



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Οι πρωτεΐνες S100 και η διαγνωστική τους αξία

GRADUATE THESIS

S100 proteins and their diagnostic value

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Δέσποινα Μαντζάνα

Despoina Mantzana

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Πέτρος Καρκαλούσος

Petros Karkalousos

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS
S100 proteins and their diagnostic value

DESPOINA MANTZANA
18678266
despoinamantzaana@gmail.com

FIRST SUPERVISOR
PETROS KARKALOUSOS

SECOND SUPERVISOR
MARIA TRAPALI

THIRD SUPERVISOR
CHRISTINA FOUNTZOULA

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 25/02/2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Πέτρος Καρκαλούσος	
2 ^{ος} Εξεταστής	Μαρία Τράπαλη	
3 ^{ος} Εξεταστής	Χριστίνα Φούντζουλα	

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Δέσποινα Μαντζάνα του Ιωάννη, με αριθμό μητρώου 18678266 φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

»Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής /διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Όνομα φοιτήτριας

Δέσποινα Μαντζάνα

Υπογραφή φοιτήτριας

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της προπτυχιακής διπλωματικής μου εργασίας, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους όσους συνέβαλλαν στην εκτέλεσή της. Ευχαριστώ αρχικά τον Α' επιβλέπων καθηγητή μου, κύριο Πέτρο Καρκαλούσο, για την υπομονετική καθοδήγησή του.

Ιδιαιτέρες ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον υποψήφιο συνάδελφό μου Κωνσταντίνο Σκέρλο για τη αδιάκοπη υποστήριξη και βοήθειά του στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας αλλά και των σπουδών μου γενικότερα.

Τέλος, θα ήθελα εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή που έχουν δείξει σε όλη την διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Οι πρωτεΐνες S100 ανήκουν στην υπεροικογένεια των πρωτεϊνών δέσμευσης ασβεστίου. Η οικογένεια των πρωτεϊνών S100 στον άνθρωπο αποτελείται από 22 μέλη που έχουν πολλές δομικές ομοιότητες, αλλά και διακριτές λειτουργικές διαφορές. Δρώντας τόσο ως εξωτερικοί παράγοντες όσο και ως ενδοκυτταρικοί αισθητήρες ασβεστίου, μπορούν και επηρεάζουν τις κυτταρικές αποκρίσεις. Οι ανθρώπινες κακοήθειες εμφανίζουν συχνά διαταραγμένη έκφραση πολλών μελών της οικογένειας S100, με κάθε είδος κακοήθειας να εμφανίζει ένα ξεχωριστό προφίλ ή χαρακτηριστικό γνώρισμα της κάθε πρωτεΐνης. Η βιολογία της πλειονότητας των πρωτεϊνών S100 είναι περίπλοκη και πολυπαραγοντική και τα αναδυόμενα *in vivo* στοιχεία υποδηλώνουν ότι οι πρωτεΐνες αυτές συμβάλλουν ενεργά σε καρκινικές διαδικασίες όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η μετάσταση, η αγγειογένεση και η απορρύθμιση του ανοσοποιητικού συστήματος. Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση υπογραμμίζει τα νέα ευρήματα σχετικά με το ρόλο των μελών της οικογένειας S100 στη διάγνωση και τη θεραπεία διάφορων ασθενειών. Στην εργαστηριακή ιατρική, οι πρωτεΐνες αυτής της υπεροικογένειας χρησιμοποιούνται κλινικά ως σημαντικοί διαγνωστικοί και προγνωστικοί δείκτες, καθώς συνδέονται στενά με φλεγμονώδεις και αυτοάνοσες παθολογίες, εγκεφαλικές διαταραχές, διάφορους τύπους καρκίνου, καρδιαγγειακά νοσήματα και φλεγμονές. Η συγκεκριμένη εργασία επικεντρώνεται στην κλινική χρήση των πρωτεϊνών S100 ως βιοδεικτών και δυνητικών φαρμακευτικών στόχων, συμβάλλοντας στη βελτίωση της διάγνωσης αυτών των ανθρώπινων ασθενειών σε παιδιά και ενήλικες που οδηγεί σε πιο επιλεκτικές θεραπευτικές παρεμβάσεις.

Abstract

S100 proteins belong to the superfamily of calcium-binding proteins. The human S100 protein family consists of 22 members that have many structural similarities but also distinct functional differences. Acting both as external agents and as intracellular calcium sensors, they can and do influence cellular responses. Human malignancies often display disrupted expression of several members of the S100 family, with each type of malignancy displaying a distinct profile or feature of each protein. The biology of the majority of S100 proteins is complex and multifactorial, and emerging in vivo evidence suggests that these proteins actively contribute to cancer processes such as cell proliferation, metastasis, angiogenesis and immune dysregulation. The present literature review highlights new findings on the role of S100 family members in the diagnosis and treatment of various diseases. In laboratory medicine, proteins of this superfamily are used clinically as important diagnostic and prognostic markers, as they are closely associated with inflammatory and autoimmune pathologies, brain disorders, various types of cancer, cardiovascular diseases and inflammation. This work focuses on the clinical use of S100 proteins as biomarkers and potential drug targets, helping to improve the diagnosis of these human diseases in children and adults leading to more selective therapeutic interventions.

Πίνακας Περιεχομένων

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	IV
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	V
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	VI
ABSTRACT	VIII
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	3
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	5
Το ΑΣΒΕΣΤΙΟ	5
2.1. Γενικότερα για το ασβέστιο	5
2.2. Οι μορφές του ασβεστίου στον ανθρώπινο οργανισμό	5
2.3. Η σηματοδότηση του ασβεστίου στο κύτταρο	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	9
ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ ΠΡΟΣΔΕΣΗΣ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ	9
3.1. Η πρόσδεση του ασβεστίου στις CBPs	9
3.2. Το EF-hand μοτίβο πρωτεϊνών	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	12
ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ S100	12
4.1. Γενικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών S100	13
4.2. Οι πρωτεΐνες S100 στην σηματοδότηση του ασβεστίου	14
4.2. Το EF-hand μοτίβο στις πρωτεΐνες S100	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5	18
ΟΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ S100	18
5.1. S100A1	19
5.2. S100A2	24
5.3. S100A3	26
5.4. S100A4	27
5.5. S100A5	28
5.6. S100A6	29
5.7. S100A7	31
5.8. S100A8	32
5.9. S100A9	33
5.10. S100A8/S100A9	35
5.11. S100A10	37
5.12. S100A11	38
5.13. S100A12	42
5.14. S100A13	43
5.15. S100A14	44
5.16. S100A15	44
5.17. S100A16	45
5.18. S100A17, S100A18	45
5.19. S100A19	45
5.18. S100B	46
5.19. S100G	48
5.20. S100P	49

5.21. S100Z.....	49
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6	55
ΤΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ S100.....	55
6.1. Έκφραση των πρωτεϊνών S100	55
6.2. Έκκριση και απελευθέρωση των πρωτεϊνών S100	56
6.3. Οι κυτταρικοί υποδοχείς των πρωτεϊνών S100	58
6.4. Οι πρωτεΐνες S100 ως μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με βλάβες (DAMPs)	62
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7	68
ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ S100 ΩΣ ΒΙΟΔΕΙΚΤΕΣ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΣΤΗΝ ΚΑΡΔΙΟΛΟΓΙΑ	68
7.1. Η πρωτεΐνη S100A1.....	68
7.2. Η πρωτεΐνη S100B.....	71
7.3. Οι πρωτεΐνες S100A2 και S100A6	72
7.4. Η πρωτεΐνη S100A6.....	72
7.5. Οι πρωτεΐνες S100A8, S100A9 και S100A12	73
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8	76
Η ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ S100 ΣΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗ, ΤΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΤΙΣ ΑΛΛΕΡΓΙΕΣ	76
8.1. Η πρωτεΐνη S100B στην λεύκη.....	76
8.2. Η πρωτεΐνη S100A4 στην φλεγμονή και την μετάσταση	77
8.3. Η πρωτεΐνη S100A7 (ψωριασίνη) στην ψωρίαση και στην θεραπεία πληγών.....	77
8.4. Η καλπροτεκτίνη στις ρευματικές ασθένειες και στην χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου	81
8.5. Η πρωτεΐνη S100A11 στην ρευματοειδή αρθρίτιδα	84
8.5. Η πρωτεΐνη S100A12 στη νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα, τη νόσο του Crohn, τη νόσο Kawasaki και την αθηροσκλήρωση.....	86
8.6. Η πρωτεΐνη S100A4 στην αλλεργία	89
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9	92
Η ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ S100 ΣΤΟΝ ΤΡΑΥΜΑΤΙΣΜΟ ΤΟΥ ΕΓΚΕΦΑΛΟΥ	92
9.1. Η πρωτεΐνη S100B ως νευροβιοδείκτης για κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις σε έμβρυα, νεογνά, παιδιά και ενήλικες υψηλού κινδύνου	92
9.2. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης στην σοβαρή τυχαία υποθερμία.....	94
9.3. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης σε προαναλυτικές, αναλυτικές, κυοφοριακές και παιδιατρικές πτυχές	94
9.4. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης για τη διαφορική διάγνωση της ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας και του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου	96
9.5. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης στις νευροεγκεφαλολογικές ασθένειες (παραλήρημα, επιληπτική κρίση).....	97
9.6. Ο ρόλος της πρωτεΐνης S100B στην δηλητηρίαση από γλυφωσάτη και γλυφωσινάτη	99
9.7. Η επιρροή της πρωτεΐνης S100A4 στην εκβλάστηση των αισθητικών νευριτών πάνω στα αστροκύτταρα της λευκής ουσίας και στους μοριακούς μηχανισμούς της σηματοδότησης ασβεστίου στους νευρώνες	100
9.8. Η συσχέτιση της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης S100A6 εντός των αστροκυττάρων με τους εξασθενημένους άξονες	102
9.9. Έκφραση και λειτουργία της ψωριασίνης (S100A7) στον εγκέφαλο.....	104
9.10. Η συμμετοχή της πρωτεΐνης S100A10 στην νόσο του Parkinson και την κατάθλιψη.....	104
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10	107
ΟΙ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ S100 ΣΤΗΝ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	107
10.1. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης στο κακόηθες μελάνωμα	108
10.2. Η πρωτεΐνη S100A1 στον καρκίνο των ωοθηκών	110
10.3. Η πρωτεΐνη S100A2 στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα	112

10.4. Η διαγνωστική σημασία των πρωτεϊνών S100A2 και S100A6 στους ορούς ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα.....	114
10.5. Το υποψήφιο ογκοκατασταλτικό γονίδιο S100A2 στον καρκίνο του μαστού	115
10.6. Η διαφορική έκφραση των πρωτεϊνών S100 στα πιλοκυτταρικά αστροκυττώματα, τα αστροκυττώματα, τα αναπλαστικά αστροκυττώματα και τα γλοιοβλαστώματα.....	116
10.7. Ο ρόλος της πρωτεΐνης S100A3 στο ανθρώπινο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα.....	118
10.8. Οι πρωτεΐνες S100 στον καρκίνο του στομάχου.....	119
10.9. Η πρωτεΐνη S100A4 στον καρκίνο του στομάχου, του παχέος εντέρου και του ορθού	120
10.10. Η πρωτεΐνη S100A4 ως ένας πιθανός στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου	123
10.11. Ο ρόλος της πρωτεΐνης S100A7 στον καρκίνο των οστών (οστεοσάρκωμα).....	125
10.12. Η συσχέτιση της ψωριασίνης (S100A7) με την εξέλιξη του καρκίνου του παγκρέατος	126
10.13. Η πρωτεΐνη S100A7 στην θεραπεία του καρκίνου	127
10.14. Οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 στην διάγνωση του καρκίνου του δέρματος και της ουροδόχου κύστεως	128
10.15. Οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 στην διάγνωση νόσων και καρκίνου του εντέρου.....	130
10.16. Η πρωτεΐνη S100A8 ως ένας νέος θεραπευτικός στόχος για το αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς	131
10.17. Η πρωτεΐνη S100A11 στον καρκίνο του παγκρέατος.....	132
10.18. Η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A13 και της αντίστασης στη χημειοθεραπεία.....	133
10.19. Η συσχέτιση μεταξύ S100A13 και HMGA1 στη διαμόρφωση του πολλαπλασιασμού και της εισβολής του καρκίνου του θυρεοειδούς.....	134
10.20. Η πρωτεΐνη S100A14 στο γαστρικό καρκίνο	136
10.21. Η ταυτόχρονη έκφραση των πρωτεϊνών S100A14 και S100A16 στον καρκίνο του μαστού	137
10.22. Η πρωτεΐνη S100A16 ως προγνωστικός δείκτης για τον καρκίνο του παχέος εντέρου.....	138
10.23. Η πρωτεΐνη S100P ως διαγνωστικός δείκτης για το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου	139
10.24. Η πρωτεΐνη S100P ως νέος προγνωστικός δείκτης του μεταστατικού καρκίνου του μαστού..	139
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 11	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
ΣΥΖΗΤΗΣΗ	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
ΑΝΑΦΟΡΕΣ	144

Πρόλογος

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αφορά στην εις βάθος κατανόηση της διαγνωστικής αξίας των πρωτεϊνών S100. Για τον σκοπό αυτό, είναι απαραίτητη η προσεκτική μελέτη της δομής και της λειτουργίας των εν λόγω πρωτεϊνών καθώς και του ρόλου τους τόσο στην διάγνωση γενικότερα, όσο και τον καρκίνο και τις δερματικές παθήσεις ειδικότερα.

Ως γνωστόν, οι πρωτεΐνες είναι σύνθετα βιομόρια -μεγάλου συνήθως μεγέθους- που σχηματίζονται από την ομοιοπολική ένωση των αμινοξέων μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς (Anon., 2022). Παρουσιάζουν μια σχεδόν αδιάκοπη ποικιλία λειτουργιών σε ένα κύτταρο, καθώς συμμετέχουν σε κάθε διεργασία που πραγματοποιείται σε αυτό. Μεταξύ αυτών των πολλαπλών λειτουργιών τους, είναι σημαντικό να αναφερθεί η δυνατότητα τους να καταλύουν μεταβολικές αντιδράσεις, να συμμετέχουν ενεργά στην αντιγραφή του DNA, και να μεταφέρουν μόρια σε διαφορετικές θέσεις μέσα στον οργανισμό (David L. Nelson, n.d.).

Κατανοώντας, λοιπόν, την μεγάλη βαρύτητα και σημασία των πρωτεϊνών για τον ανθρώπινο οργανισμό, αντιλαμβανόμαστε την ανάγκη για συνεχή μελέτη των ιδιοτήτων τους όχι μόνο μέσα στο ανθρώπινο σώμα, αλλά και στον πολύ σημαντικό τομέα της υγείας, την διάγνωση. «*Κάλλιον το προλαμβάνειν ή το θεραπεύειν*», είχε πει ο Ιπποκράτης, ο πατέρας της σύγχρονης Ιατρικής, δίνοντας έμφαση στην αξία της πρόληψης και κατ' επέκτασιν της διάγνωσης, για τη διαφύλαξη της υγείας του ανθρώπου.

Η πρώτη ανακάλυψη των πρωτεϊνών S100 έγινε το 1965, όταν ο B. W. Moore απομόνωσε ένα κλάσμα πρωτεϊνών από τον εγκέφαλο βοοειδών, το οποίο αρχικά θεωρήθηκε ότι περιέχει ειδικές, όξινες (pH 4,0 - 5,0) πρωτεΐνες του νευρικού συστήματος, χαμηλού μοριακού βάρους (10 - 12 kDa). Αυτό το κλάσμα ονομάστηκε S100 επειδή, μετά από μελέτη του, βρέθηκε πως οι πρωτεΐνες αυτές που περιέχονται στο κλάσμα είναι διαλυτές σε 100% θειικό αμμώνιο $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ σε σχεδόν ουδέτερο pH (7,0 - 7,5). Το ίδιο κλάσμα S100, υποβλήθηκε στην συνέχεια σε εντατική έρευνα και με αυτόν τον τρόπο αποδείχθηκε ότι υπήρχαν πολλαπλά πρωτεϊνικά είδη, μεταξύ των οποίων ξεχώρισαν οι S100A1 (S100α) και S100B (S100ββ) πρωτεΐνες, οι οποίες θα αναφερθούν αναλυτικότερα στην συνέχεια της διπλωματικής εργασίας. Τα τελευταία χρόνια, η οικογένεια των S100 πρωτεϊνών επεκτάθηκε ακόμη περισσότερο με την ανακάλυψη 17 ακόμη ειδών S100 (Vogel, 2002).

Σκοπός αυτής της εργασίας, επομένως, είναι να ερευνήσει την χρησιμότητα των πρωτεϊνών S100 στην διάγνωση παθήσεων, δίνοντας έμφαση στο σοβαρότερο πρόβλημα υγείας που παρατηρείται τα τελευταία χρόνια, τον καρκίνο. Ο καρκίνος, ονομάζεται και νεοπλασματική νόσος, είναι μια σύνθετη ασθένεια που σχετίζεται με την μη φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων ενός οργάνου καθώς και με την πιθανότητα διάδοσης της σε άλλα σημεία του οργανισμού (Ανοη., 2022). Η ανάγκη για ανάπτυξη καινούργιων μεθόδων για περισσότερο έγκαιρη διάγνωση καρκινικών ασθενειών γίνεται ολοένα και πιο επιτακτική. Σε αυτή την πτυχιακή εργασία, λοιπόν, θα δούμε πώς οι πρωτεΐνες S100 μπορούν να παίξουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη αυτών των μεθόδων διάγνωσης του καρκίνου στα ανθρώπινα κύτταρα (Χουντής, 2013).

Αυτό που διαφοροποιεί την συγκεκριμένη εργασία από προηγούμενες που αφορούν τις πρωτεΐνες S100 είναι ότι εδώ θα πραγματοποιηθεί ταυτόχρονα η αναλυτική και κατανοητή μελέτη των πορισμάτων τεκμηριωμένων ερευνών που αφορούν την δομή και λειτουργία των πρωτεϊνών S100 (διαφοροποίηση, τύποι και υποκατηγορίες πρωτεϊνών S100) (Claus W Heizmann, 2002), την έκφρασή τους, την παθολογία τους, τον ενδοκυτταρικό και εξωκυτταρικό τους ρόλο (έκκριση και απελευθέρωση πρωτεϊνών S100) (Donato, 2003) και, όπως έχει ήδη αναφερθεί, την διαγνωστική και προγνωστική τους αξία στην υγεία και τις ασθένειες (συσχετισμός με ανθρώπινες παθήσεις). Παράλληλα, θα γίνει λόγος για την εργαστηριακή εφαρμογή τους στην έρευνα αλλά και σχολιασμός για την πολλά υποσχόμενη χρήση τους ως μελλοντικό διαγνωστικό εργαλείο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

Εισαγωγή

Η πρώτη επαφή των επιστημόνων με τις πρωτεΐνες S100 έγινε λίγο μετά τα μέσα του 20^{ου} αιώνα, όμως έκτοτε ολοένα και αυξανόμενες νέες πληροφορίες για τις πρωτεΐνες αυτές προκύπτουν καθημερινά. Ακόμη, νέα μέλη των πρωτεϊνών S100 συνεχίζουν να κάνουν την εμφάνισή τους και καινούργιες λειτουργίες των παλαιότερων να έρχονται στο φως. Με την εμφάνιση όλο και περισσότερων καινοτόμων μεθόδων ανάλυσης και επεξεργασίας μορίων και γονιδίων, πολλά ερωτήματα που αφορούν ακόμη συγκεκριμένες λειτουργίες των πρωτεϊνών S100 θα μπορούν να απαντηθούν με ακρίβεια. Ήδη, έχει γίνει ένα τεράστιο άλμα, σε σχέση με τις πρώτες μελέτες κατά την διάρκεια του 20^{ου} αιώνα, όσον αφορά στην εξακρίβωση των διεργασιών στις οποίες οι πρωτεΐνες S100 συμμετέχουν αλλά και στις κυτταρικές σειρές και τους ιστούς που εκφράζονται και δρουν.

Η οικογένεια των πρωτεϊνών S100 αποτελείται από X μέλη, και κατατάσσεται στην ευρύτερη οικογένεια των πρωτεϊνών που δεσμεύουν το ασβέστιο. Διαθέτουν είτε ενδοκυτταρικές είτε εξοκυτταρικές ιδιότητες ανάλογα με την ομάδα στην οποία ανήκουν, ενώ πολλές από αυτές έχουν αμφίπλευρο ρόλο. Γενικότερα, οι περισσότερες πρωτεΐνες S100 δρουν ενδοκυτταρικά, ελέγχοντας την ομοιόσταση του ασβεστίου στο κύτταρο αλλά και δημιουργώντας δεσμούς με άλλες πρωτεΐνες του κυττάρου ώστε να συμμετάσχουν σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, όπως είναι η επικοινωνία μεταξύ δυο κυττάρων, η κυτταρική ανάπτυξη, η διατήρηση της δομής του κυττάρου και η κυτταρική σηματοδότηση (Danna Zimmer, 1995).

Η επιστημονική έρευνα για τις πρωτεΐνες S100 ξεκίνησε με αφορμή την τυχαία ανακάλυψη αυτών το 1965, όταν ο Moore και η ομάδα επιστημόνων του απομόνωσε ένα τμήμα του εγκεφάλου ενός βοδινού στο οποίο θεωρούσαν ότι περιέχονται ειδικές πρωτεΐνες του νευρικού συστήματος. Το τμήμα αυτό ονομάστηκε μετέπειτα «S100» διότι μετά από ειδική επεξεργασία, διαπιστώθηκε ότι τα συστατικά στοιχεία που το αποτελούσαν ήταν διαλυτά σε 100% κορεσμένο θειικό αμμώνιο $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$, σε ουδέτερο pH=7 (Danna Zimmer, 1995).

Μετέπειτα μελέτες που πραγματοποιήθηκαν σχετικά με την σύσταση του τμήματος αυτού, έδειξαν ότι αποτελείται, κατά κύριο λόγο, από δυο πολυπεπτίδια, τα οποία ονομάστηκαν S100A1 και S100B. Περεταίρω ανάλυση των πρωτεϊνών αυτών, έδειξε

ότι διαθέτουν δυο περιοχές πρόσδεσης ασβεστίου (Ca) που έχουν υψηλή συγγένεια με την δομή EF-hand, για την οποία θα γίνει λόγος στην συνέχεια. Το μοριακό βάρος των πρωτεϊνών αυτών υπολογίστηκε ίσο με 10.000 Daltons. Μετά την τυχαία ανακάλυψη των S100A1 και S100B, ακολούθησε η σταδιακή καταχώρηση 14 ακόμη μελών στην οικογένεια των πρωτεϊνών S100, η οποία βασίστηκε στην ομόλογη ακολουθία των αμινοξέων τους καθώς και στις παρόμοιες δομικές τους ιδιότητες (Danna Zimmer, 1995).

Σκοπός αυτής της εργασίας είναι να διερευνήσει σε βάθος τη λειτουργία των πρωτεϊνών S100, ούτως ώστε να γίνει μετέπειτα κατανοητό, πώς οι πρωτεΐνες αυτές μπορούν χρησιμοποιηθούν σε πολλούς τομείς της σύγχρονης επιστήμης. Κάποιες σημαντικές εφαρμογές τους στον τομέα της υγείας που πρόκειται να αναλυθούν παρακάτω περιλαμβάνουν την θεραπεία του καρκίνου και διάφορων άλλων δερματικών και μη παθήσεων, την χρήση τους ως εργαλεία σε κλινικές δοκιμές και την ικανότητα τους να συμμετέχουν ως ρυθμιστές σε πολλές κυτταρικές διεργασίες.

Αυτό που στοχεύει η συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία λοιπόν, είναι η εξοικείωση του αναγνώστη με την οικογένεια των πρωτεϊνών S100, ξεκινώντας την επεξήγηση από τον τρόπο που λειτουργούν γενικότερα, συνεχίζοντας με τον συγκεκριμένο, διακριτό τους ρόλο στο κύτταρο αλλά κατ' επέκταση και στον ανθρώπινο οργανισμό και κλείνοντας με την αξιοποίηση τους από τα ερευνητικά εργαστήρια με σκοπό την θεραπεία και διάγνωση πολλών ασθενειών. Με αυτόν τον τρόπο, θα μπορεί να γίνει πλήρως κατανοητή όλη η επιστημονική μελέτη πάνω στις πρωτεΐνες S100, σε μια και μόνο εργασία.

Πιο συγκεκριμένα, στα κεφάλαια που ακολουθούν, θα γίνει αρχικά λόγος για τον ρόλο του ασβεστίου στον οργανισμό αλλά και για τα γενικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών που δεσμεύουν το ασβέστιο, ούτως ώστε να γίνει κατανοητό στον αναγνώστη το πώς το ασβέστιο σε συνεργασία με τις πρωτεΐνες δέσμευσης ασβεστίου (στις οποίες ανήκουν και οι πρωτεΐνες S100) συμμετέχει σε πολλές κυτταρικές διεργασίες. Έπειτα, θα ακολουθήσει μια αναλυτική περιγραφή των μελών της οικογένειας των S100 πρωτεϊνών για να αναλυθεί τελικά το κύριο θέμα της συγκεκριμένης πτυχιακής, που είναι η συμμετοχή των S100 πρωτεϊνών στην διάγνωση ασθενειών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Το ασβέστιο

2.1. Γενικότερα για το ασβέστιο

Το ασβέστιο (calcium) είναι ένα χημικό στοιχείο με ατομικό αριθμό 20 και ατομικό βάρος 40,078 και συμβολίζεται ως «Ca». Είναι ένα δισθενές μέταλλο και μέλος της δεύτερης ομάδας του περιοδικού πίνακα, γνωστή ως «αλκαλικές γαίες». Είναι, ακόμη, ένα από τα πιο σημαντικά μόρια που εμπλέκονται στην ομαλή λειτουργία του οργανισμού, καθώς συμμετέχει σε πολλές βιοχημικές διεργασίες σε όλο το σώμα. Αποτελεί απαραίτητο στοιχείο για τη σωστή καρδιακή λειτουργία, τη δομική ακεραιότητα των οστών και τη μυϊκή συστολή αλλά ταυτόχρονα έχει την ιδιότητα να δρα ως ενζυμικό σήμα σε πολλές βιοχημικές οδούς (Taylor M. Drake, 2022).

Το ασβέστιο είναι το πέμπτο πιο άφθονο στοιχείο στο ανθρώπινο οργανισμό. Περισσότερο από το 99% του συνολικού ασβεστίου στον άνθρωπο απαντάται στον σκελετό ως *υδροξυαπατίτης (hydroxyapatite)*. Ο υδροξυαπατίτης είναι ένας κρύσταλλος που αποτελείται από ασβέστιο, φώσφορο και υδροξείδιο (Goldstein, 1990). Αυτό το μέταλλο παρέχει τη δύναμη στα οστά που υποστηρίζουν την κίνηση, αλλά χρησιμεύει επίσης και ως δεξαμενή για τη διατήρηση των φυσιολογικών επιπέδων ασβεστίου στον ορό (Connie M Weaver, 2011).

Μοναδική πηγή ασβεστίου στον άνθρωπο αποτελεί η διατροφή του. Οι διατροφικές προσλήψεις αναφοράς (*Dietary Reference Intakes ή DRI*) για το ασβέστιο επικαιροποιήθηκαν το 2010. Η Συνιστώμενη Διαιτητική Πρόσληψη είναι 700 mg/dL για παιδιά ηλικίας 1-3 ετών, 1000 mg/dL για παιδιά ηλικίας 4-8 ετών, 1300 mg/dL για εφήβους, 1000 mg/dL για νεότερους ενήλικες, 1200 mg/dL για γυναίκες άνω των 51 ετών και 1200 mg για άνδρες και γυναίκες άνω των 70 ετών. Οι έφηβοι και τα ηλικιωμένα άτομα είναι οι πιο πιθανές ομάδες που παρουσιάζουν έλλειψη ασβεστίου (Connie M Weaver, 2011).

2.2. Οι μορφές του ασβεστίου στον ανθρώπινο οργανισμό

Στον ορό, το ασβέστιο υπάρχει σε 3 μορφές:

- *συνδεδεμένο με πρωτεΐνες*

Το ασβέστιο που είναι συνδεδεμένο με πρωτεΐνες, το οποίο αντιπροσωπεύει το 40% του ασβεστίου του ορού και δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί από τους ιστούς. Η αλβουμίνη (albumin-90% του ασβεστίου που συνδέεται με πρωτεΐνες) και η σφαιρίνη (globulin-10% του ασβεστίου που συνδέεται με πρωτεΐνες) είναι οι πρωταρχικές πρωτεΐνες δέσμησης ασβεστίου στον ορό, ενώ η καλμοδουλίνη (calmodulin) είναι η πρωταρχική πρωτεΐνη δέσμησης ασβεστίου στο κύτταρο (Taylor M. Drake, 2022) (Goldstein, 1990).

- *ιονισμένο (ελεύθερο ασβέστιο στην μορφή Ca^{2+})*

Το ελεύθερο ασβέστιο, το οποίο αποτελεί το 51% του ασβεστίου ορού, χρησιμοποιείται από το σώμα για τη διατήρηση των φυσιολογικών λειτουργιών (Taylor M. Drake, 2022).

- *συμπλοκοποιημένο (χηλικό)*

Το τμήμα του συνολικού ασβεστίου που σχηματίζει ζεύγη ιόντων με ανιόντα όπως διττανθρακικά ή/και κιτρικά είναι γνωστό ως συμπλοκοποιημένο ασβέστιο (Goldstein, 1990). Το χηλικό ασβέστιο, το οποίο αντιπροσωπεύει το 9% του ασβεστίου του ορού, επιτρέπει την απορρόφηση του ασβεστίου από διάφορους ιστούς ή την μεταφορά του μεταξύ των διάφορων τμημάτων/οργάνων του σώματος (Taylor M. Drake, 2022).

Μαζί, το ιονισμένο και το συμπλοκοποιημένο ασβέστιο αποτελούν το διάχυτο κλάσμα του ασβεστίου, δηλαδή αυτό που διασκορπίζεται σε όλο τον οργανισμό, μέσω των βιολογικών μεμβρανών. Αντίθετα, το συνδεδεμένο με πρωτεΐνες ασβέστιο δεν είναι διάχυτο (Goldstein, 1990).

Το ασβέστιο ορού μπορεί να μετρηθεί από φλεβικό δείγμα, με φυσιολογικά επίπεδα που κυμαίνονται από 8,8 mg/dL έως 10,4 mg/dL για το ολικό ασβέστιο και 4,7 mg/dL έως 5,2 mg/dL για το ιονισμένο ασβέστιο (Taylor M. Drake, 2022). Αύξηση της τιμής της συγκέντρωσης του ασβεστίου στον ορό άνω των 8,8 mg/dL έως 10,4 mg/dL, θεωρείται κατάσταση τοξικότητας ασβεστίου στον οργανισμό (Elaine Yu, 2021).

2.3. Η σηματοδότηση του ασβεστίου στο κύτταρο

Η επιβίωση αλλά και η σωστή λειτουργία των κυττάρων προϋποθέτει την αναγνώριση εξωκυτταρικών ερεθισμάτων αλλά και την ανταπόκρισή τους σε αυτά. Τέτοια ερεθίσματα γίνονται αντιληπτά από τους πρώτους αγγελιοφόρους (*first messengers*), όπως ονομάζονται, που δεν είναι άλλο από τις ορμόνες, τους αυξητικούς παράγοντες και τους νευροδιαβιβαστές. Οι πρώτοι αγγελιοφόροι είναι εξωκυτταρικές ουσίες, που δεν εισέρχονται στο κύτταρο, αλλά μπορούν να ξεκινήσουν ενδοκυτταρικές δραστηριότητες,

μέσω της δέσμευσής τους σε συγκεκριμένους υποδοχείς και με αυτόν τον τρόπο να ενεργοποιήσουν την σηματοδότηση μέσα στο κύτταρο. Αυτή η σηματοδότηση, στην συνέχεια λειτουργεί ως διαμεσολαβητής για τους δεύτερους αγγελιοφόρους (*second messengers*), οι οποίοι είναι ενδοκυτταρικές ουσίες που αποστέλλουν σήματα από τους υποδοχείς στους στόχους. Παραδείγματα δεύτερων αγγελιοφόρων είναι η κυκλική μονοφωσφορική αδενοσίνη (cAMP), η κυκλική μονοφωσφορική γουανοσίνη (cGMP), η τριφωσφορική ινοσιτόλη, η διακυλογλυκερόλη και το κατιόν ασβεστίου (Ca^{2+}) (Grzybowska, 2018).

Το πανταχού παρόν κατιόν ασβεστίου Ca^{2+} διαθέτει ένα πολύ σημαντικό ρόλο στις οδούς μεταγωγής σήματος ως δεύτερος αγγελιοφόρος, καθώς εμπλέκεται σε μια ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών σχεδόν σε όλα τα κύτταρα θηλαστικών (Beierwaltes, 2013). Παρόλο που όλο το ασβέστιο στο σώμα εντοπίζεται υπό την μορφή ιόντων, ο όρος «ασβέστιο» συνήθως αναφέρεται μόνο στο ελεύθερο ιοντικό κλάσμα που είναι φυσιολογικά ενεργό στο αίμα (Goldstein, 1990). Έτσι, ο όρος «ασβέστιο» θα χρησιμοποιείται για διευκόλυνση στην συγγραφή της πτυχιακής εργασίας για την αναφορά του ως κατιόν ασβεστίου υπό την μορφή Ca^{2+} .

Από την άλλη, η απομάκρυνση του ασβεστίου από το κυτταρόπλασμα είναι ζωτικής σημασίας, διότι τα ιόντα ασβεστίου είναι δυνητικά επικίνδυνα. Έχουν την ικανότητα να καταβυθίζουν τόσο ανόργανα όσο και οργανικά ανιόντα, συμπεριλαμβανομένων των φωσφορικών, καθιστώντας ενδεχομένως ανίκανο τον ενεργειακό μεταβολισμό που βασίζεται στα φωσφορικά άλατα. Για να αποφευχθεί αυτό, το ασβέστιο πρέπει να χηλικοποιείται, να δεσμεύεται και να αποθηκεύεται, πράγμα που επιτυγχάνεται με τη συνεχή λειτουργία πολλαπλών αντλιών ασβεστίου και κατάλληλων ρυθμιστικών και δεσμευτικών παραγόντων ασβεστίου.

Η απότομη μεταβολή της συγκέντρωσης του ασβεστίου δημιουργεί μια μεταγωγή σήματος, την οποία τα κύτταρα εκμεταλλεύονται. Κάθε μεταβολή στη συγκέντρωση του ασβεστίου μπορεί εύκολα να ανιχνευθεί και να διαδοθεί. Η σηματοδότηση ασβεστίου τείνει να είναι ταχεία και διαδίδεται με την μορφή αιχμών (κορυφωμάτων), κυμάτων ή ταλαντώσεων.

Στην πραγματικότητα, ένας ιστός ενδοπλασματικού δικτύου διαπερνά ολόκληρο το κύτταρο, γεγονός που επιτρέπει τη διάνοιξη τοπικών διαύλων και τον διαμερισμό του σήματος. Στα κύτταρα που διαθέτουν την ικανότητα να διεγείρονται (μυϊκά κύτταρα,

νευρώνες), τα σήματα αυτά διαδίδονται γρήγορα, ενώ στα υπόλοιπα κύτταρα, όπως είναι η στιβάδα των επιθηλιακών κυττάρων, η διακυτταρική μετάδοση είναι πιο αργή και γίνεται κυρίως μέσω των διασταυρώσεων κενών. Οι διασταυρώσεις κενών είναι εξειδικευμένες ενδοκυτταρικές συνδέσεις που συνδέουν άμεσα το κυτταρόπλασμα δυο κυττάρων και επιτρέπουν σε διάφορα μόρια να διέρχονται απευθείας από μια ρυθμιζόμενη πύλη μεταξύ των κυττάρων αυτών.

Αυτός ο τύπος σηματοδότησης ρυθμίζει διάφορες φυσιολογικές διεργασίες, όπως είναι η γονιμοποίηση, η διαφοροποίηση, ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων, η κυτταρική απόπτωση, η μάθηση και η μνήμη, η μυϊκή συστολή και η έκκριση ουσιών (Grzybowska, 2018).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Οι πρωτεΐνες πρόσδεσης ασβεστίου

Δεν υπάρχει αμφιβολία ότι το ασβέστιο αποτελεί έναν βασικό και καθοριστικό δεύτερο αγγελιοφόρο σήματος στα κύτταρα των περισσότερων οργανισμών. Ο βαρυσήμαντος αυτός σηματοδότης αλλά και πολύτιμο στοιχείο για την σωστή ανάπτυξη του ανθρώπου, εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από έναν σημαντικό αριθμό ετερογενών πρωτεϊνών δέσμησης ασβεστίου (*Calcium Binding Proteins* ή *CBP*), όπως αυτές ονομάζονται. Οι πρωτεΐνες αυτές έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν το ιόν ασβεστίου σε συγκεκριμένες περιοχές, συμβάλλοντας έτσι στον έλεγχο της συγκέντρωσης του στο κυτταρόπλασμα.

Οι πρωτεΐνες δέσμησης ασβεστίου, συμμετέχουν σε πολυάριθμες κυτταρικές λειτουργίες, μεταφέροντας το ασβέστιο διαμέσου των κυτταρικών μεμβρανών ή δρώντας ως αισθητήρες διαμορφωμένοι με ιόντα ασβεστίου, αποκωδικοποιώντας με αυτόν τρόπο σήματα ασβεστίου (Matilde Yáñez, 2012).

3.1. Η πρόσδεση του ασβεστίου στις CBPs

Όπως προαναφέρθηκε, στα ευκαρυωτικά κύτταρα, το ασβέστιο λειτουργεί ως ένα καθολικό και ευέλικτο σήμα, αλληλοεπιδρώντας με εκατοντάδες πρωτεΐνες. Διαμορφώνοντας λοιπόν τις δραστηριότητες αυτών των πρωτεϊνών, το ασβέστιο μπορεί και συμμετέχει σε διάφορες βιολογικές διεργασίες, όπως είναι για παράδειγμα η ορμονική έκκριση, η μυϊκή συστολή, η διαβίβαση νευρικών ώσεων και ο σχηματισμός της μνήμης. Αυτές οι διαδικασίες πραγματοποιούνται σε ένα ευρύ φάσμα χρονικών περιόδων, που κυμαίνεται από χιλιοστά του δευτερολέπτου έως και ημέρες. Συνολικά, το σύστημα σηματοδότησης του ασβεστίου παρουσιάζει μεγάλη ευελιξία ως προς την ταχύτητα, το πλάτος και τα χωροχρονικά πρότυπα (Yubin Zhou, 2014).

Μετά την είσοδό του στο κύτταρο, το ασβέστιο συνδέεται αντιστρεπτά με συγκεκριμένες πρωτεΐνες δέσμησης ασβεστίου, οι οποίες αποκρυπτογραφούν τις πληροφορίες που μεταφέρονται από το ασβέστιο και τις μεταβιβάζουν σε διάφορους στόχους που ρυθμίζουν μια πληθώρα βιολογικών λειτουργιών. Αυτοί οι αισθητήρες ασβεστίου περιέχουν εξαιρετικά ειδικές δεσμευτικές θέσεις Ca^{2+} , το οποίο ονομάζεται EF-hand (Heizmann, 2019). Πιο συγκεκριμένα, το άνοιγμα του EF-hand εκθέτει μια υδρόφοβη επιφάνεια, η οποία δεσμεύει την αλληλουχία-στόχο, δηλαδή το ασβέστιο (Anita Lewit-

Bentley, 2000). Η δέσμευση πραγματοποιείται από το απλό γεγονός του ότι το ιόν ασβεστίου Ca^{2+} έχει την ικανότητα να προσελκύει έξι έως επτά άτομα οξυγόνου από το EF-hand (Grabarek, 2006).

3.2. Το EF-hand μοτίβο πρωτεϊνών

Ο ρόλος των πρωτεϊνών EF-hand είναι να «μεταφράζουν» αυτό το απλό ρυθμιστικό σήμα σε διάφορες λειτουργικές αποκρίσεις. Η εξαιρετική ευελιξία των EF-hand αντικατοπτρίζεται σαφώς στην αυξανόμενη βάση δεδομένων των τρισδιάστατων δομών των EF-hand πρωτεϊνών που αποκαλύπτουν μια μεγάλη ποικιλομορφία διαμορφώσεων, οργάνωσης τομέων και δομικών αποκρίσεων στο ασβέστιο (Grabarek, 2006).

Το όνομα *EF-hand* επινοήθηκε από τους Kretsinger και Nockolds το 1975 ως μια γραφική περιγραφή του μοτίβου δέσμευσης ασβεστίου που παρατηρείται στην παραλβουμίνη (*parvalbumin*). Υπήρξε μια αρκετά αντιπροσωπευτική επιλογή ονόματος, καθώς είναι περιγραφικό όχι μόνο του πολυπεπτιδικού διπλώματος που παρατηρείται σε αυτό, αλλά και της δυναμικής κίνησης που μπορεί να προκαλέσει η δέσμευση του ασβεστίου (Εικόνα 1). Αυτό το δομικό μοτίβο αποδείχθηκε ότι είναι πολύ διαδεδομένο, καθώς απαντάται σε μεγάλο αριθμό οικογενειών πρωτεϊνών. Στη μεγάλη πλειονότητα των πρωτεϊνών που έχουν μελετηθεί, το μοτίβο EF-hand πράγματι δεσμεύει το ασβέστιο ή, σε αρκετές ακόμη περιπτώσεις και το μαγνήσιο (*Mg*) (Anita Lewit-Bentley, 2000).



Εικόνα 1. Συμβολική αναπαράσταση του μοτίβου EF-hand (Anita Lewit-Bentley, 2000). Η εικόνα αυτή υποδεικνύει την έλικα E, η περιελίσσεται προς τα κάτω, στον δείκτη, και την έλικα F, η οποία περιελίσσεται προς τα πάνω, στον αντίχειρα του δεξιού χεριού. Όταν το ιόν ασβεστίου δεσμεύεται, η

έλικα F μετακινείται από την κλειστή (αποπρωτεΐνη/ apoprotein, ανοιχτό γκρι) στην ανοικτή (ολοπρωτεΐνη/holoprotein, σκούρο γκρι) διαμόρφωση.

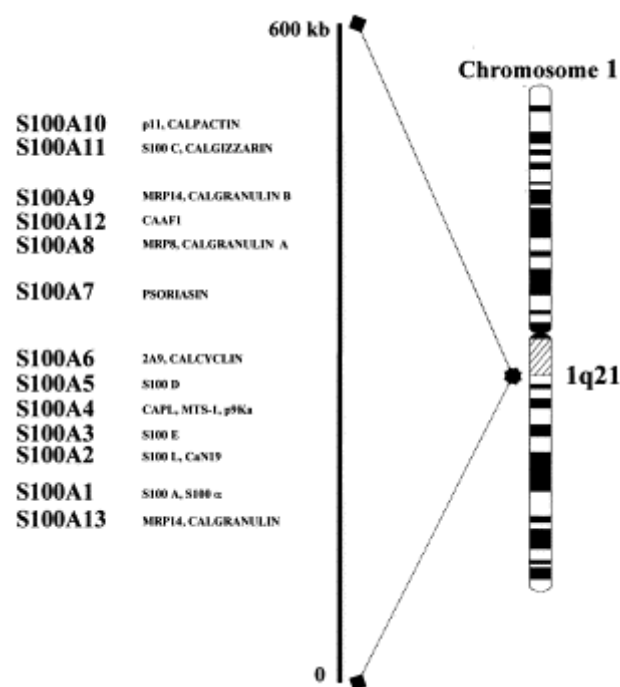
Η υπερικογένεια των πρωτεϊνών EF-hand είναι η μεγαλύτερη και πιο χαρακτηριστική ομάδα των CBPs, καθώς υπάρχουν τουλάχιστον 66 οικογένειες και 3000 καταχωρήσεις EF-hand πρωτεϊνών στην Τράπεζα Δεδομένων NCBI. Η πρώτη πρωτεΐνη EF-hand που ταυτοποιήθηκε ήταν η τροπονίνη (*troponin*), η οποία ρυθμίζει τη μυϊκή συστολή. Όλες οι πρωτεΐνες αυτής της οικογένειας μοιράζονται ένα κοινό δομικό μοτίβο που αποτελείται από έναν βρόχο δέσμησης ασβεστίου που πλαισιώνεται από δύο έλικες. Τα όξινα αμινοξέα εντός του βρόχου είναι υπεύθυνα για τη δέσμηση ασβεστίου. Παρότι υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στην αλληλουχία αμινοξέων του βρόχου δέσμησης ασβεστίου, Τα κατάλοιπα ασπαρτικού οξέος (*Asp*) είναι τα πιο συχνά εμφανιζόμενα στον βρόχο δέσμησης ασβεστίου. Τα άτομα οξυγόνου μεσολαβούν στη σταθερότητα της δέσμησης ασβεστίου από το EF-hand μέσω αλληλεπίδρασης με τα καρβονύλια της πλευρικής αλυσίδας (Delfina C. Domínguez, 2014).

Πρωτεΐνες που περιέχουν παραλλαγές στο κανονικό EF-hand ή στη δομή του EF-hand, που είναι έλικα-βρόχος-έλικα, ονομάζονται ψευδο-πρωτεΐνες EF-hand ή πρωτεΐνες που μοιάζουν με EF-hand. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των κανονικών EF-hand πρωτεϊνών και των ψευδο-πρωτεϊνών EF-hand εντοπίζονται κυρίως εντός του βρόχου δέσμησης ασβεστίου. Έτσι, ενώ ο κανονικός EF-hand βρόχος δεσμεύει το ασβέστιο κυρίως στα σημεία 1, 3, 5 και 12 της πλευρικής αλυσίδας, οι ψευδο-πρωτεΐνες EF-hand έχουν έναν μακρύτερο βρόχο όπου η δέσμηση ασβεστίου συντονίζεται από άτομα οξυγόνου στα σημεία 1, 4, 6 και 9 (Delfina C. Domínguez, 2014).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Οι πρωτεΐνες S100

Οι πρωτεΐνες S100 αποτελούν τη μεγαλύτερη υποομάδα της υπερικογένειας των πρωτεϊνών EF-hand που δεσμεύουν το ασβέστιο. Πρόκειται για μικροσκοπικές, όξινες πρωτεΐνες που υπάρχουν μόνο στα σπονδυλωτά και έχουν μοριακό βάρος που κυμαίνεται από 9 έως 13 kDa. Η πλειονότητά τους κωδικοποιείται από το χρωμόσωμα 1q21 (Εικόνα 2). Οι αραβικοί αριθμοί (*S100A1*, *S100A2*, *S100A3* κ.λπ.) χρησιμοποιούνται για την περιγραφή γονιδίων πρωτεϊνών S100 σε συγκεκριμένα χρωμοσώματα, ενώ διαφορετικοί χαρακτήρες χρησιμοποιούνται για γονίδια S100 σε άλλα χρωμοσώματα (*S100B*, *S100P*) (David Rohde, 2010). Τα γονίδια S100 παράγουν μικροσκοπικές, εκκρινόμενες πρωτεΐνες με περιοχές EF-hand (*helix-loop-helix*), οι οποίες είναι ζωτικής σημασίας για την ικανότητά τους να δεσμεύουν ασβέστιο (Peter H. Watson, 1998). Η δομική αρχιτεκτονική όλων των πρωτεϊνών S100 είναι ιδιαίτερα συντηρητική (σταθερή), αν και η ομολογία των αλληλουχιών τους κυμαίνεται μεταξύ 25-65% (Fatemeh Shabani, 2018).



Εικόνα 2. Ο φυσικός χάρτης του συμπλέγματος γονιδίων S100 στο χρωμόσωμα 1q21. Τα γονίδια είναι τοποθετημένα κατά προσέγγιση σύμφωνα με τη σχετική τους θέση και τους δίνεται η τρέχουσα ονοματολογία καθώς και τυχόν προηγούμενες ονομασίες ή συνώνυμα στα δεξιά (Peter H. Watson, 1998).

Οι πρωτεΐνες S100 εμφανίζουν ένα σχετικά μεγάλο εύρος συγγένειας με το ασβέστιο και έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν επίσης ψευδάργυρο (Zn) και χαλκό (Cu) σε θέσεις διαφορετικές από τις θέσεις πρόσδεσης ασβεστίου, με αποτέλεσμα τη διαφοροποίηση των δραστηριοτήτων τους (Heizmann, 2019).

4.1. Γενικά χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών S100

Τρία χαρακτηριστικά είναι μοναδικά για τις πρωτεΐνες S100 σε σύγκριση με άλλες πρωτεΐνες EF-hand. Πρώτον, τα δυο μοτίβα EF-hand σε κάθε μονομερές πρωτεϊνών S100 διαφέρουν ως προς την αλληλουχία αλλά και τους μηχανισμούς συντονισμού του ασβεστίου. Το καρβοξυ-τελικό άκρο (*C-terminal domain*) του EF-hand των πρωτεϊνών S100 που αποτελείται από 12 αμινοξέα, συνδέει το ασβέστιο με παρόμοιο τρόπο με την καλμοδουλίνη και την τροπονίνη C, με αποτέλεσμα να αποτελεί μια θέση υψηλότερης συγγένειας με το ασβέστιο. Αντιθέτως, το αμινο-τελικό άκρο (*N-terminal domain*) του EF-hand των πρωτεϊνών S100 που αποτελείται από 14 αμινοξέα, δεσμεύει το ασβέστιο κυρίως μέσω καρβονυλικών ομάδων (C=O) της κύριας αλυσίδας, με μοναδική εξαίρεση δισθενή πλευρική αλυσίδα του γλουταμινικού οξέος στην τελευταία θέση του βρόχου. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μια ασθενέστερη συγγένεια με το ασβέστιο. Ένα αρκετά ενδιαφέρον σενάριο για τις πρωτεΐνες S100 στο κύτταρο, είναι ότι το καρβοξυ-τελικό άκρο του EF-hand έχει μια συγγένεια με το ασβέστιο αρκετά ισχυρή ώστε θα του επέτρεπε να δεσμεύσει ιόντα ασβεστίου κατά τη διάρκεια της εισροής ασβεστίου, ενώ η συγγένεια της αμινο-τελικής θέσης είναι πιθανό να είναι πολύ αδύναμη για να δεσμεύσει ασβέστιο σε οποιοδήποτε αξιοσημείωτο επίπεδο.

Το δεύτερο χαρακτηριστικό των πρωτεϊνών S100 είναι η διμερής φύση τους. Πειράματα *in vivo* και *in vitro* έχουν δείξει ότι οι πρωτεΐνες S100 μπορούν να σχηματίζουν μη ομοιοπολικά ομοδιμερή αλλά και ετεροδιμερή. Αυτό υποδηλώνει ότι μπορεί να συμβεί δυναμική ανταλλαγή των υπομονάδων S100, ανάλογα με τους πληθυσμούς των επιμέρους μελών των πρωτεϊνών S100 σε ένα κυτταρικό διαμέρισμα (Εικόνα 1).

Τρίτον, οι πρωτεΐνες S100 εκφράζονται κατά τρόπο που είναι ειδικός για ιστούς και τα κύτταρα. Για παράδειγμα, οι S100A1 και S100A2 βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα και τον πυρήνα αντίστοιχα των λείων μυϊκών κυττάρων, ενώ η S100P βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του ιστού του πλακούντα.

Πρόσθετα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών της πολυγονιδιακής οικογένειας S100 περιλαμβάνουν την τάση τους να σχηματίζουν ένα διακριτό πρότυπο έκφρασης που είναι ειδικό για τους ιστούς, τα κύτταρα και τα στάδια ανάπτυξης και πολύ πιθανόν να είναι και ενδεικτικό υψηλού επιπέδου εξελικτικής εξειδίκευσης. Πρόσφατα, έχει βρεθεί ότι οι πρωτεΐνες S100 ρυθμίζουν τόσο φυσιολογικές όσο και παθολογικές καταστάσεις, όπως η ψωρίαση, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, διάφορες νευρολογικές διαταραχές και ένα ευρύ φάσμα καρκίνων. Αυτές οι θεμελιώδεις μοριακές και κυτταρικές λειτουργίες περιλαμβάνουν τη διαφοροποίηση, τον πολλαπλασιασμό, την υπερτροφία, την απόπτωση και την κινητικότητα των κυττάρων του οργανισμού (David Rohde, 2010).

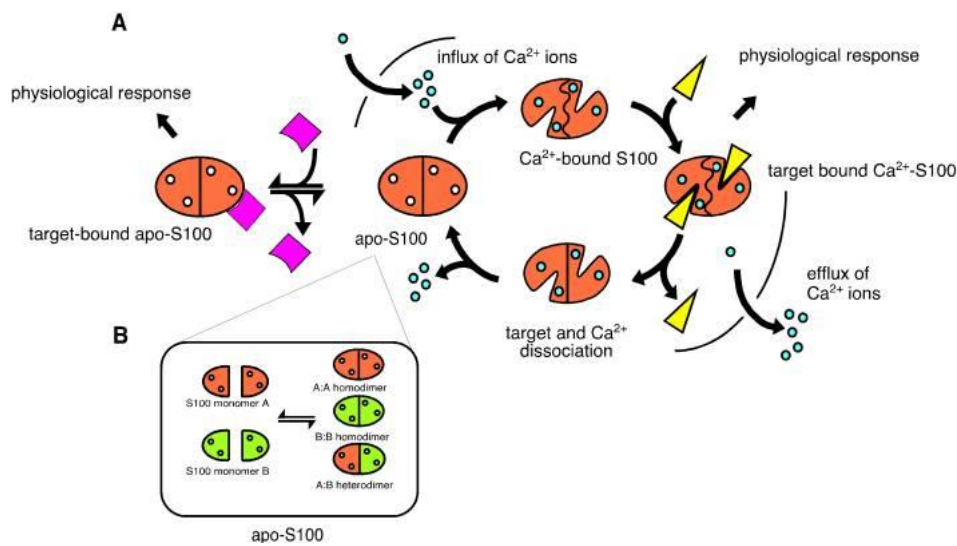
Εντός των κυττάρων, έχει αποδειχθεί ότι οι πρωτεΐνες S100 εμπλέκονται στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης, της απόπτωσης, της ομοιοστάσης του ασβεστίου, του ενεργειακού μεταβολισμού, της φλεγμονής και της μετανάστευσης ή της εισβολής μέσω αλληλεπιδράσεων με μια ποικιλία πρωτεϊνών-στόχων. Στις τελευταίες συμπεριλαμβάνονται τα ένζυμα, οι κυτταροσκελετικές υπομονάδες, οι κυτταρικοί υποδοχείς και οι μεταγραφικοί παράγοντες (R. Donato, 2013).

Οι εξωκυτταρικές πρωτεΐνες S100 δρουν με αυτοκρινή ή ακόμη και με παρακρινή τρόπο μέσω ενεργοποίησης διάφορων υποδοχέων, όπως είναι οι επιφανειακοί υποδοχείς, οι υποδοχείς συνδεδεμένοι με πρωτεΐνες G, οι υποδοχείς *scavenger* και οι πρωτεογλυκάνες και N-γλυκάνες θειικής ηπαρίνης (*heparan sulfate proteoglycans and N-glycans*). Όπως και εντός των κυττάρων, έτσι και ως εξωκυτταρικά μόρια, οι πρωτεΐνες S100 έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση, την επιβίωση και τη μετανάστευση των κυττάρων σε φυσιολογικές αλλά και παθολογικές συνθήκες, τη φλεγμονή και την αποκατάσταση των ιστών. Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι ασκούν αντιμικροβιακή δράση (R. Donato, 2013). Ορισμένες πρωτεΐνες S100 βρίσκονται επίσης στον ορό και σε άλλα βιολογικά υγρά κατά τη διάρκεια παθολογικών καταστάσεων και χρησιμοποιούνται ως δείκτες νόσου, κάτι που θα αναλυθεί περαιτέρω και επαρκώς στην συνέχεια της εργασίας.

4.2. Οι πρωτεΐνες S100 στην σηματοδότηση του ασβεστίου

Συνολικά, αυτό οδηγεί σε μια πολύπλοκη εικόνα της σηματοδότησης ασβεστίου από τις πρωτεΐνες S100 που διέπεται από την ανταλλαγή ομοδιμερών και ετεροδιμερών πρωτεϊνικών ειδών, τη δέσμευση ασβεστίου στις πρωτεΐνες, την αλληλεπίδραση με τις

πρωτεΐνες-στόχους, την κυτταρική εξειδίκευση και τη ρύθμιση της βιολογικής λειτουργίας (Εικόνα 3) (Liliana Santamaria-Kisiel, 2006).



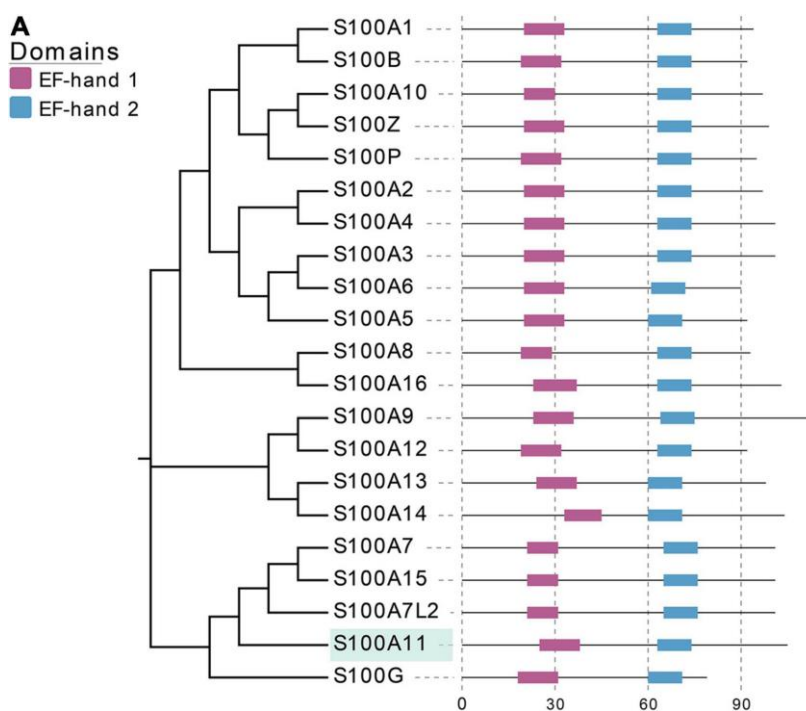
Εικόνα 3. Αλληλεπιδράσεις της οικογένειας S100 που εξαρτώνται και δεν εξαρτώνται από το ασβέστιο (Liliana Santamaria-Kisiel, 2006). Οι πρωτεΐνες S100 (σημειώνονται με πορτοκαλί χρώμα) δημιουργούν ποικίλες φυσιολογικές αποκρίσεις αλληλοεπιδρώντας με μόρια-στόχους (απεικονίζονται με ροζ και κίτρινο χρώμα). Σε χαμηλές συγκεντρώσεις ασβεστίου, οι πρωτεΐνες S100 βρίσκονται σε μια κατάσταση που δεν είναι δεσμευμένες με το ασβέστιο και ονομάζονται αποπρωτεΐνες (*apoproteins*). Όμως, κατά την εισροή ασβεστίου στο κύτταρο, που πραγματοποιείται μέσω διαύλων που ενεργοποιούνται από ειδικούς υποδοχείς, η πρωτεΐνη S100 δεσμεύει ασβέστιο και υφίσταται διαμορφωτική αλλαγή. Η αλλαγή αυτή στην διαμόρφωσή της, έχει ως αποτέλεσμα την τροποποίηση των υδρόφοβων επιφανειακών της ιδιοτήτων. Αυτή, επιτρέπει με την σειρά της στην πρωτεΐνη να αλληλοεπιδρά με ένα ευρύ φάσμα πρωτεϊνών-στόχων (απεικονίζονται με κίτρινο χρώμα) για τη διέγερση μιας φυσιολογικής απόκρισης. Η απελευθέρωση του ασβεστίου από την πρωτεΐνη S100 έχει ως αποτέλεσμα και την απομάκρυνση της πρωτεΐνης-στόχου, επιστρέφοντας έτσι την πρωτεΐνη S100 στην αποπρωτεϊνική της κατάσταση. Αν και η πλειονότητα των αλληλεπιδράσεων πρωτεϊνών S100 και πρωτεϊνών-στόχων είναι εξαρτώμενες από την πρόσδεση του ασβεστίου, έχει αποδειχθεί ότι ορισμένα μέλη της οικογένειας S100, αλληλοεπιδρούν με πρωτεΐνες-στόχους (απεικονίζονται με ροζ χρώμα) με τρόπο ανεξάρτητο από την προήγηση της πρόσδεσης του ασβεστίου.

Τέλος, έχει αποδειχθεί με διάφορα *in vitro* και *in vivo* πειράματα ότι οι διμερείς πρωτεΐνες S100 μπορούν να ανταλλάξουν υπομονάδες με άλλα μέλη των πρωτεϊνών S100 για να σχηματίσουν ομοδιμερή και ετεροδιμερή, αρκεί να ανήκουν στον ίδιο κυτταρικό τύπο (Liliana Santamaria-Kisiel, 2006).

4.2. Το EF-hand μοτίβο στις πρωτεΐνες S100

Η παρουσία δύο θέσεων πρόσδεσης ασβεστίου στο EF-hand, δηλαδή η χαρακτηριστική διαμόρφωση έλικας-βρόγχου-έλικας, αποτελεί μοναδικό και κοινό χαρακτηριστικό όλων των πρωτεϊνών S100. Το κλασικό μοτίβο πρόσδεσης ασβεστίου υπάρχει στο καρβοξυ-

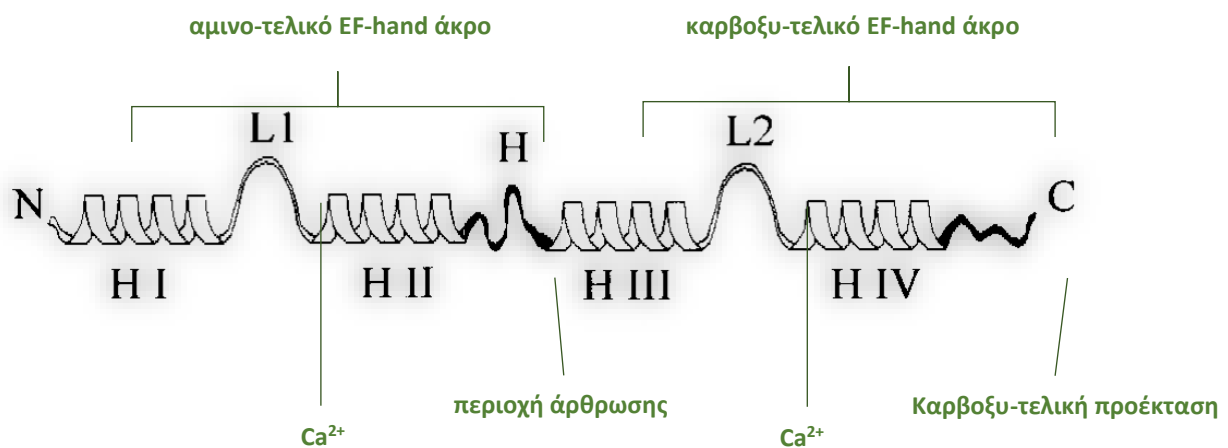
τελικό άκρο (*C-terminal domain*) των πρωτεϊνών, ενώ το μοτίβο πρόσδεσης ασβεστίου που υπάρχει στο αμινο-τελικό άκρο (*N-terminal domain*), γνωστό και ως ψευδο-EF-hand ή S100 EF-hand, περιέχει δύο επιπλέον αμινοξέα (Εικόνα 3). Κατά συνέπεια, το ασβέστιο δεσμεύεται σε κάθε EF-hand με μεταβλητή συγγένεια, και συγκεκριμένα με μια σταθερά διαχωρισμού (K_d) από 10 έως 50 μM για το καρβοξυ-τελικό EF-hand, και από 200 έως 500 μM για το αμινο-τελικό EF-hand. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η συγγένεια των πρωτεϊνών S100 με το ασβέστιο τροποποιείται από μεταμεταφραστικούς μηχανισμούς, με αποτέλεσμα η δέσμευση του ασβεστίου στις πρωτεΐνες S100 και η επακόλουθη ενεργοποίηση των συγκεκριμένων πρωτεϊνών να πραγματοποιείται φυσιολογικά μόνο σε πολύ χαμηλή συγκέντρωση ασβεστίου (David Rohde, 2010).



Εικόνα 4. Οι περιοχές EF-hand των πρωτεϊνών της οικογένειας S100. Το EF-hand 1 αντιπροσωπεύει το ψευδο-EF-hand (αμινο-τελικό άκρο), ενώ το EF-hand 2 αντιπροσωπεύει το κλασικό EF-hand (καρβοξυ-τελικό άκρο) (Julie Mondet, 2021).

Οι δύο δομές EF-hand που υπάρχουν στις πρωτεΐνες S100 συνδέονται μεταξύ τους με μια ενδιάμεση περιοχή συνδέσμου, που συνήθως αναφέρεται στην βιβλιογραφία ως *περιοχή άρθρωσης*. Ακόμη, η διάταξη έλικας-βρόχου-έλικας στο καρβοξυ-τελικό άκρο ακολουθείται από μια καρβοξυ-τελική επέκταση (Εικόνα 5). Τα μέλη της οικογένειας των

πρωτεϊνών S100 διαφέρουν μεταξύ τους κυρίως ως προς το μήκος και την αλληλουχία τόσο της περιοχής άρθρωσης όσο και της καρβοξυ-τελικής προέκτασης και για αυτόν τον λόγο έχει προταθεί ότι η διαφορετικότητα των τμημάτων αυτών ευθύνεται για την ειδική βιολογική δραστηριότητα που παρατηρείται σε κάθε μεμονωμένη πρωτεΐνη S100 . Ακόμη, είναι ενδιαφέρον και πρέπει να τονιστεί ότι η πρόσδεση του ασβεστίου στις πρωτεΐνες S100 - με μοναδική εξαίρεση την S100A10- οδηγεί σε μια σημαντική αλλαγή της διαμόρφωσης τους, η οποία χαρακτηρίζεται από το σχηματισμό ενός υδρόφοβου θύλακα που περιέχει κατάλοιπα της περιοχής άρθρωσης και της καρβοξυ-τελικής επέκτασης. Επομένως, έχει θεωρηθεί πιθανό ότι οι δύο αυτές περιοχές, αντιπροσωπεύουν τις κύριες θέσεις αλληλεπίδρασης με τις πρωτεΐνες-στόχους (David Rohde, 2010).



Εικόνα 5. Σχηματική απεικόνιση της δευτεροταγούς δομής μιας πρωτεΐνης S100. Κάθε μονομερές S100 αποτελείται από ένα επαναλαμβανόμενο μοτίβο EF-hand, ενώ το αμινο-τελικό (*N-terminal domain*) και το καρβοξυ-τελικό (*C-terminal domain*) EF-hand συνδέονται με μια περιοχή που λειτουργεί ως σύνδεσμος (περιοχή άρθρωσης). Η περιοχή άρθρωσης και η καρβοξυ-τελική προέκταση εμφανίζουν τη μεγαλύτερη μεταβλητότητα αλληλουχίας μεταξύ των μεμονωμένων μελών της οικογένειας των πρωτεϊνών S100. Αναπαραγωγή με τροποποιήσεις από (Donato, 2003).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

Οι λειτουργίες των πρωτεϊνών S100

Οι πρωτεΐνες της οικογένειας S100 έχουν μια πληθώρα ενδοκυτταρικών και εξωκυτταρικών λειτουργιών, οι οποίες βασίζονται στην ολιγομερή μορφή τους, τη συγκέντρωσή τους και τις μετα-μεταγραφικές και μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις τους. Έχει επιβεβαιωθεί ότι οι πρωτεΐνες της οικογένειας S100 δρουν με ποικίλες πρωτεΐνες-στόχους και υποδοχείς και με αυτόν τον τρόπο διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της φλεγμονής, στη ρύθμιση του κυτταρικού σκελετού, στην κυτταρική διαφοροποίηση, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στον ενεργειακό μεταβολισμό, στην απόπτωση και, φυσικά, στην ομοιόσταση του ασβεστίου (Gopalkrishna Sreejit, 2020). Αυτές οι λειτουργίες των πρωτεϊνών S100 συνοψίζονται εν συντομία στην Εικόνα 6 και αναλύονται λεπτομερώς παρακάτω.

Οι πρωτεΐνες S100 χωρίζονται σε τρεις κύριες ομάδες με βάση τις λειτουργικές τους δραστηριότητες:

a. οι πρωτεΐνες S100 που έχουν τόσο ενδοκυτταρικές όσο και εξωκυτταρικές ιδιότητες

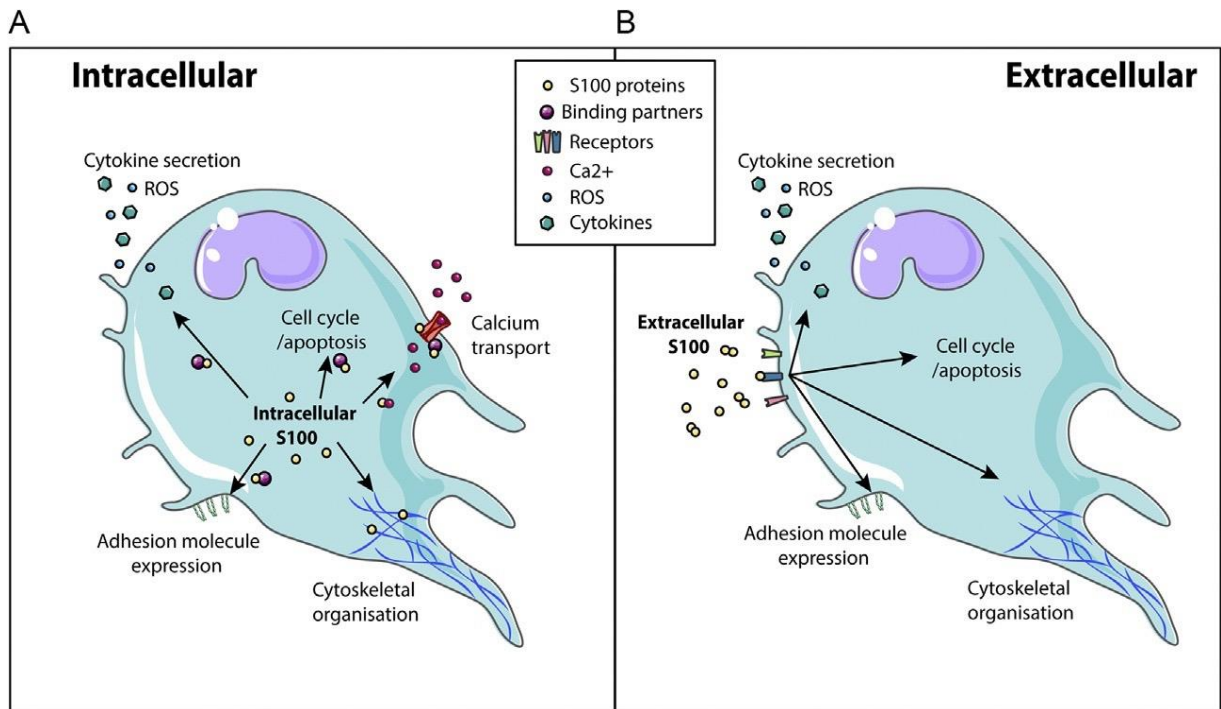
Ορισμένες πρωτεΐνες S100 απελευθερώνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον και μπορεί να επιτελούν εξωκυττάρια δράσεις εκτός από τις ενδοκυττάρια αρμοδιότητές τους. Η S100B, η οποία ανήκει σε αυτή την υποομάδα, είναι γνωστό ότι αλληλοεπιδρά άμεσα με την πυρηνική πρωτεϊνική κινάση που σχετίζεται με τον παράγοντα Dbf2 ή NDR κινάση (*Dbf2-related protein kinase* ή *NDR kinase*), ενώ η εξωκυτταρική S100B μπορεί επίσης να ενεργοποιήσει την πρωτεϊνική κινάση που ρυθμίζεται από το εξωκυτταρικό σήμα (*Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase* ή *ERK*) και τον παράγοντα *NFκB* στα χονδροκύτταρα μέσω της σύνδεσης της με τον υποδοχέα των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοποίησης (*RAGE*) που βρίσκεται στην κυτταρική επιφάνεια.

b. οι πρωτεΐνες S100 που έχουν κυρίως ενδοκυτταρικές ιδιότητες

Για παράδειγμα, η S100A1 εκφράζεται κυρίως στους γραμμωτούς μύες (περισσότερο συχνά στον καρδιακό μυ) και ασκεί μόνο ενδοκυττάρια ρυθμιστικές επιδράσεις, όπως είναι η ρύθμιση της ανακύκλωσης του ασβεστίου στο ενδοπλασματικό δίκτυο

c. οι πρωτεΐνες S100 που ασκούν μόνο εξωκυτταρικές λειτουργίες.

Όπως είναι η πρωτεΐνη S100A15, η οποία ασκεί κυρίως εξωκυτταρικές ρυθμιστικές λειτουργίες. Αυτές οι πρωτεΐνες S100 θεωρούνται δυνητικοί θεραπευτικοί στόχοι για διάφορες ανθρώπινες διαταραχές, όπως η αρθρίτιδα, ο καρκίνος και η νόσος του Alzheimer (Chang Xia, 2018).



Εικόνα 6. Επισκόπηση των γενικών λειτουργιών των πρωτεϊνών S100 στον έλεγχο της κυτταρικής λειτουργίας (Gopalkrishna Sreejit, 2020).

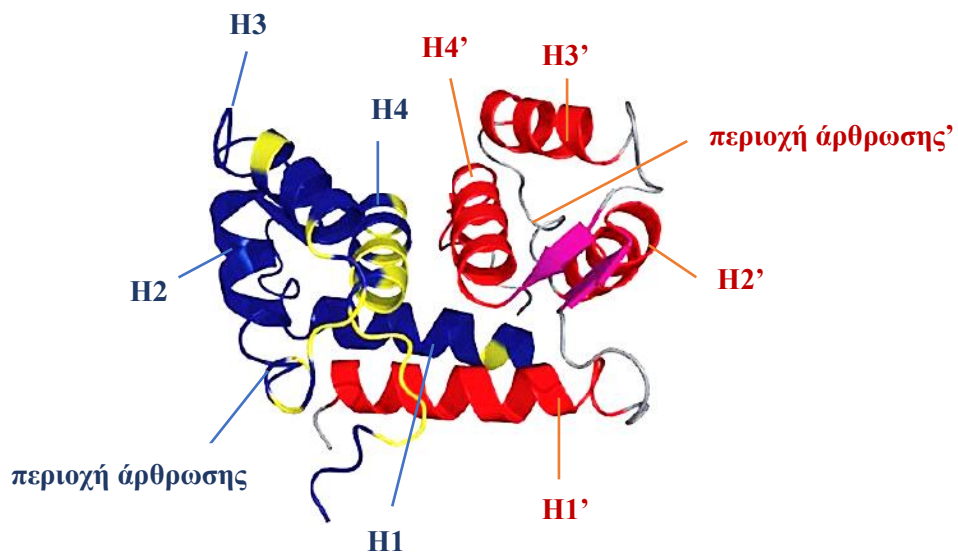
(Α) Οι πρωτεΐνες της οικογένειας S100 ρυθμίζουν μια ποικιλία συνεργατών πρόσδεσης, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που εμπλέκονται στον έλεγχο της παραγωγής και της απελευθέρωσης κυτταροκινών και δραστικών ειδών οξυγόνου (ROS), της μεταφοράς ασβεστίου (τόσο μέσω άμεσα δεσμευτικών καναλιών ασβεστίου όσο και μέσω ρυθμιστών ασβεστίου), του κυτταρικού κύκλου, της απόπτωσης, της έκφρασης μορίων προσκόλλησης και της πρόσδεσης σε συστατικά του κυτταροσκελετού, προκειμένου να δράσουν ενδοκυτταρικά.

(Β) Οι πρωτεΐνες S100 που εκκρίνονται στο κυτταρόπλασμα μπορούν επίσης να λειτουργήσουν ως μοριακά μοτίβα που σχετίζονται με βλάβες (Damage Associated Molecular Patterns ή DAMPs), για να επικοινωνήσουν με άλλα κύτταρα ή μόρια μέσω μιας ποικιλίας υποδοχέων κυτταρικής επιφάνειας. Αυτή η δέσμευση θα ενεργοποιήσει συγκεκριμένα μονοπάτια σηματοδότησης, με σκοπό να επιφέρει αλλαγές στην παραγωγή κυτταροκινών/ROS, στον κυτταρικό κύκλο, στην απόπτωση, στην έκφραση μορίων προσκόλλησης καθώς και αλλαγές στην αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού και την μετανάστευση των κυττάρων.

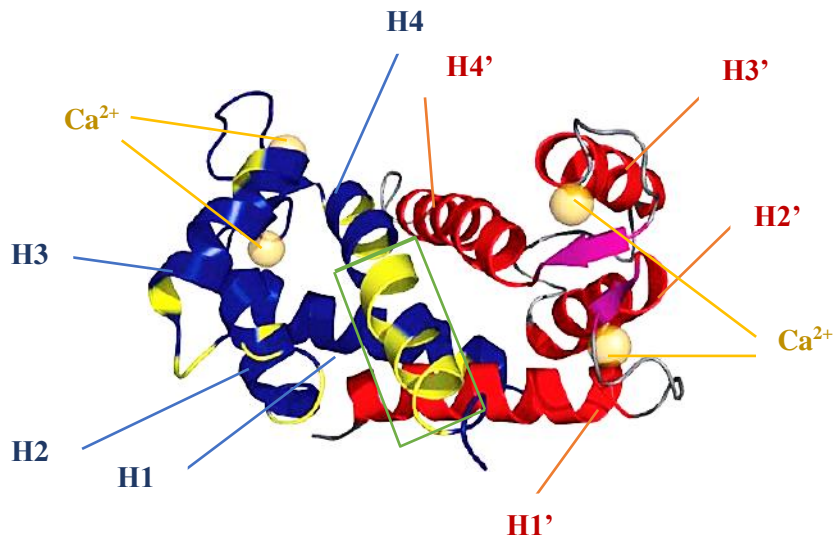
5.1. S100A1

Η πρωτεΐνη S100A1 ως μονομερές και με μοριακό βάρος 10.4 kDa, αντικατοπτρίζει στην πραγματικότητα, τη μοριακή αρχιτεκτονική που μοιράζονται όλα τα μέλη της οικογένειας

των πρωτεϊνών S100. Έτσι, σε κάθε EF-hand της S100A1, ο βρόχος δέσμευσης ασβεστίου πλαισιώνεται από α -έλικες, έτσι ώστε οι έλικες I και II να περικλείουν το αμινο-τελικό άκρο και οι έλικες III και IV το καρβοξυ-τελικό άκρο, αντίστοιχα (Εικόνα 6). Εντός των κυττάρων, η επικρατούσα μορφή της είναι ένα ομοδιμερές δύο μορίων S100A1. Ο διμερισμός της S100A1 λαμβάνει χώρα συμμετρικά και αντιπαράλληλα με τη δέσμευση του ασβεστίου σε αυτήν και αυτό πραγματοποιείται μέσω υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ελίκων κάθε μονομερούς (Εικόνα 7) (David Rohde, 2010).



Εικόνα 7. Η τρισδιάστατη δομή της πρωτεΐνης S100A1 όπως προσδιορίστηκε με φασματοσκοπία NMR. Στην χρονική περίοδο κατά την οποία δεν είναι δεσμευμένη με το ασβέστιο (*apoprotein*), η S100A1 υπάρχει ως ομοδιμερές. Ο διμερισμός αυτός πραγματοποιείται με αντιπαράλληλο τρόπο και σταθεροποιείται από υδρόφοβους δεσμούς μεταξύ των ελίκων H1 και H1' (David Rohde, 2010).



Εικόνα 8. Η αλλαγή της πρωτεϊνικής διαμόρφωσης της S100A1 κατά τη δέσμευση ιόντων ασβεστίου τόσο στο αμινο-τελικό όσο και το καρβοξυ-τελικό EF-hand έχει ως αποτέλεσμα την αποκάλυψη υδρόφοβων αμινοξέων που είναι σημαντικά για την αλληλεπίδραση με μόρια-στόχους. Τα αμινοξέα αυτά τονίζονται στην παραπάνω εικόνα σε ένα πράσινο πλαίσιο (David Rohde, 2010).

Η S100A1 εκφράζεται άφθονα στις σκελετικές μυϊκές ίνες, στα κύτταρα του μυοκαρδίου (η αριστερή κοιλία έχει τα μεγαλύτερα επίπεδα έκφρασης) και σε ορισμένους πληθυσμούς νευρικών κυττάρων. Εντός αυτών των κυττάρων, βρίσκεται διάχυτη στο κυτταρόπλασμα και συνδέεται με συστατικά του κυτταρικού σκελετού και των μιτοχονδρίων (R. Donato, 2013) (S. DUARTE-COSTA, 2014).

Η S100A1 εντοπίζεται κατά πλειονότητα στο μυοκάρδιο του ανθρώπου, με χαμηλότερες συγκεντρώσεις της συγκεκριμένης πρωτεΐνης στη δεξιά κοιλία και τους κόλπους και υψηλότερες συγκεντρώσεις στην αριστερή κοιλία. Συγκριτικές έρευνες έδειξαν ότι μια ποικιλία ζώων, συμπεριλαμβανομένων των τρωκτικών και των μεγαλύτερων θηλαστικών, εκφράζουν την S100A1 με παρόμοιο τρόπο. Τα επίπεδα του mRNA και της πρωτεΐνης S100A1 των κυττάρων του μυοκαρδίου στα ποντίκια αυξάνονται σταδιακά κατά τη διάρκεια του σχηματισμού της καρδιάς και προτού φτάσουν στο οροπέδιο της μεταγεννητικής τους κατάστασης. Η S100A1 βρίσκεται κυρίως στα κύτταρα του μυοκαρδίου μεταξύ των κυτταρικών τύπων που τυπικά υπάρχουν στο μεταγεννητικό μυοκάρδιο, ενώ δεν υπάρχει καμία ένδειξη ότι εκφράζεται στους καρδιακούς ινοβλάστες (David Rohde, 2010). Η S100A1 ανακαλύπτεται και στο εξωκυττάριο διαμέρισμα, μετά από ισχαιμία του μυοκαρδίου (R. Donato, 2013).

Οι αρχικές ενδείξεις για τη λειτουργική της σημασία προήλθαν από δεδομένα που έδειξαν ότι τα επίπεδα τόσο του mRNA, όσο και της πρωτεΐνης S100A1 είναι μειωμένα σε κύτταρα του καρδιακού μυός που πάσχουν από ανεπάρκεια. Επιπλέον, τα επίπεδα της

S100A1 έχουν συνδεθεί με αρνητικό τρόπο με τη σοβαρότητα της καρδιακής ανεπάρκειας. Στην πραγματικότητα, φαίνεται ότι η επαρκής λειτουργία της καρδιάς απαιτεί επίπεδα πρωτεΐνης S100A1 άνω του 50%. Η υπερέκφραση της S100A1 στα κύτταρα του καρδιακού μυός μειώνει τη θνησιμότητα σε περίπτωση εμφράγματος του μυοκαρδίου, ενώ έχει ακόμη αποδειχθεί ότι αποτρέπει τη μεταϊσχαιμική καρδιακή ανεπάρκεια σε κύτταρα του μυοκαρδίου ποντικού. Η S100A1 έχει αποδειχθεί ότι βελτιώνει σημαντικά την καρδιακή λειτουργία, ιδιαίτερα εν παρουσία αιμοδυναμικού στρες.

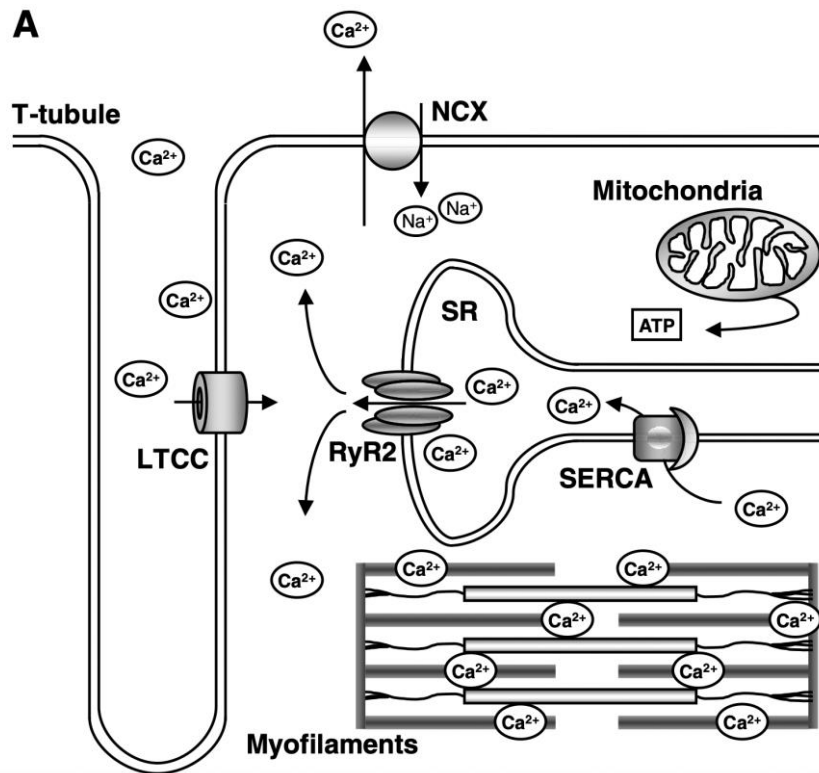
Πολυάριθμες μελέτες που έγιναν κατά διαστήματα σε ποντίκια, αρουραίους και κουνέλια, έχουν δείξει ότι η υπερέκφραση της πρωτεΐνης S100A1 έχει ως αποτέλεσμα αυξημένες μεταβατικές τάσεις ιόντων ασβεστίου και βελτιωμένη συσταλτική απόδοση των διεγερμένων κυττάρων του μυοκαρδίου. Ακόμη, η αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης S100A1 με πρωτεΐνες-στόχους που εμπλέκονται στη διαχείριση του ασβεστίου, φαίνεται να έχει επίδραση και στις συσταλτικές ικανότητες των καρδιακών κυττάρων. Παραδόξως, τα υψηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης S100A1 επηρεάζουν τη λειτουργία των κυττάρων του μυοκαρδίου τόσο σε διαστολικό όσο και σε συστολικό επίπεδο (Εικόνα 6) (David Rohde, 2010).

Ο λόγος για τον οποίο η πρωτεΐνη S100A1 διαδραματίζει τόσο σημαντικό ρόλο στην ομαλή καρδιακή λειτουργία, είναι ότι ένας από τους κύριους παράγοντες πίσω από την εμφάνιση της καρδιακής ανεπάρκειας είναι η διαταραχή του κύκλου του ασβεστίου. Έτσι, καθώς η πρωτεΐνη S100A1 αποτελεί μια πρωτεΐνη δέσμησης και ελέγχου του ασβεστίου, επόμενο είναι να συμμετέχει και στην ρύθμιση της καρδιακής λειτουργίας (S. DUARTE-COSTA, 2014).

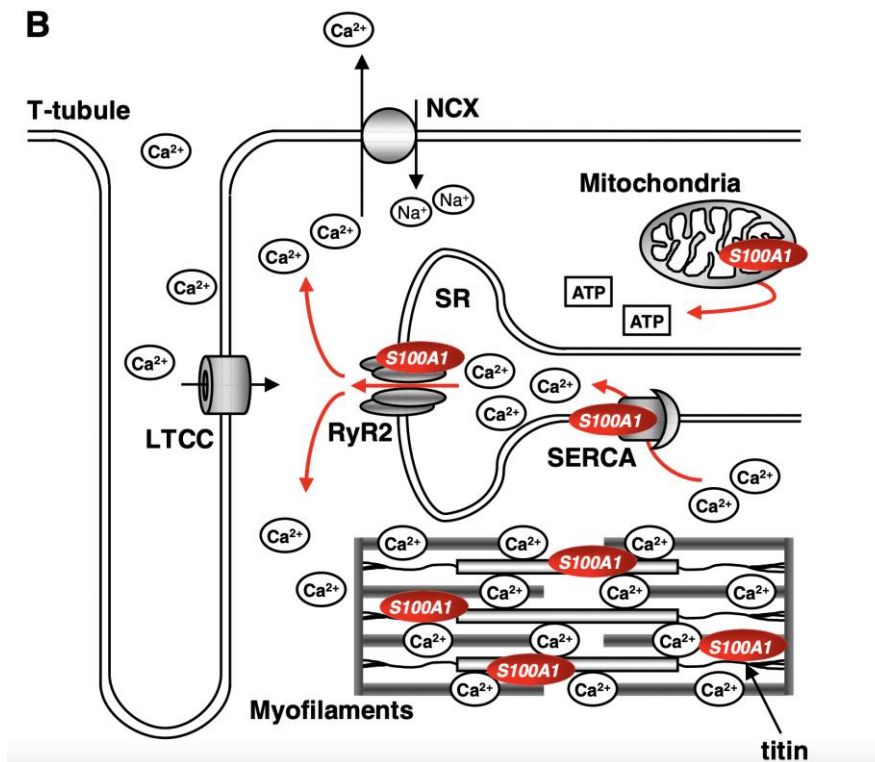
Πιο συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι η ενδοθηλίνη-1 (*ET-1*) και η φαιλυλεφρίνη, μέσω ρύθμισης της πρωτεϊνικής κινάσης C (*Protein Kinase C*), μειώνουν τα επίπεδα του mRNA που εκφράζει την πρωτεΐνη S100A1. Επομένως, είναι πολύ πιθανόν, τα αυξημένα επίπεδα της ET-1 και της φαιλυλεφρίνης να συμβάλλουν στη μείωση των επιπέδων της S100A1 που παρατηρείται στην καρδιακή ανεπάρκεια (S. DUARTE-COSTA, 2014).

Όπως έχει παρατηρηθεί σε πολυάριθμες μελέτες, η πρωτεΐνη S100A1 ρυθμίζει τη λειτουργία του γονιδίου RyR2 (*Ryanodine Receptor 2*) τόσο υπό διαστολικές όσο και υπό συστολικές συνθήκες (David Rohde, 2010). Αυτό το γονίδιο κωδικοποιεί έναν υποδοχέα ρυανοδίνης που βρίσκεται στο σαρκοπλασματικό δίκτυο του καρδιακού μυ. Η πρωτεΐνη

που κωδικοποιείται είναι ένα από τα συστατικά ενός διαύλου ασβεστίου, αποτελούμενου από ένα τετραμερές των πρωτεϊνών του υποδοχέα της ρυανοδίνης και ένα τετραμερές των πρωτεϊνών 1B, το οποίο παρέχει ασβέστιο στον καρδιακό μυ. Οι μεταλλάξεις σε αυτό το γονίδιο σχετίζονται με την επαγόμενη από το στρες πολυμορφική κοιλιακή ταχυκαρδία και την δυσπλασία της δεξιάς κοιλίας (RefSeq, 2008).



Εικόνα 9. Προτεινόμενο μοντέλο που απεικονίζει τις μοριακές αλληλεπιδράσεις της πρωτεΐνης S100A1 στα κύτταρα του μυοκαρδίου. Κατά τη διάρκεια της σύζευξης διαστολής-συστολής, το εξαρτώμενο από την τάση άνοιγμα του διαύλου ασβεστίου τύπου L (*L-type Ca^{2+} channel* ή *LTCC*) οδηγεί σε μια διασαρκολεμφική είσοδο του ασβεστίου που πυροδοτεί την απελευθέρωση ιόντων ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο (*Sarcoplasmic Reticulum* ή *SR*) μέσω του υποδοχέα ρυανοδίνης 2 (*RyR2*). Τα αυξημένα επίπεδα σαρκοπλασματικού ασβεστίου έχουν τελικά ως αποτέλεσμα την κυκλική διασταυρούμενη γέφυρα των μυοϊνιδίων και την ανάπτυξη μηχανικής δύναμης. Κατά τη διάρκεια της διαστολής, η επανασυγκέντρωση του σαρκοπλασματικού ασβεστίου στο SR λειτουργεί από την SR Ca^{2+} ΑΤΡάση (*SERCA*). Για να διατηρηθούν συνθήκες σταθερής κατάστασης, η NCX ασκεί διασωληναριακή εξώθηση του ασβεστίου, σε ισορροπία με την είσοδο αυτού που πραγματοποιείται από την LTCC (David Rohde, 2010).



Εικόνα 10. Η S100A1 αλληλοεπιδρά με τους παράγοντες RyR2 και SERCA και είναι παρών στα μιτοχόνδρια και τους μυοϊνοσυνδέσμους. Τα αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης S100A1 ενισχύουν τη συστολική απελευθέρωση ασβεστίου από το σαρκοπλασματικό δίκτυο μέσω του RyR2 χωρίς να επηρεάζουν την είσοδο ασβεστίου που μεταφέρεται από τον υποδοχέα LTCC. Η αυξημένη συστολική απελευθέρωση SR ασβεστίου αντισταθμίζεται από την αυξημένη δραστηριότητα SERCA και τη μειωμένη διαρροή SR Ca^{2+} κατά τη διάρκεια της διαστολής, βελτιώνοντας συνολικά τον κύκλο SR Ca^{2+} και την παραγωγή μηχανικής δύναμης. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση του S100A1 με τη μιτοχονδριακή F1-ATPάση οδηγεί σε αυξημένη σύνθεση ATP και ενισχυμένη παροχή ενέργειας. Τέλος, η προσυντακτική παθητική τάση των μυοϊνιδίων μειώνεται από την παρέμβαση της S100A1 στην αλληλεπίδραση τιτίνης-ακτίνης στο σαρκομέριο (David Rohde, 2010).

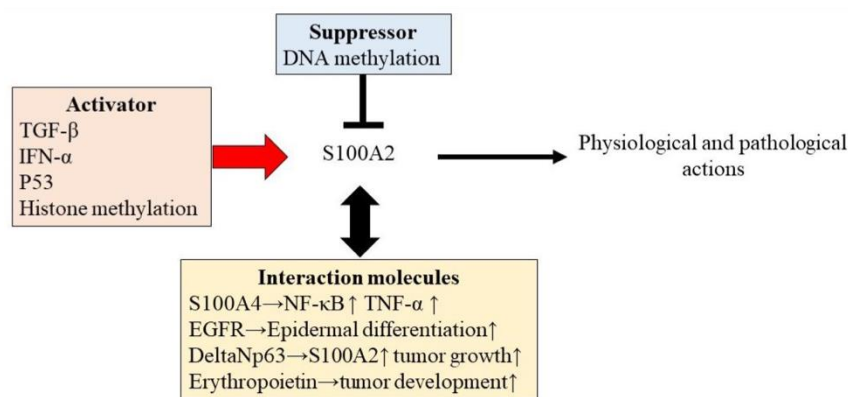
5.2. S100A2

Η πρωτεΐνη S100A2 εντοπίζεται κυρίως σε επιθηλιακά κύτταρα. Ειδικότερα, έχει αποδειχθεί πειραματικά ότι εκφράζεται συγκεκριμένα στα κερατινοκύτταρα σε διμερή μορφή. Εντοπίζεται κυρίως στον πυρήνα των κυττάρων και λιγότερο συχνά στο κυτταρόπλασμα (Hitomi Sugino, 2022).

Ωστόσο, αυτό το πρότυπο κατανομής της S100A2 μεταβάλλεται από διάφορα ερεθίσματα στρες, όπως το οξειδωτικό στρες, το οποίο ενισχύει την κυτταροπλασματική μετατόπιση της S100A2 από τον πυρήνα. Το φαινόμενο αυτό μπορεί να παρατηρηθεί σε συνθήκες αυξημένων ενδοκυττάρων επιπέδων ασβεστίου. Με αυτόν τον τρόπο, η

κυτταροπλασματική S100A2 απελευθερώνεται από τα κύτταρα που περιέχουν S100A2 λόγω του κυτταρικού θανάτου (Hitomi Sugino, 2022).

Πολυάριθμες κακοήθειες παρουσιάζουν μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης 100A2, ενώ η απώλεια της έκφρασης της στον πυρήνα των κυττάρων συνδέεται με κακή πρόγνωση. Κατά συνέπεια, η ενίσχυση της πρωτεΐνης p53 είναι ένας πιθανός μηχανισμός με τον οποίο η S100A2, μια πρωτεΐνη που καταστέλλει τον όγκο, συνδέεται με την περιοχή μεταστροφής της p53. Οι άλλοι ρόλοι της S100A2, ωστόσο, είναι άγνωστοι, αν και έχει βρεθεί υπεραυξημένη ποσότητα αυτής σε αρκετές κακοήθειες. Η S100A2 αποτελεί χημειοτακτικό στοιχείο για τα ηωσινόφιλα και μπορεί να εμπλέκεται στην ασβεστοποίηση του χόνδρου/οστού (R. Donato, 2013).



Εικόνα 11. Η ρύθμιση της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A2 (Hitomi Sugino, 2022). Σύμφωνα με μια πρόσφατη μελέτη, η S100A2 αλληλοεπιδρά με διάφορους ενεργοποιητές και καταστολείς, προκειμένου να βελτιώσει τη ρυθμιστική της ικανότητα (*interaction molecules*). Άλλες πρωτεΐνες της οικογένειας S100, όπως η S100A4, αλληλοεπιδρούν με την S100A2. Μέσω αυτής της διασταυρούμενης αλληλεπίδρασης με την S100A4, αυξάνεται η παραγωγή NF-κB και TNF-α, η οποία προκαλείται από την οξείδωση καταλοίπων κυστεΐνης με τη μεσολάβηση χαλκού. Από την άλλη πλευρά, η ερυθροποιητίνη και η S100A2 μπορούν να αλληλοεπιδράσουν για να προάγουν την ανάπτυξη όγκου. Η αλληλεπίδραση αυτή της S100A2 με την ερυθροποιητίνη έχει βρεθεί να είναι σημαντική σε ορισμένες περιπτώσεις, όπως ο σχηματισμός όγκων που κυριαρχεί η ερυθροποιητίνη (*erythropoietin-dominant tumor development*), καθώς η **S100A2 ρυθμίζει την ανάπτυξη όγκων σε όλους σχεδόν τους καρκίνους**.

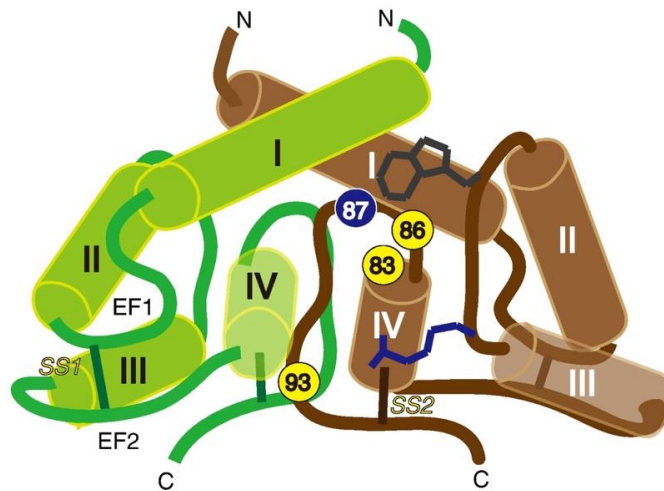
Η έκφραση της πρωτεΐνης S100A2 και οι λειτουργίες της ποικίλλουν σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με τη νόσο. Σύμφωνα με μια πολύ πρόσφατη ανασκόπηση, η S100A2 δρα ως κατασταλτικός παράγοντας του όγκου. Ωστόσο, η επίδραση της έκφρασής της ποικίλλει σε μεγάλο βαθμό ανάλογα με τον τύπο του κακοήθους όγκου. Ειδικότερα, έχει βρεθεί ότι

η έκφραση της S100A2 μεταβάλλεται τόσο στην πρώιμη όσο και στην προχωρημένη φάση των κακοήθων όγκων, καθώς και ότι η S100A2 επηρεάζει την πρόγνωση αυτών των κακοηθειών (Hitomi Sugino, 2022).

5.3. S100A3

Η πρωτεΐνη S100A3 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στα επιδερμικά κύτταρα των θυλάκων των τριχών και οργανώνεται στην ώριμη επιδερμίδα της τρίχας που λειτουργεί ως φυσικός και χημικός φραγμός. Η S100A3 ξεχωρίζει μεταξύ των υπολοίπων πρωτεϊνών S100 ως προς την υψηλότερη περιεκτικότητα της σε κυστεΐνη (cysteine) (Εικόνα 9) και με τον τρόπο αυτόν μπορεί να προστατεύει την τρίχα από οξειδωτικές βλάβες (Kenji Kizawa, 2013) (R. Donato, 2013). Εικάζεται, ακόμη, ότι παίζει ρόλο στη διαφοροποίηση των επιθηλιακών κυττάρων και στην ανάπτυξη του εξαρτώμενου από το ασβέστιο φραγμού μεταξύ της επιδερμίδας και των τριχών (R. Donato, 2013). Η πρωτεΐνη S100A3 έχει επίσης την ικανότητα να δεσμεύει ψευδάργυρο (Zn), σε θέσεις διαφορετικές από τις θέσεις πρόσδεσης ασβεστίου.

Η S100A3 αποτελείται από 101 αμινοξέα, με κάθε μονομερές της περιλαμβάνει τέσσερα κατάλοιπα αργινίνης (R3, R22, R51 και R77). Παρά το γεγονός ότι η S100A3 βρίσκεται συχνά ως διμερές, έχει προταθεί ότι η κιτρουλίωση της αργινίνης R51 από το ένζυμο PAD3 στο διμερές της S100A3 έχει ως αποτέλεσμα την ταυτόχρονη κατασκευή ενός ομοτετραμερούς (Kenji Ite, 2020). Η διαδικασία της κιτρουλίωσης, δηλαδή η μετα-μεταφραστική μετατροπή της αργινίνης σε κατάλοιπα κιτρουλίνης (*citrulline*), καταλύεται από το ένζυμο πεπτιδυλαργινική δεϊμινάσης (*peptidylarginine deiminase* ή *PAD*) που υπάρχει στα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα (*PMNs*) (Tal Gazitt, 2016). Επιπροσθέτως, έχει παρατηρηθεί ότι η κιτρουλίωση της S100A3 και η βλάβη της τρίχας σχετίζονται μεταξύ τους. Τέλος, είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι η εξέλιξη της τρίχας των θηλαστικών συνδέεται άμεσα με την πρωτεΐνη S100A3 και το ένζυμο PAD3 (Kenji Ite, 2020).



Εικόνα 12. Αντιπροσωπευτική δομή του διμερούς apo-S100A3 (Kenji Kizawa, 2013). Η πρωτεΐνη S100A3 στην αποπρωτεϊνική της μορφή αποτελείται από δύο υπομονάδες (με πράσινο και καφέ), οι οποίες με την σειρά τους διαθέτουν τέσσερις έλικες η καθεμία (I-IV). Στην πράσινη υπομονάδα επισημαίνεται το σημείο SS1 που συνδέει το αμινοξύ Cys30 στο αμινο-τελικό βρόχο πρόσδεσης ασβεστίου του EF-hand (EF-1) και το αμινοξύ Cys68 στο καρβοξυ-τελικό EF-hand (EF-2). Στην καφέ υπομονάδα επισημαίνεται το σημείο SS2 που συνδέει το αμινοξύ Cys99 στη καρβοξυ-τελική προέκταση και το αμινοξύ Cys81 στην έλικα IV. Οι SS1 και SS2 σε κάθε άλλη υπομονάδα εντοπίζονται πίσω από τις ημιδιαφανείς έλικες. Τα αμινοξέα Cys83, Cys86, Cys93 και His87 που συντονίζουν από μία θέση πρόσδεσης ψευδαργύρου το καθένα, υποδεικνύονται με κίτρινους και μπλε κύκλους στην καφέ υπομονάδα.

5.4. S100A4

Η S100A4 ονομάζεται επίσης και ειδική για ινοβλάστες πρωτεΐνη 1 (*fibroblast-specific protein 1* ή *Fsp1*) ή και μεταστασίνη 1 (*metastasin 1* ή *MTS1*) (Nadia D'Ambrosi, 2021). Η πιο γνωστή λειτουργία της είναι η πρόκληση και προώθηση της μετάστασης των όγκων. Εκτός από αυτή τη λειτουργία, η S100A4 εμπλέκεται επίσης στην παθοφυσιολογία φλεγμονωδών και αυτοάνοσων διαταραχών. Εντός του κυττάρου, η παρουσία της S100A4 σχετίζεται με την απόπτωση, τη μετανάστευση και τη διατήρηση της κυτταρικής βλαστικότητας (Zhenzhen Li, 2020).

Η S100A4 βρίσκεται κυρίως στο κυτταρόπλασμα ενός ευρέος φάσματος διαφορετικών κυτταρικών τύπων, αλλά ορισμένες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι μπορεί επίσης να βρεθεί και στον πυρήνα των κυττάρων σε ορισμένες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ή ερεθίσματα. Το ανθρώπινο γονίδιο S100A4 έχει δύο ισομορφές με τρία ή τέσσερα εξόνια και βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1q21. Κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη με 101 αμινοξέα. Η λειτουργική S100A4 πρωτεΐνη είναι ένα αντιπαράλληλο ομοδιμερές πολυπεπτίδιο μοριακού βάρους 22 kDa που μπορεί να ολιγομεριστεί υπό συγκεκριμένες συγκεντρώσεις ασβεστίου. Μπορεί επίσης να αλλάξει διαμόρφωση ως απόκριση στις

μεταβολές των ενδοκυττάρων επιπέδων ασβεστίου, γεγονός που μεταβάλλει τον τρόπο αλληλεπίδρασής του με τις πρωτεΐνες-στόχους και επηρεάζει την ενεργότητά τους (Nadia D'Ambrosi, 2021).

Λόγω του ότι έχει αποδειχθεί πειραματικά πως η πρωτεΐνη S100A4 προάγει την κυτταρική επιβίωση, κινητικότητα και εισβολή, η έκφραση της έχει συνδεθεί, και όχι άδικα, με την έκβαση της νόσου σε ασθενείς με διάφορους τύπους όγκων. Η S100A4 αλληλοεπιδρά με πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, όπως η τροπομυοσίνη, η ακτίνη και η βαριά αλυσίδα της μη μυϊκής μυοσίνης IIA (*Non Muscle Myosin Heavy Chain IIA* ή *NMMHC IIA*), με τέτοιο τρόπο ώστε να προωθεί την κυτταρική μετανάστευση. Βάσει της αλληλεπίδρασής της με την NMMHC IIA, η S100A4 προτείνεται να έχει άμεσο ρόλο στην πορεία της μεταστατικής νόσου. Ακόμη, η απαλοιφή του γονιδίου S100A4 οδηγεί σε ελαττωματική μετανάστευση των μακροφάγων και αποκρίσεις των μακροφάγων σε χημειοτακτικά ερεθίσματα λόγω της μεταβολής της δυναμικής της NMMHC IIA (R. Donato, 2013).

Ο κατασταλτικός παράγοντας του όγκου p53, οι σεπτίνες που δεσμεύουν GTP, το βιομόριο CCN3, η πρωτεΐνη λιπρίνη 1 που αλληλοεπιδρά με τη φωσφατάση τυροσίνης και η αμινοπεπτιδάση μεθειονίνης 82MetAP29 είναι, μεταξύ άλλων, μόρια πρόσδεσης της S100A4 που έχουν ανακαλυφθεί *in vitro*. Είναι άγνωστο αν κάποια από αυτές τις δεσμευτικές πρωτεΐνες εμπλέκεται στην επαγόμενη από την S100A4 μετάσταση, επειδή το μεγαλύτερο μέρος αυτών των αλληλεπιδράσεων δεν έχει επαληθευτεί *in vivo* (R. Donato, 2013).

Η μεταγραφική ρύθμιση των μεταλλοπρωτεϊνών της μήτρας (*Matrix Metalloproteinases* ή *MMPs*) και των καδερινών E (*cadherins E*) έχουν επίσης συνδεθεί με την ενδοκυττάρια έκφραση της πρωτεΐνης S100A4, αν και δεν είναι σαφές αν συσχετίζεται με την πυρηνική ή την κυτταροπλασματική S100A4 (ή και τις δύο). Πέρα από τους προαναφερθέντες ρόλους, η βιολογική λειτουργία της πυρηνικής S100A4 είναι ακόμη άγνωστη (R. Donato, 2013).

5.5. S100A5

Η πρωτεΐνη S100A5 εμφανίζεται γενικά ως ομοδιμερές και διαθέτει δυο περιοχές EF-hand όπου μπορούν να δεσμεύσουν από ένα ιόν ασβεστίου η κάθε μία. Κατά τη δέσμευση ασβεστίου, η S100A5 υφίσταται μια αξιοσημείωτη αλλαγή διαμόρφωσης, η οποία με την

σειρά της έχει ως αποτέλεσμα την περιστροφή και την επέκταση μιας έλικας. Έχει διαπιστωθεί ακόμη πειραματικά ότι η πρωτεΐνη S100A5 είναι σε θέση να δεσμεύει τέσσερα ιόντα ασβεστίου (Ca^{2+}), τέσσερα ιόντα χαλκού (Cu^{2+}) και δύο ιόντα ψευδαργύρου (Zn^{2+}) ανά ομοδιμερές (Lucas C. Wheeler, 2017).

Η S100A5 εκφράζεται κυρίως στους οσφρητικούς αισθητικούς νευρώνες και στον βολβό της μύτης. Το οσφρητικό ερέθισμα αυξάνει σημαντικά την έκφρασή της. Το προφίλ έκφρασης της πρωτεΐνης S100A5 οδήγησε στην υπόθεση ότι εμπλέκεται άμεσα στην οσφρητική σηματοδότηση. Ορισμένοι άλλοι ιστοί έχουν επίσης δείξει ενδείξεις έκφρασης της συγκεκριμένης πρωτεΐνης (Lucas C. Wheeler, 2017). Η πρωτεΐνη S100A5 φαίνεται να είναι αυξημένη σε υποτροπιάζοντα μηνιγγιώματα πρώτου βαθμού και κακοήθειες της ουροδόχου κύστης (R. Donato, 2013). Γενικότερα, υπάρχουν πολύ λίγα δεδομένα που αφορούν την γενετική της S100A5, γεγονός που έχει δυσχεράνει την κατανόηση των βιολογικών λειτουργιών της (Lucas C. Wheeler, 2017).

5.6. S100A6

Η πρωτεΐνη S100A6 είναι επίσης γνωστή και ως *PRA (prolactin receptor related protein), growth factor-inducible protein-2A9, 5B10-CABP, Cacy* και *Calcyclin*. Το ανθρώπινο γονίδιο S100A6 χαρτογραφείται στο χρωμόσωμα 1q21, μια περιοχή όπου λαμβάνουν χώρα πολυάριθμες χρωμοσωμικές αναδιατάξεις στη νεοπλασία. Στους ανθρώπους, η πρωτεΐνη S100A6 έχει 90 αμινοξέα (Rosario Donato, 2017).

Με εξαίρεση την S100G, η S100A6 όπως και τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας των πρωτεϊνών S100 βρίσκεται στα κύτταρα ως ομοδιμερές με δύο αντιπαράλληλες υπομονάδες. Κάθε υπομονάδα S100A6 δεσμεύει δύο ιόντα ασβεστίου. Όπως και σε όλες τις πρωτεΐνες S100, η δέσμευση ασβεστίου σε κάθε EF-hand επιφέρει διαμορφωτικές αλλαγές στο καρβοξυ-τελικό άκρο κάθε υπομονάδας της ομοδιμερούς S100A6. Σε απόκριση στη δέσμευση του ασβεστίου, η περιοχή άρθρωσης και οι έλικες III και IV κάθε υπομονάδας εκτίθενται, επιτρέποντας στην S100A6 να αλληλοεπιδράσει με μια ποικιλία πρωτεϊνών-στόχων, συμπεριλαμβανομένης της τροπομυοσίνης, της αννεξίνης II (*annexin II*), της αννεξίνης XI (*annexin XI*) και της γλυκεραλδεϋδη-3-φωσφορικής αφυδρογονάσης (*glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase*). Η καλδεσμόνη, η καλπονίνη, η λυσοζύμη, η CacyBP/SIP, η Sgt1, η μελουζίνη, η p53, η πρωτεΐνη οργάνωσης Hsp90/Hsp70 (Hop) και η

ελαφριά αλυσίδα κινεζίνης, είναι άλλες πρωτεΐνες που αλληλοεπιδρούν με την S100A6 ενδοκυτταρικά (Rosario Donato, 2017).

Σε μια δοκιμή δύο υβριδίων ζύμης, ανακαλύφθηκε και επαληθεύτηκε μετέπειτα *in vivo*, ένα ετεροδιμερές S100A6/S100B εξαρτώμενο από ασβέστιο ή ψευδάργυρο. Επομένως, η S100A6 δεσμεύει και ψευδάργυρο εκτός από το ασβέστιο. Βέβαια, η δέσμευση ψευδαργύρου στην πρωτεΐνη S100A6 επιφέρει διαφορετικές αλλαγές στην διαμόρφωση της από αυτές που επιφέρει η δέσμευση ασβεστίου. Μέχρι τώρα, δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι η S100A6 μπορεί να έχει εξαρτώμενη από τον ψευδάργυρο δράση. (Rosario Donato, 2017).

Η S100A6 έχει συνδεθεί με τον καρκίνο, τη δυναμική του κυτταροσκελετού και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Επομένως, μπορεί να παίζει ρόλο στον τρόπο με τον οποίο τα κύτταρα αντιδρούν σε διάφορες καταπονήσεις αναστέλλοντας τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ της Sgt1 ή της Hop και των πρωτεϊνών θερμικού σοκ (Hsp70 και Hsp90). Από αυτή την άποψη, η παρουσία της S100A6 περιορίζει την απόπτωση σε ορισμένα κύτταρα ενώ την ευνοεί σε άλλα (R. Donato, 2013). Η S100A6 επηρεάζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επομένως και την ανάπτυξη του καρκίνου δρώντας στο εσωτερικό και το εξωτερικό των κυττάρων. Υπερεκφράζεται στον καρκίνο του μαστού, του στομάχου, του παγκρέατος, του παχέος εντέρου και στο μελάνωμα, ενώ υποεκφράζεται στον καρκίνο του προστάτη και του στόματος (Πίνακας 1) (Rosario Donato, 2017).

S100A6	Τύπος καρκίνου
<i>Υπερέκφραση της S100A6</i>	Καρκίνος του μαστού, του στομάχου, του παγκρέατος και του παχέος εντέρου, μελάνωμα, καρκίνωμα του θυρεοειδούς, νεφροκυτταρικό καρκίνωμα, λευχαιμία μικτής σειράς/AF4-θετική οξεία λεμφοβλαστική λευχαιμία
<i>Μειωμένη έκφραση της S100A6</i>	Καρκίνος του προστάτη και του στόματος

Πίνακας 1. Η πρωτεΐνη S100A6 στον καρκίνο (Rosario Donato, 2017).

Εκτός από την παρουσία της στα κύτταρα, η S100A6 βρίσκεται επίσης στα σωματικά υγρά και στα μέσα των κυτταρικών καλλιιεργειών. Ακόμη, η S100A6 ανιχνεύθηκε στο παγκρεατικό και το αμνιακό υγρό (Wiesława Leśniak, 2009). Η λειτουργία της εξωκυτταρικής S100A6 είναι προς το παρόν ασαφής, αν και τα αποτελέσματα που προέκυψαν δείχνουν ότι σε ορισμένα κύτταρα, η S100A6 μπορεί να ελέγχει τις εκκριτικές διεργασίες. Ακόμη, ενθαρρύνει την απελευθέρωση ινσουλίνης από τις νησίδες του παγκρέατος και την παραγωγή γαλακτογόνου II από τους τροφοβλάστες (R. Donato, 2013). Από την άλλη πλευρά, βρέθηκε ότι η πρωτεΐνη S100A6 ανέστειλε την απελευθέρωση ισταμίνης από τα μαστοκύτταρα, ενώ πρόσφατα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι εξωκυτταρικές αυτές λειτουργίες της, πιθανόν πραγματοποιούνται μέσω της σύνδεσής της με τον διαμεμβρανικό υποδοχέα για τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοποίησης (*RAGE: Receptor for Advanced Glycation Endproducts*). Σε κύτταρα νευροβλαστώματος η σύνδεση της S100A6 με τον RAGE μπορεί να επάγει την απόπτωση των νευρώνων μέσω δραστικών ειδών οξυγόνου (*ROS: Reactive Oxygen Species*) (Wiesława Leśniak, 2009).

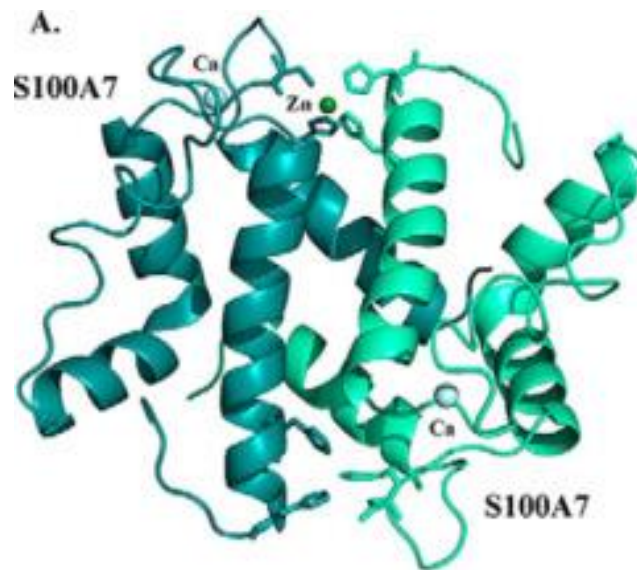
5.7. S100A7

Η πρωτεΐνη S100A7, ευρέως γνωστή και ως ψωριασίνη (*psoriasin*), ανακαλύφθηκε αρχικά στα πλακώδη επιθηλιακά κύτταρα της επιδερμίδας που απομονώθηκαν από δέρμα που πάσχει από ψωρίαση. Ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά το 1991 και έχει μοριακό βάρος 11,4 kDa. Η ψωριασίνη ταξινομείται στην οικογένεια των S100A πρωτεϊνών διότι διαθέτει χρωμοσωμική εγγύτητα και ομολογία με τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας αυτής (Peter H. Watson, 1998). Είναι ένα βιοδραστικό ομοδιμερές που υπάρχει *in vivo* και διαθέτει μια σειρά από διακριτές ενδοκυτταρικές και εξωκυτταρικές λειτουργίες (Zhiliang Lu, 2021).

Το γονίδιο της ψωριασίνης χαρτογραφείται στο χρωμόσωμα 1q21.2-q22, σε μια περιοχή στην οποία περιλαμβάνονται τουλάχιστον 12 ακόμη γονίδια S100, αλλά και πολλά άλλα γονίδια επιδερμικής διαφοροποίησης. Η πρωτεΐνη S100A7 περιλαμβάνει ένα αμινοτελικό EF-hand άκρο πρόσδεσης ασβεστίου που δεν διαθέτει το διάστημα που παρέχεται από τρία επιπλέον αμινοξέα σε σύγκριση με άλλα γονίδια S100 και ένα κλασικό καρβοξυτελικό μοτίβο EF-hand. Έχει τις πλησιέστερες συνολικές ομολογίες σε επίπεδο αμινοξέων με δύο γονίδια S100 που ανακαλύφθηκαν πρόσφατα, τα CAAF2 (77%) και CAAF1/S100A12

(63%), καθώς και αναγνωρίσιμη συσχέτιση με τα MRP8/S100A8 (32%) και p11/S100A10 (23%) (Peter H. Watson, 1998).

Η αυξημένη ενδοκυτταρική έκφραση της S100A7 συνδέεται με αυξημένο πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων και μετάσταση υπό παθολογικές συνθήκες. Επιπλέον, μετά την παραγωγή του, το S100A7 ενδέχεται να μεσολαβεί στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των καρκινικών κυττάρων και του περιβάλλοντος ιστού (Zhiliang Lu, 2021). Προσκολλώντας στην πρωτεΐνη 1 που δεσμεύει την περιοχή ενεργοποίησης *c-Jun* και ενεργοποιώντας τις πρωτεΐνες *Akt* και *NF-B*, η S100A7 ενισχύει τα επιθετικά χαρακτηριστικά του καρκίνου του μαστού. Οι προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες αυξάνουν την έκφραση του S100A7 στον ανθρώπινο καρκίνο του μαστού. Ωστόσο, η ογκογόνος δράση της S100A7 φαίνεται να περιορίζεται στους αρνητικούς σε οιστρογονικούς υποδοχείς καρκίνους του μαστού (*estrogen receptor α -negative breast cancers*), καθώς η πρωτεΐνη αυτή φαίνεται να συμβάλει έμμεσα τη μείωση του ανεξέλεγκτου πολλαπλασιασμού (R. Donato, 2013).



Εικόνα 13. Δομή του ομοδιμερούς S100A7, συνδεδεμένο με ψευδάργυρο Zn^{2+} (D. E. Brodersen, 1999).

5.8. S100A8

Η πρωτεΐνη S100A8 είναι επίσης γνωστή και ως πρωτεΐνη 8 που σχετίζεται με τα μυελοειδή κύτταρα (*myeloid-related protein 8* ή *MRP-8*) και εμπλέκεται σε διάφορες παθολογικές διεργασίες στο κεντρικό νευρικό σύστημα μετά από τραυματική εγκεφαλική βλάβη

(*Traumatic Brain Injury* ή *TBI*), ενώ παράλληλα διαδραματίζει κρίσιμο ρόλο στην επαγωγή φλεγμονωδών κυτταροκινών (Guo-Yuan He, 2020).

Η ανθρώπινη S100A8 αποτελείται από 93 και έχει μοριακό βάρος 10,8 kDa (Monika Pruenster, 2016). Εκφράζεται κυρίως σε κύτταρα μυελοειδούς προέλευσης, δηλαδή σε ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα, αλλά μπορεί επίσης να ανιχνευθεί σε πρώιμα στάδια διαφοροποίησης των μακροφάγων και η έκφραση επάγεται σε κερατινοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα υπό φλεγμονώδεις συνθήκες. Η S100A8 εμπλέκεται στη ρύθμιση της φλεγμονής. Επιπλέον, η αυξημένη συγκέντρωση S100A8 εντοπίζεται σε διάφορα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα.

Η διαγραφή του γονιδίου S100A8 σε ποντίκια βρέθηκε ότι προκαλεί εμβρυϊκή θνησιμότητα, υποδεικνύοντας έναν κρίσιμο μη πλεονάζοντα ρόλο της. Περίπου το 20% του κυτταροπλάσματος των ουδετερόφιλων αποτελείται από την πρωτεΐνη S100A8, ενώ έχει βρεθεί και στον πυρήνα ορισμένων κυττάρων. Προφλεγμονώδη ερεθίσματα μπορούν να προκαλέσουν την παραγωγή S100A8 σε μακροφάγα, δενδριτικά κύτταρα, μικροαγγειακά ενδοθηλιακά κύτταρα -αλλά όχι ενδοθηλιακά κύτταρα από μεγαλύτερα αγγεία- καθώς και επιθηλιακά κύτταρα (όπως κερατινοκύτταρα) ή ινοβλάστες. Οι πιο πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι το οξειδωτικό στρες επάγει άμεσα την S100A8 στα μακροφάγα και ότι η ιντερλευκίνη 10 (IL-10), μια αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη, ενισχύει αυτό το αποτέλεσμα (R. Donato, 2013).

5.9. S100A9

Η πρωτεΐνη S100A9 έχει χαμηλό μοριακό βάρος (13.2 kDa) και αποτελείται από 114 αμινοξέα (Julie Mondet, 2021) (Fatemeh Shabani, 2018). Μια ιδιότητα της S100A9, παρόμοια με αυτή της πρωτεΐνης S100A8, είναι η αλληλεπίδρασή της με τα μακροφάγα κύτταρα, οπότε και είναι επίσης γνωστή ως πρωτεΐνη 14 που σχετίζεται με τα μυελοειδή (*myeloid-related protein 14* ή *MRP-14*). Το γονίδιο που κωδικοποιεί την S100A9 βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1, στον γονιδιακό τόπο *1q21*, όπως άλλωστε και τα περισσότερα μέλη των πρωτεϊνών S100. Δομικά, η πρωτεΐνη S100A9 δεν διαφέρει από τις υπόλοιπες S100 πρωτεΐνες, με μικρές μόνο αποκλίσεις στην περιοχή άρθρωσης του EF-hand της (Julie Mondet, 2021), ενώ το καρβοξυ-τελικό άκρο της είναι το μακρύτερο σε όλη την οικογένεια των πρωτεϊνών S100 (Fatemeh Shabani, 2018).

Όπως όλες οι πρωτεΐνες της οικογένειας S100, έτσι και η S100A9 μπορεί να σχηματίσει μονομερή, ομοδιμερή ή ακόμη και ετεροδιμερή, όπως είναι το ετεροδιμερές S100A8/S100A9, το οποίο θα αναπτυχθεί περαιτέρω στην συνέχεια. Εκφράζεται στο κυτταρόπλασμα των μυελοειδών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των πρόδρομων μυελοειδών κυττάρων, των πολυπυρηνικών ουδετερόφιλων (PNN) και των μονοκυττάρων. Δεν εκφράζεται όμως στα λεμφοκύτταρα. Η S100A9 εμφανίζεται αρχικά στο προμυελοκυτταρικό στάδιο, όπου, στην συνέχεια, αυξάνεται ποσοτικά στα ώριμα κοκκιοκύτταρα, στα οποία αντιπροσωπεύει έως και το 40% των συνολικών κοκκιοκυτταρικών πρωτεϊνών. Στα μονοκύτταρα, είναι παρούσα στα ώριμα στάδια της μονοκυτταρικής σειράς, αντιπροσωπεύοντας το 1 έως 5% των μονοκυτταρικών πρωτεϊνών, ενώ συνηθίζει να εκμηδενίζεται όταν τα μονοκύτταρα διαφοροποιούνται σε μακροφάγα υπό φυσιολογικές συνθήκες (Julie Mondet, 2021).

Η S100A9 αναστέλλει τη διαφοροποίηση των μυελοειδών κυττάρων (δενδριτικά και μακροφάγα κύτταρα) και τη συσσώρευση των κατασταλτικών κυττάρων που προέρχονται από τα μυελοειδή κύτταρα σε παθολογικές αποκρίσεις μέσω της παραγωγής ενδοκυτταρικών δραστικών μορφών οξυγόνου (*Reactive Oxygen Species* ή *ROS*), συμβάλλοντας έτσι στην ανάπτυξη του όγκου. Η S100A9 μπορεί να τροποποιεί τον φαινότυπο των μυελοειδών κυττάρων με τέτοιο τρόπο ώστε:

- a. τα ουδετερόφιλα με ανεπαρκή ποσότητα S100A9 παράγουν μειωμένες ποσότητες κυτταροκινών ως απόκριση στη διέγερση του *TLR-4* (*Toll-Like Receptor-4*), έναν υποδοχέα αναγνώρισης προτύπων στην επιφάνεια των μακροφάγων που διαθέτει την ικανότητά του να αναγνωρίζει τον λιποπολυσακχαρίτη (*lipopolysaccharide* ή *LPS*), ένα σημαντικό συστατικό της μεμβράνης των Gram⁻ βακτηρίων (Caleb T. Erpps, 2016).
- b. τα δενδριτικά κύτταρα με ανεπάρκεια S100A9 παράγουν περισσότερες κυτταροκίνες μετά από διέγερση του TLR-4 και
- c. τα μακροφάγα χάνουν γρήγορα την έκφραση της S100A9 κατά την διαδικασία της ωρίμανσης.

Η πλήρης απαλοιφή του γονιδίου S100A9 θέτει σε κίνδυνο τις αποκρίσεις των ουδετερόφιλων (R. Donato, 2013).

Η κίνηση, η προσκόλληση και η μετανάστευση των λευκοκυττάρων από τις αρτηρίες του αίματος επηρεάζονται από την S100A9, η οποία και είναι χημειοτακτική για

τα ουδετερόφιλα. Επιπλέον, η S100A9 διεγείρει τη βακτηριοκτόνο δράση των ανθρώπινων ουδετερόφιλων και την αποκοκκίωση των εκκριτικών και ειδικών κοκκίων από τα ουδετερόφιλα. Έχει επίσης αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και απωθητική δράση για τα ουδετερόφιλα (R. Donato, 2013).

5.10. S100A8/S100A9

Οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 έχουν την ικανότητα να σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές, που είναι γνωστό ως καλπροτεκτίνη (*Calprotectin*). Εκφράζονται και οι δύο σε ένα ευρύ φάσμα κυτταρικών τύπων και βρίσκονται σε αφθονία στα μυελοειδή κύτταρα, όπως τα ουδετερόφιλα, τα μονοκύτταρα, τα κερατινοκύτταρα και τα μακροφάγα στα πρώιμα στάδια ανάπτυξής τους (Fatemeh Shabani, 2018). Ο όρος «καλπροτεκτίνη» προσφέρθηκε αργότερα ως όνομα στο συγκεκριμένο ετεροδιμερές, για να περιγράψει την προστατευτική λειτουργία αυτής της ουσίας στην άμυνα του επιθηλίου καθώς και τις μυκητοκτόνες και βακτηριοκτόνες ιδιότητές της (Magdalena Korcec-Mędrak, 2016). Επιπλέον, οι S100A8 και S100A9 αναφέρονται ως *Cal-granulin A* και *Cal-granulin B*, αντίστοιχα, αντικατοπτρίζοντας έτσι την ικανότητά τους να δεσμεύουν ασβέστιο (*Cal*) αλλά και το γεγονός ότι τα κοκκιοκύτταρα τις εκφράζουν σε μεγάλο βαθμό (*granulin*). Και τα δύο μονομερή S100A8 και S100A9, εκτός από την καλπροτεκτίνη σχηματίζουν το ίδιο σταθερά μη ομοιοπολικά συνδεδεμένα ομοδιμερή. (Fatemeh Shabani, 2018).

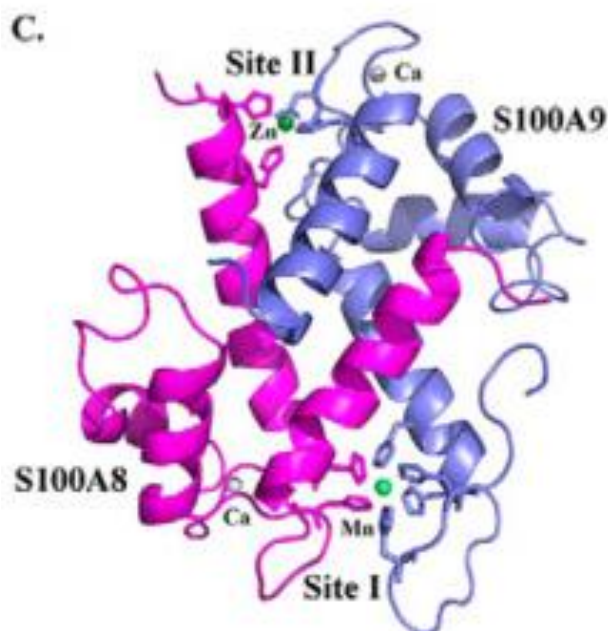
Το ετεροδιμερές S100A8/S100A9 απελευθερώνεται από τα ενεργοποιημένα κοκκιοκύτταρα και συμπεριφέρεται όπως οι κυτταροκίνες. Δηλαδή, συνδέονται με υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας, οι οποίοι δρομολογούν μονοπάτια σηματοδότησης που εμπλέκονται στις φλεγμονώδεις καταστάσεις και έτσι διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο σε πολυάριθμες κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου, της κυτταρικής επιβίωσης, του πολλαπλασιασμού, της διαφοροποίησης και της κυτταρικής μετανάστευσης. Επιπλέον, ασκούν ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών όπως είναι η ρύθμιση της ομοιόστασης του ασβεστίου η οποία εμπλέκεται στη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών, η αναδιάταξη συστατικών του κυτταροσκελετού, οι ειδικές αλληλεπιδράσεις με συστατικά του κυτταροσκελετού (μικροσωληνίσκους, βιμεντίνη, κερατίνη, νημάτια ακτίνης) και η κυτταρική μετανάστευση κατά τρόπο εξαρτώμενο από το ασβέστιο. Είναι επίσης ένας χηλικός παράγοντας ψευδαργύρου και μαγγανίου που μπορεί να αναστείλει τη μικροβιακή ανάπτυξη και τη δραστηριότητα

ενζύμων που εξαρτώνται από τον ψευδάργυρο, όπως είναι η μεταλλοπρωτεϊνάση της μήτρας (*matrix metalloproteinase* ή *MMP*).

Η συγκέντρωση της καλπροτεκτίνης στον ανθρώπινο ορό, υπό φυσιολογικές συνθήκες, είναι μικρότερη από 1 g/ml, αλλά αυξάνεται σε φλεγμονώδεις νόσους όπως η φλεγμονώδης νόσος του εντέρου, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, η κυστική ίνωση, η χρόνια βρογχίτιδα, τα αυτοάνοσα νοσήματα, πολλοί διαφορετικοί τύποι καρκίνου και νευροεκφυλιστικές νόσοι όπως η νόσος *Alzheimer*. Έχει προταθεί ότι η καλπροτεκτίνη μπορεί να χρησιμεύσει ως σημαντικός διαγνωστικός δείκτης, μια ιδιότητα της που πρόκειται να αναλυθεί σε βάθος στην συνέχεια της εργασίας.

Κάθε μονομερές της καλπροτεκτίνης περιλαμβάνει 4 α-έλικες (HI, HII, HIII και HIV) και 2 βρόχους (Loop I και Loop II), σύμφωνα με το EF-hand μοτίβο όλων των πρωτεϊνών S100 που έχει ήδη περιγραφεί στο Κεφάλαιο 4 και την Εικόνα 3. Έτσι, η καλπροτεκτίνη είναι σε θέση να δεσμεύει τέσσερα ιόντα ασβεστίου ανά δομή διμερούς και οκτώ ιόντα ασβεστίου ανά σύμπλοκο τετραμερούς. Η δομή και η λειτουργία της καλπροτεκτίνης καθορίζεται από ορισμένα μεταλλικά ιόντα όπως τα ιόντα ασβεστίου, ψευδαργύρου και μαγγανίου μέσω πρόσδεσης σε καθορισμένα μοτίβα και ειδικές θέσεις.

Έχει επιβεβαιωθεί πειραματικά ότι η καλπροτεκτίνη συνδέεται με διάφορες πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας και ενεργοποιεί διαφορετικές οδούς σηματοδότησης στα κύτταρα. Έχει υψηλή συγγένεια για τη θεική ηπαρίνη των πρωτεογλυκανών και τις καρβοξυλιωμένες N-γλυκάνες στην επιφάνεια των ενδοθηλιακών κυττάρων και των χονδροκυττάρων (Fateme Shabani, 2018). Επιπλέον, σύμφωνα με πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε μοντέλα ποντικών, βρέθηκε ότι η υπερέκκριση της καλπροτεκτίνης συμβαίνει σε διάφορους τύπους καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού, ενώ και οι δύο πρωτεΐνες συμμετέχουν ενεργά στην ανάπτυξη του όγκου, τη μετάσταση αυτού, την αγγειογένεση και την ανοσολογική αποφυγή. Όσον αφορά στον καρκίνου του μαστού, οι S100A8 και S100A9 έχουν τόσο αυτοκρινή όσο και παρακρινή δράση. Η εξωκυττάρια καλπροτεκτίνη που απελευθερώνεται από τα καρκινικά κύτταρα αλληλοεπιδρά με επιφανειακούς υποδοχείς, συμπεριλαμβανομένου του υποδοχέα *TLR4* και του *RAGE* (*Receptor for Advanced Glycation End products*). Οι S100A8 και S100A9 είναι επίσης άφθονες στο κυτταρόπλασμα, όπου συμβάλλουν στον έλεγχο της αναδιάταξης του κυτταροσκελετού και στην ενεργοποίηση μονοπατιών που εμπλέκονται σε δραστικές μορφές οξυγόνου ή αζώτου (ROS, RNS) (Ruisheng Song, 2021).



Εικόνα 14. Δομή της ετεροδιμερούς καλπροτεκτίνης S100A8/S100A9 συνδεδεμένη με και Mn^{2+} στην περιοχή I και Zn^{2+} στην περιοχή II (Joseph P. Zackular, 2015).

5.11. S100A10

Η πρωτεΐνη S100A10 (η οποία αρχικά ονομαζόταν *p11* ή *ελαφριά αλυσίδα καλπακτίνης*), όταν απομονώθηκε για πρώτη φορά, θεωρήθηκε ένα δυνητικό υπόστρωμα για τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (epidermal growth factor receptor (EGFR)), έναν πλειοτροπικό σηματοδότη που εμπλέκεται στην μιτογένεση, την απόπτωση, τη μετανάστευση, τη διαφοροποίηση αλλά και την αποδιαφοροποίηση του ίδιου ή άλλων κυττάρων (Wells, 1999) (Yuriko Saiki, 2019). Ο πνεύμονας, οι νεφροί και το έντερο είναι οι ιστοί με τα υψηλότερα επίπεδα έκφρασης της S100A10. Άλλοι τύποι κυττάρων, όπως ενδοθηλιακά κύτταρα, μακροφάγα, ινοβλάστες, επιθηλιακά κύτταρα και διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές, έχουν επίσης βρεθεί να εκφράζουν S100A10. Ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας (*transforming growth factor*), ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (*epidermal growth factor*) και ο βασικός αυξητικός παράγοντας

ινοβλαστών (*basic fibroblast growth factor*) είναι όλοι ικανοί να αυξήσουν την έκφραση της S100A10 (Yuriko Saiki, 2019).

Μια ακόμη ιδιότητα της πρωτεΐνης S100A10 είναι να συνδέει ορισμένες μεμβρανικές πρωτεΐνες με την αννεξίνη 2 (*annexin 2*), βοηθώντας έτσι τη διακίνησή τους προς την πλασματική μεμβράνη αλλά και τη σταθερή δέσμευσή τους σε ορισμένα σημεία της μεμβράνης. Πρόσφατα προτάθηκε ένας πιθανός μηχανισμός σχηματισμού του τριμερούς συμπλόκου S100A10/annexin 2/AHNAK που δρα ως μέσο για την επιδιόρθωση της πλασματικής μεμβράνης σε περίπτωση καταστροφής της. Η S100A10 απορρυθμίζεται σε βαριές ψυχολογικές διαταραχές όπως είναι η κατάθλιψη και εμπλέκεται στον μηχανισμό δράσης των αντικαταθλιπτικών φαρμάκων και των ηλεκτροσπαστικών επιληπτικών κρίσεων, λόγω της αλληλεπίδρασής της με συγκεκριμένους υποδοχείς σεροτονίνης (R. Donato, 2013).

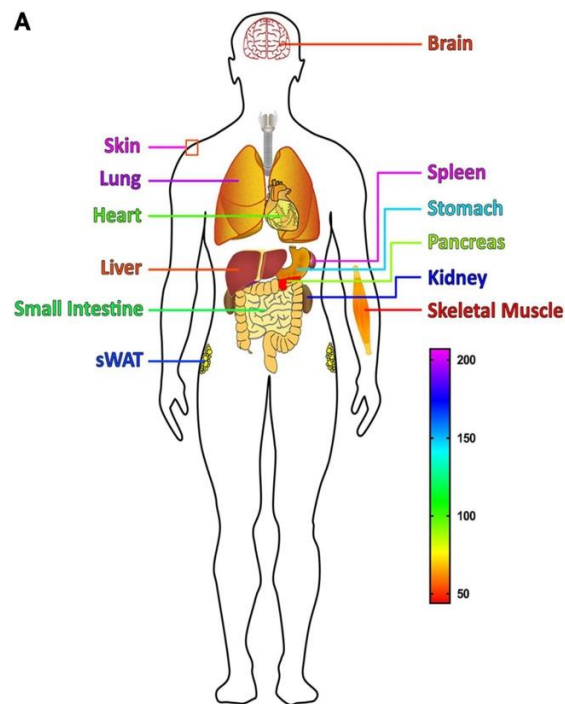
5.12. S100A11

Η S100A11 έχει μοριακό βάρος 13 kDa. Η πρωτεΐνη αυτή φαίνεται να έχει διαφορετικό πρότυπο έκφρασης στους ιστούς από άλλες πρωτεΐνες S100, οι οποίες είναι γνωστό ότι εκφράζονται έντονα στους νεφρούς και στους πνεύμονες, αλλά μόνο μέτρια στους ιστούς του ήπατος και του εγκεφάλου. Ως αποτέλεσμα, ονόμασαν την πρωτεΐνη S100C και θεώρησαν ότι πρόκειται για μια νέα πρωτεΐνη S100. Αργότερα ανακαλύφθηκε ότι η *calgizzarin* και η S100C είναι η ίδια πρωτεΐνη και αναφέρονται πλέον και οι δύο μαζί ως S100A11. Ανάλυση της αλληλουχίας των αμινοξέων της συγκεκριμένης πρωτεΐνης έδειξε ότι διαθέτει δύο περιοχές EF-hand, με 40,9% και 37,5% ομολογία με τις γνωστές πρωτεΐνες S100A1 και S100B, αντίστοιχα. (Linqiang Zhang, 2021).

Όπως και για τις άλλες πρωτεΐνες S100, η έκφραση της S100A11 είναι ειδική για τους ιστούς και τους κυτταρικούς τύπους. Εκφράζεται ευρέως σε διάφορους ανθρώπινους ιστούς, όπως είναι ο πλακούντας, που εκφράζει την S100A11 στο υψηλότερο επίπεδο, η καρδιά, οι πνεύμονες, το πάγκρεας και οι νεφροί. Εκφράζεται ,ακόμη, στους σκελετικούς μύες, το ήπαρ και τον εγκέφαλο, σε χαμηλότερο όμως επίπεδο. Παρόλα αυτά, χάρη στην ανάπτυξη της τεχνολογίας αλληλούχισης, έχει δημιουργηθεί ένα πιο λεπτομερές προφίλ της έκφρασης του S100A11 στους ιστούς. Με αυτόν τον τρόπο επιβεβαιώθηκε ότι η ανθρώπινη πρωτεΐνη S100A11 έχει υψηλό επίπεδο έκφρασης στο δέρμα, τον σπλήνα, τον πνεύμονα, τους νεφρούς, τον υποδόριο λευκό λιπώδη ιστός και το στομάχι, ενώ έχει

μέτριο επίπεδο έκφρασης στο λεπτό έντερο, την καρδιά και το πάγκρεας, όπως απεικονίζεται στην Εικόνα 10 (Linqiang Zhang, 2021).

Η S100A11 μπορεί να έχει μεταβλητή κυτταρική κατανομή σε διάφορους ιστούς και υπό διάφορες φυσιολογικές συνθήκες. Για παράδειγμα, η S100A11 βρίσκεται κυρίως στον πυρήνα των κυττάρων σε υγιή νεφρικό ιστό. Ωστόσο, όταν πρόκειται για το διηθητικό πλακώδες καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας συνήθως εντοπίζεται τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα των κυττάρων.



Εικόνα 15. Το προφίλ έκφρασης του γονιδίου S100A11 σε ανθρώπινους ιστούς. Η πρωτεΐνη S100A11 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο ανθρώπινο δέρμα, τον σπλήνα και τον πνεύμονα, ενώ η έκφρασή του είναι χαμηλότερη στο ήπαρ, τον εγκέφαλο και τους σκελετικούς μύες (Linqiang Zhang, 2021).

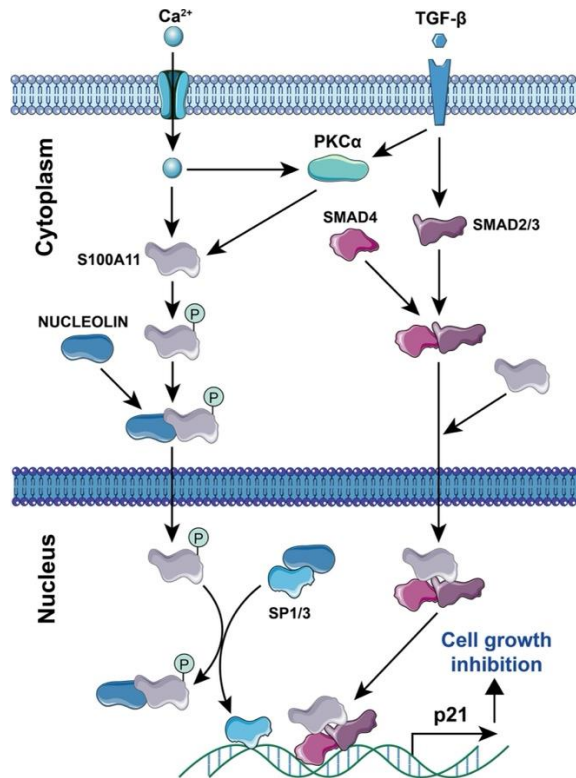
Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, επιβεβαιώθηκαν οι εξής λειτουργίες της S100A11:

1. έλεγχος της ενζυμικής δραστηριότητας

Παρουσία ιόντων ασβεστίου, η S100A11 μπορεί να συνδεθεί με τα νημάτια ακτίνης στους λείους μύες και να μειώσει τη δράση της ATPάσης.

2. έλεγχος της κυτταρικής ανάπτυξης

Στην περίπτωση των ανθρώπινων κερατινοκυττάρων, όταν αυτά διεγείρονται από ιόντα ασβεστίου ή TGFβ, η S100A11 φωσφορυλιώνεται από την PKC-α (*Protein Kinase C-α*) και στη συνέχεια εισέρχεται στον πυρήνα για να προωθήσει την έκφραση του γονιδίου *p21*, το οποίο καταστέλλει περαιτέρω τον πολλαπλασιασμό των κερατινοκυττάρων (Εικόνα 16).



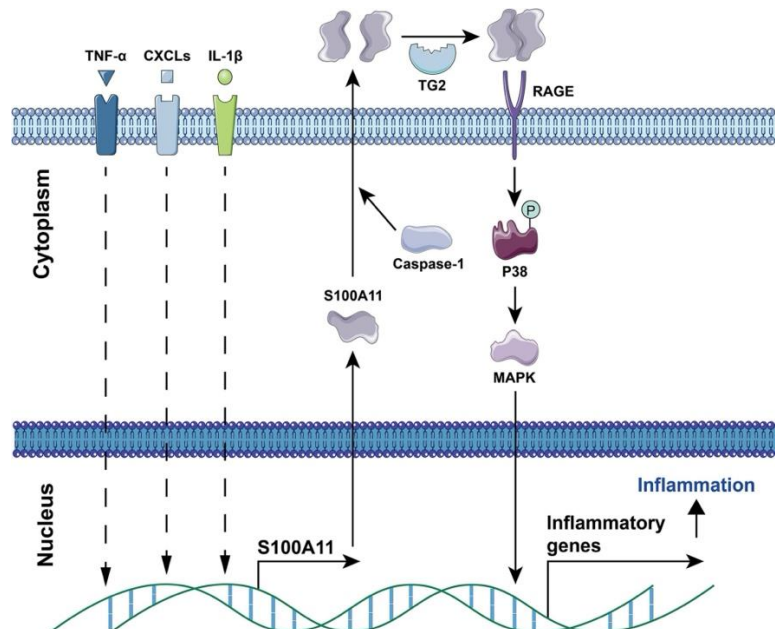
Εικόνα 16. Μονοπάτια σηματοδότησης για την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης με τη μεσολάβηση της S100A11. Το στοιχειώδες ασβέστιο ή η PKC-α που επάγεται από το ιόν ασβεστίου και τον TGF-β διαθέτει την ικανότητα να επάγει τη φωσφορυλίωση της πρωτεΐνης S100A11. Η φωσφορυλιωμένη S100A11 μετατοπίζεται στη συνέχεια στον πυρήνα μέσω σύνδεσης της με τη νουκλεολίνη (NUCLEOLIN). Στον πυρήνα, η πρωτεΐνη Sp1/3 ανταγωνίζεται την S100A11 και συνδέεται αυτή με την νουκλεολίνη. Στην συνέχεια η Sp1/3 επάγει την έκφραση του γονιδίου *p21*. Από την άλλη, η S100A11 μπορεί να συνδεθεί και με τον παράγοντα SMAD2/3 και τον SMAD4, ο οποίος έχει διεγερθεί από τον TGF-β, για να σχηματίσει σύμπλοκο. Στη συνέχεια, το σύμπλοκο αυτό μεταναστεύει στον πυρήνα για να επάγει την έκφραση της *p21*. Σε κάθε περίπτωση, η αύξηση των επιπέδων της *p21* έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της κυτταρικής ανάπτυξης. Το κυκλωμένο «P» αντιπροσωπεύει τη φωσφορυλίωση (Linqiang Zhang, 2021).

3. επαγωγή της απόπτωσης

Μελέτες σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές όγκων, όπως το μελάνωμα, ο καρκίνος του παγκρέατος, ο καρκίνος του μαστού και ο καρκίνος του πνεύμονα, έχουν δείξει ότι ένα πεπτίδιο 19 αμινοξέων από το αμινο-τελικό άκρο της πρωτεΐνης S100A11 μπορεί να προάγει τη μετατόπιση του παράγοντα *AIF* που επάγει την απόπτωση (*Apoptosis-Inducing Factor* ή *AIF*) από το κυτταρόπλασμα στον πυρήνα. Όταν ο *AIF* μετατοπιστεί στον πυρήνα, πυροδοτεί τη συμπύκνωση της χρωματίνης, με αποτέλεσμα τον κατακερματισμό του DNA και συνεπώς την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων.

4. συμμετοχή στη φλεγμονώδη αντίδραση

Όταν ένας οργανισμός πάσχει από οστεοαρθρίτιδα, η ιντερλευκίνη 8 (ονομάζεται αλλιώς και *CXCL8* ή *IL-8*) και ο παράγοντας νέκρωσης όγκου α (*Tumor Necrosis Factor- α* ή *TNF- α*) μπορούν να διεγείρουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A11 και να προάγουν την απελευθέρωσή του στον εξωκυττάριο χώρο, όπου και θα σχηματίσει ένα διμερές. Μετά τη σύνδεσή του με τον υποδοχέα RAGE, το διμερές αυτό ενεργοποιεί το μονοπάτι σηματοδότησης της πρωτεΐνης *p38*, επιταχύνοντας την εμφάνιση της οστεοαρθρίτιδας (Εικόνα 17) (Linqiang Zhang, 2021).



Εικόνα 17. Η συμμετοχή της S100A11 στην φλεγμονή. Ο παράγοντας TNF- α , η CXCL8 και η IL-1 β επάγουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A11. Στη συνέχεια, η S100A11 εκκρίνεται με έναν τρόπο εξαρτώμενο από την κασπάση-1 (caspase-1). Η εξωκυτταρική S100A11 διμερίζεται στην συνέχεια με την συμμετοχή του ενζύμου TG2 (τρανσγλουταμινάση 2) και στη συνέχεια συνδέεται με τον υποδοχέα RAGE για να επάγει την έκφραση φλεγμονωδών γονιδίων μέσω του μονοπατιού σηματοδότησης p38 MAPK, το οποίο προκαλεί την εξέλιξη της φλεγμονής. Το κυκλωμένο «P» αντιπροσωπεύει φωσφορυλίωση (Linqiang Zhang, 2021).

5.13. S100A12

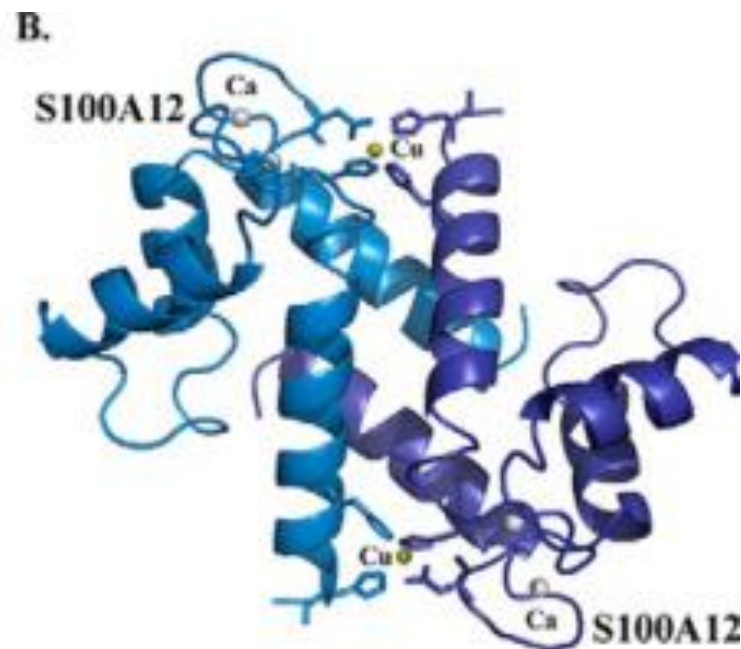
Μαζί με δύο άλλες πρωτεΐνες S100, την S100A8 και την S100A9, η S100A12 ανήκει σε μια υποοικογένεια πρωτεϊνών S100 που ονομάζεται Calgranulins ή πρωτεΐνες που σχετίζονται με τα μυελοειδή κύτταρα. Η πρωτεΐνη S100A12 είναι επίσης γνωστή και ως *Calgranulin C* ή *EN-RAGE*. Το γονίδιο S100A12 χαρτογραφήθηκε στον γονιδιακό τόπο 1q21.2-1q22 (1q21.3) και βρίσκεται μεταξύ των γονιδίων S100A8 και S100A9 (Jens Pietzsch, 2009). Τα κοκκιοκύτταρα, όπως είναι για παράδειγμα τα ουδετερόφιλα, είναι οι κύριοι τύποι κυττάρων που παράγουν και εκφράζουν την ανθρώπινη πρωτεΐνη S100A12 (Alexandre Carvalho, 2020).

Τα μέλη αυτής της υποοικογένειας συνδέονται άρρηκτα με τις λειτουργίες του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος λόγω της επικρατούσας έκφρασής τους σε κύτταρα μυελοειδούς προέλευσης. Υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτές οι ειδικές για τα φαγοκύτταρα πρωτεΐνες S100 εκκρίνονται ενεργά μέσω μιας εναλλακτικής οδού και όχι μέσω της κλασικής οδού του συστήματος Golgi. Αυτός ο τρόπος έκκρισης είναι χαρακτηριστικός για παράγοντες οι οποίοι παίζουν ρόλο στην κυτταρική ομοίωση ως ενδοκυτταρικά μόρια, αλλά μετατρέπονται σε προφλεγμονώδη σήματα κινδύνου ή στρες που σχετίζονται με βλάβες μετά την απελευθέρωσή τους σε εξωκυτταρικά διαμερίσματα λόγω κυτταρικής βλάβης, λοιμώξεων, αυτοάνοσης καταστροφής ιστών ή φλεγμονής (Jens Pietzsch, 2009).

Η S100A12 δεσμεύει επίσης ιόντα ψευδαργύρου σε μια θέση πρόσδεσης που σχηματίζεται και από τις δύο υπομονάδες και βρίσκεται κοντά στην περιοχή άρθρωσης του διμερούς. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι στην ίδια θέση μπορεί να προσδεθούν και δισθενή ιόντα χαλκού. Αυτά τα κατιόντα μπορούν να ρυθμίζουν τόσο τις ενδοκυτταρικές όσο και τις εξωκυτταρικές λειτουργίες της πρωτεΐνης S100A12.

Επιπλέον, είναι γνωστό ότι η S100A12 απελευθερώνεται και δρα και έξω από τα κύτταρα. Η εξωκυτταρική ανθρώπινη S100A12 εμπλέκεται σε αυτοάνοσες αντιδράσεις του

οργανισμού, όπως είναι η προοδευτική ελκώδης κερατίτιδα του κερατοειδούς και η έμφυτη ανοσολογική απόκριση έναντι μικροβίων, ιδίως παρασίτων (παραδείγματος χάριν έλμινθες). Μια ακόμη σημαντική ιδιότητα της S100A12 είναι η ικανότητα της να μετατρέπεται σε σήμα κινδύνου που διαθέτει χαρακτηριστικά τόσο κυτταροκινών όσο και χημειοκινών μόλις απελευθερωθεί από τα κοκκιοκύτταρα ως απόκριση στο κυτταρικό στρες. Σε φλεγμονώδεις καταστάσεις, η S100A12 παρουσιάζει χημειοτακτική δραστηριότητα και μπορεί να προσελκύσει τα λευκοκύτταρα της κυκλοφορίας του αίματος αλλά και τα λευκοκύτταρα του μυελού των οστών (Jens Pietzsch, 2009).



Εικόνα 18. Δομή του ομοδιμερούς S100A12 συνδεδεμένου με χαλκό Cu^{2+} (Moroz O.V., 2009).

5.14. S100A13

Έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη S100A13 εκφράζεται στους σκελετικούς μύες, την καρδιά, τους νεφρούς, το πάγκρεας, τις ωθήκες, τον σπλήνα και το λεπτό έντερο (Katrin Ridinger, 2000). Η S100A13 είναι ένα μοναδικό μέλος της οικογένειας γονιδίων S100 που κωδικοποιεί μια ιδιαίτερα φορτισμένη καρβοξυ-τελική περιοχή που μπορεί να εμπλέκεται σε ειδικές πρωτεϊνικές αλληλεπιδράσεις (Sandhya G. Rani, 2014). Διαδραματίζει

σημαντικό ρόλο στην επαγόμενη από το στρες απελευθέρωση του αυξητικού παράγοντα ινοβλαστών (*Fibroblast Growth Factor* ή *FGF-1*) και της ιντερλευκίνης 1-α (IL-1α) από διάφορους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των ινοβλαστών, των οστεοβλαστών και των κυττάρων μελανώματος. Ακόμη, η S100A13 προωθεί την ενδοκυτταρική της μετατόπιση, πιθανώς μέσω της πρόσδεσης του RAGE στα ενδοθηλιακά κύτταρα (R. Donato, 2013).

5.15. S100A14

Η S100A14 είναι μια πρωτεΐνη που δεσμεύει το ασβέστιο με απροσδιόριστο βιολογικό σκοπό. Το γονίδιο S100A14 κλωνοποιήθηκε για πρώτη φορά και μελετήθηκε σε μια ανθρώπινη κυτταρική σειρά καρκίνου του πνεύμονα, αλλά αργότερα αποδείχθηκε ότι διαφορετικοί τύποι κυττάρων εκφράζουν το γονίδιο με διαφορετικό τρόπο. Επιπλέον, παρατηρήθηκε ότι είναι αυξημένο σε διάφορους τύπους όγκων, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου των ωοθηκών, του πνεύμονα, του μαστού και της μήτρας, αλλά απορρυθμίζεται σε διάφορους άλλους, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου των νεφρών, του παχέος εντέρου, του ορθού και του οισοφάγου. Επιπλέον, έχει αποδειχθεί ότι η S100A14 είναι μια πρωτεΐνη απαραίτητη για την καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης και την ανάπτυξη του όγκου. Η S100A14 μπορεί επίσης να ρυθμίζει την εισβολή των κυττάρων του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του στόματος ρυθμίζοντας την έκφραση των μεταλλοπρωτεϊνών της μήτρας MMP1 και MMP9 (Hanbyoul Cho, 2014).

5.16. S100A15

Το γονίδιο S100A15, το οποίο κωδικοποιεί την πρωτεΐνη ομώνυμη πρωτεΐνη, συμμετέχει στην ομοιόσταση του ασβεστίου στο δέρμα και επομένως αποτελεί σημαντικό παράγοντα για τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των κυττάρων στην ψωρίαση αλλά και σε άλλες ασθένειες (Karen M. Boeshans, 2006).

Η S100A15 (11,3 kDa) παρουσιάζει μια ιδιόμορφη γενετική δομή σε αντίθεση με άλλα μέλη της S100. Έχουν βρεθεί δύο διαφορετικές mRNA-ισομορφές της ανθρώπινης S100A15, σε αντίθεση με την πλειονότητα των γονιδίων S100, τα οποία κωδικοποιούν ένα μόνο μόριο mRNA. Οι δύο αυτές ισομορφές της S100A15 παρουσιάζουν διαφορές στη σύνθεση και το μήκος τους, παρά το γεγονός ότι μοιράζονται την ίδια κωδικοποιητική περιοχή. Δεδομένου ότι και οι δύο παραλλαγές της S100A15 εκφράζονται διαφορετικά σε

δέρμα που έχει υποστεί ψωρίαση, υποδηλώνεται ότι ρυθμίζονται από διαφορετικούς υποκινητές. Η πρωτεΐνη S100A15 είναι σε μεγάλο βαθμό ομόλογη (93% ταυτότητα αλληλουχίας) με την S100A7 (ψωριασίνη). Οι κύριες διαφορές τους εντοπίστηκαν στο αμινο-τελικό άκρο της S100A15, το οποίο δεν βρέθηκε να είναι λειτουργικό στην S100A7. Ο γονιδιακός τόπος της υποομάδας S100A7/S100A15 συνδέεται με την επιδερμική ωρίμανση (*Epidermal Differentiation Complex*). Η χρωμοσωμική περιοχή 1q21 στην οποία ανήκουν οι δύο αυτές πρωτεΐνες, κωδικοποιεί πρόσθετα γονίδια τα οποία συμμετέχουν στην ωρίμανση της επιδερμίδας (Ronald Wolf, 2010).

Η πρωτεΐνη S100A15 εκφράζεται στα κερατινοκύτταρα, σε δέρμα που υπέστη φλεγμονή. Αποτελεί χημειοτακτικό παράγοντα για τα μονοκύτταρα και τα κοκκιοκύτταρα, πιθανώς μέσω ενός υποδοχέα συνδεδεμένου με G-πρωτεΐνη και δρα σε συνεργασία με την πρωτεΐνη S100A7 στη στρατολόγηση λευκοκυττάρων. Έχει βρεθεί ακόμη ότι η S100A15 έχει αντιμικροβιακή δράση έναντι του βακτηρίου *E.coli* (R. Donato, 2013).

5.17. S100A16

Η S100A16, η οποία εκφράζεται σπάνια, ιδίως στους λιπώδεις ιστούς, είναι ένα μέλος της οικογένειας S100, το οποίο έχει συνδεθεί με διάφορες άλλες ανθρώπινες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένων των φλεγμονωδών διαταραχών του καρκίνου του προστάτη και της παχυσαρκίας (Dong Li, 2013). Ακόμη, η S100A16 ρυθμίζεται ανοδικά σε διάφορους όγκους (R. Donato, 2013). Δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα για την λειτουργία της εξ' αυτού, παραμόνο κάποιες αλληλεπιδράσεις της με μόρια-στόχους και πιθανή χρήση της ως διαγνωστικός δείκτης, κάτι που θα αναλυθεί περαιτέρω σε επόμενο κεφάλαιο.

5.18. S100A17, S100A18

Δεν υπάρχουν δεδομένα και μελέτες για τις λειτουργίες και την δομή των πρωτεϊνών S100A17 και S100A18.

5.19. S100A19

Η ταυτοποίηση του γονιδίου S100A19 πρόσθεσε ένα ακόμη μέλος στην ολοένα και αυξανόμενη οικογένεια των πρωτεϊνών S100. Λίγες και πρόσφατες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για την πρωτεΐνη S100A19. Συγκεκριμένα, φαίνεται ότι το γονίδιο S100A19 είναι αναπτυξιακά ρυθμιζόμενο στον μαστικό αδένα και κατά την διάρκεια της

γαλουχίας. Η έκφραση της στο αναπτυσσόμενο στομάχι του *tammar wallaby*, ενός μαρσιποφόρου είδους, και σε συγκεκριμένα μόνο στάδια της γαλουχίας στον μαστικό αδένα του ίδιου είδους, αποδεικνύει ότι το γονίδιο αυτό συνδέεται με τις αναπτυξιακές διεργασίες. Η έκφραση της πρωτεΐνης S100A19 στο έντερο του *tammar wallaby* σχετίζεται τόσο με την ωρίμανση του στομάχου όσο και την αντιμικροβιακή λειτουργία σε αυτό, ενώ η έκφραση της στον μαστό σχετίζεται καθαρά με αντιμικροβιακή δραστηριότητα. Η μελλοντική μελέτη της λειτουργίας της S100A19 πρωτεΐνης στο είδος *tammar wallaby* θα επιβεβαιώσει εάν η ίδια έχει αντιμικροβιακή δράση ή/και αναπτυξιακούς ρόλους (Joly H.L. Kwek, 2013).

5.18. S100B

Η πρωτεΐνη S100B εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 21, στον γονιδιακό τόπο 21q22 (Sedaghat F., 2008) και αποτελεί το μεγαλύτερο μέρος του κλάσματος που αρχικά απομονώθηκε από εκχυλίσματα εγκεφάλου και θεωρήθηκε για σχεδόν δύο δεκαετίες ως ειδικό για το νευρικό σύστημα. Βέβαια, στην συνέχεια αποδείχθηκε ότι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη δεν περιορίζεται στον νευρικό ιστό και έκτοτε, η κυτταρική κατανομή της έχει μελετηθεί εκτενώς σε ιστούς θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπινων ιστών (Fabrizio Michetti, 2012). Η S100B διαθέτει την ικανότητα να δεσμεύει τόσο το ασβέστιο όσο και τον ψευδάργυρο και βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα μιας μεγάλης ποικιλίας κυττάρων (Urvashi Langeh, 2021).

Η S100A1 και η S100B είναι δύο από τα πρωταρχικά μονομερή της S100. Και τα δύο απαντώνται κυρίως ως ομοδιμερή (BB, AA) ή ετεροδιμερή (A1B). Η S100B ρυθμίζει μια ποικιλία φυσιολογικών αντιδράσεων κατά μήκος της οδού μεταγωγής σήματος ασβεστίου. Έχει μοριακό βάρος περίπου 21 kDa που αποβάλλεται από τους νεφρούς. Είναι παρούσα κυρίως στο κυτταρόπλασμα και στον πυρήνα των αστροκυττάρων στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα, ενώ έχει και πολλαπλασιαστικό αποτέλεσμα στο εσωτερικό των κυττάρων σε φυσιολογικά επίπεδα. Ανάλογα με τη συγκέντρωσή της, η S100B έχει επωφελείς ή επιβλαβείς επιδράσεις μετά την απελευθέρωσή της από τα κύτταρα (Silvia Yelmo-Cruz, 2013).

Στο νευρικό σύστημα, η S100B συγκεντρώνεται στα αστροκύτταρα και σε άλλους τύπους γλοιακών κυττάρων, όπως τα ολιγοδενδροκύτταρα, τα κύτταρα Schwann, τα επιενδυματικά κύτταρα (*ependymal cells*), τα εντερικά γλοιακά κύτταρα, τα κύτταρα

Muller του αμφιβληστροειδούς, ενώ έχει επίσης αναφερθεί η παρουσία της σε συγκεκριμένους υποπληθυσμούς νευρώνων (Fabrizio Michetti, 2012). Έχει βρεθεί ακόμη ότι τα κύτταρα που καταστέλλουν την έκφραση της S100B στην αρχή της διαφοροποίησής τους αρχίζουν να την εκφράζουν ξανά στο τέλος της ανάπτυξης τους. Στα ώριμα κύτταρα, η πρωτεΐνη ρυθμίζει ένα ευρύ φάσμα σημαντικών διεργασιών, όπως η αποικοδόμηση πρωτεϊνών, η μεταγραφή, η ομοιόσταση του ασβεστίου, ο μεταβολισμός της ενέργειας και οι ενζυμικές λειτουργίες, αλληλοεπιδρώντας με μια μεγάλη ποικιλία πρωτεϊνών-στόχων (R. Donato, 2013).

Σε μη νευρικούς ιστούς, η πρωτεΐνη κατανέμεται ευρέως σε ορισμένους τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των μελανοκυττάρων, των κυττάρων Langerhans, των χονδροκυττάρων, των δενδριτικών κυττάρων στα λεμφοειδή όργανα, των δορυφορικών κυττάρων του μυελού των επινεφριδίων, των κυττάρων Leydig, των δορυφορικών κυττάρων των σκελετικών μυών, ενώ ο λιπώδης ιστός αποτελεί τόπο συγκέντρωσης συγκρίσιμο με τον νευρικό ιστό (Fabrizio Michetti, 2012). Δρα ως διεγέρτης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της μετανάστευσης και ως αναστολέας της απόπτωσης και της διαφοροποίησης, γεγονός που μπορεί να έχει σημαντικές επιδράσεις στη μελανογένεση και τη γλοιογένεση, καθώς και στην ανάπτυξη και την αποκατάσταση του εγκεφάλου, των χόνδρων και των σκελετικών μυών. Μπορεί επίσης να ενεργοποιεί τα αστροκύτταρα κατά την πορεία της εγκεφαλικής βλάβης και των νευροεκφυλιστικών διεργασιών. Ιδιαίτερα, φαίνεται ότι η μείωση της έκφρασης της S100B στα πρόδρομα κύτταρα εντός ενός συγκεκριμένου χρονικού παραθύρου προάγει τη διαφοροποίηση των κυττάρων (R. Donato, 2013).

Μετά από πειραματικές διεργασίες, επιβεβαιώθηκαν διαφοροποιήσεις που σχετίζονται με την ηλικία στην έκφραση της S100B. Σύμφωνα με ορισμένους συγγραφείς, η γήρανση ενεργοποιεί τα αστροκύτταρα, γεγονός που αυξάνει την έκφραση της στον εγκεφαλικό φλοιό και τον υπόκαμπο. Στη μεταθανάτια έρευνα παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των θετικών για S100B κυττάρων και ιστών με την πρόοδο της ηλικίας. Όταν η S100 υπερεκφράζεται, η πρωτεΐνη αυξάνει την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, η οποία έχει αρνητική επίδραση και βοηθά στην απόπτωση των νευρώνων και των γλοιακών κυττάρων. Επιπλέον, ενώ άλλες περιοχές του εγκεφάλου, όπως ο PAG, μπορούν να λειτουργήσουν κανονικά, ο υπόκαμπος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος στη γήρανση, γεγονός που μπορεί να συμβάλει στο έλλειμμα χωρικής μάθησης. Οι

εξαρτώμενες από το ασβέστιο διαδικασίες που επηρεάζουν τη μακροχρόνια κατάθλιψη (*long-term depression* ή *LTD*) και τη μακροχρόνια ενδυνάμωση (*long-term potentiation* ή *LTP*) μπορεί να είναι η αιτία πολλών νευρολογικών ασθενειών. Στον κροταφικό λοβό ασθενών με AD, έχει παρατηρηθεί ότι οι νευριτικές πλάκες περιβάλλονται από εξαιρετικά αντιδραστικά αστροκύτταρα. Σε ασθενείς με σύνδρομο *Down*, η πρωτεΐνη S100B ήταν ομοίως πιο αντιδραστική. Έχει, ακόμη, βρεθεί ότι στα τμήματα του φλοιού και του υπόκαμψου του εγκεφάλου έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στην έκφραση της S100β που σχετίζονται με την ηλικία και το φύλο (Urvashi Langeh, 2021).

5.19. S100G

Η πρωτεΐνη S100G ονομάζεται και διαφορετικά *calbindin D9k*. Εκφράζεται εκτενώς σε ορισμένα όργανα, όπως η μήτρα, ο πλακούντας, το έντερο, ο νεφρός, η υπόφυση και τα οστά (Sergei E. Permyakov, 2020). Επιπλέον, η πρωτεΐνη S100G αποτελεί το μοναδικό μονομερές μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών S100. Ο πρωταρχικός του ρόλος σε πολλούς ιστούς είναι να χρησιμεύει ως κυτταροδιαλυτικός ρυθμιστής, ο οποίος ρυθμίζει την προσρόφηση του ασβεστίου. Η αλληλεπίδραση της S100G με τα φωσφολιπίδια του κυτταροσκελετού υπήρξε μια δεύτερη αναγνωρισμένη λειτουργία και αυτή η αλληλεπίδραση μπορεί να είναι σημαντική για την κίνηση των πρωτεϊνών S100 μέσω των μεμβρανών (R. Donato, 2013). Το γεγονός ότι τα ζώα που δεν διαθέτουν την πρωτεΐνη S100G λειτουργούν κανονικά υποδηλώνει ότι άλλα γονίδια μεταφορέων ασβεστίου μπορούν να αναπληρώσουν την απουσία της. Ακόμη, υπάρχει μια υπόθεση ότι η ρύθμιση του S100 G μπορεί να είναι ειδική για κάθε ιστό (Sergei E. Permyakov, 2020).

Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι, παρόλο που οι πρωτεΐνες S100G μελετώνται από τα τέλη της δεκαετίας του 1980 και η δομή της ομόλογης στα βοοειδή πρωτεΐνης S100G έχει ήδη προσδιοριστεί, η γενικότερη λειτουργία της εξακολουθεί να είναι αβέβαιη. Αρχικά, προτάθηκε ότι η S100G εμπλέκεται στη δέσμευση του ασβεστίου. Άλλα ευρήματα πρότειναν ότι αυτή η πρωτεΐνη μπορεί να χρησιμεύσει ως σημαντικός αντιφλεγμονώδης μεσολαβητής σε ινοβλάστες μετά από επαγωγή κολίτιδας. Αν και ο ρόλος της πρωτεΐνης S100G μελετάται σήμερα ευρέως, ιδίως *in vivo*, εντούτοις δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τη μοριακή δομή της αλλά και τις μοριακές λεπτομέρειες της δράσης της (Sergei E. Permyakov, 2020).

5.20. S100P

Η S100P είναι ένα μέλος της οικογένειας των πρωτεϊνών S100, που αποτελείται από 95 αμινοξέα και εντοπίζεται μοναδικά στο ανθρώπινο χρωμόσωμα 4q16. Η ονομασία «P» επινοήθηκε για να δηλώσει ότι καθαρίστηκε και ταυτοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον πλακούντα (*placenta*) (Thiruvengadam Arumugam, 2010).

Η S100P μπορεί να διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στον καρκίνο, σύμφωνα με τα αυξανόμενα δεδομένα. Το γονίδιο αυτό έχει συνδεθεί με κακή κλινική έκβαση και έχει ανακαλυφθεί ότι εκφράζεται σε διάφορες μορφές νόσου, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που προσβάλλουν το πάγκρεας, το μαστό, το παχύ έντερο, τον προστάτη και τον πνεύμονα (Thiruvengadam Arumugam, 2010). Μέσω της πρόσδεσης του RAGE στα καρκινικά κύτταρα, η S100P μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη του όγκου, την αντίσταση στη θεραπεία και τη μετάσταση (R. Donato, 2013).

5.21. S100Z

Η S100Z αναφέρεται σε αρκετές μελέτες ανασκόπησης που εξετάζουν την οικογένεια των πρωτεϊνών S100. Ωστόσο, οι βιολογικές λειτουργίες και η πιθανή παθολογική σημασία της ανθρώπινης S100Z είναι ακόμη άγνωστες και η δομή της αρορροτεϊν μορφής της είναι μία από τις λίγες που δεν έχουν δημοσιευθεί ακόμη μεταξύ όλων των μελών της οικογένειας (V. Calderone, 2017). Μελέτες έχουν δείξει ότι η S100Z απορρυθμίζεται σε διάφορους όγκους, όμως δεν έχουν αναφερθεί άλλοι λειτουργικοί ρόλοι για την πρωτεΐνη αυτή (R. Donato, 2013).

Συνοψίζοντας, για τις λειτουργίες των πρωτεϊνών S100 (Xuan Xiao, 2020):

S100	Ενδοκυτταρικές λειτουργίες	Εξωκυτταρικές λειτουργίες
S100A1	Αλληλεπίδραση με τη σαρκοπλασματική Ca ²⁺ -ATPάση και τον παράγοντα RyR2 των κυττάρων του μυοκαρδίου	Προαγωγή της ροής ασβεστίου σε κύτταρα των κοιλιών του μυοκαρδίου
S100A2	Σύνδεση με την περιοχή	Εμπλοκή στη χημειοταξία των

	μεταστροφής p53 και ενίσχυση την p53 ως πρωτεΐνη που καταστέλλει τον όγκο	ηωσινόφιλων και στην ασβεστοποίηση των χόνδρων/οστών
S100A3	Διαφοροποίηση επιθηλιακών κυττάρων, πρόληψη της τρίχας από οξειδωτικές βλάβες	Άγνωστες
S100A4	Αλληλεπίδραση με πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού για την προώθηση της κυτταρικής μετανάστευσης	Παραγωγή κυτταροκινών και επιρροή στην αλλεργική φλεγμονή, συμμετοχή στην ανάπτυξη, επιβίωση και διαφοροποίηση των κυττάρων του μυοκαρδίου
S100A5	Εκφράζεται σε καρκίνους της ουροδόχου κύστης και σε υποτροπιάζοντα μηνιγγιώματα πρώτου βαθμού	Άγνωστες
S100A6	Συμμετοχή στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη δυναμική του κυτταροσκελετού και την καρκινογένεση	Ρύθμιση των αλλεργικών αντιδράσεων μέσω της αναστολής της ισταμίνης που απελευθερώνεται από τα μαστοκύτταρα και επιρροή στην εξαρτώμενη από τον RAGE επιβίωση των κυττάρων νευροβλαστώματος διεγείροντας την απόπτωση και την παραγωγή ROS
S100A7	Ρυθμίζεται από προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες στον ανθρώπινο καρκίνο του μαστού.	Συμμετοχή στις αντιμικροβιακές αποκρίσεις και στην έμφυτη ανοσία και αναστολή της παραγωγής αμυλοειδογόνων πεπτιδίων στη νόσο του Alzheimer

<p><i>S100A8</i></p> <p>Συμμετοχή στη διαφοροποίηση των μυελοειδών κυττάρων, διέγερση της διαφοροποίησης των κερατινοκυττάρων αναστέλλοντας τη</p> <p>δραστηριότητα της τελομεράσης και ρύθμιση της διαενδοθηλιακή μετανάστευσης των ουδετερόφιλων</p>	<p>Μετριασμός της απόκρισης στη φλεγμονή με απορρόφηση οξειδωτικού και δημιουργία λειτουργικών τροποποιήσεων, δημιουργία του παράγοντα</p> <p>TNF-α και IL-1β μέσω της πρόσδεσης στον υποδοχέα TLR-4 (κάτι που μπορεί να ανασταλεί από την S100A9), ρύθμιση της δραστηριότητας των μεταλλοπρωτεϊνών</p>
<p><i>S100A9</i></p> <p>Εξάλειψη της επαγόμενης από την S100A8 μείωσης της δραστηριότητας της τελομεράσης, μείωση του πολυμερισμού των μικροσωληνίσκων και της διασταύρωση της F-ακτίνης μέσω της δράσης της S100A8/S100A9, περιορισμός της διαφοροποίησης των μυελοειδών κυττάρων (δενδριτικών κυττάρων και μακροφάγων), επιτάχυνση της ανάπτυξης του όγκου, ρύθμιση της εξωκυττάρωσης, προωθώντας την αναδιοργάνωση του κυτταροσκελετού</p>	<p>Ρύθμιση της μετανάστευσης, της προσκόλλησης και της μετανάστευσης των λευκοκυττάρων (συμπεριλαμβανομένων κυρίως των ουδετερόφιλων και των μακροφάγων) από το αγγειακό τοίχωμα, ρύθμιση της απόκρισης στη φλεγμονή καταστέλλοντας τη μετανάστευση των ουδετερόφιλων και την ενεργοποίηση των μακροφάγων, διαμόρφωση του βαθμού της επίκτητης ανοσολογικής απόκρισης</p>
<p><i>S100A8/S100A9</i></p> <p>Προαγωγή της ενεργοποίησης της οξειδάσης <i>NADPH</i> στα φαγοκύτταρα και ενίσχυση των επιπέδων <i>ROS</i></p>	<p>Αντιμικροβιακή δράση, αναστολή της οξείας φλεγμονής, καταστολή της ανάπτυξης διαφόρων φυσιολογικών τύπων κυττάρων (μακροφάγα, οστικά κύτταρα μυελού, λεμφοκύτταρα) και διευκόλυνση της απόπτωσης πολυάριθμων καρκινικών κυτταρικών σειρών</p>

S100A10	Ενίσχυση της σύνδεσης ορισμένων μεμβρανικών πρωτεϊνών, σχηματίζοντας τριμερές σύμπλοκο με αυτές,	Συσχέτιση με την προμυελοκυτταρική λευχαιμία
S100A10	το οποίο διευκολύνει τη μεταφορά της στην πλασματική μεμβράνη	
S100A11	Καταστολή της κυτταρικής ανάπτυξης μέσω της σύνδεσης με τη νουκλεολίνη και την μετατόπισή της στον πυρήνα, συμμετοχή στην ανασυνδυαστική επιδιόρθωση βλαβών του DNA, δράση στα κερατινοκύτταρα για την ενίσχυση της παραγωγής πρωτεϊνών της οικογένειας του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGF), διεγείροντας έτσι την κυτταρική ανάπτυξη	Αναστολή της γονιμοποίησης και προώθηση της υπερτροφίας των χονδροκυττάρων
S100A12	Ρύθμιση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των στοιχείων του κυτταροσκελετού και των κυτταρικών μεμβρανών, μείωση της έκκρισης των χημειοκινών στους αεραγωγούς, ανακουφίζοντας έτσι τη φλεγμονή που προκαλείται σε αυτούς από αλλεργιογόνα	Παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών από τα μαστοκύτταρα, οι οποίες εμπλέκονται στη στρατολόγηση ουδετερόφιλων, μονοκυττάρων και λεμφοκυττάρων, σύνδεση με τον υποδοχέα RAGE, με αποτέλεσμα την ρύθμιση των οστεοβλαστικών γονιδίων, τα οποία έχουν επίδραση στην αναδιαμόρφωση της αθηρωματικής πλάκας και της οζώδους ασβεστοποίησης στα κύτταρα των λείων μυών των αγγείων

S100A13	Επηροή στην απελευθέρωση της IL-1α και τη μεταγραφή των γονιδίων του εκκριτικού φαινοτύπου που σχετίζονται με τη γήρανση	Συμμετοχή στη μη κλασική έκκριση του παράγοντα FGF-1, η οποία μπορεί να είναι ευεργετική για την αγγειογένεση
S100A14	Διαμόρφωση της οδού p53 ως κατασταλτικός παράγοντα του καρκίνου και περιορισμός της έκφρασης των μεταλλοπρωτεϊνών της μήτρας, MMP1 και MMP9	Διέγερση του πολλαπλασιασμού του πλακώδους καρκινώματος του οισοφάγου (ESCC) μέσω της ενεργοποίησης των σηματοδοτικών μονοπατιών ERK1/2 MAPK και NF-κB (σε χαμηλές συγκεντρώσεις S100A14)
S100A15	Άγνωστες	Προσέλκυση μονοκυττάρων και κοκκιοκυττάρων και συνδυασμός με την S100A7 στην προσέλκυση λευκοκυττάρων, αντιμικροβιακή δράση Κατά του βακτηρίου <i>E. coli</i> στον άνθρωπο
S100A16	Αναστολή της έκφρασης της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53 σε ορισμένους όγκους και μείωση της ευαισθησίας των λιποκυττάρων στην ινσουλίνη	Άγνωστες
S100A19	Άγνωστες	Η έκφραση της στον μαστό σχετίζεται καθαρά με αντιμικροβιακή δραστηριότητα
	Συσχέτιση με πολλαπλές δραστηριότητες,	Δημιουργία διαφορετικών βιολογικών επιδράσεων των

S100B	συμπεριλαμβανομένης της διατήρησης του σχήματος των πρωτεϊνών, της μεταγραφής, της αποικοδόμησης πρωτεϊνών, της ομοιόστασης του ασβεστίου, του ενεργειακού μεταβολισμού και των ενζυμικών λειτουργιών	αστροκυττάρων και της μικρογλοίας ανάλογα με τη συγκέντρωση της, στενή σύνδεση με τη φλεγμονή των νευρικών κυττάρων, ρύθμιση του πολλαπλασιασμού των αγγειακών λείων μυϊκών κυττάρων μέσω αλληλεπίδρασης μεταξύ της S100B με τον υποδοχέα RAGE
S100B		
S100G	Ρύθμιση της προσρόφησης του ασβεστίου, δρώντας ως κυτταρολογικοί ρυθμιστές σε διάφορους ιστούς, αλληλεπίδραση με φωσφολιπίδια, οπότε και προώθηση της μεταφοράς των πρωτεϊνών S100 μέσω των μεμβρανών	Άγνωστες
S100P	Προώθηση της διαενδοθηλιακής μετανάστευσης των καρκινικών κυττάρων	Σύνδεση με τον υποδοχέα RAGE των καρκινικών κυττάρων, ρυθμίζοντας έτσι την ανάπτυξη του όγκου, την αντίσταση στα φάρμακα και τη μετάσταση
S100Z	Υπερέκφραση της S100Z σε ορισμένους όγκους	Άγνωστες

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

Τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών S100

6.1. Έκφραση των πρωτεϊνών S100

Κάθε πρωτεΐνη της οικογένειας S100 κωδικοποιείται από ένα ξεχωριστό γονίδιο, τα περισσότερα εκ των οποίων εντοπίζονται, κυρίως αλλά όχι μόνο, στο χρωμόσωμα 1q21. Μετά από πειραματικές διεργασίες για την κατανόηση της έκφρασης των γονιδίων S100, επιβεβαιώθηκε ότι παρά τις δομικές ομοιότητες τους, κάθε γονίδιο S100 έχει ένα πολύ συγκεκριμένο πρότυπο έκφρασης (Zeeshan Sattar, 2021).

Στις περισσότερες ασθένειες, εμφανίζεται απορυθμισμένη έκφραση πολλαπλών μελών της οικογένειας S100 και όχι μόνο μερικών. Έχει επιβεβαιωθεί πειραματικά ότι η απομεθυλίωση και υπομεθυλίωση του DNA αλλά και η ρύθμιση των microRNAs σχετίζονται με την ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων S100. Ακόμη, οι νησίδες CpG παρατηρούνται στις 5' ρυθμιστικές περιοχές των γονιδίων S100A2, S100A6, S100A10 και S100A11, εντός του εγγύς υποκινητή και των δύο πρώτων ιντρονίων (Zeeshan Sattar, 2021). Οι νησίδες CpG είναι μικρά παλινδρομικά τμήματα DNA, που κωδικοποιούν την ίδια αλληλουχία στη συμπληρωματική αλυσίδα. Πιο συγκεκριμένα, είναι επαναλαμβανόμενα νουκλεοτίδια κυτοσίνης (C) και γουανίνης (G) με το «ρ» να αντιπροσωπεύει το φωσφορικό άλας σύνδεσης τους (King, 2007). Η μεθυλίωση αυτών των νησίδων, δηλαδή η προσθήκη μιας μεθυλομάδας στο συγκεκριμένο τμήμα DNA, συνδέεται συνήθως με αναστολή της μεταγραφής. Ωστόσο, δεν περιέχουν όλα τα γονίδια S100 αυτές τις νησίδες CpG, όπως είναι για παράδειγμα, τα γονίδια S100P και S100Z (Zeeshan Sattar, 2021).

Επιπροσθέτως, έχει αναφερθεί ότι η έκφραση αρκετών γονιδίων S100 αυξάνεται, λόγω διαφόρων εξωκυτταρικών παραγόντων, όπως το οξειδωτικό στρες, ορισμένες κυτταροκίνες και αυξητικοί παράγοντες, σε πολλούς κυτταρικούς τύπους. Σε ό,τι αφορά στις πνευμονικές ασθένειες, η έκφραση των γονιδίων S100 διεγείρεται από εξωκυτταρικές, κυρίως, αποκρίσεις. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι διαφορετικά υποσύνολα μονοκυττάρων πιθανόν να έχουν διαφορετικά προφίλ έκφρασης των πρωτεϊνών S100.

Τέλος, αποδείχθηκε πειραματικά από τον Zeeshan Sattar και την ομάδα του, ότι η φωσφατάση της πρωτεϊνικής τυροσίνης (*protein tyrosine phosphatase* ή *PTP1B*) θα

μπορούσε να μειώσει τόσο την έκφραση της πρωτεΐνης S100A9, όσο και τις αποκρίσεις της στα ερεθίσματα, μέσω της διαμόρφωσης της σηματοδότησης του κυτταρικού υποδοχέα *TLR4*. Ωστόσο, η φωσφατάση της πρωτεϊνικής τυροσίνης δεν αποτελεί τον μοναδικό τρόπο ρύθμισης της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A9. Μάλιστα, έχουν βρεθεί διάφορα άλλα μέσα για τη ρύθμιση της, καθώς αυτή είναι ευαίσθητη στον αναστολέα PP2 της κινάσης Src (*Src kinase inhibitor PP2*) αλλά και στην έκφραση του παράγοντα *STAT3*. Επομένως, η έκφραση του γονιδίου S100 ποικίλλει ανάλογα με τον κυτταρικό τύπο, τον ιστό, τα εξωτερικά ερεθίσματα, την ηλικία και ενδεχομένως το φύλο (Zeeshan Sattar, 2021).

6.2. Έκκριση και απελευθέρωση των πρωτεϊνών S100

Ο ορός, τα ούρα, το σπέρμα, το σάλιο, τα πτύελα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, τα κόπρανα και το υγρό του αποστήματος (συσώρευση πύου σε έναν ιστό του σώματος) είναι μεταξύ άλλων, τα κυριότερα σωματικά υγρά στα οποία περιλαμβάνονται διάφορες πρωτεΐνες S100. Όπως θα αναλυθεί και στην συνέχεια της εργασίας, ορισμένες θεωρούνται βιοδείκτες για συγκεκριμένες νόσους, όπως το σύμπλεγμα S100A8/S100A9 και η S100B (R. Donato, 2013).

Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων εκκρίνονται οι πρωτεΐνες S100 είναι ελάχιστα κατανοητοί. Φαίνεται ότι εκκρίνονται είτε παθητικά κατά τη διάρκεια της κυτταρικής νέκρωσης είτε ενεργά μετά την ενεργοποίηση των κυττάρων. Επιπλέον, οι πρωτεΐνες S100 μπορούν να προκαλέσουν την μετακίνηση των πρωτεϊνών S100 που βρίσκονται στο εσωτερικό του κυττάρου, προς την εξωκυττάρια περιοχή, αλληλοεπιδρώντας με πρωτεΐνες που δεσμεύουν φωσφολιπίδια, όπως είναι για παράδειγμα η δέσμευση της S100A10 στην Annexin A2 (Zeeshan Sattar, 2021).

Ειδικοί ενεργοποιητές κυττάρων επάγουν την έκκριση ορισμένων πρωτεϊνών S100. Για παράδειγμα, ο υποδοχέας 1A της σεροτονίνης (ή υποδοχέας *5-HT1A*), τα αντικαταθλιπτικά φάρμακα, το γλουταμινικό οξύ, η αδενosίνη, η ιντερλευκίνη *IL-1β*, το λυσοφωσφατιδικό οξύ και οι μεταβολές στα επίπεδα του εξωκυττάρου ασβεστίου και καλίου προκαλούν την απελευθέρωση της S100B από τα αστροκύτταρα ή της S100A4 από τα κύτταρα των λείων μυών της ανθρώπινης πνευμονικής αρτηρίας. Η *φλουοξετίνη*, ένας εκλεκτικός αναστολέας επαναπρόσληψης σεροτονίνης, προάγει την παραγωγή S100B από τους σεροτονινεργικούς νευρώνες (μοναδική πηγή του νευροδιαβιβαστή σεροτονίνη), η

οποία με τη σειρά της αναστέλλει το micro-RNA16 στους νοραδρενεργικούς νευρώνες που κατά συνέπεια αποκτούν ιδιότητες των σεροτονινεργικών νευρώνων.

Πολλοί κυτταρικοί τύποι απελευθερώνουν ουσίες ως αποτέλεσμα μεταβολικού/οξειδωτικού στρες, ενώ άλλοι κυτταρικοί τύποι μπορεί να απελευθερώνουν ουσίες ως αποτέλεσμα προσκόλλησης ή ενεργοποίησης. Η πρωτεΐνη S100B αυξάνεται στα βρογχικά επιθηλιακά κύτταρα κατά τα πρώιμα στάδια της μυκητίασης μέσω της ενεργοποίησης του κανονικού (canonical) παράγοντα *NF-B* από την πρωτεΐνη *MyD88* και ελαττώνεται κατά τα όψιμα στάδια μέσω της ενεργοποίησης του μη κανονικού (non-canonical) παράγοντα *NF-B* από τον υποδοχέα TLR-3/9. Τα ανθρώπινα *CD8⁺* Τ λεμφοκύτταρα και τα *NK (Natural Killers)* κύτταρα παράγουν και απελευθερώνουν την S100B σε απόκριση διέγερσης, ενεργοποιώντας ουδετερόφιλα και μονοκύτταρα. Η S100B εκκρίνεται και από άλλα κύτταρα εκτός των αστροκυττάρων, όπως τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα λιποκύτταρα, ενώ έχει αποδειχθεί ότι η σχιζοφρένεια σχετίζεται τόσο με αυξημένα επίπεδα της S100B στο αίμα όσο και με αντίσταση στην ινσουλίνη (R. Donato, 2013).

Επιπροσθέτως, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι πρωτεΐνες S100 δεν εκκρίνονται μέσω της παραδοσιακής οδού του συστήματος *Golgi*. Όταν η πρωτεΐνη PKC ενεργοποιείται και το δίκτυο μικροσωληνίσκων είναι άθικτο, το σύμπλοκο S100A8/S100A9 μπορεί να απελευθερωθεί παθητικά από τα νεκρωτικά μυελοειδή κύτταρα ή να εκκριθεί ενεργά μετά από μετατόπιση στη μεμβράνη. Επιπλέον, οι κατεστραμμένοι ιστοί μπορούν να εκκρίνουν παθητικά την S100B.

Οι ίδιες οι πρωτεΐνες S100 ενδέχεται να διαδραματίζουν ρόλο στην αντισυμβατική έκκριση. Δηλαδή, μετά από κυτταρικό στρες, οι πρωτεΐνες αυτές μπορούν να μετακινηθούν διαμέσου της πλασματικής μεμβράνης λόγω των ποικίλων συγγενειών τους με λιπιδικές δομές. Η S100B αλληλοεπιδρά τόσο με φυσικές όσο και με συνθετικές μεμβράνες, γεγονός που, αν και δεν είναι επίσημα τεκμηριωμένο, μπορεί να υποδεικνύει έναν μηχανισμό για την έκκρισή του. Από την άποψη αυτή, έχει προταθεί ότι η αλληλεπίδραση της S100G με φωσφολιπιδικά μικκύλια χρησιμεύει ως πρότυπο για την αλληλεπίδραση της πρωτεΐνης S100 με τις μεμβράνες και την επακόλουθη διέλευση από αυτές. Η κυψελιδική απελευθέρωση του συμπλόκου S100A8/S100A9 στις εξωκυτταρικές παγίδες των ουδετερόφιλων (*Neutrophil Extracellular Traps* ή *NETs*) είναι αποτέλεσμα της παραγωγής δραστικών ειδών οξυγόνου (*ROS*) από τα ετοιμοθάνατα ουδετερόφιλα. Οι

NETs είναι ίνες χρωματινης (ιστόνες και DNA) συνδεδεμένες με αντιμικροβιακές πρωτεΐνες που παρέχουν υψηλές τοπικές συγκεντρώσεις στα παθογόνα (R. Donato, 2013). Επομένως, οι πρωτεΐνες S100 μπορεί να εκκρίνονται εύκολα στους πνεύμονες (Zeeshan Sattar, 2021).

6.3. Οι κυτταρικοί υποδοχείς των πρωτεϊνών S100

Μόλις απελευθερωθούν στον εξωκυττάριο χώρο, οι πρωτεΐνες S100 προκαλούν την ενεργοποίηση των ανοσοκυττάρων μέσω της πρόσδεσης τους σε διάφορους υποδοχείς της κυτταρικής επιφάνειας. Συγκεκριμένα, οι S100A7, S100A12, S100A8/S100A9 και S100B είναι γνωστό ότι αλληλοεπιδρούν με τον υποδοχέα *RAGE*, ενώ οι S100A8 και S100A9 είναι γνωστό ότι συνδέονται με τον υποδοχέα *TLR-4* (Zeeshan Sattar, 2021). Η λειτουργία αρκετών πρωτεϊνών S100 μπορεί να επηρεαστεί τόσο από τους πιθανούς συνεργάτες πρόσδεσης στο κύτταρο, όσο και από τις ολιγομερείς μορφές τους. Για παράδειγμα, οι λειτουργίες των πρωτεϊνών S100A8 και S100A9 μπορεί να εξαρτώνται ή να είναι ανεξάρτητες από το σύμπλοκο S100A8/S100A9. Σε ορισμένες περιπτώσεις μάλιστα, οι ολιγομερείς πρωτεΐνες S100 (μοριακό σύμπλοκο που αποτελείται από λίγα μονομερή μόρια) μπορεί να είναι πιο λειτουργικά αποτελεσματικές. Σε άλλες πάλι κυτταρικές διεργασίες, απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις πρωτεϊνών S100, ενώ άλλες λειτουργίες εξαρτώνται από πολύ χαμηλές ποσότητες, γεγονός που υποδεικνύει διαφορετικές συγγένειες των πρωτεϊνών S100 για τους υποδοχείς. Τα λειτουργικά αποτελέσματα τους μπορεί επίσης να επηρεάζονται από τη δέσμευση δισθενούς κατιόντος. Επιπλέον, ορισμένες πρωτεΐνες S100 έχουν την ικανότητα να μετασχηματίζονται δομικά, ενώ συγκεκριμένες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις μπορούν να ενθαρρύνουν τις λειτουργικές τους μεταβολές. Σε αυτές περιλαμβάνονται προϊόντα οξειδωσης της S100A8 και/ή της S100A9 που παράγονται από το νιτρικό οξύ (Nitric Oxide/NO), τα δραστικά είδη οξυγόνου (ROS), τα υποθαλαμικά οξέα, καθώς και η πρωτεΐνη S100B εξ αυτού.

Υπάρχουν ενδείξεις για πολλούς υποδοχείς, ωστόσο ο προσδιορισμός των ακριβών υποδοχέων που χρησιμοποιούν οι πρωτεΐνες S100 για τη διαμεσολάβηση των εξωκυτταρικών δράσεων τους είναι δύσκολος και αμφιλεγόμενος. Ωστόσο έχει αποδειχθεί ότι η ενδοκυττάρωση των πρωτεϊνών S100 μπορεί να γίνει με δύο τρόπους, αυτή που μεσολαβείται από υποδοχείς όσο και αυτή που δεν απαιτεί υποδοχείς. Για παράδειγμα, η εξωγενής S100A1 μεταφέρεται στα πρώιμα ενδοσώματα, στη συσκευή

Golgi, στα όψιμα ενδοσώματα και στα λυσοσώματα μετά την εσωτερίκευση στους νευρώνες μέσω διαφόρων ενδοκυτταρικών οδών. Ο υποδοχέας RAGE μπορεί να μεσολαβεί σε ορισμένες από αυτές τις επιδράσεις, αλλά όχι σε όλες (R. Donato, 2013).

Οι πρωτεΐνες S100 διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον έλεγχο της ανοσολογικής ομοιόστασης, της φλεγμονής και του μετατραυματικού τραυματισμού, όταν απελευθερώνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Πιο συγκεκριμένα, αλληλεπιδρούν με τους υποδοχείς RAGE και TLR4 για να προκαλέσουν φλεγμονή. Η καλπροτεκτίνη (S100A8/S100A9) είναι ένας ενδογενής αγωνιστής του TLR4, σύμφωνα με αυξανόμενα δεδομένα. Η φλεγμονή, η κυτταρική διαίρεση, η διαφοροποίηση και η ανάπτυξη των όγκων ελέγχονται από τη σύνδεση με τον TLR4 κατά τρόπο εξαρτώμενο από τον παράγοντα NF-B. Έχει επίσης προταθεί ότι εκτός από τον TLR4, και ο υποδοχέας RAGE δεσμεύει τις πρωτεΐνες S100A7, S100A12, S100A8/A9 και S100B. Οι πρωτεΐνες S100 αλληλεπιδρούν με τον υποδοχέα RAGE με σκοπό να ενεργοποιήσουν τον παράγοντα NF-B, ο οποίος με τη σειρά του πυροδοτεί την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών που προκαλούν τη μετανάστευση ουδετερόφιλων, μονοκυττάρων και μακροφάγων (Chang Xia, 2018).

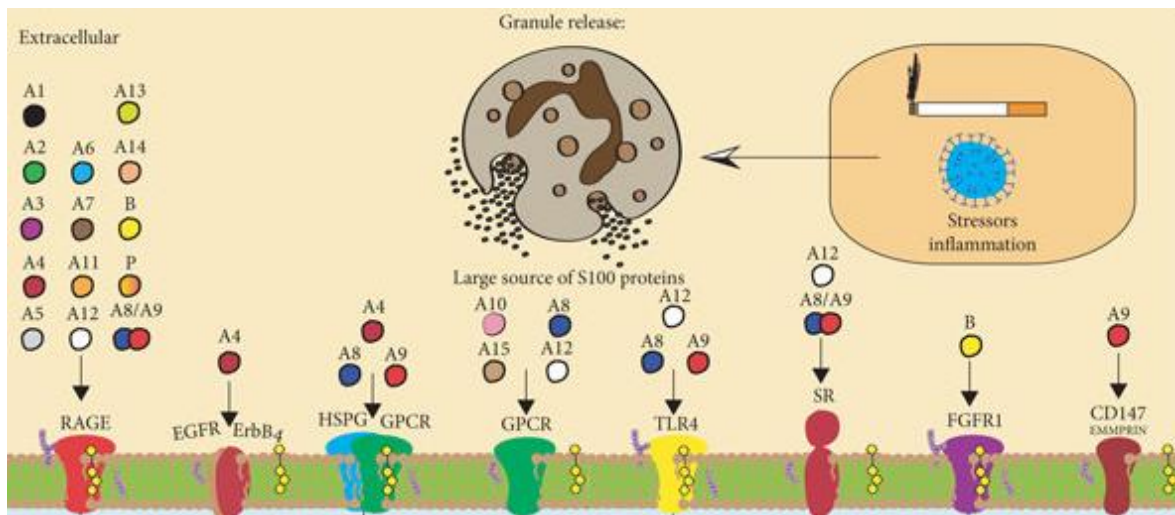
Σύμφωνα με δομικές μελέτες, ορισμένες πρωτεΐνες S100 διαθέτουν τουλάχιστον τρεις θέσεις αναγνώρισης εντός δύο διαφορετικών επιφανειών, οι οποίες θα μπορούσαν να φιλοξενήσουν πολυάριθμους παράγοντες πρόσδεσης και να οδηγήσουν σε πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις με διάφορα κύτταρα-στόχους. Για παράδειγμα, η S100A6, τείνει να δεσμεύουν την περιοχή C2 του υποδοχέα RAGE σε αντίθεση με τις S100B και S100A12, οι οποίες δεσμεύουν την περιοχή V. Επιπλέον, η S100A12, in vitro, έχει πολύ χαμηλή συγγένεια για τον υποδοχέα RAGE, αλλά η συγγένεια αυτή αυξάνεται κατά πολύ, όταν η S100A12 βρίσκεται στην εξαμερή μορφή δέσμησης ασβεστίου ή ψευδαργύρου. Κάτι παρόμοιο ισχύει και για τις πρωτεΐνες S100A8 και S100A9, για τις οποίες ενώ έχει προταθεί ότι δεσμεύονται στον υποδοχέα RAGE, και ιδιαίτερα στα καρκινικά κύτταρα, μόνο η S100A9 μπορεί και δεσμεύει ασβέστιο και ψευδάργυρο σε αυτές τις συνθήκες, ενώ η S100A8 δεν διαθέτει αυτή την ικανότητα. Για τον λόγο αυτό, η ισχύς της δέσμησης του συμπλόκου S100A8/S100A9 στον υποδοχέα RAGE είναι μέτρια (R. Donato, 2013).

Η S100A12 υπήρξε η πρώτη πρωτεΐνη S100 για την οποία επιβεβαιώθηκε πως ο RAGE είναι ο κύριος υποδοχέας στα μυελοειδή κύτταρα. Παρόλα αυτά, η συμμετοχή του RAGE είναι αμφιλεγόμενη, διότι άλλοι υποδοχείς, όπως είναι οι N-γλυκάνες (συμπεριλαμβανομένου του γλυκοζυλιωμένου RAGE), ένας υποδοχέας συνδεδεμένος με

την πρωτεΐνη G, και οι υποδοχείς scavenger (SRs), θεωρείται ότι εμπλέκονται. Ο γλυκοζυλιωμένος *RAGE*, ο οποίος σχηματίζεται από την προσκόλληση ενός σακχάρου στον κλασικό υποδοχέα *RAGE*, μπορεί να σχηματίσει πολυμερή σύμπλοκα υψηλότερης τάξης με την *S100A12*, η ισχύς των οποίων όμως μειώνεται με απογλυκοζυλίωση (απόσπαση του σακχάρου από τον *RAGE*).

Εκτός από τον *RAGE*, ο υποδοχέας scavenger *CD36*, οι πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαράνης και οι καρβοξυλιωμένες N-γλυκάνες αποτελούν εναλλακτικούς υποδοχείς για τις πρωτεΐνες *S100A8* ή/και *S100A9*. Σε μια μελέτη, ο *TLR-4* προτείνεται ως κυτταρικός υποδοχέας για την *S100A8*, ενώ η *S100A9* φαίνεται να αναστέλλει αυτή τη σύνδεση. Επιπλέον, οι θέσεις πρόσδεσης της *S100A9* για τον υποδοχέα *TLR-4/MD2* φαίνεται να είναι πανομοιότυπες με τις θέσεις πρόσδεσης για τον *RAGE* (R. Donato, 2013).

Οι πρωτεΐνες *S100* μπορούν να ενεργοποιήσουν τις αποκρίσεις των ενεργοποιούμενων με μιτογόνο (βιομόριο που επάγει την μίτωση) πρωτεϊνικών κινασών (*mitogen-activated protein kinases* ή *MAPK*) και μεταγραφικούς παράγοντες, όπως ο *NF-κB*, αλληλοεπιδρώντας με τον υποδοχέα *RAGE* και/ή τον *TLR-4*. Αυτό το γεγονός έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Ακόμη, ο υποδοχέας *RAGE* ενεργοποιείται από την πρωτεΐνη *S100A6* για να ενθαρρύνει την απόπτωση αλλά αδρανοποιείται από την *S100B*. Είναι επίσης γνωστό ότι οι πρωτεΐνες *S100* αλληλοεπιδρούν με τον επαγωγέα μεταλλοπρωτεϊνάσης της εξωκυττάριας μήτρας (*extracellular matrix metalloproteinase inducer* ή *EMMPRIN*) (επίσης γνωστό ως *CD147*), τον υποδοχέα συνδεδεμένο με G-πρωτεΐνη (*GPCR*), τον *CD36*, τον *FGFR1*, το αντιγόνο *CD166*, τον υποδοχέα *IL-10*, τη *νευροπλαστίνη-β* (*neuroplastin-β*), τον υποδοχέα *CD68* και τον *ErbB4* (Εικόνα 19). Τέλος, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι διάφορες αποκρίσεις των υποδοχέων είναι δυνατόν να επηρεάζονται από τα ετεροδιμερή των πρωτεϊνών *S100* και την παρουσία του ασβεστίου (Zeeshan Sattar, 2021).



Εικόνα 19. Εξωκυτταρικές λειτουργίες των πρωτεϊνών S100 (Zeeshan Sattar, 2021). Διάφοροι παράγοντες μπορούν να προκαλέσουν την απελευθέρωση ή έκκριση πρωτεϊνών S100 από πολλούς τύπους κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των κοκκιοκυττάρων. Οι εξωκυττάρειες πρωτεΐνες S100 αλληλοεπιδρούν με διάφορους υποδοχείς, με αποτέλεσμα να δημιουργούνται προφλεγμονώδη σηματοδοτικά μονοπάτια που προάγουν την κυτταρική διαφοροποίηση, φλεγμονή, μετανάστευση, απόπτωση και πολλαπλασιασμό, την επιδιόρθωση των ιστών και μια ισχυρή απόκριση ιντερφερόνης τύπου 1. Στην παραπάνω εικόνα παρουσιάζεται μόνο ένα μέρος των αποκρίσεων *RAGE*, *HSPG/GPCR*, *TLR4* και *CD147*.

- **RAGE:** *Receptor for Advanced Glycation Endproducts*, Υποδοχέας Τελικών Προϊόντων Προηγμένης Γλυκοζυλίωσης
- **EGFR:** *Epidermal Growth Factor Receptor*, Υποδοχέας Επιδερμικού Αυξητικού Παράγοντα
- **ErbB:** *Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene*, Ογκογονίδιο του Ιού της Ερυθροβλαστικής Λευχαιμίας
- **HSPG:** *Heparan Sulfate Proteoglycan*, Θεική Πρωτεογλυκάνη Ηπαρίνης
- **GPCR:** *G Protein Coupled Receptor*, Υποδοχέας Συνδεδεμένος με Πρωτεΐνη G
- **TLR4:** *Toll-like Receptor 4*, Υποδοχέας Τύπου Toll 4
- **SR:** *Scavenger Receptor*, Υποδοχέας Scavenger
- **FGFR1:** *Fibroblast Growth Factor Receptor 1*, Υποδοχέας Αυξητικού Παράγοντα των Ινοβλαστών
- **CD147:** *Cluster of Differentiation 147*, Σύμπλεγμα Διαφοροποίησης 147
- **EMMPRIN:** *Extracellular Matrix Metalloproteinase Inducer*, Επαγωγέας Μεταλλοπρωτεϊνάσης της Εξωκυτταρικής Μήτρας

6.4. Οι πρωτεΐνες S100 ως μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με βλάβες (DAMPs)

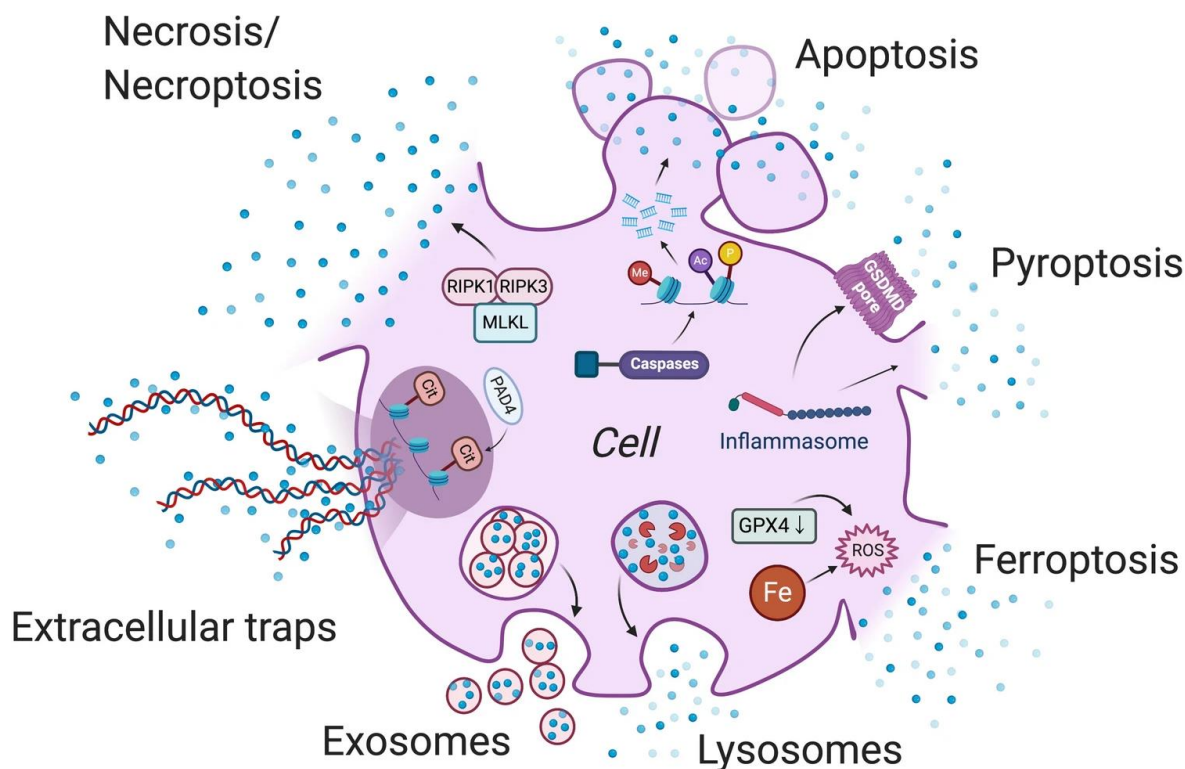
Εκτός από το να λειτουργούν ως πρωτεΐνες δέσμευσης ασβεστίου, οι πρωτεΐνες S100 θεωρήθηκαν αργότερα ότι διαδραματίζουν έναν ακόμη ρόλο, ως μόρια *DAMPs* (Chang Xia, 2018). Οι ενδογενείς ενώσεις που είναι γνωστές ως μοριακά πρότυπα που σχετίζονται με βλάβες (*DAMPs*, *Damage-Associated Molecular Patterns*) είναι ισχυροί διεγέρτες του ανοσοποιητικού συστήματος. Μόρια που δεσμεύουν το DNA, πρωτεΐνες θερμοκρασιακού σοκ, νουκλεοτίδια και νουκλεοζίτες, πυρηνικό και μιτοχονδριακό DNA, RNA, ουρικό οξύ και φυσικά οι πρωτεΐνες S100 είναι μερικά παραδείγματα *DAMPs*. Γενικότερα, τα μόρια *DAMPs* διαδραματίζουν ποικίλα καθήκοντα στη διατήρηση της ομοιόστασης στο εσωτερικό του κυττάρου, αλλά όταν τα κύτταρα βρίσκονται υπό πίεση, έχουν την ικανότητα να απελευθερώνονται στο εξωκυττάριο περιβάλλον. Οι κυτταρικοί στρεσογόνοι παράγοντες που μπορούν να οδηγήσουν σε απελευθέρωση *DAMPs* περιλαμβάνουν ένα ευρύ φάσμα φυσικών (τραύμα, ακτινοβολία), χημικών (τοξίνες, οσμωτικότητα), μεταβολικών (ισχαιμία/επαναιμάτωση) και μολυσματικών (ιοί, βακτήρια, πρωτόζωα) παραγόντων.

Μόλις βρεθούν εκτός του κυττάρου, τα μόρια *DAMPs* αλληλοεπιδρούν με κυτταρικούς υποδοχείς, όπως οι υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων (*PRRs*), για να αναγνωριστούν στην συνέχεια, από άλλα κύτταρα. Έπειτα, αυτά τα κύτταρα ρυθμίζουν μονοπάτια απόκρισης στο στρες, τα οποία συχνά συνενώνονται για να δημιουργήσουν ένα θετικό βρόχο ανατροφοδότησης ιστικού τραυματισμού και φλεγμονής. Μετά από διάφορες μελέτες για την λειτουργία των συγκεκριμένων μορίων, αποδείχθηκε ότι τα *DAMPs* σχετίζονται με διάφορες διαταραχές. Συγκεκριμένα, είναι συναφή με τη σοβαρότητα της νόσου στη σήψη και έχει αποδειχθεί ότι η αναστολή τους μπορεί να βελτιώσει τα αποτελέσματα σε πειραματικά μοντέλα σήψης. Διαφορετικά μόρια *DAMPs* μπορούν να βοηθήσουν στην ανάπτυξη και την εξάπλωση των όγκων κατά τη διάρκεια του καρκίνου. Ακόμη, τα *DAMPs* ρυθμίζονται συστηματικά και τοπικά σε ασθενείς με αυτοάνοσα νοσήματα, όπως η ρευματοειδής αρθρίτιδα, και η εξουδετέρωσή τους έχει αποδειχθεί ότι προλαμβάνει την εξέλιξη της νόσου, μετά από πειραματικές διεργασίες σε ζωικά μοντέλα.

Σύμφωνα με αυτά τα δεδομένα, τα μόρια που αναστέλλουν τα *DAMPs* έχουν τη δυνατότητα να μετριάσουν σημαντικά τη φλεγμονή και στο μέλλον μπορεί να αποδώσουν μια νέα κατηγορία αντιφλεγμονωδών φαρμάκων ικανών να αντιμετωπίσουν τελικά το

τραύμα, τη βλάβη ισχαιμίας/επαναιμάτωσης, τη σήψη, τη φλεγμονή των νευρικών κυττάρων και άλλες παθολογικές καταστάσεις που δεν ανταποκρίνονται στα υπάρχοντα ανοσοτροποποιητικά φάρμακα. Πράγματι, μόρια *DAMPs* βρίσκονται ήδη σε διαδικασία ανάπτυξης ως δυνητικοί θεραπευτικοί παράγοντες, κάτι που θα αναλυθεί σε συνέχεια της εργασίας. Προς το παρόν, οι κυρίαρχες στρατηγικές για τη μείωση των επιδράσεων των *DAMPs* συνίστανται στην εξουδετέρωση αντισωμάτων, στον ανταγωνιστικό ανταγωνισμό και στην ενζυμική αδρανοποίηση. Η ενεργός αναστολή της κυτταρικής απελευθέρωσης των *DAMPs* είναι μια εναλλακτική στρατηγική που λειτουργεί σε πιο θεμελιώδες επίπεδο. Ενώ η πλήρης κατανόηση των μηχανισμών που διέπουν την απελευθέρωση των *DAMPs* μπορεί να οδηγήσει σε νέες θεραπείες για τη μείωση της προφλεγμονώδους δράσης αυτών, μπορεί επίσης να βοηθήσει στην επίλυση προβλημάτων με άλλους τύπους ανοσοθεραπείας, όπως η εξάλειψη των κυτταροκινών (Atsushi Muraio, 2021).

Όσον αφορά στις πρωτεΐνες S100 ως μόρια *DAMPs*, έχει αποδειχθεί ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των φλεγμονωδών αποκρίσεων. Οι πρωτεΐνες S100 απελευθερώνονται από τα κύτταρα μετά από κυτταρική βλάβη ή ενεργοποίηση των φαγοκυττάρων (όπως είναι τα ουδετερόφιλα και τα μακροφάγα). Οι εξωκυτταρικές πρωτεΐνες S100 γίνονται στη συνέχεια σήματα κινδύνου και ενεργοποιούν τα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος και τα ενδοθηλιακά κύτταρα μέσω της πρόσδεσης στους υποδοχείς αναγνώρισης προτύπων *TLR4* και *RAGE*. Πιο συγκεκριμένα για την καλπροτεκτίνη, στο σημείο της φλεγμονής, η ίδια δρα ως χημειοτακτικός παράγοντας επάγοντας την προσκόλληση των ουδετερόφιλων. Επιπλέον, η πρωτεΐνη αυτή επάγει την απόπτωση σε διάφορους τύπους κυττάρων, όπως τα λεμφοκύτταρα, τα μακροφάγα, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τα καρκινικά κύτταρα (Chang Xia, 2018).



Εικόνα 20. Οι τεχνικές απελευθέρωσης των μορίων DAMPs (Atsushi Murao, 2021). Η νέκρωση (*necrosis/necroptosis*), η απόπτωση (*apoptosis*), η πυρόπτωση (*pyroptosis*, φλεγμονώδης μορφή κυτταρικού θανάτου), η φερρόπτωση (*ferroptosis*, εξαρτώμενος από το σίδηρο κυτταρικός θάνατος), οι εξωκυτταρικές παγίδες (*extracellular traps*, οι οποίες δεσμεύουν παθογόνα μικρόβια), τα εκκριτικά λυσοσώματα (*lysosomes*) και τα εξωσώματα (*exosomes*, μεταφορά πληροφοριών) είναι παραδείγματα κοινών τρόπων απελευθέρωσης DAMPs από τα κύτταρα.

- GPX4 (Glutathione Peroxidase 4) → υπεροξειδάση της γλουταθειόνης 4,
- ROS (Reactive Oxygen Species) → δραστικές μορφές οξυγόνου,
- PAD4 (Protein Arginine Deiminase 4) → πεπτιδυλαργινίνη δεϊμινάση 4,
- RIPK (Receptor Interacting Protein Kinase) → πρωτεϊνική κινάση που αλληλοεπιδρά με υποδοχέα,
- MLKL (Mixed Lineage Kinase domain-Like protein) → πρωτεΐνη παρόμοια με την κινάση μεικτής γενεαλογίας,
- Me (methylation) → μεθυλίωση,
- Ac (acetylation) → ακετυλίωση
- P (phosphorylation) → φωσφορυλίωση
- Cit (citrullination) → κιτρουλίωση

Συνοψίζοντας, για τα χαρακτηριστικά των πρωτεϊνών S100 (Zeeshan Sattar, 2021):

S100	Υποδοχέας και πρωτεΐνες αλληλεπίδρασης	Κύρια κύτταρα στα οποία εκφράζονται
S100A1	RAGE	Μακροφάγα, δενδριτικά, επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα
S100A2	RAGE	Καρκινικά κύτταρα, βασικά κύτταρα και βλεφαριδωτά κύτταρα
S100A3	RAGE, retinoid receptor, RARα και PML-RARα, TLR4, IL-10R, EGFR	Ενδοθηλιακά, επιθηλιακά και λεμφικά κύτταρα
S100A4	RAGE, ErbB4, HSPG, GPCR	Καρκινικά κύτταρα, Τ λεμφοκύτταρα, ουδετερόφιλα και μακροφάγα
S100A5	RAGE	Μακροφάγα και καρκινικά κύτταρα
S100A6	RAGE	Τα περισσότερα κύτταρα του πνεύμονα, αλλά κυρίως ουδετερόφιλα, μακροφάγα και κύτταρα NK
S100A7	RAGE	Επιθηλιακά κύτταρα και ουδετερόφιλα
S100A8	RAGE, TLR4, heparan sulfate και N-glycans, S100A9	Διάφοροι ιστοί, αλλά κυρίως μονοκύτταρα, κοκκιοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα

S100A9	RAGE, TLR4, heparan sulfate και N-glycans, S100A8,	Διάφοροι τύποι κυττάρων, αλλά κυρίως μακροφάγα,
S100A9	EMMPRIN	κοκκιοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα
S100A10	GPCRs, serotonin receptors, CCR10 και AnxA2	Διάφοροι τύποι κυττάρων αλλά κυρίως μακροφάγα, κοκκιοκύτταρα και επιθηλιακά κύτταρα
S100A11	RAGE	Ευρεία έκφραση σε διάφορους ιστούς και κυτταρικούς τύπους
S100A12	TLR4, RAGE, N-glycans, scavenger receptors και GPCR	Κοκκιοκύτταρα και μονοκύτταρα
S100A13	RAGE	Ευρεία έκφραση σε διάφορους ιστούς και κυτταρικούς τύπους
S100A14	RAGE	Επιθηλιακά κύτταρα και καρκινικά κύτταρα
S100A15	GPCR	Καρκινικά κύτταρα και ουδετερόφιλα
S100A16	Άγνωστη αλληλεπίδραση με υποδοχείς, αλλά συνδέεται με την S100A14	Καρκινικά κύτταρα, επιθηλιακά και ενδοθηλιακά κύτταρα και ινοβλάστες
S100B	RAGE και FGFR1	Καρκινικά κύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, και λεμφοκύτταρα
S100G	Annexin A10	Επιθηλιακά και καρκινικά κύτταρα

S100P	RAGE και p53	Επιθηλιακά και καρκινικά κύτταρα
S100Z	S100A1, S100A3 και S100B	Μονοκύτταρα και δενδριτικά κύτταρα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

Οι πρωτεΐνες S100 ως βιοδείκτες νοσημάτων στην καρδιολογία

Η φλεγμονή είναι η προστατευτική αντίδραση του οργανισμού για να απαλλαγεί τόσο από ενδογενείς όσο και από εξωτερικούς παθογόνους μικροοργανισμούς. Μια περίπλοκη αλυσίδα ενεργειών που περιλαμβάνει πολυάριθμα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος καθώς και διάφορους **φλεγμονώδεις μεσολαβητές**, είναι υπεύθυνη για την έναρξη της φλεγμονώδους αντίδρασης. Αυτοί οι μεσολαβητές, είτε παράγονται από εισβάλλοντα μικρόβια στον οργανισμό, είτε απελευθερώνονται από τα μολυσμένα κύτταρα ως αντίδραση σε βλάβη των ιστών, είτε ακόμη εκκρίνονται από διάφορα λευκά αιμοσφαίρια (White Blood Cells, WBCs) που συμμετέχουν στη φλεγμονώδη αντίδραση (Gopalkrishna Sreejit, 2020).

Οι εξωκυτταρικές πρωτεΐνες S100 θεωρούνται βιοδείκτες που συνδέονται με συγκεκριμένες διαταραχές, δεδομένου ότι μπορούν να βρεθούν σε σωματικά υγρά όπως τα ούρα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, ο ορός, τα πτύελα και τα κόπρανα (Chang Xia, 2018). Έχει, ακόμη, βρεθεί ότι η οικογένεια των πρωτεϊνών S100 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο τόσο στην έναρξη όσο και στη συνέχιση της φλεγμονής. Οι πρωτεΐνες αυτές λειτουργούν ως πρωτεΐνες που ανταποκρίνονται στη φλεγμονή εντός των φλεγμονωδών δικτύων, αλλά μπορούν επίσης να ενισχύσουν το φλεγμονώδες σήμα που τις προκάλεσε αρχικά. Τελικά, αυτό συμβάλλει σε έναν θετικό κύκλο ανατροφοδότησης που προάγει την ανεξέλεγκτη φλεγμονή, η οποία μπορεί με την σειρά της να ενθαρρύνει την εμφάνιση και την ανάπτυξη ασθενειών. Αντίθετα, φαίνεται ότι αρκετά μέλη της οικογένειας S100 μπορούν, υπό ορισμένες συνθήκες, να λειτουργήσουν αντίστροφα και να μειώσουν την φλεγμονή, ενώ ταυτόχρονα να επιταχύνουν το σήμα για την διαδικασία επούλωσης των ιστών που έχουν υποστεί βλάβη (Gopalkrishna Sreejit, 2020).

7.1. Η πρωτεΐνη S100A1

Εκτεταμένες έρευνες που πραγματοποιήθηκαν για την εξακρίβωση της λειτουργίας της πρωτεΐνης S100A1 στην καρδιά, αποκάλυψαν ότι αυτή βελτιώνει άμεσα τον καρδιακό κύκλο ασθενούς, ενώ παράλληλα αλληλοεπιδρά με τα μυοϊνίδια και ελέγχει τον μεταβολισμό των μιτοχονδρίων. Επιπλέον, η S100A1 συμμετέχει στην ενίσχυση της συστατικότητας των κυττάρων του μυοκαρδίου, διευκολύνοντας έτσι την απελευθέρωση

και επαναπρόσληψη του ασβεστίου. Υπάρχουν όλο και περισσότερες ενδείξεις ότι η πρωτεΐνη S100A1 μπορεί να αποτελέσει μια πολλά υποσχόμενη θεραπεία για την καρδιακή ανεπάρκεια (Wang Wang, 2014).

Όπως αναφέρθηκε αναλυτικότερα και στην παράγραφο 5.1., οι σκελετικοί μύες και οι μύες της καρδιάς είναι οι κύριες περιοχές έκφρασης της πρωτεΐνης S100A1. Οι *Claus W. Heizmann et al*, πραγματοποίησαν εργαστηριακά πειράματα για την εξακρίβωση του ρόλου της S100A1 στην ηλεκτρική δραστηριότητα της καρδιάς, χρησιμοποιώντας ποντίκια S100A1 *Knock-Out (KO)*, τα οποία δημιουργήθηκαν με μεταλλαξιγένεση γονιδιακής παγίδας (*gene trap mutagenesis*). Ένα ποντίκι *Knock-Out* είναι ένα εργαστηριακό ποντίκι στο οποίο οι ερευνητές έχουν αδρανοποιήσει, ή «χτυπήσει» -εξ' ου και η έκφραση *Knock-Out*- ένα υπάρχον γονίδιο αντικαθιστώντας το ή διακόπτοντάς το με ένα τεχνητό κομμάτι DNA (Ανοη., 2022). Η διαδικασία που χρησιμοποίησαν για να δημιουργήσουν τα ποντίκια KO, η μεταλλαξιγένεση γονιδιακής παγίδας, είναι μια τεχνική που παράγει τυχαία μεταλλάξεις που σχετίζονται με απώλεια λειτουργικότητας και καταγράφει την έκφραση πολλών γονιδίων των ποντικών (William L. Stanford, 2001). Τα αποτελέσματα της πειραματικής αυτής μελέτης έδειξαν ότι η ανεπάρκεια της S100A1, είχε ως αποτέλεσμα την παρατεταμένη κοιλιακή επαναπόλωση (*early repolarization syndrome*) ως απόκριση στη συμπαθητική ενεργοποίηση (Heizmann, 2019). Η κατάσταση αυτή, που αποδεικνύεται ως ανύψωση του σημείου *J* στο ηλεκτροκαρδιογράφημα, θεωρούνταν παλαιότερα καλοήθους οντότητα, αλλά οι πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι μπορεί να συνδέεται με σημαντικό κίνδυνο απειλητικών για τη ζωή αρρυθμιών, μέχρι ακόμη και αιφνίδιου καρδιακού θανάτου (*Sudden Cardiac Death* ή *SCD*) (Abdi Ali, 2015).

Στην συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν μελέτες σε κύτταρα του καρδιακού μυός ποντικού, για τον έλεγχο της σηματοδότησης του ασβεστίου σε αυτά, όταν η πρωτεΐνη S100A1 απουσιάζει. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η χρόνια έλλειψη της S100A1 στα κύτταρα του καρδιακού μυός, οδηγεί σε αυξημένη δραστηριότητα των διαύλων ασβεστίου τύπου L, σε συνδυασμό με μειωμένη ενίσχυση της απελευθέρωσης ασβεστίου στο σαρκοπλασματικό δίκτυο. Το γεγονός αυτό, μπορεί να έχει επιπτώσεις σε μια ποικιλία καρδιακών παθολογιών, στις οποίες παρατηρείται μια μη φυσιολογική ευαισθησία των υποδοχέων ρυανοδίνης (*RyRs*), οι οποίοι αποτελούν διαύλους απελευθέρωσης ασβεστίου, ή ακόμη και μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης S100A1. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι, κατά τη διάρκεια της καρδιοπνευμονικής παράκαμψης και σε

συνδυασμό με ισχαιμικές βλάβες του μυοκαρδίου, η S100A1 μετατοπίζεται. Ακόμη, προτάθηκε ότι μετρήσεις που μπορούν να πραγματοποιηθούν σχετικά με τα επίπεδα της S100A1 στον ορό ασθενών που υποβάλλονται σε καρδιοχειρουργική επέμβαση, μπορούν να δώσουν σχετικά αποτελέσματα για τη διάγνωση της ισχαιμικής βλάβης της καρδιάς (Heizmann, 2019).

Προκειμένου να εκτιμηθούν τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A1 στο πλάσμα ατόμων που παρουσιάζουν συμπτώματα οξείας ισχαιμίας του μυοκαρδίου, αναπτύχθηκε η ειδική για την S100A1 δοκιμή *ELISA sandwich*. Ως αποτέλεσμα, η συγκέντρωση της S100A1 με το πέρασ του χρόνου βρέθηκε να είναι διαφορετική από τους «κλασικούς» βιοδείκτες της οξείας ισχαιμίας του μυοκαρδίου, κινάση κρεατινίνης (*CK, Creatinine Kinase*), κινάση κρεατινίνης του καρδιακού μυός (*CK-MB, Creatinine Kinase-cardiac Muscle Biomarker*) και τροπονίνη I (*troponin I*), καθώς παρουσιάστηκε πρώιμη αύξηση της πρωτεΐνης S100A1 και γρήγορη πτώση της συγκέντρωσής της στο πλάσμα μετά το ισχαιμικό συμβάν. Ως πιθανός **πρώιμος** διαγνωστικός βιοδείκτης για ισχαιμικές στεφανιαίες διαταραχές, η πρωτεΐνη S100A1 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ταυτόχρονα με άλλα συνδυαστικά μέτρα .

Η καρδιακή ανεπάρκεια χαρακτηρίζεται από μειωμένη έκφραση της S100A1 στον καρδιακό μυ. Μια πειραματική διαδικασία που πραγματοποιήθηκε με σκοπό να αποκατασταθούν τα φυσιολογικά επίπεδα της πρωτεΐνης S100A1, οι συσταλτικές λειτουργίες του καρδιακού μυ καθώς και η ομοιόσταση του ασβεστίου, περιλάμβανε την μεταφορά του καρδιακού γονιδίου S100A1 ενός αδενοϊού σε κύτταρα του μυοκαρδίου τρωκτικών που πάσχουν από καρδιακή ανεπάρκεια (Heizmann, 2019).

Τα τελευταία χρόνια, έχουν προταθεί μελλοντικές θεραπευτικές προσεγγίσεις για την αποκατάσταση του καρδιακού τραύματος και την πρόληψη ή ακόμη και την θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας. Στην θεραπεία αυτή συμπεριλαμβάνεται η μεταφορά γονιδίων S100A1 στο μυοκάρδιο που πάσχει, με σκοπό την αύξηση των επιπέδων της πρωτεΐνης S100A1 στο σημείο αυτό.

Η S100A1 θεωρείται επίσης πιθανός βιοδείκτης για τη διάγνωση της λοιμώδους ενδοκαρδίτιδας, όταν χρησιμοποιηθεί σε συνδυασμό με τις τροπονίνες και άλλα στοιχεία. Έχει ακόμη βρεθεί ότι ο κύκλος του ασβεστίου καθώς και η συσταλτικότητα του καρδιακού μυ, πιθανόν να επηρεάζονται ποικιλοτρόπως και από την πρωτεΐνη S100A2. Κατά συνέπεια, οι S100A2 και S100A4 μπορεί να είναι περαιτέρω υποψήφιοι για μια

διαφοροποιημένη θεραπεία καρδιακής ανεπάρκειας, εκτός από την παρβαλβουμίνη και την S100A1, που ενισχύει την επιβίωση των κυττάρων του καρδιακού μυός (Heizmann, 2019).

7.2. Η πρωτεΐνη S100B

Ένας ακόμη πιθανός εγγενής αρνητικός ρυθμιστής της καρδιακής υπερτροφίας που εμφανίζεται μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου είναι η πρωτεΐνη S100B. Προκειμένου να εξεταστούν οι επιδράσεις της έκφρασης της S100B και της μεταβαλλόμενης υπερτροφίας μετά από έμφραγμα, δημιουργήθηκαν από τους James N. Tsororis et al διαγονιδιακά ποντίκια στα οποία υπάρχει υπερέκφραση της πρωτεΐνης S100B (*transgenic* ή *TG*) και S100B-Knock-Out (*KO*) ποντίκια. Οι ερευνητές σύγκριναν 21 ποντίκια άγριου τύπου (*WT*), 20 ποντίκια *TG* και 24 ποντίκια *KO*, 35 ημέρες μετά το πειραματικό έμφραγμα του μυοκαρδίου με 56 μάρτυρες που υποβλήθηκαν σε εικονική επέμβαση (James N. Tsororis, 2005). Η εικονική χειρουργική επέμβαση (χειρουργική επέμβαση *placebo*) είναι μια χειρουργική επέμβαση που παραλείπει το βήμα που θεωρείται θεραπευτικά απαραίτητο (Massimo Ciccozzi, 2016).

Κατά τη διάρκεια της περιόδου παρατήρησης, λοιπόν, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι έχασαν τη ζωή τους συνολικά 4 ποντίκια *WT* με έμφραγμα μυοκαρδίου, 7 ποντίκια *TG* με έμφραγμα μυοκαρδίου και 1 μόλις ποντίκι *KO* με έμφραγμα μυοκαρδίου. Αντιθέτως, κανένα εικονικά χειρουργημένο ποντίκι δεν απεβίωσε. Μεταξύ των επιζώντων, οι ομάδες των εμφραγματοπαθών ποντικίων *WT* και *KO* παρουσίασαν υπερτροφική απόκριση, η οποία ενισχύθηκε περαιτέρω στα ποντίκια *KO*, μετά από αποτελέσματα που έδειξαν η μεταθανάτια εξέταση, οι αιμοδυναμικές εξετάσεις και το ηχοκαρδιογράφημα. Η ομάδα ποντικίων *TG* με υπερέκφραση της S100B, παρουσίασε ενισχυμένη απόπτωση αλλά όχι υπερτροφία. Επιπλέον, η μετεμφραγματική τελική διαστολική πίεση ήταν χαμηλότερη στα ποντίκια *KO* σε σχέση με τα ποντίκια *WT*, σύμφωνα με αιμοδυναμικές και λειτουργικές δοκιμές, γεγονός που υποδηλώνει ότι η κατάργηση της έκφρασης του γονιδίου που παράγει την πρωτεΐνη S100B αύξησε την υπερτροφία του μυοκαρδίου στα συγκεκριμένα ποντίκια, ενώ ταυτόχρονα είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της κυτταρικής απόπτωσης και ήταν ευεργετική για τη διατήρηση της καρδιακής λειτουργίας σε αυτό το χρονικό πλαίσιο. Συμπεράσματικά, η παραπάνω έρευνα υποδεικνύει ότι η πρωτεΐνη S100B ρυθμίζει την

υπερτροφική απόκριση και την αναδιαμόρφωση στην πρώιμη μετεμφραγματική περίοδο και αποτελεί έναν πιθανό νέο θεραπευτικό στόχο (James N. Tsoporis, 2005).

7.3. Οι πρωτεΐνες S100A2 και S100A6

Οι Wang Wang et al, θεώρησαν ότι οι πρωτεΐνες S100A2 και S100A6 θα έχουν ιδιαίτερο ρόλο στον καρδιακό μυ και θα μπορούσαν να βελτιώσουν τα κύτταρα του καρδιακού μυός, όταν ο ασθενής πάσχει από καρδιακή ανεπάρκεια. Και οι δυο πρωτεΐνες, S100A2 και S100A6, εκφράζονται, μεταξύ άλλων κυτταρικών τύπων, και στα κύτταρα της καρδιάς του ανθρώπου και των βοοειδών. Βέβαια, η έλλειψη των πρωτεϊνών αυτών στην καρδιά τρωκτικών, προσφέρει ένα πρότυπο για να δοκιμαστεί *de novo* η έκτοπη έκφραση αυτών των πρωτεϊνών για την ανάλυση της σχέσης δομής-λειτουργίας τους (Wang Wang, 2014).

Οι ερευνητές, προκειμένου να συγκρίνουν τις πρωτεΐνες S100A2 και S100A6 με την S100A1 στα κύτταρα του καρδιακού μυός, χρησιμοποίησαν την τεχνική της γονιδιακής μεταφοράς, δηλαδή την εισαγωγή ενός νέου τμήματος DNA στο κύτταρο ενός υπάρχοντος οργανισμού, συνήθως μέσω φορέων όπως τα πλασμίδια και οι τροποποιημένοι ιοί (Anon., 2022). Είναι ενδιαφέρον ότι η S100A2, αλλά όχι η S100A6, αύξησε σημαντικά τη συσταλτικότητα των κυττάρων του μυοκαρδίου και ενίσχυσε την απόδοση της χαλάρωσης. Οι θεραπευτικές δοκιμές έδειξαν ότι η γονιδιακή μεταφορά της S100A2 μπορεί να διασώσει τόσο τις συστολικές όσο και τις διαστολικές ανωμαλίες των κυττάρων του μυοκαρδίου που πάσχει από ανεπάρκεια. Τα ευρήματα αυτά αποκαλύπτουν διακριτές επιδράσεις των πρωτεϊνών S100 στη δραστηριότητα των καρδιακών κυττάρων και προτείνουν την πρωτεΐνη S100A2 ως μια νέα δυνατότητα για τη θεραπεία της καρδιακής ανεπάρκειας (Wang Wang, 2014).

7.4. Η πρωτεΐνη S100A6

Επιπροσθέτως, οι Azadeh Mofid et al υπέθεσαν ότι η γονιδιακή μεταφορά της S100A6 θα βελτιώσει τη βλάβη της επαναιμάτωσης του μυοκαρδίου και θα μετριάσει τη συστολική δυσλειτουργία της αριστερής κοιλίας σε ένα μοντέλο αρουραίου I/R (*Ischemia/Reperfusion, Ισχαιμία/Επαναιμάτωση*), δεδομένου ότι η S100A6 έχει τη δυνατότητα να διαμορφώνει διάφορα σημαντικά μονοπάτια που εμπλέκονται στη βλάβη I/R, συμπεριλαμβανομένης της απόπτωσης των κυττάρων του μυοκαρδίου, καθώς και να επηρεάζει θετικά την καρδιακή υπερτροφία. Η καρδιακή βλάβη I/R μετά από στεφανιαία

επαναιμάτωση είναι μια πολύπλοκη βιολογική διαδικασία που περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα παθολογικών διεργασιών σε κυτταρικό και μοριακό επίπεδο, και παρόλο που πολλές θεραπευτικές στρατηγικές έχουν δείξει όφελος σε πειραματικές μελέτες, ο αντίκτυπός τους στην τρέχουσα κλινική πρακτική είναι μέτριος. Σύμφωνα με την μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Azadeh Mofid et al, η θεραπεία με πρωτεΐνη S100A6 έχει πολλαπλές επιπτώσεις στα κύτταρα του καρδιακού μυός, συμπεριλαμβανομένης της μείωσης της κυτταρικής απόπτωσης και υπερτροφίας. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν ότι η πρωτεΐνη S100A6 θα μπορούσε να αποτελέσει δυνητικό θεραπευτικό στόχο για την οξεία I/R του μυοκαρδίου (Azadeh Mofid, 2017).

Οι συγκρίσεις των δύο πιο διεξοδικά ερευνημένων μελών της οικογένειας S100, S100A6 και S100A1, αποκαλύπτουν σημαντικές ομοιότητες και διαφορές. Ενώ η S100A1 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό υπό βασικές συνθήκες και η έκφρασή της μειώνεται μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου, η S100A6 παρουσιάζει χαμηλή καρδιακή έκφραση γενικότερα, αλλά υπερεκφράζεται μετά το οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου. Συνοψίζοντας, η μελέτη αυτή καταδεικνύει το θεραπευτικό όφελος της γονιδιακής θεραπείας με την χρήση της πρωτεΐνης S100A6. Τα αποτελέσματα της έρευνας δείχνουν βελτιωμένη επιβίωση, μειωμένο μέγεθος εμφράγματος και μεγαλύτερη βιωσιμότητα του μυοκαρδίου, με αποτέλεσμα την αύξηση της συστολικής λειτουργίας της αριστερής κοιλίας στο πλαίσιο οξέος εμφράγματος του μυοκαρδίου και τραυματισμού I/R. Αυτές οι θετικές επιδράσεις αποδόθηκαν κυρίως στις γνωστές αντι-αποπτωτικές και αντι-υπερτροφικές επιδράσεις της πρωτεΐνης S100A6. (Azadeh Mofid, 2017).

7.5. Οι πρωτεΐνες S100A8, S100A9 και S100A12

Στην συγκεκριμένη έρευνα, οι Zafer Buyukterzi et al, επιδίωξαν να προσδιορίσουν εάν τα επίπεδα των πρωτεϊνών S100A8, S100A9 και S100A12 στο αίμα αποτελούν δείκτες οξέος στεφανιαίου συνδρόμου (*Acute Coronary Syndrome* ή ACS). Για να ελεγχθεί αυτή η υπόθεση, εγγράφηκαν σε αυτή την μελέτη άτομα τα οποία υποβλήθηκαν σε στεφανιογραφία ή/και διαδερμικές στεφανιαίες επεμβάσεις κατά το χρονικό διάστημα από τον Ιούνιο του 2015 έως και τον Οκτώβριο του ίδιου έτους, και έπειτα χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες, καθεμία από τις οποίες περιείχε 30 ασθενείς. Οι τρεις ομάδες περιλάμβαναν ασθενείς με φυσιολογικές στεφανιαίες αρτηρίες, ασθενείς με σταθερή στεφανιαία νόσος και, τέλος, ασθενείς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο. Έτσι, υπήρχαν συνολικά 90 ασθενείς,

με εύρος ηλικίας 56-73 ετών και ένα ποσοστό 62,89% αυτών να είναι άνδρες. Μαζί με τις εργαστηριακές εξετάσεις ρουτίνας, σημειώθηκαν παράλληλα και βασικές μεταβλητές, όπως οι συννοσηρότητες και τα φάρμακα. Εκτιμήθηκαν επίσης τα επίπεδα των S100A8, S100A9, S100A12 και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης στον ορό των ασθενών.

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A9 βρέθηκαν να είναι υψηλότερα στο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο σε σχέση με τα επίπεδα S100A9 των ασθενών με φυσιολογικές στεφανιαίες αρτηρίες. Ωστόσο φαίνεται ότι η πρωτεΐνη S100A12 είναι ένας ανεξάρτητος συνεργάτης του οξύ στεφανιαίου συνδρόμου, καθώς τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A12 βρέθηκαν να είναι υψηλότερα στο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο συγκριτικά με ασθενείς που πάσχουν από σταθερή στεφανιαία νόσο αλλά και με άτομα με φυσιολογικές στεφανιαίες αρτηρίες. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η πρωτεΐνη S100A12 μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης της ασταθούς στεφανιαίας πλάκας και μπορεί ακόμη να έχει θεραπευτικές εφαρμογές στο οξύ στεφανιαίο σύνδρομο (Zafer Buyukterzi, 2017).

Πρωτεΐνες S100	Συσχετισμός με ασθένεια
S100B	Αναδιαμόρφωση της αριστερής κοιλίας μετά από έμφραγμα του μυοκαρδίου
S100A1	Τροποποιημένη έκφραση σε μυοκαρδιοπάθεια και καρδιακή υπέρταση, γονιδιακή θεραπεία καρδιακής ανεπάρκειας
S100A2/S100A6	Μεταφορά γονιδίων για την αύξηση συσταλτικότητας, χαλάρωσης
S100A6	Ισχαιμία-Επαναιμάτωση του μυοκαρδίου
S100A9/S100A12	Οξύ στεφανιαίο σύνδρομο

Πίνακας 3. **Οι πρωτεΐνες S100 στην καρδιολογία** (Heizmann, 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

Η κλινική σημασία των πρωτεϊνών S100 στη φλεγμονή, τα αυτοάνοσα νοσήματα και τις αλλεργίες

8.1. Η πρωτεΐνη S100B στην λεύκη

Η λεύκη είναι μια επίμονη δερματική διαταραχή, η οποία προκαλεί σταδιακή απώλεια του χρώματος του δέρματος. Η πρωτεΐνη S100B, η οποία, όπως έχει προαναφερθεί και στην παράγραφο 5.18, παράγεται, μεταξύ άλλων, και στα μελανοκύτταρα, ενώ έχει προταθεί και ως μέτρο της κυτταροτοξικότητας των μελανοκυττάρων. Η S100B είναι ένας καθιερωμένος βιοδείκτης για το μελάνωμα, αλλά εξ όσων είναι γνωστό έως τώρα, δεν έχει γίνει καμία έρευνα για να εξεταστεί η σχέση της με τη δραστηριότητα της λεύκης.

Οι Reinhart Speeckaert et al, μετά από μελέτες που πραγματοποιήσαν σε ασθενείς με ενεργό μη τμηματική λεύκη, διαπίστωσαν υψηλή συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων S100B στον ορό και της προσβεβλημένης επιφάνειας του σώματος. Επιπλέον, κατά τη διάρκεια της προοπτικής παρακολούθησης, τα επίπεδα της S100B στον ορό βρέθηκε ότι έχουν προγνωστική αξία για την εξέλιξη της νόσου. Χρησιμοποιώντας επαναλαμβανόμενες τεχνικές κατάψυξης-απόψυξης, μελέτες *in vitro* σε φυσιολογικά μελανοκύτταρα και μελανοκύτταρα που πάσχουν από λεύκη, οι ερευνητές αποκάλυψαν μια ενδοκυτταρική αύξηση της ρύθμισης της πρωτεΐνης S100B πριν από μια εκτεταμένη απελευθέρωση της στο περιβάλλον. Επομένως, οι αυξημένες τιμές S100B στον ορό κατά την ενεργό φάση της λεύκης μπορεί να εξηγούνται από αυτό το φαινόμενο.

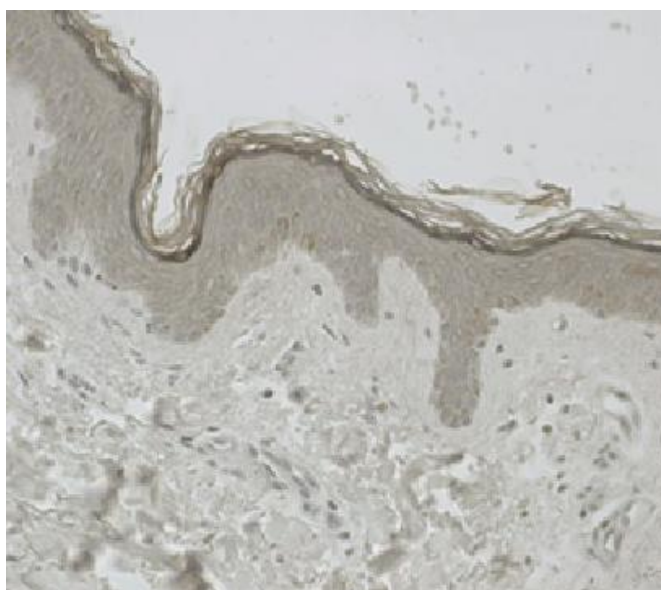
Με το πέρας της συγκεκριμένης επιστημονικής έρευνας, οι ερευνητές κατάφεραν να αποδείξουν, χρησιμοποιώντας ένα μοντέλο ποντικού, τη δυνατότητα αναστολής της S100B πρωτεΐνης ως θεραπευτική προσέγγιση για την λεύκη. Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή καταδεικνύει τη δυνητική χρησιμότητα της πρωτεΐνης S100B ως βιοδείκτη για τη δραστηριότητα της νόσου στην λεύκη. Τα δεδομένα αυτά, υποδηλώνουν ότι αυτή η πρωτεΐνη θα μπορούσε να διαδραματίσει ουσιαστικό ρόλο στην παθογένεια της λεύκης, ενώ ακόμη, πιθανόν να αποτελέσει ένα νέο θεραπευτικό στόχο για την συγκεκριμένη ασθένεια (Reinhart Speeckaert, 2017).

8.2. Η πρωτεΐνη S100A4 στην φλεγμονή και την μετάσταση

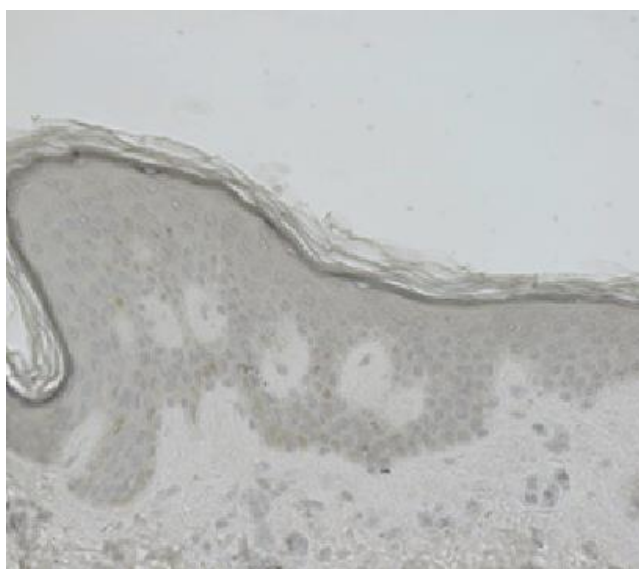
Σε μια έρευνα που πραγματοποίησαν οι M. T. Hansen et al, επιβεβαίωσαν μια σύνδεση μεταξύ της φλεγμονής και της ανάπτυξης μεταστατικών όγκων, δυο καταστάσεις που εξαρτώνται από την πρωτεΐνη S100A4. Σύμφωνα με αυτήν την έρευνα, οι πρωτεΐνες απόκρισης οξείας φάσης του αμυλοειδούς ορού A (*Serum Amyloid A* ή *SAA*) 1 και 3 αποτελούν μεταγραφικούς στόχους της πρωτεΐνης S100A4 μέσω της σηματοδότησης του υποδοχέα *TLR4/NF-κB*. Η ενδοφλέβια έγχυση της πρωτεΐνης S100A4 προκάλεσε την έκφραση των πρωτεϊνών *SAA1* και *SAA3*, όπως και των κυτταροκινών κατά τρόπο ειδικό για κάθε όργανο. Οι ερευνητές απέδειξαν ακόμη σε ένα ζωικό μοντέλο που πάσχει από καρκίνου του μαστού, ότι η έκτοπη έκφραση των *SAA1* ή *SAA3* σε καρκινικά κύτταρα προώθησε ισχυρά τον σχηματισμό εκτεταμένων μεταστάσεων που συνοδεύονταν από μαζική διήθηση ανοσοκυττάρων. Επιπλέον, υπήρξε ισχυρή συσχέτιση μεταξύ της ταυτόχρονης έκφρασης της S100A4 και των πρωτεϊνών *SAA* σε δείγματα ασθενών που πάσχουν από καρκίνο του παχέος εντέρου και του μειωμένου συνολικού ποσοστού επιβίωσης των ασθενών αυτών. Συμπερασματικά, τα παραπάνω ευρήματα, αποδεικνύουν ότι οι πρωτεΐνες *SAA* αποτελούν φορείς (*effectors*) για τις δραστηριότητες της πρωτεΐνης S100A4, και με τον τρόπο αυτό δρουν ως γέφυρα μεταξύ φλεγμονής και ανάπτυξης όγκων, με αποτέλεσμα να προάγουν τη μετάσταση του όγκου (M. T. Hansen, 2014).

8.3. Η πρωτεΐνη S100A7 (ψωριασίνη) στην ψωρίαση και στην θεραπεία πληγών

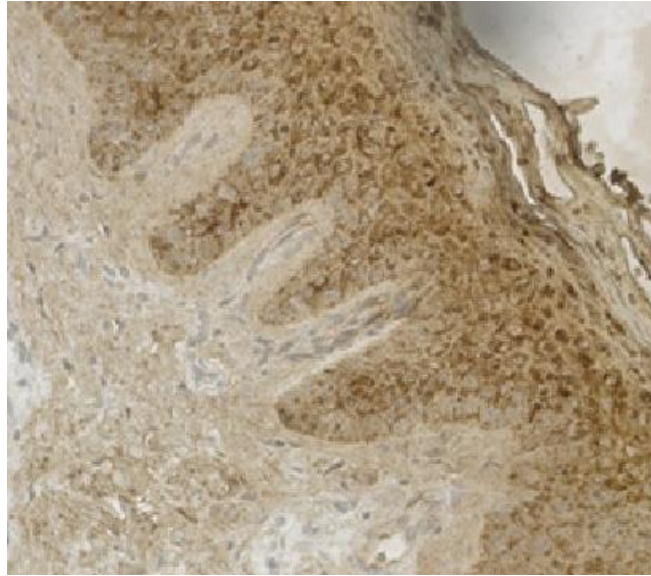
Όταν ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά, η ψωριασίνη θεωρήθηκε ότι είναι μια πρωτεΐνη που εκφράζεται έντονα στο ψωριασικό δέρμα. Οι Anna-Karin Ekman et al, πραγματοποίησαν μια έρευνα, στην οποία περιγράφουν το διαφορετικό πρότυπο έκφρασης μεταξύ ασθενών με ψωρίαση και υγιών ατόμων. Με την χρήση της ανοσοϊστοχημείας, στα δείγματα των δυο παραπάνω κατηγοριών, βρέθηκε μια αραιή έκφραση ψωριασίνης στο φυσιολογικό δέρμα (Εικόνα 21), η οποία δεν διέφερε αισθητά από το νέο αρνητικό έλεγχο (Εικόνα 22). Παρατηρήθηκε, επίσης, μια έντονη χρώση στο αλλοιωμένο ψωριασικό δέρμα (Εικόνα 23) με μια τάση για μια **διαβάθμιση της ψωριασίνης**, που εκτείνεται από μια μέτρια έκφραση στη βασική κυτταρική στιβάδα έως μια έντονη έκφραση στις πιο διακριτές στιβάδες της επιδερμίδας. Αυτό το πρότυπο έκφρασης της ψωριασίνης υποδεικνύει τον πιθανό ρόλο της S100A7 στην προχωρημένη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων (Anna-Karin Ekman, 2016).



Εικόνα 21. Η ανοσοϊστοχημική χρώση φυσιολογικού δέρματος αποδεικνύει ότι δεν υπάρχει έκφραση της ψωριασίνης (Anna-Karin Ekman, 2016).



Εικόνα 22. Απεικόνιση του αρνητικού ελέγχου, ο οποίος προέκυψε με παράλειψη του πρωτογενούς αντισώματος (Anna-Karin Ekman, 2016). Ο αρνητικός έλεγχος πραγματοποιείται σε ένα τμήμα από ιστό που είναι γνωστό ότι δεν εκφράζει το αντιγόνο-στόχο, στην συγκεκριμένη περίπτωση την ψωριασίνη. Αυτό γίνεται για τον έλεγχο μη ειδικού σήματος και ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων.



Εικόνα 23. Η ψωριασίνη εκφράζεται ως βαθμίδα στο ψωριασικό δέρμα. Η ανοσοϊστοχημική χρώση ψωριασικού δέρματος καταδεικνύει την επιδερμική έκφραση της ψωριασίνης, η οποία εμφανίζει σημαντικά υψηλότερη ένταση χρώσης στα ανώτερα, πιο διαφοροποιημένα στρώματα του ψωριασικού δέρματος. Η ασθενής έκφραση στα βασικά κύτταρα και η έντονη έκφραση στα κύτταρα των υπερβασικών στιβάδων παρουσιάζουν μια διαβάθμιση της έκφρασης της ψωριασίνης (Anna-Karin Ekman, 2016).

Στην συνέχεια, η έκφραση της ψωριασίνης αξιολογήθηκε σε κύτταρα που εκτέθηκαν σε συνθήκες που προκαλούν διαφοροποίηση, προκειμένου να προσδιοριστεί αν υπάρχει αιτιώδης σχέση μεταξύ της ψωριασίνης και της διαφοροποίησης και όχι απλώς μια συνύπαρξη διαβαθμίσεων. Για τον σκοπό αυτό, τα κερατινοκύτταρα καλλιεργήθηκαν από τους ερευνητές σε εναιώρημα ή συρροή ή υποβλήθηκαν σε θεραπεία με ασβέστιο ή *TPA*, τεχνικές που είναι γνωστό ότι προάγουν την διαφοροποίηση. Ως αποτέλεσμα, βρέθηκε ότι η έκφραση τόσο της ψωριασίνης όσο και της ινβολουκρίνης αυξήθηκε σε καθεμία από αυτές τις συνθήκες. Συμπερασματικά, διαπιστώθηκε ότι η ψωριασίνη δημιουργείται φυσικά στα κερατινοκύτταρα, ως απόκριση στη διαφοροποίηση (Anna-Karin Ekman, 2016).

Συνοψίζοντας, τα ευρήματα της συγκεκριμένης μελέτης δείχνουν ότι η ψωριασίνη έχει επίδραση στη διαφοροποίηση των κερατινοκυττάρων, ανάλογα με την συγκέντρωσή της. Επιπλέον, ελέγχει την έκφραση ενός αριθμού δεικτών ενδιάμεσης και όψιμης διαφοροποίησης. Ωστόσο, όταν υπερπιέζεται σε παθολογικά σχετικά επίπεδα, οι επιδράσεις είναι διαφορετικές από εκείνες που παρατηρούνται κατά την επαγωγή στο φυσιολογικό δέρμα, αποδίδοντας ένα πρότυπο έκφρασης δεικτών διαφοροποίησης που

μοιάζει με αυτό που παρατηρείται στο βλαπτικό ψωριασικό δέρμα. Είναι προφανές ότι η ψωριασίνη χρησιμεύει ως ρυθμιστής, παρόλο που δεν προκαλεί από μόνη της διαφοροποίηση. Τέλος, φαίνεται να στρεβλώνει τη διαδικασία αντί να λειτουργεί αποκλειστικά ως θετικός ή αρνητικός ρυθμιστής της διαφοροποίησης. Σύμφωνα με αυτά τα αποτελέσματα, φαίνεται ότι η ψωριασίνη συμβάλλει σημαντικά στην απορυθμισμένη διαδικασία διαφοροποίησης που έχει καθιερωθεί στην ψωριασική επιδερμίδα (Anna-Karin Ekman, 2016).

Αν και η έκφραση της ψωριασίνης εντοπίστηκε για πρώτη φορά σε ασθενείς με ψωρίαση, έχει πλέον διαπιστωθεί ότι σχετίζεται με πολλές φλεγμονώδεις δερματικές παθήσεις. Πιο συγκεκριμένα, η έκκριση της ψωριασίνης έχει αποδειχθεί ότι έχει χημειοτακτική επίδραση στα φλεγμονώδη κύτταρα, γεγονός που υποδεικνύει τη σύνδεσή της με φλεγμονώδεις δερματικές παθήσεις. Η έκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης είναι γνωστό ότι αυξάνεται στα φυσιολογικά κερατινοκύτταρα ως απόκριση σε ερεθίσματα ασβεστίου και ρετινοϊκού οξέος (μεταβολίτης της βιταμίνης A1), καθώς και σε ανώμαλα μονοπάτια διαφοροποίησης. Η S100A7 εκφράζεται μόνο σε μικρές ποσότητες στους επιθηλιακούς ιστούς που βρίσκονται στο δέρμα, το μαστό και την ουροδόχο κύστη. Με βάση τους παραλληλισμούς στις διαδικασίες αναγέννησης μεταξύ των τραυμάτων και των ψωριασικών κερατινοκυττάρων, ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά η έκφραση της ψωριασίνης στο πλαίσιο της επούλωσης των τραυμάτων. Η ψωριασίνη είναι σημαντική σε πολλές βασικές κυτταρικές λειτουργίες και τα κερατινοκύτταρα σχετίζονται με την επανεπιθηλιοποίηση των άκρων των πληγών. Η έκφραση της ψωριασίνης στην επιδερμίδα και η συσχέτισή της με τη ρύθμιση της επιβίωσης, της προσκόλλησης και της κινητικότητας διαφόρων τύπων κυττάρων, υποδηλώνει ότι μπορεί να έχει μια λειτουργία στην υποβοήθηση της επούλωσης των πληγών (Aravindan Rangaraj, 2017).

Οι Aravindan Rangaraj et al, πραγματοποίησαν μια μελέτη με σκοπό τη διερεύνηση του ειδικού ρόλου της ψωριασίνης στις κυτταρικές λειτουργίες των κερατινοκυττάρων, καθώς και την εμπλοκή της στις χρόνιες πληγές. Τα ευρήματα της μελέτης τους ήταν κάπως αντιφατικά, καθώς η καταστολή της έκφρασης της ψωριασίνης με ριβοζύμη στον κυτταρικό τύπο *HaCaT* αύξησε τη μετανάστευση και την ανάπτυξη των κυττάρων, χαρακτηριστικά που τυπικά απαντώνται στους επουλωτικούς ιστούς, ενώ τα επίπεδα της ψωριασίνης βρέθηκαν να είναι σημαντικά χαμηλότερα στον ιστό του χρόνιου τραύματος από ότι στον ιστό του οξέος τραύματος. Αν και οι ακριβείς μηχανισμοί που υποκρύπτουν

το παραπάνω γεγονός είναι προς το παρόν άγνωστοι, μπορεί, παρόλα αυτά, να υποτεθεί ότι τα ευρήματα αυτά πιθανόν να οφείλονται στις εγγενείς διαφορές μεταξύ των *in vitro* μοντέλων και των πολύπλοκων ιστών, που περιλαμβάνουν πολλαπλούς τύπους κυττάρων, κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων. Η ψωριασίνη μπορεί να διαδραματίζει βασικό ρόλο στη βιολογία των *HaCaT*, αν και αυτό μπορεί να καταστεί σαφές ή σχετικό μόνο όταν ληφθούν υπόψη και ορισμένα άλλα περίπλοκα συστατικά και αλληλεπιδράσεις. Επιπλέον, η S100A7 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε ανώμαλες και πολλαπλασιαστικές βλάβες των πλακωδών επιθηλιακών κυττάρων, γεγονός που υποδηλώνει ότι εμπλέκεται στον έλεγχο της κυτταρικής επιβίωσης και πολλαπλασιασμού. Τα ευρήματα που δείχνουν υψηλότερη μετανάστευση και πολλαπλασιασμό των κυττάρων μετά την εξουδετέρωση της ψωριασίνης μπορεί να υποδηλώνουν ότι η ψωριασίνη εμποδίζει έναν διαφορετικό μηχανισμό που ενθαρρύνει την κυτταρική ανάπτυξη και μετανάστευση. Η ενισχυμένη προσκόλληση που προκαλείται από την εξουδετέρωση, ωστόσο, δείχνει ότι η απορρύθμιση της πρωτεΐνης αυτής, είναι απίθανο να συνδέεται με την ανάπτυξη του καρκίνου. Όσον αφορά τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση, την προσκόλληση και τη διαφοροποίηση, η λειτουργία της ψωριασίνης φαίνεται να είναι ζωτικής σημασίας για τη διατήρηση της κυτταρικής ομοιόστασης (Aravindan Rangaraj, 2017).

8.4. Η καλπροτεκτίνη στις ρευματικές ασθένειες και στην χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου

Η καλπροτεκτίνη είναι μια κρίσιμη προφλεγμονώδης πρωτεΐνη του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος που σχετίζεται με ενδογενείς βλάβες. Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως στην παράγραφο 5.10, η καλπροτεκτίνη, η οποία παράγεται κατά τη διάρκεια της φλεγμονής από ενεργοποιημένα κοκκιοκύτταρα και μακροφάγα, εμφανίζει προφλεγμονώδη δράση στα φαγοκύτταρα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα *in vitro* και αυξάνει τη φλεγμονή *in vivo*. Αν και ο χρόνος ημιζωής της καλπροτεκτίνης στο πλάσμα είναι περίπου 5 ώρες, η S100A8/S100A9 έχει μοριακό βάρος μόνο 36,5 kDa και για αυτόν τον λόγο μπορεί να διαχέεται από τις φλεγμονώδεις αρθρώσεις στην κυκλοφορία, όπου μπορεί να ανιχνευθεί στο πλάσμα. Επειδή αντικατοπτρίζει άμεσα τη φλεγμονή στον αρθρικό υμένα, πολλοί ερευνητές πιστεύουν ότι η καλπροτεκτίνη είναι ένας πιο ευαίσθητος βιοδείκτης της δραστηριότητας της νόσου στις ρευματοειδείς διαταραχές από

τους παραδοσιακούς φλεγμονώδεις δείκτες όπως ο ρυθμός καθίζησης των ερυθροκυττάρων (*Erythrocyte Sedimentation Rate* ή *ESR*) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (*C-Reactive Protein* ή *CRP*) (Magdalena Korcec-Mędrek, 2016).

Σύμφωνα με διάφορες μελέτες που έχουν διεξαχθεί, οι μεταβολές στα επίπεδα καλπροτεκτίνης έχουν συνδεθεί με τη δραστηριότητα της νόσου σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα, νόσο του Still, αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα, ψωριασική αρθρίτιδα, πρωτοπαθές σύνδρομο Sjögren, νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα και συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο (*ΣΕΛ*). Αποτελέσματα εργαστηριακών εξετάσεων ασθενών με νόσο του *Crohn* και ελκώδη κολίτιδα, έδειξαν επίσης υψηλότερες συγκεντρώσεις καλπροτεκτίνης, η οποία χρησιμοποιείται συχνά για τη διάγνωση και την παρακολούθηση αυτών των καταστάσεων (Magdalena Korcec-Mędrek, 2016).

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα είναι ένα χρόνια συστηματικό αυτοάνοσο νόσημα που χαρακτηρίζεται από υπερπλασία του αρθρικού υμένα, διήθηση από φλεγμονώδη κύτταρα και πολλαπλασιασμό του φλεγμονώδους ιστού (αγγειόγραμμα). Το σημερινό παγκόσμιο ποσοστό επίπτωσης κυμαίνεται μεταξύ 0,4% και 1,3% και είναι 2-3 φορές υψηλότερο στις γυναίκες από ότι στους άνδρες. Η σοβαρή μορφή της ρευματοειδούς αρθρίτιδας μπορεί να μειώσει τη διάρκεια ζωής των ασθενών έως και 10-15 χρόνια. Δεν υπάρχει κλινική θεραπεία και η τρέχουσα φαρμακευτική θεραπεία είναι μόνο συμπτωματική και για τη διατήρηση της λειτουργίας των αρθρώσεων. Οι τοπικές εκδηλώσεις της ασθένειας αυτής στις αρθρώσεις περιλαμβάνουν την αρθρική φλεγμονή, την εξίδρωση (παθολογική συγκέντρωση υγρού στην άρθρωση), τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, τον σχηματισμό κοκκιώματος, την καταστροφή του χόνδρου και του οστικού ιστού, μέχρι και τον τετανισμό (μια μορφή περισσότερο ή λιγότερο συνεχούς μυϊκού υπερτονισμού) και την δυσλειτουργία των αρθρώσεων. Η έκταση των αλλαγών στους ιστούς των αρθρώσεων μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την περιοχή, αλλά η βασική παθολογία παραμένει η ίδια, δηλαδή:

1. διάχυτη λεμφική ή πλασματοκυτταρική διήθηση στον οριακό ιστό και σχηματισμός λεμφικών θυλάκων,
2. αγγειίτιδα (με υπερπλασία του εν τω βάθει χιτώνα που οδηγεί σε στένωση του αυλού και απόφραξη) ή ινδοειδής νέκρωση και
3. σχηματισμός ρευματοειδούς κοκκιώματος (Yuan-yuan Wu, 2022).

Δεδομένου ότι τα ενεργοποιημένα κοκκιοκύτταρα και τα μονοκύτταρα/μακροφάγα απελευθερώνουν καλπροτεκτίνη στις φλεγμονώδεις αρθρώσεις, η συγκέντρωση αυτής της πρωτεΐνης στο πλάσμα μπορεί να υποδεικνύει το βαθμό ή την εξέλιξη της τοπικής φλεγμονής και συνεπώς σχετίζεται πολύ άμεσα με τη βλάβη των αρθρώσεων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. Σύμφωνα με τα ευρήματα της μελέτης που πραγματοποίησαν οι ερευνητές Choi et al, τα επίπεδα S100A8/S100A9 στον ορό ασθενών που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα, συσχετίζονται με τα κλινικά συμπτώματα της ασθένειας αυτής και τα βασικά επίπεδα S100A8/S100A9 μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της μελλοντικής ανταπόκρισης στη στοχευμένη θεραπεία ανεξάρτητα από τον ειδικό μηχανισμό δράσης του φαρμάκου. Οι ερευνητές πρότειναν τη σειριακή μέτρηση του επιπέδου συσχετίζονται με τα κλινικά συμπτώματα της ασθένειας αυτής και τα βασικά επίπεδα S100A8/S100A9 στον ορό για την αξιολόγηση της πρώιμης ανταπόκρισης στη θεραπεία και την πρόβλεψη της κλινικής ανταπόκρισης (Ivy Y. Choi, 2015).

Συνοψίζοντας, μπορεί να συναχθεί το συμπέρασμα ότι η καλπροτεκτίνη μπορεί να διαδραματίσει κρίσιμο ρόλο ως σημαντικός δείκτης φλεγμονής σε πολλές διαφορετικές ρευματοειδείς παθήσεις. Απαιτούνται περαιτέρω έρευνες για τη διαλεύκανση της σχέσης καλπροτεκτίνης-φλεγμονής και την εφαρμογή της στην κλινική πρακτική (Ivy Y. Choi, 2015).

Επιπλέον, οι ερευνητές Steven T. Leach et al, πραγματοποίησαν μια ερευνητική μελέτη με σκοπό την μέτρηση των επιπέδων της καλπροτεκτίνης, της πρωτεΐνης S100A12 και του διαλυτού υποδοχέα RAGE (sRAGE), στον ορό και το βλεννογόνο ενός πληθυσμού παιδιών που πάσχουν με χρόνια φλεγμονώδη νόσος του εντέρου (*Inflammatory Bowel Disease* ή *IBD*), καθώς έχει επιβεβαιωθεί πως οι περίπλοκες φλεγμονώδεις διεργασίες που παρατηρούνται στη χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου χαρακτηρίζονται από έναν αριθμό δεικτών, συμπεριλαμβανομένης της καλπροτεκτίνης, η οποία έχει δοκιμαστεί και εγκριθεί ως δείκτης φλεγμονής στα κόπρανα.

Για την πραγματοποίηση της έρευνας, δημιουργήθηκαν δύο ομάδες, μια με παιδιά που πάσχουν από χρόνια φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και μια ομάδα με παιδιά χωρίς την συγκεκριμένη νόσο. Έπειτα συγκεντρώθηκαν οι συνήθεις φλεγμονώδεις δείκτες και οι βαθμολογίες δραστηριότητας της νόσου. Τα επίπεδα καλπροτεκτίνης, S100A12 και sRAGE στον ορό και στα υπερκείμενα καλλιέργειας βιοψίας μετρήθηκαν με την μέθοδο *ELISA* και

η ιστική κατανομή των πρωτεϊνών S100 διερευνήθηκε με την χρήση της ανοσοϊστοχημείας.

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας έδειξαν ότι τα παιδιά με *IBD* είχαν υψηλότερα επίπεδα καλπροτεκτίνης και S100A12 στον ορό και στο βλεννογόνο σε σχέση με τα υγιή παιδιά. Έτσι, στα παιδιά με *IBD*, τα επίπεδα καλπροτεκτίνης του ορού συσχετίστηκαν με τα επίπεδα S100A12 και τις βαθμολογίες δραστηριότητας της νόσου. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων sRAGE στα παιδιά με *IBD*. Ο φλεγμονώδης βλεννογόνος του εντέρου παρουσίασε υψηλή έκφραση των S100A8, S100A9 και S100A12 και στο στρώμα *lamina propria* (μεγάλο στρώμα συνδετικού ιστού που διαχωρίζει το εσωτερικότερο στρώμα των επιθηλιακών κυττάρων από ένα στρώμα λείου μυϊκού ιστού) αλλά και στο επιθήλιο. Αντίθετα, στο εντερικό βλεννογόνο που δεν παρουσίαζε φλεγμονή, οι πρωτεΐνες αυτές βρέθηκαν στο στρώμα *lamina propria* αλλά όχι στο επιθήλιο.

Συμπερασματικά, τα παιδιά με *IBD* βρέθηκαν να έχουν αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A12 και της καλπροτεκτίνης στον ορό, τα οποία υποδηλώνουν δραστηριότητα της νόσου. Αυτές οι πρωτεΐνες βρίσκονται σε μεγαλύτερες ποσότητες στον εντερικό βλεννογόνο και ενδέχεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην αιτιολογία της χρόνια φλεγμονώδη νόσου του εντέρου. Επιπλέον, οι φλεγμονώδεις μεταβολές που παρατηρούνται στην συγκεκριμένη νόσο, είναι πολύ πιθανό να επηρεάζονται από μια ανισορροπία μεταξύ του υποδοχέα sRAGE και της πρωτεΐνης S100A12 (Steven T. Leach, 2007).

8.5. Η πρωτεΐνη S100A11 στην ρευματοειδή αρθρίτιδα

Διάφορες έρευνες έχουν δείξει ότι η πρωτεΐνη S100A11 ρυθμίζει μια ποικιλία βιολογικών διεργασιών σε διάφορους καρκίνους. Πρόσφατα αποτελέσματα υποδηλώνουν τη σύνδεσή της με τη χαμηλού βαθμού φλεγμονή στην οστεοαρθρίτιδα (OA). Προκειμένου να αξιολογηθεί η πιθανή σχέση μεταξύ της S100A11 και της δραστηριότητας της νόσου, οι Lucie Andrés Cerezo et al, πραγματοποίησαν μια μελέτη στην οποία σύγκριναν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A11 στους αρθρικούς ιστούς, το αρθρικό υγρό και τον ορό ατόμων με ρευματοειδή αρθρίτιδα (PA) και οστεοαρθρίτιδα (OA) (Lucie Andrés Cerezo, 2017).

Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η πρωτεΐνη S100A11 υπόκειται σε θετική ρύθμιση (*up-regulation*) στον αρθρικό ιστό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα, σε αντίθεση με την πολύ ασήμαντη έκφραση της S100A11 που παρατηρήθηκε στον αρθρικό ιστό των ατόμων με οστεοαρθρίτιδα (Εικόνα 24). Επιπλέον, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι τα επίπεδα της S100A11 στο αρθρικό υγρό (αλλά όχι στον ορό) ήταν σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα σε σύγκριση με ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα. Με το πέρας της συγκεκριμένης μελέτης, οι ερευνητές συμπέραναν σημαντική συσσώρευση της πρωτεΐνης S100A11 στους αρθρικούς ιστούς ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα, ιδιαίτερα στο στρώμα του αρθρικού χιτώνα και στα φλεγμονώδη διηθήματα. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι, παρόμοια με την S100A4, η S100A11 εκφράζεται έντονα από τα T κύτταρα και τις SFs (Stress Fibers), τα οποία επομένως αποτελούν τις κύριες εξωκυτταρικές πηγές της S100A11 για το περιβάλλον της άρθρωσης.

Η ανακάλυψη αυτή της σημαντικά αυξημένης έκφρασης της πρωτεΐνης S100A11 στο αρθρικό υγρό και στον ορό των ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα συνάδει με τη συσσώρευση S100A11 στον αρθρικό ιστό των ίδιων ασθενών. Όταν διορθώθηκε ως προς την ηλικία και το φύλο, η θετική ρύθμιση της S100A11 στον ορό ασθενών με ρευματοειδή αρθρίτιδα δεν ήταν στατιστικά σημαντική και ήταν μόνο ελαφρώς πιο εμφανής από την θετική ρύθμιση της S100A11 στο αρθρικό υγρό των ίδιων ασθενών. Επιπλέον, δεν διαπιστώθηκαν από τους ερευνητές διαφορές στα επίπεδα της S100A11 στον ορό μεταξύ ασθενών με πρόσφατα αναπτυσσόμενη ρευματοειδή αρθρίτιδα και υγιών ατόμων. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι το μικροπεριβάλλον της άρθρωσης αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεΐνης S100A11 και ότι η πρωτεΐνη αυτή μπορεί να διαχέεται από τον φλεγμονώδες αρθρικό υμένα στην κυκλοφορία του αίματος.

Συνολικά, σε αντίθεση με άλλες πρωτεΐνες S100, τα συστηματικά επίπεδα της S100A11 **δεν** μπορούν να θεωρηθούν βιοδείκτης της δραστηριότητας της νόσου. Ωστόσο, η τοπική ρύθμιση της S100A11 στο αρθρικό διαμέρισμα θα μπορούσε να αντανakλά τη φλεγμονώδη διαδικασία και την ανοσολογική απόκριση σε ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα. Στο σύνολό τους, τα ευρήματά αυτής της μελέτης έδωσαν νέες πληροφορίες για τη λειτουργία της πρωτεΐνης S100A11 στην παθοφυσιολογία και τη φλεγμονή της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, ωστόσο, ο ρόλος της πρωτεΐνης αυτής στη φλεγμονή και τον εκφυλισμό των αρθρώσεων φαίνεται να είναι πολύπλοκος και χρειάζεται πρόσθετη έρευνα (Lucie Andrés Cerezo, 2017).

8.5. Η πρωτεΐνη S100A12 στη νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα, τη νόσο του Crohn, τη νόσο Kawasaki και την αθηροσκλήρωση

Η νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα (*Juvenile Idiopathic Arthritis* ή *JIA*), μια κλινικά ποικίλη ασθένεια, απαιτεί συνήθως θεραπεία με παραδοσιακά, τροποποιητικά της νόσου, αντιρρευματικά φάρμακα. Ωστόσο, ανάλογα με τον ορισμό που χρησιμοποιείται, έως και το 40% ή ίσως και περισσότεροι ασθενείς μπορεί να μην ανταποκρίνονται στη θεραπεία με τα συγκεκριμένα φαρμακευτικά σκευάσματα. Για τον λόγο αυτό, οι Faekah Gohar et al, πραγματοποίησαν μια έρευνα σχετικά με την χρήση βιοδεικτών σε συνδυασμό με γνωστούς προγνωστικούς δημογραφικούς και κλινικούς παράγοντες, η οποία θεώρησαν ότι θα μπορούσε να συμβάλει στη βελτίωση της πρόβλεψης της ανταπόκρισης ασθενών στα αντιρρευματικά φάρμακα (Faekah Gohar, 2018).

Σύμφωνα με τους ερευνητές, η πρωτεΐνη S100A12 αποτελεί επικυρωμένο προγνωστικό δείκτη του κινδύνου υποτροπής και της δραστηριότητας της νόσου στη νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα. Η συγκέντρωση της S100A12 που μετρήθηκε κατά τη στιγμή της διακοπής της θεραπείας σε ασθενείς με νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα φάνηκε να προβλέπει την εμφάνιση της υποτροπής καλύτερα από τον δείκτη *MRP* (*Resistance-Associated Protein*), ενώ ο συνδυασμός της πρωτεΐνης S100A12 και της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (*CRP*) βρέθηκε να έχει ακόμη καλύτερες επιδόσεις.

Συμπερασματικά, η πρωτεΐνη S100A12 έχει ήδη αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με τη δραστηριότητα της νόσου και συγκεντρώσεις αυτής, μεγαλύτερες των 175 ng/ml ενδεχομένως προβλέπουν αυξημένο κίνδυνο έξαρσης της νόσου σε ασθενείς που έχουν αποσυρθεί από τη θεραπεία. Ο χρόνος παρακολούθησης των ασθενών στην συγκεκριμένη μελέτη ήταν πέντε μήνες. Οι περισσότεροι ασθενείς αναμένεται να παρουσιάσουν ανταπόκριση στη θεραπεία εντός τριών μηνών από την έναρξη της, ενώ οι συγκεντρώσεις S100 φαίνεται να μειώνονται ως απάντηση σε αποτελεσματική βιολογική θεραπεία εντός των τεσσάρων εβδομάδων. Είναι πιθανό ότι κανένας μεμονωμένος βιοδείκτης δεν μπορεί να είναι επαρκώς ευαίσθητος ή ειδικός για την πρόβλεψη της ανταπόκρισης, ενώ αναζητούνται όλο και περισσότερο ομάδες πολλαπλών βιοδεικτών για την δραστηριότητα μιας νόσου (Faekah Gohar, 2018). Επομένως, παρότι η συμμετοχή της πρωτεΐνης S100A12 στην πρόβλεψη της υποτροπής στη νεανική ιδιοπαθή αρθρίτιδα είναι αξιοσημείωτη, περαιτέρω έρευνα πρέπει να πραγματοποιηθεί για την τελειοποίηση της μεθόδου αυτής.

Επιπλέον, η πρωτεΐνη S100A12, έχει επιβεβαιωθεί ότι λειτουργεί ως δείκτης της εντερικής φλεγμονής. Στόχος της επιστημονικής ομάδας Gilles Boschetti et al, ήταν να συγκριθεί η χρησιμότητα της καλπροτεκτίνης ορού και κοπράνων, καθώς και της πρωτεΐνης S100A12 στην αξιολόγηση της ανταπόκρισης στον αντι-TNF και στην πρόβλεψη της υποτροπής υπό θεραπεία συντήρησης στη νόσο του Crohn (*Crohn's Disease* ή *CD*) (Gilles Boschetti, 2015). Για τον σκοπό αυτό, οι φαρμακευτικές ουσίες *adalimumab* ή *infliximab* χρησιμοποιήθηκαν για τη θεραπεία τριάντα δυο ασθενών με νόσο του Crohn. Σε όλους χορηγήθηκε πρωτόκολλο επαγωγής, ακολουθούμενο από θεραπεία συντήρησης με *infliximab* 5 mg/kg κάθε οκτώ εβδομάδες ή *adalimumab* 40 mg κάθε δεύτερη εβδομάδα, και όλοι έδωσαν δείγματα αίματος και κοπράνων την πρώτη και την δέκατη τέταρτη εβδομάδα για τον προσδιορισμό των επιπέδων S100A12, καλπροτεκτίνης και CRP στον ορό.

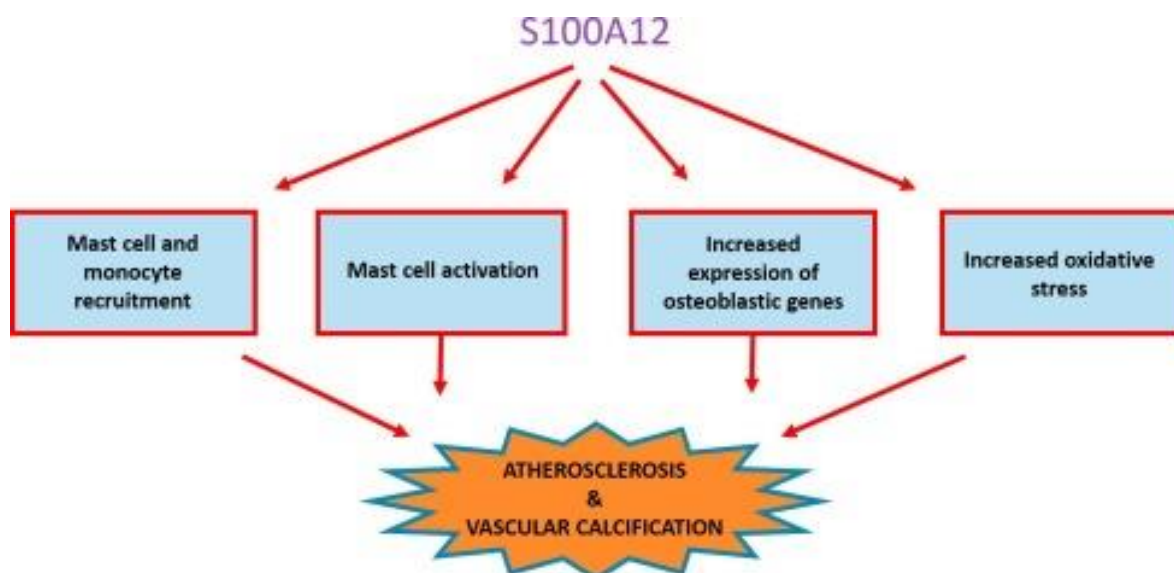
Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας έδειξαν ότι εικοσιένα ασθενείς πέτυχαν κλινική ύφεση την δέκατη τέταρτη εβδομάδα (ανταποκρινόμενοι στην θεραπεία), ενώ δώδεκα από αυτούς παρέμεναν σε κλινική ύφεση χωρίς στεροειδή την πεντηκοστή δεύτερη εβδομάδα. Από την πρώτη έως και την δέκατη τέταρτη εβδομάδα μετά την επαγωγή, οι διάμεσες συγκεντρώσεις S100A12 στον ορό μειώθηκαν σημαντικά μόνο στους ανταποκρινόμενους ασθενείς, αν και τα διάμεσα επίπεδα καλπροτεκτίνης στον ορό και S100A12 στα κόπρανα δεν διέφεραν σημαντικά. Τα επίπεδα καλπροτεκτίνης κοπράνων την δέκατη τέταρτη εβδομάδα είχαν την υψηλότερη διακριτική ισχύ για την πρόβλεψη της κλινικής ύφεσης εντός του πρώτου έτους μετά την επαγωγή, ακολουθούμενη από την καλπροτεκτίνη κοπράνων, την πρωτεΐνη S100A12 ορού και την καλπροτεκτίνη ορού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτά, οι ερευνητές οδηγήθηκαν στο συμπέρασμα ότι τόσο τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A12 στον ορό και τα επίπεδα της καλπροτεκτίνης στον ορό και τα κόπρανα είναι αξιόπιστοι δείκτες που σχετίζονται με την ανταπόκριση στην επαγωγική θεραπεία με αντι-TNF σε ασθενείς που πάσχουν από τη νόσο του Crohn (Gilles Boschetti, 2015).

Επιπροσθέτως, η πρωτεΐνη S100A12 έχει βρεθεί ότι προκαλεί φλεγμονή μέσω αλληλεπίδρασης με τον υποδοχέα για τα τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοποίησης (RAGE). Ο Dirk Foell και η ομάδα ερευνητών του, ανακάλυψαν ότι ο αποκλεισμός/απενεργοποίηση της πρωτεΐνης S100A12 σε ποντίκια είχε θετικά θεραπευτικά οφέλη. Έτσι, προχώρησαν στην εξέταση τριάντα ενός ατόμων που έπασχαν

από τη νόσο *Kawasaki* και ανακάλυψαν μια σύνδεση μεταξύ της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A12 και της δραστηριότητας της νόσου αυτής (Dirk Foell, 2003). Η νόσος *Kawasaki* είναι μια οξεία εμπύρετη συστηματική αγγειίτιδα που εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά ηλικίας κάτω των πέντε ετών (Shreya Agarwal, 2017). Σε 28 ασθενείς που ανταποκρίθηκαν στη θεραπεία (με γ-σφαιρίνη) για την συγκεκριμένη νόσο, οι συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης S100A12 στον ορό μειώθηκαν γρήγορα (από 463 μg/L σε 184 μg/L εντός 24 ωρών). Επομένως, οι ερευνητές θεωρούν ότι η πρωτεΐνη S100A12 μπορεί να αποτελέσει έναν νέο στόχο για θεραπευτικές προσεγγίσεις σε φλεγμονώδεις νόσους, δεδομένου ότι αλληλοεπιδρά με πολυμερείς υποδοχείς με τρόπο που είναι κρίσιμος για τις φλεγμονώδεις αποκρίσεις (Dirk Foell, 2003).

Εκτός των άλλων, η πρωτεΐνη S100A12 έχει αποδειχθεί ότι διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην αθηροσκλήρωση και την αγγειακή ασβεστοποίηση μέσω της στρατολόγησης μαστοκυττάρων και μονοκυττάρων καθώς και της ενεργοποίησης των μαστοκυττάρων. Αυτό είναι σημαντικό διότι τα μαστοκύτταρα προάγουν άμεσα την αθηροσκλήρωση μέσω της έκκρισης προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Η έρευνα των Jamileh Farokhzadian et al, επιβεβαιώνει ότι τόσο η πρωτεΐνη S100A12 όσο και το CD36 αντιγόνο, εμπλέκονται στην αγγειακή φλεγμονή και την αθηροσκλήρωση. Ακόμη, αποδείχθηκε πρόσφατα ότι η πρωτεΐνη S100A12 συνδέεται με υψηλή συγγένεια με το αντιγόνο CD36, ενώ οι υποδοχείς RAGE και TLR4 διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση της έκφρασης του CD36.

Οι παρατηρήσεις αυτές υποδεικνύουν το γεγονός ότι η S100A12 είναι ένας ενδιαφέρων μοριακός στόχος για την ανάπτυξη θεραπευτικών ουσιών. Ακόμη, η S100A12 μπορεί να έχει σημαντικό ρόλο και στην αγγειακή φλεγμονή, μέσω της στρατολόγησης και ενεργοποίησης των μονοκυττάρων και των μαστοκυττάρων. Τα μονοκύτταρα ως σημαντικά κύτταρα στην έναρξη και εξέλιξη της αθηροσκλήρωσης μπορεί να απελευθερώνουν S100A12 στο σημείο των αθηρωματικών βλαβών. Ωστόσο, η ικανότητα της πρωτεΐνης S100A12 να αλληλοεπιδρά με το αντιγόνο CD36 και να αυξάνει την σύνθεση του, υποδηλώνει πιθανούς νέους ρόλους της συγκεκριμένης πρωτεΐνης στην αθηροσκλήρωση. Η μελλοντική έρευνα θα μπορούσε να εστιάσει στις λειτουργίες του άξονα S100A12-CD36. Τέλος, η S100A12 μπορεί να αποτελεί έναν πολλά υποσχόμενο θεραπευτικό στόχο για την ασθένεια της αθηροσκλήρωσης (Jamileh Farokhzadian, 2019).



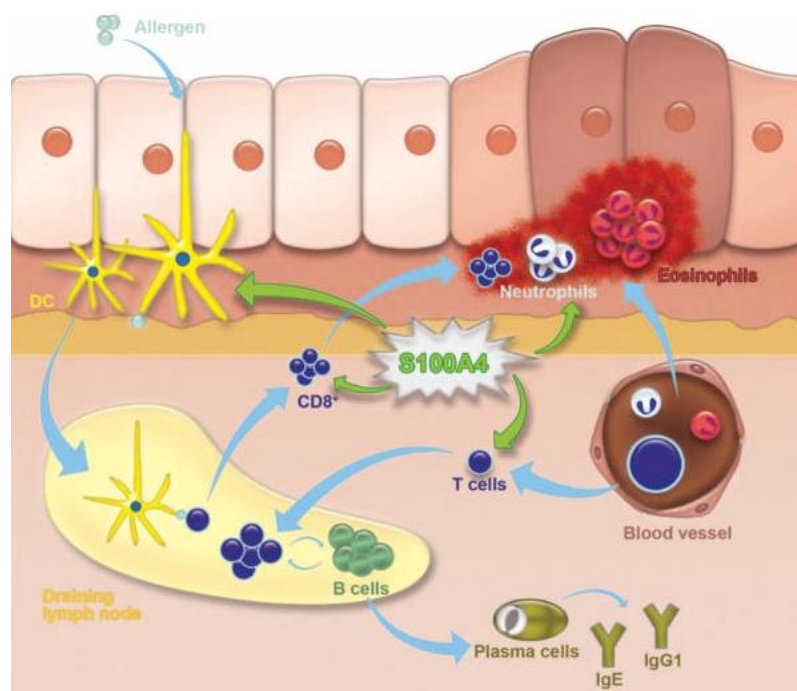
Εικόνα 24. Η λειτουργία της πρωτεΐνης S100A12 στην αγγειακή ασβεστοποίηση και την αθηροσκλήρωση. Η χημειοτακτική δραστηριότητα της S100A12 για τα μαστοκύτταρα και τα μονοκύτταρα μπορεί να συμβάλλει στη συσσώρευσή τους στις αθηρωματικές βλάβες. Τα ενεργοποιημένα μαστοκύτταρα μπορούν να προκαλέσουν αθηροσκλήρωση με την έκκριση προφλεγμονωδών κυτταροκινών. Επιπλέον, η έκφραση της S100A12 αυξάνει την έκφραση οστεοβλαστικών γονιδίων και το οξειδωτικό στρες στα αγγειακά λεία μυϊκά κύτταρα (VSMC), γεγονός που επιταχύνει την διαδικασία της αθηροσκλήρωσης και της αγγειακής ασβεστοποίησης (Jamileh Farokhzadian, 2019).

8.6. Η πρωτεΐνη S100A4 στην αλλεργία

Ο εντοπισμός διαγνωστικών δεικτών και υποψήφιων θεραπευτικών γονιδίων σε κοινές ασθένειες περιπλέκεται από τη συμμετοχή χιλιάδων γονιδίων. Οι Sören Bruhn et al, σε μια έρευνα που διεξήγαν, υπέθεσαν ότι τα γονίδια που συνρρυθμίζονται (*co-regulated*) με ένα βασικό γονίδιο στην αλλεργία, το γονίδιο *IL13*, θα μπορούσαν να σχηματίσουν μια ενότητα, η οποία με την σειρά της θα είχε την δυνατότητα να βοηθήσει στον εντοπισμό υποψήφιων γονιδίων (Sören Bruhn, 2014).

Οι ερευνητές εντόπισαν μια ενότητα κυττάρων Τ βοηθητικών κυττάρων τύπου 2 (*T Helper 2* ή *TH2*) με τη μεσολάβηση ενός μικρού παρεμβαλλόμενου μορίου RNA, το οποίο φάνηκε να επηρέασε την απενεργοποίηση εικοσιπέντε υποθετικών μεταγραφικών παραγόντων που ρυθμίζουν την *IL13* και ακολούθησε προφίλ έκφρασης. Η ενότητα αυτή των TH2 κυττάρων περιείχε υποψήφια γονίδια των οποίων το διαγνωστικό δυναμικό υποστηρίχθηκε από κλινικές μελέτες. Λειτουργικές μελέτες σε ανθρώπινα TH2 κύτταρα καθώς και σε μοντέλα αλλεργίας σε ποντίκια έδειξαν ότι η διαγραφή του γονιδίου S100A4, είχε ως αποτέλεσμα μειωμένα σημάδια αλλεργίας, συμπεριλαμβανομένης της

ενεργοποίησης των TH2 κυττάρων, της χυμικής ανοσίας στο ανοσοποιητικό σύστημα και της διήθησης των κυττάρων-εκτελεστών. Συγκεκριμένα, τα δενδριτικά κύτταρα φάνηκε πως απαιτούσαν την πρωτεΐνη S100A4 για την ενεργοποίηση των T λεμφοκυττάρων. Η θεραπεία με ένα αντίσωμα κατά της πρωτεΐνης S100A4 είχε ως αποτέλεσμα μειωμένα σημεία αλλεργίας στο μοντέλο ποντικού καθώς και σε T λεμφοκύτταρα αλλεργιογόνων που προκλήθηκαν από αλλεργικούς ασθενείς. Η στρατηγική αυτή, η οποία μπορεί να είναι γενικά εφαρμόσιμη σε σύνθετες ασθένειες, εντόπισε και επικύρωσε ένα σημαντικό διαγνωστικό και θεραπευτικό υποψήφιο γονίδιο στην αλλεργία (Sören Bruhn, 2014).



Εικόνα 25. Οι δυναμικές λειτουργίες της πρωτεΐνης S100A4 στην αλλεργική φλεγμονή του δέρματος με βάση ένα μοντέλο αλλεργίας ποντικού. Για να προκληθεί αλλεργική φλεγμονή, το ανοσοποιητικό σύστημα πρέπει πρώτα να ευαισθητοποιηθεί από αλλεργιογόνα, γεγονός που προκαλεί την ανάπτυξη T λεμφοκυττάρων που είναι ειδικά για το αλλεργιογόνο. Η πρωτεΐνη S100A4 απαιτείται για ένα κρίσιμο στάδιο που περιλαμβάνει την αλληλεπίδραση των δενδριτικών κυττάρων (*Dendritic Cells* ή *DCs*) και των T λεμφοκυττάρων στον αποστραγγιστικό λεμφαδένα (*Draining Lymph Node*). Τα πλασματοκύτταρα, με την σειρά τους, παράγουν τις ανοσοσφαιρίνες *IgE* και *IgG1* ως απάντηση στην ωρίμανση των B λεμφοκυττάρων που προκαλείται από την αλληλεπίδραση T και B λεμφοκυττάρων. Οι κυτταροκίνες και οι χημειοκίνες που απελευθερώνονται από τα T λεμφοκύτταρα ενθαρρύνουν τη μετακίνηση των κοκκιοκυττάρων (ουδετερόφιλα και ηωσινόφιλα), στο σημείο της φλεγμονής (δέρμα). Η διαφοροποίηση των T λεμφοκυττάρων σε $CD8^+$ κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα θα επιδεινώσει τη δερματική βλάβη. Τα μπλε βέλη υποδεικνύουν τη ροή των αλλεργικών αποκρίσεων. Τα πράσινα βέλη υποδεικνύουν την προώθηση αυτών των διαδικασιών από την πρωτεΐνη S100A4. Το σχήμα δημιουργήθηκε από τον R. Männel (Sören Bruhn, 2014).

Πρωτεΐνες S100	Συσχετισμός με ασθένεια
S100B	Λεύκη
S100A4	Σύνδεση μεταξύ φλεγμονής και εξέλιξης όγκου
S100A7	Ψωρίαση, επούλωση πληγών
S100A8/ S100A9	Ρευματικές ασθένειες και χρόνια φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
S100A11	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
S100A12	Νεανική ιδιοπαθής αρθρίτιδα, νόσος του Crohn, νόσος Kawasaki και αθηροσκλήρωση
S100A4	Αλλεργία

Πίνακας 4. Οι πρωτεΐνες S100 στη φλεγμονή, τα αυτοάνοσα νοσήματα και τις αλλεργίες (Heizmann, 2019).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

Η κλινική σημασία των πρωτεϊνών S100 στον τραυματισμό του εγκεφάλου

Οι πρωτεΐνες S100A1 και S100B ήταν τα κύρια συστατικά του εγκεφαλικού εκχυλίσματος που απομόνωσε ο Moore για πρώτη φορά το 1965. Οι πρωτεΐνες S100B αποτελούν το 0,2% όλων των πρωτεϊνών του εγκεφάλου και παράγονται κυρίως από τα αστροκύτταρα, τα ολιγοδενδροκύτταρα και τα κύτταρα Schwann και, σε μικρότερο βαθμό, από ορισμένους νευρώνες. Έχει πραγματοποιηθεί μια ανασκόπηση και σύγκριση των ιδιοτήτων των πρωτεϊνών S100 και άλλων μελών της οικογένειας των πρωτεϊνών EF-hand του εγκεφάλου στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα. Με σκοπό να υπάρξει μια καλύτερη εικόνα των σηματοδοτικών μονοπατιών πέρα από το όριο περίθλασης του ορατού φωτός, έχει καθιερωθεί η μικροσκοπία υπερανάλυσης για πιο αξιόπιστες μελέτες συν-εντοπισμού των νευρωνικών πρωτεϊνών που δεσμεύουν το ασβέστιο. Μέλη των πρωτεϊνών S100, και κυρίως η πρωτεΐνη S100B, έχουν συνδεθεί στενά με νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως η νόσος του *Alzheimer* και το σύνδρομο *Down*, αλλά και με ορισμένες ψυχιατρικές διαταραχές, όπως η σχιζοφρένεια. Ακόμη, οι πρωτεΐνες S100 μπορούν να χρησιμοποιηθούν και στην Πρακτική Εργαστηριακή Ιατρική ως νευροβιοδείκτες για τον εγκεφαλικό τραυματισμό παιδιών και ενηλίκων.

9.1. Η πρωτεΐνη S100B ως νευροβιοδείκτης για κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις σε έμβρυα, νεογνά, παιδιά και ενήλικες υψηλού κινδύνου

Τις τελευταίες δεκαετίες μια σημαντική επιστημονική προσπάθεια έχει επικεντρωθεί σε έργα σχετικά με τη χρήση νευροβιοδεικτών (βιοδείκτες του νευρικού συστήματος) στην περιγεννητική ιατρική (perinatal medicine, αφορά την περίοδο από τον τοκετό έως τις πρώτες είκοσι οκτώ ημέρες της ζωής του νεογνού) με σκοπό την κατανόηση των μηχανισμών που παρεμβαίνουν στα φυσιολογικά πρότυπα της ανάπτυξης του εγκεφάλου και οδηγούν σε δυσοίωνες επιπτώσεις σε διάφορες ανθρώπινες ασθένειες. Έχουν προταθεί πολυάριθμοι δυνητικοί νευροβιοδείκτες για χρήση στην παρακολούθηση εμβρύων και νεογνών υψηλού κινδύνου, συμπεριλαμβανομένων των δεικτών οξειδωτικού στρες, διαφόρων πρωτεϊνών του νευρικού συστήματος και αγγειοδραστικών παραγόντων. Παρ' όλα αυτά, η χρήση αυτών των δεικτών στην κλινική πρακτική παραμένει θέμα συζήτησης (Diego Gazzolo, 2019).

Πρόσφατα, η πρωτεΐνη S100B προτάθηκε ως ιδανικός νευροβιοδείκτης, χάρη στην απλή διαθεσιμότητα και την εύκολη αναπαραγωγικότητά της, στη δυνατότητα μη επεμβατικής ανίχνευσής της σε βιολογικά υγρά και στη δυνατότητα διαχρονικής αξιολόγησης σε σχέση με καμπύλες αναφοράς (Diego Gazzolo, 2019).

Μετά από μια ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση (*Minor Head Injury* ή *MHI*), η πιθανότητα οξείας ενδοκρανιακής επιπλοκής είναι ελάχιστη. Παρά το γεγονός αυτό, σε όλους τους ασθενείς που υποβάλλονται σε *MHI* συνιστάται κανονικά αξονική τομογραφία (*Computed Tomograph* ή *CT*). Όταν η αξονική τομογραφία δεν είναι διαθέσιμη ή κρίνεται ακατάλληλη, η εισαγωγή για κλινική παρατήρηση αποτελεί εφεδρική επιλογή διαχείρισης της συγκεκριμένης πάθησης. Και οι δύο επιλογές έχουν μειονεκτήματα και έχουν αναληφθεί πολυάριθμες πρωτοβουλίες για τη βελτίωση των σημερινών κατευθυντήριων οδηγιών διαχείρισης της *MHI* ως τρόπος μείωσης της αξονικής τομογραφίας ή/και της εισαγωγής (Johan Undén, 2009).

Ωστόσο, οι τεχνικές αυτές βασίζονται σε δυνητικά αναξιόπιστο ιστορικό και κλινική εξέταση του ασθενούς και, επιπλέον, μπορεί να επηρεαστούν από διάφορους παράγοντες που αφορούν τον ασθενή, όπως είναι η δηλητηρίαση. Κλινικές μελέτες από διάφορες ερευνητικές ομάδες έχουν δείξει τις δυνατότητες του βιοδείκτη του εγκεφάλου S100B σε αυτή την κατηγορία ασθενών. Η ειδικότητα της πρωτεΐνης S100B ως βιοδείκτης στις κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις είναι φτωχή. Παρόλα αυτά, η υψηλή ευαισθησία της για την εγκεφαλική βλάβη αποκλείει αποτελεσματικά τις σχετικές επιπλοκές μετά από *MHI*. Σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες κατευθυντήριες γραμμές, τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100B στον ορό, όταν χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με τις τρέχουσες συστάσεις, μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια τους ασθενείς που δεν χρειάζεται να υποβληθούν σε αξονική τομογραφία μετά από *MHI* (Johan Undén, 2009).

Με βάση έξι έρευνες που πραγματοποιήθηκαν και αφορούσαν πάνω από δυο χιλιάδες ασθενείς με ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση, επιβεβαιώθηκε ότι η ευαισθησία και η αρνητική προγνωστική αξία της πρωτεΐνης S100B για τα ευρήματα της αξονικής τομογραφίας ήταν 98,2% και 99,5%, αντίστοιχα, και για τις κλινικά σημαντικές ενδοκρανιακές επιπλοκές 100% και 100%, αντίστοιχα. Το γεγονός αυτό υποδεικνύει ότι η ενσωμάτωση της πρωτεΐνης S100B στις υπάρχουσες εργαστηριακές ασκήσεις ρουτίνας μπορεί να μειώσει την ανάγκη για αξονικές τομογραφίες κατά 30%, με αποτέλεσμα τη βελτίωση και την αποτελεσματικότερη φροντίδα των ασθενών (Johan Undén, 2009).

9.2. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης στην σοβαρή τυχαία υποθερμία

Οι ερευνητές Sebastian Wiberg et al, πραγματοποίησαν μια μελέτη με σκοπό να αξιολογήσουν την προγνωστική αξία των βιοδεικτών NSE (*Neuron-Specific Enolase*) και S100B σε ασθενείς που εισήχθησαν με σοβαρή τυχαία υποθερμία. Στην ερευνητική αυτή μελέτη συμπεριλήφθηκαν διαδοχικοί ασθενείς που είχαν υποστεί σοβαρή ακούσια υποθερμία (θερμοκρασία πυρήνα κάτω από 32°C). Για τη θεραπεία των ασθενών χρησιμοποιήθηκε ενεργός επαναθέρμανση ή/και εξωσωματική υποστήριξη της ζωής (ECLS) με χρήση εξωσωματικής κυκλοφορίας (ECC) ή/και εξωσωματικής οξυγόνωσης με μεμβράνες (ECMO). Τα επίπεδα NSE και S100B στο αίμα ελέγχθηκαν την επομένη της εισαγωγής (Sebastian Wiberg, 2017).

Τα αποτελέσματα της προκείμενης εργαστηριακής μελέτης έδειξαν ότι το 85% των ασθενών που εισήχθησαν με διάγνωση σοβαρής τυχαίας υποθερμίας αναβίωσαν τις καρδιακές ανακοπές τους. Την επόμενη ημέρα από την εισαγωγή, το 9% των ασθενών είχε αποβιώσει ενώ μόλις το 3% των ασθενών (ένα μόνο άτομο) είχε ανακτήσει πλήρως τις αισθήσεις του. Κατά συνέπεια, οι πιθανοί βιοδείκτες NSE και η S100B αναλύθηκαν στους 30 εναπομείναντα ασθενείς χωρίς τις αισθήσεις τους ή βρισκόμενοι σε καταστολή. Με το πέρας της ανάλυσης των αποτελεσμάτων, επιβεβαιώθηκε ότι και οι δυο βιοδείκτες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την πρόβλεψη της θνησιμότητας καθώς και της κακής νευρολογικής έκβασης σε άτομα που παρέμειναν αναισθητα την επομένη της εισαγωγής για σοβαρή τυχαία υποθερμία (Sebastian Wiberg, 2017).

9.3. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης σε προαναλυτικές, αναλυτικές, κυοφοριακές και παιδιατρικές πτυχές

Οι τραυματικές εγκεφαλικές κακώσεις σε νέους και μέλλουσες μητέρες τείνουν να είναι δύσκολο να αντιμετωπιστούν, λόγω των ανεπιθύμητων ενεργειών της αξονικής τομογραφίας στις συγκεκριμένες ομάδες ασθενών. Οι ερευνητές Damien Bouvier et al, σε μια έρευνα που διεξήγαγαν για την χρήση της πρωτεΐνης S100B ως καθιερωμένο βιοδείκτη σε εγκυμονούσες γυναίκες και παιδιά ηλικίας κάτω των 16 ετών, περιέγραψαν τα βασικά αναλυτικά αποτελέσματα και τα εύρη αναφοράς για τις εξετάσεις αίματος των συγκεκριμένων πληθυσμιακών ομάδων (Damien Bouvier, 2016).

Στην έρευνα συμμετείχαν τετρακόσια εννέα υγιή παιδιά ηλικίας από μηδέν έως δεκαέξι ετών και πενήντα εγκυμονούσες γυναίκες και μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις

S100B στον ορό τους (ένα δείγμα αίματος για κάθε τρίμηνο). Εξετάστηκε η επίδραση των κυττάρων του αίματος και του χρωματισμού του δέρματος στην ανάλυση. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ερυθροκύτταρα δεν περιέχουν πρωτεΐνη S100B, δείχνοντας έτσι ότι, σε αντίθεση με άλλους βιοδείκτες, δεν υπάρχει αιμολυτική παρεμβολή στις αναλύσεις πρωτεΐνης S100B στον ορό. Περαιτέρω έρευνα αποκάλυψε ότι τα κλάσματα λευκοκυττάρων γενικά, και τα λεμφοκύτταρα ειδικότερα, περιέχουν σημαντικά επίπεδα S100B. Τα ευρήματα που έγιναν στην συγκεκριμένη μελέτη, αναδεικνύουν τη σημασία της ταχείας αποστολής των δειγμάτων στο εργαστήριο για φυγοκέντρηση, προκειμένου να αποφευχθεί η μόλυνση της ανάλυσης των λεμφοκυττάρων από τη λύση τους (Damien Bouvier, 2016).

Ακόμη, η ανάλυση της ερευνητικής ομάδας για τις διάφορες ομάδες που προσδιορίστηκαν επιβεβαιώνει σαφώς μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ των συγκεντρώσεων της πρωτεΐνης S100B και της ηλικίας. Επιπροσθέτως, οι υψηλές τιμές της πρωτεΐνης S100B που βρέθηκαν στην αρχή της ζωής των νεογνών (0,43-2,7 μg/L), θα μπορούσαν να εξηγηθούν από τον φυσιολογικό κολπικό τοκετό που συνεπάγεται μια σύντομη εγκεφαλική βλάβη. Αν και το θέμα αυτό είναι ακόμη ανοικτό σε συζήτηση, οι υψηλές συγκεντρώσεις S100B στην ηλικιακή ομάδα κάτω των δυο ετών, θα μπορούσαν επίσης να συνδεθούν με την υποτιθέμενη διαπερατότητα του αιματοεγκεφαλικού φραγμού και την εγκεφαλική κυκλοφορία, την αυξημένη εναλλαγή πρωτεϊνών στα νευρικά κύτταρα και τη χαμηλή νεφρική απέκκριση της πρωτεΐνης S100B. Μια άλλη εξήγηση για τις υψηλότερες συγκεντρώσεις S100B στο αίμα νεογνών και παιδιών σε σχέση με τους ενήλικες, θα μπορούσε να συνδεθεί με το γεγονός ότι η πρωτεΐνη S100B διαδραματίζει ρόλο στις δυναμικές κεντρικές νευροαναπτυξιακές διαδικασίες. Είναι γνωστό ότι η S100B εμπλέκεται στον πολλαπλασιασμό και την ωρίμανση των γλοιακών κυττάρων, τη συναπτογένεση (σχηματισμός συνάψεων μεταξύ των νευρώνων του νευρικού συστήματος) και τη βλάστηση των ινών (Damien Bouvier, 2016).

Όσον αφορά στους ενήλικες, οι Damien Bouvier et al και άλλες ομάδες έχουν συζητήσει την αξία της χρήσης της πρωτεΐνης S100B στη διαχείριση της ήπιας κρανιοεγκεφαλικής κάκωσης σε μια προσπάθεια να μειωθεί η χρήση της αξονικής τομογραφίας και να περιοριστεί η περιττή έκθεση σε δόσεις ακτινοβολίας. Αυτή η χρήση της S100B είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα στους πιο ευαίσθητους στις ακτίνες X πληθυσμούς, όπως οι έγκυες γυναίκες. Στην μελέτη τους, οι Damien Bouvier et al,

αξιολόγησαν για πρώτη φορά κατά πόσον οι φυσιολογικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, συμπεριλαμβανομένης της διόγκωσης του όγκου και της σχετικής αιμοδιύλισης, επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης S100B στον ορό. Μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι ορισμένες παράμετροι δεν επηρεάζονται κατά τη διάρκεια της μη περίπλοκης εγκυμοσύνης, του τοκετού και της πρώιμης περιόδου μετά τον τοκετό, γεγονός που υποδηλώνει την ανάγκη εφαρμογής διαστημάτων αναφοράς ανάλογα με την ηλικία κύησης. Η S100B έχει ήδη δοκιμαστεί κατά την εγκυμοσύνη στο αμνιακό υγρό ή στο αίμα του ομφάλιου λώρου για την αξιολόγηση των εγκεφαλικών βλαβών του εμβρύου ή της παρουσίας κλίσης μιας πρωτεΐνης μεταξύ των αιμοφόρων οδών του εμβρύου και της μητέρας, αλλά όχι στο μητρικό αίμα κατά τη διάρκεια της φυσιολογικής εγκυμοσύνης. Διαπιστώθηκε, ακόμη, ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100B στις έγκυες γυναίκες δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των τριμήνων και ήταν σε μεγάλο βαθμό συγκρίσιμα με τον γενικό πληθυσμό. Κατ' επέκταση, αυτό θα σήμαινε ότι η κλινική και βιολογική ερμηνεία της πρωτεΐνης S100B του ορού δεν θα ήταν διαφορετική για τις εγκύους, εφόσον επιβεβαιωθεί η ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση στον συγκεκριμένο πληθυσμό (Damien Bouvier, 2016).

Ως αποτέλεσμα, η επιστημονική έρευνα των Damien Bouvier et al, προσφέρει σημαντικές νέες πληροφορίες για τη θεραπεία των ασθενών που είναι ιδιαίτερα επιρρεπείς στην ήπια κρανιοεγκεφαλική κάκωση (παιδιά, έγκυες γυναίκες), καθώς και για τη συνεργατική ερμηνεία των αποτελεσμάτων της ανάλυσης S100B από βιολόγους και κλινικούς γιατρούς (Damien Bouvier, 2016).

9.4. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης για τη διαφορική διάγνωση της ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας και του ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου

Οι ερευνητές Saijun Zhou et al, διεξήγαγαν μια έρευνα, με σκοπό την διερεύνηση της αποτελεσματικότητας της πρωτεΐνης S100B στη διάκριση μεταξύ ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου (*Ischemic Stroke* ή *IS*) και ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας (*Intracerebral Hemorrhage* ή *ICH*) (Saijun Zhou, 2016). Στην έρευνα συμπεριλήφθηκαν σαράντα έξι ασθενείς με *ICH* και εβδομήντα ένα ασθενείς με *IS*, οι οποίοι είχαν υποβληθεί σε αξονική τομογραφία κατά το χρονικό διάστημα από τον Ιούνιο 2014 έως και τον Ιούλιο 2015. Τα νευρολογικά ελλείμματα των ασθενών αξιολογήθηκαν με την κλίμακα εγκεφαλικού επεισοδίου των Εθνικών Ινστιτούτων Υγείας (*National Institutes of Health Stroke Scale* ή

NIHSS) και η τροποποιημένη κλίμακα *Rankin (modified Rankin Scale* ή *mRS*) χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της λειτουργικής αναπηρίας στους ασθενείς, ενενήντα ημέρες μετά το εξιτήριο. Επιπλέον, κατά την εισαγωγή τους στα επείγοντα περιστατικά, ελήφθη δείγμα αίματος για τον προσδιορισμό των επιπέδων της πρωτεΐνης S100B στο πλάσμα των ασθενών (Saijun Zhou, 2016).

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν, έδειξαν ότι στην ομάδα ασθενών με *ICH*, η συγκέντρωση S100B στο πλάσμα ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σύγκριση με την ομάδα ασθενών με *IS*. Σημαντικές συσχετίσεις υπήρξαν μόνο μεταξύ της πρωτεΐνης S100B και του όγκου της εγκεφαλικής αιμορραγίας, της βαθμολογίας *NIHSS* και της κλίμακας *mRS*, στην ομάδα ασθενών με *ICH*. Επιπλέον, η ανάλυση της καμπύλης λειτουργικού χαρακτηριστικού του δέκτη (*Receiver-Operating Characteristic* ή *ROC*) αποκάλυψε ότι μια συγκέντρωση S100B 67 pg/mL διαθέτει 95,7% ευαισθησία και 70,4% ειδικότητα στη διάκριση μεταξύ ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας. Στην ομάδα ασθενών με *ICH*, οι ασθενείς με κακή λειτουργική έκβαση είχαν συγκεντρώσεις S100B στο πλάσμα σημαντικά υψηλότερες από τους ασθενείς με ευνοϊκή λειτουργική έκβαση. Ακόμη, η καμπύλη ROC έδειξε ότι μια συγκέντρωση S100B 133 pg/ml διαθέτει 100% ευαισθησία και 76,2% ειδικότητα στον εντοπισμό ασθενών με ενδοεγκεφαλική αιμορραγία με κακή λειτουργική έκβαση (Saijun Zhou, 2016).

Συμπερασματικά, η συγκεκριμένη έρευνα επιβεβαίωσε ότι η πρωτεΐνη S100B μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βιοδείκτης για τη διάκριση μεταξύ ισχαιμικού εγκεφαλικού επεισοδίου και ενδοεγκεφαλικής αιμορραγίας, καθώς και για την πρόβλεψη της βραχυπρόθεσμης λειτουργικής πρόγνωσης μετά από ενδοεγκεφαλική αιμορραγία (Saijun Zhou, 2016).

9.5. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες (παραλήρημα, επιληπτική κρίση)

Παρόλο που το παραλήρημα (*delirium*) φαίνεται να είναι αρκετά συχνό στη σήψη, δεν υπάρχουν προς το παρόν σαφείς δείκτες για αυτή την εγκεφαλική δυσλειτουργία σε κατεσταλμένους ασθενείς. Από την άλλη, η πρωτεΐνη S100B είναι ένας συχνά χρησιμοποιούμενος, μη ειδικός δείκτης για την εγκεφαλική βλάβη. Επομένως, ο Kristo Erikson και η ομάδα ερευνητών του, εξέτασαν κατά πόσον τα αυξημένα επίπεδα της πρωτεΐνης S100B μπορεί να συνδέονται με το παραλήρημα (Kristo Erikson, 2018).

Σε αυτή τη μελέτη παρατήρησης, συμπεριλήφθηκαν είκοσι δύο ασθενείς που έπασχαν από σηπτικό σοκ (αποτέλεσμα πολυοργανικής ανεπάρκειας). Το παραλήρημα αξιολογήθηκε με το CAM-ICU, μια μέθοδο αξιολόγησης της σύγχυσης για τη ΜΕΘ (*Confusion Assessment Method for the ICU*) και λήφθηκαν δείγματα αίματος για τη μέτρηση φλεγμονωδών (CRP, PCT, IL-6, IL-17, TNF-α) και εγκεφαλικών βιοδεικτών (S100B, NSE, HAB42, SUBP). Οι ασθενείς κατηγοριοποιήθηκαν ανάλογα με την παρουσία παραληρήματος. (Kristo Erikson, 2018).

Τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου, έδειξαν ότι περίπου οι μισοί ασθενείς (10/22 ή το 45,5% αυτών) είχαν παραλήρημα. Ένα ακόμη ποσοστό 59,1% των ασθενών βρέθηκε να έχουν επίπεδα πρωτεΐνης S100B στον ορό υψηλότερα από την εργαστηριακή οριακή τιμή (0,15 g/L). Πιο συγκεκριμένα, στις περιπτώσεις όπου τα επίπεδα S100B ήταν μεγαλύτερα από 0,15 g/L, ο λόγος των πιθανοτήτων για την εμφάνιση παραληρήματος βρέθηκε να είναι ίσος με 18,0. Επιπλέον, σε σύγκριση με τους ασθενείς χωρίς παραλήρημα, οι ασθενείς με παραλήρημα παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα IL-6 στο πλάσμα (138,3 pg/mL έναντι 53,6 pg/mL). Υπήρξε, έτσι, θετική συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων S100B και IL-6. Τέλος, οι ερευνητές απέδειξαν με αυτήν τους την μελέτη παρατήρησης, ότι το παραλήρημα σε σηπτικό σοκ συσχετίστηκε με αυξημένη πρωτεΐνη S100B όταν χρησιμοποιήθηκε εργαστηριακή τιμή αποκοπής 0,15 μg/L και με σοβαρότερη δυσλειτουργία των οργάνων κατά τη διάρκεια της παραμονής των ασθενών στη ΜΕΘ (Kristo Erikson, 2018).

Μια ακόμη έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Yonathan Freund et al, αφορούσε στην αξιολόγηση της ακρίβειας της πρωτεΐνης S100B και της κοπεπτίνης (*copeptin*) στην πρόβλεψη της έκβασης των ασθενών που επισκέπτονται το τμήμα επειγόντων περιστατικών (ΤΕΠ) μετά από επιληπτική κρίση. Η συγκεκριμένη μελέτη συμπεριλάμβανε τέσσερα ΤΕΠ στη Γαλλία και το Ηνωμένο Βασίλειο και ενήλικες ασθενείς που μόλις είχαν υποστεί αιφνίδια κρίση. Οι συμμετέχοντες ασθενείς παρακολούθηθηκαν για είκοσι οκτώ ημέρες. Η επανεμφάνιση της κρίσης, ο θάνατος από κάθε αιτία, η νοσηλεία ή η επανάληψη της νοσηλείας, καθώς και μια επακόλουθη επίσκεψη στο ΤΕΠ σε χρονικό διάστημα εντός επτά ημερών, περιλάμβαναν την πρωταρχική έκβαση (Yonathan Freund, 2015).

Μεταξύ των 389 συμμετεχόντων που συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση, 156 (40%) από αυτούς εμφάνισαν το πρωτεύον καταληκτικό σημείο εντός επτά ημερών και 195

(54%) από αυτούς στις είκοσι οκτώ ημέρες. Τα μέσα επίπεδα τόσο της πρωτεΐνης S100B (0,11 μg/l έναντι 0,09 μg/l) όσο και της κοπεπτίνης (23 pmol/l έναντι 17 pmol/l) ήταν υψηλότερα στους συμμετέχοντες που πέτυχαν το πρωτογενές καταληκτικό σημείο. Ωστόσο, και οι δύο βιοδείκτες ήταν ανεπαρκώς προγνωστικοί για την πρωτογενή έκβαση. Η πολυμεταβλητή ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (*multivariable logistic regression analysis*) προσδιόρισε την υψηλότερη ηλικία ανά δεκαετία, την προκλητή επιληπτική κρίση, την σύνθετη μερική κρίση και την πρώτη κρίση ως ανεξάρτητους προγνωστικούς παράγοντες της πρωτογενούς έκβασης. Μια δεύτερη ανάλυση παλινδρόμησης που συμπεριέλαβε τους βιοδείκτες δεν έδειξε πρόσθετο προγνωστικό όφελος (Jonathan Freund, 2015).

Έτσι, αυτή η έρευνα οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οι βιοδείκτες πλάσματος S100B και κοπεπτίνη δεν βελτίωσαν την πρόβλεψη της κακής έκβασης μετά από επιληπτική κρίση. Η υψηλότερη ηλικία, η πρώτη επιληπτική κρίση, η προκλητή κρίση και η επιληπτική κρίση μερικού συμπλέγματος συνδέονται ανεξάρτητα με δυσμενή έκβαση (Jonathan Freund, 2015).

9.6. Ο ρόλος της πρωτεΐνης S100B στην δηλητηρίαση από γλυφοσάτη και γλυφοσινάτη

Η γλυφοσάτη (*glyphosate*) (*N*-φωσφονομυλομεθυλογλυκίνη) και η γλυφοσινάτη (*glufosinate*) (*N*-φωσφονομυλομεθυλο-ομοαλανίνη) είναι μη εκλεκτικά συστηματικά ζιζανιοκτόνα ευρέος φάσματος που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ετήσιων και πολυετών φυτών. Η γλυφοσάτη ασκεί τη ζιζανιοκτόνο δράση της αναστέλλοντας το ένζυμο *5-εννολπυρουβυλσικιμάτη-3-φωσφορική συνθάση*, υπεύθυνο για τη σύνθεση ενός ενδιάμεσου προϊόντος στη βιοσύνθεση διαφόρων αμινοξέων (L.G. Costa, 2014). Η γλυφοσινάτη είναι ο πιο ισχυρός γνωστός αναστολέας της *συνθετάσης της γλουταμίνης* (*Glutamine Synthetase* ή *GS*). Η συνθετάση της γλουταμίνης είναι ζωτικής σημασίας για την αφομοίωση του αζώτου από τα φυτά και η αναστολή της οδηγεί σε διάφορες άμεσες μεταβολικές δυσλειτουργίες (Jack Dekker, 1995).

Οι επιδράσεις της γλυφοσινάτης στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ), συμπεριλαμβανομένων των επιληπτικών κρίσεων και της μειωμένης επίγνωσης, είναι σημαντικές. Η σοβαρή δηλητηρίαση από γλυφοσάτη μπορεί επίσης να οδηγήσει σε αυτές τις επιδράσεις. Η μελέτη που πραγματοποίησαν οι Jung-Won Lee et al, επεδίωξε να καθορίσει κατά πόσον η πρωτεΐνη S100B του ορού μπορεί να χρησιμεύσει ως βιοχημικός

δείκτης των θεμάτων του ΚΝΣ που προκαλούνται από την τοξικότητα της γλυφοσάτης ή της γλουφοσινάτης (Jung-Won Lee, 2017).

Στην έρευνα αυτή συμμετείχαν σαράντα άτομα συνολικά, εκ των οποίων τα είκοσι τρία υπέστην δηλητηρίαση από γλυφοσάτη και τα δεκαεπτά δηλητηρίαση από γλουφοσινάτη. Κατά τη διάρκεια της νοσηλείας παρατηρήθηκαν αλλοιωμένη συνείδηση και επιληπτικές κρίσεις στα άτομα αυτά. Τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100B εκτιμήθηκαν με τη χρήση ηλεκτροχημειοφωτομετρικού ανοσοπροσδιορισμού. Δώδεκα άτομα από τα σαράντα βρέθηκε να έχουν νευρολογικά συμπτώματα, με μέση διάρκεια μέχρι την έναρξη 21,5 ώρες. Οι συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης S100B στον ορό που μετρήθηκαν κατά την εισαγωγή ήταν υψηλότερες στην ομάδα των ασθενών με νευρολογικά συμπτώματα (0,148 μg/L), από ότι στην ομάδα χωρίς νευρολογικά συμπτώματα (0,072 μg/L). Η μονοπαραγοντική ανάλυση των μετρούμενων ακατέργαστων παραμέτρων των ασθενών με την χρήση της καμπύλης ROC έδειξε ότι η πρωτεΐνη S100B είναι σημαντικός προγνωστικός παράγοντας των νευρολογικών χαρακτηριστικών σε δηλητηρίαση από γλυφοσάτη και γλουφοσινάτη. Συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη S100B βρέθηκε να έχει ευαισθησία και ειδικότητα για την πρόβλεψη νευρολογικών χαρακτηριστικών σε δηλητηρίαση από γλυφοσάτη και γλουφοσινάτη 92% και 82% αντίστοιχα.

Συμπερασματικά, στην πιλοτική αυτή μελέτη, η πρωτεΐνη S100B υπήρξε ένας σημαντικός προγνωστικός παράγοντας νευρολογικών επιπλοκών σε ασθενείς με δηλητηρίαση από γλυφοσάτη και γλουφοσινάτη. Ωστόσο, απαιτούνται ακόμη αρκετές έρευνες για να επιβεβαιωθεί αυτό το εύρημα (Jung-Won Lee, 2017).

9.7. Η επιρροή της πρωτεΐνης S100A4 στην εκβλάστηση των αισθητικών νευριτών πάνω στα αστροκύτταρα της λευκής ουσίας και στους μοριακούς μηχανισμούς της σηματοδότησης ασβεστίου στους νευρώνες

Οι **νευρίτες** είναι μικρές απολήξεις στους αναπτυσσόμενους νευρώνες που τελικά αναπτύσσονται σε άξονες ή δενδρίτες υπό τον έλεγχο παραγόντων που διεγείρουν ή αναστέλλουν την ανάπτυξη από το άμεσο εξωκυττάριο περιβάλλον τους (J. Peter, 2021). Η αξονική αυτή αναγέννηση θεωρείται ότι δεν είναι δυνατή στο κεντρικό νευρικό σύστημα (ΚΝΣ) λόγω της ύπαρξης μυελίνης και των χημικών ουσιών που τη συνοδεύουν. Ωστόσο, τα μεταμοσχευμένα νευρικά κύτταρα προτιμούν να μεταναστεύουν και να επεκτείνουν τις ίνες τους στις περιοχές της λευκής ουσίας του ΚΝΣ. Η πρωτεΐνη δέσμωσης ασβεστίου

S100A4, η οποία εκφράζεται από τα αστροκύτταρα της λευκής ουσίας *in vivo*, βρέθηκε να ρυθμίζεται σημαντικά σε περιοχές εκφύλισης της λευκής ουσίας (Z. Fang, 2006).

Έτσι, οι ερευνητές Z. Fang et al, για να διερευνήσουν το ρόλο των αστροκυττάρων της λευκής ουσίας, αλλά και της πρωτεΐνης S100A4 στην αξονική αναγέννηση, δημιούργησαν καλλιέργειες αστροκυττάρων της λευκής ουσίας, τα οποία εκφράζουν σε μεγάλο βαθμό την πρωτεΐνη S100A4 και ανέπτυξαν διαχωρισμένα ενήλικα γάγγλια της ραχιαίας ρίζας (*Dorsal Root Ganglion* ή *DRG*) πάνω στα αστροκύτταρα για ένα εικοσιτετράωρο (Z. Fang, 2006). Ανατομικά, ένα γάγγλιο της ραχιαίας ρίζας αναδύεται από τη ραχιαία ρίζα των νωτιαίων νεύρων. Τα κύτταρα αυτά μεταφέρουν αισθητηριακά μηνύματα από διάφορους υποδοχείς (όπως είναι ο πόνος και η θερμοκρασία) στην περιφέρεια με κατεύθυνση το κεντρικό νευρικό σύστημα για ανταπόκριση (Nilah Ahimsadasan, 2022).

Έτσι, με τη χρήση μικρού παρεμβαλλόμενου RNA της πρωτεΐνης S100A4, οι ερευνητές μπόρεσαν να εξαλείψουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A4 και να συγκρίνουν την ανάπτυξη των νευριτών των κυττάρων DRG πάνω σε αστροκύτταρα χωρίς πρωτεΐνη S100A4 και σε αστροκύτταρα που εξέφραζαν την πρωτεΐνη S100A4. Επιπλέον, μελέτησαν κατά πόσον η εξωκυτταρική πρωτεΐνη S100A4 έχει επίδραση στην ανάπτυξη νευριτών από ενήλικα κύτταρα DRG που καλλιεργήθηκαν σε αστροκύτταρα λευκής ουσίας που εκφράζουν την S100A4.

Τα δεδομένα αυτά, έδειξαν ότι τα αστροκύτταρα της λευκής ουσίας είναι επιτρεπτά για την ανάπτυξη των νευριτών, αν και τα υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης S100A4 στα αστροκύτταρα της λευκής ουσίας έχουν αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη αυτή. Η εξωκυτταρική εφαρμογή της πρωτεΐνης S100A4 προκάλεσε εκτεταμένη ανάπτυξη νευριτών κυττάρων DRG σε αστροκύτταρα λευκής ουσίας. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι τα αστροκύτταρα της λευκής ουσίας είναι σε θέση να υποστηρίξουν την αξονική αναγέννηση και, επιπλέον, ότι η χορήγηση εξωκυτταρικής S100A4 παρέχει ισχυρή πρόσθετη υποστήριξη για την αξονική αναγέννηση (Z. Fang, 2006).

Επιπροσθέτως, είναι γνωστό ότι στο νευρικό σύστημα, υψηλά επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης S100A4 παρατηρούνται σε περιοχές νευρογένεσης (*neurogenesis*) και βλαβών, γεγονός που υποδηλώνει το ρόλο της συγκεκριμένης πρωτεΐνης στη νευρωνική πλαστικότητα. Ακόμη, η εξωκυτταρική ολιγομερής S100A4 είναι ισχυρός προαγωγός της ανάπτυξης και της επιβίωσης των νευριτών από καλλιεργημένους πρωτογενείς νευρώνες,

παρόλο που ο μοριακός μηχανισμός αυτής της επίδρασης δεν έχει τεκμηριωθεί. Οι ερευνητές Darya Kiryushko et al, απέδειξαν ότι η ολιγομερής πρωτεΐνη S100A4 αυξάνει την ενδοκυτταρική συγκέντρωση ασβεστίου σε πρωτογενείς νευρώνες. Παρουσίασαν επίσης το γεγονός ότι η επαγόμενη από την πρωτεΐνη S100A4 εκφύλιση νευρίτη δεν διαμεσολαβείται από τον υποδοχέα για τα τελικά προϊόντα προηγμένης γλυκοποίησης (RAGE). Ωστόσο, η επαγόμενη από την πρωτεΐνη S100A4 σηματοδότηση εξαρτάται από αλληλεπιδράσεις με τις πρωτεογλυκάνες θειικής ηπαρίνης στην κυτταρική επιφάνεια. Για να ενεργοποιήσουν αυτούς τους άγνωστους ακόμη υποδοχείς, οι πρωτεΐνες S100 ενδέχεται να απαιτούν αρχική σύνδεση με γλυκοζαμινογλυκάνες στην επιφάνεια του κυττάρου ή στην εξωκυττάρια μήτρα. Έτσι, οι πρωτεΐνες S100, και ιδίως η S100A4, μπορεί να αποτελούν «συνδέτες πολλαπλών υποδοχέων» και οι κυτταρικές επιδράσεις τους μπορεί να είναι ένας συνδυασμός εξόδων από διάφορους καταρράκτες σηματοδότησης. Έτσι, οι γλυκοζαμινογλυκάνες (*glycosaminoglycans*) μπορεί να δρουν ως κεντρικοί υποδοχείς των πρωτεϊνών S100 στους νευρώνες και το γεγονός αυτό, πιθανό να παρέχει έναν μηχανισμό με τον οποίο οι πρωτεΐνες S100 θα μπορούσαν να ρυθμίζουν τοπικά τη νευρωνική πλαστικότητα σε σχέση με εγκεφαλικές βλάβες και νευρολογικές διαταραχές (Darya Kiryushko, 2006).

9.8. Η συσχέτιση της υπερέκφρασης της πρωτεΐνης S100A6 εντός των αστροκυττάρων με τους εξασθενημένους άξονες

Μία από τις πρώιμες παθολογικές αλλαγές που παρατηρούνται στις νευροεκφυλιστικές διαταραχές γενικά, αλλά και στην πλευρική αμυοτροφική σκλήρυνση (*Amyotrophic Lateral Sclerosis* ή *ALS*) ειδικά, είναι η αστρογλοΐωση (*astrogliosis*) (Daphné Hoyaux, 2002). Η πλευρική αμυοτροφική σκλήρυνση, επίσης γνωστή ως νόσος των κινητικών νευρώνων, χαρακτηρίζεται από τον εκφυλισμό τόσο των ανώτερων όσο και των κατώτερων κινητικών νευρώνων, ο οποίος οδηγεί σε μυϊκή αδυναμία και τελικά σε παράλυση (O. Hardiman, 2017).

Ο εκλεκτικός εκφυλισμός των κινητήριων νευρώνων αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα της πλευρικής αμυοτροφικής σκλήρυνσης. Οι δυο τύποι αυτής της νόσου είναι:

- η σποραδική *ALS* (*sporadic ALS* ή *SALS*), η οποία αντιπροσωπεύει το 90%-95% των περιπτώσεων, και

- η οικογενής ALS (*familial ALS* ή *FALS*), η οποία αντιπροσωπεύει το 5%-10% των περιπτώσεων και είναι μια αυτοσωμική επικρατούσα πάθηση που εξαρτάται από την ηλικία.

Έχει ακόμη βρεθεί ότι μεταλλάξεις στο ομοδιμερές ένζυμο *υπεροξειδική δισμουτάση Cu/Zn 1* (*Cu/Zn superoxide dismutase 1* ή *SOD1*) σχετίζονται με την *FALS* (Daphné Hoyaux, 2002).

Οι ερευνητές Daphné Hoyaux et al, χρησιμοποίησαν ένα διαγονιδιακό ποντίκι που εκφράζει την ανθρώπινη μετάλλαξη του γονιδίου *SOD1*(G93A), ως ζωικό μοντέλο για τη νόσο αυτή. Με την χρήση της ανοσοϊστοχημείας και του διπλού ανοσοφθορισμού, απέδειξαν ότι τα αστροκύτταρα που βρίσκονται κοντά σε κινητικούς νευρώνες με ελαττωματικούς άξονες που ήταν ειδικά προγραμματισμένοι να πεθάνουν υπερεκφράζουν την πρωτεΐνη S100A6.

Ασθενείς που πάσχουν από SALS και διαγονιδιακά ποντίκια που υπερεκφράζουν την ανθρώπινη μετάλλαξη του γονιδίου *SOD1* κατέδειξαν αυτή την ειδική αστροκυτταρική έκφραση S100A6. Για παράδειγμα, τομές του νωτιαίου μυελού και του εγκεφαλικού στελέχους από ασθενείς με SALS, επισημασμένες με S100A6, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον μακροσκοπικό εντοπισμό της πυραμιδικής οδού. Η έρευνα έδειξε ακόμη ότι η πρωτεΐνη S100A6 δεν υπερεκφράστηκε σε διαγονιδιακά ποντίκια που εξέφραζαν το μη μεταλλαγμένο γονίδιο *SOD1*. Παρά το γεγονός ότι τα αποτελέσματα αυτά δεν υποδεικνύουν αν η S100A6 διαδραματίζει βοηθητικό ή αρνητικό ρόλο, είναι λογικό να συμπεράνουμε ότι η επαγωγή της εξυπηρετεί κάποιο σκοπό.

Η εργασία αυτή των συγκεκριμένων ερευνητών είναι καθαρά περιγραφική και δεν δίνει ενδείξεις για τον ευεργετικό ή επιβλαβή ρόλο που διαδραματίζει η έκφραση του S100A6. Ωστόσο, υπό το πρίσμα των αποτελεσμάτων τους, οι Daphné Hoyaux et al, θέλουν να αποδείξουν ότι η S100A6 είναι μια πρωτεΐνη δέσμησης ασβεστίου αλλά και ψευδαργύρου που σχηματίζει ετεροδιμερές με την πρωτεΐνη S100B και συνδέεται *in vivo* με μια πυρηνική φωσφοπρωτεΐνη και, ως εκ τούτου, τροποποιεί την ομοιόσταση ψευδαργύρου και ασβεστίου τόσο στο κυτταρόπλασμα όσο και στον πυρήνα των αστροκυττάρων. Η σηματοδότηση αυτή του ψευδαργύρου φαίνεται να αποτελεί ουσιαστικό παράγοντα στο πλαίσιο της παθογένειας της ALS (Daphné Hoyaux, 2002).

9.9. Έκφραση και λειτουργία της ψωριασίνης (S100A7) στον εγκέφαλο

Η έκφραση και η λειτουργικότητα της ψωριασίνης στον εγκέφαλο δεν έχουν μελετηθεί επαρκώς. Για τον λόγο αυτό, οι Sandra Jansen et al, πραγματοποίησαν μια έρευνα με σκοπό να αποδείξουν πώς η βακτηριακή και η ιογενής διέγερση επάγει την παραγωγή ψωριασίνης στο Κεντρικό Νευρικό Σύστημα (ΚΝΣ). Επιπλέον, οι ερευνητές διαπίστωσαν έκφραση της πρωτεΐνης S100A15 στα αστροκύτταρα και στα μηνιγγικά κύτταρα, μέσω ενός πειράματος με τη χρήση πρωτογενών καλλιιεργειών γλοιακών και μηνιγγικών κυττάρων αρουραίου και ενός μοντέλου πνευμονιοκοκκικής μηνιγγίτιδας *in vivo* (Sandra Jansen, 2013).

Επιπλέον, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν το πολυνοσινικό-πολυκυτιδυλικό οξύ (*polyinosinic-polycytidylic acid*), ένα συνθετικό ανάλογο του δίκλωνου RNA που μιμείται την ιογενή λοίμωξη, για να μελετήσουν την έκφραση της ψωριασίνης σε γλοιακά και μηνιγγικά κύτταρα. Επιπλέον, προηγούμενα ευρήματα είχαν αποδείξει ότι τα αντιμικροβιακά πεπτίδια έχουν τόσο βακτηριοκτόνα όσο και ανοσοτροποποιητικά αποτελέσματα. Έτσι, χρησιμοποίησαν ανασυνδυασμένη ψωριασίνη για να ελέγξουν αυτόν τον ισχυρισμό. Η ανασυνδυασμένη ψωριασίνη εφαρμόστηκε σε γλοιακά και μηνιγγικά κύτταρα σε δόσεις που κυμαίνονταν από 25 έως 500 ng/ml. Τα μηνιγγικά κύτταρα και η μικρογλοία που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με την ένωση παρουσίασαν φωσφορυλίωση του μονοπατιού μεταγωγής σήματος *ERK1/2* (*extracellular signal-regulated kinase 1/2*). Απέδειξαν έτσι ότι ο *RAGE*, ο υποδοχέας των τελικών προϊόντων προχωρημένης γλυκοποίησης, είναι απαραίτητος για αυτή την ενεργοποίηση του μονοπατιού *ERK* (Sandra Jansen, 2013).

Επιπροσθέτως, η θεραπεία με ανασυνδυασμένη ψωριασίνη φαίνεται ότι προκαλεί την ανάπτυξη διευρυμένου φαινοτύπου στα κύτταρα της μικρογλοίας. Τα ευρήματά αυτά της συγκεκριμένης έρευνας, υποδηλώνουν ότι η ψωριασίνη είναι παρούσα στον εγκέφαλο και μπορεί να λειτουργεί ως αντιβακτηριακή πρωτεΐνη που τροποποιεί το έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα ως απόκριση σε βακτηριακή ή ιογενή ενεργοποίηση (Sandra Jansen, 2013).

9.10. Η συμμετοχή της πρωτεΐνης S100A10 στην νόσο του Parkinson και την κατάθλιψη

Οι ασθενείς με νόσο του Parkinson (*Parkinson's Disease* ή *PD*) εμφανίζουν συχνά ταυτόχρονη κατάθλιψη. Η πρωτεΐνη S100A10 (p11), η οποία παίζει ρόλο στη μείζονα

καταθλιπτική νόσο και στην ανταπόκριση του οργανισμού στα αντικαταθλιπτικά, εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε όλο το σώμα, συμπεριλαμβανομένου του εγκεφάλου, όπου διαδραματίζει βασικό ρόλο στη διακίνηση μεμβρανών, στην έκκριση κυστιδίων και στην ενδοκυττάρωση (Ana Milosevic, 2016; Holly Green, 2017). Ωστόσο, η πρωτεΐνη αυτή δεν έχει ακόμη μελετηθεί σε ασθενείς που πάσχουν από PD με ταυτόχρονη κατάθλιψη, ούτε σε ασθενείς με PD χωρίς κατάθλιψη (Holly Green, 2017).

Για τον λόγο αυτό, οι Holly Green et al, εξέτασαν τα περιφερικά επίπεδα S100A10 σε μεταθανάτιους εγκεφάλους ατόμων που έπασχαν από PD, δεδομένου ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A10 είναι μειωμένα στον μεταθανάτιο ιστό καταθλιπτικών ατόμων, για να διαπιστώσουν με αυτόν τον τρόπο αν αυτά σχετίζονται με τη σοβαρότητα της νόσου. Μεταθανάτια δείγματα εγκεφάλου από ασθενείς με PD και αντίστοιχους ελέγχους εξετάστηκαν για την παρουσία των πρωτεϊνών *substantia nigra, putamen* και S100A10 στον φλοιό του εγκεφάλου. Σε ένα διαφορετικό σύνολο μεταθανάτιων εγκεφάλων, η έκφραση του mRNA S100A10 μετρήθηκε σε ντοπαμινεργικά κύτταρα από την *substantia nigra*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, στους ασθενείς με PD, υπήρχαν χαμηλότερες ποσότητες πρωτεΐνης S100A10 και mRNA αυτής (Holly Green, 2017).

Ακόμη, διαφορετικοί πληθυσμοί λευκοκυττάρων από ασθενείς με PD και κατάθλιψη και από ασθενείς με PD χωρίς κατάθλιψη εξετάστηκαν ως προς τα περιφερικά επίπεδα πρωτεΐνης S100A10. Η σοβαρότητα της PD συσχετίστηκε ισχυρά με τα επίπεδα S100A10 των μονοκυττάρων, των κυττάρων NK (σημαντική συσχέτιση με την αξιολόγηση της κατάθλιψης) και των κυτταροτοξικών T-κυττάρων (Holly Green, 2017).

Τέλος, συναρπαστικό είναι το γεγονός ότι τα περιφερικά επίπεδα της πρωτεΐνης S100A10 μεταβάλλονται στα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος τόσο στη νόσο PD όσο και στην κατάθλιψη, δεδομένου ότι η φλεγμονή παίζει ρόλο και στις δύο ασθένειες. Τα ευρήματά της συγκεκριμένης έρευνας ρίχνουν φως στις παθολογικές αλλαγές που συμβαίνουν στη νόσο PD. Εάν λοιπόν η θεωρία αυτή επιβεβαιωθεί και σε άλλες πληθυσμιακές ομάδες, η S100A10 θα μπορούσε να γίνει ένας ευρέως διαθέσιμος βιοδείκτης για την αξιολόγηση της σοβαρότητας της νόσου PD, ιδίως όταν συνδυάζεται με ταυτόχρονη κατάθλιψη (Holly Green, 2017).

Επιπλέον, φαίνεται ότι η πρωτεΐνη S100A10 εμπλέκεται στη μείζονα καταθλιπτική διαταραχή (*Major Depressive Disorder* ή *MDD*) και στις δράσεις των αντικαταθλιπτικών. Δεδομένου ότι η κατάθλιψη επηρεάζει πολλαπλές περιοχές του εγκεφάλου και ο ρόλος

της S100A10 έχει προσδιοριστεί μόνο σε μερικές από αυτές τις περιοχές, δικαιολογείται μια λεπτομερή ανάλυση της έκφρασης της S100A10 στον εγκέφαλο. Έτσι, οι Ana Milosevic et al, απέδειξαν ότι, αν και ευρέως διαδεδομένη στον εγκέφαλο, η έκφραση της πρωτεΐνης S100A10 περιορίζεται σε διακριτές περιοχές και σε συγκεκριμένους τύπους νευρικών και μη νευρικών κυττάρων. Με την έρευνα αυτή, επιβεβαιώθηκε ότι, συνολικά, η έκφραση της S100A10 εκτείνεται σε πολλαπλές εγκεφαλικές περιοχές, δομές και κυτταρικούς τύπους, υποδηλώνοντας έτσι έναν σύνθετο ρόλο αυτής στην κατάθλιψη και σε άλλες διαταραχές της διάθεσης (Ana Milosevic, 2016).

Πρωτεΐνη S100	Συσχετισμός με ασθένεια
S100B	Νευροβιοδείκτης για κρανιοεγκεφαλικές κακώσεις σε έμβρυα υψηλού κινδύνου, νεογνά, παιδιά και ενήλικες, βιοδείκτης στην σοβαρή τυχαία υποθερμία, τραυματική εγκεφαλική βλάβη σε παιδιά και έγκυες γυναίκες, ενδοεγκεφαλική αιμορραγία και ισχαιμικό εγκεφαλικό επεισόδιο, νευροεκφυλιστικές ασθένειες, ψυχιατρικές διαταραχές, επιληπτικές κρίσεις, παραλήρημα, δηλητηρίαση από γλυφοσάτη και γλουφοσινάτη
S100A4	Αξονική αναγέννηση, νευρωνική πλαστικότητα
S100A6	Αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση
S100A7	Αντιμικροβιακή πρωτεΐνη στο ΚΝΣ
S100A10	Βιοδείκτης για την παρακολούθηση της σοβαρότητας της νόσου του Parkinson, στο πλαίσιο της συνυπάρχουσας κατάθλιψης

Πίνακας 5. Οι πρωτεΐνες S100 στις διαταραχές του εγκεφάλου (Heizmann, 2019)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 10

Οι πρωτεΐνες S100 στην διάγνωση του καρκίνου

Ο ανεξέλεγκτος κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η αύξηση της κυτταρικής μετανάστευσης, η αγγειογένεση, η διείσδυση και η εξέλιξη του καρκίνου συνδέονται στενά με την αναδιαμόρφωση της ομοιόστασης του ασβεστίου και τη δυσλειτουργία της σηματοδότησης αυτού στα κύτταρα. Σε ότι αφορά στις πρωτεΐνες S100, αν και έχουν πολλές δομικές ομοιότητες, οι ειδικοί βιολογικοί ρόλοι τους καθώς και η συμβολή τους στις καρκινογόνες διαδικασίες είναι αρκετά διαφορετικές (Heizmann, 2019).

Η ικανότητα των καρκινικών κυττάρων να μετατρέπονται από καλοήθη σε κακοήθη και να εισβάλλουν σε γειτονικούς ιστούς παρακάμπτοντας τους φυσιολογικούς ιστικούς φραγμούς είναι αυτή που προσδίδει στον καρκίνο τη μορφή του μορφή. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως μετάσταση (Shrawan Kumar Mishra, 2012). Για τον λόγο αυτό, καθώς και για αποτελεσματικότερα σχέδια θεραπείας και καλύτερα αποτελέσματα για τους ασθενείς, η έγκαιρη διάγνωση των όγκων και των μεταστάσεων είναι απαραίτητη. Ακόμη, επιτακτική ανάγκη αποτελεί η ανάπτυξη μοριακών δεικτών και απλών κλινικών εφαρμόσιμων δοκιμασιών για τη διάγνωση, την πρόγνωση και την παρακολούθηση της θεραπείας (Ulrike Stein, 2011).

Πρόσφατα κλινικά και πειραματικά δεδομένα έχουν υποδείξει ότι οι αλλαγές στην έκφραση ή/και τη λειτουργία των πρωτεϊνών S100 μπορεί να αποτελούν ένα βασικό βήμα κατά την ανάπτυξη του καρκίνου. Επιπλέον, γονιδιωματικές αναδιατάξεις στη χρωμοσωμική περιοχή 1q21, στην οποία συγκεντρώνονται τα περισσότερα γονίδια S100, παρατηρήθηκαν συχνά σε ανθρώπινους επιθηλιακούς όγκους, όπως είναι αυτοί του πνεύμονα, του μαστού, του οισοφάγου, του παχέος εντέρου και του ήπατος, καθώς και σε όγκους μαλακών μορίων και οστών (Christoffer Gebhardt, 2006). Ο ρόλος των πρωτεϊνών S100 στον ανθρώπινο καρκίνο, την διάγνωση και θεραπεία του, καθώς και οι προσπάθειες ανακάλυψης φαρμάκων που αξιοποιούν την ταυτοποίηση επιλεκτικών αναστολέων της οικογένειας S100 (που βρίσκονται ήδη σε κλινικές δοκιμές σε ασθενείς με καρκίνο) έχουν ανασκοπηθεί και πρόκειται να αναλυθούν παρακάτω (Heizmann, 2019).

10.1. Η πρωτεΐνη S100B ως βιοδείκτης στο κακόηθες μελάνωμα

Η επίπτωση του κακόηθους μελανώματος αυξάνεται παγκοσμίως και έχει μεγάλες οικονομικές επιπτώσεις. Παρά τις προόδους στον έγκαιρο εντοπισμό και την πρόληψη, εξακολουθεί να είναι ένας από τους πιο θανατηφόρους τύπους καρκίνου του δέρματος. Προκειμένου να βελτιωθεί η έγκαιρη διάγνωση, η ακριβής σταδιοποίηση και η πρόγνωση, καθώς και για την επιλογή και την παρακολούθηση της θεραπείας, είναι επείγουσα ανάγκη να αναπτυχθούν κατάλληλοι βιοδείκτες (Anna Lisa Frauchiger, 2019). Τα τελευταία χρόνια, οι πρωτεΐνες S100 έχουν εξελιχθεί από απλές πρωτεΐνες δέσμησης ασβεστίου σε πρωτεΐνες που συμμετέχουν ενεργά σε πολλές ασθένειες και διάφορους καρκινικούς τύπους, όπως είναι το κακόηθες μελάνωμα (Leclerc, 2014).

Αν και η ιστοχημική χρώση της οικογένειας των πρωτεϊνών S100 χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια για τη διάγνωση του κακόηθους μελανώματος, οι τρέχουσες έρευνες δείχνουν ότι μία από τις πρωτεΐνες της οικογένειας S100, η S100B, έχει ιδιαίτερη χρησιμότητα σε διάφορους τομείς της κλινικής περίθαλψης του κακόηθους μελανώματος (Riikka Harpio, 2004). Οι προγνωστικοί βιοδείκτες για το μελάνωμα είναι απαραίτητοι, προκειμένου να προσδιοριστεί καλύτερα ο κίνδυνος εξέλιξης του, αλλά και να αξιολογηθεί η έκβαση αυτού. Πρόσφατες έρευνες έχουν εντοπίσει περίπλοκα μοτίβα διαφόρων μοριακών ανωμαλιών και έχουν αποδείξει ότι το μελάνωμα θα πρέπει να θεωρηθεί ως μια ετερογενής ομάδα διαταραχών με μοριακά διακριτές ατέλειες σε βασικές κυτταρικές λειτουργίες, όπως η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η κυτταρική σηματοδότηση, η κυτταρική προσκόλληση, η κυτταρική διαφοροποίηση και ο κυτταρικός θάνατος. Για τον λόγο αυτό, τονίζεται ιδιαίτερα η ανάγκη για εξατομικευμένη διάγνωση, πρόγνωση και θεραπεία του μελανώματος (H. Gogas, 2009).

Η πρωτεΐνη S100B, λοιπόν, έχει αποδειχθεί ότι είναι χρήσιμη στη σταδιοποίηση του κακόηθους μελανώματος, στον καθορισμό της πρόγνωσης, στη μέτρηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας και στην πρόβλεψη της υποτροπής. Ακόμη, οι κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις S100B πριν από τη θεραπεία μπορούν να υποδείξουν πόσο καιρό θα επιβιώσουν οι ασθενείς με μελάνωμα (Riikka Harpio, 2004). Διάφορες έρευνες έχουν αποδείξει ότι η πρωτεΐνη S100B αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό παράγοντα. Σε σύγκριση με ασθενείς με μελάνωμα με αυξημένα επίπεδα πρωτεΐνης S100B, η επιβίωση είναι αισθητά μεγαλύτερη σε ασθενείς με μελάνωμα με φυσιολογικά επίπεδα S100B (Riikka Harpio, 2004).

Τα επίπεδα S100B στην κυκλοφορία του αίματος είναι πολύ πιο ευαίσθητα από άλλους εργαστηριακούς δείκτες για την ανίχνευση της μεταστατικής εξάπλωσης του κακοήθους μελανώματος, ιδίως στο στάδιο IV της νόσου. Η ποσότητα της πρωτεΐνης S100B αντανακλά την μάζα του όγκου, ενώ η αποτελεσματικότητα της θεραπείας προβλέπεται από τα επίπεδα S100B στον ορό. Επιπλέον, ενώ οι αυξημένες συγκεντρώσεις S100B υποδηλώνουν ανάπτυξη του όγκου, οι μειωμένες συγκεντρώσεις S100B αντιπροσωπεύουν θεραπευτική ανταπόκριση. Είναι, λοιπόν, σημαντικό να λαμβάνεται υπόψιν από τον θεράποντα γιατρό, η S100B στην κυκλοφορία του αίματος όταν αποφασίζεται εάν θα αλλάξει το σχέδιο της θεραπείας (Riikka Harpio, 2004).

Η συνολική επιβίωση βρέθηκε να συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τις συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης S100B στον ορό, σε μια μεταγενέστερη έρευνα με 643 άτομα που έπασχαν από κακόηθες μελάνωμα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής, με την αύξηση των συγκεντρώσεων της πρωτεΐνης S100B, ο παρατηρούμενος λόγος θανάτου αυξήθηκε σημαντικά. Μια τιμή S100B >0,6 μg/L, έδειξε πενταπλάσια αύξηση του σχετικού κινδύνου, και σε αυτό το επίπεδο αποκοπής, η S100B παρουσίασε επιπλέον προγνωστική αξία ανεξάρτητα από το κλινικό στάδιο. Σε άλλες έρευνες, τα βασικά επίπεδα πρωτεΐνης S100B στον ορό συνδέθηκαν με την πρόγνωση και το στάδιο του μελανώματος (H. Gogas, 2009).

Στατιστικά σημαντικές διαφορές φαίνεται ότι παρουσίαζαν και τα διάφορα στάδια του κακοήθους μελανώματος, μεταξύ τους. Ανεξάρτητα από το στάδιο της νόσου, οι ασθενείς με τιμές S100B <0,2 μg/l είχαν εκτιμώμενο συνολικό χρόνο επιβίωσης σημαντικά μεγαλύτερο από εκείνους με αυξημένα επίπεδα S100B (>0,2 μg/L). Παρόμοια με αυτό, σε μια διαφορετική έρευνα 214 ασθενών με μελάνωμα, οι αυξανόμενες συγκεντρώσεις S100B στον ορό ανιχνεύθηκαν 5-23 εβδομάδες **πριν** από την παραδοσιακή μέθοδο ανίχνευσης της εξέλιξης του μελανώματος. Ακόμη, μια συγκέντρωση της πρωτεΐνης S100B >0,08 μg/L αποτελεί ανεξάρτητο προγνωστικό δείκτη για κακή επιβίωση χωρίς υποτροπή κατά την έναρξη και το πρώτο έτος παρακολούθησης. Χαμηλότερες συγκεντρώσεις S100B <0,15 μg/L, κατά την έναρξη και κατά τη διάρκεια της παρακολούθησης, σχετίζονται με σημαντικά καλύτερη συνολική επιβίωση, σύμφωνα με την προκαταρκτική πολυμεταβλητή ανάλυση δεδομένων με προσαρμογή για σημαντικούς παράγοντες πρόγνωσης (εξέλκωση και κατάσταση λεμφαδένων) και θεραπεία από 880 ασθενείς στη μελέτη φάσης III E1694 (H. Gogas, 2009).

Επιπροσθέτως, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι, *in vitro*, η πρωτεΐνη S100B αλληλοεπιδρά με πάνω από δώδεκα ενδοκυτταρικούς στόχους. Πολλοί από αυτούς τους στόχους διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στον καρκίνο και την κυτταρική ανάπτυξη. Για παράδειγμα, η S100B διαθέτει την ικανότητα να διεγείρει την αλδολάση της 1,6-διφωσφορικής φρουκτόζης (fructose-1,6-biphosphate aldolase), ένα γλυκολυτικό ένζυμο. Ως εκ τούτου, η εκκρινόμενη από το μελάνωμα πρωτεΐνη S100B, θα μπορούσε να επηρεάσει την αυξημένη γλυκόλυση των καρκινικών κυττάρων. Εφόσον είναι γνωστό ότι τα καρκινικά κύτταρα έχουν αυξημένο μεταβολισμό και δραστηριότητα γλυκόλυσης, μια θεραπευτική στρατηγική που χρησιμοποιείται για τη θεραπεία του μελανώματος είναι η καταστολή αυτού του μεταβολισμού τους (Leclerc, 2014).

10.2. Η πρωτεΐνη S100A1 στον καρκίνο των ωοθηκών

Ο καρκίνος των ωοθηκών είναι η πιο θανατηφόρα γυναικολογική κακοήθεια και ο πέμπτος πιο συχνός καρκινικός θάνατος των γυναικών. Έχει τυπικά ποσοστό επιβίωσης 30% για πέντε χρόνια και συνήθως ανακαλύπτεται σε προχωρημένο στάδιο. Ο λόγος οφείλεται κυρίως στην απουσία ειδικών συμπτωμάτων και στρατηγικών έγκαιρης ανίχνευσης, με αποτέλεσμα πάνω από το 70% των ασθενών να διαγιγνώσκονται σε προχωρημένο στάδιο και με κακή πρόγνωση. Η προέλευση και η εξέλιξη του καρκίνου των ωοθηκών είναι μια διαδικασία πολλών βημάτων κατά την οποία τα κακοήθη κύτταρα εξελίσσονται σταδιακά μέσω ενός αριθμού μεταλλάξεων. Καθώς η παθογένεια του δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως, η κατανόηση της μοριακής βάσης του συγκεκριμένου καρκίνου θα βελτιώσει σημαντικά τη διάγνωση και τη θεραπεία της κακοήθειας και τελικά θα διευκολύνει την ανάπτυξη αποτελεσματικών θεραπευτικών στρατηγικών (Tian Tian, 2017).

Η πρωτεΐνη S100A1, εκφράζεται σημαντικά στον καρκίνο των ωοθηκών. Ωστόσο, η λειτουργία της στον συγκεκριμένο καρκίνο δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητή. Οι ερευνητές Tian Tian et al, εξέτασαν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A1 σε ιστούς καρκίνου των ωοθηκών και σε φυσιολογικούς ιστούς ελέγχου και μελέτησαν με αυτόν τον τρόπο, τη σχέση μεταξύ της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A1 και των κλινικοπαθολογικών παραμέτρων. Στη συνέχεια, διερεύνησαν τις βιολογικές λειτουργίες της πρωτεΐνης S100A1 στον καρκίνο των ωοθηκών με δοκιμασίες κυτταρικού πολλαπλασιασμού, διαλογής

κυττάρων με ενεργοποίηση φθορισμού (*Fluorescence-Activated Cell Sorting* ή *FACS*) και δοκιμασίες μετανάστευσης και εισβολής (Tian Tian, 2017).

Με το πέρας της έρευνας, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η έκφραση της πρωτεΐνης S100A1 ήταν σημαντικά αυξημένη στους ιστούς του καρκίνου των ωοθηκών σε σύγκριση με τους ιστούς της σάλπιγγας και του φυσιολογικού επιθηλίου των ωοθηκών και σχετιζόταν σημαντικά με τη μετάσταση στους λεμφαδένες και τα στάδια και τους βαθμούς του όγκου της Διεθνούς Ομοσπονδίας Γυναικολογίας και Μαιευτικής (*International Federation of Gynecology and Obstetrics* ή *FIGO*). Ακόμη, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η πρωτεΐνη S100A1 ενίσχυσε τον πολλαπλασιασμό και τη μετανάστευση των καρκινικών κυττάρων των ωοθηκών. Συνολικά, τα ευρήματα αυτά επιβεβαιώνουν ότι η πρωτεΐνη S100A1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην κακοήθεια του καρκίνου των ωοθηκών και χρησιμεύει ως χρήσιμος δείκτης για την ανίχνευση της κακοήθειας αυτής. (Tian Tian, 2017).

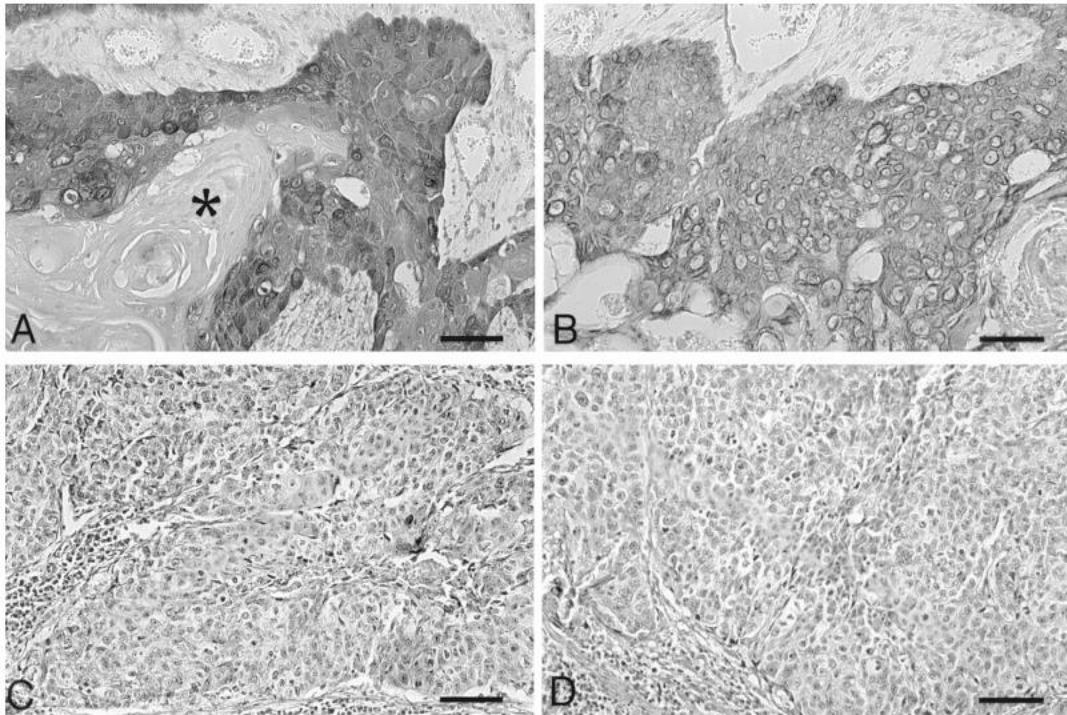
Επιπλέον, οι ερευνητές εξέτασαν τον αντίκτυπο της πρωτεΐνης S100A1 στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του καρκίνου των ωοθηκών, με σκοπό να μάθουν περισσότερα για τον βιολογικό της ρόλο στην συγκεκριμένη ασθένεια. Τα ευρήματά τους έδειξαν ότι η μείωση της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης S100A1 είχε το αντίθετο αποτέλεσμα από αυτό της υπερέκφρασης της, όσον αφορά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων. Ωστόσο, δεν διαπιστώθηκε καμία διακριτή επίδραση. Είναι πιθανό να ευθύνονται άλλοι παράγοντες, εκτός από τον κυτταρικό κύκλο, για τον τροποποιημένο ρυθμό κυτταρικού πολλαπλασιασμού, όπως, για παράδειγμα, η βιωσιμότητα των κυττάρων (Tian Tian, 2017).

Προηγούμενες έρευνες έχουν υποδείξει ότι η πρωτεΐνη S100A1 μπορεί να ρυθμίζει την ανάπτυξη των κυττάρων αλληλοεπιδρώντας με μια ποικιλία πρωτεϊνών-στόχων, συμπεριλαμβανομένης της τουμπουλίνης και των πρωτεϊνών που συνδέονται με την τουμπουλίνη. Και η πρωτεΐνη S100A1 μπορεί να είναι ένα μόριο που συνδέει άμεσα τον κυτταροσκελετό με την κυτταρική ανάπτυξη. Έτσι, η υπερέκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης μπορεί να έχει τη δυνατότητα να χρησιμεύσει ως σημαντικός δείκτης για την ανίχνευση της κακοήθειας των ωοθηκών. Ωστόσο, οι λεπτομέρειες του τρόπου με τον οποίο η πρωτεΐνη S100A1 ρυθμίζει τους μεταγενέστερους στόχους του και του τρόπου με τον οποίο αυτές οι αλληλεπιδράσεις επηρεάζουν τις ιδιότητες πολλαπλασιασμού και μετανάστευσης χρήζουν περαιτέρω διαλεύκανσης (Tian Tian, 2017).

10.3. Η πρωτεΐνη S100A2 στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα

Έχουν διεξαχθεί πολυάριθμες μελέτες για να προσδιοριστεί ο τρόπος με τον οποίο σχετίζονται η ιστολογική ταξινόμηση του όγκου και η πρόγνωση. Στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα (*Squamous-Cell Carcinoma* ή *SCC*), έχουν αναφερθεί αντικρουόμενα αποτελέσματα μεταξύ της επιβίωσης και της διαφοροποίησης των κυττάρων του όγκου. Η πλειονότητα των κακοηθειών του λάρυγγα είναι τύπου πλακώδους κυττάρου με μεταβλητό βαθμό διαφοροποίησης που κυμαίνεται μεταξύ καλά διαφοροποιημένων, κερατινοποιημένων και αναπλαστικών και μη κερατινοποιημένων όγκων (Libero Lauriola, 2000). Η πρωτεΐνη S100A2 εκφράζεται τόσο από το υγιές πλακώδες επιθήλιο του λάρυγγα όσο και από το πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα, σύμφωνα με προκαταρκτικές μελέτες ανοσοϊστοχημείας (Libero Lauriola, 2000).

Οι ερευνητές εξέτασαν την κλινική σημασία της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A2 στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα, επειδή φαίνεται να συνδέεται θετικά με την ανάπτυξη πλακώδους κυττάρου. Η παρουσία της πρωτεΐνης S100A2 και η κερατινοποίηση φάνηκε να συνδέονται στενά όταν η ιστοπαθολογική ταξινόμηση βασίστηκε μόνο στην κατάσταση κερατινοποίησης του όγκου. Το ποσοστό των S100A2-θετικών όγκων ήταν 95% και 51% σε όγκους χαμηλού βαθμού (G1+G2) και υψηλού βαθμού (G3+G4), αντίστοιχα. Όταν η ιστοπαθολογική ταξινόμηση βασίστηκε μόνο στην κατάσταση κερατινοποίησης του όγκου, φάνηκε σαφώς ότι η θετικότητα S100A2 και η κερατινοποίηση ήταν αυστηρά συνδεδεμένες. Έτσι, η θετικότητα S100A2 ήταν παρούσα στο 81% των κερατινοποιημένων όγκων, αλλά σε κανέναν μη κερατινοποιημένο αναπλαστικό όγκο (Libero Lauriola, 2000).



Εικόνα 26. **Ανοσοχρωματισμός** με αντι-ανθρώπινο πολυκλωνικό αντίσωμα S100A2 κουνελιού (A,C) και με μονοκλωνικό αντίσωμα CK14 αντι-κυτταροκερατίνης ποντικού (B,D). Διαδοχικές τομές ενός καλά διαφοροποιημένου (G2) πλακώδους καρκινώματος του λάρυγγα (A,B) και ενός υψηλού βαθμού (G4) μη κερατινοποιημένου πλακώδους καρκινώματος του λάρυγγα (C,D). Τα συσσωματώματα κερατίνης μεταξύ των καρκινικών κυττάρων (A,*) δεν ανοσοχρωματίζονται θετικά για S100A2 (Liberio Lauriola, 2000).

Επομένως, η εξαιρετικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της εμφάνισης της πρωτεΐνης S100A2 στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα και της κατάστασης κερατινοποίησης του όγκου υποδηλώνει ότι, στον συγκεκριμένο τύπο καρκίνου, η προγνωστική αποτελεσματικότητα της έκφρασης της S100A2 οφείλεται πιθανώς στο γεγονός ότι αυτή η πρωτεΐνη δέσμησης ασβεστίου σχετίζεται με τη δέσμηση των κυττάρων για διαφοροποίηση προς την κατεύθυνση της κερατινοποίησης. Οι ερευνητές ανίχνευαν την πρωτεΐνη S100A2 στην παραβασική στιβάδα του πλακώδους επιθηλίου, αλλά όχι στην ενδιάμεση και επιφανειακή στιβάδα του φυσιολογικού λάρυγγα (Liberio Lauriola, 2000). Ομοίως, οι Shrestha et al, είχαν αναφέρει ότι η πρωτεΐνη S100A2 εκφράζεται τόσο στο φυσιολογικό επιθήλιο της βασικής στιβάδας όσο και σε καλά διαφοροποιημένους όγκους του δέρματος (Shrestha P., 1998). Η συσχέτιση αυτή μεταξύ της έκφρασης της S100A2 και της δέσμησης των κυττάρων στη διαφοροποίηση υποστηρίζεται περαιτέρω από την παρατήρηση ότι, στο φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο του λάρυγγα και στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα, η έκφραση της πρωτεΐνης S100A2 συσχετίστηκε αυστηρά με

εκείνη των CK14 και CK17, που είναι δείκτες των βασικών και παραβασικών κυττάρων στο φυσιολογικό πλακώδες επιθήλιο του λάρυγγα (Libero Lauriola, 2000). Επιπλέον, η έκφραση αυτών των κυτταροκερατινών σχετίζεται αντιστρόφως ανάλογα με την αύξηση του βαθμού του πλακώδους καρκινώματος του λάρυγγα (Libero Lauriola, 2000).

Η αντιμετώπιση του καρκίνου του λάρυγγα έχει βελτιωθεί σημαντικά τα τελευταία χρόνια, ιδίως όσον αφορά τον αρχικό έλεγχο της νόσου, καθώς και την ποιότητα ζωής που σχετίζεται με τη λειτουργία ή/και τη διατήρηση των οργάνων του λάρυγγα. Επιπλέον, η προγνωστική σημασία της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A2 θα μπορούσε να εντοπίσει περισσότερους υποψήφιους όγκους με χημειο-ακτινοευαισθησία για τις νέες κλινικές δοκιμές επαγωγικής χημειοθεραπείας ή οριστικής ακτινοβολήσης. Παρόλο που η εφαρμογή των πειραματικών αποτελεσμάτων στην κλινική πρακτική είναι γενικά αργή, προτείνεται ότι η αξιολόγηση της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A2 μπορεί να επιτρέψει τον εντοπισμό μιας υποομάδας ασθενών με N0, κερατινοποιημένο ή S100A2-αρνητικό πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα, οι οποίοι είναι πιο επιρρεπείς σε τοπική υποτροπή και συνεπώς απαιτούν την ανάλογη προσαρμογή της θεραπείας. Μπορεί να εξεταστεί μια επιθετική αρχική αντιμετώπιση αυτών των S100A2-αρνητικών όγκων, ώστε να αποφευχθεί η ελλιπής θεραπεία. Ωστόσο, στους S100A2-θετικούς όγκους θα μπορούσε να εξεταστεί μια πολύ λιγότερο επιθετική θεραπεία. Τέλος, τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν ότι η έκφραση της πρωτεΐνης S100A2 στο πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα μπορεί να χρησιμεύσει ως προγνωστικός δείκτης (Libero Lauriola, 2000).

10.4. Η διαγνωστική σημασία των πρωτεϊνών S100A2 και S100A6 στους ορούς ασθενών με μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα

Η διάγνωση του καρκίνου του πνεύμονα βασίζεται συχνά σε μεγάλο βαθμό σε βιοχημικούς δείκτες. Ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (*Non-Small Cell Lung Cancer* ή *NSCLC*) και οι πρωτεΐνες δέσμωσης ασβεστίου S100A2 και S100A6 έχουν συνδεθεί σε πρόσφατες μελέτες, αλλά η σκοπιμότητα των επιπέδων τους στον ορό ασθενών με *NSCLC* δεν έχει ακόμη τεκμηριωθεί. Οι ερευνητές Ting Wang et al, πραγματοποίησαν μια μελέτη και αξιολόγησαν κατά πόσο υπάρχει δυνατότητα τα επίπεδα των πρωτεϊνών S100A2 και S100A6 στον ορό να χρησιμεύσουν ως διαγνωστικοί δείκτες του *NSCLC* (Ting Wang, 2015).

Η συγκεκριμένη έρευνα αφορούσε 141 ασθενείς με *NSCLC* και 150 υγιή άτομα, στους οποίους μετρήθηκαν τα επίπεδα των πρωτεϊνών S100A2 και S100A6 με τη χρήση ενζυμικά συνδεδεμένης ανοσοπροσοροφητικής ανάλυσης (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* ή *ELISA*). Τα αποτελέσματα αυτής της μεθόδου έδειξαν ότι, σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, οι ασθενείς με *NSCLC* είχαν μεγαλύτερα επίπεδα των δύο πρωτεϊνών στον ορό. Επιπλέον, τα επίπεδα των S100A2 και S100A6 ήταν μεγαλύτερα στους ορούς των ασθενών με *NSCLC* σταδίου I/II σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες. Η έρευνα των λειτουργικών χαρακτηριστικών δέκτη (*Receiver Operating Characteristic* ή *ROC*) έδειξε ότι τόσο η πρωτεΐνη S100A2 όσο και η S100A6 ήταν ικανές να διακρίνουν τους ασθενείς με *NSCLC* από τους υγιείς μάρτυρες. Εν τω μεταξύ, αυτές οι δύο πρωτεΐνες έδειξαν σημαντική ικανότητα διάκρισης του *NSCLC* σταδίου I/II από τους υγιείς μάρτυρες ελέγχου (Ting Wang, 2015).

Επομένως, σύμφωνα με τα παραπάνω ευρήματα, το πρώιμο στάδιο του *NSCLC* έχει σημαντικά αυξημένα επίπεδα S100A2 και S100A6 στον ορό, τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βιοδείκτες για τον συγκεκριμένο τύπο καρκίνου. Ωστόσο, οι συγγραφείς αναφέρουν ότι τα δεδομένα αυτά θα πρέπει να επικυρωθούν από πρόσθετες μελέτες με τη χρήση μεγαλύτερων πληθυσμών δείγματος (Ting Wang, 2015).

10.5. Το υποψήφιο ογκοκατασταλτικό γονίδιο S100A2 στον καρκίνο του μαστού

Είναι ευρέως διαδεδομένο ότι η πρωτεΐνη S100A2 εκφράζεται στον φυσιολογικό ιστό του μαστού. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί μια μείωση της έκφρασης της κατά τη διάρκεια εξέλιξης του καρκίνου του μαστού. Ως εκ τούτου, είχε προηγουμένως αναγνωριστεί ως υποψήφιο ογκοκατασταλτικό γονίδιο. Στην παρούσα έκθεση, αναλύεται η πορεία της έρευνας των Roland Wicki et al, οι οποίοι διερεύνησαν την μοριακή βάση της έκφρασης του γονιδίου S100A2 σε φυσιολογικά και καρκινικά επιθηλιακά κύτταρα του ανθρώπινου μαστού (Roland Wicki, 1997).

Αρχικά, οι ερευνητές κλωνοποίησαν το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S100A2, συμπεριλαμβανομένης της 5' συνοδευτικής περιοχής του. Για τον εντοπισμό θετικά ή αρνητικά δρώντων στοιχείων, υπεύθυνα για τη μεταγραφική ρύθμιση, πραγματοποιήθηκαν μελέτες διαγραφής υποκινητή. Τα αποτελέσματα από αυτές τις πειραματικές διεργασίες καταδεικνύουν ότι ένα ενισχυτικό στοιχείο βρίσκεται 1,2 kb ανάντη της θέσης έναρξης της μεταγραφής. Αυτό το στοιχείο, περιέχει δύο θέσεις

πρόσδεσης τύπου AP-1, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μεταγραφική ενεργοποίηση του γονιδίου S100A2 μπορεί να διαμεσολαβείται από άμεσα πρώιμα γονίδια (Roland Wicki, 1997).

Είναι επίσης ενδιαφέρον ότι ο ενισχυτής διεγείρει τη μεταγραφή τόσο σε φυσιολογικά όσο και σε καρκινικά κύτταρα, υποδεικνύοντας έτσι ότι η καταστολή της ενδογενούς μεταγραφής του γονιδίου S100A2 σε καρκινικά κύτταρα μπορεί να βρίσκεται σε επιγενετικό επίπεδο. Πράγματι, η εγγύς περιοχή του υποκινητή βρέθηκε, με γονιδιωματική αλληλούχιση, να μην είναι μεθυλιωμένη σε φυσιολογικά κύτταρα, αλλά υπερμεθυλιωμένη σε καρκινικά κύτταρα. Η υπερμεθυλίωση του υποκινητή στις ίδιες περιοχές CpG βρέθηκε επίσης σε μια βιοψία καρκίνου του μαστού. Επιπλέον, η μεθυλίωση ειδικών θέσεων *in vitro* οδήγησε σε μειωμένη έκφραση του γονιδίου S100A2 σε φυσιολογικά κύτταρα (Roland Wicki, 1997).

Αυτά τα πειράματα παρέχουν ισχυρές ενδείξεις ότι η καταστολή του γονιδίου S100A2 στα καρκινικά κύτταρα διαμεσολαβείται από την τοποθεσία-ειδική μεθυλίωση. Δεδομένου ότι η μεταγραφή πολλών γνωστών ογκοκατασταλτικών γονιδίων καταστέλλεται επίσης από την μεθυλίωση, η παρατήρησή μας είναι συνεπής με την πρόταση ότι το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S100A2 μπορεί να έχει μια ογκοκατασταλτική λειτουργία (Roland Wicki, 1997).

10.6. Η διαφορική έκφραση των πρωτεϊνών S100 στα πιλοκυτταρικά αστροκυττώματα, τα αστροκυττώματα, τα αναπλαστικά αστροκυττώματα και τα γλοιοβλαστώματα

Σε μια έρευνα που πραγματοποιήθηκε από τους Isabelle Camby et al, τα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών S100A1, S100A2, S100A3, S100A4, S100A5, S100A6 και S100B προσδιορίστηκαν ανοσοϊστοχημικά και ποσοτικά σε μια σειρά 95 αστροκυτταρικών όγκων, εκ των οποίων, οι 26 περιπτώσεις ήταν βαθμού I (πιλοκυτταρικά αστροκυττώματα, *pilocytic astrocytomas*), οι 23 περιπτώσεις βαθμού II (αστροκυττώματα, *astrocytomas*), οι 25 περιπτώσεις βαθμού III (αναπλαστικά αστροκυττώματα, *anaplastic astrocytomas*, υψηλός βαθμός κακοήθειας) και οι 21 περιπτώσεις βαθμού IV (γλοιοβλαστώματα, *glioblastomas* οι πιο συχνοί πρωτοπαθείς όγκοι εγκεφάλου) (Isabelle Camby, 1999).

Το επίπεδο της ανοσοϊστοχημικής έκφρασης των πρωτεϊνών S100 προσδιορίστηκε ποσοτικά στον ιστό του συμπαγούς όγκου (μάζα όγκου). Επιπλέον, είκοσι τοιχώματα αιμοφόρων αγγείων και τα αντίστοιχα περιαγγειακά αστροκύτταρα του όγκου

εξετάστηκαν επίσης ανοσοϊστοχημικά για 10 περιπτώσεις που επιλέχθηκαν τυχαία από κάθε μία από τις τέσσερις ιστοπαθολογικές ομάδες (Isabelle Camby, 1999).

Τα δεδομένα έδειξαν τροποποιήσεις στο επίπεδο έκφρασης της πρωτεΐνης S100A3- οι τροποποιήσεις αυτές ταυτοποίησαν σαφώς τα πιλοκυτταρικά αστροκύτταρα από τους αστροκυτταρικούς όγκους βαθμού II-IV, ως ξεχωριστή βιολογική ομάδα. Οι τροποποιήσεις στο επίπεδο έκφρασης της πρωτεΐνης S100A6 επέτρεψαν τη σαφή διάκριση μεταξύ αστροκυτταρικών όγκων χαμηλού (I και II) και υψηλού (III και IV) βαθμού. Πολύ σημαντικές τροποποιήσεις σημειώθηκαν και στο επίπεδο έκφρασης της πρωτεΐνης S100A1 (και, σε μικρότερο βαθμό, στις πρωτεΐνες S100A4 και S100B) σε σχέση με τα αυξανόμενα επίπεδα κακοήθειας. Ενώ η πρωτεΐνη S100A5 εκφράστηκε σημαντικά σε όλους τους αστροκυτταρικούς όγκους (αλλά χωρίς σημαντικές τροποποιήσεις ως προς τα επίπεδα κακοήθειας), η πρωτεΐνη S100A2 δεν εκφράστηκε ποτέ σε αυτούς τους όγκους (Isabelle Camby, 1999).

Σύμφωνα με μια παρόμοια μελέτη των I. Camby *et al*, το επίπεδο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (προσδιοριζόμενο με τη βοήθεια τόσο του αντιπυρηνικού αντιγόνου των πολλαπλασιαζόμενων κυττάρων όσο και των αντισωμάτων κατά του *MIB-1*) διέφερε πολύ σημαντικά μεταξύ των αστροκυττωμάτων και των αναπλαστικών αστροκυττωμάτων, αλλά όχι μεταξύ των τυπικών και των άτυπων παραλλαγών που εντοπίστηκαν σε κάθε ομάδα. Σε πλήρη αντίθεση, τα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών S100A3 και S100A5 διέφεραν σημαντικά στον ιστό των συμπαγών όγκων σε σχέση με τους τύπους και τις βαθμίδες των αστροκυτταρικών όγκων. Επιπλέον, ενώ τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης S100A6 δεν άλλαξαν στον ιστό του αστροκυτταρικού όγκου σε σχέση με τον ιστοπαθολογικό βαθμό, τα επίπεδα έκφρασης αυτής της πρωτεΐνης S100 (αλλά όχι εκείνα των S100A3 και S100A5) διέφεραν σημαντικά στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων ανάλογα με το αν τα αγγεία αυτά προέρχονταν από χαμηλού ή υψηλού βαθμού αστροκυτταρικούς όγκους (I. Camby, 2008).

Σύμφωνα με τις έρευνες αυτές, επομένως, αποδεικνύεται ότι διάφορες πρωτεΐνες S100 διαδραματίζουν σημαντικό βιολογικό ρόλο στους ανθρώπινους αστροκυτταρικούς όγκους (Isabelle Camby, 1999).

10.7. Ο ρόλος της πρωτεΐνης S100A3 στο ανθρώπινο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα

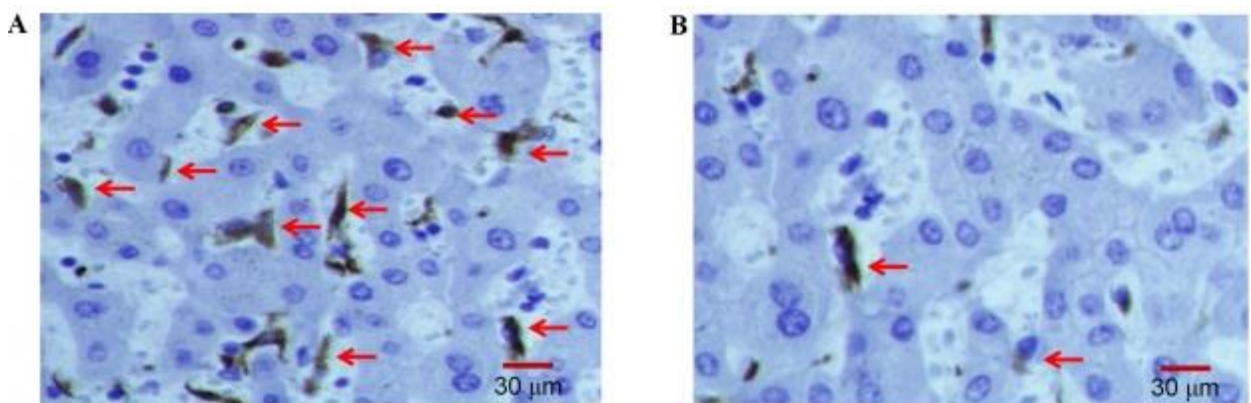
Το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα (*HepatoCellular Carcinoma* ή *HCC*), το οποίο έχει ετήσιο ποσοστό θνησιμότητας περίπου 80.000 ατόμων, είναι ο πέμπτος πιο διαδεδομένος καρκίνος στον κόσμο. Μολονότι οι χειρουργικές διαδικασίες για το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, όπως η ηπατική εκτομή και η μεταμόσχευση ήπατος, έχουν προοδεύσει και τα αποτελέσματα των ασθενών έχουν βελτιωθεί, αυτό εξακολουθεί να χαρακτηρίζεται από συχνή υποτροπή, ακόμη και μετά τη μεταμόσχευση ήπατος (Ran Tao, 2017).

Η σημασία της πρωτεΐνης S100A3 ως βιοδείκτη για την εξέλιξη του όγκου έχει αναγνωριστεί τα τελευταία δέκα χρόνια, ωστόσο είναι άγνωστο αν η ίδια παίζει ρόλο στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα ή αν μπορεί να ανασταλεί με φαρμακευτική αγωγή. Κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου, περισσότερα χημειοθεραπευτικά φάρμακα και στοχευμένες θεραπείες έχουν προστεθεί στις μεθόδους αντιμετώπισης του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Ran Tao, 2017).

Κατά την διάρκεια της έρευνας που πραγματοποίησαν οι Ran Tao *et al*, παρατηρήθηκε η έκφραση του γονιδίου που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη S100A3, σε ένα σύνολο 62 ιστών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και ιστών που περιβάλλουν τον όγκο αυτό. Τα αποτελέσματα της έρευνας αυτής, υπέδειξαν ότι η καρκινογένεση και η επιθετικότητα του όγκου επηρεάζονται από την ενεργοποίηση της πρωτεΐνης S100A3 (Εικόνα 27). Συγκεκριμένα, με την χρήση της ανοσοαποτύπωσης κηλίδας (*western blotting*) και της αντίστροφης μεταγραφής-ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (*Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction* ή *RT-qPCR*) διερευνήθηκαν τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης S100A3 και του mRNA αυτής, στην ανθρώπινη κυτταρική σειρά ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (*HepG2*). Η κυτταρική σειρά *HepG2* είναι μια ειδική ανθρώπινη κυτταρική σειρά ηπατοκυτταρικού καρκινώματος που έχει χρησιμοποιηθεί συχνά για μελέτες μηχανισμών *in vitro* (Ran Tao, 2017).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ακόμη ότι, η πρωτεΐνη S100A3 εκφράστηκε στο κυτταρόπλασμα των ιστών με ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και των παρακείμενων μη ογκωδών ιστών των ασθενών με που πάσχουν από ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα. Η έκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης, αυξήθηκε, ακόμη, σημαντικά στους ιστούς του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος, με την έκφραση να ανιχνεύεται κυρίως στις περιοχές του όγκου. Το μέσο ποσοστό της εμφάνισης της πρωτεΐνης S100A3 στους παρακείμενους μη

ογκολογικούς ιστούς και στους ιστούς του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος ήταν 8% και 22%, αντίστοιχα. Ακόμη, υπήρξε σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων S100A3 mRNA στο ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα και στους παρακείμενους μη ογκώδεις ιστούς. Τα αποτελέσματα αυτά φάνηκε να είναι σύμφωνα με τα ευρήματα της ανοσοϊστοχημικής χρώσης. Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη έδειξε ότι το S100A3 έχει σημαντικό ρόλο στην εμφάνιση και την ανάπτυξη του ανθρώπινου ηπατοκυτταρικού καρκινώματος (Ran Tao, 2017).



Εικόνα 27. Έκφραση της πρωτεΐνης S100A3 σε ανθρώπινους ιστούς ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και κύτταρα *HepG2*. Ανοσοϊστοχημική χρώση της πρωτεΐνης S100A3 σε (A) ανθρώπινους ιστούς ηπατοκυτταρικού καρκινώματος και (B) παρακείμενους μη ογκολογικούς ιστούς. Τα κόκκινα βέλη υποδεικνύουν τα κύτταρα που εκφράζουν την πρωτεΐνη S100A3 (Ran Tao, 2017).

10.8. Οι πρωτεΐνες S100 στον καρκίνο του στομάχου

Ο καρκίνος του στομάχου είναι η δεύτερη κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως και η ανάπτυξή του επηρεάζεται τόσο από περιβαλλοντικούς όσο και από κληρονομικούς παράγοντες. Η εύρεση των γονιδίων που ευθύνονται για την εμφάνιση του καρκίνου του στομάχου έχει προχωρήσει σημαντικά τα τελευταία 20 χρόνια. Αυτά τα γονίδια που ανακαλύφθηκαν βοηθούν στον καθορισμό των μοριακών χαρακτηριστικών του συγκεκριμένου καρκίνου, αλλά και στην κατανόηση της παθογένειάς του. Μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως στόχοι για τη θεραπευτική ανάπτυξη και ως βιοδείκτες για την έγκαιρη διάγνωση (Ji Liu, 2008).

Η *in silico* (με τη χρήση προσομοίωσης ή μοντελοποίησης σε υπολογιστή) έρευνα των Ji Liu *et al*, αποκάλυψε ότι τουλάχιστον 5 γονίδια S100 είναι αυξημένα στον καρκίνο του στομάχου. Μεταξύ αυτών, σε τέσσερα συγκεκριμένα γονίδια - S100A2, S100A4,

S100A7 και S100A10 - είχε και προηγουμένως αναγνωριστεί η αυξημένη έκφραση τους στον καρκίνο του στομάχου. Οι συγκεκριμένοι επιστήμονες, διερεύνησαν συστηματικά την έκφραση των μελών της οικογένειας S100 στους ιστούς του γαστρικού καρκίνου συνδυάζοντας την ανάλυση των δεδομένων *SAGE (Serial Analysis of Gene Expression)*, μετρά τον αριθμό των ετικετών που αντιπροσωπεύουν τα μεταγραφικά προϊόντα ενός γονιδίου), εικονικής *Northern blot* και μικροσυστοιχιών (Ji Liu, 2008).

Έτσι, στην έρευνα αυτή, μελετήθηκαν περαιτέρω ογκόνοτα ασθενείς με γαστρικό καρκίνο σε ότι αφορά στην έκφραση της πρωτεΐνης S100A3. Τα ευρήματα έδειξαν ότι τα μέσα επίπεδα έκφρασης της συγκεκριμένης πρωτεΐνης στους ιστούς του γαστρικού καρκίνου ήταν δύομιση φορές υψηλότερα σε σχέση με τους γύρω φυσιολογικούς ιστούς. Η έκφραση της πρωτεΐνης S100A3, η οποία ήταν αρκετά εκφρασμένη σε ιστούς φτωχά διαφοροποιημένου και προχωρημένου γαστρικού καρκίνου, συνδέθηκε με τη διαφοροποίηση του όγκου και το στάδιο *TNM (Tumor Node Metastasis ή Κόμβος Όγκου-Μετάστασης)* του γαστρικού καρκίνου (Ji Liu, 2008).

Η προκειμένη έρευνα αποτελεί την πρώτη αναφορά μιας πολλαπλής *in silico* αξιολόγησης των εκφράσεων του γονιδίου S100 σε κακοήθειες του στομάχου. Σύμφωνα με τα ευρήματα, οι κακοήθειες του στομάχου παρουσίασαν υπερέκφραση των μελών της οικογένειας γονιδίων S100, ενώ φάνηκε ακόμη ότι η πρωτεΐνη S100A3 μπορεί να έχει σημαντικό αντίκτυπο στη διαφοροποίηση και την ανάπτυξη του γαστρικού καρκίνου (Ji Liu, 2008).

10.9. Η πρωτεΐνη S100A4 στον καρκίνο του στομάχου, του παχέος εντέρου και του ορθού
Οι καρκίνοι του γαστρεντερικού σωλήνα, συμπεριλαμβανομένων των καρκίνων του παχέος εντέρου, του ορθού και του στομάχου, είναι μεταξύ εκείνων με τα υψηλότερα ποσοστά εμφάνισης και θανάτων παγκοσμίως. Περίπου το 90% όλων των θανάτων που σχετίζονται με τον καρκίνο οφείλονται στη μεταστατική εξάπλωση των αρχικών όγκων. Με τη χρήση της συνήθους κλινικής, ιστοπαθολογικής/ανοσοϊστοχημικής εξέτασης, τα πρωτοπαθή καρκινώματα του παχέος εντέρου δεν μπορούν επί του παρόντος να διακριθούν αποτελεσματικά όσον αφορά τους δείκτες κλινικής έκβασης, όπως η τοπική υποτροπή και η μετάσταση (Ulrike Stein, 2011).

Η ικανότητα του γονιδίου S100A4 να προάγει τη μετάσταση έχει αναγνωριστεί εδώ και πολύ καιρό (Ulrike Stein, 2011). Επί του παρόντος, η πρωτεΐνη S100A4

κατηγοριοποιείται ως ένας βασικός παράγοντας που προάγει τη μετάσταση, του οποίου η παραγωγή και η έκκριση από «ενεργοποιημένα» στρωματικά κύτταρα (ινοβλάστες, ανοσοκύτταρα και αγγειακά κύτταρα) ξεκινά και διεγείρεται από σήματα που προέρχονται από τα καρκινικά κύτταρα (κυτταροκίνες, αυξητικοί παράγοντες και άλλα) (Mariam Grigorian, 2008). Η χαμηλή επιβίωση των ασθενών συσχετίζεται με υψηλά επίπεδα πρωτεΐνης S100A4 στον πρωτοπαθή όγκο, τα οποία είναι προγνωστικά για μεταχρονολογημένη μετάσταση (Ulrike Stein, 2011). Οι ερευνητές Ulrike Stein *et al*, πραγματοποίησαν για πρώτη φορά μια δοκιμασία πλάσματος για τον ποσοτικό προσδιορισμό της πρωτεΐνης S100A4 στο πλάσμα ασθενών με γαστρεντερικές διαταραχές (Ulrike Stein, 2011).

Για την συγκεκριμένη μελέτη, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν 466 δείγματα πλάσματος από ασθενείς με καρκίνο του στομάχου, του παχέος εντέρου και του ορθού, με σκοπό τον προσδιορισμό της διαγνωστικής και προγνωστικής χρησιμότητας της πρωτεΐνης S100A4. Κατά την διάρκεια της μελέτης, έγινε αρχικά διαχωρισμός του πλάσματος, εκχύλιση του mRNA του γονιδίου S100A4 και ταυτοποίηση αυτού, με τη χρήση *αντίστροφης μεταγραφής-ποσοτικής αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Reverse Transcription-quantitative Polymerase Chain Reaction ή RT-qPCR)*. Τα επίπεδα του mRNA S100A4 ήταν υψηλότερα σε ασθενείς με καρκίνο όλων των οντοτήτων και όλων των σταδίων της νόσου, σε σύγκριση με δείγματα χωρίς καρκίνο (για τους ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου, του ορθού και του στομάχου, οι ειδικότητα βρέθηκε να είναι ίση με 59%, 82% και 71%, αντίστοιχα). Ακόμη, οι προοπτικά αναλυμένοι ασθενείς παρακολούθησης που εμφάνισαν αργότερα μετάσταση παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα mRNA S100A4 από τους ασθενείς παρακολούθησης χωρίς μετάσταση, ενώ η επιβίωση χωρίς νόσο ήταν μειωμένη σε ασθενείς με καρκίνο του παχέος εντέρου με υψηλή έκφραση S100A4.

Συνοψίζοντας, οι συγκεκριμένοι ερευνητές ανέπτυξαν μια μέθοδο για τον ποσοτικό προσδιορισμό του mRNA S100A4 στο πλάσμα που επιτρέπει την κλινική εφαρμογή ρουτίνας και έδειξαν ότι η τεχνική αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έγκαιρο προσδιορισμό της σταδιοποίησης του καρκίνου και του κινδύνου μετάστασης στους ασθενείς (Ulrike Stein, 2011).

Μετέπειτα έρευνες έδειξαν ακόμη ότι η πρωτεΐνη S100A4 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό σε καλλιεργημένα κύτταρα που διεγείρονται από την ανάπτυξη, σε μεταστατικές

κυτταρικές σειρές όγκων, αλλά και σε κύτταρα που αντιπροσωπεύουν μορφογενετική μετάβαση από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό φαινότυπο. Τα επίπεδα έκφρασης της συγκεκριμένης πρωτεΐνης αναφέρεται ότι ρυθμίζονται θετικά κατά τη διάρκεια μετασχηματισμού του όγκου. Αυτό σημαίνει ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A4 είναι αυξημένα σε ασθενείς με καρκίνο. Περαιτέρω, η εξέταση δειγμάτων βιοψίας και δειγμάτων όγκου ασθενών με καρκίνο έχει δείξει ότι οι κακοήθεις ιστοί εκφράζουν μεγαλύτερο επίπεδο πρωτεΐνης S100A4 από ότι οι παρακείμενοι φυσιολογικοί ιστοί (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

Μια πρόσφατη έρευνα σε ασθενείς με γαστρικό καρκίνο αποκάλυψε ότι η έκφραση της πρωτεΐνης S100A4 είναι πολύ υψηλότερη σε περιοχές λεμφαδενικών και περιτοναϊκών μεταστάσεων σε σχέση με τους ιστούς του όγκου. Η μελέτη αυτή καταδεικνύει ότι τα επίπεδα έκφρασης του αγγελιοφόρου RNA (mRNA) και της πρωτεΐνης S100A4, που αντιστοιχούν στον φυσιολογικό γαστρικό βλεννογόνο, στους λεμφαδένες και στις περιτοναϊκές μεταστάσεις μεταξύ των ασθενών με γαστρικό καρκίνο ποικίλλουν σημαντικά. Ακόμη, έχει αποδειχθεί ότι το 55% των ασθενών με γαστρικό καρκίνο έχουν υψηλότερα επίπεδα S100A4, τα οποία έχουν συνδεθεί θετικά με υψηλή συχνότητα μετάστασης, ενώ οι ασθενείς με μειωμένη έκφραση του S100A4 έχουν λιγότερες μεταστατικές βλάβες. Το 51-93% των ατόμων με καρκίνο του παγκρέατος, σύμφωνα με μελέτες, έχουν υψηλότερα επίπεδα πρωτεΐνης S100A4 (Shrawan Kumar Mishra, 2012). Σε μια μελέτη που διεξήχθη σε ασθενείς που έπασχαν από αδενοκαρκίνωμα παγκρεατικού πόρου, 57 ασθενείς από τους 61 παρουσίασαν αυξημένα επίπεδα έκφρασης πρωτεΐνης S100A4. Παρομοίως, σε μια άλλη μελέτη πρωτοπαθούς καρκίνου του παγκρέατος, 56 (από 72) δείγματα όγκου βρέθηκαν ότι εκφράζουν την συγκεκριμένη πρωτεΐνη (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

Ακόμη, υπάρχουν αναφορές σχετικά με την υπερέκφραση της πρωτεΐνης S100A4 σε προχωρημένο στάδιο του καρκινώματος του θυρεοειδούς, η οποία σχετίζεται με την κακή πρόγνωση. Οι ασθενείς με καρκίνωμα του θυρεοειδούς (62-86%) έχουν δείξει θετική συσχέτιση της έκφρασης του S100A4 και της εξέλιξης της νόσου. Για τον λόγο αυτό, διερευνήθηκε η κατάσταση της πρωτεΐνης S100A4 στην παθογένεια του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του στόματος (*Squamous Cell Carcinoma* ή SCC). Η μελέτη αυτή περιελάμβανε την αξιολόγηση κλινικών δειγμάτων για 41 ασθενείς με SCC. Η έκφραση της S100A4 βρέθηκε να είναι αυξημένη στο 27% των περιπτώσεων. Μια ακόμη

έρευνα αναφέρει ότι η αυξημένη έκφραση της S100A4 στον μη μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (NSCLC) σχετίζεται θετικά με το μέγεθος του όγκου, τη λεμφαδενική μετάσταση και το στάδιο TNM, γεγονός που υποδηλώνει σημαντικό ρόλο αυτής της πρωτεΐνης στην ανάπτυξη και τη μετάσταση του συγκεκριμένου καρκίνου (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

Μερικά από τα πρώτα παραδείγματα συσχέτισης της πρωτεΐνης S100A4 με το ποσοστό επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνο έγιναν σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Η διάμεση επιβίωση της ομάδας αρνητική στην πρωτεΐνη S100A4 ήταν 228 μήνες σε σύγκριση με 47 μήνες για την ομάδα θετική στην S100A4. Σε μια άλλη μελέτη, η έκφραση της πρωτεΐνης S100A4 αναφέρεται ως δείκτη κακής πρόγνωσης στον καρκίνο του μαστού, υποδεικνύοντας έτσι ότι η έκφραση της S100A4 θα μπορούσε να αποτελέσει έναν πρώιμο δείκτη μεταστατικής εξέλιξης σε ασθενείς με καρκίνο του μαστού (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

Επιπλέον, καταγράφηκε χαμηλό ποσοστό επιβίωσης σε ασθενείς με καρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου με υψηλά επίπεδα έκφρασης S100A4 σε σύγκριση με ασθενείς με χαμηλή έκφραση S100A4. Ο διάμεσος χρόνος επιβίωσης των ασθενών με υψηλή και χαμηλή έκφραση S100A4 αναφέρθηκε ότι ήταν 12 και 23 μήνες αντίστοιχα (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

10.10. Η πρωτεΐνη S100A4 ως ένας πιθανός στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου

Οι προσπάθειες που έχουν γίνει μέχρι τώρα και χρησιμοποιούν την πρωτεΐνη S100A4 ως στόχο για αντικαρκινική θεραπεία επικεντρώνονται κυρίως στην αναστολή/καταστολή της έκφρασης της πρωτεΐνης αυτής (Shrawan Kumar Mishra, 2012). Οι μέθοδοι που δοκιμάστηκαν περιλαμβάνουν την αποσιώπηση των γονιδίων S100A4 με τη μεσολάβση του *siRNA* (*siRNA-mediated gene silencing*), την αρνητική ρύθμιση της πρωτεΐνης S100A4 μέσω ριβοζύμων (*ribozyme-driven S100A4 downregulation*), την έκθεση καρκινικών κυττάρων σε υπερθερμικές συνθήκες και την επιγενετική αποσιώπηση με τη χρήση τροποποιημένης μεθυλίωσης της πρωτεΐνης S100A4 (*epigenetic silencing using altered methylation of S100A4*) (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

Σε μια έρευνα τους, οι G. M. Maelandsmo *et al*, κατάφεραν να καταστείλουν τα επίπεδα της πρωτεΐνης S100A4 κατευθύνοντας ειδικά ριβόζυμα (είδη καταλυτικού RNA, δηλαδή RNA που καταλύει μια χημική αντίδραση) hammerhead (hammerhead ribozymes)

κατά του mRNA S100A4. Κατά την έγχυση σε ποντίκια, το ριβόζυμο S100A4 φάνηκε ότι μειώνει σημαντικά τη μετάσταση (G. M. Maelandsmo, 1996).

Μια ακόμη μελέτη των Antonio Basile *et al*, έδειξε ότι το επίπεδο έκφρασης της πρωτεΐνης S100A4 μειώνεται από την υπερθερμία. Μάλιστα, οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η υπερθερμία αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και επάγει την απόπτωση (Antonio Basile, 2008).

Μια σχετικά πρόσφατη μελέτη δείχνει ότι οι αναστολείς της *μεθυλοτρανσφεράσης* (5'-aza-2'- δεοξυκυτιδίνη, 5'-aza-2'- deoxycytidine) μεταβάλλουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A4 σε κύτταρα που εμφανίζουν λευχαιμία μεταβάλλοντας την κατάσταση μεθυλίωσης της συγκεκριμένης πρωτεΐνης και μειώνοντας έτσι τη μεταστατική ισχύ των κυττάρων (J. C. Lindsey, 2007).

Συμπερασματικά, η στοχευμένη αναστολή της πρωτεΐνης S100A4 με την υιοθέτηση γονιδιακής θεραπευτικής προσέγγισης φαίνεται πως έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της διεισδυτικής ικανότητας και του καρκινικού δυναμικού των καρκινικών κυττάρων. Διάφορα ερευνητικά κέντρα παγκοσμίως, έχουν ξεκινήσει ένα ευρύ πρόγραμμα με στόχο την αξιολόγηση των δυνατοτήτων και της χρησιμότητας της πρωτεΐνης S100A4 ως μοριακό στόχο για τις ανθρώπινες ασθένειες .

Η ερευνητική ομάδα του Shrawan Kumar Mishra *et al*, κατάφερε να αναπτύξει ειδικούς αναστολείς μικρών μορίων της πρωτεΐνης S100A4 και τους δοκίμασαν σε συνθήκες *in vitro* και *in vivo*. Οι αναστολείς αυτοί, παρατηρήθηκε ότι αναστέλλουν το καρκινικό και μεταστατικό δυναμικό των καρκινικών κυττάρων του προστάτη, του παγκρέατος και του δέρματος *in vitro* και σε σχετικά ζωικά μοντέλα. Συνολικά, οι μελέτες αυτές δείχνουν ότι η πρωτεΐνη S100A4 έχει τη δυνατότητα να εξελιχθεί ως **αντικαρκινικός φαρμακευτικός στόχος** και μόρια που στοχεύουν αποτελεσματικά στην έκφρασή του μπορούν να λειτουργήσουν ως μελλοντικά αντικαρκινικά φάρμακα (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

Ο σημαντικός αυτός αριθμός πειραμάτων που έχουν διεξαχθεί τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχει αποδείξει ότι η πρωτεΐνη S100A4 είναι βασικός παράγοντας στη μετάσταση του καρκίνου. Έχουν προκύψει στοιχεία που υποδεικνύουν τον σημαντικό ρόλο της πρωτεΐνης αυτής στα κρίσιμα στάδια του μεταστατικού καταρράκτη, συμπεριλαμβανομένης της μετανάστευσης, της διεισδυτικότητας και της αγγειογένεσης. Παρόλο που περιγράφονται διάφοροι στόχοι της πρωτεΐνης S100A4 τόσο ενδοκυτταρικά

όσο και εξωκυτταρικά, μένει να προσδιοριστεί πώς αυτές οι αλληλεπιδράσεις επηρεάζουν τη λειτουργία των εταίρων πρόσδεσης και αν αυτές οι αλληλεπιδράσεις είναι πράγματι σχετικές με τον μεταστατικό φαινότυπο. Η διεξοδικότερη ταυτοποίηση και ο χαρακτηρισμός των μοριακών μηχανισμών με τους οποίους η συγκεκριμένη πρωτεΐνη ρυθμίζει τους επιδραστικούς του παράγοντες θα παράσχει τη βιοχημική βάση για την κατανόηση της συμβολής της στις φυσιολογικές και μεταστατικές διαδικασίες και θα προσφέρει σημαντικές νέες γνώσεις σχετικά με τη μοριακή βάση της διεισδυτικής συμπεριφοράς των καρκινικών κυττάρων. Πολλοί ερευνητές πιστεύουν ακράδαντα ότι αυτή η μεγαλύτερη κατανόηση θα οδηγήσει ιδανικά στη χρήση της πρωτεΐνης S100A4 όχι μόνο ως διαγνωστικού και προγνωστικού δείκτη αλλά και ως στόχου για τον σχεδιασμό θεραπευτικών μεθόδων (Shrawan Kumar Mishra, 2012).

10.11. Ο ρόλος της πρωτεΐνης S100A7 στον καρκίνο των οστών (οστεοσάρκωμα)

Ο συχνότερος κακοήθης όγκος των οστών στα παιδιά και τους εφήβους είναι το οστεοσάρκωμα. Παρά την εκτεταμένη έρευνα για νέες θεραπείες, η πρόγνωση για τους ασθενείς με μεταστάσεις εξακολουθεί να είναι πολύ δυσάρεστη. Πολλοί κακοήθεις καρκίνοι, συμπεριλαμβανομένου του οστεοσαρκώματος, παρουσιάζουν χαρακτηριστικά όπως ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και η μετάσταση, τα οποία διαμεσολαβούνται από τις πρωτεΐνες S100.

Στην έρευνα που πραγματοποίησαν οι Ken Kataoka *et al*, ανακάλυψαν ότι η πρωτεΐνη S100A7 μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως πιθανός υποψήφιος για την προώθηση της μετανάστευσης των κυττάρων του οστεοσαρκώματος. Η ψωριασίνη προήγαγε τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων του οστεοσαρκώματος, όπως εξετάστηκε *in vitro*. Μια ακόμη *in vitro pull-down* δοκιμασία αποκάλυψε τη σύνδεση της ανασυνδυασμένης πρωτεΐνης S100A7 με τον υποδοχέα για τα προηγμένα τελικά προϊόντα γλυκοποίησης (RAGE). Η δοκιμασία *pull-down* είναι μια *in vitro* μέθοδος που χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό μιας φυσικής αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο ή περισσότερων πρωτεϊνών. Οι δοκιμασίες *pull-down* είναι χρήσιμες τόσο για την επιβεβαίωση της ύπαρξης μιας αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο πρωτεϊνών που προβλέπεται από άλλες ερευνητικές τεχνικές, όσο και ως αρχική δοκιμασία διαλογής για τον εντοπισμό προηγούμενων άγνωστων αλληλεπιδράσεων μεταξύ δύο πρωτεϊνών. Η μείωση της

ρύθμισης του υποδοχέα *RAGE* μέσω ενός ειδικού *siRNA* (*small interfering RNA*) κατέστειλε σημαντικά τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων του οστεοσαρκώματος.

Επιπλέον, η δραστηριότητα της μεταλλοπρωτεΐνάσης της μήτρας των κυττάρων του οστεοσαρκώματος φάνηκε να ενισχύεται από την πρωτεΐνη *S100A7* και να καταστέλλεται από την απορρύθμιση του υποδοχέα *RAGE*. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η πρωτεΐνη *S100A7* μπορεί και προάγει τη μετανάστευση και την εισβολή των κυττάρων του οστεοσαρκώματος μέσω του υποδοχέα *RAGE*. Συνεπώς, ο άξονας *S100A7-RAGE* μπορεί να αποτελέσει έναν νέο στόχο για την πρόληψη της εισβολής και/ή της μετάστασης του οστεοσαρκώματος (Ken Kataoka, 2011).

10.12. Η συσχέτιση της ψωριασίνης (*S100A7*) με την εξέλιξη του καρκίνου του παγκρέατος
Η ανώμαλη έκφραση της ψωριασίνης έχει ενοχοποιηθεί για μια σειρά καρκίνων και συχνά συνδέεται με κακή πρόγνωση. Η παρούσα μελέτη που πραγματοποιήθηκε από τους Ying Liu *et al*, εξέτασε το ρόλο της ψωριασίνης στις λειτουργίες των κυττάρων του καρκίνου του παγκρέατος και την εμπλοκή της στην εξέλιξη της νόσου (Ying Liu, 2017).

Η έκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης προσδιορίστηκε σε μια ομάδα παγκρεατικών ιστών που αποτελούνταν από 126 παγκρεατικούς όγκους και 114 παρακείμενους μη ογκώδεις παγκρεατικούς ιστούς. Η καταστολή και υπερέκφραση της ψωριασίνης σε καρκινικά κύτταρα του παγκρέατος πραγματοποιήθηκε με τη χρήση ειδικά κατασκευασμένων πλασμιδίων, τα οποία είτε είχαν ριβοζυμικό διαγονίδιο (γονίδιο που έχει μεταφερθεί φυσικά ή με οποιαδήποτε από μια σειρά τεχνικών γενετικής μηχανικής, από έναν οργανισμό στον άλλο) αντι-ψωριασίνης (*anti-psoriasin ribozyme transgene*) είτε την κωδική αλληλουχία της ανθρώπινης ψωριασίνης πλήρους μήκους. Η μείωση και η υπερέκφραση της ψωριασίνης επαληθεύτηκε με τη χρήση συμβατικών *RT-PCR* και *qPCR*. Η επίδραση της χειραγώγησης της έκφρασης της ψωριασίνης στις λειτουργίες των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας διάφορες δοκιμασίες κυτταρικής λειτουργίας *in vitro* (Ying Liu, 2017).

Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης έδειξαν ότι οι τοπικοί διηθητικοί παγκρεατικοί καρκίνοι που επεκτάθηκαν πέρα από το πάγκρεας εξέφραζαν υψηλότερα επίπεδα ψωριασίνης σε σύγκριση με τους καρκίνους που περιορίζονταν στο πάγκρεας. Ακόμη, οι πρωτογενείς όγκοι με απομακρυσμένες μεταστάσεις παρουσίασαν μειωμένη έκφραση της ψωριασίνης. Οι κυτταρικές σειρές που είχαν αυξημένη έκφραση της

συγκεκριμένης πρωτεΐνης παρουσίασαν σημαντικά αυξημένη ανάπτυξη και μετανάστευση σε σύγκριση με τα κύτταρα ελέγχου. Επιπλέον, η υπερέκφραση της ψωριασίνης είχε ως αποτέλεσμα αυξημένη διείσδυση των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος, η οποία σχετιζόταν με την αυξημένη ρύθμιση των μεταλλοπρωτεϊνών της μήτρας *MMP-2* και *MMP-9*. Τέλος, η υπερέκφραση της ψωριασίνης προώθησε επίσης τη συσσωμάτωση και την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος όταν έχασαν την αγκύρωσή τους.

Συνολικά, η υψηλότερη έκφραση της ψωριασίνης συσχετίστηκε με τοπική εισβολή στους καρκίνους του παγκρέατος. Με το πέρας της έρευνας έγινε αντιληπτό από τους επιστήμονες ότι η έκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης σχετίζεται με την ανάπτυξη των καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος, τη μετανάστευση, την προσκόλληση και την εισβολή μέσω της ρύθμισης των *MMPs*. Ως εκ τούτου, οι προτεινόμενες επιπτώσεις της ψωριασίνης στην εισβολή, την εξέλιξη της νόσου και ως δυνητικού θεραπευτικού στόχου χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης (Ying Liu, 2017).

10.13. Η πρωτεΐνη S100A7 στην θεραπεία του καρκίνου

Είναι ήδη γνωστό ότι τα κακοήθη και τα στρωματικά κύτταρα του όγκου συνεργάζονται μεταξύ τους για να εκκρίνουν έναν αριθμό αυξητικών παραγόντων και κυτταροκινών που προάγουν την ανάπτυξη του όγκου και την εξέλιξη της νόσου (L. Padilla, 2017). Η ευκαιρία για τη δημιουργία νέων θεραπευτικών προσεγγίσεων που δρουν όχι μόνο στα καρκινικά κύτταρα αλλά και στο στρώμα, έχει δημιουργηθεί με τον εντοπισμό και τη διαχείριση αυτών των κρίσιμων στοιχείων της συγκεκριμένης αλληλεπίδρασης (L. Padilla, 2017).

Η πρωτεΐνη S100A7 έχει προσελκύσει πρόσφατα την προσοχή μεταξύ αυτών των στοιχείων. Διάφορες μελέτες, μερικές εκ των οποίων αναλύθηκαν παραπάνω, έχουν αποδείξει ότι η έκφρασή της συσχετίζεται με την ενισχυμένη ανάπτυξη του όγκου, την αγγειογένεση και το μεταστατικό δυναμικό και διαδραματίζει σημαντικές λειτουργίες στην κινητικότητα των κυττάρων. Με μια νέα ενοποιητική κατανόηση του τρόπου δράσης της σε κάθε κυτταρικό διαμέρισμα, η έρευνα που διεξάχθηκε από τους L. Padilla *et al*, σκοπεύει να προωθήσει την κατανόηση του ρόλου που διαδραματίζει η εξωκυτταρική S100A7 στο μικροπεριβάλλον του όγκου (όγκος, ενδοθηλιακό, ανοσοποιητικό και ινοβλάστες) (L. Padilla, 2017).

Ως αποτέλεσμα, οι ερευνητές δημιούργησαν εξουδετερωτικά μονοκλωνικά αντισώματα υπό το πρίσμα της βαρύτητας της πρωτεΐνης S100A7 στην ανάπτυξη του καρκίνου, παρουσιάζοντας για πρώτη φορά την απόδειξη της έννοιας αυτής της πολλά υποσχόμενης θεραπευτικής προσέγγισης για τη θεραπεία του καρκίνου (L. Padilla, 2017).

10.14. Οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 στην διάγνωση του καρκίνου του δέρματος και της ουροδόχου κύστεως

Διάφορες έρευνες έχουν αποδείξει ότι οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 κωδικοποιούνται από δύο διαφορετικά γονίδια, τα οποία παρουσιάζουν σημαντική ρύθμιση στα όψιμα στάδια του καρκίνου του δέρματος, μετά από πειράματα που έχουν πραγματοποιηθεί στα ποντίκια και στον άνθρωπο (Εικόνα 28) (Christoffer Gebhardt, 2006).

Μαζί με τα ευρήματα σε γονιδιωματικά επίπεδα, διαπιστώθηκε αυξημένη έκφραση των πρωτεϊνών S100A8 και S100A9 στον καρκίνο του μαστού, του πνεύμονα, του στομάχου, του παχέος εντέρου, του παγκρέατος και του προστάτη, ενώ μειωμένη έκφραση αυτών εντοπίστηκε στα πλακώδη καρκινώματα του οισοφάγου. Επιπλέον, η τροποποιημένη έκφραση της πρωτεΐνης S100A9 σε καρκινώματα αδενικής κυτταρικής προέλευσης, όπως είναι αυτά του μαστού, του πνεύμονα και του θυρεοειδούς αδένα, συσχετίστηκε με κακή διαφοροποίηση του όγκου (Christoffer Gebhardt, 2006).

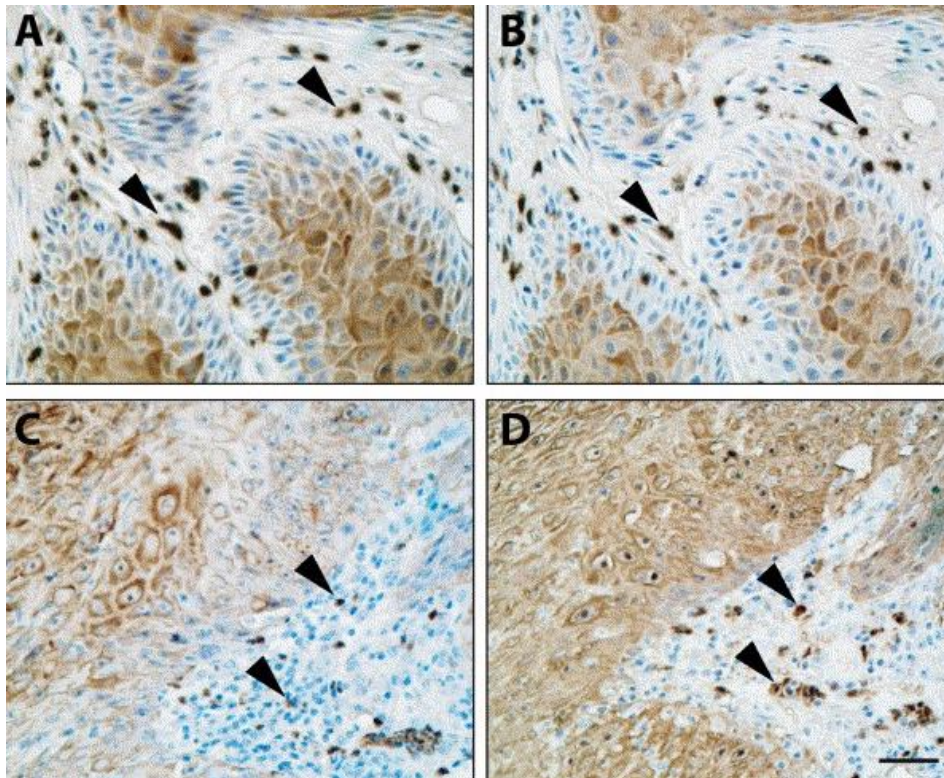
Επομένως, οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 έχουν ερευνηθεί εκτενώς σε πολυάριθμες μορφές καρκίνου, ωστόσο ελάχιστα είναι γνωστά για τη λειτουργία τους στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης. Στόχος των ερευνητών O. Yasar *et al*, ήταν να συγκρίνουν στα ούρα ασθενών με καρκίνο της ουροδόχου κύστης τον BTA (έναν καρκινικό δείκτη που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση του καρκίνου της ουροδόχου κύστης) με τα επίπεδα των πρωτεϊνών S100A8 και S100A9 στους ορούς αλλά και τα ούρα των ίδιων ασθενών (O. Yasar, 2017).

Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν δύο κύριες ομάδες:

- a. 82 ασθενείς με καρκίνο της ουροδόχου κύστης (σύμφωνα με το στάδιο και τον βαθμό του όγκου, η ομάδα των ασθενών χωρίστηκε και σε μικρότερες ομάδες) και
- b. 52 υγιείς μάρτυρες.

Με τη χρήση της τεχνικής *ELISA* που διατίθενται στο εμπόριο, αξιολογήθηκαν τα επίπεδα του δείκτη BTA στα ούρα, καθώς και τα επίπεδα των πρωτεϊνών S100A8 και

S100A9 στον ορό και τα ούρα, τόσο στους υγιείς μάρτυρες, όσο και στους ασθενείς. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ασθενείς είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα καλπροτεκτίνης (S100A8/S100A9) και BTA στον ορό και τα ούρα, σε σύγκριση με τους υγιείς μάρτυρες, ενώ τα επίπεδα S100A8 και S100A9 στον ορό δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των υγιών μαρτύρων και των ασθενών. Ακόμη, βρέθηκε ότι δεν υπήρχαν αξιοσημείωτες διαφορές στα επίπεδα καλπροτεκτίνης ορού ή BTA ούρων μεταξύ των διάφορων υποομάδων ασθενών, με εξαίρεση τους μυοδιηθητικούς όγκους (T2-T4), οι οποίοι σε σύγκριση με τα προηγούμενα στάδια, είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα καλπροτεκτίνης στα ούρα (O. Yasar, 2017).



Εικόνα 28. Οι εκφράσεις των S100A8 και S100A9 περιορίζονται σε διαφορετικά κυτταρικά διαμερίσματα των όγκων του δέρματος ποντικού και ανθρώπου. Αντιπροσωπευτικές εικόνες που δείχνουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A8 (εικόνες A και C) και S100A9 (εικόνες B και D) με την χρήση της ανοσοϊστοχημείας σε παράλληλες τομές ιστού θηλώματος ποντικού που προέρχεται από ένα μοντέλο χημικά επαγόμενης καρκινογένεσης του δέρματος (A και B) και τομές ιστού ανθρώπου που πάσχει από καρκίνο του δέρματος (C και D). Και οι δύο πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 εκφράζονται έντονα και συντονισμένα στα καρκινικά κύτταρα του διαφοροποιημένου διαμερίσματος και σε διακριτά στρωματικά κύτταρα (οι πρωτεΐνες τονίζονται με τα μαύρα βέλη) (Christoffer Gebhardt, 2006).

10.15 Οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9 στην διάγνωση νόσων και καρκίνου του εντέρου

Όταν υπάρχει υποψία συνδρόμου ευερέθιστου εντέρου ή φλεγμονώδους νόσου του εντέρου, υπάρχουν κατευθυντήριες γραμμές για τη χρήση της καλπροτεκτίνης (S100A8/S100A9) των κοπράνων (*Faecal Calprotectin* ή *FC*). Ωστόσο, ο καρκίνος του παχέος εντέρου θεωρείται συχνά ένας σημαντικός παράγοντάς στο πλαίσιο της διαφορικής διάγνωσης. Εάν λοιπόν η *FC* αποδειχθεί ότι έχει υψηλή διαγνωστική ακρίβεια για τον καρκίνο του παχέος εντέρου, μπορεί να εφαρμοστεί ως εξέταση διαλογής της πρωτοβάθμιας περίθαλψης για όλους τους ασθενείς με συμπτώματα από το κατώτερο γαστρεντερικό σύστημα (James Turvill, 2016).

Για να το αποδείξουν αυτό, οι James Turvill *et al*, πραγματοποίησαν μια έρευνα με σκοπό τον προσδιορισμό της αρνητικής και θετικής προγνωστικής αξίας της *FC* σε ασθενείς που παραπέμπονται από την πρωτοβάθμια περίθαλψη με υποψία καρκίνου του παχέος εντέρου. ένα ερευνητικό πρόγραμμα σχετικά με την ακρίβεια της διάγνωσης που πραγματοποιήθηκε σε μια τοποθεσία δευτεροβάθμιας περίθαλψης. Έτσι, πριν από τη διεξαγωγή της έρευνας, οι ασθενείς που συναινούν και παρουσιάζονταν με υποψία καρκίνου του παχέος εντέρου, παρείχαν δείγμα κοπράνων για εξέταση της *FC*. Συγκρίθηκαν τα επίπεδα *FC* συγκριτικά με τελικές διαγνώσεις καρκίνου, αδενωματώδων πολύποδων (μικρότεροι από 10 mm) και κάθε εντερικής οργανικής ασθένειας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι για τον καρκίνο του παχέος εντέρου, η αρνητική προγνωστική αξία βρέθηκε ίση με 98,6% και 97,2% για τους πολύποδες μικρότερους από 10 mm (James Turvill, 2016). Η αρνητική προγνωστική αξία (**Negative Predictive Value** ή **NPV**) αντιπροσωπεύει την πιθανότητα ένα άτομο να μην πάσχει από μια ασθένεια ή πάθηση, δεδομένου ενός αρνητικού αποτελέσματος της εξέτασης (Iverson, 2017). Δηλαδή, η **NPV** αντιπροσωπεύει το ποσοστό των ατόμων με αρνητικά αποτελέσματα δοκιμών που αναγνωρίζονται ή διαγιγνώσκονται σωστά. Ωστόσο, όλα τα οργανικά εντερικά νοσήματα βρέθηκαν να έχουν θετική προγνωστική αξία ίση με 32,7% (James Turvill, 2016). Η θετική προγνωστική αξία (**Positive Predictive Value** ή **PPV**) είναι το ποσοστό των περιπτώσεων που δίνουν θετικά αποτελέσματα της εξέτασης και είναι ήδη ασθενείς. Αυτό το χαρακτηριστικό μπορεί να προβλέψει πόσο πιθανό είναι κάποιος να είναι πραγματικά ασθενής, σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος δοκιμής (Saeed Safari, 2015).

Συμπερασματικά, σε ασθενείς με υποψία καρκίνου, η FC φαίνεται πως έχει υψηλή NPV για τον καρκίνο του παχέος εντέρου και τους πολύποδες. Συνολικά, έγινε αποδεκτό και επιβεβαιώθηκε το γεγονός ότι το ποσοστό αναγνώρισης του καρκίνου του παχέος εντέρου μπορεί να αυξηθεί με την ενσωμάτωση της εξέτασης FC στην παρούσα αξιολόγηση βάσει συμπτωμάτων, ενώ ταυτόχρονα παραμένει μια κλινικά και οικονομικά αποδοτική λύση (James Turvill, 2016).

10.16. Η πρωτεΐνη S100A8 ως ένας νέος θεραπευτικός στόχος για το αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς

Μια από τις πιο θανατηφόρες μορφές καρκίνου στους ανθρώπους είναι το αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς (*Anaplastic Thyroid Carcinoma* ή *ATC*). Οι ασθενείς έχουν διάμεση επιβίωση μόλις 6 μήνες μετά τη διάγνωση και είναι κατά 99% θανατηφόρος. Πέρα από αυτούς τους θλιβερούς αριθμούς, παραμένει ασαφές τι προκαλεί την καρκινογένεση των κυττάρων του *ATC* (Ashley N. Reeb, 2015).

Στο σημείο αυτό εμφανίζονται οι πρωτεΐνες S100A8 και S100A9, οι οποίες έχουν αναγνωριστεί ως βασικοί μεσολαβητές του καρκίνου. Ο στόχος των ερευνητών Ashley N. Reeb *et al*, ήταν να εξεταστούν οι διαδικασίες πίσω από την έκφραση και τη λειτουργία των S100A8 και S100A9 στο αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς (Ashley N. Reeb, 2015).

Χρησιμοποιώντας τις τεχνικές της ανάλυσης γονιδιακών συστοιχιών και της ανοσοϊστοχημείας, οι ερευνητές εντόπισαν την έκφραση των πρωτεϊνών S100A8 και S100A9 σε ασθενείς που έπασχαν από αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς. Έπειτα εξέτασαν τον αντίκτυπο των πρωτεϊνών αυτών στην καρκινογένεση και τη μετάσταση. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας έδειξαν ότι στο *ATC*, αλλά όχι άλλες μορφές καρκινωμάτων του θυρεοειδούς, τα επίπεδα των πρωτεϊνών S100A8 και S100A9 είναι υπεραυξημένα. Κύτταρα *ATC* που παρουσίαζαν μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης S100A8 χρησιμοποιήθηκαν σε μελέτες που έγιναν *in vivo* σε ποντίκια, και έδειξαν μειωμένη ανάπτυξη του συγκεκριμένου όγκου, πνευμονική μετάσταση, καθώς και δραματικά αυξημένη επιβίωση των ζώων αυτών. Σύμφωνα με μηχανιστικές μελέτες, η πρωτεΐνη S100A8 ενθαρρύνει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων στο αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς, αλληλοεπιδρώντας με τον υποδοχέα RAGE, ο οποίος με τη σειρά του

διεγείρει τα σηματοδοτικά μονοπάτια *p38*, *ERK1/2* και *JNK* στα καρκινικά κύτταρα (Ashley N. Reeb, 2015).

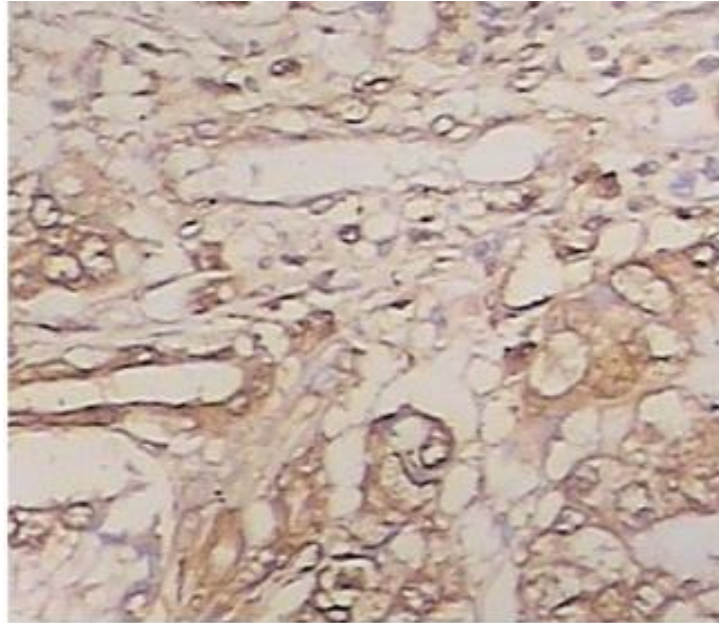
Τα αποτελέσματα αυτά καταδεικνύουν μια μοναδική λειτουργία της πρωτεΐνης S100A8 στην ενίσχυση και προώθηση της ανάπτυξης αναπλαστικού καρκινώματος του θυρεοειδούς, υποδηλώνουν παράλληλα ότι η αναστολή της μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο θεραπευτικό στόχο, ανοίγοντας την πόρτα σε μια πιο ισχυρή πορεία θεραπείας για αυτή τη θανατηφόρα πάθηση (Ashley N. Reeb, 2015).

10.17. Η πρωτεΐνη S100A11 στον καρκίνο του παγκρέατος

Η πρωτεΐνη S100A11 συνδέεται με μια ποικιλία καρκινικών και μεταστατικών γεγονότων. Στην μελέτη που διεξήχθη από τους Mingbing Xiao *et al*, διερευνήθηκε η σημασία της συγκεκριμένης πρωτεΐνης και οι πιθανές υποκείμενες διεργασίες της στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την απόπτωση και την κατανομή του κυτταρικού κύκλου στον ανθρώπινο καρκίνο του παγκρέατος (Mingbing Xiao, 2018).

Στην έρευνα χρησιμοποιήθηκαν 30 εκτοπισμένα υλικά ασθενών με καρκίνο του παγκρέατος, στα οποία πραγματοποιήθηκαν ανοσοϊστοχημικές εξετάσεις για την πρωτεΐνη S100A11. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα πολύ αυξημένα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης S100A11 αύξησε σημαντικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων *PANC-1* σε σύγκριση με του υγιείς μάρτυρες ελέγχου και μείωσε το ποσοστό των πρώιμων αποπτωτικών κυττάρων (Εικόνα 29). Επιπλέον, σε απόκριση στην υπερέκφραση της πρωτεΐνης S100A11, η κυτταρομετρική εξέταση ροής έδειξε ότι το ποσοστό των κυττάρων *PANC-1* στη φάση S του κυτταρικού κύκλου αυξήθηκε δραματικά, ενώ στην φάση *G0/G1* μειώθηκε (Mingbing Xiao, 2018).

Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν συλλογικά ότι η πρωτεΐνη S100A11 προάγει τη βιωσιμότητα και την ανάπτυξη των ανθρώπινων παγκρεατικών καρκινικών κυττάρων *PANC-1*. Ως αποτέλεσμα, η πρωτεΐνη αυτή μπορεί να θεωρηθεί ως πιθανός φαρμακολογικός στόχος για τη στοχευμένη θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος (Mingbing Xiao, 2018).



Εικόνα 29. Ανοσοϊστοχημική ανίχνευση της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A11 σε ιστούς καρκίνου του παγκρέατος (μεγέθυνση $\times 400$) (Mingbing Xiao, 2018).

10.18. Η συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A13 και της αντίστασης στη χημειοθεραπεία

Γεγονός αποτελούν οι περιπτώσεις ασθενών, στους οποίους οι συνήθεις χημειοθεραπείες συχνά αποτυγχάνουν να θεραπεύσουν το διάχυτο δερματικό κακοήθες μελάνωμα (*Cutaneous Malignant Melanoma* ή *CMM*) και επί του παρόντος δεν υπάρχουν προγνωστικές ενδείξεις θεραπευτικής ανταπόκρισης (A. Azimi, 2014).

Για τον εντοπισμό πρωτεϊνών που επηρεάζουν την ανταπόκριση στη θεραπεία, οι ερευνητές A. Azimi *et al*, συλλέξαν δεκατέσσερα φρέσκα κατεψυγμένα δείγματα μεταστατικών λεμφαδένων πριν από αυτά εκτεθούν σε θεραπεία από ασθενείς με μελάνωμα που ανταποκρίθηκαν διαφορετικά στη χημειοθεραπεία με *δακαρβαζίνη* (*dacarbazine* ή *DTIC*) ή *τεμοζολομίδη* (*temozolomide* ή *TMZ*). Έπειτα και με σκοπό να εξεταστούν οι διαφορές στο πρωτεόγραμμα μεταξύ των ανταποκρινόμενων (*R/responders*) και των μη ανταποκρινόμενων (*NR/non-responders*), οι οποίοι ήταν συμβατοί ως προς την ηλικία, το φύλο και τον ιστολογικό τύπο του δερματικού κακοήθους μελανώματος, οι συγκεκριμένοι επιστήμονες πραγματοποίησαν ποσοτικό προφίλ πρωτεϊνών (A. Azimi, 2014).

Η ανάλυση των βιολογικών μονοπατιών αποκάλυψε ότι οι κατηγορίες *R* και *NR* διαφέρουν σε μια σειρά σηματοδοτικών μονοπατιών, συμπεριλαμβανομένης της

σηματοδότησης *Rho*. Σε όλες τις έρευνες διαπιστώθηκε ότι στην κατηγορία *NR*, η πρωτεΐνη *S100A13* εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό, σε σύγκριση με την κατηγορία *R*, και σύμφωνα με τα ευρήματα αυτά, η πρωτεΐνη *S100A13* αποτελεί σημαντικό παράγοντα για την αντίσταση του δερματικού κακοήθους μελανώματος στην θεραπεία με τα φάρμακα *DTIC/TMZ* (A. Azimi, 2014).

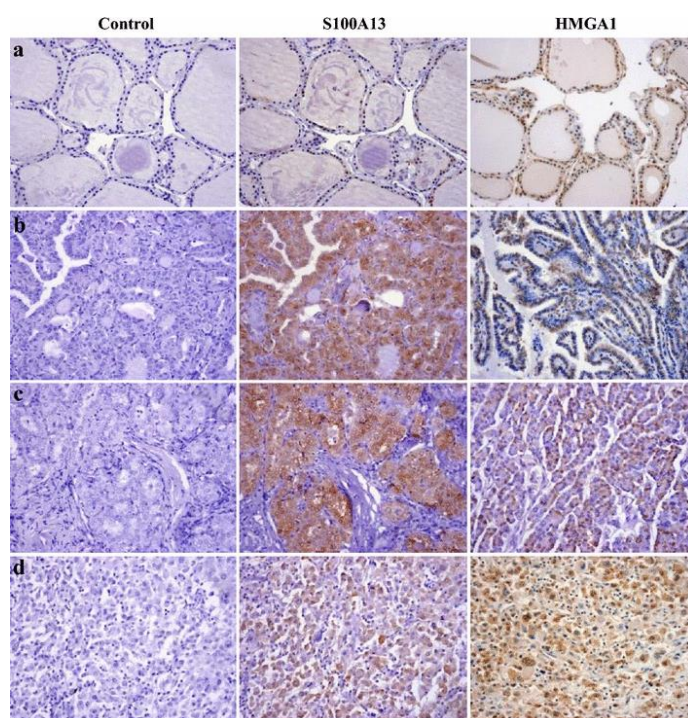
10.19. Η συσχέτιση μεταξύ *S100A13* και *HMGA1* στη διαμόρφωση του πολλαπλασιασμού και της εισβολής του καρκίνου του θυρεοειδούς

Η ομάδα υψηλής κινητικότητας *A1* (*HMGA1*) και η πρωτεΐνη *S100A13* αναγνωρίζεται ότι διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη και εξάπλωση του καρκίνου (Jing Zhong, 2016). Η ομάδα υψηλής κινητικότητας *A1* (*HMGA1*) είναι μια αρχιτεκτονική πρωτεΐνη της χρωματίνης, η υπερέκφραση της οποίας αποτελεί χαρακτηριστικό των κακοήθων νεοπλασιών με αιτιώδη ρόλο στην έναρξη και την εξέλιξη του καρκίνου. Συγκεκριμένα, η *HMGA1* προάγει την ανάπτυξη του όγκου με διάφορους μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένης της αύξησης του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης, της εξασθένησης της επιδιόρθωσης του DNA και της επαγωγής της χρωμοσωμικής αστάθειας (Andrea Conte, 2017). Δεν είναι ακόμη σαφές το πώς οι πρωτεΐνες *S100A13* και *HMGA1* σχετίζονται μεταξύ τους καθώς ο καρκίνος εξελίσσεται (Jing Zhong, 2016).

Για τον λόγο αυτό, οι ερευνητές Jing Zhong *et al*, διερεύνησαν την σημασία της *HMGA1* στην ανάπτυξη του καρκίνου του θυρεοειδούς και προσδιόρισαν τις επιπτώσεις που έχει η πρωτεΐνη *S100A13* στην έκφραση της *HMGA1* σε κύτταρα με καρκίνο του θυρεοειδούς. Χρησιμοποιώντας γυμνά ποντίκια ως ξενομοσχεύματα (κύτταρα, ιστοί ή όργανα που έχουν υποστεί ετερόλογη μεταμόσχευση από ένα είδος σε ένα άλλο), αξιολογήθηκε η σταθερή έκτοπη έκφραση της πρωτεΐνης *S100A13*. Ακόμη, αξιολογήθηκε η επίδραση της μείωσης της έκφρασης της πρωτεΐνης *S100A13* στα ογκογόνα χαρακτηριστικά των κυττάρων του καρκίνου του θυρεοειδούς, αλλά και ο αντίκτυπος της μείωσης της έκφρασης της *HMGA1* στον πολλαπλασιασμό και την εισβολή των καρκινικών κυττάρων του θυρεοειδούς (Jing Zhong, 2016). Η μικροσυστοιχία ιστών χρησιμοποιήθηκε για να εξεταστεί η σχέση μεταξύ της έκφρασης των *HMGA1* και *S100A13* σε ιστούς όγκων (Εικόνα 30).

Σε ένα μοντέλο ποντικού, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η έκτοπη έκφραση της πρωτεΐνης S100A13 μπορεί να προάγει την ανάπτυξη του όγκου. Επιπλέον, η μείωση της πρωτεΐνης S100A13 οδήγησε στην αναστολή των κυτταρικών ογκογόνων ιδιοτήτων στα καρκινικά κύτταρα του θυρεοειδούς και η *HMG1* βρέθηκε να εμπλέκεται στην επίδραση που έχει η S100A13 στην ανάπτυξη και την εισβολή του καρκίνου του θυρεοειδούς. Η κλινική ανάλυση έδειξε ότι τα επίπεδα έκφρασης των πρωτεϊνών S100A13 και *HMG1* ήταν μεγαλύτερα σε περιπτώσεις καρκίνου του θυρεοειδούς σε σύγκριση με αντίστοιχες φυσιολογικές περιπτώσεις θυρεοειδούς και ότι τα εν λόγω επίπεδα έκφρασης συνδέονταν θετικά σε όλες τις μορφές του συγκεκριμένου καρκίνου (Jing Zhong, 2016).

Συμπερασματικά, η σχέση μεταξύ της έκφρασης των *HMG1* και S100A13 στον έλεγχο της ανάπτυξης και της εισβολής του καρκίνου του θυρεοειδούς περιγράφεται για πρώτη φορά στην συγκεκριμένη μελέτη. Τα ευρήματα αυτά, προσφέρουν κρίσιμες πληροφορίες σχετικά με το ρόλο της πρωτεΐνης S100A13 στην καρκινογένεση των όγκων του θυρεοειδούς, καθιστώντας την έτσι έναν βιώσιμο βιολογικό δείκτη για την ανίχνευση του καρκίνου του θυρεοειδούς (Jing Zhong, 2016).



Εικόνα 30. Η έκφραση των πρωτεϊνών S100A13 και HMG1 παρουσιάζει θετική συσχέτιση στο καρκίνωμα του θυρεοειδούς (μεγέθυνση $\times 200$) (Jing Zhong, 2016).

- a. Φυσιολογικός θυρεοειδικός ιστός,
- b. Θηλώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς,

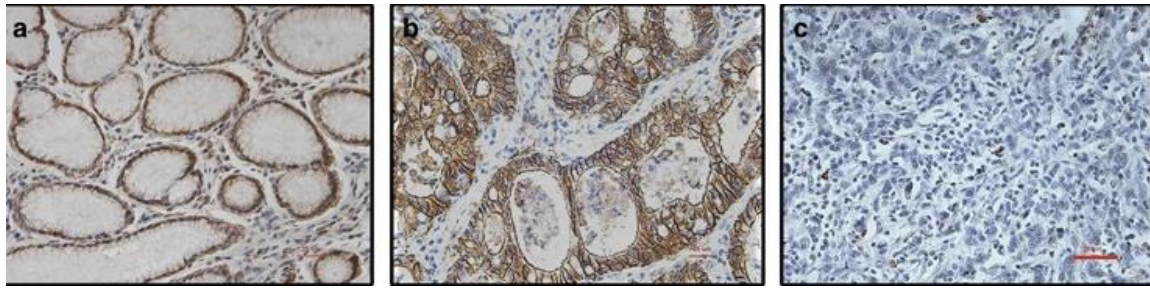
- c. Θυλακιώδες καρκίνωμα του θυρεοειδούς,
- d. Αδιαφοροποίητο καρκίνωμα του θυρεοειδούς.

10.20. Η πρωτεΐνη S100A14 στο γαστρικό καρκίνο

Έχει αποδειχθεί μέσα από πειραματικές μελέτες ότι η πρωτεΐνη S100A14 εμπλέκεται στη μετάσταση των όγκων καθώς και στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση. Σε μια έρευνα που έγινε από τους Min Zhu *et al*, προσδιορίστηκαν οι μοριακοί δείκτες και τα κλινικά παθολογικά χαρακτηριστικά που ρυθμίζουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A14 στον γαστρικό καρκίνο (Gastric Cancer ή GC) (Min Zhu, 2017).

Τα ευρήματα της έρευνας αυτής έδειξαν ότι η πρωτεΐνη S100A14 αυξάνει την έκφραση του μορίου *E-cadherin* και του ενζύμου *PG-II*, τα οποία με τη σειρά τους προκαλούν τη διαφοροποίηση στον γαστρικό καρκίνο. Επιπλέον, τόσο τα πειραματικά μοντέλα *in vitro* όσο και τα *in vivo* αποκάλυψαν αρνητική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A14 και της κυτταρικής εισβολής και μετανάστευσης (Εικόνα 31). Τα ευρήματά μας υποδηλώνουν ότι το S100A14 μπορεί να διαδραματίσει ρόλο στην προώθηση της διαφοροποίησης και την πρόληψη της κυτταρικής μετάστασης στον γαστρικό καρκίνο (Min Zhu, 2017).

Μέσω της συγκεκριμένης έρευνας διαπιστώθηκε ότι η μειωμένη έκφραση της πρωτεΐνης S100A14 σχετίζεται με φτωχή διαφοροποίηση, βάθος όγκου, κατάσταση λεμφαδένων και μετάσταση. Συγκεκριμένα, τα ευρήματά της καταδεικνύουν ότι η S100A14 επάγει τη διαφοροποίηση στον γαστρικό καρκίνο και καταστέλλει τη μετάσταση, οδηγώντας σε καλύτερη πρόγνωση για τους ασθενείς. Αυτά τα αποτελέσματα υποδηλώνουν ότι η συγκεκριμένη πρωτεΐνη θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως νέος δείκτης διαφοροποίησης για την πρόβλεψη της κλινικής έκβασης του γαστρικού καρκίνου (Min Zhu, 2017).



Εικόνα 31. Αντιπροσωπευτικές εικόνες της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A14 σε:

- a. φυσιολογικό ιστό γαστρικού βλεννογόνου
- b. ιστό γαστρικού καρκίνου εντερικού τύπου και
- c. ιστό γαστρικού καρκίνου διάχυτου τύπου (Min Zhu, 2017)

10.21. Η ταυτόχρονη έκφραση των πρωτεϊνών S100A14 και S100A16 στον καρκίνο του μαστού

Τα μέλη S100A14 και S100A16 της πρωτεϊνικής οικογένειας S100 θεωρούνται επίσης κρίσιμα για την ανάπτυξη των όγκων, αλλά και πιθανοί προγνωστικοί δείκτες και θεραπευτικοί στόχοι για τον καρκίνο του μαστού (Mizuko Tanaka, 2015). Η αποσαφήνιση της κλινικής σημασίας και της λειτουργικής συνάφειας αυτών των μορίων στον καρκίνο του μαστού ήταν ο κύριος στόχος της μελέτης που πραγματοποιήθηκε από τους Mizuko Tanaka *et al.*

Αρχικά, η έκφραση των πρωτεϊνών S100A14 και S100A16 σε αρχειοθετημένα πρωτογενή δείγματα όγκων από 167 ασθενείς με καρκίνο του μαστού αναλύθηκε ανοσοϊστοχημικά. Έπειτα, πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση για να διαπιστωθεί πώς η έκφραση των S100A14 και S100A16 σχετίζεται με την επιβίωση των ασθενών και τους κλινικοπαθολογικούς παράγοντες. Στην πειραματική αυτή έρευνα, οι πρωτεΐνες S100A14 και S100A16, οι οποίες εκφράζονται και οι δύο σε μεγάλο βαθμό στις ανθρώπινες κυτταρικές σειρές καρκίνου του μαστού MCF7 και SK-BR-3, χρησιμοποιήθηκαν για την αξιολόγηση του υποκυτταρικού εντοπισμού και της λειτουργίας αυτών των μορίων (Mizuko Tanaka, 2015).

Παρατηρήθηκε ισχυρή χρώση της κυτταρικής μεμβράνης των πρωτεϊνών S100A14 (53% των περιπτώσεων) και S100A16 (31% των περιπτώσεων) μετά από ανοσοϊστοχημική εξέταση των 167 ασθενών με καρκίνο του μαστού. Επίσης, παρατηρήθηκε συν-έκφραση των δυο αυτών πρωτεϊνών σε σημαντικό αριθμό περιπτώσεων. Όταν οι δύο πρωτεΐνες

συν-εκφράζονταν, ήταν ορατά πιο επιθετικά τα χαρακτηριστικά του καρκίνου και χειρότερη η πρόγνωση αυτού. Και οι δύο πρωτεΐνες βρέθηκαν να είναι συν-εντοπισμένες στην κυτταρική μεμβράνη των κυτταρικών σειρών του καρκίνου του μαστού *MCF7* και *SK-BR-3*, κυρίως στις θέσεις προσκόλλησης κυττάρου-κυττάρου (cell-cell attachment sites). Επιπλέον, αποδείχθηκε με μελέτες ανοσοκατακρήμνισης και ανοσοφθορισμού ότι η πρωτεΐνη S100A14 μπορεί να συνδεθεί με την ακτίνη που βρίσκεται στην κυτταρική μεμβράνη χωρίς την ανάγκη ασβεστίου. Η μείωση της έκφρασης τόσο της πρωτεΐνης S100A14, όσο και της S100A16 μείωσε σημαντικά την επεμβατική δραστηριότητα και των δύο κυτταρικών σειρών *MCF7* και *SK-BR-3* (Mizuko Tanaka, 2015).

Συμπερασματικά, η μελέτη των Mizuko Tanaka *et al*, είναι και η πρώτη που συνδέει την έκφραση των S100A14 και S100A16 και την συν-έκφραση αυτών με την κακή πρόγνωση των ασθενών με καρκίνο του μαστού. Επιπλέον, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας υποδηλώνουν ότι οι πρωτεΐνες αυτές αλληλεπιδρούν με τη δυναμική του κυτταροσκελετού για να βοηθήσουν τα καρκινικά κύτταρα του μαστού να γίνουν πιο διεισδυτικά (Mizuko Tanaka, 2015).

10.22. Η πρωτεΐνη S100A16 ως προγνωστικός δείκτης για τον καρκίνο του παχέος εντέρου
Η πρωτεΐνη S100A16 βρέθηκε πρόσφατα ότι παίζει ρόλο σε έναν σημαντικό αριθμό καρκίνων, συμπεριλαμβανομένου του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος του στόματος, του καρκίνου της ουροδόχου κύστης και του καρκίνου του πνεύμονα. Ωστόσο, η έκφραση της συγκεκριμένης πρωτεΐνης δεν έχει ακόμη μελετηθεί σε σχέση με τον καρκίνο του παχέος εντέρου (*Colorectal Cancer* ή *CRC*), και για τον λόγο αυτό, οι ερευνητές Xu Sun *et al*, πραγματοποίησαν μια κλινική μελέτη, στην οποία ήθελαν να εντοπίσουν την έκφραση της πρωτεΐνης S100A16 σε 296 ασθενείς με τον καρκίνο του παχέος εντέρου (Xu Sun, 2017).

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ασθενείς με χαμηλή έκφραση της μεμβρανικής πρωτεΐνης S100A16 είχαν σημαντικά μικρότερη συνολική πιθανότητα επιβίωσης, σε σχέση με τους ασθενείς με υψηλή έκφραση της πρωτεΐνης αυτής. Ακόμη, βρέθηκε υψηλή συσχέτιση της έκφρασης της πρωτεΐνης S100A16 και της σοβαρότητας του όγκου. Ως αποτέλεσμα της συσχέτισης αυτής, η συγκεκριμένη πρωτεΐνη μπορεί να αποτελέσει έναν βιώσιμο προγνωστικό βιοδείκτη και θεραπευτικό στόχο για τον καρκίνο του παχέος εντέρου (Xu Sun, 2017).

10.23. Η πρωτεΐνη S100P ως διαγνωστικός δείκτης για το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου

Η δημιουργία μιας αξιόπιστης προσέγγισης διαλογής για το αδενοκαρκίνωμα του παγκρεατικού πόρου (*Pancreatic Ductal Adenocarcinoma* ή *PDAC*) είναι ζωτικής σημασίας. Σε μια μελέτη που διεξήχθη από τους Taketo Matsunaga *et al*, οι δωδεκαδακτυλικοί δείκτες που χρησιμοποιούνται κατά την ανώτερη γαστρεντερική ενδοσκόπηση (*Gastrointestinal Endoscopy* ή *GIE*) ή την ενδοσκοπική υπερηχογραφία αξιολογήθηκαν ως προς τη διαγνωστική τους αξία σε παγκρεατικές διαταραχές (Taketo Matsunaga, 2017).

Συνολικά 299 συμμετέχοντες συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την κλινική δοκιμή, εκ των οποίων, οι 61 αποτελούσαν υγιή άτομα ως άτομα ελέγχου, οι 144 ήταν ασθενείς με διάφορες παγκρεατικές παθήσεις και οι 94 ασθενείς που είχαν διαγνωστεί με *PDAC*. Η κλινική δοκιμή είχε διάρκεια σχεδόν δυο χρόνων, και συγκεκριμένα διεξάχθηκε από τον Οκτώβριο του έτους 2011 έως τον Ιούλιο του έτους 2014. Όλα τα άτομα που συμμετείχαν σε αυτή υποβλήθηκαν σε ανώτερη *GIE* ή ενδοσκοπικό υπερηχογράφημα. Οι συγκεντρώσεις του καρκινοεμβρυικού αντιγόνου και της πρωτεΐνης S100P του δωδεκαδακτυλικού υγρού (*Duodenal Fluid* ή *DF*) αξιολογήθηκαν, και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ασθενείς με *PDAC* και χρόνια παγκρεατίτιδα είχαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα S100P στο δωδεκαδακτυλικό υγρό σε σχέση με τα υγιή άτομα ελέγχου. Η ευαισθησία και η ειδικότητα της συγκέντρωσης της πρωτεΐνης S100P αναφέρθηκε ότι ήταν 85% και 77% αντίστοιχα. Ωστόσο, πρέπει να σημειωθεί στο σημείο αυτό ότι οι ασθενείς με παγκρεατική νόσο βρέθηκε πως έχουν παρόμοια επίπεδα καρκινοεμβρυικού αντιγόνου στο δωδεκαδακτυλικό υγρό σε σχέση με τους με τους υγιείς μάρτυρες, γεγονός που υποδηλώνει ότι ο συνδυασμός της συνήθους εξέτασης της ανώτερης γαστρεντερικής ενδοσκόπησης με την ανάλυση των επιπέδων της πρωτεΐνης S100P στο δωδεκαδακτυλικό υγρό μπορεί να βοηθήσει στον εντοπισμό του *PDAC* (Taketo Matsunaga, 2017).

10.24. Η πρωτεΐνη S100P ως νέος προγνωστικός δείκτης του μεταστατικού καρκίνου του μαστού

Ο κύριος λόγος θανάτου σε άτομα με καρκίνο του μαστού είναι η μετάσταση. Επομένως, η δημιουργία ακριβών και προσιτών βιοδεικτών για την αξιολόγηση της πρόγνωσης των ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού (*Metastatic Breast Cancer* ή *MBC*), είναι

εξαιρετικά κρίσιμη (Cike Peng, 2016). Η πρωτεΐνη S100P, έχει αποδειχθεί ότι συνδέεται με την ανάπτυξη μεταστάσεων, και για τον λόγο αυτό, οι ερευνητές Cike Peng *et al*, πραγματοποίησαν μια έρευνα με σκοπό να ελέγξουν τα επίπεδα S100P στο πλάσμα 60 υγιών ατόμων, 48 ασθενών με αρχικό καρκίνο του μαστού και 273 ασθενών με μεταστατικό καρκίνο του μαστού (Cike Peng, 2016).

Έως και 3,5 έτη μετά την πρόσληψη, οι ασθενείς με *MBC* παρακολούθηθηκαν για την ακριβή ανάπτυξη της νόσου, τη θνησιμότητα αυτής, αλλά και για να διερευνηθεί η αξία των επιπέδων της πρωτεΐνης S100P στο πλάσμα ως παράμετρος παρακολούθησης της θεραπείας. Τα αποτελέσματα αυτής της παρακολούθησης έδειξαν μια ισχυρή συσχέτιση μεταξύ υψηλών επιπέδων S100P στο πλάσμα (>7 ng/mL) και κακής πρόγνωσης για άτομα με μεταστατικό καρκίνο του μαστού (διάμεσος χρόνος επιβίωσης χωρίς εξέλιξη: 5,0 έναντι 8,7 μηνών, διάμεσος συνολικός χρόνος επιβίωσης: 22,5 έναντι 31,6 μηνών και διάμεσος συνολικός χρόνος επιβίωσης: 22,5 έναντι 31,6 μηνών) (Cike Peng, 2016).

Το τυπικό μοντέλο πρόγνωσης έλαβε πρόσθετη προγνωστική αξία από το επίπεδο της πρωτεΐνης S100P του πλάσματος. Μετά τη θεραπεία, παρατηρήθηκε σημαντική πτώση των επιπέδων S100P στο πλάσμα και η πτώση αυτή συνδέθηκε με την ακτινολογική βελτίωση των ασθενών με *MBC*. Το εύρημα αυτό καταδεικνύει τη σημασία της πρωτεΐνης S100P πλάσματος στη δυναμική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας (Cike Peng, 2016). Οι ερευνητές προτείνουν ότι το επίπεδο S100P πλάσματος μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως ένας εύχρηστος και λογικά κοστολογημένος δείκτης πρόγνωσης του μεταστατικού καρκίνου του μαστού (Cike Peng, 2016).

Πρωτεΐνη S100	Συσχετισμός με ασθένεια
S100A1	Καρκίνος των ωθηκών, αστροκυτταρικοί όγκοι
S100A2	Πλακώδες καρκίνωμα του λάρυγγα, καρκίνος του μαστού, καταστολή όγκων
S100A2- S100A6	Μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα
S100A3	Ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, αστροκυτταρικοί όγκοι, γαστρικός καρκίνος
S100A4	Καρκίνος του στομάχου, του παχέος εντέρου και του ορθού, αντικαρκινικός φαρμακευτικός στόχος
S100A7	Καρκίνος των οστών (οστεοσάρκωμα), του παγκρέατος, θεραπεία του καρκίνου
S100A8/S100A9	Καρκίνος του παχέος εντέρου, του δέρματος, της ουροδόχου κύστεως, αναπλαστικό καρκίνωμα του θυρεοειδούς
S100A11	Καρκίνος του του παγκρέατος
S100A13	Όγκοι του θυρεοειδούς, αντίσταση στην χημειοθεραπεία
S100A14	Καρκίνοι του μαστού και του στομάχου
S100A16	Καρκίνοι του παχέος εντέρου και του μαστού
S100B	Κακήθες μελάνωμα
S100P	Καρκίνος του μαστού, αδενοκαρκίνωμα παγκρεατικού πόρου

Πίνακας 6. Οι πρωτεΐνες S100 στην ογκολογία (Heizmann, 2019).

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση συνοψίζει τη σημασία των πρωτεϊνών S100, τις διάφορες λειτουργίες τους στον ανθρώπινο οργανισμό και τη χρήση τους ως νέων βιοδεικτών και φαρμακευτικών στόχων (Heizmann, 2019). Σημαντικές εξελίξεις στην έκφραση, τη δομή και τη σηματοδότηση των πρωτεϊνών αυτών, τα τελευταία δέκα χρόνια έχουν ενισχύσει τις γνώσεις των επιστημόνων και των ερευνητών τόσο σε ότι αφορά στην παθοφυσιολογία του καρκίνου όσο και στον τρόπο λειτουργίας των φυσιολογικών κυττάρων (Anne R. Bresnick, 2015).

Έτσι, τα επόμενα χρόνια θα μπορέσει να γίνει η κατανόηση των *in vivo* ρόλων ορισμένων πρωτεϊνών S100 καθώς και η διαφοροποίηση της συμβολής των ενδοκυτταρικών και εξωτερικών αυτών πρωτεϊνών, με την ανάπτυξη μοριακών ανιχνευτών, όπως αντισώματα και μικρομοριακοί αναστολείς. Αυτοί οι ανιχνευτές θα

μπορούσαν να αναλυθούν στην συνέχεια σε περισσότερο βάθος, με σκοπό την θεραπεία του καρκίνου ή άλλων διαταραχών, για τις οποίες η θεραπευτική προσέγγιση δεν είναι πλήρως ανεπτυγμένη και χρειάζεται αναβάθμιση. Προς το παρόν, πολύ λίγα είναι γνωστά για το πώς οι μετα-μεταφραστικές αλλαγές ή ο σχηματισμός ετεροδιμερών επηρεάζουν τη σηματοδότηση των πρωτεϊνών S100, παρά τη σημαντική πρόοδο που έχει γίνει με σκοπό την κατανόηση των περαιτέρω λειτουργιών τους. Επομένως, απαιτείται μια πιο βαθιά μηχανιστική εξέταση τόσο της βιολογίας όσο και της βιοχημείας των πρωτεϊνών S100 για να καθοριστεί το πώς κάθε μέλος αυτής της οικογένειας συμβάλλει στον πολλαπλασιασμό, τη μετάσταση, την αγγειογένεση και την ανοσολογική αποφυγή του καρκίνου και άλλων ασθενειών (Anne R. Bresnick, 2015).

Σήμερα, τα μέλη της οικογένειας των πρωτεϊνών S100 χρησιμοποιούνται κυρίως στον τομέα της εργαστηριακής ιατρικής για την ανάλυση και την παρακολούθηση ασθενειών και αποτελούν σημαντικούς **διαγνωστικούς και προγνωστικούς βιοδείκτες**. Βέβαια, μέχρι στιγμής, μόνο ένας μικρός αριθμός αυτής της μεγάλης οικογένειας πρωτεϊνών που δεσμεύουν το ασβέστιο έχει διερευνηθεί για την κλινική τους σημασία. Μερικές μέθοδοι που πρόκειται να επιταχύνουν το έργο των ερευνητών στην βαθύτερη αυτή κατανόηση και ανάλυση των συγκεκριμένων πρωτεϊνών και των τροποποιήσεών τους σε πολύ μικρές ποσότητες σωματικών υγρών (όπως είναι για παράδειγμα ένα δείγμα σάλιου πρόωρων νεογνών) είναι η τεχνολογία **HPLC-electrospray-ionization-MS** και η **Selected Reaction Monitoring Mass Spectrometry (SRM-MS)** που εφαρμόζονται για την ταυτόχρονη και ειδική ποσοτική ανάλυση των πρωτεϊνών S100 σε κυτταρικές σειρές και ιστούς όγκων. Η πρώτη, αφορά μια μέθοδο κατά την οποία το δείγμα διαχωρίζεται πρώτα με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (*High-Performance Liquid Chromatography* ή *HPLC*) και στη συνέχεια ιονίζεται με την προώθηση ενός διαλύματος (συνήθως σε οργανικό διαλύτη) μέσω ενός μικρού θερμαινόμενου τριχοειδούς σε ηλεκτρικό πεδίο, ώστε να παραχθεί μια πολύ λεπτή ομίχλη φορτισμένων σταγονιδίων. Τα ιόντα χαρακτηρίζονται στη συνέχεια σύμφωνα με τον λόγο μάζας προς φορτίο και τη σχετική αφθονία από δύο φασματομέτρα μάζας σε σειρά. Η δεύτερη, αφορά μια μέθοδο, η οποία προσφέρει εξαιρετικά ευαίσθητη, ειδική και οικονομικά αποδοτική ανάλυση για τον ταυτόχρονο ποσοτικό προσδιορισμό εκατοντάδων έως αρκετών χιλιάδων στοχευμένων πεπτιδίων σε ένα μόνο πείραμα. Μια ανάλυση **multiomics** (μια προσέγγιση βιολογικής ανάλυσης στην οποία τα σύνολα δεδομένων είναι πολλαπλά «*omes*», όπως το γονιδίωμα, το πρωτέωμα,

το μεταγράφημα, το επιγονιδίωμα, το μεταβολίωμα και το μικροβίωμα, με άλλα λόγια, η χρήση πολλαπλών τεχνολογιών «omics» για τη μελέτη της ζωής με συντονισμένο τρόπο) που πραγματοποιήθηκε πρόσφατα, επιβεβαίωσε το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες S100 είναι μια ομάδα υποσχόμενων βιοδεικτών για την πρόγνωση του καρκίνου του μαστού. Ακόμη, μια νέα και εξελιγμένη βιοαναλυτική τεχνολογία είναι **η εστιακή μολογραφία** (*focal tomography*), ένας βιοαισθητήρας νέας γενιάς που απεικονίζει συγκεκριμένες βιομοριακές αλληλεπιδράσεις σε πραγματικό χρόνο και επιτρέπει την ανίχνευση ιχνών όλων των ειδών βιομορίων στα βιολογικά δείγματα. Η τεχνική αυτή είναι γνωστή για την απλότητα και την ευρωστία της και μπορεί να έχει μελλοντικό αντίκτυπο στην ανάπτυξη **διαγνωστικών συσκευών point-of-care** (αναφέρεται στο σύνολο των διαγνωστικών συσκευών που χρησιμοποιούνται δίπλα ή κοντά στο σημείο παροχής φροντίδας στον ασθενή) που εφαρμόζονται για αναλύσεις των πρωτεϊνών που δεσμεύουν το ασβέστιο σε ανθρώπινες ασθένειες (Heizmann, 2019).

Προσωπικά, θα ήθελα να επισημάνω για μια ακόμη φορά την σπουδαιότητα της συγκεκριμένης οικογένειας πρωτεϊνών και να επιβεβαιώσω ότι μέχρι και σήμερα, είναι γνωστό ένα μικρό μόνο μέρος των ιδιοτήτων τους. Θεωρώ ακόμη πως πρέπει να γίνουν περαιτέρω έρευνες για την πλήρη κατανόησή τους, καθώς είναι σχεδόν βέβαιο πως θα αποδειχθεί ένα πολύτιμο εργαλείο στην ερευνητική μελέτη διάφορων ασθενειών που τα τελευταία χρόνια μαστίζουν την ανθρωπότητα. Σίγουρα, η εργαστηριακή τους διερεύνηση απαιτεί χρόνο και μεγάλη χρηματοδότηση. Ωστόσο, πρόκειται για ένα σύγχρονο και σημαντικό εργαλείο στα χέρια των ανθρώπων, το οποίο με την βοήθεια των ολοένα και αναβαθμισμένων τεχνολογικών εργαστηριακών μεθόδων, μπορεί να λειτουργήσει ως ένα βαρυσήμαντο διαγνωστικό εργαλείο.

Παρόλα αυτά, πρέπει να σημειωθεί ότι όλα αυτά βρίσκονται ακόμη σε προκλινικό στάδιο και μελετώνται εντατικά, αλλά υπάρχει αρκετά μεγάλη απόσταση ακόμη από την εγκεκριμένη και αποδεδειγμένη διάγνωση θεραπεία που θεωρητικά μπορούν να επιτευχθούν με την χρήση των πρωτεϊνών S100. Είναι βέβαιο πως, οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες έχουν φέρει την επανάσταση στην διάγνωση και -γιατί όχι- στην αντιμετώπιση ασθενειών για τις οποίες μέχρι τώρα δεν υπήρχε ελπίδα έγκαιρης διάγνωσης ή πλήρους αποκατάστασης του ασθενή. Πρακτικά όμως, απέχουμε πολύ από το «τέλειο όπλο» κατά του καρκίνου και των άλλων ασθενειών, χωρίς αυτό φυσικά να σημαίνει ότι δεν μπορεί να τελειοποιηθεί ο μηχανισμός αυτός και να δώσει το φως για την αντιμετώπιση τους.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Εν κατακλείδι, η διερεύνηση των λειτουργιών των πρωτεϊνών S100 συνεχίζει να μας παρέχει νέες γνώσεις σχετικά με την εξέλιξη των ανθρώπινων ασθενειών. Η γνώση αυτή έχει μεταφραστεί σε διάφορες νέες θεραπείες κατά της εξέλιξης του καρκίνου, των αυτοάνοσων διαταραχών και των χρόνιων φλεγμονωδών ασθενειών. Η συνεχής επένδυση σε περαιτέρω έρευνες για την πλήρη κατανόηση των σηματοδοτικών μονοπατιών που ρυθμίζονται από τις πρωτεΐνες S100, των μηχανισμών έκκρισής τους και του ρόλου των μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων και του ολιγομερισμού στη λειτουργία τους είναι βέβαιο ότι θα αποδώσει πλούσια μερίσματα με τη μορφή υποσχόμενων μελλοντικών θεραπευτικών στόχων για τη θεραπεία των πολλών φλεγμονωδών ασθενειών που καθοδηγούνται από τις πρωτεΐνες της οικογένειας S100.

Σίγουρα, οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί έως τώρα, απαιτούν την χρήση περαιτέρω μελετών περιπτώσεων με μεγαλύτερο μέγεθος δείγματος για την εξαγωγή ισχυρών συμπερασμάτων ως προς αυτό. Παρόλα αυτά, η βιοχημεία των πρωτεϊνών S100 συνεχίζει να αποτελεί πλούσιο πεδίο νέων ερευνών και η αξιολόγηση των φυσικών λειτουργιών αυτών των πρωτεϊνών θα προσφέρει νέες γνώσεις για τις ασθένειες που – ειδικότερα τα τελευταία χρόνια – απειλούν την ανθρώπινη ομαλή διαβίωση. Ο προσδιορισμός των μεταβολών της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών S100 σε βιολογικά δείγματα και σε διαφορετικές φυσιολογικές καταστάσεις θα μπορούσε να συμβάλει στην χρήση αυτών ως διαγνωστικών βιοδεικτών στο μέλλον. Συνεπώς, η μελλοντική έρευνα θα πρέπει να επικεντρωθεί στην επικύρωση των πρωτεϊνών S100 ως βιοδεικτών για την έγκαιρη ανίχνευση και πρόγνωση της νόσου και στην ανάπτυξη νέων στρατηγικών που βασίζονται σε θεραπείες με την χρήση των πρωτεϊνών αυτών, ή ακόμη και κατά αυτών.

Αναφορές

- A. Azimi, M. P. M. F. S. J. H. J. L. S. E. B. C. H. J., 2014. Proteomics analysis of melanoma metastases: association between S100A13 expression and chemotherapy resistance. *British Journal of Cancer* , p. 2489–2495.
- Abdi Ali, N. B. A. S. S., 2015. Early repolarization syndrome: A cause of sudden cardiac death. *World Journal of Cardiology*, p. 466–475.
- Alexandre Carvalho, J. L. J. D. F. R. E. M. K. P. H. R. S. D. S. D. T. J. G. J. S. M. D. J. A. G., 2020. S100A12 in Digestive Diseases and Health: A Scoping Review. *Gastroenterology Research and Practice*, pp. 1-11.
- Ana Milosevic, T. L. M. K. 1. N. S. P. S. P. G., 2016. Cell- and region-specific expression of depression-related protein p11 (S100a10) in the brain. *The Journal of Comparative Neurology*, p. 955–975 .
- Andrea Conte, S. P. G. B. D. F. R. G. M. T. M. R. A. F. D. T. G. M. P., 2017. High mobility group A1 protein modulates autophagy in cancer cells. *Cell Death & Differentiation* , p. 1948–1962.
- Anita Lewit-Bentley, S. R., 2000. EF-hand calcium-binding proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, pp. 637-643.
- Anna Lisa Frauchiger, R. D. J. M., 2019. Serum S100B Levels in Melanoma. Στο: *Methods in Molecular Biology*. s.l.:s.n., p. 691–700.
- Anna-Karin Ekman, J. V. C. B. E. C. E., 2016. Overexpression of Psoriasin (S100A7) Contributes to Dysregulated Differentiation in Psoriasis. *Advances in Dermatology and Venereology*, pp. 441-448.
- Anne R. Bresnick, D. J. W. D. B. Z., 2015. S100 proteins in cancer. *Nature Reviews Cancer* , p. 96–109.
- Anon., 2022. *Johns Hopkins MEDICINE*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: https://www.hopkinsmedicine.org/institutional_review_board/guidelines_policies/guidelines/gene_transfer.html
- Anon., 2022. *MedlinePlus*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://medlineplus.gov/genetics/understanding/howgeneswork/protein/>
- Anon., 2022. *National Cancer Institute*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer>
- Anon., 2022. *National Human Genome Research Institute*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Knockout-Mice-Fact-Sheet>

- Antonio Basile, D. B. G. V. S. P. C. F. C., 2008. Hyperthermia inhibits cell proliferation and induces apoptosis: relative signaling status of P53, S100A4, and Notch in heat sensitive and resistant cell lines. *Journal of Cellular Biochemistry*, pp. 212-220.
- Aravindan Rangaraj, L. Y. A. J. S. P. E. P. K. G. H. W. G. J., 2017. Molecular and cellular impact of Psoriasin (S100A7) on the healing of human wounds. *Experimental and Therapeutic Medicine*, pp. 2151-2160.
- Ashley N. Reeb, W. L. W. S. L. A. M. H. W. T. R. C. S. J. A. C. K. S. R. C. R.-Y. L., 2015. S100A8 is a novel therapeutic target for anaplastic thyroid carcinoma. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, p. 232–242.
- Atsushi Murao, M. A. H. W. M. B. P. W., 2021. Release mechanisms of major DAMPs. *Apoptosis*, p. 152–162.
- Azadeh Mofid, N. S. N. P. J. H. L. C. A. P. N. M. D. R. M. A. K. H. H. C. K. A. J. N. T. A. O. G. K. A. C. T. G. P., 2017. Cardiac Overexpression of S100A6 Attenuates Cardiomyocyte Apoptosis and Reduces Infarct Size After Myocardial Ischemia-Reperfusion. *Journal of the American Heart Association*, pp. 1-15.
- Beierwaltes, D. K. A. a. W. H., 2013. The influence of extracellular and intracellular calcium on the secretion of renin. *European journal of physiology*, p. 59–69.
- Caleb T. Epps, R. D. C. A. S. W. S. B. L.-S. H., 2016. Chapter 6 - The Role of CD36 in the Pathogenesis of Alcohol-Related Disease. Στο: *Molecular Aspects of Alcohol and Nutrition*. s.l.:s.n., pp. 71-84.
- Chang Xia, Z. B. A. C. T. J. Z. X. R., 2018. S100 Proteins As an Important Regulator of Macrophage Inflammation. *Frontiers in Immunology*, pp. 1-11.
- Christoffer Gebhardt, J. N. P. A., 2006. S100A8 and S100A9 in inflammation and cancer. *Biochemical Pharmacology*, pp. 1622-1631.
- Cike Peng, H. C. M. W. C. M. K. C. D. M. A. T. J. H. F. M. J. N. S. R. S. S. C. S. K. P. A. S. R. Y., 2016. Plasma S100P level as a novel prognostic marker of metastatic breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment*, p. 329–338.
- Claus W Heizmann, G. F. B. W. S., 2002. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Frontiers in Bioscience*, May, pp. 1356-1368.
- Connie M Weaver, M. P., 2011. Calcium. *Advances in Nutrition*, pp. 546-548.
- D. E. Brodersen, J. N. M. K., 1999. Zinc-Binding Site of an S100 Protein Revealed. Two Crystal Structures of Ca²⁺-Bound Human Psoriasin (S100A7) in the Zn²⁺-Loaded and Zn²⁺-Free States. *Biochemistry*, pp. 1695-1704.
- Damien Bouvier, T. D. P. R. M. J. M. R. C. N. C. B. B. P. B. E. V. S., 2016. Preanalytical, analytical, gestational and pediatric aspects of the S100B immuno-assays. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, pp. 833-842.

- Danna Zimmer, E. C. A. L. W. S., 1995. The S100 Protein Family: History, Function and Expression. *Brain Research Bulletin*, pp. 417-429.
- Daphné Hoyaux, A. B. L. V. d. B. N. B. J.-J. M. C. W. H. R. K. R. P., 2002. S100A6 overexpression within astrocytes associated with impaired axons from both ALS mouse model and human patients. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, p. 736–744.
- Darya Kiryushko, V. N. V. S. J. K. E. L. V. B. E. B., 2006. Molecular mechanisms of Ca(2+) signaling in neurons induced by the S100A4 protein. *Molecellar and Cellular Biology*, pp. 3625-3638.
- David L. Nelson, M. M. C., χ.χ. *Lehninger's Βασικές Αρχές Βιοχημείας, page 81.* s.l.:Π. Χ. ΠΑΣΧΑΛΙΔΗΣ, Broken Hill.
- David Rohde, J. R. M. V. H. A. K. T. G. P. P. M., 2010. S100A1: A Multifaceted Therapeutic Target in Cardiovascular Disease. *Journal of Cardiovascular Translational Research*, pp. 525-537.
- Delfina C. Domínguez, M. G. a. M. P., 2014. Calcium binding proteins and calcium signaling in prokaryotes. *Cell Calcium*, pp. 151-165.
- Diego Gazzolo, F. P. G. L. S. F., 2019. The Ca²⁺-Binding S100B Protein: An Important Diagnostic and Prognostic Neurobiomarker in Pediatric Laboratory Medicine. *Calcium-Binding Proteins of the EF-Hand Superfamily*, pp. 701-728.
- Dirk Foell, F. I. T. V. X. Y. R. C. T. M. C. S. J. R., 2003. S100A12 (EN-RAGE) in monitoring Kawasaki disease. *RESEARCH LETTERS*, pp. 1270-1272.
- Donato, R., 2003. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. Στο: *Special Issue: Biology of S100 Proteins.* s.l.:s.n., pp. 540-551.
- Dong Li, R. Z. W. Z. Y. X. Y. Z. Q. H. M. L. Y. L., 2013. S100A16 inhibits osteogenesis but stimulates adipogenesis. *Molecular Biology Reports* , p. 3465–3473.
- Elaine Yu, S. S., 2021. *StatPearls-Physiology, Calcium.* [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.statpearls.com>
- Fabrizio Michetti, V. C. M. C. G. W. L. C. B. L. S. D. G., 2012. The S100B protein in biological fluids: more than a lifelong biomarker of brain distress. *Journal of Neurochemistry (JNC)*, pp. 644-659.
- Faekah Gohar, J. A. H. M. L. W. V. S.-S. F. H. P. M. A. v. R. K. M. D. E. P. H. R. t. C. S. U. L. R. W. G. H. M. F., 2018. S100A12 Is Associated with Response to Therapy in Juvenile Idiopathic Arthritis. *J. Rheumatol.*, p. 547–554.
- Fatemeh Shabani, A. F. M. M. N. G., 2018. Calprotectin (S100A8/S100A9): a key protein between inflammation and cancer. *Official Journal of the European Histamine Research Society*, pp. 801-812.

- G. M. Maelandsmo, E. H. M. S. O. E. V. A. F. O. M. M. G. E. L. K. J. S. O. F., 1996. Reversal of the in vivo metastatic phenotype of human tumor cells by an anti-CAPL (mts1) ribozyme. *Cancer Res.*, pp. 5490-5498.
- Gilles Boschetti, P. G. D. M. C. C. C. P. R. D.-L. A. M. J. D. B. F. S. N., 2015. Accuracies of Serum and Fecal S100 Proteins (Calprotectin and Calgranulin C) to Predict the Response to TNF Antagonists in Patients with Crohn's Disease. *Inflammatory Bowel Disease*, pp. 331-336.
- Goldstein, D. A., 1990. Chapter 143-Serum Calcium. Στο: *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations-3rd edition*. Boston: Butterworth Publishers, a division of Reed Publishing, pp. 677-679.
- Gopalkrishna Sreejit, M. C. F. M. P. P. K. A. J. M. P. R. N., 2020. S100 family proteins in inflammation and beyond. *Advances in Clinical Chemistry*, pp. 173-231.
- Grabarek, Z., 2006. Structural Basis for Diversity of the EF-hand Calcium-binding Proteins. *Journal of Molecular Biology*, pp. 509-525.
- Grzybowska, E. A., 2018. Calcium-Binding Proteins with Disordered Structure and Their Role in Secretion, Storage, and Cellular Signaling. *Biomolecules*, pp. 1-10.
- Guo-Yuan He, C.-H. Z. D.-G. W. H. C. L.-A. S. D.-L. Z. X.-J. Y. X.-R. F. G.-F. D. X.-C. J., 2020. S100A8 Promotes Inflammation via Toll-Like Receptor 4 After Experimental Traumatic Brain Injury. *Frontiers in Neuroscience*, pp. 1-13.
- H. Gogas, A. M. M. E. A. H. P. H. P. M. D. S. A. S. R. D., 2009. Biomarkers in melanoma. *Annals of Oncology* 20, p. 6.
- Hanbyoul Cho, H.-Y. S. S. K. J. S.-Y. K. J.-Y. C. E. J. C. K.-H. C. S. M. H. J.-H. K., 2014. The role of S100A14 in epithelial ovarian tumors. *Oncotarget*, pp. 3482-3496.
- Heizmann, C. W., 2019. S100 proteins: Diagnostic and prognostic biomarkers in laboratory medicine. *Molecular Cell Research*, pp. 1197-1206.
- Heizmann, C. W., 2019. S100 proteins: Diagnostic and prognostic biomarkers in laboratory medicine. *BBA - Molecular Cell Research*, pp. 1197-1206.
- Hitomi Sugino, Y. S., 2022. Influence of S100A2 in Human Diseases. *diagnostics*, pp. 1-12.
- Holly Green, X. Z. K. T. N. V. L. B. L. B. P. G. T. P. P. S., 2017. Alterations of p11 in brain tissue and peripheral blood leukocytes in Parkinson's disease. *PNAS*, pp. 2735-2740.
- I. Camby, F. L. G. T. S. N. M. F. L. D. B. S. J. B. C. H. R. P. I. S. R. K. C. D., 2008. Differential expression of S100 calcium-binding proteins characterizes distinct clinical entities in both WHO grade II and III astrocytic tumours. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, pp. 76-90.
- Isabelle Camby, N. N. M.-B.-. L. B. W. S. C.-A. M. M.-M. R. P. M. R. P. C. W. H. J. B. I. S. R. K. C. D., 1999. Supratentorial Pilocytic Astrocytomas, Astrocytomas, Anaplastic

Astrocytomas and Glioblastomas are Characterized by a Differential Expression of S100 Proteins. *Brain Pathology*, pp. 1-19.

Iverson, G. L., 2017. Negative Predictive Power. *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology*, p. 1720–1722.

Ivy Y. Choi, D. M. G. M. J. H. R. M. T. C. A. W. D. F. T. V. J. R. P. P. T. D. H., 2015. MRP8/14 serum levels as a strong predictor of response to biological treatments in patients with rheumatoid arthritis. *BMJ*, pp. 499-505.

J. C. Lindsey, M. E. L. J. A. A. R. J. G. D. W. E. S. C. C., 2007. Epigenetic deregulation of multiple S100 gene family members by differential hypomethylation and hypermethylation events in medulloblastoma. *British Journal of Cancer*, p. 267–274.

J. Peter, H. B., 2021. Immunoglobulin cell adhesion molecules of the Ig-FNIII type and neurodevelopment. *Factors Affecting Neurodevelopment*, pp. 105-119.

Jack Dekker, S. O. D., 1995. Herbicide-Resistant Field Crops. *Advances in Agronomy*, pp. 1-358.

James N. Tsoporis, A. M. A. H. F. D. P. P. L. T. G. P., 2005. S100B Expression Modulates Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction in Mice. *Circulation*, pp. 598-606.

James N. Tsoporis, F. M. T. G. P., 2010. S100B: a multifunctional role in cardiovascular pathophysiology. *Amino Acids*, pp. 843-847.

James Turvill, A. A. N. S. K. A. M. C. K. P. K. L. D. V. B. K. F. L. H. A. J. R., 2016. Faecal calprotectin in patients with suspected colorectal cancer: a diagnostic accuracy study. *British Journal of General Practice*, pp. 499-506.

Jamileh Farokhzadian, P. M. S. V. B., 2019. S100A12-CD36 axis: A novel player in the pathogenesis of atherosclerosis?. *Cytokine*.

Jens Pietzsch, S. H., 2009. Human S100A12: a novel key player in inflammation?. *Amino Acids*, pp. 381-389.

Ji Liu, X. L. G.-L. D. H.-W. Z. D.-L. C. J.-J. D. J.-Y. Z. J.-P. L. W.-Z. W., 2008. In silico analysis and verification of S100 gene expression in gastric cancer. *BMC Cancer*, pp. 1-7.

Jing Zhong, C. L. Y.-j. C. Q.-h. Z. J. Y. X. K. S.-R. C. G.-b. W. X.-y. Z. R.-x. C., 2016. The association between S100A13 and HMGA1 in the modulation of thyroid cancer proliferation and invasion. *Journal of Translational Medicine*, pp. 1-13.

Johan Undén, B. R., 2009. A new objective method for CT triage after minor head injury--serum S100B. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, pp. 13-17.

Joly H.L. Kwek, A. W. C. L. M. F. K. R. N. J. A. S., 2013. Molecular evolution of a novel marsupial S100 protein (S100A19) which is expressed at specific stages of mammary gland and gut development. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, pp. 4-16.

Joseph P. Zackular, W. J. C. E. P. S., 2015. Nutritional Immunity: S100 Proteins at the Host-Pathogen Interface. *Journal of Biological Chemistry*, pp. 18991-18998.

Julie Mondet, S. C. P. M., 2021. Pathogenic Roles of S100A8 and S100A9 Proteins in Acute Myeloid and Lymphoid Leukemia: Clinical and Therapeutic Impacts. *MDPI Molecules*, pp. 1-16.

Jung-Won Lee, Y.-J. C. S. P. H.-W. G. H.-Y. S. S.-Y. H., 2017. Serum S100 protein could predict altered consciousness in glyphosate or glufosinate poisoning patients. *Clinical Toxicology*, pp. 357-359.

Karen M. Boeshans, R. W. C. V. W. G. D. E. T. C. M. S. H. Y. B. A., 2006. Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction of human S100A15. *Acta Crystallographica Section F*, pp. 467-470.

Katrin Ridinger, B. W. S. I. D. J. A. C. C. W. H., 2000. S100A13. Biochemical characterization and subcellular localization in different cell lines. *Journal of Biological Chemistry*, pp. 8686-8694.

Ken Kataoka, T. O. H. M. M. M. K.-I. Y. M. S. N.-H. H., 2011. S100A7 promotes the migration and invasion of osteosarcoma cells via the receptor for advanced glycation end products. *Oncology Letters*, pp. 1149-1153.

Kenji Ite, K. Y. K. K. N. S. a. M. U., 2020. Optimal Mutant Model of Human S100A3 Protein Citrullinated at Arg51 by Peptidylarginine Deiminase Type III and Its Solution Structural Properties. *ACS Omega*, p. 4032–4042.

Kenji Kizawa, Y. J. T. I. H. T. M. U. C. W. Y. I., 2013. Human S100A3 tetramerization propagates Ca²⁺/Zn²⁺ binding states. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research*, pp. 1712-1719.

King, T. C., 2007. 4 - Genetic and Perinatal Disease. *Elsevier's Integrated Pathology*, pp. 89-110.

Kristo Erikson, T. I. A.-K. J. K. J. H. L. R. K. K. H. H. H. S., 2018. Elevated serum S-100 β in patients with septic shock is associated with delirium. *Anaesthesiologica Scandinavica*, pp. 69-73.

L. Padilla, S. D. J. A. M. M. J. M. M. L. R. T. C. R. H. C. C. L. L. S. B. J. C. R. M. F. M. J. L. H., 2017. S100A7: from mechanism to cancer therapy. *Oncogene*, p. 6749–6761 .

L.G. Costa, M. A., 2014. Toxicology of Pesticides. *Reference Module in Biomedical Sciences*.

Leclerc, E., 2014. The Roles of S100 Proteins and RAGE in Melanoma. *Breakthroughs in Melanoma Research*, pp. 331-356.

Libero Lauriola, F. M. N. M. J. G. G. C. B. W. S. C. W. H. F. O. R., 2000. Prognostic significance of the Ca²⁺ binding protein S100A2 in laryngeal squamous-cell carcinoma. *International Journal of Cancer*, pp. 345-349.

- Liliana Santamaria-Kisiel, A. C. R.-D. a. G. S. S., 2006. Calcium-dependent and -independent interactions of the S100 protein family. *Biochemical journal*, pp. 1-17.
- Linqiang Zhang, T. Z. H. M. B. L., 2021. The Calcium Binding Protein S100A11 and Its Roles in Diseases. *Frontiers in Cell and Developmental Biology, S100A11 and Related Diseases*, pp. 1-14.
- Lucas C. Wheeler, M. J. H., 2017. Human S100A5 binds Ca²⁺ and Cu²⁺ independently. *BMC Biophysics*, pp. 1-9.
- Lucie Andrés Cerezo, B. Š. K. P. D. V. D. D. C. H. N. K. P. J. V. L. Š., 2017. Calgizzarin (S100A11): a novel inflammatory mediator associated with disease activity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, pp. 1-10.
- M. T. Hansen, B. F. N. C. L. Q. N. A. B. G.-S. J. K. A. A.-A. P. H. M. O. U. S. G. H. N. P. E. S. E. L. J. P. S. M. G., 2014. A link between inflammation and metastasis: serum amyloid A1 and A3 induce metastasis, and are targets of metastasis-inducing S100A4. *Oncogene*, pp. 424-435.
- Magdalena Kopeć-Mędrek, M. W. E. J. K., 2016. Calprotectin in rheumatic diseases: a review. *Reumatologia/Rheumatology*, pp. 306-309.
- Mariam Grigorian, N. A. E. L., 2008. Metastasis-Inducing S100A4 Protein: Implication in Non-Malignant Human Pathologies. *Current Molecular Medicine*, pp. 492-496.
- Massimo Ciccozzi, R. M. G. R. M. A. V. S. A. A. S. V. T., 2016. Critical review of sham surgery clinical trials: Confounding factors analysis. *Annals of Medicine and Surgery*, pp. 21-26.
- Matilde Yáñez, J. G.-L. M. C.-T., 2012. Calcium Binding Proteins. *Calcium Signaling*, pp. 461-482.
- Min Zhu, H. W. J. C. W. L. G. A. Y. P. Q. Z. R. X. Y. L., 2017. Calcium-binding protein S100A14 induces differentiation and suppresses metastasis in gastric cancer. *Cell Death & Disease*, pp. 1-12.
- Mingbing Xiao, T. L. Y. J. F. J. W. N. J. Z. B. B. C. L. R. N., 2018. S100A11 promotes human pancreatic cancer PANC-1 cell proliferation and is involved in the PI3K/AKT signaling pathway. *Oncology Letters*, pp. 175-182.
- Mizuko Tanaka, N. I.-T. N. S. K. N. T. M. A. H. H. C. S. Y. T. O. T. S., 2015. Co-expression of S100A14 and S100A16 correlates with a poor prognosis in human breast cancer and promotes cancer cell invasion. *BMC Cancer*, pp. 1-14.
- Monika Pruenster, T. V. J. R. M. S., 2016. S100A8/A9: From basic science to clinical application. *Pharmacology & Therapeutics*, pp. 120-131.
- Moroz O.V., B. W. W. H. H. W. I. A. N. V. X. J. P. O. L. I. S. A. D. P. B. P. F. D. B. I., 2009. Both Ca²⁺ and Zn²⁺ are essential for S100A12 protein oligomerization and function. *BMC Biochem*, pp. 1-18.

- Nadia D'Ambrosi, M. M. S. A., 2021. S100A4 in the Physiology and Pathology of the Central and Peripheral Nervous System. *Cells*, pp. 1-13.
- Nilah Ahimsadasan, V. R. M. Z. K. S. A. K., 2022. *StatPearls Publishing, Neuroanatomy, Dorsal Root Ganglion*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532291/>
- Nissenson, E. V. L. a. A. R., 2012. *Nephrology Secrets (3rd Edition)*, p. 619-652. s.l.:Mosby.
- Nissenson, E. V. L. a. A. R., 2012. *Nephrology Secrets (Third Edition)*, p. 619-652. s.l.:Mosby.
- O. Hardiman, A. A.-C. A. C. E. C. G. L. W. R. P. S. Z. S. L. v. d. B., 2017. Amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*, pp. 1-47.
- O. Yasar, T. A. C. O. F. A. T., 2017. Significance of S100A8, S100A9 and calprotectin levels in bladder cancer. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, pp. 437-441.
- Peter H. Watson, E. R. L. L. C. M., 1998. Psoriasin (S100A7). *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, pp. 567-571.
- R. Donato, B. C. G. S. F. R. K. H. D. W. a. C. G., 2013. Functions of S100 Proteins. *Current molecular medicine*, pp. 24-57.
- Ran Tao, Z.-F. W. W. Q. Y.-F. H. W.-Q. Y. W.-Y. S. H.-J. L., 2017. Role of S100A3 in human hepatocellular carcinoma and the anticancer effect of sodium cantharidinate. *Experimental and Therapeutic Medicine*, pp. 2812-2818.
- RefSeq, 2008. *National Library of Medicine*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6262>
- Reinhart Speeckaert, S. V. E. H. N. v. G., 2017. S100B Is a Potential Disease Activity Marker in Nonsegmental Vitiligo. *Journal of Investigative Dermatology*, pp. 1445-1453.
- Riikka Harpio, R. E., 2004. S100 proteins as cancer biomarkers with focus on S100B in malignant melanoma. *Clinical Biochemistry*, pp. 512-518.
- Roland Wicki, C. F. F. A. S. C. W. H. B. W. S., 1997. Repression of the candidate tumor suppressor gene S100A2 in breast cancer is mediated by site-specific hypermethylation. *Cell Calcium*, pp. 243-254.
- Ronald Wolf, T. R. S. H. Y., 2010. Novel S100A7 (psoriasin)/ S100A15 (koebnerisin) subfamily - highly homologous but distinct. *Amino Acids*, pp. 789-796.
- Rosario Donato, G. S. I. G., 2017. S100A6 protein: functional roles. *Cellular and Molecular Life Sciences*, pp. 2749-2760.
- Ruisheng Song, K. S., 2021. S100A8/S100A9 cytokine acts as a transcriptional coactivator during breast cellular transformation. *Science Advances*, pp. 1-13.

- S. DUARTE-COSTA, R. C.-F. J. S. N. A. F. L.-M., 2014. S100A1: a Major Player in Cardiovascular Performance. *Physiological Research*, pp. 669-681.
- Saeed Safari, A. B. M. E. A. N., 2015. Evidence Based Emergency Medicine Part 2: Positive and negative predictive values of diagnostic tests. *Emergency*, pp. 87-88.
- Saijun Zhou, J. B. Y. W. S. P., 2016. S100 β as a biomarker for differential diagnosis of intracerebral hemorrhage and ischemic stroke. *Neurological Research*, pp. 327-332.
- Sandhya G. Rani, K. M. S. C. Y., 2014. Interaction of S100A13 with C2 domain of receptor for advanced glycation end products (RAGE). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, pp. 1718-1728.
- Sandra Jansen, R. P. S. L. L. J. G. S. O. M. M. T. P. L.-O. B., 2013. Expression and Function of Psoriasin (S100A7) and Koebnerisin (S100A15) in the Brain. *Infection and Immunity, American Society for Microbiology*, pp. 1788-1797.
- Sebastian Wiberg, J. K. B. K. B. M. B. N. A. M. S. C. H. M. W., 2017. The biomarkers neuron-specific enolase and S100b measured the day following admission for severe accidental hypothermia have high predictive values for poor outcome. *Clinical Paper*, pp. 49-53.
- Sedaghat F., N. A., 2008. S100 protein family and its application in clinical practice. *Hippokratia*, pp. 198-204.
- Sergei E. Permyakov, E. N. Y. A. S. K. M. E. P. V. N. U. E. A. P., 2020. Mouse S100G protein exhibits properties characteristic of a calcium sensor. *Cell Calcium*, pp. 1-11.
- Shrawan Kumar Mishra, H. R. S. M. S., 2012. S100A4 calcium-binding protein is key player in tumor progression and metastasis: preclinical and clinical evidence. *Cancer and Metastasis Reviews*, pp. 163-172.
- Shrestha P., M. Y. K. W. M. M. T. Y. I. E. S. B. a. H. C., 1998. Localization of Ca²⁺-binding S100 proteins in epithelial tumours of the skin. *Virchows Arch*, pp. 53-59.
- Shreya Agarwal, D. K. A., 2017. Kawasaki disease: etiopathogenesis and novel treatment strategies. *Expert Review of Clinical Immunology*, pp. 247-258.
- Silvia Yelmo-Cruz, A. L. M.-F. P. A.-G., 2013. S100B and schizophrenia. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, pp. 67-75.
- Sören Bruhn, Y. F. F. B. M. G. H. Z. A. K. A. K. B. S. A. B. N. D. H. W. Y. Z. J. K. N. A. M. K. B. C. N. e. a., 2014. A generally applicable translational strategy identifies S100A4 as a candidate gene in allergy. *Science Translational Medicine*, pp. 1-24.
- Steven T. Leach, Z. Y. I. M. C. S. C. L. G. A. M. C. A. S. D., 2007. Serum and mucosal S100 proteins, calprotectin (S100A8/S100A9) and S100A12, are elevated at diagnosis in children with inflammatory bowel disease. *Scand J. Gastroenterol*, pp. 1321-1331.

- Takeo Matsunaga, T. O. K. A. H. K. K. O. H. K. N. I. Y. M. S. T. Y. O. S. G. M. R. M. N. M. T., 2017. S100P in Duodenal Fluid Is a Useful Diagnostic Marker for Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Pancreas*, pp. 1288-1295.
- Tal Gazitt, C. L. K. B. E., 2016. Citrullination in Rheumatoid Arthritis—A Process Promoted by Neutrophil Lysis?. *Rambam Maimonides Medical Journal*, pp. 1-6.
- Taylor M. Drake, V. G., 2022. *StatPearls-Calcium*. [Ηλεκτρονικό]
Available at: <https://www.statpearls.com>
- Thiruvengadam Arumugam, C. D. L., 2010. S100P: a novel therapeutic target for cancer. *Amino Acids*, pp. 893-899.
- Tian Tian, X. L. Z. H. J. M. Z. L. H. C. Z. C., 2017. S100A1 promotes cell proliferation and migration and is associated with lymph node metastasis in ovarian cancer. *Discovery Medicine*, pp. 235-245.
- Ting Wang, Y. L. A. T. S. Z. T. Y. T. C. L. G. M. C. H. R., 2015. Diagnostic significance of S100A2 and S100A6 levels in sera of patients with non-small cell lung cancer. *Tumor Biology*, p. 2299–2304 .
- Ulrike Stein, S. B. P. H. I. W. M. N. K.-D. W. P. M. S., 2011. Diagnostic and Prognostic Value of Metastasis Inducer S100A4 Transcripts in Plasma of Colon, Rectal, and Gastric Cancer Patients. *The Journal of Molecular Diagnostics*, Vol. 13, No. 2, pp. 189-198.
- Urvashi Langeh, S. S., 2021. Targeting S100B Protein as a Surrogate Biomarker and its Role in Various Neurological Disorders. *Current Neuropharmacology*, pp. 265-277.
- V. Calderone, M. F. G. G. C. L., 2017. Solving the crystal structure of human calcium-free S100Z: the siege and conquer of one of the last S100 family strongholds. *JBIC Journal of Biological Inorganic Chemistry*, p. 519–526 .
- Vogel, H. J., 2002. *Calcium-Binding Protein Protocols, Calcium-Binding Proteins*, pp 3-20. s.l.:s.n.
- Wang Wang, M. L. A. G. G.-S. J. M. M., 2014. Differential effects of S100 proteins A2 and A6 on cardiac Ca²⁺ cycling and contractile performance. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, pp. 117-125.
- Wells, A., 1999. EGF receptor. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, pp. 637-643.
- Wiesława Leśniak, Ł. P. S. A. F., 2009. S100A6 – New facts and features. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, pp. 1087-1092.
- William L. Stanford, J. B. C. S. P. C., 2001. Gene-trap mutagenesis: past, present and beyond. *Nature Reviews Genetics*, p. 756–768.
- Xu Sun, T. W. C. Z. K. N. Z.-R. G. S.-X. C. T.-T. H. D. H., 2017. S100A16 is a prognostic marker for colorectal cancer. *Journal of Surgical Oncology*, pp. 275-283.

- Xuan Xiao, C. Y. S.-L. Q. Y.-D. S. C.-Y. Z. R. C. L. H. C. Z., 2020. S100 proteins in atherosclerosis. *Clinica Chimica Acta*, pp. 293-304.
- Ying Liu, C. B. N. H. J. R. P.-H. S. S. C. G. C. Y. G. L. K. S. D. C. B. B. A.-S. X. T. C. H. W. G. J. L. Y., 2017. Psoriasin promotes invasion, aggregation and survival of pancreatic cancer cells; association with disease progression. *International Journal of Oncology*, pp. 1491-1500 .
- Yonathan Freund, B. B. J. B. N. B. S. L. T. H. V. N. M. B. R. P. B. R. P. H. B. I., 2015. Predictive value of S100-B and copeptin for outcomes following seizure: the BISTRO International Cohort Study. *PLoS One*, pp. 1-13.
- Yuan-yuan Wu, X.-f. L. S. W. X.-n. N. S.-q. Y. C. H. J. L., 2022. Role of the S100 protein family in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research and Therapy*, pp. 1-9.
- Yubin Zhou, S. X. a. J. J. Y., 2014. Calciomics: integrative studies of Ca²⁺-binding proteins and their interactomes in biological systems. *Metallomics*, pp. 29-42.
- Yuriko Saiki, A. H., 2019. Multiple functions of S100A10, an important cancer promoter. *Pathology International*, pp. 629-636.
- Z. Fang, N. F. K. T. E. L. E. N. K., 2006. Sensory neurite outgrowth on white matter astrocytes is influenced by intracellular and extracellular S100A4 protein. *Journal of Neuroscience Research*, pp. 619-626.
- Zafer Buyukterzi, U. C. S. A. A. G. S. K. D. K. K. M. G., 2017. Enhanced S100A9 and S100A12 expression in acute coronary syndrome. *Biomarkers in Medicine*, pp. 229-237.
- Zeeshan Sattar, A. L. B. J. C. R. P. G., 2021. The S100 Protein Family as Players and Therapeutic Targets in Pulmonary Diseases. *Pulmonary Medicine*, pp. 1-20.
- Zhenzhen Li, Y. L. S. L. Z. Q., 2020. Extracellular S100A4 as a key player in fibrotic diseases. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, pp. 5973-5983.
- Zhiliang Lu, S. Z. C. L. X. W. G. Z. F. W. S. W. J. H. S. M. Y. L. Z. W. N. S. J. H., 2021. S100A7 as a potential diagnostic and prognostic biomarker of esophageal squamous cell carcinoma promotes M2 macrophage infiltration and angiogenesis. *Clinical and Translational Medicine*, pp. 1-17.
- Χουντής, Π. Γ., 2013. Μελέτη της έκφρασης της πρωτεΐνης S100 και συσχετισμός με άλλα μοριακά μονοπάτια που συμμετέχουν στην καρκινογένεση, σε ασθενείς με μη-μικροκυτταρικό καρκίνο του πνεύμονα (Διδακτορική Διατριβή), page 7. Αλεξανδρούπολη: s.n.