγεί στον σχηματισμό διμερών πυριμιδινών μεταξύ των γειτονικών πυριμιδινών στην αλυσίδα του DNA. Οι πιο συχνές βλάβες είναι τα **διμερή κυκλοβουτανίου πυριμιδίνης(CPDs)** αλλά και τα **(6-4) φωτοπροϊόντα**.(Banaś

Ο σχηματισμός των CPDs, από την UV ακτινοβολία, είναι πολύ γρήγορος. Σχηματίζονται μέσα σε ένα pico-δευτερόλεπτο μετά την έκθεση σε UV. Στα μελανοκύτταρα τα CPDs σχηματίζονται για 3 ώρες αφού σταματήσει η έκθεση σε UV. Αυτά τα αργά σχηματιζόμενα CPDs, ονομάζονται ‘‘dark CPDs’’ και σχηματίζονται μέσω UV επαγόμενων RONS (Reactive Oxygen and Nitrogen Species) που αλληλοεπιδρούν με την μελανίνη. Αυτό το διάστημα των 3 ωρών, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και θεραπευτικά στοχεύοντας στον περιορισμό του σχηματισμού των CPDs που περιέχουν κυτοσίνη, τα οποία είναι και δυνητικά μεταλλαξιογόνα (JW et al., 2020). Επιπλέον τα CPDs επάγουν την αναστολή του κυτταρικού κύκλου ενώ τα (6-4) φωτοπροϊόντα την απόπτωση (Mohania et al., 2017).

### 1.1.3 MC1R Υποδοχέας και Μελανίνη

Η μελανίνη αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας του δέρματος μας εναντίων των βλαβών που προκαλούνται από την UV ακτινοβολία. Η μελανίνη είναι μια χρωστική που παράγεται στα μελανοκύτταρα, τα οποία τη μεταφέρουν σε κοκκώδης μορφή στα γειτονικά κύτταρα των κυττάρων Prickle. (Mohania et al., 2017). Η μελανίνη παράγεται στα μελανοκύτταρα, τα οποία βρίσκονται κυρίως στο άνω μέρος της επιδερμίδας, και διανέμεται στα κερατινοκύτταρα τα οποία είναι άφθονα στην επιδερμίδα. Τα μελανοκύτταρα περιέχουν τα μελανοσώματα τα οποία είναι υπεύθυνα για την παραγωγή και αποθήκευση της μελανίνης. Η μεταφορά των μελανοσωμάτων από τα μελανοκύτταρα στα κερατινοκύτταρα πραγματοποιείται μέσω των επιμηκυμένων δενδριτών. Ο σχηματισμός των περιπυρηνικών καπακίων (perinuclear caps) από τα μελανοσώματα που βρίσκονται μέσα στην κυτοσόλη των κερατινοκυττάρων, δημιουργεί μια απαραίτητη ‘‘ασπίδα’’ για την προστασία του DNA από την ηλιακή ακτινοβολία. Η αποτελεσματικότητα της αμυντικής απάντησης τους δέρματος μας έναντι στην UV ακτινοβολία εξαρτάται από την παραγωγή, διανομή, τύπο και ποσότητα της παραγόμενης μελανίνης. (S. F, 2020)

Ο MC1R υποδοχέας βρίσκεται στα μελανοκύτταρα, όπου η ορμόνη διέγερσης α-μελανοκυττάρων (MSH) προσδένεται σε αυτόν, και σηματοδοτεί την ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης A (PKA). Αυτή η ενεργοποίηση έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων που συνθέτουν την μελανίνη, με αποτέλεσμα την αύξηση της ποσότητας της στο δέρμα.



Εικόνα 4: Παραγωγή μελανίνης από μελανοκύτταρα μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία, Πηγή: <https://www.clipartkey.com/search/tan/2/>

Ο υποδοχέας Μελανοκορτίνης 1 (MC1R), μετά από έκθεση του δέρματος στην UV, παρέχει προστασία μέσω δύο μηχανισμών. Ο ένας από αυτούς είναι η ενισχυμένη παραγωγή μελανίνης και MC1R, τα οποία οδηγούν στην αύξηση του ρυθμού εναπόθεσης της ευμελανίνης (τύπος μελανίνης) κάτω από την επιδερμίδα (Mohania et al., 2017).

Αυτή η τοπική συσσώρευση της μελανίνης στην επιδερμίδα, μειώνει την βλαβερή δόση της UV ακτινοβολίας, κάτι που μειώνει τελικά το ρίσκο εμφάνισης καρκίνων μέσω μειωμένης μεταλλιοξιογένεσης. (Mohania et al., 2017). Δεύτερον, η σηματοδότηση του MC1R υποδοχέα, οδηγεί στην ενίσχυση του NER επιδιορθωτικού μηχανισμού και της αντοχής σε οξειδωτικές βλάβες.

Ωστόσο σε περίπτωση σχηματισμού διαφόρων πολυμορφισμών στον υποδοχέα MC1R, υπάρχει ελλαττωματική λειτουργία του μηχανισμού. Αυτό η δυσλειτουργία του MC1R συναντάται συχνά σε ανθρώπους με ανοιχτόχρωμα δέρμα, ευαισθησία στον ήλιο και τέλος σε άτομα επιρρεπή σε καρκίνους του δέρματος. Οι πιο γνωστές μεταλλάξεις του MC1R είναι η R151C, R160W, D84E και D294H. Η τελευταία είναι γνωστή και ως red hair color (RHC). (M. D et al., 2017)

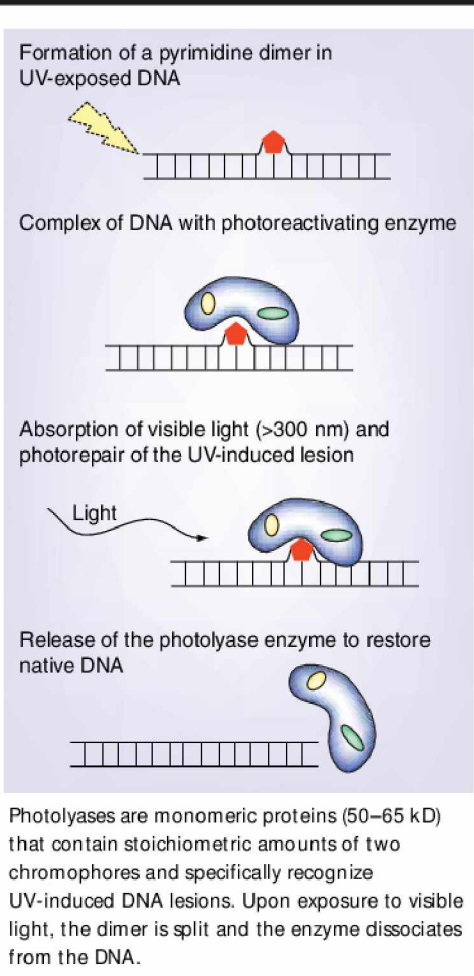
## 1.2 Μηχανισμοί επιδιόρθωσης DNA βλαβών σχετιζόμενων με UV ακτινοβολία.

### 1.2.1 Photoreactivation mechanism- Μηχανισμός Φωτοεπαενεργοποίησης

Ο συγκεκριμένος μηχανισμός υπάρχει στους προκαρυωτικούς οργανισμούς, μύκητες και φυτά. Ωστόσο έχει χαθεί εξελικτικά με το πέρασμα των ετών από τα θηλαστικά με πλακούντα όπως ο άνθρωπος. (Banas et al., 2020a).

Όταν προκαλείται UV σχετιζόμενη DNA βλάβη, τότε γίνεται η ενεργοποίηση του μηχανισμού, ο οποίος εξαρτάται από το ηλιακό φως για να λειτουργήσει. Ο μηχανισμός αυτός μετατρέπει

**Figure 2. Cyclobutane pyrimidine dimer photolyase and photoreactivation.**



Εικόνα 5: Ο μηχανισμός επιδιόρθωσης μέσω της Φωτολύασης (Photoreactivation Mechanism),

Πηγή:

[https://www.researchgate.net/figure/Cyclobutane-pyrimidine-dimer-photolyase-and-photoreactivation\\_fig2\\_7216372](https://www.researchgate.net/figure/Cyclobutane-pyrimidine-dimer-photolyase-and-photoreactivation_fig2_7216372)

άμεσα το ελαττωματικό DNA στην φυσιολογική του κατάσταση. Αυτό γίνεται μέσω των ενζύμων που λέγονται Φωτολύασης. (Roy, 2017). Γενικότερα οι φωτολύασης προσδένονται στις UV-B σχετιζόμενες DNA βλάβες και τις αφαιρούν άμεσα μέσω της απορρόφησης του μπλε φωτός. Η απορρόφηση αυτή γίνεται σε μήκη κύματος από 300 έως 600nm. Στην πορεία το διμερές σταδιακά μετατρέπεται σε μονομερές όσο απελευθερώνεται το ένζυμο της φωτολύασης. (Roy, 2017). Η έλξη της φωτολύασης σε τμήματα DNA με διμερή πυριμιδινών είναι μεγαλύτερη σε σχέση με την έλξη σε DNA που δεν έχει υποστεί βλάβες, είναι 7500 φορές πιο ισχυρή. Η πρόσδεση της φωτολύασης στα διμερή πυριμιδίνης δεν εξαρτάται στο φως και μπορεί να πραγματοποιηθεί ακόμη και στο σκοτάδι. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των διμερών πυριμιδίνης και των σημείων πρόσδεσης των φωτολυασών βοηθάνε τις βλάβες να αποκολληθούν από την έλικα του DNA, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη ευελιξία του DNA. Τα διμερή κυκλοβουτανίου πυριμιδίνης (CPDs) και οι 6-4 ενώσεις πυριμιδίνης-πυριμιδόνης (6-4PP) δεν ταιριάζουν στα ίδια σημεία πρόσδεσης των φωτολυασών. Το γεγονός αυτό οφείλεται στις διάφορες τρισδιάστατες δομές και στις διάφορες

αποτελεσματικότητες του σχηματισμού των δεσμών υδρογόνου. Για αυτό τον λόγο οι φωτολύασης προσδένονται είτε σε CPDs είτε σε 6-4 PPs.(Banaś et al., 2020a)

Παρατηρήθηκε ότι η “έλξη” της Φωτολύασης με τμήματα DNA που περιέχουν Διμερή Πυριμιδινών είναι αρκετά μεγαλύτερη σε σχέση με τμήματα DNA χωρίς βλάβες. Λόγω της διαφορετικής τρισδιάστατης δομής και των δεσμών υδρογόνου των 6-4 PPs και των CPDs, οι φωτολύασης στοχεύουν είτε τα 6-4 PP ή τα CPDs αποκλειστικά. Ωστόσο πρόσφατα έχει βρεθεί Φωτολύαση που έχει την ικανότητα να διορθώνει και τα δύο UV φωτοπροϊόντα

ταυτόχρονα.(Banaś et al., 2020a). Το UV ανθεκτικό βακτήριο *Sphingomonas* sp UV 9, έχει ένα μοναδικό σημείο πρόσδεσης το οποίο ταιριάζει και με τα δύο είδη των διμερών πυριμιδίνης.(Banaś et al., 2020b)

Μεγάλο μειονέκτημα είναι το γεγονός ότι σε συνθήκες έλλειψης ηλιακού φωτός ή σε συνθήκες χαμηλού φωτισμού δεν λειτουργεί ο μηχανισμός.(Strzałka et al., 2020)

### **1.2.2 Nucleotide Excision Repair (NER) Mechanism-Επιδιόρθωση Μέσω Εκτομής Νουκλεοτιδίου**

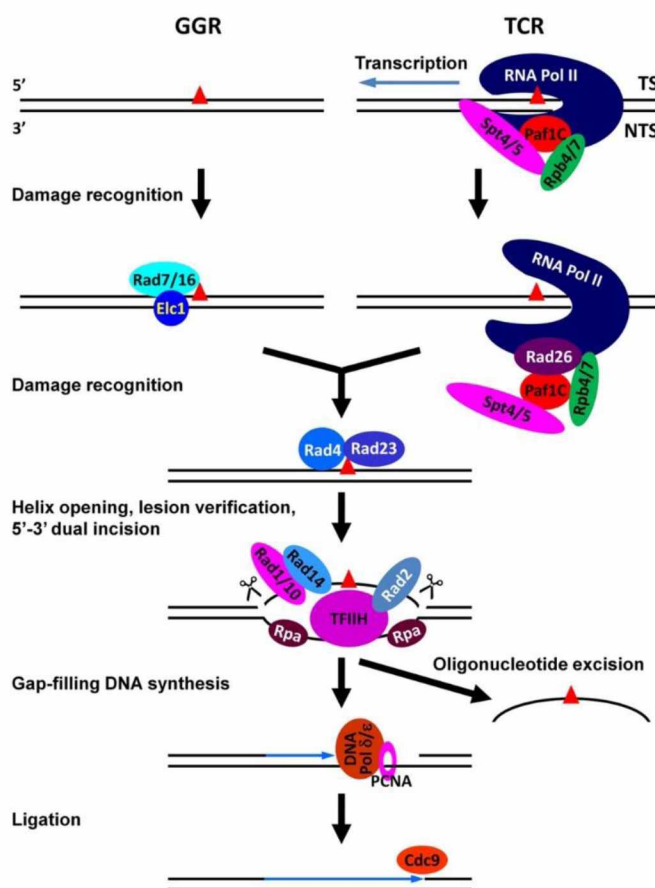
Αποτελεί εναλλακτικό μηχανισμό επιδιόρθωσης DNA βλαβών που δεν εξαρτάται ούτε στηρίζεται στο ηλιακό φως, για αυτό και ονομάζεται “σκοτεινό” μονοπάτι (**dark pathway**) επιδιόρθωσης βλαβών. Σε γενικές γραμμές είναι ο πιο κοινός μηχανισμός για την επιδιόρθωση UV σχετιζόμενων DNA βλαβών. Γίνεται αφαίρεση περίπου 24-32 ολιγονουκλεοτιδίων από το τμήμα DNA που έχει υποστεί βλάβη. Ο NER είναι αρκετά πιο πολύπλοκος στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς σε σχέση με του προκαρυωτικούς. Για παράδειγμα στα βακτήρια στον μηχανισμό του NER συμμετέχουν 3 πρωτεΐνες, γνωστές ως το **UvrABC σύστημα**, ενώ στον μηχανισμό NER στα ζώα, συμμετέχουν μέχρι και 50 διαφορετικές πρωτεΐνες. Επιπλέον υπάρχουν διαφορές στο μέγεθος της εκτομής του κομματιού DNA κατά την επιδιόρθωση, στα βακτήρια το θραύσμα είναι 12-13 nt ενώ στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς είναι 27-29nt. Λόγω της πιο απλής φύσης λειτουργίας του NER στα βακτήρια, είναι πιο εύκολα κατανοητός.(Kovalchuk, 2016)

Τα βασικά βήματα λειτουργίας του μηχανισμού είναι:

- I. Αναγνώριση Βλάβης DNA,
- II. Διαχωρισμός (Separation) της διπλής έλικας στο σημείο της βλάβης στο DNA
- III. Μονόκλωνη Τομή και στις δύο άκρες της βλάβης
- IV. Excision( Εκτομή) του μονόκλωνου DNA κομματιού που περιέχει την βλάβη.
- V. DNA Repair Synthesis για την αντικατάσταση του κενού
- VI. Πολυμερισμός-Ligation (Σύνδεση) των ανοικτών DNA άκρων.

Υπάρχουν περιπτώσεις όπου ο μηχανισμός NER αδυνατεί να αφαιρέσει πλήρως τα UV Φωτοπροϊόντα . Η δυσλειτουργία αυτή, οδηγεί στην διατάραξη της εύρυθμης λειτουργίας βασικών κυτταρικών διαδικασιών (Αντιγραφή DNA, Μεταγραφή DNA) με αποτέλεσμα την συσσώρευση μεταλλάξεων και τον κυτταρικό θάνατο.(Roy, 2017)(Sidler, 2016) . Συμμετέχουν περίπου 30 πρωτεΐνες στο NER μηχανισμό, οι οποίες έχουν διαδοχική δράση, για την αφαίρεση των περιοχών DNA που έχουν υποστεί βλάβη. **Μεταλλάξεις στα γονίδια NER συσχετίζονται με διαταραχές όπως Xeroderma Pigmentosa (XP) και το Cockayne Syndrome.**(Mensink & Highsmith, 2009)

Υπάρχουν ενδείξεις πως ο μηχανισμός NER συσχετίζεται με την ηλικία ενός ατόμου. Δηλαδή υπάρχει φθορά του μηχανισμού όσο μεγαλώνει κάποιος.(Sidler, 2016) Αυτό βασίζεται στην παρατήρηση ότι η επιδιόρθωση της UV σχετιζόμενης βλάβης σε ινοβλάστες φυσιολογικού δέρματος φθίρει και τείνει να γίνει μεταλλαξιόγόνη, όσο αυξάνεται η ηλικία του δότη. Ως πιθανή αιτία εξετάζεται η μειωμένη έκφραση των NER γονιδίων.(Sidler, 2016)



Ο μηχανισμός NER αποτελείται από 2 μονοπάτια επιδιόρθωσης.

Το πρώτο είναι το Global Genome Repair( GGR) ενώ το δεύτερο ονομάζεται Transcription Coupled Repair( TCR) .

Το GGR μονοπάτι επιδιορθώνει τα UV Φωτοπροϊόντα σε όλο το επίπεδο γονιδιώματος, ενώ το TCR επιδιορθώνει βλάβες στο κομμάτι DNA που είναι ενεργό στην διαδικασία της μεταγραφής, και το οποίο συσχετίζεται άμεσα με την έκφραση γονιδίων.(Mensink & Highsmith, 2009)

Εικόνα 6 : Τα 2 μονοπάτια επιδιόρθωσης του NER. GGR και TCR, Πηγή : Li, Wentao, "Transcription Coupled DNA Repair in Saccharomyces Cerevisiae: the Interplay of Facilitators and Repressors" (2014). LSU Doctoral Dissertations. 4. [https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool\\_dissertations/4](https://digitalcommons.lsu.edu/gradschool_dissertations/4)



### 1.2.2.1 GC-NER

**Σημαντικό ρόλο στο GGR παίζει το πρωτεϊνικό σύμπλεγμα XPC** (Xeroderma pigmentosum group C hHR23B), μέσω του οποίου γίνεται η αρχική αναγνώριση DNA βλάβης, που μετέπειτα οδηγεί και στην ενεργοποίηση του Global Genome Repair μηχανισμού. Το **hHR23B είναι απαραίτητο για να γίνει η αναγνώριση της βλάβης**. Χρησιμοποιεί έναν μηχανισμό πολλαπλών σταδίων για να υπάρχει μια υψηλή διακριτική ικανότητα αναγνώρισης βλαβών. Είναι σημαντικό, να αναφερθεί πως το σύμπλεγμα δεν έρχεται σε άμεση επαφή με τον κλώνο DNA που έχει υποστεί την βλάβη την ώρα που βγάζει από τις θέσεις του τα ζευγάρια βάσεων που περιέχουν την βλάβη (Zhu & Wani, 2017). Με αυτόν τον τρόπο το XPC, λειτουργεί ως πλατφόρμα για την ενεργοποίηση του TFIIH, για την αναγνώριση των DNA βλαβών με την βοήθεια του XPA. Η εξακρίβωση της βλάβης εκτελείται από το tripartite DNA σύστημα επιλογής βλαβών. Πρώτα το XPC αναγνωρίζει τις DNA περιοχές με το μη φυσιολογικό ζεύγος βάσεων. Στην συνέχεια το TFIIH σύμπλεγμα χρησιμοποιεί το XPB και XPD, για την αλλαγή θέσης πάνω και στους 2 DNA κλώνους, και ξετυλίγει το DNA προς την βλάβη. (Zhu & Wani, 2017) Όταν το σύμπλεγμα TFIIH έρθει σε επαφή με μια ογκώδης βλάβη στον κλώνο του DNA, που σαρώνεται από το XPD, τότε το XPA ενισχύει την ακινητοποίηση (stalling) των XPD και XPB. Τελευταίο βήμα του tripartite συστήματος είναι, όταν το TFIIH και XPA οριοθετούν μια δομή φούσκας DNA που περιέχει βλάβες με την ένωση του RPA στον κλώνο DNA που δεν έχει υποστεί βλάβη. Το XPF-ERCC1 και οι XPG νουκλεάσες, κάνουν έπειτα την διπλή εκτομή για να γίνει εφικτή η αφαίρεση των 24-32nt ολιγονουκλεοτιδίων που περιέχουν την DNA βλάβη. (Zhu & Wani, 2017).

Εκτός από το σύμπλεγμα XPC αναγνώριση DNA βλαβών πραγματοποιείται από την πρωτεΐνη UV-DDB και ένα ετεροδιμερές των DDB1 και DDB2 πρωτεϊνών. Ο GG-NER μηχανισμός των CPDs (in vivo) χρειάζεται τις πρωτεΐνες DDB και XPC, και λειτουργεί σε πολύ χαμηλότερο ρυθμό σε σχέση με αυτόν των 6-4 PPs. Η αιτία πίσω από αυτό, μπορεί να κρύβεται στο γεγονός ότι τα CPDs φωτοπροϊόντα προκαλούν μικρή παραμόρφωση της έλικας DNA σε σχέση με τα 6-4PPs, για αυτό και η αναγνώριση των βλαβών από το XPC χρειάζεται και βοήθεια από την DDB πρωτεΐνη. (Zhu & Wani, 2017)

### 1.2.2.2 TC NER

Από την άλλη στο TCR μονοπάτι, έχουμε την RNA Polymerase II, η οποία στέλνει σήμα για την ενεργοποίηση του TCR, όταν η κίνηση της, εμποδίζεται στο σημείο της DNA Βλάβης. Στην ουσία αντί για χρήση **DDB και XPC (GC-NER)** για την έναρξη της διαδικασίας της επιδιόρθωσης, ο μηχανισμός TC-NER χρησιμοποιεί για την εντόπιση βλαβών την **RNAPII και το CSB.**(Zhu & Wani, 2017)

Βασικό κλειδί του μονοπατιού TC-NER είναι η γρήγορη επιδιόρθωση των DNA βλαβών, στο μεταγραφόμενο DNA κλώνο των ενεργών γονιδίων και η ικανότητα των TC-NER-proficient κυττάρων να συνεχίσουν την σύνθεση DNA και RNA του DNA που έχει υποστεί βλάβες. Έχει βρεθεί μειωμένη δράση του TC-NER μηχανισμού σε κύτταρα από ασθενείς που πάσχουν από το σύνδρομο Cockayne. Επιπλέον, το UVss σύνδρομο, σχετίζεται και αυτό με την ελαττωματική λειτουργία του TC-NER μηχανισμού. Ο TC-NER μηχανισμός μπορεί να χαρακτηριστεί ως αμυντικός των κυττάρων και οργανισμών έναντι της UV ακτινοβολίας. (LHF, 2018).

Αυτό οφείλεται στην γρήγορη αφαίρεση των φωτοδιμερών που μπλοκάρουν την μεταγραφή. Η αναστολή της RNAPII οδηγεί στην ενεργοποίηση της απόπτωσης. Ο προστατευτικός ρόλος του TC-NER, εναντίων γενοτοξικής έκθεσης φάνηκε σε έρευνες με ποντίκια με μεταλλάξεις στα NER γονίδια όπως το XPA, XPC ή CSB. Παρατηρήθηκε διαφορά στην ευαισθησία μεταξύ των διαφορετικών γονότυπων στα ποντίκια. Για παράδειγμα ποντίκια με έλλειψη XPA/CSB, παρουσίασαν μειωμένη UVB συσχετιζόμενη απόπτωση σε μικρότερη δόση UV ακτινοβολίας σε σχέση με τα ποντίκια με έλλειψη στα XPC και XPE. (LHF, 2018)

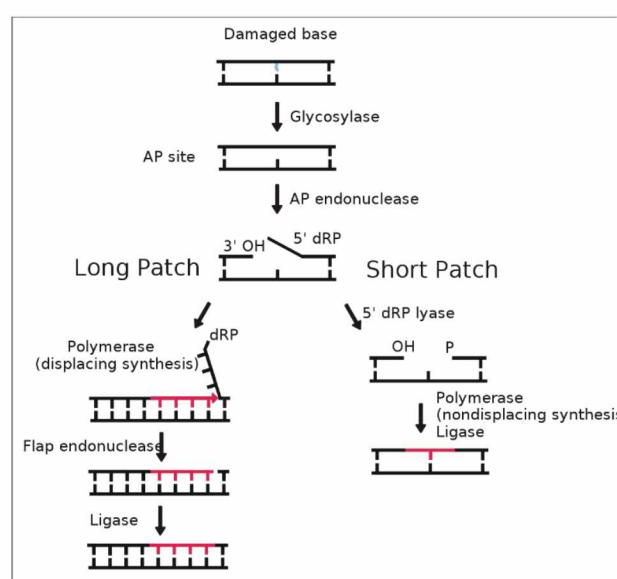
Τα δυο πιο σημαντικά γονίδια του TC-NER μηχανισμού είναι το CSA και το CSB τα οποία όταν υποστούν μεταλλάξεις οδηγούμαστε σε ασθένειες .

Το CSB γονίδιο, κωδικοποιεί την 168 kDA πρωτεΐνη η οποία εκφράζει την DNA εξαρτώμενη ATPase. Επιπλέον μπορεί να αναδιαμορφώσει τα νουκλεοσώματα αλλά και να προσδεθεί στο DNA. Από την άλλη η CSA πρωτεΐνη περιέχει WD-40 επαναλήψεις και είναι κομμάτι του συμπλέγματος E3-ubiquitin ligase (CRLCSA), το οποίο αποτελείται από τις DDB1, Cullin 4A και ROC1/Rbx1 πρωτεΐνες. Έχει βρεθεί πως υπάρχει αλληλεπίδραση του TRiC Chaperoin και του CSA. Η απώλεια του TRiC οδηγεί στην αδύναμη επαναφορά των βλαβών που σχετίζονται με την μεταγραφή και προκαλούνται από την UV. (LHF, 2018)

Όταν η επιμηκυμένη RNAPII πολυμεράση, σταματάει στις βλάβες, στο μεταγραφόμενο κλώνο, και η σταματημένη πλέον RNAPII, σταθεροποιεί την αλληλεπίδραση της με το CSB. Στην συνέχεια η σταματημένη RNAPII μαζί με την CSB, στρατολογούν την CSA, τον μεταγραφικό παράγοντα TFIIH, τους βασικούς παράγοντες NER και την ιστονική ακετυλοτρανσφεράση P300. (Zhu & Wani, 2017)

### 1.2.3 Base Excision Repair (BER) – Επιδιόρθωση μέσω εκτομής βάσης

Οι βλάβες μιας βάσης όπως 8-OHdG επιδιορθώνονται από τον BER. Ο μηχανισμός αυτός περιλαμβάνει την ενζυματική γλυκοζυλίωση, την RPA πρωτεΐνη, PCNA και την ενδοκυκλεάση APEX1/REF1. (L.-S. F et al., 2017). Συνήθως τα γλυκοζυτικά ένζυμα (γλυκοσουλιάση) είναι αυτά που αναγνωρίζουν την βλάβη και κόβουν τον γλυκοζυτικό δεσμό μεταξύ της βάσης και του βασικού DNA ινιδίου. Με αυτόν τον τρόπο, η βλάβη πλέον μετατρέπεται σε αβασική περιοχή (AP site), η οποία και αναγνωρίζεται από την APEX/REF-1 πρωτεΐνη. Στην συνέχεια η APEX, προκαλεί μια θραύση μονής έλικας (SSbreak), η οποία και επιδιορθώνεται από την DNA πολυμεράση I και την DNA λιγάση III. (L.-S. F et al., 2017).



Η λειτουργία του BER ρυθμίζεται από την HOGG1, και αναστέλλεται από το Μονοξειδίο του Αζώτου (NO). Αυτό σημαίνει, πως το NO που σχηματίζεται από την UV ακτινοβολία, εκτός από βλάβες στο DNA μπορεί να αναστείλει την λειτουργία του BER μηχανισμού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση των γονιδιακών μεταλλάξεων και την αύξηση του ρίσκου εμφάνισης καρκίνου του δέρματος. (L.-S. F et al., 2017)

Εικόνα 7: Γραφική απεικόνιση της λειτουργίας του BER μηχανισμού επιδιόρθωσης DNA βλαβών. Πηγή: [https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular\\_lesion](https://en.wikipedia.org/wiki/Molecular_lesion)

#### 1.2.4 Μηχανισμός επιδιόρθωσης μέσω της ATR Κινάσης

Η ATR κινάση ευθύνεται κυρίως για την επιδιόρθωση **θραύσεων μιας αλυσίδας** που προκαλούνται από διάφορους γενοτοξικούς παράγοντες, ένα από αυτούς είναι ή **UV ακτινοβολία** που μας ενδιαφέρει. (JC et al., 2017). Μοιράζεται την ίδια ακολουθία και ομολογία με άλλες δύο κινάσες που ανταποκρίνονται σε **θραύσεις δυο αλυσίδων**, την **ATM** και **DNA-PK**. Ωστόσο ο ρόλος της ATR είναι πιο σημαντικός μιας και είναι απαραίτητη για την επιβίωση του κυττάρου (JC et al., 2017). Και οι τρεις κινάσες ανήκουν στον μηχανισμό απόκρισης έναντι βλαβών DNA ή DNA Damage Response (Blackford & Jackson, 2017)

Η ενεργοποίηση του μονοπατιού ATR γίνεται από διάφορες μορφές βλαβών και γενοτοξικών stress παραγόντων, με κοινό παράγοντα μια DNA δομή που σχηματίζεται στο πιρούνι διπλασιασμού (replication fork), το οποίο είναι αναγνωρίσιμο από την ATR κινάση. Πιο συγκεκριμένα το σήμα ενεργοποίησης δημιουργείται όταν το **ssDNA-binding** πρωτεϊνικό σύμπλοκο συνδέεται με την **RPA** πρωτεΐνη. **Μέσω της σύζευξης ssDNA-RPA**, δημιουργείται ένα πλήθος πρωτεϊνών, μια από αυτές είναι η **ATRIP**. Η συγκεκριμένη πρωτεΐνη βοηθάει στην ενεργοποίηση της ATR απέναντι στα στρεσαρισμένα πιρούνια διπλασιασμού.(JC et al., 2017). Ωστόσο η σύζευξη ssDNA-RPA αρκεί μόνο για την ενεργοποίηση του συμπλόκου ATRIP και όχι της ATR(Blackford & Jackson, 2017)(JC et al., 2017). Στα σπονδυλωτά έχουν αναγνωριστεί δύο πρωτεΐνες που ενεργοποιούν την ATR, η **TOPBP1 πρωτεΐνη** και η **ETAA1**.(JC et al., 2017)

Η TOPBP1, περιέχει ένα ATR-ενεργοποιητικό τομέα που παρακινεί την δραστηριότητα της ATR κινάσης μέσω της επαφής με την ATRIP και το C-terminal PRD στην ATR.(Blackford & Jackson, 2017). Ένας παρόμοιος τομέας υπάρχει και στην πρωτεΐνη ETAA1.

**Επιπλέον σημαντικό ρόλο παίζει η ATR, στην φωσφορυλίωση και την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης κινάσης CHK1 αλλά και στην αναστολή του κυτταρικού κύκλου στην φάση S μετά από βλάβη στο DNA.** (Blackford & Jackson, 2017)

Η αναστολή ξεκινάει με την φωσφορυλίωση της CHK1 από την ATR. Μετά την ενεργοποίηση, η CHK1 στην συνέχεια φωσφορυλιώνει και απενεργοποιεί τις φωσφατάσες CDC25, CDC25A, CDC25B και CDC25C. Το CDC 25 αποικοδομείται γρήγορα στην S Φάση . Ως συνέπεια η κυκλινο-εξαρτώμενη κινάση CDK 1 δεν ενεργοποιείται λόγω της μη φωσφορυλίωσής της. Έτσι, επιτυγχάνεται ή αναστολή του κυτταρικού κύκλου (cell cycle arrest) στην φάση S.(JC et al., 2017)(Panagopoulos & Altmeyer, 2021)

### 1.3.1 Μεταλλάξεις στον Μηχανισμό NER : Σύνδρομο Xeroderma Pigmentosum

Η **Μελοχρωματική Ξηροδερμία (Xeroderma Pigmentosum)** είναι μια σπάνια υπολειπόμενη νευροεκφυλιστική νόσος που οφείλεται στην μη-σωστή λειτουργία του μηχανισμού NER λόγω μεταλλάξεων. Χαρακτηρίζεται ως νόσος, από φωτοευαισθησία, μελαγχρωματικές κηλίδες , ερυθρήματα , ανάπτυξη κακοηθειών και πιο σπάνια από νευρολογικό εκφυλισμό.

Αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1874 από τον δερματολόγο Moritz Karosi. Τα παραπάνω αναφερθέντα χαρακτηριστικά της νόσου , παρατηρούνται σε νεαρές ηλικίες. Στα τέλη της δεκαετίας του 1960, έγινε ο πρώτος συσχετισμός της νόσου με την ελλαττωματική επιδιόρθωση του DNA , μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία. Επιπρόσθετα, είναι άξιο αναφοράς πως, παρατηρήθηκε ότι ασθενείς με XP με νευρολογικές εκδηλώσεις της νόσου, έχουν λιγότερο αποτελεσματικό μηχανισμό επιδιόρθωσης DNA από τους ασθενείς με XP χωρίς νευρολογικές εκδηλώσεις.(Lucero & Horowitz, 2020)

Η ανάπτυξη της Μελοχρωματικής Ξηροδερμίας οφείλεται σε συσσωρευμένες μη επιδιορθωμένες βλάβες DNA. Η αδυναμία επιδιόρθωσης των βλαβών αυτών οφείλεται σε **8 διαφορετικές μεταλλάξεις στον μηχανισμό NER**. Η πιο κοινή μετάλλαξη αφορά το **γονίδιο XPC**, το οποίο είναι και υπεύθυνο για τον πιο κοινό υπότυπο της XP στις Ηνωμένες Πολιτείες.(Lucero & Horowitz, 2020)

**Το γονίδιο XPC** κωδικοποιεί μια ενδονουκλέαση, η οποία όταν μεταλλάσσεται , αδυναμεί να εντοπίσει τις DNA βλάβες. Αυτό οδηγεί σε υπερευαισθησία στην ηλιακή ακτινοβολία αλλά και στην ανάπτυξη κακοηθών δερματικών όγκων . Το υπότυπο XPC της XP, δεν έχει καθόλου

νευρολογικές εκδηλώσεις σε σχέση με τον υπότυπο XPA, που είναι και ο πιο κοινός στην Ιαπωνία.

Από την άλλη το γονίδιο XPA, κωδικοποιεί την DDB1 πρωτεΐνη, η οποία αναγνωρίζει όπως και η XPC βλάβες στο DNA, με μόνη διαφορά ότι συμμετέχει **βοηθητικά στο ξετύλιγμα του DNA**. Στον συγκεκριμένο υπότυπο έχουμε και νευρολογικές εκδηλώσεις. (Lucero & Horowitz, 2020)

Gene	Genomic Location/Size	Coding Sequence Size (bp)	Clinical Manifestation	UV-Sensitivity	Residual DNA Repair	Relative Frequency	Skin Cancer	Neurological Implications
Global Genome Repair								
XPC	3p25	3558	XP	++	<10%–30%	High	+	–
DDB1	11q12–q13	3420	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
DDB2 (XPE)	11p12–p11	4193	XP	+	50%	Rare	+	–
Transcription Coupled Repair								
CSA	5q12.1	2011	CS	+	Normal	Intermediate	–	++
CSB	10q11.21	4714	CS	+	Normal	High	–	++
Nucleotide Excision Repair								
XPA	9q22.3	1377	XP	+++	<5%	High	+	++
XPB	2q14.3	2751	XP, XP/CS, TTD	++	3%–40%	Rare	+/-	+
XPB	2q14.3	2751	XP, XP/CS, TTD	++	3%–40%	Rare	+/-	+
XPD	19q13.3	2400	XP, XP/CS, TTD	++	15%–50%	Intermediate	+	++/-
XPF	16p13.1	2881	XP	+	15%–30%	Rare	+	-/+
XPG	13q33.1	4091	XP, XP/CS	++	<5%–30%	Rare	+	++
ERCC1	19q13.3–q13.2	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
TTD-A	6p25.3	7503	TTD	N/A		Rare	–	++
Translesion Synthesis								
DN/A PolH (XPV)	6p21.1	2140	XP	–	Normal	High	+/-	–

XP: Xeroderma Pigmentosum; CS, Cockayne's syndrome; TTD: trichothiodystrophy; N/A = not applicable, + = mild, ++ = moderate, +++ = severe and – = not present.

Εικόνα 8 : Τα γονίδια που ευθύνονται για την Μελαχρωματική Ξηροδερμία (XP), φαίνονται στον πίνακα και τα γονίδια του NER., Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Genes-involved-in-xeroderma-pigmentosum-Cockaynes-syndrome-and-trichothiodystrophy\\_tbl1\\_281805794](https://www.researchgate.net/figure/Genes-involved-in-xeroderma-pigmentosum-Cockaynes-syndrome-and-trichothiodystrophy_tbl1_281805794)

Εκτός από το XPC και XPA, υπάρχουν και πιο σπάνιοι υπότυποι όπως XPB, XPD, XPE, XPF και XPG.

Το XPB, κωδικοποιεί το ERCC3( excision-repair cross-complementing 3), το οποίο είναι απαραίτητο για την ανοιχτό σύμπλοκο σχηματισμού στην επιδιόρθωση DNA. Επιπλέον, συσχετίζεται με το **σύνδρομο Cockayne** αλλά και την **Τριχοθειοδυστροφία (TTD)**.

Αν και το XPV γονίδιο δεν αποτελεί μέρος του μηχανισμού NER, αξίζει να αναφερθεί έστω επιγραμματικά διότι ευθύνεται για το 30% όλων των περιστατικών αλλά και επειδή συμμετέχει στην επιδιόρθωση μετά την αντιγραφή ( postreplication repair). Δεν υπάρχουν όπως και στον XPC νευρολογικές εκδηλώσεις. (Lucero & Horowitz, 2020)

Οι νευρολογικές μορφές της XP, χωρίζονται σε τρεις ομάδες 1) XP Neurologic Disease 2) XP με τριχοθειοδυστροφία και 3) XP-CS, Xeroderma Pigmentosum-Cockayne Syndrome Complex

Το **XP-CS** στην ουσία είναι ένας συνδυασμός της XP και του Cockayne Syndrome. Όλοι οι ασθενείς έχουν τα ίδια ιατρικά προβλήματα, με βασική διαφορά μεταξύ ομάδων σοβαρότητας της νόσου να είναι ο χρόνος και η ένταση της νόσου. (Natale & Raquer, 2017)

### **1.3.2 Μεταλλάξεις στον Μηχανισμό NER- Ελλατωματική Λειτουργία TC-NER : Σύνδρομο Cockayne**

Για πρώτη φορά το σύνδρομο περιγράφεται το 1936 από τον Dr.Cockayne, από όπου και πήρε το όνομα της. Η κλινική εικόνα του συνδρόμου περιλαμβάνει, διαταραχές ανάπτυξης, νοητική στέρηση, neuromotor δυσκολίες, μειωμένη όραση και ακοή. Συνήθως τα παιδιά που πάσχουν από την νόσο, φαίνεται πως έχουν πρόωρα γερασμένο πρόσωπο(Hafsi & Badri, 2020)

Είναι μια αυτοσωμική υπολειπόμενη γενετική διαταράχη η οποία οφείλεται σε μεταλλάξεις στο γονίδιο **ERCC6 (10q11)** το οποίο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή της **CSB πρωτεΐνης**, και στο γονίδιο **ERCC8 (5q12.1)** το οποίο ευθύνεται για την πρωτεΐνη **CSA**. Για το 70% των περιστατικών με το σύνδρομο Cockayne ευθύνεται όμως η **CSB**, και για απομείναντα περιστατικά η μετάλλαξη στο **CSA**. Ο φαινότυπος στους ασθενείς με την **CSA** μετάλλαξη είναι λιγότερο σοβαρός σε σχέση με **CSB** ασθενείς. Το **CSA** και το **CSB** είναι δυο απαραίτητες πρωτεΐνες για την λειτουργία του μηχανισμού **TC-NER**.(Hafsi & Badri, 2020)

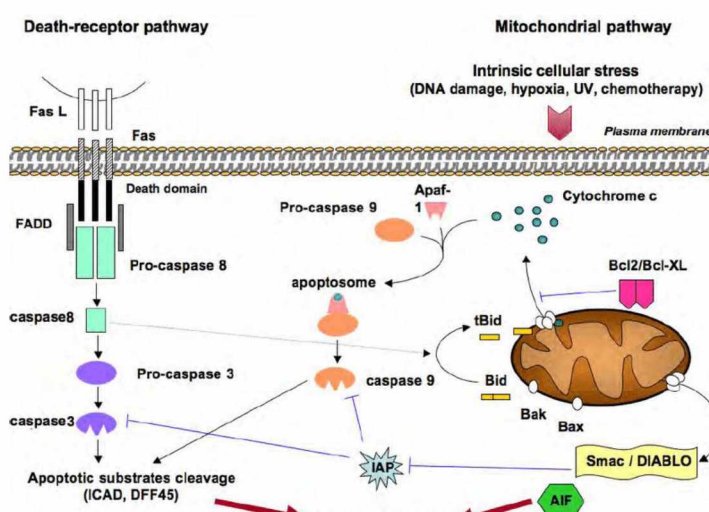
Ο μη λειτουργικός μηχανισμός **TC-NER** εντοπίζεται σε κύτταρα από ασθενείς που πάσχουν από το Cockayne Syndrome.(Mullenders, 2018) Η ευαισθησία στο ηλιακό φως είναι ένα από τα από τα βασικά χαρακτηριστικά της νόσου **CS** . Αυτό εξηγείται με το γεγονός πως πολλές από τις **DNA** βλάβες στις ενεργά μεταγραφόμενες περιοχές του γονιδίου, επιδιορθώνονται από τον **μονοπάτι TC-NER** του μηχανισμού επιδιορθωτικού μηχανισμού **NER**.(Hafsi & Badri, 2020)

Αυτό δεν σημαίνει απαραίτητα πως όλοι ο φαινότυποι του Cockayne Syndrome, δημιουργούνται μονάχα εξαιτίας της βλάβης του μηχανισμού TC-NER. Πλέον υπάρχουν στοιχεία ότι τα γονίδια CSA και CSB παίζουν ρόλο σε πολλαπλά κυτταρικά μονοπάτια. (V et al., 2021)

Άξιο αναφοράς είναι ότι βλάβες στον μηχανισμό TC-NER, συσχετίζονται και με το UVss ή Σύνδρομο Ευαισθησίας στην UV, το οποίο παρουσιάζει παρόμοια φωτοευαισθησία με το σύνδρομο CS, με την σημαντική διαφορά, ότι δεν εκδηλώνονται αναπτυξιακά προβλήματα. Το γονίδιο που ευθύνεται για το UVss είναι το UVSSA. (Mullenders, 2018)

#### 1.4 UV Induced Apoptosis-Απόπτωση που προκαλείται από UV Ακτινοβολία

Η απόπτωση είναι μια διαδικασία που οδηγεί στον ελεγχόμενο κυτταρικό θάνατο χωρίς την διαρροή των συστατικών του κυττάρου στο περιβάλλον. Η έναρξη της απόπτωσης εξαρτάται από την ενεργοποίηση των κασπασών μόλις εντοπιστεί κάποια κυτταρική βλάβη. (D'Arcy, 2019). Στην περίπτωση της βλάβης DNA από UV ακτινοβολία ενεργοποιείται το μιτοχονδριακό μονοπάτι (**mitochondrial pathway**), οι υποδοχείς θανάτου (death receptors), ενεργοποιούν την απόπτωση στα κερατινοκύτταρα. Στην συνέχεια απελευθερώνονται το κυτόχρωμα C και διάφοροι προ-αποπτωτικοί παράγοντες, από τα μιτοχόνδρια, κάτι που οδηγεί στον σχηματισμό του αποπτοσώματος. (Mohania et al., 2017). Στην ουσία τα κερατινοκύτταρα μέσω της απόπτωσης αποφεύγουν τον καρκίνο και η απόπτωση αποτελεί μια



πρώτη γραμμή άμυνας έναντι των UV σχετιζόμενων βλαβών. Για παράδειγμα σε περίπτωση ενός απλού ηλιακού εγκύματος, η πλειοψηφία των κερατινοκυττάρων, υφίσταται την διαδικασία της απόπτωσης, προκειμένου να αποφευχθεί ο σχηματισμός κακοηθειών. (Mohania et al., 2017)

Εικόνα 9: Απεικόνιση των δυο μονοπατιών ενεργοποίησης της απόπτωσης. Πηγή: <https://www.semanticscholar.org/paper/Mitochondria%3A-from-bioenergetics-to-the-metabolic-Bellance-Lestienne/64f79267a5d1b95de653aad9362d95a74693902d>



#### 1.4.1 Ο ρόλος του ογκοσταλτικού γονιδίου p53 στην Απόπτωση

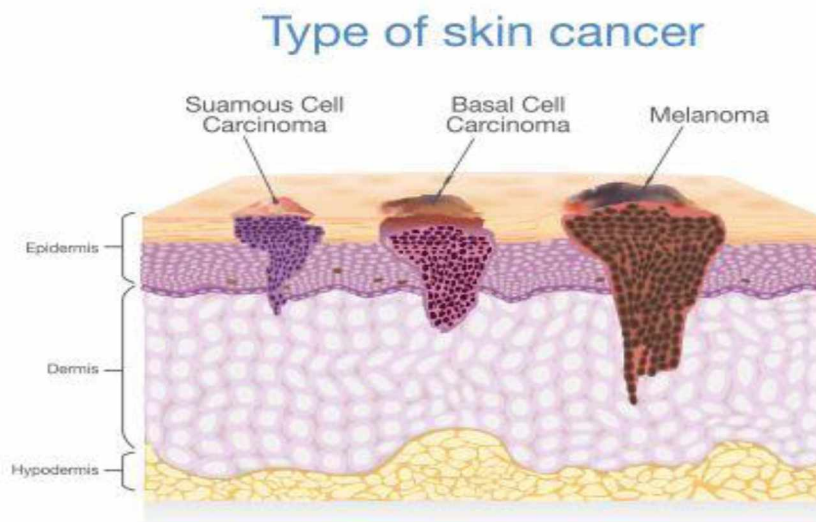
Το γονίδιο p53, ρυθμίζει τον κυτταρικό κύκλο, και τα προϊόντα του παίζουν σημαντικό ρόλο στην επαγωγή της απόπτωσης και στην συντήρηση των φυσιολογικών κυττάρων. Όταν το κυτταρικό DNA υπόκειται βλάβες, το p53 ενεργοποιεί τα checkpoints του κυτταρικού κύκλου, και δίνει χρόνο στο κύτταρο να διορθώσει την βλάβη στο DNA. Σε περίπτωση που καταστεί αδύνατη η επιδιόρθωση, το p53 ξεκινάει τον προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο (apoptosis), για να ανακόψει την δημιουργία μεταλλαγμένων κυττάρων. Κάποιες φορές διάφοροι εξωτερικοί παράγοντες όπως η UV ακτινοβολία προκαλεί μεταλλάξεις στο p53, οι οποίες το αχρηστεύουν. (L.-S. F et al., 2017)

#### 2.1 UV Ακτινοβολία και Καρκίνος του Δέρματος.

**Η μακροπρόθεσμη έκθεση σε UV ακτινοβολία, δημιουργεί συσσωρευμένες βλάβες σε έναν τεράστιο αριθμό δερματικών κυττάρων.** (JW et al., 2020) Υπολογίζεται ότι περίπου **820 δισεκατομμύρια δερματικά κύτταρα ανά άτομο**, εκτίθενται στην UV. (JW et al., 2020). Επειδή το 3,5% αυτών των επιδερμικών κυττάρων βρίσκονται στην φάση S, περίπου 2,5 δισεκατομμύρια επιδερμικά κύτταρα χρειάζονται να αντιγράψουν το DNA τους με UV επαγόμενες βλάβες. (JW et al., 2020)

Είναι προφανές, πως αν δεν λειτουργήσουν οι μηχανισμοί επιδιόρθωσης όπως ο **NER** που αναφέρθηκαν παραπάνω η UV ακτινοβολία προκαλεί κακοήθειες στο δέρμα. **Η UV B (280-320nm)** είναι υπεύθυνη για την πλειονότητα των μελανωμάτων και άλλων ειδών καρκίνου του δέρματος. (Mohania et al., 2017)

Υπάρχουν **τρεις βασικοί τύποι** στον καρκίνο του δέρματος: **μελάνωμα, βασικοκυτταρικό καρκίνωμα(BCC) και ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (SCC)**.(L.-S. F et al., 2017) Το BCC και SCC κατατάσσονται στην κατηγορία του μη-μελανωματικού καρκίνου του δέρματος (NMSC). Συνήθως τα NMSC είναι θεραπεύσιμα με μια χειρουργική παρέμβαση και δεν είναι θανατηφόρα. Από την άλλη πλευρά, το Μελάνωμα, είναι ο πιο θανατηφόρος καρκίνος του δέρματος, παρόλο που έχει συχνότητα εμφάνισης περιστατικών το 1/10 των μη-μελανωματικών καρκίνων δέρματος, η θνησιμότητα είναι 8 φορές μεγαλύτερη από αυτά. Ένα κοινό χαρακτηριστικό που ενώνει και τα τρία είδη των δερματικών καρκίνων, είναι ότι, όλα προκαλούνται από την ηλιακή ή τεχνητή UV ακτινοβολία.(L.-S. F et al., 2017)



Εικόνα 10: Τα 3 είδη του καρκίνου του δέρματος. Πηγή: <https://www.windsordermatology.com/all-about-skin-cancer/>

Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο, η UVA και η UVB είναι οι ακτινοβολίες που φτάνουν στην επιφάνεια της γης και μας επηρεάζουν. Η αλλά και οι DNA βλάβες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην δερματική καρκινογένεση, είναι οι δυο βασικές αρνητικές επιπτώσεις των δύο ειδών της UVR. **Η UVA προκαλεί κυτταρικές Δραστικές Μορφές Οξυγόνου (ROS), οι οποίες μετέπειτα προκαλούν οξειδωτικές DNA βλάβες.** Η UVB από την άλλη απορροφάται άμεσα από τα DNA μόρια, προκαλώντας έτσι UV-signature DNA βλάβες.(L.-S. F et al., 2017). Έχει βρεθεί συσχετισμός μεταξύ των διαφόρων τύπων καρκίνου του δέρματος και το χρώμα του δέρματος σε διάφορες φυλές. Έτσι, παρατηρείται ότι τα περιστατικά

μελανωμάτων, είναι πιο συχνά, σε πιο ανοιχτόχρωμους τύπους δέρματος από ότι σε πιο σκουρόχρωμους τύπους δέρματος.(Mohania et al., 2017)

## **2.2 DNA Βλάβες και μεταλλάξεις από την UV ακτινοβολία.**

Η UVB, μπορεί να διαπεράσει αρκετές κυτταρικές στοιβάδες, φτάνοντας στην βασική στοιβάδα και στο χόριο. **Οι DNA βλάβες που προκαλούνται είναι τα διμερή πυριμιδίνης, διμερή πουρίνης και πυριμιδίνης, φωτοπροϊόντα πουρίνης και θραύσεις μονής έλικας.** Η πιο σημαντική, μορφή βλάβης που θα μας απασχολήσει είναι τα **διμερή πυριμιδίνης**.(L.-S. F et al., 2017). **Τα διμερή αναλύθηκαν πιο αναλυτικά στο πρώτο κεφάλαιο.**

Συνήθως τα κύτταρα, στις περισσότερες περιπτώσεις επιδιορθώνουν μέσω την μηχανισμών με μεγάλη ακρίβεια και αποτελεσματικότητα τα **CPDs(διμερή)** και τα **φωτοπροϊόντα (6-4)**. **Δυστυχώς, τα ελαττώματα στους επιδιορθωτικούς μηχανισμούς μπορούν να οδηγήσουν σε μεταλλάξεις.** Ως γνωστόν, οι μεταλλάξεις, επηρεάζουν την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, κάτι που οδηγεί στο τέλος σε υπερπλασίες, απεριόριστο κυτταρικό πολλαπλασιασμό και σταδιακά στην εμφάνιση των διάφορων καρκίνων του δέρματος.(L.-S. F et al., 2017)

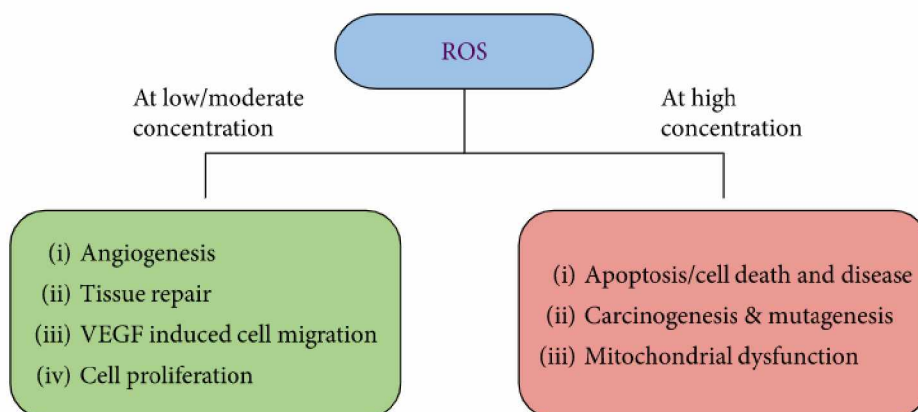
Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο η UV ακτινοβολία προκαλεί **μεταλλάξεις στο ογκοσταλτικό γονίδιο p53**. Οι μεταλλάξεις αυτές ανιχνεύονται σε μεγαλύτερο ποσοστό από 90% του SCC τύπου καρκίνου του δέρματος, και σχεδόν στο 50% του BCC. Λόγω των μεταλλάξεων το p53, αχρηστεύεται και δεν μπορεί να επάγει την απόπτωση. Κάτι τέτοιο σημαίνει, σε συσσώρευση γονιδιακών μεταλλάξεων, οι οποίες και ανευρίσκονται σε καρκίνους του δέρματος BCC και SCC.(L.-S. F et al., 2017). Οι μεταλλάξεις στο γονίδιο p53, βρίσκονται συνήθως στις διπυριδινικές (bipyrimidine) περιοχές σε διάφορους τύπους καρκίνων του δέρματος, συγκεκριμένα στον SCC και BCC. Στα σημεία του σώματος τα οποία δεν εκτίθενται στον ήλιο, δεν βρίσκουμε μεταλλάξεις στο γονίδιο P53.(Mohania et al., 2017). **Είναι προφανές, πως υπάρχει μια έντονη αλληλεξάρτηση μεταξύ την μετάλλαξης στο γονίδιο p53,την UV έκθεση και τον καρκίνο.**(Mohania et al., 2017)

Εκτός από τις μεταλλάξεις στο p53, παρουσιάζεται και μεγάλη έκφραση των **HSP** πρωτεϊνών στο δέρμα, μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία . Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες έχουν συσχετιστεί με καρκινογόνο δράση.(L.-S. F et al., 2017). Η έκφραση των HSP, σε καρκινικά κύτταρα ,οδηγεί στο συμπέρασμα πως , εμπλέκονται στην ρύθμιση της απόπτωσης, ανοσολογικής απόκρισης, αγγειογένεσης και μετάστασης. (Albakova et al., 2021) . Σε παρακάτω κεφάλαιο θα αναλυθεί και η πιθανή χρήση θεραπευτικών μεθόδων που βασίζονται σε αυτές τις σημαντικές πρωτεΐνες.

### **2.2.1 Οξειδωτική Βλάβη από UV , μεταλλαξιογένεση και μεταγραφικός παράγοντας NRF2**

Αν και οι δραστικές μορφές οξυγόνου συναντώνται και στην φυσιολογική διαδικασία κυτταρικού μεταβολισμού, παράγονται από εξωτερικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η ακτινοβολία UV. Σε φυσιολογικές συνθήκες, οι **δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)** αντιμετωπίζονται από τον οργανισμό μέσω ενδοκυτταρικών αντιοξειδωτικών όπως η Γλουταθειόνη. **Στην περίπτωση της έκθεσης στην UV ακτινοβολία, παράγονται τεράστιες ποσότητες ROS**, οι οποίες υπερσχύουν των αντιοξειδωτικών μορίων όπως η Γλουταθειόνη.(JW et al., 2020)

Επιπλέον το μελανόσωμα και η εξωκυτταρική μήτρα του δέρματος είναι ακόμη δυο πηγές παραγωγής των δραστικών μορφών οξυγόνου(ROS) μετά από έκθεση σε UV. Είναι αρκετό ενδιαφέρον το αποτέλεσμα της θεραπευτικής χρήσης των ECM πρωτεϊνών στους επιδερμικούς ινοβλάστες. Το αποτέλεσμα της χρήσης των ECM είναι η απόκριση στο οξειδωτικό stress από τα κύτταρα. Επομένως, οι ECM πρωτεΐνες δρουν ως φωτοευαισθητοποιητές, διότι παράγουν ROS μόλις το δέρμα εκτεθεί σε UV ακτινοβολία. Τα υψηλά επίπεδα των ROS συνεισφέρουν στον ανώμαλο πολλαπλασιασμό των κυττάρων, στις επιγενετικές αλλαγές και στην δημιουργία DNA βλαβών. Ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα του καρκινογόνου ρόλου του ROS, φαίνεται στην έλλειψη του γονιδίου XPC, όπου η απώλεια του XPC φαίνεται να προκαλεί ROS σχετιζόμενες αποκλίσεις στον κυτταρικό μεταβολισμό που οδηγούν στον σχηματισμό κακοηθειών στα κερατινοκύτταρα.(JW et al., 2020)



Εικόνα 11 : Η συγκέντρωση των δραστικών μορφών οξυγόνου και οι επιπτώσεις τους. Πηγή: <https://doi.org/10.1155/2017/7542540>

Χαρακτηριστικές **δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)** είναι το υδροξείδιο, υπεροξείδιο του υδρογόνου και το ανιόν διοξειδίου. Η οξείδωση των βάσεων νουκλεοτιδίων, οδηγεί στην αναντιστοιχία των ζευγών βάσεων (**base pair mismatch**), γεγονός που οδηγεί στην μεταλλαξιγένεση. Για παράδειγμα η μετατροπή της Γουανίνης σε Θυμίνη (G->T), είναι μια πολύ γνωστή αναντιστοιχία βάσεων, που προκαλείται από τις Δραστικές Μορφές Οξυγόνου, λόγω της οξείδωσης της γουανίνης στην 8<sup>η</sup> θέση, σχηματίζεται η **8-οξο-2'-δεοξυγουανοσίνη (8-OHdG)**. Έτσι η 8-OHdG δημιουργεί ζεύγος με την **Αδενίνη(A)** αντί της **Κυτοσίνης(C)**. Αυτές οι αλλαγές στα ζεύγη βάσεων εντέλει οδηγούν σε μεταλλάξεις, τέτοιες μεταλλάξεις τις βρίσκουμε σε καρκίνους του δέρματος, κάτι που αποδεικνύει της καρκινογόνες ιδιότητες των οξειδωτικών βλαβών. (Mohania et al., 2017). Τέτοιου είδους μεταλλάξεις επιδιορθώνονται από τον BER μηχανισμό που αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο.

**Δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS)** που δημιουργούνται από την UV, ενεργοποιούν έναν μεγάλο αριθμό σηματοδοτικών μονοπατιών που συσχετίζονται με την φλεγμονή και την καρκινογένεση.(JW et al., 2020). **Μερικά από αυτά, είναι το MAPK/ERK μονοπάτι, EGFR, p38 MAPK, AP-1 πρωτεΐνη και NF-kB.**(JW et al., 2020)

**Η ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NRF2**, ο οποίος παρέχει αντιοξειδωτική άμυνα μειώνει τα επίπεδα των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS), αποτρέπει τις ROS σχετιζόμενες μεταλλάξεις και αναστέλλει την καρκινογένεση στο δέρμα. Παρόλο που η UV ακτινοβολία, δεν ενεργοποιεί αποτελεσματικά το NRF2, εκφράζεται σε υψηλά επίπεδα, στα

επιδερμικά κερατινοκύτταρα, αποτρέποντας το δέρμα από UV βλάβες. Ωστόσο έχει παρατηρηθεί πως η υπερβολική έκφραση NRF2 μπορεί να είναι επιβλαβής(JW et al., 2020)

Πρόσφατες έρευνα έχει δείξει κάτι αρκετά περίεργο, πως το οξειδωτικό stress εμποδίζει την μετάσταση του μελανώματος σε μοντέλα ποντικών, με άλλα λόγια η μείωση του οξειδωτικού stress ,οδηγεί στην μετάσταση. Αυτό έρχεται σε αντίθεση με όσα γνωρίζουμε για την ROS σχετιζόμενη σηματοδότηση ογκογενών μονοπατιών.(JW et al., 2020)

### **2.2.2 Μεταλλάξεις του Υποδοχέα Μελανοκορτίνης 1 και αύξηση ρίσκου εμφάνισης καρκίνου του δέρματος (MC1R)**

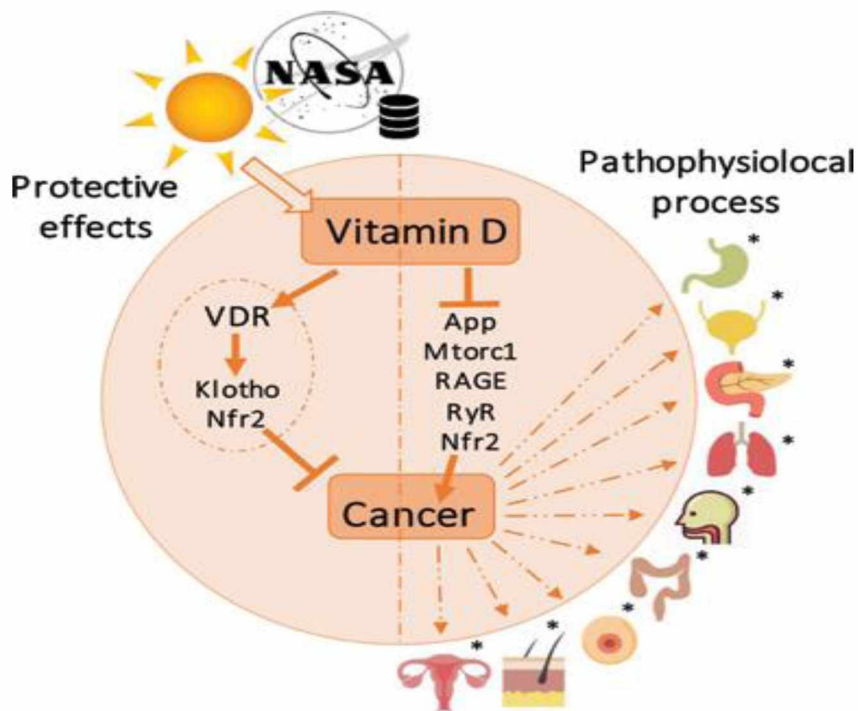
Στα μελανοκύτταρα η ενεργοποίηση του MCR1 μονοπατιού σηματοδότησης ενεργοποιεί την δραστηριότητα του ενζύμου της Τυροσινάσης (TYR), το οποίο και παίζει βασικό ρόλο στην ρύθμιση της παραγωγής της μελανίνης. Επομένως, ο υποδοχέας MCR1 παίζει σημαντικό ρόλο στην προστασία του δέρματος από την UVR.(Sun et al., 2020). Η ενεργοποίηση του MCR1, από την UVR, οδηγεί στην ενεργοποίηση της αδενυλικής κυκλάσης, την παραγωγή κυκλικής μονοφωσφορικής αδενοσίνης (cAMP), την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης A, την σύνθεση μελανίνης και προστατευτικών γονιδίων έναντι UV ακτινοβολίας ( MITF, Τυροσινάση, TRP1).

**Κάποιες φορές λόγω των πολυμορφισμών που εμφανίζονται στον MC1R, δεν ενεργοποιείται το σήμα για την παραγωγή της μελανίνης που προστατεύει το δέρμα μας.** Αυτοί οι πολυμορφισμοί συνήθως παρατηρούνται σε ανοιχτόχρωμα άτομα. Οι πιο κοινές μεταλλάξεις του MC1R σε αυτά τα άτομα, είναι η R151C, R160W, D84E και η D294H.(M. D et al., 2017) Οι μεταλλάξεις αυτές οδηγούν σε μεγαλύτερη μεταλλαξιογένεση, άρα και σε αύξηση των πιθανοτήτων εμφάνισης μελανώματος και άλλων ειδών καρκίνου του δέρματος.(Sun et al., 2020). Ωστόσο παραμένει άγνωστο γιατί τα ανοιχτόχρωμα άτομα που εμφανίζουν αυτούς τους πολυμορφισμούς της MC1R, είναι πιο ευάλωτα στην ανάπτυξη μελανωμάτων.(Sun et al., 2020)Επιπλέον ο MC1R ενισχύει τον μηχανισμό επιδιόρθωσης NER αλλά και την αντίσταση σε οξειδωτικές βλάβες.(Mohania et al., 2017)

### **2.2.3 Συσχετισμός Ηλιακή Ακτινοβολίας , Βιταμίνης D και καρκίνου του δέρματος.**

Το ανθρώπινο δέρμα έχει την ικανότητα να παράγει τεράστιες ποσότητες βιταμίνης D. Σε ανθρώπους που εξελίχθηκαν κάτω από συνθήκες συνεχόμενης έκθεσης σε ηλιακό φως, το γονίδιο χρώματος (pigmentation gene) του ανθρώπινου δέρματος έχει και αυτό εξελιχθεί ώστε να προστατεύει το δέρμα από τις βλαβερές συνέπειες της έκθεσης σε UV, αλλά έτσι ώστε να μπορεί να περάσει η κατάλληλη ποσότητα της UVB ακτινοβολία στο δέρμα, προκειμένου να παραχθεί μια υγιής ποσότητα βιταμίνης D.(MF, 2020) Σε άλλες περιοχές όπου δεν υπάρχει τόσο έντονη έκθεση σε UVB ακτινοβολία, το γονίδιο χρώματος του ανθρώπινου δέρματος, εξελίχθηκε ώστε να μειωθεί η παραγωγή της βιταμίνης D. Έχει παρατηρηθεί όπως αναφέρθηκε και παραπάνω πως η υπερβολική έκθεση στο ηλιακό φως αυξάνει το ρίσκο του μη μελανωματικών καρκίνων του δέρματος (NMSC) ,από την άλλη η περιστασιακή έκθεση στο ηλιακό φως μειώνει το ρίσκο εμφάνισης του μελανώματος, που αποτελεί την πιο θανατηφόρα μορφή του καρκίνου του δέρματος.(MF, 2020)

**Είναι αξιόλογο πως η UVB, από την μια πλευρά δρα ευεργετικά βοηθώντας στην παραγωγή βιταμίνης D,από την άλλη όμως είναι ο βασικός ένοχος για την εμφάνιση των μη μελανωματικών καρκίνων του δέρματος.(MF, 2020) .** Αξιοπερίεργο γεγονός είναι και το δεδομένο πως τα περισσότερα μελανώματα εμφανίζονται στις λιγότερο εκτεθειμένες στον ήλιο περιοχές, κάτι που δημιουργεί ερωτήματα για το αν η μέτρια έκθεση στον ήλιο σχετίζεται με την αύξηση ρίσκου εμφάνισης του μελανώματος.(MF, 2020) Παιδιά και νέοι ενήλικες που έχουν έρθει σε μέτρια έκθεση UV, έχουν μικρότερη θνησιμότητα αν αναπτύξουν μελάνωμα και 40% μικρότερο ρίσκο ανάπτυξης λεμφώματος non Hodgkin.(MF, 2020). Η αύξηση της ποσότητας βιταμίνης D στον άνθρωπο, μειώνει το ρίσκο ανάπτυξης μελανώματος και κακοηθειών.(MF, 2020)



Εικόνα 12: Οι δύο πλευρές της βιταμίνης D. Πηγή: <https://www.eurekaselect.com/170650/article?tracking-code=4>

### 3.1 Φωτογήρανση του δέρματος (Photoaging)

Η φωτογήρανση ανήκει στην κατηγορία της εξωγενούς γήρανσης, η οποία και οφείλεται στην ηλιακή ακτινοβολία. Αν και η διαδικασία της φωτογήρανσης διαφέρει από την χρονολογική γήρανση, και τα δύο είδη παρουσιάζουν κοινά χαρακτηριστικά. Ανοιχτόχρωμοι τύποι δέρματος παρουσιάζουν νωρίτερα σημάδια φωτογήρανσης σε σχέση με σκουρόχρωμους τύπους δέρματος με διαφορά δεκαετιών. Εκτός από τις αλλαγές που προκαλεί η φωτογήρανση, στην υφή και στο χρώμα του δέρματος, έχει βλαβερές επιπτώσεις στο ανοσοποιητικό, στην αναγεννητική ικανότητα του δέρματος και στην ρύθμιση της θερμοκρασίας. (Huang & Chien, 2020)

Συνήθως ξεκινάει από την εφηβεία, και στα τέλη της δεκαετίας των 20 και 30 ετών τα κλινικά χαρακτηριστικά της αρχίζουν να διακρίνονται πιο έντονα. Χαρακτηρίζεται από τραχύτητα, ρυτίδες, χαλάρωση του δέρματος, ωχρό δέρμα, δυσχρωμίες και τις ηλιακές φαγεσώρες.



Η φωτογήρανση ευθύνεται για 80% της γήρανσης του προσώπου. Η μακροχρόνια έκθεση στον καπνό του τσιγάρου και στην UV ακτινοβολία είναι ανεξάρτητες αιτίες της επιταχυμένης γήρανσης του δέρματος. **Ωστόσο η UV ακτινοβολία αποτελεί την κύρια αιτία της φωτογήρανσης.** (Huang & Chien, 2020) Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, η UV ακτινοβολία παράγει ROS, οι οποίες προκαλούν καταστροφικό οξειδωτικό stress, ενεργοποιούν το μονοπάτι του αραχιδονικού οξέος, προκαλούν τις φλεγμονώδεις απαντήσεις και δομικές αλλαγές στο δέρμα (Huang & Chien, 2020) (G. Y et al., 2020). Ο βαθμός της φωτογήρανσης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως οι εποχές, το υψόμετρο, η συχνότητα, η διάρκεια και την ένταση της ακτινοβολίας του ήλιου. Επιπρόσθετα η UV μπορεί να προκαλέσει τα μελανοκύτταρα να επιταχύνουν την σύνθεση και μεταφορά της μελανίνης, με αποτέλεσμα την δημιουργία age spots. (G. Y et al., 2020)

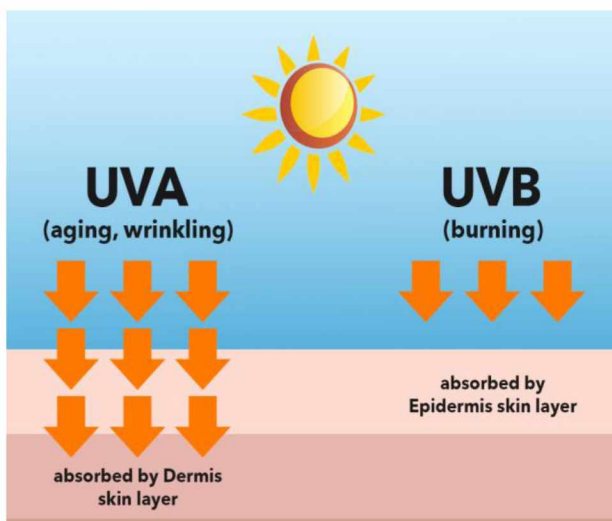
Εκτός από περιβαλλοντικούς παράγοντες, ευαισθησία στην φωτογήρανση παρουσιάζουν συγκεκριμένες δημογραφικές ομάδες. Η επικράτηση της φωτογήρανσης σε ενήλικες ασθενείς με τύπο δέρματος I-III, φτάνει στο 90%. Αυτό οφείλεται, εν μέρει σε μοναδικούς τύπους μελανίνης που επικρατούν σε διαφορετικούς δερματικούς φαινοτύπους. Γενετικοί παράγοντες όπως SNPs στον υποδοχέα μελανοκορτίνης I (MCR1), αποδείχθηκε ότι συσχετίζονται με αυξημένο ρίσκο φωτογήρανσης. Άλλοι σχετικοί παράγοντες είναι η μεγάλη ηλικία, το φύλο, αυξημένη μακροχρόνια έκθεση στον ήλιο και γεωγραφικές περιοχές με ισχυρή ηλιακή ακτινοβολία. (Huang & Chien, 2020)

### **3.2 Ο ρόλος της UV στην Φωτογήρανση**

Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη βιβλιογραφία, η UVA (320-400nm) και η UVB (280-320nm), είναι ο βασικός παράγοντας που ευθύνεται για την φωτογήρανση. Αν και μόνο ένα μικρό ποσοστό (7%) της UV ακτινοβολίας φτάνει στην επιφάνεια της γής, αυτό αρκεί για προκαλέσει σημαντικές βλάβες στο ανθρώπινο δέρμα. Η UVA ακτινοβολία αποτελεί το 95% της ακτινοβολίας που έχει την ικανότητα να διαπερνάει μέχρι και τις χαμηλότερες στιβάδες του

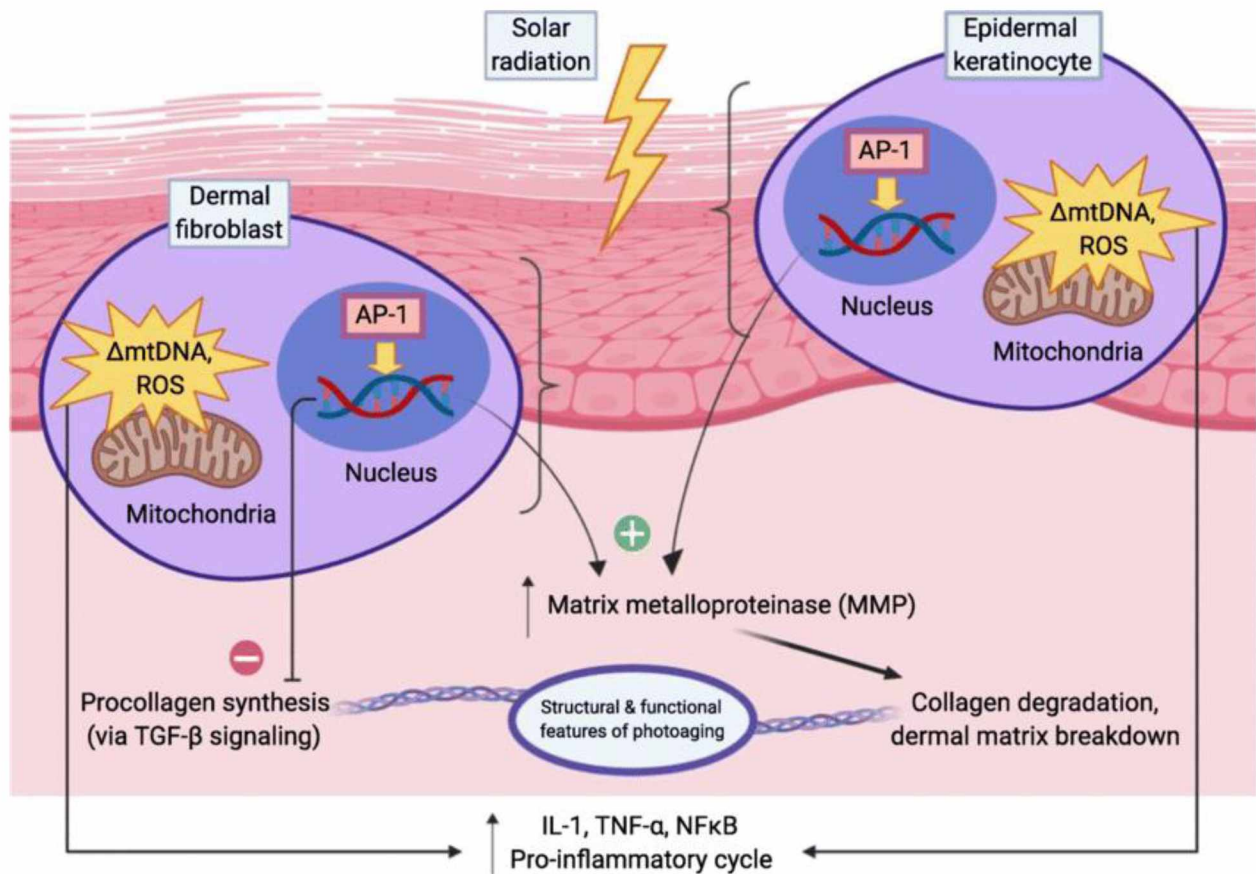
δέρματος, σε σχέση με το 5% της UVB, που κυρίως φτάνει μέχρι τις άνω στοιβάδες του δέρματος. **Επομένως η UVA, παίζει μεγαλύτερο ρόλο στην διαδικασία της φωτογήρανσης λόγω της διαπερατότητάς της.**

Αρχικά, η UV ακτινοβολία δημιουργεί τα κλινικά και ιστολογικά χαρακτηριστικά της γήρανσης του δέρματος μέσω του σχηματισμού των ROS, μεταλλάξεων στο μιτοχονδριακό DNA και αλλαγών της μεταγραφή πυρηνικών γονιδίων. Εκτός από τις αλλαγές σε γενετικό επίπεδο, οι επιγενετικές αλλαγές παίζουν και αυτές ρόλο στην διαδικασία της φωτογήρανσης.



Μια μελέτη, που χρησιμοποίησε την μέθοδο αλληλούχισης Whole Genome Sequencing για να δείξει την αυξημένη υπερμεθυλίωση μεγάλων κομματιών του γονιδιώματος σε επιδερμικά δείγματα που είχαν εκτεθεί στον ήλιο. (Huang & Chien, 2020)

Εικόνα 13: Η απεικόνιση της διαπερατότητας της UVA σε σχέση με την UVB. Πηγή: <https://www.dpharmacy.ie/blog/spf-uva-uvb-sunprotection-image-dermalogica>



Εικόνα 14: Μηχανισμοί παθογένεσης της φωτογήρανσης από την UV. Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Pathogenesis-of-photoaging-after-exposure-to-solar-radiation-DmtDNA-mitochondrial-DNA\\_fig1\\_338700007](https://www.researchgate.net/figure/Pathogenesis-of-photoaging-after-exposure-to-solar-radiation-DmtDNA-mitochondrial-DNA_fig1_338700007)

Επιπλέον η UV ακτινοβολία, ενεργοποιεί σημαντικά μονοπάτια φλεγμονής και αλλοίωσης δομών. **Πρώτον, τα ROS, ενεργοποιούν άμεσα επιφανειακούς υποδοχείς κυττάρων υπεύθυνους για τις φλεγμονώδεις κυτοκίνες ( IL-1 και TNF-alpha).** Επιπρόσθετα, η επαγωγή του μεταγραφικού παράγοντα AP-1 από τις ROS, οδηγεί στην ενεργοποίηση των MMPs, που αλλοιώνουν το κολλαγόνο τύπου I και III. Εκτός από την καταστροφή του κολλαγόνου, η AP-1 μέσω του μπλοκαρίσματος του σήματος του TGF-beta υποδοχέα, εμποδίζει την σύνθεση pro-collagen τύπου I και III. Τελικά, οι δραστικές μορφές οξυγόνου (ROS) επάγουν τον μεταγραφικό παράγοντα NFκB, οδηγώντας έτσι στην απελευθέρωση προ-φλεγμονωδών κυτοκινών ( IL-1 beta, IL-6,IL-8) .(Huang & Chien, 2020)

Όπως αναφέρθηκε και σε προηγούμενο κεφάλαιο , μια από τις βασικές αρνητικές επιπτώσεις της UV ακτινοβολίας, είναι ο σχηματισμός των ROS. Έρευνες έχουν δείξει ότι μετά από έκθεση ινοβλαστών σε UVB, στα αρχικά στάδια της γήρανσης ινοβλαστών, υπάρχει

σχηματισμός ROS ,αναστολή του πρωτεασώματος και έναρξη της αυτοφαγίας. Η αύξηση σχηματισμού των ROS,η αυτοφαγία και η μειωμένη δραστηριότητα πρωτεασωμάτων, συνεισφέρουν στην γήρανση των ινοβλαστών που έχουν εκτεθεί σε UVB.(Gromkowska-Kerka et al., 2021)

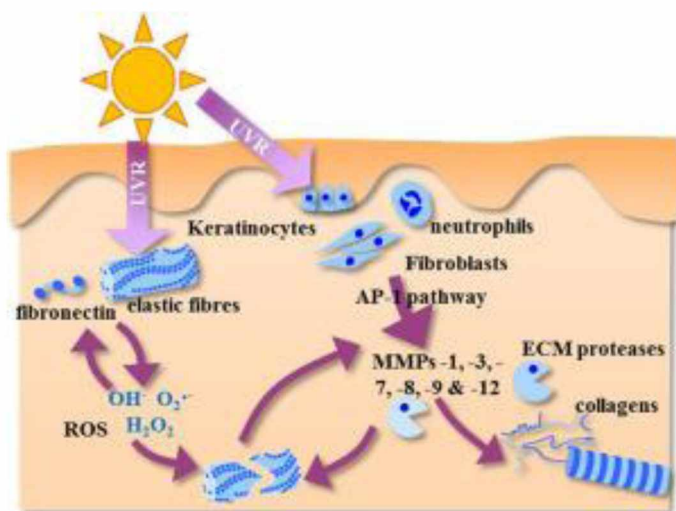
Η αυτοφαγία είναι απαραίτητη για την καθιέρωση του φαινότυπου της γήρανσης UVB εκτεθειμένων ινοβλαστών και η καταστολή της χρειάζεται για την τροποποίηση του μονοπατιού γήρανσης-απόπτωσης των κυττάρων. Από την άλλη η απενεργοποίηση του συστήματος του πρωτεασώματος σε κύτταρα ινοβλαστών σχετίζεται με την παραγωγή μονοατομικού οξυγόνου, οξειδωση πρωτεϊνών και ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων υπεύθυνων στην ρύθμιση έκφρασης της πρωτεΐνης MMP-1.(Gromkowska-Kerka et al., 2021)

### **3.3 Ο ρόλος της UV επαγόμενης αυτοφαγίας στην φωτογήρανση.**

Στην περίπτωση της γήρανσης του δέρματος, το βασικό επίπεδο της αυτοφαγίας αυξάνεται κατά την αναπαραγωγίμη γήρανση των ανθρώπινων ινοβλαστών του προσώπου . Επιπλέον , η UVA προκαλεί αυτοφαγία στους ινοβλάστες ενώ η UVB στα ανθρώπινα κερατινοκύτταρα. Παρόλα αυτά, η διαδικασία της αυτοφαγίας αδυνατεί να σταματήσει εντελώς την διαδικασία της γήρανσης των ινοβλαστών και κερατινοκυττάρων, απλά την καθυστερεί. Η αυτοφαγία έχει πολλαπλούς ρόλους στην ανταπόκριση στο οξειδωτικό stress που προκαλείται από την UV, μέσω της αφαίρεσης οξειδωμένων σωματιδίων, μειώνοντας την αντιοξειδωτική αντίδραση σε διάφορους τύπους κυττάρων. Έχει αποδειχθεί ότι η UVA ρυθμίζει την μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων που συμμετέχουν στην διαδικασία της αυτοφαγίας. Ένα από αυτά είναι η πρωτεΐνη p62, αλλά και οι ενεργοποιητές αυτοφαγίας όπως η p53 και η SESN2, οι οποίοι προκαλούν την αυτοφαγία μέσω της πρωτεϊνικής κίνησης AMPK. Η συνέχουμένη έκθεση στην UVA, επηρεάζει αρνητικά την διαδικασία της αυτοφαγίας, λόγω των τροποποιήσεων στην λειτουργία των λυσοσωμάτων.(Huang & Chien, 2020)

### 3.4 UV ένζυμα σχετιζόμενα με την φωτογήρανση

Μετά από την έκθεση του δέρματος σε UV ακτινοβολία, υπάρχει αύξηση της έκφρασης των μεταλλοπρωτεϊνών/ματριξινών της εξωκυττάριας ουσίας (MMPs). Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες είναι υπεύθυνες για την αλλοίωση των ECM πρωτεϊνών όπως του κολλαγόνου, της ελαστίνης, των πρωτεογλυκάνων και της ινονεκτίνης. Η υπερβολική αλλοίωση αυτών των πρωτεϊνών, που προκαλείται από την υπερβολική παραγωγή των MMP-1, MMP-3 και MMP-9, συνεισφέρει στην φωτογήρανση του δέρματος και επομένως στον σχηματισμό παχιών ρυτίδων και την χαλάρωση του δέρματος. (Huang & Chien, 2020). (Gromkowska-Kęrką et al., 2021). Εκτός από την φωτογήρανση, τα MMPs παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του UV συσχετιζόμενου καρκίνου, καθώς ρυθμίζουν διάφορες διαδικασίες που σχετίζονται με τον καρκίνο όπως, τοποθεσία όγκου, ανάπτυξη όγκου, αγγειογένεση και μετάσταση. (Gromkowska-Kęrką et al., 2021)



Εικόνα 15

Πηγή: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0898656818303024>

Η έκφραση του γονιδίου του MMP-1, στο mRNA κερατινοκυττάρων είχε τετραπλάσια αύξηση σε κύτταρα που εκτέθηκαν σε UVB ακτινοβολία. Αυτές οι αλλαγές στην έκφραση των πρωτεϊνών παίζουν σημαντικό ρόλο στην διαδικασία της φωτογήρανσης του δέρματος. Επιπλέον, η UV ακτινοβολία, η αύξηση των ROS, και η έκφραση των MMPs, εκτός το ότι αποτελούν βασικούς παράγοντες που εμπλέκονται στις αλλαγές που προκύπτουν στο δέρμα κατά την διαδικασία της φωτογήρανσης, μπορούν να αλληλοεπιδράσουν με ένα είδος πρωτεϊνών τις καθεψίνες. (Gromkowska-Kęrką et al., 2021). Η δραστηριότητα και η ποσότητα των καθεψινών B, D, K και G μπορούν να θεωρηθούν ως πιθανοί βιοδείκτες στην φωτογήρανση του ανθρώπινου δέρματος. Πιο συγκεκριμένα η Καθεψίνη K, είναι ένα από τους βασικούς παράγοντες που εμπλέκονται στην αποδόμηση της ελαστίνης, η οποία και οδηγεί στον σχηματισμό της ηλιακής ελάστωσης. Από την άλλη η

Cathepsin D προκαλεί την κυτταρική μίτωση, που στην συνέχεια οδηγεί στην αποδυνάμωση της ανοσολογικής απόκρισης και στην αναστολή της λειτουργίας των δενδριτικών κυττάρων. Θεωρείται πως ως ρυθμιστής ανάπτυξης των κερατινοκυττάρων η Καθεψίνη D, συμβάλλει σε διαταραχές του πολλαπλασιασμού επιδερμικών κυττάρων ,που συσχετίζονται με την φωτογήρανση. Ένα ρυθμιστικός παράγοντας για τις μεταλοπρωτεΐνες MMP-1,MMP-2,MMP-3 και MMP-9, είναι η Οψίνη 3( OPN3-Opisin 3). Η Οψίνη 3 μέσω ένος μονοπατιού εξαρτώμενου από το ασβέστιο, συσσευγμένου με τις G-Πρωτεΐνες, ξεκινάει την διαδικασία της μεταγωγής ινοβλαστών που έχουν εκτεθεί σε UVA ακτινοβολία. Επιπλέον, επηρεάζει την φωσφορυλίωση της AP-1 Πρωτεΐνης και ρυθμίζει την δράση των MMPs μέσω της ενεργοποίησης της πρωτεϊνικής κινάσης 2 ( Protein Kinase II). Η διαδικασία της ενεργοποίησης της PK-II, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. (Gromkowska-Kerka et al., 2021)

Σημαντικό ρόλο στην φωτογήρανση διαδραματίζει και η AP-1 πρωτεΐνη. Τα ROS που παράγονται μετά από UV έκθεση, ενεργοποιούν την οικογένεια πρωτεϊνικών κινασών MAPK, οι οποίες στην συνέχεια σχηματίζουν την AP-1 . Η AP-1 είναι υπεύθυνη για τον έλεγχο της μεταγραφής των MMP-1,MMP-3 και MMP-9 αλλά και την αναστολή του σήματος της TGF-β, η οποία ευθύνεται για την ρύθμιση της σύνθεσης του προ-κολλαγόνου τύπου I στο ανθρώπινο δέρμα.(Gromkowska-Kerka et al., 2021)

Τέλος ένας ακόμη μεταγραφικός παράγοντας που ενεργοποιείται ως απάντηση στην UV, είναι ο NF-κB. Είναι ένας παράγοντας που ευθύνεται για την ρύθμιση της έκφρασης γονιδίων των παραγόντων ανάπτυξης(growth factors), των χημειοκινών, των κυτταροκινών. Επιπλέον είναι ο NF-kB, ρυθμίζει την έκφραση των MMP-1 και MMP-3 στου ινοβλάστες του ανθρώπινου δέρματος.(Gromkowska-Kerka et al., 2021)

Καταλήγοντας, είναι προφανές πως οι μεταγραφικοί παράγοντες AP-1 και NF-κB, ευθύνονται για τον σχηματισμό των αλλαγών που είναι χαρακτηριστικές στην φωτογήρανση.(Gromkowska-Kerka et al., 2021)

### **3.5 Δερματικές Διαταραχές Φωτογήρανσης: Συσχετισμός Μελάσματος και Φωτογήρανσης**

Επιδημιολογικά και παθοφυσιολογικά δεδομένα τα οποία έχουν δημοσιευτεί την τελευταία δεκαετία, παρέχουν αποδείξεις στην υπόθεση ότι το μέλασμα αποτελεί δερματική διαταραχή που οφείλεται στην φωτογήρανση. (T & M, 2018)

Είναι γνωστό για δεκαετίες πως η επίδραση της UV ακτινοβολίας είναι ένας παράγοντας ενεργοποίησης, του μελάσματος. Ακόμη και μετά από χρήση προστατευτικών μέσων έναντι UVA και UVB κατά την διάρκεια των καλοκαιρινών μηνών, οι περισσότεροι ασθενείς είχαν επιδείνωση των βλαβών( μέλασμα). Τα μικρότερα μήκη κύματος του ορατού φωτός ( μπλέ- μώβ φώς) προκαλούν την υπερβολική αλλαγή της χρώσης του δέρματος μέσω ενός ειδικού αισθητήρα στα μελανοκύτταρα, την Opsin 3. Με την χρήση αντηλιακής προστασίας εμπλουτισμένης με οξείδιο του σιδήρου, έναντι μικρότερων μήκων ορατού φωτός, υπήρξε μείωση της υποτροπής των μελασμάτων κατά του καλοκαιρινούς μήνες. Επομένως, υπάρχουν αρκετές ενδείξεις ότι το μέλασμα έχει όλα τα χαρακτηριστικά μια δερματικής διαταραχής σχετιζόμενης με την φωτογήρανση, σε συγκεκριμένο γενετικό υπόβαθρο ασθενούς, όπου η ακτινοβολία UVA1 και το ορατό φως, αποτελούν βασικούς υπαίτιους παράγοντες.(T & M, 2018)

### **3.6 Άλλοι Εξωτερικοί Παράγοντες Φωτογήρανσης**

Υπάρχουν ενδείξεις πως εσωτερικοί και εξωτερικοί ατμοσφαιρικοί ρύποι, προκαλούν πρόωρη γήρανση του δέρματος. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός πως σε κάποιες περιπτώσεις ατμοσφαιρικοί ρύποι συνεργάζονται αρμονικά με την UV ακτινοβολία, και προκαλούν την εξωγενή γήρανση του δέρματος και τον καρκίνο του δέρματος. Ένας από τους πιο χαρακτηριστικούς ρύπους της καύσης ορυκτών καυσίμων είναι ο πολυκυκλικός αρωματικός υδρογονάνθρακας (PAH). Ο συνδυασμός του PAH με την UV ακτινοβολία, αυξάνει την παραγωγή ενεργών μεταβολιτών που είναι υπεύθυνοι για την φωτογήρανση στο δέρμα. Αυτή η αύξηση πιθανολογείται πως οφείλεται στον συνδυαστική επίδραση UV-ατμοσφαιρικών ρύπων, στον ρυθμιστικό μεταφραστικό παράγοντα AhR, Η ταυτόχρονη έκθεση του δέρματος στο Βενζυπυρένιο και στην UV, δημιουργεί οξειδωτικές βλάβες.(Huang & Chien, 2020)(Sant' & Addor, 2018)

Ακόμη ένας παράγοντας που κρύβεται πίσω από την φωτογήρανση είναι **το κάπνισμα**. Το κάπνισμα έχει συσχετιστεί με την πρόωρη ανάπτυξη ρυτίδων σε πολλές κλινικές μελέτες.(Huang & Chien, 2020). Έχει τοξική δράση στα κερατινοκύτταρα και ινοβλάστες μέσω της αύξησης έκφρασης των MMPs και τροποελαστίνης. Η αύξηση της έκφρασης μικρών

πρωτεογλυκανών και η μείωση της σύνθεσης προ-κολλαγόνου συμπεριλαμβάνονται στον μηχανισμό δράσης του καπνίσματος. Η κλινική εικόνα ατόμων που καπνίζουν και παρουσιάζουν τα σημάδια της φωτογήρανσης είναι το χλωμό και ρυτιδιασμένο δέρμα. Όπως και η UV ακτινοβολία, το κάπνισμα οδηγεί στον σχηματισμό των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (advanced glycolisation end products) και αυξάνει την συσσώρευση τους σε διάφορους ιστούς όπως το δέρμα. (Sant' & Addor, 2018)

**Η υπεριώδης ακτινοβολία** λόγω της διεισδυτικής της ικανότητας προκαλεί την έκφραση των MMPs και οξειδωτικές βλάβες στο δέρμα. Η χρόνια έκθεση στην IR μέσω της αγγειογένεσης, και κυτταρική φλεγμονής, δημιουργεί βλάβες στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και στην δομή των πρωτεϊνών, προκαλώντας γήρανση του δέρματος. Όπως και η UV ακτινοβολία έτσι και η Υπέρυθρη, οδηγούν στην ενεργοποίηση των μακροφάγων. (Sant' & Addor, 2018)

**Τα ανοιχτόχρωμα άτομα** λόγω της χαμηλής σύνθεσης μελανίνης κινδυνεύουν αρκετά από την UV ακτινοβολία, διότι η μελανίνη όπως αναφέρθηκε και σε παραπάνω κεφάλαια αποτελεί την πρώτη γραμμή άμυνας. Οι ανοιχτοί φωτότυποι δέρματος αν και αποτελούν εξωτερικό χαρακτηριστικό είναι ευάλωτοι στους εξωτερικούς επιβλαβής παράγοντες.

Εκτός από την μικρή ποσότητα μελανίνης οι Φωτότυποι τύπου I και II έχουν λιγότερες δερματικές θηλές σε σχέση με τους πιο σκουρόχρωμους τύπους δέρματος.

### **3.7 Ομοιότητες στους μηχανισμούς φωτογήρανσης και καρκίνου του δέρματος**

Όπως αναφέρθηκε και στις προηγούμενες ενότητες η UVA και η UVB ακτινοβολία, παράγουν τα είδη αντιδραστικού οξυγόνου (ROS). Πιο συγκεκριμένα τα ROS, ενεργοποιούν το μεταγωγικό σήμα για την παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών και ενζύμων που καταστρέφουν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, την επιδείνωση



της φωτογήρανσης και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού που προάγει την καρκινογένεση. Γενικότερα ο μηχανισμός ROS, είναι παρών στην γήρανση, φωτογήρανση, φλεγμονή και ογκογένεση. (Xu et al., 2017)

Τα υψηλά επίπεδα των ROS, ενεργοποιούν το MAPK- σηματοδοτικό μονοπάτι και επάγουν την έκφραση φλεγμονωδών πρωτεϊνών. **Η AP-1 ενεργοποιείται από το MAPK μονοπάτι, και μπορεί να προκαλέσει την παραγωγή των φλεγμονωδών πρωτεϊνών, οι οποίες στην συνέχεια επιταχύνουν την φλεγμονή, την γήρανση του δέρματος και την ανάπτυξη καρκίνου.** Οι περισσότερες ασθένειες που σχετίζονται με την γήρανση έχουν κοινά χαρακτηριστικά στην φλεγμονή όπως η ενεργοποίηση μεταγραφικών παραγόντων. **Ο μεταγραφικός παράγοντας NF-κΒ**, εμπλέκεται στην ανάπτυξη διαφόρων δερματικών ασθενειών, όπως η ψωρίαση, αλλεργική δερματίτιδα αλλά και **καρκίνο του δέρματος**. Οι λειτουργίες του NF-κΒ, συσχετίζονται με την μακροζωία των κυττάρων, επειδή ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων των τελομερασών, της φλεγμονής, αγγειογένεσης, αντι-αποπτωτικών παραγόντων και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. (Xu et al., 2017)

**Επιπλέον οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs)** που συμμετέχουν και στην φωτογήρανση, έχουν συσχετιστεί και με την ογκογένεση. Πιο συγκεκριμένα, οι MMPs προάγουν την νεοπλασματική διήθηση και μετάσταση και συμμετέχουν ως ρυθμιστές του πολλαπλασιασμού των καρκινικών κυττάρων και της απόπτωσης. Επιπλέον, συμμετέχουν, στην διαφοροποίηση των όγκων, στην ανσολογική αντίσταση κατά των όγκων και στην καρκινική αγγειογένεση. Στην νεοπλασματική διήθηση, ρυθμίζουν την προσκόλληση των καρκινικών κυττάρων στα συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (ECM) και την πρωτεόλυση της εξωκυττάρια θεμέλιας ουσίας. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την μεταφορά των καρκινικών κυττάρων σε περιοχές της ECM που έχουν υποστεί φθορά. Επιπρόσθετα, ένας ακόμη σημαντικός ρόλος των MMPs στον καρκίνο είναι η δυνατότητα τους να δημιουργούν ένα τοπικό περιβάλλον που μπορεί να φιλοξενήσει και να παρέχει συγκεκριμένες συνθήκες που ευνοούν τα μεταστατικά καρκινικά κύτταρα να επιβιώσουν σε ένα απόμακρο όργανο. (Bastian et al., 2017)

Τέλος, **η αυτοφαγία**, όπως θα αναφέρθηκε σε προηγούμενα κεφάλαια παίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην εμφάνιση καρκίνου του δέρματος όσο και στην φωτογήρανση. Τα ROS, που προκαλούνται από την UVA, οδηγούν στην οξειδωση των φωσφολιπιδίων και στην μεταγενέστερο σχηματισμό των οξειδωμένων ενωσέων προσθήκης φωσφολιπιδίων-πρωτεϊνών. Αυτές οι ενώσεις προσθήκης ( adducts), αποδομούνται από τον μηχανισμό της αυτοφαγίας, με αποτέλεσμα να αποτρέπονται οι βλάβες που προκαλούνται από την

συσσώρευση των υπερβολικά οξειδωμένων adducts . Η ηλικιακά συσχετιζόμενη μείωση της αποτελεσματικότητας του μηχανισμού της αυτοφαγίας στην απομάκρυνση των ενώσεων προσθήκης (adducts) φωσφολιπιδίων-προωτεινών , οδηγεί στην συσσώρευση τους, γεγονός που συμβάλλει σημαντικά στην φωτογήρανση του δέρματος. (Sample & He, 2017)

Από την άλλη όσο αφορά το κομμάτι του καρκίνου του δέρματος, η αυτοφαγία όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο συμβάλλει στην ογκογένεση, λόγω των συνθηκών που δημιουργεί στα κύτταρα, σε συνθήκες οξειδωτικού και γονιδιοτοξικού στρες.

## **4.1 Πρόληψη Και Θεραπευτικές Προσεγγίσεις κατά του Καρκίνου του Δέρματος**

### **4.1.1 Αποφυγή της UV ακτινοβολίας για την πρόληψη καρκίνου του δέρματος.**

Η αποφυγή της έκθεσης στην UV, είναι το πιο βασικό και σημαντικό βήμα για την πρόληψη του καρκίνου του δέρματος. Η μακροχρόνια έκθεση στο ήλιο, είναι ένας πολύ σημαντικός εξωτερικός παράγοντας που ευθύνεται για τον καρκίνο του δέρματος στον γενικό πληθυσμό. Αν και ήταν γνωστό για αρκετές δεκαετίες πως η UV ακτινοβολία είναι ένοχη για την δερματική καρκινογένεση, μόνο το 2002 , η έκθεση στην UV αναφέρθηκε επίσημα ως δοσεξαρτώμενο καρκινογόνο, από το Department of Health and Human Services των Ηνωμένων Πολιτειών της Αμερικής. Προφανώς είναι αδύνατον να αποφύγουμε εξ ολοκλήρου την έκθεση μας σε αυτό το καρκινογόνο από την στιγμή που οι άνθρωποι είναι συνέχεια σε έκθεση στην UV. Παρά την αδυναμία αποφυγής του, μπορεί να μετριαστεί αποτελεσματικά ειδικότερο σε ευπαθείς πληθυσμούς ( ανοιχτόχρωμα δέρμα). Την δεκαετία του 1980, μια από τις πιο γνωστές εκστρατείες πρόληψης έκθεσης στην UV έγινε στην Αυστραλία , μια χώρα που εμφανίζει ένα από τα μεγαλύτερα ποσοστά εμφάνισης μελανωμάτων και μη μελανωματικών καρκίνων του δέρματος παγκοσμίως. Από την αρχή του προγράμματος σημειώθηκε μείωση στην συχνότητα εμφάνισης μελανώματος στην Αυστραλία. Στην εκστρατεία συμπεριλήφθηκαν οδηγίες πρόληψης όπως, η εφαρμογή αντηλιακών σκευασμάτων και η χρήση διαφόρων μέσων προστασίας όπως καπέλο, γυαλιά, ειδικά ρούχα κτλπ.(JW et al., 2020)

### **4.2 Μοριακοί Στόχοι για την πρόληψη του καρκίνου**

Στοχεύοντας μοριακά μονοπάτια που συνδέονται και προκαλούνται από την UV, μπορεί να αποτελέσει μια αποτελεσματική προσέγγιση για την πρόληψη του καρκίνου του δέρματος. Κάποια συστατικά της διατροφής μας μπορούν να χρησιμοποιηθούν δυνητικά για την πρόληψη. Ουσίες όπως η καφεΐνη στον καφέ και το EGCG στο τσάι, εμποδίζουν την UV επαγόμενη καρκινογένεση.(JW et al., 2020)

Η φλεγμονή που δημιουργείται μετά από την έκθεση στην UV ακτινοβολία, παίζει σημαντικό ρόλο όπως αναφέρθηκε και στα παραπάνω κεφάλαια για την καρκινογένεση στο δέρμα. Τα επιδερμικά κερατινοκύτταρα που έχουν υποστεί βλάβη από UV, απελευθερώνουν το σχετιζόμενη με χρωματίνη πρωτεΐνη HMGB1, η οποία στην συνέχεια ενεργοποιεί τον υποδοχέα TLR4, που οδηγεί στην φλεγμονή. Σύμφωνα σε έρευνες σε ζωικά μοντέλα ποντικών (SKH-1 άτριχα ποντίκια), ο ανταγωνιστής της TLR4, με το όνομα Resatorvid, εμπόδισε τα μονοπάτια AP-1 και NF-κB. Η παρεμπόδιση αυτών των δύο μονοπατιών που συμμετέχουν στην δημιουργία φλεγμονής κατά την έκθεση UV, οδηγεί αυτομάτως στην καταστολή της UV επαγόμενης φλεγμονής και UV επαγόμενης ογκογένεσης. (JW et al., 2020)

Ακόμη ένας πιθανός στόχος για την πρόληψη του καρκίνου του δέρματος αποτελεί η αυτοφαγία που προκαλείται από την UV. Η αυτοφαγία, είναι μια απαραίτητη κυτταρική διαδικασία, με την οποία τα κύτταρα απομακρύνουν περιττές πρωτεΐνες, λιπίδια και άλλα συστατικά του κυττάρου. Με αυτόν τον τρόπο μέσω της αυτοφαγίας ρυθμίζεται η διαθεσιμότητα διαφόρων παραγόντων της κυτταρικής σηματοδότησης. Επιπλέον η ανακύκλωση των κυτταροπλασματικών περιεχομένων μέσω της αυτοφαγίας, διευκολύνει την επιβίωση των κυττάρων και την προσαρμογή τους σε συνθήκες γονιδιοτοξικού στρες και οξειδωτικού στρες. Η απορρύθμιση του μηχανισμού της αυτοφαγίας μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη του καρκίνου του δέρματος. Στην αυτοφαγία συμμετέχει το **γονίδιο αυτοφαγίας ATG7**, το οποίο ρυθμίζει την έκφραση και έκκριση κυτταροκινών. Επομένως, η αφαίρεση του γονιδίου **ATG7**, καταστέλλει την φλεγμονή και ογκογένεση. Ακόμη μια ουσία, η μιξίνη, ενεργοποιεί τον **μεταγραφικό παράγοντα NRF2**, και προκαλεί αντιοξειδωτική προστασία. Το πρόσθετο αυτό, μειώνει την οξειδωτική βλάβη και την φλεγμονώδη απόκριση μετά από έκθεση σε UV ακτινοβολία. (JW et al., 2020)

#### **4.3 Καφεΐνη και συσχετισμός με τον ATR μηχανισμό για την πρόληψη του καρκίνου του δέρματος.**

Σε κάποιες επιδημιολογικές έρευνες έχει βρεθεί πως η κατανάλωση καφεΐνης συσχετίζεται με μειωμένο ρίσκο εμφάνισης μη μελανωματικού καρκίνου του δέρματος (NMSC) και μελανώματος. Πιο συγκεκριμένα, η καθημερινή κατανάλωση 600mg καφεΐνης μειώνει το ρίσκο εμφάνισης του Βασικοκυτταρικού Καρκινώματος (Basal Skin Cancer) κατά 16%. Επιπλέον, σε άλλη έρευνα σε Κινέζικο πληθυσμό φάνηκε και μείωση ρίσκου εμφάνισης όχι

μόνο του Βασικοκυτταρικού Καρκινώματος(BSC) αλλά και του Ακανθοκυτταρικού Καρκινώματος (SCC). Πιο συγκεκριμένα η καθημερινή κατανάλωση 3 φλιτζανιών καφέ, οδήγησε σε μείωση ρίσκου κατά 46% στον BSC και κατά 67% στον SCC.(JW et al., 2020)

Η καφεΐνη σαν ουσία έχει διάφορους μοριακούς στόχους και είναι μη ειδικός αναστολέας της ATR κινάσης. Όπως αναφέρθηκε στο πρώτο κεφάλαιο η ATR κινάση, συμμετέχει στους μηχανισμούς άμυνας κατά της UV ακτινοβολίας, προκαλώντας την αναστολή του κυτταρικού κύκλου. Οι μελέτες για την καφεΐνη οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η αύξηση της UV επαγόμενης απόπτωσης πραγματοποιείται μέσω ATR αναστολής. Στα ανθρώπινα κερατινοκύτταρα η καφεΐνη αυξάνει διπλάσια την απόπτωση που προκαλείται από UV ακτινοβολία. Αυτή η αύξηση της απόπτωσης από την καφεΐνη δείχνει ότι , η καφεΐνη συνεισφέρει στην απαλοιφή των κυττάρων που έχουν υποστεί βλάβη από την UV.(JW et al., 2020)

#### **4.4 Μοριακές Μέθοδοι Θεραπείας κατά του καρκίνου του δέρματος**

Οι μοριακά στοχευμένες θεραπείες αυτήν την περίοδο αποτελούν ένα επίκαιρο θέμα ερευνών στην επιστημονική κοινότητα για την θεραπεία των καρκίνων του δέρματος. Σε κάποιες κλινικές δοκιμές έχει γίνει χρήση μονόκλωνου αντισώματος ( cetuximab) που αναστέλλει την EGFR σε SCC (ακανθοκυτταρικό) τύπο καρκίνου του δέρματος με ποσοστά επιτυχίας να κυμαίνονται στο 69%. (JW et al., 2020) .Το Cetuximab είναι ένα μονοκλωνικό αντίσωμα που έχει σχεδιαστεί να προσδένεται στην εύκολα προσβάσιμη εξωκυτταρική περιοχή του **υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR), που εντοπίζεται στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων.** Πιο συγκεκριμένα το Cetuximab ανταγωνίζεται την πρόσδεση των ενδογενών συνδετών (ligands) στον EGFR. Ο ανταγωνισμός αυτός οδηγεί στον αποκλεισμό των μεταγωγικών μονοπατιών, ο οποίος έχει ως αποτέλεσμα την επαγωγή αντικαρκινικής δράσης. Δράσεις όπως, η αναστολή του κυτταρικού κύκλου, επαγωγή απόπτωσης, αναστολή αγγειογένεσης και μετάστασης.

Το MAPK(RAS-RAF-MEK-ERK) μονοπάτι παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων και αποτελεί βασικό στόχο για την θεραπεία μελανωμάτων. Ειδικότερα το μονοπάτι RAS αποτελεί στόχο πολλών θεραπευτικών ερευνών λόγω του ρόλου του στην ογκογένεση. Κάποτε θεωρούταν αδύνατο να στοχευτεί το RAS από φάρμακα λόγω της μοριακής του δομής, ωστόσο πλέον η πρόοδος στις έρευνες πάνω στο κομμάτι της μοριακής

ρύθμιση του μονοπατιού, δίνει ελπίδες για αποτελεσματική φαρμακευτική αναστολή του RAS.(Gimple & Wang, 2019)

Η άμεση αναστολή του ογκογόνου RAS μονοπατιού, αποτελεί σημαντική θεραπευτική προσέγγιση στην κατάλυση ενός RAS συσχετιζόμενων όγκων. Έρευνες που αφορούν την μοριακή δομή του κοινού KRAS G12C γονιδίου, έχουν οδηγήσει στην ανάπτυξη ειδικών αναστολέων που στοχεύουν επιλεκτικά την μεταλλαγμένη μορφή του KRAS. Οι αναστολείς αυτοί περιορίζουν την ενεργοποίησή του KRAS μέσω της διευκόλυνσης της πρόσδεσης του στο GDP και μέσω της παρεμπόδισης του downstream signaling μέσω της RAF. Εκτός από αναστολείς που στοχεύουν ειδικές μεταλλάξεις του RAS, υπάρχουν και οι pan-RAS αναστολείς που στοχεύουν το HRAS, NRAS και KRAS. Ένας από τους pan-RAS αναστολείς είναι το συστατικό 3,144. Το 3,144 κατάφερε να αποσιποήσει το P13-AKT και MEK-ERK καθοδική (downstream) σηματοδότηση του RAS, και παράλληλα απέτρεψε την ανάπτυξη των RAS συσχετιζόμενων xenograft καρκινικών μοντέλων.(Gimple & Wang, 2019)

Εκτός από την χρήση μικρών μορίων ως αναστολείς, διεξάγεται έρευνα και στην χρήση εναλλακτικών θεραπευτικών μεθόδων που θα μπορούν να μεταφέρουν θεραπευτικά συστατικά σε καρκινικά κύτταρα in vivo. Μια τέτοια μέθοδος είναι η νανο-λιποσωμική μεταφορά siRNAs που στοχεύουν το KRAS. Τα νανο-λιπώματα, μπορούν να μεταφέρουν miRNAs που στοχεύουν το KRAS και παράλληλα αποτρέπουν την ανάπτυξη του όγκου και τις μεταστάσεις σε μοντέλα καρκίνου του πνεύμονα.(Gimple & Wang, 2019)

Επιπλέον, οι αναστολείς RAF, είναι μεν αποτελεσματικοί εναντίων μελανωμάτων με BRAF μεταλλάξεις, προκαλούν SCCs στους ασθενείς με μελάνωμα. Πολλά μονοπάτια που οδηγούν στην εμφάνιση του Ακανθοκυτταρικού καρκίνου του δέρματος και στο μελάνωμα, είναι κοινά και σε καρκίνους που εμφανίζονται σε άλλα όργανα. Αυτή η παρουσία κοινών μηχανισμών εμφάνισης στους διάφορους καρκίνους επιτρέπει την χρήση θεραπειών για άλλα είδη καρκίνων να εφαρμοστούν στον καρκίνο του δέρματος. Το μοριακό προφίλ του Ακανθοκυτταρικού Καρκίνου που προκαλείται από την UV ακτινοβολία παρουσιάζει πολλά κοινά με τον Ακανθοκυτταρικό Καρκίνο που προκαλείται από αλλά καρκινογόνα ( καπνός, αλκοόλ). Επομένως, η ομοιότητα αυτή στο μοριακό προφίλ επιτρέπει την ανάπτυξη αντικαρκινικών φαρμάκων που θα έχουν ως μοντέλο αναφοράς το κοινό SCC , που παράλληλα θα επιτρέπει

την χρήση τους και κατά των SCCs προκαλούμενων από τα παραπάνω αναφερθέντα καρκινογόνα.(JW et al., 2020)

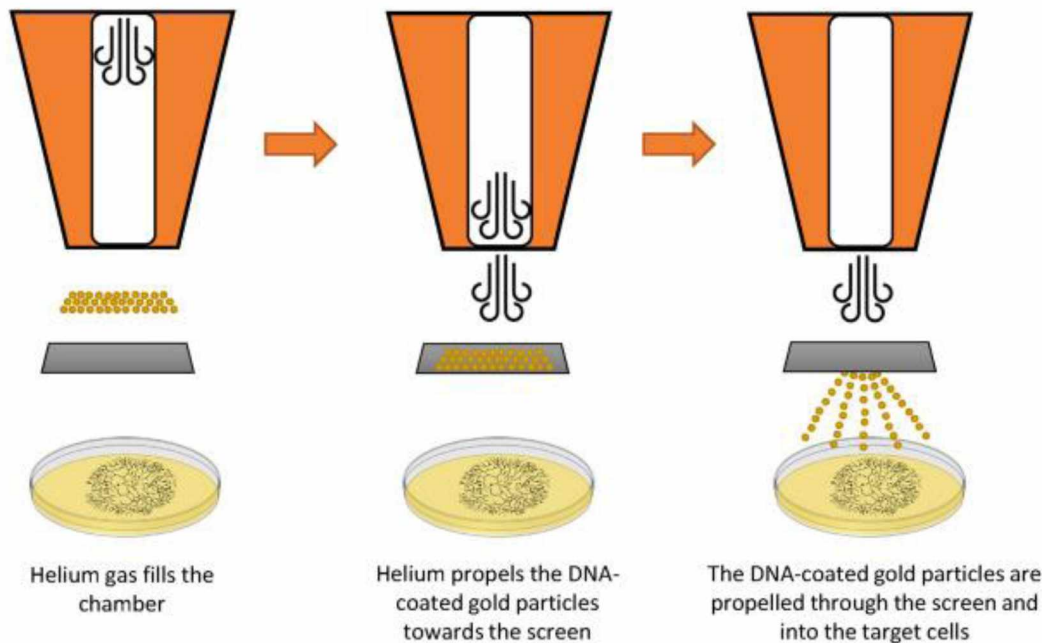
#### 4.4.1 Gene Gun Therapy

Η μεταφορά γονιδίων στα κύτταρα, με την χρήση σωματιδίων που βασίζεται στην χρήση της επιτάχυνσης πυρίτιδας είναι μια από τις αρχικές ιδέες για την Gene Gun θεραπεία. Στην πορεία η πυρίτιδα αντικαταστάθηκε από ήλιο, ως προωθητικό για τις περισσότερες συσκευές. Οι συσκευές αυτές υπάρχουν στο εμπόριο με την ονομασία Helios Gene Gun. Το γονιδιακό όπλο (gene gun), λειτουργεί μέσω της επιτάχυνσης σωματιδίων χρυσού που επικαλύπτονται από DNA. Τα σωματίδια αυτά στοχεύουν τους ιστούς στόχους, επιταχύνουν και διαπερνάνε, την κυτταρική μεμβράνη. Αφού γίνει η διαπέραση της κυτταρικής μεμβράνης, το DNA, διαχωρίζεται από τα σωματίδια χρυσού, και οδηγείται στην έκφραση του στο κύτταρο στόχο. Η ανοσοποίηση στηριζόμενη στα γονίδια γίνεται με την χρήση διαγονιδιακών φορέων DNA. Οι φορείς αυτοί προκαλούν την έκφραση των κυτοκινών, χημειοκινών, και αντιγόνων που συσχετίζονται με όγκους. Η τεχνική αυτή παρουσιάζει προοπτικές για την αύξηση της κυτταροτοξικής ανοσίας έναντι των διαφόρων ειδών καρκίνου.(Simões et al., 2015)

Η χρήση το γονιδιακού όπλου παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις κλασικές μεθόδους ενέσεων. Καταρχήν προσφέρει την άμεση μεταφορά του γονιδίου σε διάφορους ιστούς διότι διαπερνάει κυτταρικά εμπόδια όπως, το κυτταρικό τοίχωμα και γενικότερα δεν επηρεάζεται από διάφορα σωματίδια και υποδοχείς που βρίσκονται στην επιφάνεια του κυττάρου. Επιπλέον, η σταδιακή φθορά του γονιδίου βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα με την χρήση του gene gun. Μεγάλο πλεονέκτημα αποτελεί και η δυνατότητα της μεταφοράς πολλών γονιδίων ταυτόχρονα στον ίδιο στόχο. Η πολλαπλή μεταφορά γονιδίων θα επιτρέψει δυνητικά την μελέτη για την αλληλεπίδραση μεταξύ διάφορων γονιδίων.(Jinturkar et al., 2011)

Το γονιδιακό όπλο είναι εύχρηστο στην αναγνώριση γονιδίων υποκινητών αλλά και στην κατανόηση του μηχανισμού έκφρασης αυτών στο κύτταρο (gene promoters). Παράδειγμα τέτοιου γονιδίου υποκινητή, είναι το cornea-specific keratin 12 γονίδιο. Ακόμη μια σημαντική εφαρμογή του gene είναι ότι μπορεί χρησιμοποιηθεί για τον γενετικό εμβολιασμό( genetic vaccination). Πιο συγκεκριμένα, μέσω της γενετικού εμβολιασμού μεταφέρεται το DNA, στους ιστούς στόχους ,με σκοπό την πρόκληση της ανοσολογικής απόκρισης. **Το δέρμα αποτελεί μια από τις πιο προσιτές μεθόδους του DNA εμβολιασμού λόγω της ύπαρξης του πυκνού δικτύου των κυττάρων Langerhans.** Τα κύτταρα αυτά, έχουν την δυνατότητα, να

παρουσιάσουν το αντιγόνο και να προκαλέσουν T κυτταρική ανοσία. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου του γονιδιακού όπλου για την μεταφορά DNA, την καθιστά κατάλληλη ως μέθοδο για θεραπείες διαφόρων ειδών καρκίνου. (Jinturkar et al., 2011)



Εικόνα 16: Τρόπος Λειτουργίας του Gene Gun με χρήση Ηλίου και Σωματιδίων Χρυσού επικαλυμμένων με DNA.

Πηγή: Science Direct

Είναι γρήγορο, απλό, ευέλικτο και κρίνεται κατάλληλο για την εισαγωγή DNA, σε διάφορα όργανα όπως δέρμα και μύς. Πριν την χρήση του, πρέπει κάθε φορά να ρυθμίζεται κατάλληλα, λόγω της φύσης των διαφόρων παραγόντων, βιολογικό είδος, πάχος του ιστού στόχου, την δύναμη του βομβαρδισμού, το μέγεθος των σωματιδίων χρυσού. (Jinturkar et al., 2011)

Αν και αρκετά τα πλεονεκτήματα, δεν μπορεί να μην γίνει η αναφορά και στα μειονεκτήματα που το βασικότερο είναι το κόστος. Το κόστος είναι υψηλό εξαιτίας των υλικών που χρησιμοποιούνται στην μέθοδο δηλαδή το gene gun και τα σωματίδια χρυσού. Επιπλέον η χρήση του gene gun προκαλεί υψηλή χυμική ανοσολογική απόκριση. (Jinturkar et al., 2011)

Σε ορισμένες περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί και βλάβη των ιστών στην περιοχή στόχου το gene gun λόγω του βομβαρδισμού του ιστού με στερεά σωματίδια υψηλών ταχυτήτων. (Jinturkar et al., 2011) .

**Σε μια έρευνα χρησιμοποιήθηκε το γονιδιακό όπλο (gene gun) ,για την μεταφορά IFN- $\alpha$  IVT mRNA, σε βιοψίες κομματιών δέρματος για την θεραπεία μη μελανωματικού**

**καρκίνου του δέρματος (NMSC).** Η ιντεφερόνη α (IFN-α) είναι σωματίδιο, που προκαλεί την ανοσοαπόκριση και έχει ισχυρή αντικαρκινική δράση. Από το 1980 χρησιμοποιήθηκε αρκετά για την θεραπεία των BCC, SCC και AK τύπων καρκίνου του δέρματος, ωστόσο η κλινική εφαρμογή της IFN-α για την θεραπεία του μη μελανωματικού καρκίνου του δέρματος, καθυστέρησε κυρίως λόγω της ανάγκης να χορηγείται καθημερινά για 10-14 μέρες και λόγω του κόστους. Η mRNA θεραπεία δίνει την λύση για να ξεπεραστούν οι παραπάνω αναφερόμενοι περιορισμοί. Η in vitro μεταγραφόμενη (IVT) mRNA θεραπεία, εισάγει αντίγραφα mRNA στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου και επάγει την σύνθεση μια συγκεκριμένης πρωτεΐνης. (Hochmann et al., 2018)

Πιο συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν σωματίδια χρυσού επικαλυμμένα με το πρότυπο eGFP κωδικοποιόν mRNA. Το 1/3 των σωματιδίων χρυσού βρέθηκαν μέσα στο ανώτερο στρώμα της επιδερμίδας. Μέσω της τεχνικής του ανοσοφθορισμού παρατηρήθηκε μετά από 48 ώρες, η έκφραση της πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης (GFP). Η σήμανση του εξωσκελετού και του πυρήνα με phalloidin και DAPI, επέτρεψαν την επιβεβαίωση της άθικτης δομής του δέρματος μετά από καλλιέργεια των βιοψιών του δέρματος που υπέστησαν βομβαρδισμό από το γονιδιακό όπλο. Επιπλέον όταν δεν χρησιμοποιήθηκε το γονιδιακό όπλο για την μεταφορά των eGFP mRNA σωματιδίων χρυσού, δεν ανιχνεύθηκε παρουσία της ενισχυμένης πράσινης φθορίζουσας πρωτεΐνης. Η έρευνα του Hochmann et al., δείχνει πως το IVT IFN-α mRNA μπορεί να μεταφερθεί με επιτυχία στο ανθρώπινο δέρμα με την χρήση του γονιδιακού όπλου. Τα αποτελέσματα αυτά ανοίγουν τον δρόμο για την θεραπεία καρκίνων του δέρματος όπως του NMSC, με την χρήση mRNA που κωδικοποιείται για την έκφραση IFN-α.

#### **4.4.2 Χρήση μικροβελόνων (Microneedles) για μεταφορά γονιδίων**

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί βελόνες μικρής κλίμακας, οι οποίες διαπερνάνε το δέρμα, και αυξάνουν την απορρόφηση διαφόρων φαρμάκων, στην περίπτωση μας και αντικαρκινικών. Αποτελούν εναλλακτική για τις υποδερμικές ενέσεις, και αποδείχθηκαν ασφαλείς για την χορήγηση φαρμάκων. (Simões et al., 2015)

Η χρήση των microneedles, είναι οικονομική, δεν προκαλεί πόνο στον ασθενή και είναι γενικότερα πιο φιλική ως προς τον ασθενή. Λόγω της ευκολίας που υπάρχει στην χρήση του, ο ασθενής μπορεί να χορηγήσει μόνος του την θεραπεία του με την χρήση των microneedles.

Χρησιμοποιούνται κυρίως για την διαδερμική μεταφορά διαφόρων φαρμάκων, ολιγονουκλεοτιδίων, πεπτιδίων, πρωτεϊνών, απενεργοποιημένων ιών και φυσικά και του DNA.



Όσο αφορά την γονιδιακή θεραπεία, υπάρχει χρήση των microneedles με siRNA. **Η συγκεκριμένη τεχνολογία μπορεί αποτελεσματικά να μεταφέρει νουκλεϊκά οξέα στο δέρμα για την θεραπεία γενετικών διαταραχών του δέρματος, καρκίνων και πληγών.** (W et al., 2016)

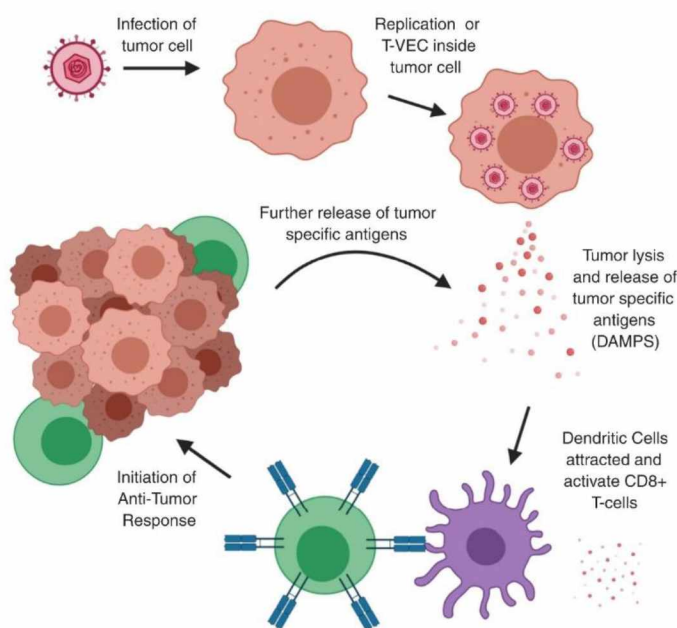
Παρόλο που η χρήση μικροβελόνων έχει χαρακτηριστεί ως αποτελεσματική για την πιθανή μεταφορά siRNA και άλλων νουκλεϊκών οξέων στο δέρμα, υπάρχουν αρκετά προβλήματα. Μεγάλο μειονέκτημα, αποτελεί το γεγονός, ότι για να υπάρξει η απαραίτητη έκφραση γονιδίων στο δέρμα χρειάζεται το δέρμα να τρυπιέται για μεγάλο διάστημα. Το συνεχόμενο τρύπημα του δέρματος από μια συσκευή microneedle, μπορεί να προκαλέσει ανεπιθύμητες βλάβες στο δέρμα. Δεύτερον, η διαδικασία παραγωγής κάποιων μικροβελόνων μπορεί να αποβεί μοιραία για πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα, λόγω των υψηλών θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή τους. Επιπλέον, το υλικό επένδυσης των microneedles, μπορεί να περιορίσει την διείσδυση στο δέρμα και την αποτελεσματικότητα της εναπόθεσης του φαρμάκου στην περιοχή στόχο. (W et al., 2016)

**Στο κομμάτι της θεραπείας του καρκίνου του δέρματος η χρήση των Micro Needles (MN) αποτελεί μια αποτελεσματική θεραπευτική προσέγγιση.** Η μεταφορά γονιδίων μέσω των MN, περιλαμβάνει νουκλεϊκά οξέα που περικλείονται σε διάφορα νανο-συστήματα. Διάφορα νουκλεϊκά οξέα όπως το **πλασμιδιακό DNA (pDNA), RNA μικρής παρεμβολής (siRNA) και ολιγονουκλεοτίδια** χρησιμοποιούνται για την προετοιμασία διαφόρων ειδών micro needles (MN) σε διάφορες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Μόλις τα νουκλεϊκά οξέα εγχυθούν στο δέρμα μέσω των MN, μπορούν να διαπεράσουν τον φραγμό της κεράτινης στοιβάδας και παράλληλα οι προστατευτικές στοιβάδες της εξωτερικής επιφάνειας των νουκλεϊκών οξέων διαλύονται, οδηγώντας στην απελευθέρωσή τους στον ιστό στόχο. Για παράδειγμα μικροβελόνες που έχουν επικαλυφθεί με το νάνο-σύμπλοκα του πεπτιδίου ocaarginine (R8), τα οποία περιέχουν το BRAF siRNA, για την στοχευμένη θεραπεία του μελανώματος. Οι μικροβελόνες επικαλυμμένες με R8/siBRAF, μπορούν αποτελεσματικά να ενισχύσουν την επιμόλυνση του R8/siBRAF και να αναστείλουν την ανάπτυξη του μελανώματος. Το γονίδιο BRAF κωδικοποιεί την πρωτεΐνη BRAF. Η αναστολή αυτή οδηγεί τελικά στην απόπτωση των καρκινικών κυττάρων και στην αναστολή του πολλαπλασιασμού τους. Εφόσον, τα πεπτίδια που είναι διαπερατά από τα κύτταρα, είναι ένας κατάλληλος στόχος της αναστολής, του

δερματικού μελανώματος, η ενδοδερμική μεταφορά του BRAF siRNA σε συνδυασμό με micro needles και R8 νανό-συμπλόκων, αποτελεί μια υποσχόμενη μέθοδο για την θεραπεία του μελανώματος. (Zhi et al., 2021)

#### 4.4.3 Γονιδιακή Θεραπεία Μελανώματος με ιικούς φορείς (viral vector): T-VEC

Η ιοθεραπεία ως μέθοδος χρησιμοποιεί την βιοτεχνολογία για την μετατροπή διαφόρων ιών σε θεραπευτικούς φορείς μέσω το επαναπρογραμματισμού τους. Η χρήση των ογκολυτικών ιών είναι αρκετά ασφαλείς, και μπορούν να τροποποιηθούν εύκολα γενετικά με σκοπό την καταπολέμηση του καρκίνου. Επιπλέον μπορούν εύκολα να συνδυαστούν με ανοσοθεραπείες, χημειοθεραπείες, στοχευμένες θεραπείες και ακτινοθεραπείας .



Εικόνα 17: Μηχανισμός δράσης T-VEC, Πηγή: [https://www.jaad.org/article/S0190-9622\(20\)30123-7/fulltext](https://www.jaad.org/article/S0190-9622(20)30123-7/fulltext)

(Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)

Στο T-VEC, η αφαίρεση και των δυο αντιγράφων του ICP34.5 γονιδίου, αποτρέπει τον πολλαπλασιασμό του ιού στους νευρώνες, ωστόσο δεν επηρεάζει τον πολλαπλασιασμό του σε άλλα κύτταρα. Η αφαίρεση αυτή οδηγεί σε μειωμένη παθογένεια και προάγει την επιλεκτική αντιγραφή στα καρκινικά κύτταρα, διότι το ICP34.5 γονίδιο αλληλοεπιδρά με την πρωτεϊνική κινάση R (PKR) του κυττάρου ξενιστή, και μπλοκάρει την σύνθεση των πρωτεϊνών του ιού,

Παράδειγμα για την θεραπεία μελανωμάτων σε προχωρημένη μορφή, αποτελεί ο ογκολυτικός ιός, **Talimogene laherparepvec (T-VEC)**. Ο T-VEC είναι ένας ερπητοϊός HSV-1 ο οποίος τροποποιήθηκε για να εκφράζει τον παράγοντα διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων GM-CSF. Εμπορικά το εγκεκριμένο φάρμακο είναι γνωστό ως Imlygic, και είναι η πρώτη ογκολυτική θεραπεία που εγκρίθηκε από το Αμερικάνικο FDA. (PK et al.,

λόγω της δυνατότητας του PKR να επάγει την κυτταρική απόπτωση μετά από ιογενή λοίμωξη. Επιπλέον το T-VEC περιέχει και μια διαγραφή του γονιδίου ICP47, κάτι που επιτρέπει στα ιικά αντιγονικά και ογκοσυσχετιζόμενα πεπτίδια, την πρόσβαση στα MHC κατηγορίας I σύμπλοκα, που προάγουν την ανοσοαπόκριση και την ιική ανοσογονικότητα του ξενιστή.(PK et al., 2017)

Η πρώτη επίδραση της γενετικής αυτής θεραπείας είναι ογκολυτική και περιλαμβάνει την επιμόλυνση και θανάτωση των καρκινικών κυττάρων, τοπικά στο σημείο της ένεσης. Δεύτερον, προκαλεί ανοσοθεραπευτική απάντηση, μέσω της επαγωγής τοπικών και συστημικών ανοσοαποκρίσεων.(Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)

Το TVEC οδηγεί στην λύση και απελευθέρωση διαλυτών ογκοσυσχετιζόμενων αντιγόνων και ιικών παθογόνων μέσω πολλαπλασιάζεται στα καρκινικά κύτταρα μέσω του πολλαπλασιασμού του στα καρκινικά κύτταρα. Η τοπική έκφραση του GM-CSF, προκαλεί την μεταφορά και ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων, γεγονός που οδηγεί στην πέψη των διαλυτών αντιγόνων όγκου και αποπτωτικών καρκινικών κυττάρων. Τα δενδριτικά κύτταρα μεταφέρονται στους πλησιέστερους λεμφαδένες, όπου τα αντιγόνα ξεκινάνε μια συστημική ανοσοαπόκριση, στα CD4+ βοηθητικά και CD8+ κυτταροτοξικά T-κύτταρα.(Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)

Γενικότερα, η τοπική επιμόλυνση των καρκινικών κυττάρων με το TVEC, οδηγεί στην απελευθέρωση διαφόρων πρωτεϊνών όπως ιντερφερόνων, χημοκινών, DAMP και PAMP.(Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)

#### **4.4.4 Γονιδιακή Θεραπεία Μελανώματος με ιικούς φορείς (viral vectors):Ρετροϊοί/Λεντιοί**

Οι δύο αυτές κατηγορίες ιών, ανήκουν στους ssRNA ιούς, και παρέχουν μακροχρόνια διαγονιδιακή έκφραση στο γονιδίωμα του ξενιστή. Χρησιμοποιούνται συχνά στην γονιδιακή θεραπεία για την θεραπεία διαφόρων ειδών καρκίνου( πάγκρεας, έντερο, συκώτι). Παρά την ευρεία χρήση τους, οι ρετροϊοί (retroviruses) έχουν ένα σημαντικό μειονέκτημα, χρειάζονται την κυτταρική διαίρεση για την μεταγωγή και ενσωμάτωση του γενετικού υλικού. Από την

άλλη πλευρά, αυτή η προϋπόθεση της κυτταρικής διαίρεση , δεν ισχύει για τους λεντιούς (lentiviruses). (Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)

Σε προκλινικές μελέτες με ρετροϊούς που έχουν πραγματοποιηθεί, ελάχιστες από αυτές αφορούν την χρήση τους για την θεραπεία του καρκίνου. Ένα παράδειγμα αποτελεί, ένας ανασυνδυασμένος ρετροϊός, προγραμματισμένος για την έκφραση του **παράγοντα διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων (GM-CSF)** και της **Ιντερλευκίνης 4 (IL-4)**, βρέθηκε σε μεγάλη συγκέντρωση σε καλλιεργημένα κύτταρα γλοιώματος. Πιο συγκεκριμένα η διάρκεια παρουσίας του ανασυνδυασμένου ρετροϊού για 14 μέρες στο γλοιώμα, δίνει ελπίδες σε μια μελλοντική προσέγγιση στον τομέα της ανοσοθεραπείας. Τα τελευταία χρόνια στον τομέα της γονιδιακής θεραπείας σταδιακά οι λεντιοί αρχίζουν να αντικαθιστούν τους ρετροϊούς. Για παράδειγμα υπάρχει λεντιός που τροποποιήθηκε για την έκφραση του EGFP γονιδίου αναφοράς, έδειξε μακροχρόνια έκφραση στις DU145 και PC3 προστατικές κυτταρικές γραμμές. (Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)

Όσον αφορά το κομμάτι της θεραπείας του μελανώματος, ένας λεντιός, που εκφράζει το VP22-CD/5-FC σύστημα γονιδιακής αυτοκτονίας, παρουσίασε άριστη αντικαρκινική δράση, σε μοντέλα μελανωμάτων ματιού σε τρωκτικά.(L. S et al., 2018)

Σε μια άλλη μελέτη, ένας λεντιός ( φορέας) ανασυνδυάστηκε για να εκφράζει RNAi αλληλουχίες, που στοχεύουν το MAT2B γονίδιο που είναι η ρυθμιστική υπομονάδα του ενζύμου της συνθετάσης S-αδενοσυλομεθειονίνης οδήγησε σε αισιόδοξα αποτελέσματα. Αυτά περιλαμβάνουν, την κατεσταλμένη ανάπτυξη και σχηματισμό αποικιών καρκινικών κυττάρων, , πρόκληση απόπτωσης στις κυτταρικές γραμμές μελανωμάτων A375 και Mel-RM . Επιπλέον επηρέασε την ανάπτυξη όγκων σε μοντέλα xenograft in-vivo.(Hromic-Jahjefendic & Lundstrom, 2020)(L. Y et al., 2016). Αναλύθηκε με την μέθοδο Western Blot και η έκφραση της BCL2 και XAF1, οι οποίες σχετίζονται με την απόπτωση τα καρκινικά κύτταρα.

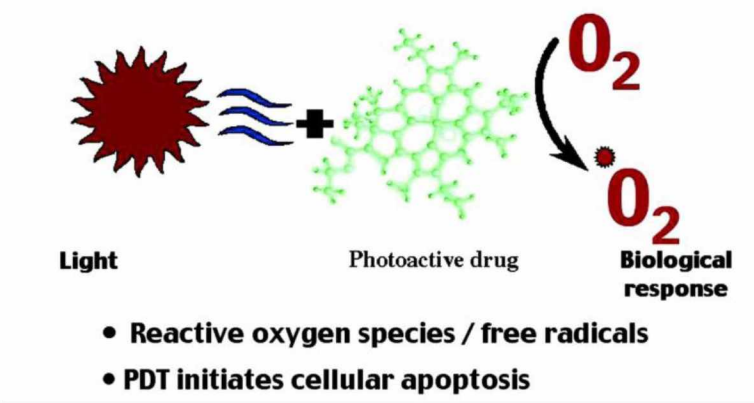
#### 4.5 Φωτοδυναμική Θεραπεία

Η **φωτοδυναμική θεραπεία (PDT-Photodynamic Therapy)**, είναι μια μη επεμβατική μορφή θεραπείας η οποία χρησιμοποιείται για την θεραπεία διαφόρων ειδών καρκίνων, συμπεριλαμβανόμενου και του δερματικού. Στην PDT θεραπεία χρησιμοποιείται το ορατό φως για να σκοτώσει κύτταρα που είναι εμπλουτισμένα με ένα μικρό ειδικό μόριο. Αυτό το μόριο είναι ένας φωτοευαισθητοποιητής (photosensitizer) που γίνεται τοξικός για τα καρκινικά

κύτταρα , όταν διεγερθεί από το ορατό φως. Πιο συγκεκριμένα αφού απορροφήσει το φως ο φωτοευαισθητοποιητής, παράγει ROS, τα οποία οδηγούν τον καρκινικό ιστό στην καταστροφή μέσω των μηχανισμών της απόπτωσης, νέκρωσης, αυτοφαγίας αλλά και ανοσολογική απάντησης. Οι φωτοκυτταροτοξικές αντιδράσεις γίνονται μόνο στους παθολογικούς ιστούς, κάτι που επιτρέπει την επιλεκτική καταστροφή των μη φυσιολογικών καρκινικών κυττάρων. Η λειτουργία αυτού του ROS βασιζόμενου μηχανισμού καταστροφής, μοιάζει αρκετά με κάποια χημικοθεραπευτικά φάρμακα ( bleomycin). (K. S et al., 2018). Το φάρμακο bleomycin, προκαλεί κυτταρική τοξικότητα μέσω της παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και μέσω της άμεσης οξειδωτικής βλάβης. (Allawzi et al., 2019)

Μεγάλο πλεονέκτημα της συγκεκριμένης θεραπείας αποτελεί το γεγονός ότι τα πρωτόκολλα της δεν είναι επίπονα για τους ασθενείς λόγω της απλότητας και της επιλεκτικότητας της. Ο μοριακός μηχανισμός της φωτοδυναμικής θεραπείας βασίζεται σε τρία μη τοξικά συστατικά, τα οποία παράγουν τα επιθυμητά αποτελέσματα στους παθολογικούς ιστούς μόνο όταν αλληλοεπιδράσουν μεταξύ του 1) Φωτοευαισθητοποιητή 2) Φωτός με το κατάλληλο μήκος κύματος 3) Διαλυμένο οξυγόνο στα κύτταρα. (K. S et al., 2018)

### Mechanism of Photodynamic Therapy



Εικόνα18:Μηχανισμός της Φωτοδυναμικής Θεραπείας.

Πηγή: Πηγή: <https://blogs.dickinson.edu/writingsciencenewssp14/2014/05/12/1438/>

#### 4.5.1 Το πλεονέκτημα της επιλεκτικότητας των Φωτοευαισθητοποιητών.

Οι φωτοκυτταροτοξικές αντιδράσεις λαμβάνουν μέρος μόνο μέσα στους παθολογικού ιστούς στην περιοχή που έχει κατανεμηθεί ο φωτοευαισθητοποιητής, επιτρέποντας έτσι την επιλεκτική καταστροφή κυττάρων. Οι φωτοευαισθητοποιητές συσσωρεύονται σε υψηλότερες συγκεντρώσεις στα καρκινικά κύτταρα παρά στα κανονικά κύτταρα, κάτι που οφείλεται στην

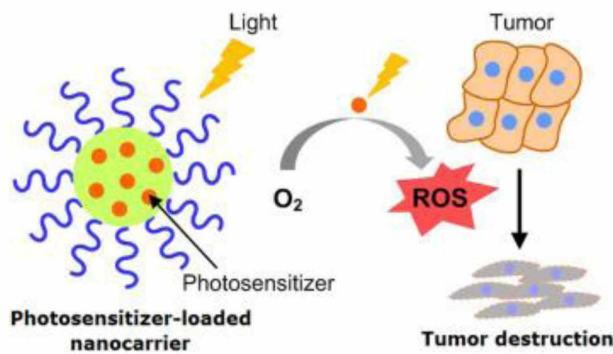
τάση των φωτοευαισθητοποιητών να προτιμούνε περιοχές με χαμηλή συγκέντρωση λιποπρωτεϊνών (LDL). Τα διαιρούμενα καρκινικά κύτταρα αλλά και ιστοί με αυξημένη μειωτική δραστηριότητα, παρουσιάζουν μεγάλες ποσότητες LDL λιποπρωτεϊνών. Η φωτοδυναμική θεραπεία επηρεάζει το αγγειακό σύστημα των όγκων και ενεργοποιεί το ανοσοποιητικό μηχανισμό. Η διαδικασία της καταστροφής των καρκινικών κυττάρων συνδυάζεται με την ενεργοποίηση των μηχανισμών πήξης και της τοπικής συσσώρευσης των φλεγμονωδών κυττάρων. Ακόμα και τα κύτταρα που δραπετεύουν από τις άμεσες επιπτώσεις της φωτοδυναμικής θεραπείας, καταστρέφονται από την έμμεση επίδραση της στα αιμοφόρα αγγεία του όγκου. Τα ROS, επιφέρουν βλάβες στο αγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα, μέσω της ενεργοποίησης των πηκτικών μηχανισμών, συσσώρευσης αιμοπεταλίων και απόφραξης των αγγείων (θρόμβοι). Το αποτέλεσμα της αγγειακής αυτής απόφραξης των καρκινικών κυττάρων οδηγεί τα καρκινικά κύτταρα σε θάνατο μέσω της συνεχόμενης υποξίας που προκαλείται. (K. S et al., 2018)

#### **4.5.2 Παραλλαγές της Φωτοδυναμικής Θεραπείας: Χρήση Νανοτεχνολογίας και Λιποσωμάτων/Λιποπρωτεϊνών**

Την τελευταία δεκαετία, υπάρχει ραγδαία άνοδος και εξέλιξη του τομέα της νανοιατρικής και νανοτεχνολογίας γενικότερα. Ο τομέας της Νανοιατρικής χρησιμοποιεί διάφορα νανοϋλικά σε διαγνωστικές και θεραπευτικές μεθόδους. Η χρήση των νανοϋλικών επιτρέπει της ακριβής μεταφορά φαρμακευτικών ουσιών σε ιστούς στόχους όπως καρκινικοί ιστοί στην αντικαρκινική θεραπεία. Ο συνδυασμός φωτοευαισθητοποιητών με νανοϋλικά οδηγεί στην αύξηση της αποτελεσματικότητας της Φωτοδυναμικής θεραπεία αλλά και στην μείωση των παρενεργειών της PDT. Λόγω της νανοτεχνολογίας, η στοχοποίηση διαφόρων υποδοχέων και στόχων γίνεται με μεγαλύτερη ακρίβεια, άρα υπάρχει και αύξηση της επιλεκτικότητας της φωτοδυναμικής θεραπείας. (K. S et al., 2018)

Οι περισσότεροι φωτοευαισθητοποιητές είναι υδρόφοβοι και συγκεντρώνονται στο υδατικό περιβάλλον. Για να παραμείνουν φωτοενεργοί, οι φωτοευαισθητοποιητές πρέπει να παραμείνουν στην μονομερή μορφή τους. Η παραμονή τους σε αυτήν την μορφή επιτυγχάνεται με την χρήση νανοσωματιδίων. Η χρήση των πολυμερών νανοσωματιδίων επιτρέπει την στοχευμένη μεταφορά περισσότερων φωτοευαισθητοποιητών στην κακοήθους περιοχή. Εκτός από την μεταφορά, υπάρχει μείωση της φθοράς του φωτοευαισθητοποιητή πριν φτάσει στον

καρκινικό ιστό. Πρόσφατο παράδειγμα αποτελούν οι φωτοευαισθητοποιητές νέας γενιάς όπως PUNP ( Photon Upconverting Nanoparticles). Η συγκεκριμένη κατηγορία , αποτελείται από φωτοευαίσθητα συστατικά και νανοσωματίδια, των οποίων ο πυρήνας επιτρέπει της μετατροπή ενέργειας που εκλύεται από τα πρωτόνια.(K. S et al., 2018)



Εικόνα 19: Η ογκοσταλτική δράση ενός νανο-φορέας που περιέχει φωτοευαισθητοποιητή. Πηγή: [https://www.researchgate.net/figure/Schematic-illustration-of-the-photodynamic-therapy-30\\_fig2\\_346520182](https://www.researchgate.net/figure/Schematic-illustration-of-the-photodynamic-therapy-30_fig2_346520182)

Επιπρόσθετα, η χρήση των λιποσωμάτων δείχνει ελπιδοφόρα σημάδια στην αύξηση της στοχευμένης μεταφοράς φωτοευαισθητοποιητών στους καρκινικούς ιστούς. Σύμφωνα με πειραματικές και κλινικές μελέτες έχει επιβεβαιωθεί ο ρόλος των λιποσωμικών μεταφορέων ως αποτελεσματικό μεταφορικό μέσο στην PDT

θεραπεία. Λόγω της μεγάλης παρουσίας υποδοχέων LDL πάνω στην επιφάνεια καρκινικών κυττάρων, είναι ωφέλιμο να υπάρχει και συνδυασμός φωτοευαισθητοποιητών με LDL. Οι λιποπρωτεΐνες παίζουν μεγάλο ρόλο στην μεταφορά και απελευθέρωση των μορίων φωτοευαισθητοποιητών στα καρκινικά κύτταρα.(K. S et al., 2018)

#### 4.6 Χρήση DNA επιδιορθωτικών ενζύμων

Η χρήση των αντηλιακών για την προστασία του δέρματος από την UV ακτινοβολία υπάρχει εδώ και πολλά χρόνια ως προστατευτικό μέσω έναντι φωτογήρανσης αλλά και καρκίνων του δέρματος. Παρόλα αυτά, τα αντηλιακά, δεν έχουν την δυνατότητα να επιδιορθώσουν ήδη υπάρχουσες βλάβες που έχουν προκληθεί από την έκθεση στον ήλιο. Η ενεργή φωτοπροστασία μπορεί να επιτευχθεί με την χρήση αντηλιακών που έχουν εμπλουτιστεί με DNA επιδιορθωτικά ένζυμα. Η χρήση των ενισχυμένων αυτών αντηλιακών θα παρέχει ταυτόχρονα και την δυνατότητα της επιδιόρθωσης εκτός από αυτή της πρόληψης. Τα πιο γνωστά επιδιορθωτικά ένζυμα είναι η Φωτολυάση και η T4 ενδονουκλεάση V.(H et al., 2020)

#### 4.6.1 Φωτολύση ( Photolyase)

Η φωτολύση ανήκει στα φλαβοένζυμα που περιέχουν το οξειδοαναγωγικό συνένζυμο δινουκλεοτίδιο φλαβίνης αδενίνης (FAD) , το οποίο συμμετέχει με διάφορες ενζυματικές αντιδράσεις στον μεταβολισμό και δρά ως καταλυτικός συμπαράγοντας **που επιδιορθώνει UV βλάβες όπως τα CPDs και τα 6-4PPs.**(H et al., 2020) Οι φωτολύσες υπάρχουν στα βακτήρια, φυτά και σε ζώα που εκτείνονται έντονα σε UV ακτινοβολία. (DG & HW, 2019). Υπάρχουν δυο είδη φωτολυασών , η CPD φωτολύσες και η 6-4 φωτολύσες, που στοχεύουν τα δυο αντίστοιχα είδη UV προκαλούμενων βλαβών. Οι φωτολύσες έχουν την ικανότητα να αναγνωρίζουν τα διμερή θυμίνης που έχουν υποστεί φθορά, μέσω της άμεσης απορρόφησης του μπλε φωτός μέσω του δινουκλεοτιδίου φλαβίνης αδενίνης(FAD) ή μέσω της μεταφοράς ενέργεια από ένα διεγερμένο δεύτερο χρωμοφόρο. (H et al., 2020). Το δεύτερο χρωμοφόρο ( Pterin ή Deazaflavin) υπάρχει σε πολλές φωτολύσες και λειτουργεί ως μια ‘κεραία’ που συλλέγει το φως και μεταφέρει την ενέργεια διέγερσης στον καταλυτικό συμπαράγοντα FAD.(Yamamoto et al., 2017)

Τα δινουκλεοτίδια φλαβίνης αδενίνης FAD στις φωτολύσες μπορούν να βρεθούν σε τρεις οξειδοαναγωγικές καταστάσεις, FADox, FADH, FADH-. Από αυτές η, η FADH- απορροφάει το 350-500nm φάσμα φωτός και αποτελεί την κατάσταση που συμμετέχει στην ενεργή επιδιόρθωση βλαβών.(Yamamoto et al., 2017)

Η εφαρμογή της φωτολύσης έχει συσχετιστεί και με την μείωση των MMP-1 στο δέρμα. Όπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο η υπερέκφραση των MMP-1 ,προκαλεί της καταστροφή του κολλαγόνου, ένα συστατικό που παίζει σημαντικό ρόλο στην φωτογήρανση. Επιπλέον η Φωτολύση βοηθάει την διαδικασία της ενδοκυτταρικής αναγέννησης που αναστέλλει την απόπτωση που προκαλείται από UV ακτινοβολία και μειώνει την δερματική φλεγμονή που προκαλείται από την έκθεση στον ήλιο μέσω της αναστολής της ιντερλευκίνης 6 ( IL-6).(H et al., 2020)

Οι CPD βλάβες είναι αρκετά μεταλλιοξογόνες σε σχέση με τις 6-4PPs ή άλλες κατηγορίες βλαβών αλλά και υπεύθυνες για την πλειοψηφία των μεταλλάξεων που προκαλούνται από την UV ακτινοβολία. Λόγω της υψηλής αυτής μεταλλιοξένεσης, προτιμάται η στόχευση των περισσότερων ερευνών στην μελέτη της CPD Φωτολύσης ως επιδιορθωτικού ενζύμου. In Vitro και in Vivo έρευνες έχουν δείξει τις ευεργετικές δυνατότητες της φωτολύσης κατά των



φωτοβλαβών. Συνήθως η εισαγωγή της φωτολυάσης στα αντηλιακά γίνεται μέσω της ενθυλάκωσης της σε λιποσώματα, εξαιτίας της διευκόλυνσης της μεταφοράς τους στην επιδερμίδα. Κλινικές δοκιμές από το 2010 έως το 2011 έδειξαν πως η προσθήκη της CPD φωτολυάσης στα κοινά αντηλιακά, οδήγησε στην μείωση των UV βλαβών και απόπτωσης, όταν αυτά εφαρμόστηκαν τοπικά στο ανθρώπινο δέρμα. Η μείωση των CPDs κυμάνθηκε γύρω στο 40-45%, ποσοστό που δείχνει την ενεργητική επιδιορθωτική ικανότητα της φωτολυάσης. Είναι άξιο αναφοράς, πως σε όλες αυτές τις μελέτες αφορούσαν την καρκινογένεση, υπήρχε μικρός αριθμός συμμετεχόντων χωρίς ομάδα ελέγχου (control group), γεγονός που απαιτεί παραπάνω μελέτες σε μεγαλύτερη κλίμακα. Η CPD φωτολυάση απομονώνεται από το κυανοβακτήριο *Anacystis Nidulans* και δεν υπάρχει στους ανθρώπους. (MT et al., 2019)

#### **4.6.2 T4 Endonuclease V**

Η T4 ενδονουκλεάση V είναι ένα έζνυμο, το οποίο αρχικά απομονώθηκε από ένα βακτήριο *E. Coli* που μολύνθηκε με ένα T4 Βακτηριοφάγο. Επάγει την DNA επιδιόρθωση στην περιοχή που υπάρχουν CPD, που δημιουργήθηκαν από UV. Τέτοιες βλάβες αν δεν επιδιορθωθούν, προκαλούν μεταλλάξεις που οδηγούν στα μη μελανωματικά είδη καρκίνων του δέρματος. Η T4 ενδονουκλεάση όταν ανιχνεύσει UV επαγόμενες DNA βλάβες, χρησιμοποιεί συνδυαστικά δυο χημικούς μηχανισμούς. (H et al., 2020) Ο πρώτος μηχανισμός βασίζεται στην γλυκοζυλάση, η οποία απελευθερώνει θυμίνη και δημιουργεί αβασικές περιοχές (AP sites). Ο δεύτερος μηχανισμός χρησιμοποιεί την AP λυάση, η οποία κόβει τους φωσφοδιεστερικούς δεσμούς στην περιοχή που λείπει η βάση, προκαλώντας έτσι θραύσεις μονής έλικας. (DB et al., 2019). Η επισκευή του DNA που έχει υποστεί βλάβη από την UV ακτινοβολία, επιτυγχάνεται μέσω της παροχής από κύτταρο ξενιστή (host cell) της εξωνουκλεάσης η οποία αφαιρεί στην συνέχεια την βάση γύρω από αυτήν την περιοχή, και η πολυμέραση γεμίζει το κενό. (DB et al., 2019)

Κλινικά η T4 ενδονουκλεάση V έχει εφαρμοστεί σε έρευνες με ασθενείς που πάσχουν από *Xeroderma Pigmentosum*, και έχουν μεγάλες πιθανότητες εμφάνισης καρκίνων του δέρματος. Σε όλες τις έρευνες μέχρι στιγμής υπήρξε σημαντική μείωση στον αριθμό των CPDs. (DB et al., 2019)

Σε μια έρευνα όπου χρησιμοποιήθηκε η T4 Ενδονουκλεάση σε ασθενείς με την γενετική διαταραχή XP, υπήρξε μείωση του αριθμού των CPDs κατά 20%, κάτι που φάνηκε μέσω βιοψιών του δέρματος.(Y. D et al., 1996)

Με την χρήση της T4 ενδονουκλεάσης V, ο φυσικός μηχανισμός επιδιόρθωσης DNA βλαβών ενισχύεται τετραπλάσια.(H et al., 2020). Επιπλέον, το ένζυμο μέσω της δερματικής αναγέννησης, δερματικής επανόρθωσης και αποτροπή της καταστροφής της εξωκυττάριας μήτρας που προκαλεί, συνεισφέρει στην πρόληψη της φωτογήρανσης.(H et al., 2020)

#### **4.6.3 Χρήση Λιποσωμάτων ως μέσα μεταφοράς DNA επιδιορθωτικών ενζύμων**

Ως μέσο μεταφοράς για τις φωτολυσίες χρησιμοποιούνται όπως αναφέρθηκε παραπάνω τα λιποσώματα τα οποία και λειτουργούν ως “οχήματα μεταφοράς” για διάφορες ουσίες, επομένως μεταφέρουν με αποτελεσματικό τρόπο και τα DNA επιδιορθωτικά ένζυμα. Τα λιποσώματα είναι διάφορα σε μέγεθος και η απορρόφησή τους εξαρτάται από το μέγεθος τους. Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο τα λιποσώματα διαπερνάνε την κεράτινη στιβάδα φτάνουν σε βαθύτερα στρώματα της επιδερμίδας παραμένει άγνωστος. Όσο αφορά για τα επιδιορθωτικά ένζυμα που ενθυλακώνονται μέσα στα λιποσώματα, δημιουργούνται ερωτήματα τι ποσοστό αυτών των ενζύμων φτάνουν στον ζωντανό ιστό. Τα ερωτήματα αυτά δεν αναιρούν ωστόσο τα αποτελέσματα διάφορων κλινικών ερευνών που δείχνουν την μείωση των DNA βλαβών σε αρκετές ερευνητικές ομάδες ατόμων.(DB et al., 2019).

#### **4.6.4 Σύγκριση απλών αντηλιακών προϊόντων με αντηλιακά εμπλουτισμένα με DNA επιδιορθωτικά ένζυμα.**

Πρόσφατες μελέτες σχετικά με την ακτινοβολία, έδειξαν πως η προσθήκη ενός DNA επιδιορθωτικού ενζύμου ( CPD Φωτολυάση ή T4 Endonuclease V) σε ένα κοινό αντηλιακό, μπορεί να μειώσει τις μοριακές βλάβες που προκύπτουν από την UV ακτινοβολία σε μεγαλύτερο βαθμό από ένα απλό αντηλιακό.(DB et al., 2019) Σε έρευνα που περιλάμβανε 28 ασθενείς, εφαρμόστηκε για διάρκεια 6 μηνών, ένα απλό αντηλιακό και ένα αντηλιακό με DNA Repair Enzymes. Υπήρξε μείωση των CPDs κατά 61% σε ασθενείς που χρησιμοποίησαν αντηλιακά εμπλουτισμένα με DNA επιδιορθωτικά ένζυμα, ενώ σε ασθενείς που εφαρμογή απλών αντηλιακών κατά 35%.(Mauro Carducci, Paolo Sergio Pavone, Giuseppe De Marco, Silvia Lovati, Velimir Altabas, Karmela Altabas, 2015)

Σε μια έρευνα που αφορά την επίδραση των DNA επιδιορθωτικών ενζύμων στην φωτογήρανση, φάνηκε πως ο συνδυασμός των τοπικών αντιοξειδωτικών και της CPD Φωτολύασης, οδήγησε στην μεγαλύτερη μείωση των CPDs και πρωτεϊνικών βλαβών που προκλήθηκαν από τις ελεύθερες ρίζες. Οι συγγραφείς της μελέτης καταλήγουν πως τα αντηλιακά που περιέχουν αντιοξειδωτικά και φωτολύαση είναι πιο αποτελεσματικά στην μείωση της φωτογήρανσης σε σχέση με τα κοινά αντηλιακά. (H et al., 2020)

## Συμπεράσματα

Η UV συσχετιζόμενη δερματική καρκινογένεση είναι μια πολύπλοκη βιολογική διεργασία, η οποία προκαλείται από διάφορα μήκη κύματος της UV ακτινοβολίας. Η UVB ακτινοβολία όπως αναφέρθηκε απορροφάται άμεσα από το DNA, και προκαλεί DNA βλάβες και αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση. Οι βλάβες αυτές είναι τα **διμερή κυκλοβουτανίου (CPD)** και οι **6-4 ενώσεις πουρίνης πυριμιδίνης**. Έχει αποδειχθεί πως τα διμερή κυκλοβουτανίου είναι **εξαιρετικά μεταλλιοζόγωνα** σε σχέση με τα 6-4 PP.

Από την άλλη η UVA ακτινοβολία οδηγεί στον σχηματισμό των **δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS)**, οι οποίες προκαλούν δευτερεύουσες βλάβες στο DNA, οι οποίες σε μεγάλο χρονικό διάστημα, συσσωρεύονται και οδηγούν τελικά στον καρκίνο του δέρματος. Αν και τα κύτταρα έχουν μηχανισμούς επιδιόρθωσης των DNA βλαβών (**NER**), κάποιες φορές η **επιδιόρθωση λειτουργεί ελλειπτικά λόγω διαφόρων μεταλλάξεων**. Επιπρόσθετα η UV ακτινοβολία προκαλεί μεταλλάξεις στο **ογκοσταλτικό γονίδιο p53**, το οποίο είναι και υπεύθυνο για την έναρξη της διαδικασίας του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (απόπτωση). Οι τωρινοί μέθοδοι που επιλέγονται για την θεραπεία του καρκίνου του δέρματος, είναι η κρυοθεραπεία, η τοπική χημειοθεραπεία, φωτοδυναμική θεραπεία και η χειρουργική αφαίρεση. Γενικότερα όμως ως πιο αποτελεσματική μέθοδος θεωρείται η χειρουργική αφαίρεση. Το μέλλον της θεραπείας του καρκίνου του δέρματος βρίσκεται στην γονιδιακή θεραπεία. Πλέον υπάρχουν, εργαλεία με τα οποία μπορεί να εκφραστεί ένα ογκοσταλτικό γονίδιο ή να αποσιωπηθεί κάποιο ογκογονίδιο. Ιδιαίτερα, με την χρήση μέσων μεταφοράς όπως το γονιδιακό όπλο ή ιικών φορέων (viral vectors) αυξάνεται η αποτελεσματικότητά της μεταφοράς των επιθυμητών θεραπευτικών μέσων (αντικαρκινικά φάρμακα, νουκλεϊκά οξέα, siRNAs) στα καρκινικά κύτταρα-στόχος. Χρειάζονται παραπάνω κλινικές δοκιμές, προκειμένου αυτές οι μέθοδοι να βελτιστοποιηθούν με στόχο την αύξηση της

αποτελεσματικότητας τους και την μείωση πιθανών μη επιθυμητών παρενεργειών. Η γονιδιακή θεραπεία μπορεί να χρησιμοποιηθεί συνδυαστικά με τις υπάρχουσες θεραπευτικές μεθόδους, για ένα καλύτερο αποτέλεσμα.

Επιπλέον η χρήση των **DNA επιδιορθωτικών ενζύμων** που δεν υπάρχουν στον άνθρωπο, αλλά σε διάφορα βακτήρια και φυτά, μπορούν να βοηθήσουν **στην μείωση των φωτοχημικών βλαβών που επάγονται από την UV ακτινοβολία**, μέσω τη αύξησης της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων αλλά και την **μείωση των CPDs και 6-PPs**. Μια αποτελεσματική χρήση των ενζύμων αυτών αποτελεί η ενσωμάτωσή τους σε αντηλιακές κρέμες, επομένως η χρήση του μπορεί να είναι προληπτική για τις φωτοχημικές DNA βλάβες που ευθύνονται για τον καρκίνο του δέρματος και για την φωτογήρανση. Προφανώς, η χρήση των επιδιορθωτικών ενζύμων δεν περιορίζεται μόνο στην χρήση τους συνδυαστικά με αντηλιακά, μελλοντικά θα μπορούσαν να βρεθούν τρόποι με την βοήθεια της γενετικής μηχανικής, με τους οποίους η DNA Φωτολύαση, να μπορούσε να εισαχθεί ή να παραχθεί στον άνθρωπο.

Εκτός όμως από την χρήση της γονιδιακής θεραπείας, ο τομέας της Γενετικής, μπορεί να βοηθήσει στην χαρτογράφηση και ανακάλυψη νέων γονιδίων που συμμετέχουν στην διαδικασία της καρκινογένεσης από την UV ακτινοβολία. Ειδικότερα , η χρήση τη τεχνολογίας της Αλληλούχισης Νέας Γενιάς ( Next Generation Sequencing), έχει μειώσει αρκετά τον χρόνο που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί μια πλήρης αλληλούχιση γονιδίων. Επομένως, ανοίγει ο δρόμος για την ανακάλυψη καινούριων γονιδίων στόχων, για την θεραπεία του καρκίνου του δέρματος. Αν και η καρκινογένεση είναι μια πολύπλοκη βιολογική διαδικασία η οποία ακόμη και τώρα , δυσκολεύει την επιστημονική κοινότητα, η ανακάλυψη γονιδίων που θα μπορούσαν να αποσιωπηθούν μέσω της γονιδιακής θεραπείας, μπορεί να παίζει κρίσιμο ρόλο στην αύξηση του προσδόκιμου ζωής ενός ασθενή. Στόχος πρέπει να αποτελέσουν γονίδια που συμβάλλουν στον πολλαπλασιασμό , επιβίωση και μετάσταση των καρκινικών κυττάρων.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Albakova, Z., Siam, M. K. S., Sacitharan, P. K., Ziganshin, R. H., Ryazantsev, D. Y., & Sapozhnikov, A. M. (2021). Extracellular heat shock proteins and cancer: New perspectives. *Translational Oncology*, *14*(2), 100995. <https://doi.org/10.1016/J.TRANON.2020.100995>
- Allawzi, A., Elajaili, H., Redente, E. F., & Nozik-Grayck, E. (2019). Oxidative Toxicology of Bleomycin: Role of the Extracellular Redox Environment. *Current Opinion in Toxicology*, *13*, 68. <https://doi.org/10.1016/J.COTOX.2018.08.001>
- Banaś, A. K., Zgłobicki, P., Kowalska, E., Bażant, A., Dziga, D., & Strzałka, W. (2020a). All you need is light. Photorepair of uv-induced pyrimidine dimers. In *Genes* (Vol. 11, Issue 11, pp. 1–17). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/genes11111304>
- Banaś, A. K., Zgłobicki, P., Kowalska, E., Bażant, A., Dziga, D., & Strzałka, W. (2020b). All You Need Is Light. Photorepair of UV-Induced Pyrimidine Dimers. *Genes*, *11*(11), 1–17. <https://doi.org/10.3390/GENES11111304>
- Bastian, A., Nichita, L., & Zurac, S. (2017). Matrix Metalloproteinases in Melanoma with and without Regression. *The Role of Matrix Metalloproteinase in Human Body Pathologies*. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.72931>
- Blackford, A. N., & Jackson, S. P. (2017). ATM, ATR, and DNA-PK: The Trinity at the Heart of the DNA Damage Response. *Molecular Cell*, *66*(6), 801–817. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2017.05.015>
- D'Arcy, M. S. (2019). Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biology International*, *43*(6), 582–592. <https://doi.org/10.1002/CBIN.11137>
- D, M., S, C., P, K., V, V., K, D., D, T., K, C., SK, M., & D, S. (2017). Ultraviolet Radiations: Skin Defense-Damage Mechanism. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *996*, 71–87. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_7)
- D, Y., J, K., J, K., L, A., A, O., B, C., D, G., D, G., BA, G., M, I., M, O., M, U., V, F., C, C., CS, P., CM, P., AR, Y., & JL, H. (1996). Enzyme therapy of xeroderma pigmentosum: safety and efficacy testing of T4N5 liposome lotion containing a prokaryotic DNA repair enzyme. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, *12*(3), 122–130. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0781.1996.TB00188.X>

- DB, Y., A, R., & R, M. (2019). Six critical questions for DNA repair enzymes in skincare products: a review in dialog. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 12, 617–624. <https://doi.org/10.2147/CCID.S220741>
- DG, Y., & HW, L. (2019). What's New in Photoprotection: A Review of New Concepts and Controversies. *Dermatologic Clinics*, 37(2), 149–157. <https://doi.org/10.1016/J.DET.2018.11.003>
- F, L.-S., J, J., & Y, Z. (2017). UV-Induced Molecular Signaling Differences in Melanoma and Non-melanoma Skin Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 996, 27–40. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_3)
- F, S. (2020). Photoprotection and Skin Pigmentation: Melanin-Related Molecules and Some Other New Agents Obtained from Natural Sources. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(7). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES25071537>
- Gimple, R. C., & Wang, X. (2019). RAS: Striking at the Core of the Oncogenic Circuitry. *Frontiers in Oncology*, 0, 965. <https://doi.org/10.3389/FONC.2019.00965>
- Gromkowska-Kępa, K. J., Puścion-Jakubik, A., Markiewicz-Żukowska, R., & Socha, K. (2021). The impact of ultraviolet radiation on skin photoaging — review of in vitro studies. *Journal of Cosmetic Dermatology*. <https://doi.org/10.1111/JOCD.14033>
- H, L., SP, N., I, Z., R, M., & LP, K. (2020). DNA repair enzymes in sunscreens and their impact on photoageing-A systematic review. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 36(6), 424–432. <https://doi.org/10.1111/PHPP.12597>
- Hafsi, W., & Badri, T. (2020). Cockayne Syndrome. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525998/>
- Hochmann, S., Mittermeir, M., Santic, R., Koszik, F., Griessner, L., Sonderegger, A. S., Hoffmann, T., Russe, E., Scheiblhofer, S., Weiss, R., Mandler, M., Schneeberger, A., & Strunk, D. (2018). Evaluation of modified Interferon alpha mRNA constructs for the treatment of non-melanoma skin cancer. *Scientific Reports 2018 8:1*, 8(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31061-w>
- Hromic-Jahjefendic, A., & Lundstrom, K. (2020). Viral Vector-Based Melanoma Gene Therapy. *Biomedicines*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/BIOMEDICINES8030060>
- Huang, A. H., & Chien, A. L. (2020). Photoaging: a Review of Current Literature. In *Current Dermatology Reports* (Vol. 9, Issue 1, pp. 22–29). Springer.

<https://doi.org/10.1007/s13671-020-00288-0>

- J, C., & T, D. (2018). Formation of UV-induced DNA damage contributing to skin cancer development. *Photochemical & Photobiological Sciences : Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 17(12), 1816–1841. <https://doi.org/10.1039/C7PP00395A>
- JC, S., D, C., & KA, C. (2017). The essential kinase ATR: ensuring faithful duplication of a challenging genome. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 18(10), 622–636. <https://doi.org/10.1038/NRM.2017.67>
- Jinturkar, K. A., Rathi, M. N., & Misra, A. (2011). Gene Delivery Using Physical Methods. *Challenges in Delivery of Therapeutic Genomics and Proteomics*, 83–126. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384964-9.00003-7>
- JW, L., K, R., KF, H., D, R., & M, K. (2020). Deciphering UV-induced DNA Damage Responses to Prevent and Treat Skin Cancer. *Photochemistry and Photobiology*, 96(3), 478–499. <https://doi.org/10.1111/PHP.13245>
- Kovalchuk, I. (2016). Conserved and Divergent Features of DNA Repair: Future Perspectives in Genome Instability Research. In *Genome Stability: From Virus to Human Application* (pp. 651–666). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803309-8.00038-0>
- Lephart, E. D. (2018). Equol's Anti-Aging Effects Protect against Environmental Assaults by Increasing Skin Antioxidant Defense and ECM Proteins While Decreasing Oxidative Stress and Inflammation. *Cosmetics 2018, Vol. 5, Page 16*, 5(1), 16. <https://doi.org/10.3390/COSMETICS5010016>
- LHF, M. (2018). Solar UV damage to cellular DNA: from mechanisms to biological effects. *Photochemical & Photobiological Sciences : Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology*, 17(12), 1842–1852. <https://doi.org/10.1039/C8PP00182K>
- Lucero, R., & Horowitz, D. (2020). Xeroderma Pigmentosum. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551563/>
- Mauro Carducci, Paolo Sergio Pavone, Giuseppe De Marco, Silvia Lovati, Velimir Altabas, Karmela Altabas, E. E. (2015). *Comparative Effects of Sunscreens Alone vs Sunscreens Plus DNA Repair Enzymes in Patients With Actinic Keratosis: Clinical and Molecular Findings from a 6-Month, Randomized, Clinical Study - PubMed*. *J Drugs Dermatol*.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26355618/>

- Mensink, K. A., & Highsmith, W. E. (2009). Basic Concepts in Human Molecular Genetics. In *Molecular Pathology: The Molecular Basis of Human Disease* (Vol. 9780123744197, pp. 89–107). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374419-7.00005-6>
- MF, H. (2020). Sunlight, UV Radiation, Vitamin D, and Skin Cancer: How Much Sunlight Do We Need? *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1268, 19–36. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-46227-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-46227-7_2)
- Mohania, D., Chandel, S., Kumar, P., Verma, V., Digvijay, K., Tripathi, D., Choudhury, K., Mitten, S. K., & Shah, D. (2017). Ultraviolet radiations: Skin defense-damage mechanism. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 996, 71–87. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_7)
- MT, L., C, L., JP, C., M, N., & N, B.-S. (2019). New Vision in Photoprotection and Photorepair. *Dermatology and Therapy*, 9(1), 103–115. <https://doi.org/10.1007/S13555-019-0282-5>
- Mullenders, L. H. F. (2018). Solar UV damage to cellular DNA: from mechanisms to biological effects. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 17(12), 1842–1852. <https://doi.org/10.1039/C8PP00182K>
- Natale, V., & Raquer, H. (2017). Xeroderma pigmentosum-Cockayne syndrome complex. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2017 12:1, 12(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/S13023-017-0616-2>
- Panagopoulos, A., & Altmeyer, M. (2021). The Hammer and the Dance of Cell Cycle Control. *Trends in Biochemical Sciences*, 46(4), 301–314. <https://doi.org/10.1016/J.TIBS.2020.11.002>
- PK, B., A, P., S, H., & HL, K. (2017). Talimogene Laherparepvec (T-VEC) and Other Oncolytic Viruses for the Treatment of Melanoma. *American Journal of Clinical Dermatology*, 18(1). <https://doi.org/10.1007/S40257-016-0238-9>
- Roy, S. (2017). Impact of UV radiation on genome stability and human health. In *Advances in Experimental Medicine and Biology* (Vol. 996, pp. 207–219). Springer New York LLC. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5\\_17](https://doi.org/10.1007/978-3-319-56017-5_17)
- S, K., B, K., D, P., J, S., E, K., K, K.-C., J, K., O, M., K, K., & J, K. (2018). Photodynamic therapy - mechanisms, photosensitizers and combinations. *Biomedicine &*



- Pharmacotherapy = Biomedecine & Pharmacotherapie*, 106, 1098–1107.  
<https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2018.07.049>
- S, L., W, S., F, L., J, Z., & S, Z. (2018). Antitumor efficacy of VP22-CD/5-FC suicide gene system mediated by lentivirus in a murine uveal melanoma model. *Experimental Eye Research*, 172, 144–151. <https://doi.org/10.1016/J.EXER.2018.04.009>
- Sample, A., & He, Y.-Y. (2017). Autophagy in UV damage response. *Photochemistry and Photobiology*, 93(4), 943. <https://doi.org/10.1111/PHP.12691>
- Sant', F. A., & Addor, A. (2018). Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology Dovepress Beyond photoaging: additional factors involved in the process of skin aging. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 11–437.  
<https://doi.org/10.2147/CCID.S177448>
- Schuch, A. P., Moreno, N. C., Schuch, N. J., Menck, C. F. M., & Garcia, C. C. M. (2017). Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. *Free Radical Biology and Medicine*, 107, 110–124.  
<https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2017.01.029>
- Sidler, C. (2016). Genomic Instability and Aging: Causes and Consequences. In *Genome Stability: From Virus to Human Application* (pp. 511–525). Elsevier Inc.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803309-8.00029-X>
- Simões, M. C. F., Sousa, J. J. S., & Pais, A. A. C. C. (2015). Skin cancer and new treatment perspectives: A review. *Cancer Letters*, 357(1), 8–42.  
<https://doi.org/10.1016/J.CANLET.2014.11.001>
- Strzałka, W., Zgłobicki, P., Kowalska, E., Bazant, A., Dziga, D., & Banaś, A. K. (2020). The dark side of uv-induced dna lesion repair. *Genes*, 11(12), 1–33.  
<https://doi.org/10.3390/GENES11121450>
- Sun, X., Zhang, N., Yin, C., Zhu, B., & Li, X. (2020). Ultraviolet Radiation and Melanomagenesis: From Mechanism to Immunotherapy. *Frontiers in Oncology*, 10.  
<https://doi.org/10.3389/FONC.2020.00951>
- T, P., & M, P. (2018). Melasma, a photoaging disorder. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 31(4), 461–465. <https://doi.org/10.1111/PCMR.12684>
- V, T., BA, B., MN, O., & VA, B. (2021). Current and emerging roles of Cockayne syndrome group B (CSB) protein. *Nucleic Acids Research*, 49(5), 2418–2434.

<https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB085>

- W, C., H, L., D, S., Z, L., & W, Y. (2016). Microneedles As a Delivery System for Gene Therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 7(MAY).  
<https://doi.org/10.3389/FPHAR.2016.00137>
- Xu, H., Zheng, Y.-W., Liu, Q., Liu, L.-P., Luo, F.-L., Hu-ChenZhou, Isoda, H., Ohkohchi, N., & Li, Y.-M. (2017). Reactive Oxygen Species in Skin Repair, Regeneration, Aging, and Inflammation. *Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells*.  
<https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.72747>
- Y, G., J, H., C, J., & Y, Z. (2020). Biomarkers, oxidative stress and autophagy in skin aging. *Ageing Research Reviews*, 59. <https://doi.org/10.1016/J.ARR.2020.101036>
- Y, L., B, Z., Y, Z., Y, Z., J, S., X, Z., & S, Y. (2016). Lentivirus-mediated downregulation of MAT2B inhibits cell proliferation and induces apoptosis in melanoma. *International Journal of Oncology*, 49(3), 981–990. <https://doi.org/10.3892/IJO.2016.3603>
- Yamamoto, J., Plaza, P., & Brettel, K. (2017). Repair of (6-4) Lesions in DNA by (6-4) Photolyase: 20 Years of Quest for the Photoreaction Mechanism. *Photochemistry and Photobiology*, 93(1), 51–66. <https://doi.org/10.1111/PHP.12696>
- Zhi, D., Yang, T., Zhang, T., Yang, M., Zhang, S., & Donnelly, R. F. (2021). Microneedles for gene and drug delivery in skin cancer therapy. *Journal of Controlled Release*, 335, 158–177. <https://doi.org/10.1016/J.JCONREL.2021.05.009>
- Zhu, Q., & Wani, A. A. (2017). Invited Review Nucleotide Excision Repair: Finely Tuned Molecular Orchestra of Early Pre-incision Events †. *Photochemistry and Photobiology*, 93, 166–177. <https://doi.org/10.1111/php.12647>