



# ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ  
ΤΟΜΕΑΣ ΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

**ΤΙΤΛΟΣ :** ΦΥΣΙΚΑ ΚΑΙ ΕΔΩΔΙΜΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΜΕ ΠΙΘΑΝΗ ΚΥΤΤΑΡΟΣΤΑΤΙΚΗ Η΄  
ΧΗΜΕΙΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΗΡV ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΩΝ ΚΑΡΚΙΝΩΝ

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ:** ΜΑΡΙΑ ΗΛΕΚΤΡΑ ΡΕΤΣΙΔΟΥ

**ΑΡΙΘΜΟΣ ΜΗΤΡΩΟΥ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ:** 18678323

**ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ:** ΑΙΚΑΤΕΡΙΝΗ ΓΙΩΤΗ

**ΤΙΤΛΟΣ:** ΑΚΑΔΗΜΑΪΚΟΣ ΣΥΝΕΡΓΑΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2023



# UNIVERSITY OF WEST ATTICA

FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES  
DIVISION OF MEDICAL LABORATORIES

**TITLE:** NATURAL AND EDIBLE PRODUCTS WITH POSSIBLE CYTOSTATIC OR  
CHEMOTHERAPEUTIC EFFECT ON HPV ASSOCIATED CANCERS

**DISSERTATION**

**NAME:** MARIA ILEKTRA RETSIDOU

**CANDIDATE NUMBER:** 18678323

**SUPERVISOR:** KATERINA GIOTI

**TITLE:** ACADEMIC FELLOW

ATHENS 2023

## **Μέλη Τριμελούς Εξεταστικής Επιτροπής**

**Αικατερίνη Γιώτη**

**Απόστολος Μπελούκας**

**Δημήτριος Χανιώτης**

## Δήλωση Συγγραφέα της παρούσας Διπλωματικής Εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Μαρία Ηλέκτρα Ρετσίδου του Οδυσσεύς, με αριθμό μητρώου 18678323, 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. Τέλος, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από εμένα 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».

**Υπογραφή**



## Ευχαριστίες

Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της πτυχιακής εργασίας του τμήματος Βιοιατρικών Επιστημών (κατεύθυνση: Ιατρικά Εργαστήρια) του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής.

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω όλου όσους συνέβαλλαν στην ολοκλήρωσή της. Αρχικά την επιβλέπουσα καθηγήτριά μου κ Κατερίνα Γιώτη, Ακαδημαϊκή Υπότροφο του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, τον κ Απόστολο Μπελούκα, αναπληρωτή καθηγητή του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, καθώς και τον κ Δημήτριο Χανιώτη, καθηγητή και πρόεδρο του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, για την αδιάκοπη υποστήριξη, τη συνεχή καθοδήγηση καθώς και για την άμεση παροχή συμβουλών σε όλη την διάρκεια συγγραφής της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω και την κ Ευαγγελία Τσιάννη, καθηγήτρια Φυσιολογίας του Πανεπιστημίου Brock στο Οντάριο του Καναδά, και όλη την ομάδα της για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν καθώς και την δυνατότητα που έδωσαν για να συμμετέχω ως κύρια συγγραφέας στο άρθρο ανασκόπησης με τίτλο «Resveratrol against Cervical Cancer: Evidence from In Vitro and In Vivo Studies» <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36558430/>

Τους ευχαριστώ θερμά, τον καθένα ξεχωριστά, για τον χρόνο που αφιέρωσαν και τις γνώσεις που μου έδωσαν. Ήταν καθοριστικές για την συνέχεια στις μεταπτυχιακές μου σπουδές.

## Περιεχόμενα

Περίληψη.....	8
Abstract.....	9
Συνοπμογραφίες.....	10
Κατάλογος Εικόνων.....	14
Κατάλογος Πινάκων.....	16

### A. Γενικό Μέρος

#### ΕΝΟΤΗΤΑ 1<sup>η</sup>

##### Ο Ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων

1.1 Γονιδίωμα του Ιού.....	17
1.2 Οι πρωτεΐνες του Ιού και Δράση τους.....	19
1.3 Ταξινόμηση του Ιού.....	21
1.4 Κύκλος Ζωής του Ιού.....	23

#### ΕΝΟΤΗΤΑ 2<sup>η</sup>

##### Νοσήματα και Ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων

2.1 Νοσήματα που σχετίζονται με τον Ιό.....	27
2.2 Υψηλού κινδύνου γονότυποι HPV.....	28
2.2.1 Καρκίνος του Τραχήλου της Μήτρας.....	28
2.3 Χαμηλού κινδύνου γονότυποι HPV.....	29
2.3.1 Κονδυλώματα Γεννητικών Οργάνων.....	31
2.4 Συνοπτικά οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι τύποι του Ιού.....	31

#### ΕΝΟΤΗΤΑ 3<sup>η</sup>

##### Ο Καρκίνος του Τραχήλου της Μήτρας

3.1 Προδιαθεσικοί Παράγοντες.....	33
-----------------------------------	----

3.2	Επιδημιολογία.....	34
3.3	Πρόληψη.....	36
3.4	Διάγνωση.....	39
3.5	Παθογένεια Εξαρτώμενη από τον Ιό Ανθρώπινων Θηλωμάτων.....	40
3.6	Μοριακά Μονοπάτια Σηματοδότησης στον Καρκίνο του Τραχήλου της Μήτρας.....	45
3.7	Θεραπεία.....	48

## **B. Ειδικό Μέρος**

### **ΕΝΟΤΗΤΑ 4<sup>η</sup>**

#### **Η Φυσική Ουσία Ρεσβερατρόλη**

4.	Δομή και Δράσεις Ρεσβερατρόλης.....	50
----	-------------------------------------	----

### **ΕΝΟΤΗΤΑ 5<sup>η</sup>**

#### **Μελέτες Ρεσβερατρόλης στον HPV Καρκίνο Τραχήλου της Μήτρας**

5.1	<i>In vitro</i> Μελέτες.....	52
5.2	<i>In vivo</i> Μελέτες.....	69

### **ΕΝΟΤΗΤΑ 6<sup>η</sup>**

	<b>Μέθοδοι-Τρόποι αναζήτησης πληροφοριών.....</b>	<b>73</b>
--	---	-----------

### **ΕΝΟΤΗΤΑ 7<sup>η</sup>**

	<b>Συμπεράσματα/Συζήτηση.....</b>	<b>75</b>
--	-----------------------------------	-----------

	<b>Βιβλιογραφία.....</b>	<b>84</b>
--	--------------------------	-----------

## Περίληψη

Τις τελευταίες δεκαετίες ο ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων (HPV) αποτελεί την συνηθέστερη σεξουαλικά μεταδιδόμενη λοίμωξη παγκοσμίως. Με περισσότερους από 240 διαφορετικούς τύπους σε ανθρώπους και ζώα, που ταξινομούνται σε 39 γένη, ο ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων μπορεί να θεωρηθεί ότι ανήκει σε μία από τις πιο διαδεδομένες οικογένειες ιών στα σπονδυλωτά. Στο άνθρωπο, ο ιός μεταδίδεται μέσω της σεξουαλικής επαφής και της άμεσης επαφής μολυσμένου δέρματος, και ανάλογα με τον βαθμό κινδύνου που εμφανίζει είναι υπεύθυνος για μία πληθώρα νοσημάτων. Οι χαμηλού κινδύνου τύποι του ιού σχετίζονται με τα θηλώματα, ενώ οι υψηλού κινδύνου με καρκίνους σε διάφορες ανατομικές περιοχές όπως τον τραχήλο της μήτρας, τον λαιμό και την κεφαλή, τον πρωκτό κ.ά. Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η παρουσίαση της δράσης φυσικών προϊόντων που μελετώνται για την πιθανή τους χρήση ως συμπληρωματική θεραπεία σε διάφορους HPV-οφειλόμενους καρκίνους. Συγκεκριμένα αναλύεται ο τρόπος δράσης του βιοενεργού συστατικού ρεσβερατρόλη σε σχέση με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, ο οποίος έχει εμφανιστεί έπειτα από μόλυνση της περιοχής με τον Ιό των Ανθρώπινων Θηλωμάτων. Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί έναν από τους πιο συχνούς καρκίνους στις γυναίκες, με περισσότερες από 600.000 περιπτώσεις να διαγιγνώσκονται και περίπου 300.000 γυναίκες να χάνουν την ζωή τους κάθε χρόνο. Η δράση της ρεσβερατρόλης αναλύεται με βάση τις *in vitro* μελέτες σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας, καθώς και τις *in vivo* μελέτες σύμφωνα με τις οποίες η ρεσβερατρόλη εμφανίζει ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε συνδυασμό με μειωμένες παρενέργειες. Επιπλέον μελέτες θα αποσαφηνίσουν την πιθανή χρήση της ρεσβερατρόλης ως συμπληρωματική θεραπευτική επιλογή εναντίον του HPV-οφειλόμενου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

**Λέξεις-Κλειδιά:** Ιός Ανθρώπινων Θηλωμάτων (HPV), Καρκίνος Τραχήλου Μήτρας, Ρεσβερατρόλη, Ανάλυση *In vitro*, Ανάλυση *In vivo*



## Abstract

In the recent decades, the Human Papillomavirus (HPV) has been the most common sexually transmitted infection worldwide. With more than 240 different types in humans and animals, classified into 39 genera, Human Papillomavirus can be considered to belong to one of the most widespread families of viruses in vertebrates. In humans, the virus is transmitted through sexual contact and direct contact with infected skin, and depending on the degree of risk it presents, the virus is responsible for multitude of diseases. The low-risk types of the virus are associated with warts while the high risk types with cancers in various anatomical areas such as the cervix, neck and head, anus, etc. The purpose of this thesis is to present the action of natural products that are being studied as a complementary therapy for the various HPV-associated cancers. Specifically, the mechanisms of action of the bioactive component resveratrol are analyzed on cervical cancer, that has appeared after infection of the area with the Human Papillomavirus. Cervical cancer is one of the most common cancers in women and more than 600,000 cases are diagnosed and approximately 300,000 women die each year. The mechanisms of action for resveratrol are analyzed based on the *in vitro* studies on cervical cancer cell lines, and also on the *in vivo* studies, and according to both of them resveratrol has promising results in addition to reduced side effects. Further studies in the future will clarify the potential use of resveratrol as an adjunctive treatment against HPV-related cervical cancer.

**Keywords:** Human Papillomavirus (HPV), Cervical Cancer, Resveratrol, *In Vitro* Analysis, *In Vivo* Analysis

## Συνομογραφίες

<b>HPV</b>	Human Papillomavirus	Ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων
<b>DNA</b>	Deoxyribonucleic Acid	Δεσοξυριβονουκλεϊκό Οξύ
<b>RNA</b>	Ribonucleic Acid	Ριβονουκλεϊκό Οξύ
<b>mRNA</b>	Messenger Ribonucleic Acid	Αγγελιοφόρο Ριβονουκλεϊκό Οξύ
<b>EGFR</b>	Epidermal Growth Factor Receptor	Υποδοχέας Επιδερμικού Αυξητικού Παράγοντα
<b>MHC</b>	Major Histocompatibility Complex	Μείζον Σύμπλεγμα Ιστοσυμβατότητας
<b>ORF</b>	Open Reading Frame	Ανοικτό Πλαίσιο Ανάγνωσης
<b>Pap-Test</b>	Test Papanikolaou	Τεστ Παπανικολάου
<b>HR-HPV</b>	High Risk-Human Papillomavirus	Υψηλού Κινδύνου Τύπος του Ιού των Ανθρώπινων Θηλωμάτων
<b>LR-HPV</b>	Low Risk-Human Papillomavirus	Χαμηλού Κινδύνου Τύπος του Ιού των Ανθρώπινων Θηλωμάτων
<b>LSIL</b>	Low-Grade Squamous Intraepithelial Lesion	Χαμηλού Βαθμού Πλακώδης Ενδοεπιθηλιακή Βλάβη
<b>HSIL</b>	High-Grade Squamous Intraepithelial Lesion	Υψηλού Βαθμού Πλακώδης Ενδοεπιθηλιακή Βλάβη
<b>HIV</b>	Human Immunodeficiency Virus	Ιός της Ανθρώπινης Ανοσοανεπάρκειας
<b>RPR Test</b>	Rapid Plasma Reagin Test	Ταχεία Ορολογική Αντίδραση Πλάσματος
<b>EV</b>	Epidermodysplasia Verruciformis	Επιδερμοδυσπλασία Verruciformis
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης
<b>HSV-2</b>	Herpes Simplex 2	Ιός Απλού Έρπητα 2
<b>WHO</b>	World Health Organization	Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας
<b>VLPs</b>	Virus-Like Particles	Σωματίδια που μοιάζουν με Ιό
<b>VIA</b>	Visual Inspection with Acetic Acid	Οπτική Παρατήρηση με Οξικό Οξύ

<b>CINI</b>	Cervical Intraepithelial Neoplasia I	Τραχηλική Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία Τύπου I
<b>CINII</b>	Cervical Intraepithelial Neoplasia II	Τραχηλική Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία Τύπου II
<b>CINIII</b>	Cervical Intraepithelial Neoplasia III	Τραχηλική Ενδοεπιθηλιακή Νεοπλασία Τύπου III
<b>APOBEC</b>	Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic Polypeptide-like	Απολιποπρωτεΐνη Β προσομοιάζουσα το Καταλυτικό Πολυπεπτίδιο Επεξεργασίας mRNA
<b>TCR</b>	T-cell Receptor	Υποδοχέας T λεμφοκυττάρου
<b>PI3K</b>	Phosphoinositide 3-kinase	Κινάση της 3-φωσφοϊνοσιτίδης
<b>Akt</b>	Protein Kinase B	Πρωτεϊνική Κινάση Β
<b>JNK</b>	c-Jun N-terminal kinase	c-Jun N-Τελική Κινάση
<b>STAT3</b>	Signal transducer and activator of transcription 3	Μετατροπέας Σήματος και Ενεργοποιητής Μεταγραφής 3
<b>PKC</b>	Protein Kinase C	Πρωτεϊνική Κινάση C
<b>NF-κB</b>	Nuclear Factor kappa B	Πυρηνικός Παράγοντας κάπα Β
<b>VEGF</b>	Vascular Endothelial Growth Factor	Αγγειακός Ενδοθηλιακός Αυξητικός Παράγοντας
<b>COX-2</b>	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2	Συνθάση Προσταγλανδίνης-Ενδοπεροξειδίου 2
<b>EMT</b>	Epithelial-Mesenchymal Transition	Επιθήλιο Μεσεγχυματική Μετάβαση
<b>ERK</b>	Extracellular Signal-Regulated Kinase	Ρυθμιζόμενη από εξωκυτταρικά σήματα Κινάση
<b>JAK</b>	Janus kinase	Κινάση Janus
<b>RES</b>	Resveratrol	Ρεσβερατρόλη
<b>MMP-3 -9 -13</b>	matrix metalloproteinase-3, -9 κ'-13	Μεταλλοπρωτεϊνάση Μήτρας-3, -9 κ'-13
<b>PMA</b>	Phorbol Myristate Acetate	Οξική Μυριστική Φορβόλη
<b>PKCδ</b>	Protein kinase C delta type	Πρωτεϊνική Κινάση C δέλτα τύπου
<b>HIF-1α</b>	Hypoxia-Inducible Factor 1-alpha	Επαγόμενος από υποξία Μεταγραφικός Παράγοντας 1α
<b>siRNA</b>	Small Interfering RNA	Μικρό παρεμβαλλόμενο RNA

<b>Casp-3, -9</b>	Caspase -3, -9	Κασπάση -3, -9
<b>LC3-II</b>	Microtubule-associated Protein Light Chain 3-II	Ελαφριά αλυσίδα πρωτεΐνης 3-II που σχετίζεται με μικροσωληνίσκους
<b>Cat L</b>	Cathepsin L	Καθεψίνη L
<b>SCCA1</b>	Squamous-Cell Carcinoma Antigen 1	Αντιγόνο Ακανθοκυτταρικού Καρκινώματος 1
<b>LMP</b>	Latent Membrane Protein	Λανθάνουσα Πρωτεΐνη Μεμβράνης
<b>ATAD3A</b>	ATPase family AAA-domain containing protein 3A	Οικογένεια ΑΤΡάσης AAA-τομέας που περιέχει πρωτεΐνη 3A
<b>AP-1</b>	Activator Protein 1	Πρωτεΐνη Ενεργοποίησης 1
<b>HDM2</b>	Human Double Minute-binding protein-2	Ανθρώπινη Πρωτεΐνη δύο λεπτών σύνδεσης-2
<b>PIAS3</b>	Protein Inhibitor of activated STAT	Αναστολέας Πρωτεΐνης Ενεργοποιημένου STAT
<b>GRIM-19</b>	Genes associated with Retinoid-IFN-induced Mortality-19	Γονίδια που σχετίζονται με Θνησιμότητα που προκαλείται από Ρετινοειδές-IFN-19
<b>RT-PCR</b>	Real Time- Polymerase Chain Reaction	Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης σε Πραγματικό Χρόνο
<b>ICC</b>	Immunocytochemistry	Ανοσοϊστοχημεία
<b>CSC</b>	Cancer Stem Cells	Καρκινικά Βλαστοκύτταρα
<b>PI-RADS1</b>	Prostate Imaging Reporting and Data System 1	Σύστημα Αναφοράς και Δεδομένων Απεικόνισης Προστάτη 1
<b>AhR</b>	Aryl Hydrocarbon Receptor	Υποδοχέας Υδρογονάνθρακα Αρυλίου
<b>PISCR1</b>	Phospholipid Scramblase 1	Φωσφολιπιδική Σκράμπλαση 1
<b>TRAIL</b>	TNF-related Apoptosis-Inducing Ligand	Συνδέτης που προκαλεί απόπτωση που σχετίζεται με TNF
<b>Bim</b>	Bcl-2 Interacting Mediator of cell death	Πρωτεΐνη Λεμφώματος Β-κυττάρων 2
<b>NCLX</b>	Mitochondrial Sodium-Calcium Exchanger	Μιτοχονδριακός Εναλλάκτης νατρίου-ασβεστίου
<b>PIAS3</b>	Protein Inhibitor of Activated STAT 3	Πρωτεϊνικός Αναστολέας του ενεργοποιημένου STAT 3

<b>PCNA</b>	Proliferating Cell Nuclear Antigen	Πολλαπλασιαζόμενο Πυρηνικό Αντιγόνο Κυττάρου
<b>Bcl-2</b>	B-Cell Lymphoma 2	B-Κυτταρικό Λέμφωμα 2
<b>Bd-XL</b>	B-Cell Lymphoma-Extra Large	Λέμφωμα Β-Κυττάρων XL
<b>p53</b>	Cellular Tumor Antigen p53	Αντιγόνο Κυτταρικού Όγκου p53
<b>Rb</b>	Retinoblastoma Protein	Πρωτεΐνη Ρετινοβλαστώματος
<b>p21</b>	Cyclin-dependent Kinase Inhibitor 1	Αναστολέας Κινάσης εξαρτώμενος από την Κυκλίνη 1

## Κατάλογος Εικόνων

- Εικόνα 1.** Σχηματική αναπαράσταση του ιικού σωματιδίου του ιού HPV. (<https://viralzone.expasy.org/5>) .....17
- Εικόνα 2.** Σχηματική αναπαράσταση του γονιδιώματος του Alphapapillomavirus. (Della Fera AN, Warburton A, Coursey TL, Khurana S, McBride AA. *Persistent Human Papillomavirus Infection*. *Viruses*. 2021 Feb 20;13(2):321.).....19
- Εικόνα 3.** Τυπική οργάνωση του γονιδιώματος των υψηλού κινδύνου Alpha, Mu και Beta τύπων HPV. (Doorbar J., Egawa N., Griffin H., Kranjec C., Murakami I. (2015). *Human papillomavirus molecular biology and disease association*. *Rev Med Virol*. 25 (Suppl. 1): 2-23.) .....22
- Εικόνα 4.** Σχηματική αναπαράσταση του κύκλου ζωής του ιού HPV. (Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, Bakhtiari T, Azizi M, Bastan R, Hosseini R, Eskandari. *An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy*. *N.Front Immunol*. 2022 Jan 27;12:805695.) .....25
- Εικόνα 5.** Η εμφάνιση του καρκίνου τραχήλου της μήτρας στις γυναίκες παγκοσμίως, όλων των ηλικιών για το έτος 2018 (ανά 100.000). (Huang J, Deng Y, Boakye D, Tin MS, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE 3rd, Xu W, Zheng ZJ, Elcarte E, Withers M, Wong MCS; *NCD Global Health Research Group; Association of Pacific Rim Universities (APRU)*. *Gynecol Oncol*. 2022 Jan;164(1):85-92.).....35
- Εικόνα 6.** Η παγκόσμια θνησιμότητα για τον καρκίνο τραχήλου της μήτρας στις γυναίκες, όλων των ηλικιών για το έτος 2018 (ανά 100.000). (Huang J, Deng Y, Boakye D, Tin MS, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE 3rd, Xu W, Zheng ZJ, Elcarte E, Withers M, Wong MCS; *NCD Global Health Research Group; Association of Pacific Rim Universities (APRU)*. *Gynecol Oncol*. 2022 Jan;164(1):85-92.....36
- Εικόνα 7.** Προσέγγιση αυτοδειγματοληψίας σε χώρες που συνιστούν επίσημα προσυμπτωματικό έλεγχο για τον ιό HPV. (Serrano B, Ibáñez R, Robles C, Peremiquel-Trillas P, de Sanjosé S, Bruni L. *Worldwide use of HPV self-sampling for cervical cancer screening*. *Prev Med*. 2022 Jan;154:106900.) .....39
- Εικόνα 8.** Σχηματική απεικόνιση της εξαλλαγής φυσιολογικού επιθηλίου σε διηθητικό καρκίνο τραχήλου της μήτρας. (Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, Bakhtiari T, Azizi M, Bastan R, Hosseini R, Eskandari. *An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types,*

<i>Protection, and Efficacy.</i> N.Front Immunol. 2022 Jan 27;12:805695.).....	44
<b>Εικόνα 9.</b> Σχηματικά η παθογένεια του καρκίνου τραχήλου της μήτρας. (Dhanya Ramachandran , Thilo Dörk. <i>Genomic Risk Factors for Cervical Cancer.</i> Cancers 2021, 13(20), 5137;) .....	45
<b>Εικόνα 10.</b> Οργανική ένωση της ρεσβερατρόλης (Δημιουργήθηκε με BioRender) .....	51
<b>Εικόνα 11.</b> Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης όπως προκύπτουν από τις <i>in vitro</i> μελέτες (Δημιουργήθηκε με BioRender).....	76
<b>Εικόνα 12.</b> Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης με βάση τα δεδομένα από τις διαθέσιμες <i>in vivo</i> μελέτες (Δημιουργήθηκε με BioRender).....	77

## Κατάλογος Πινάκων

<b>Πίνακας 1.</b> Οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι τύποι HPV και οι ασθένειες που προκαλούν. (de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. <i>The natural history of human papillomavirus infection.</i> Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018 Feb;47:2-13.) .....	32
<b>Πίνακας 2.</b> Οι καρκινικές σειρές του τραχήλου μήτρας και ο τύπος του ιού HPV που περιέχουν. (Skok K, Gradišnik L, Maver U, Kozar N, Sobočan M, Takač I, Arko D, Kavalarič R. Gynaecological cancers and their cell lines. J Cell Mol Med. 2021 Apr;25(8):3680-3698.) (Zuñiga Martinez ML, López Mendoza CM, Tenorio Salazar J, García Carrancá AM, Cerbón Cervantes MA, Alcántara-Quintana LE. Establishment, authenticity, and characterization of cervical cancer cell lines. Mol Cell Oncol. 2022 Jun 1;9(1):2078628.) (Milligan SG, Veerapraditsin T, Ahamet B, Mole S, Graham SV. <i>Analysis of novel human papillomavirus type 16 late mRNAs in differentiated W12 cervical epithelial cells.</i> Virology. 2007 Mar 30;360(1):172-81.) (Hwang ES, Riese DJ 2nd, Settleman J, Nilson LA, Honig J, Flynn S, DiMaio D. Inhibition of cervical carcinoma cell line proliferation by the introduction of a bovine papillomavirus regulatory gene. J Virol. 1993 Jul;67(7):3720-9.).....	53
<b>Πίνακας 3.</b> Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης στις HPV καρκινικές κυτταρικές σειρές τραχήλου μήτρας: <i>in vitro</i> μελέτες .....	64
<b>Πίνακας 4.</b> Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης σε ποντικούς, με ζωικά μοντέλα HPV καρκίνου τραχήλου μήτρας: <i>in vivo</i> μελέτες .....	72



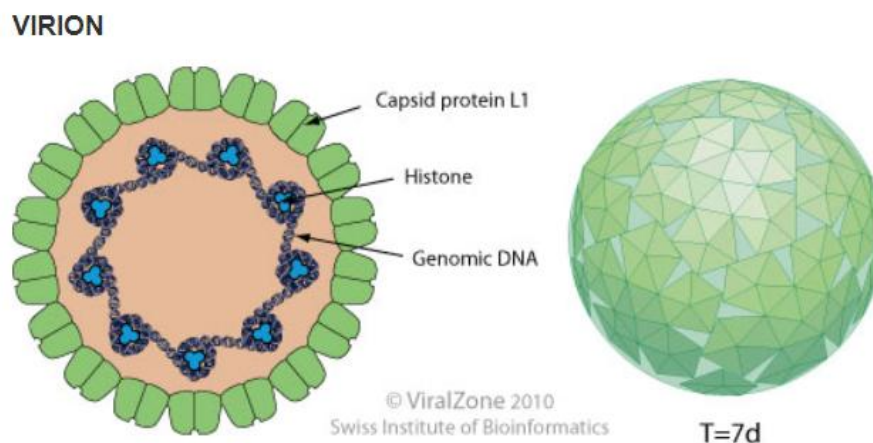
## A. Γενικό Μέρος

### ΕΝΟΤΗΤΑ 1<sup>η</sup>

#### Ο Ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων

##### 1.1 Δομή και Γονιδίωμα του Ιού

Το ιικό σωματίδιο του ιού HPV αποτελείται από ένα καψίδιο το οποίο είναι εικοσαεδρικό, δομείται από 72 πενταμερή καψομερίδια (το καθένα φτιαγμένο από πέντε δομικές πρωτεΐνες) έχοντας διάμετρο 60 nm, ενώ δεν διαθέτει έλυτρο. Σε κάθε ιικό σωματίδιο περιλαμβάνεται ένα μόνο μόριο δίκλωνου κυκλικού DNA που ισοδυναμεί με περίπου 8.000 ζεύγη βάσεων. Από την μεταγραφή αυτού του DNA προκύπτει ένα πολυκιστρονικό (παραγωγή πολλαπλών πρωτεϊνών από το ίδιο mRNA) προ-mRNA.



**Εικόνα 1.** Σχηματική αναπαράσταση του ιικού σωματιδίου του ιού HPV.

(viralzone)

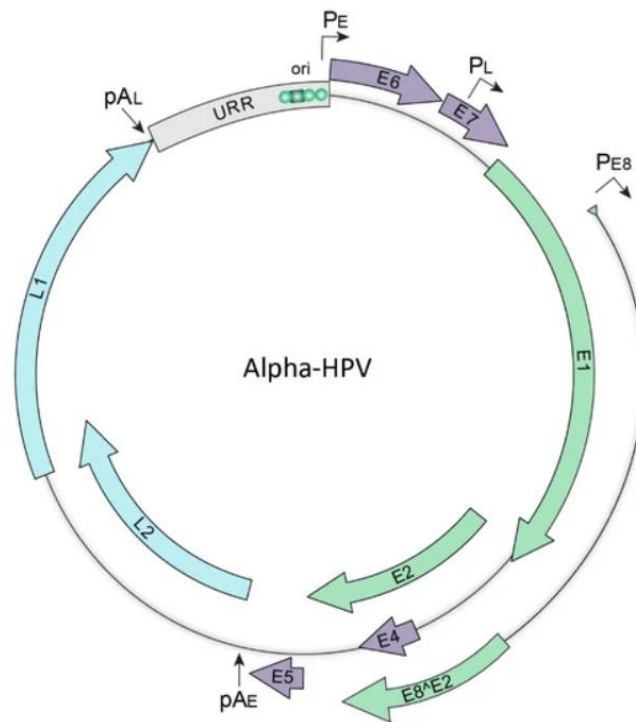
(<https://viralzone.expasy.org/5>)

Το γονιδίωμα του HPV έχει διαχωριστεί σε 3 γονιδιακές περιοχές και περιέχει περίπου 10 περιοχές ανοιχτού πλαισίου ανάγνωσης (Open Reading Frames ή ORFs) από τις οποίες κωδικοποιούνται διαφορετικές πρωτεΐνες. Από αυτό το μοναδικό mRNA οι πολυάριθμες πρωτεΐνες που μεταφράζονται κατατάσσονται ανάλογα με την λειτουργία τους σε δομικές, μη δομικές ή λειτουργικές και ρυθμιστικές.

Η αρχική ή πρώιμη γονιδιακή περιοχή του γονιδιώματος (Early region ή E) κυμαίνεται από 400 έως 1000 ζεύγη βάσεων και αφορά την μετάφραση μη δομικών πρωτεϊνών, οι οποίες συμβολίζονται με το γράμμα E. Αυτές οι έξι λειτουργικές πρωτεΐνες είναι οι E1, E2, E4, E5, E6 και E7.

Στην συνέχεια ακολουθεί η όψιμη γονιδιακή περιοχή (Late region ή L) των δύο κύριων δομικών πρωτεϊνών που συμβολίζονται με το γράμμα L, η L1 και η L2. (1)

Τέλος η τελική περιοχή που ονομάζεται και μακρά περιοχή ελέγχου (Long Control Region ή LCR), περιλαμβάνει μια αναρροϊκά ρυθμιστική περιοχή (Upstream Regulatory Region ή URR) και μία αμετάφραστη περιοχή (Noncoding Region ή NCR). Αυτή η τελική περιοχή περιέχει πληροφορίες σχετικά με την διαδικασία της αντιγραφής, της μεταγραφής του γενετικού υλικού του ιού και συνολικά ελέγχει την διαδικασία της γονιδιακής ρύθμισης στον ιό. (2) (3) (1) (4)



**Εικόνα 2.** Σχηματική αναπαράσταση του γονιδιώματος του Αlphaρapillomavirus (ο πιο καλά μελετημένος τύπος του ιού HPV). Το πράσινο και το μπλε βέλος απεικονίζουν την πρώιμη και την όψιμη γονιδιακή περιοχή αντίστοιχα. Η ρυθμιστική περιοχή εμφανίζεται με γκρι χρώμα και περιέχει ρυθμιστικά στοιχεία όπως την αρχή της αντιγραφής (ori). Η περιοχή ori περιέχει θέσεις δέσμησης για τις πρωτεΐνες αντιγραφής E1 και E2. Τέλος περιλαμβάνονται ο πρώιμος (P<sub>E</sub>), ο όψιμος (P<sub>L</sub>) και ο E8 (P<sub>E8</sub>) εκκινήτης καθώς και η πρώιμη (pA<sub>E</sub>) και όψιμη (pA<sub>L</sub>) θέση πολυαδενυλίωσης. (Della Fera AN, Warburton A, Coursey TL, Khurana S, McBride AA. Persistent Human Papillomavirus Infection. *Viruses*. 2021 Feb 20;13(2):321.)

## 1.2 Οι Πρωτεΐνες του Ιού και Δράση τους

Αποδεδειγμένα, τόσο οι δομικές όσο και οι λειτουργικές πρωτεΐνες του ιού HPV συμβάλλουν στην παθογονικότητα του με ποικίλους τρόπους. Πιο συγκεκριμένα,

οι E1 και E2 πρώιμες πρωτεΐνες απαιτούνται προκειμένου να πραγματοποιηθεί η αντιγραφή και η ρύθμιση της μεταγραφής και της διαίρεσης του ιικού γονιδιώματος.

Η E1 ακόμα κωδικοποιεί μία ATP-εξαρτώμενη ιική DNA ελικάση που μπορεί να συνδέεται σε μία πλούσια σε AT περιοχή της αντιγραφής.

Η ολική E2 πρωτεΐνη κωδικοποιεί έναν ενεργοποιητή της μετάφρασης και έναν μεταγραφικό καταστολέα για τα γονίδια E6/E7.

Η E4 πρωτεΐνη είναι απαραίτητη για την αντιγραφή του ιικού γονιδιώματος και εκφράζεται στα τελικά διαφοροποιημένα κερατινοκύτταρα κατά την διάρκεια των τελευταίων σταδίων του κυτταρικού κύκλου.

Η E5 συνεισφέρει στην συγκρότηση και ωρίμανση του ιικού σωματιδίου, στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, στην αλλαγή σηματοδότησης μονοπατιών (EGFR) και στην ανοσοαναγνώριση (MHC). (5) (3) Η E5 αποτελεί μία μικρή υδρόφοβη διαμεμβρανική πρωτεΐνη ο ρόλος της οποίας έχει μελετηθεί διεξοδικά στο Papillomavirus τύπο 1 που προσβάλλει τα βοοειδή. Εκεί βρέθηκε ότι η E5 διαμεμβρανική πρωτεΐνη σχηματίζει διμερή, αλληλεπιδρά και ενεργοποιεί υποδοχείς της τυροσίνης και της κινάσης. (6) Επιπλέον η Hρν E5 πρωτεΐνη φαίνεται πως έχει κάποιον ρόλο στην απόπτωση και στην αποφυγή της ανοσολογικής απάντησης των προσβεβλημένων κυττάρων. (7)

Η πρωτεΐνη E5 μαζί με τις E6 και E7 ονομάζονται ογκοπρωτεΐνες γιατί η έκφρασή τους σχετίζεται με την διαφοροποίηση και την αθανатоποίηση των προσβεβλημένων κυττάρων. Ακόμα, η έκφραση αυτών των γονιδίων επιτρέπει την διάχυση του ιικού γονιδιώματος σε ανώτερα στρώματα επιθηλιακών κυττάρων, αυξάνοντας έτσι την έκταση της βλάβης του ιού HPV.

Αναλυτικότερα η πρωτεΐνη E6 κυρίως αποσταθεροποιεί την πρωτεΐνη p53 (κυτταρικό αντιγόνο p53), αλλάζει το φυσιολογικό κύκλο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και έτσι αποτρέπει την απόπτωση των κυττάρων.

Ο κύριος ρόλος της E7 είναι η προώθηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, ως αποτέλεσμα μείωσης της πρωτεΐνης Rb (πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος) που αποτελεί παράγοντα καταστολής όγκων. Ακόμα η πρωτεΐνη E7 εξαναγκάζει το κύτταρο να εισέλθει στην φάση S του κυτταρικού κύκλου και έτσι οδηγείται σε χρωμοσωμική αστάθεια. (8) (9) (10)

Τέλος οι πρωτεΐνες L1 και L2 ονομάζονται μείζων και ελάσσων δομικές πρωτεΐνες αντίστοιχα, προκύπτουν από την κωδικοποίηση της όψιμης γονιδιακής περιοχής και αποτελούν δομικά στοιχεία του καψιδίου του ιού HPV. Δεδομένου ότι γονιδιακή περιοχή του L1 γονιδίου είναι από τις πιο διατηρημένες μεταξύ των ιών HPV, χρησιμοποιείται για την φυλογενετική ταξινόμηση, την κατάταξη τους σε ομάδες και τελικά αποτελεί και τον βασικό κικό παράγοντα στον οποίο στοχεύουν τα εμβόλια για την πρόληψη του HPV. (11)

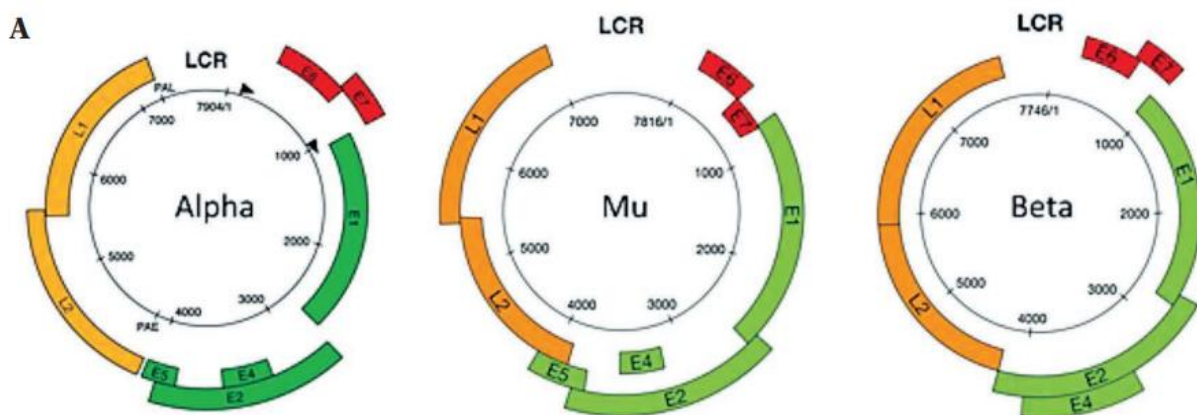
### 1.3 Ταξινόμηση του Ιού

Οι ιοί HPV (PVs) είναι μέρος μίας διακριτής οικογένειας που ονομάζεται Papillomaviridae. Η οικογένεια Papillomaviridae διαχωρίζεται σε 39 γένη σύμφωνα με την ταυτοποίηση της αλληλουχίας του L1 γονιδίου του ιού. Η ταξινόμηση αυτή αφορά ποσοστιαία ταυτοποίηση της αλληλουχίας του L1 γονιδίου από 60% και πάνω, με το κάθε γένος να συμβολίζεται από ένα γράμμα της ελληνικής αλφαβήτου. (12) (13)

Επιπλέον PVs μέσα στο ίδιο γένος που εμφανίζουν ταυτοποίηση της αλληλουχίας του L1 γονιδίου μεταξύ 60%-70% αποτελούν ένα είδος. Εκείνοι με ποσοστιαία ταυτοποίηση 71%-89% αποτελούν έναν τύπο του ιού HPV. Τα

τελευταία δεδομένα (2019) αποκαλύπτουν την ύπαρξη πάνω από 205 διαφορετικών τύπων ιών HPV που προσβάλουν τον άνθρωπο. Οι τύποι αυτοί κατατάσσονται σε 5 κατηγορίες που ονομάζονται γένη και είναι: 1) Alphapapillomaviruses, 2) Betapapillomaviruses, 3) Gammapapillomaviruses, 4) Μυραpapillomaviruses και 5) Νυραpapillomavirus (14)

Επιπρόσθετα ιοί με ταυτοποίηση της αλληλουχίας του L1 γονιδίου από 90%-98% αποτελούν ένα υποτύπο του ιού και με ταυτοποίηση πάνω από 98% μία παραλλαγή. Γενικά το α-γένος του ιού HPV έχει μελετηθεί περισσότερο από κάθε άλλο γένος και έχει συσχετισθεί με καρκίνο του στόματος και των βλεννογόνων, καθώς επίσης και με καρκίνους της πρωκτογεννητικής περιοχής. (15) (12)



**Εικόνα 3.** Τυπική οργάνωση του γονιδιώματος των υψηλού κινδύνου Alpha, Mu και Beta τύπων HPV. Ενώ η οργάνωση του γονιδιώματος είναι παρόμοια και για τους τρεις τύπους HPV, παρατηρούνται και σημαντικές διαφορές όπως ότι ο Beta τύπος στερείται ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) για την λειτουργική πρωτεΐνη E5. (Doorbar J., Egawa N., Griffin H., Kranjec C., Murakami I. (2015). Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol.* 25 (Suppl. 1): 2-23.)

## 1.4 Κύκλος Ζωής του Ιού

Παρόλο που ακολουθείται μία βασική πορεία λοίμωξης για όλους τους ιούς HPV ο κύκλος ζωής που περιγράφεται παρακάτω αφορά το α-γένος. Το α-γένος έχει μελετηθεί περισσότερο από κάθε άλλο και συνεπώς τα κακοήθη γνωρίσματα αποδίδονται σε αυτή την ομάδα HPV ιών.

Ο ιός HPV μολύνει τα βασικά κύτταρα του δέρματος και των βλεννογόνων και πιστεύεται πως μπορεί να παραμένει αδρανής σε μολυσμένα κερατινοκύτταρα, έπειτα από την δράση του ανοσοποιητικού συστήματος.

Μετά την αντιμετώπιση της μόλυνσης του ιού από το ανοσοποιητικό σύστημα, ο ιός μπορεί να παραμείνει στα πλακώδη κύτταρα χωρίς να τους προκαλεί κάποια δυσπλασία ή κάποια δυσλειτουργία. Σε αυτή την περίπτωση μπορεί να μην είναι δυνατή ούτε η μετάδοση αλλά και ούτε η ανίχνευση του ιού (π.χ. με το Pap Test). Όμως σε περίπτωση που υπάρξει καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος του ξενιστή, ο αδρανής μέχρι τότε ιός είναι δυνατόν να επανενεργοποιηθεί και να προκαλέσει συμπτωματική μόλυνση. (1)

Η μετάδοση του ιού HPV γίνεται μέσω της επαφής δέρματος ή βλεννογόνου προσβεβλημένων κυττάρων από τον ιό, και αφορά κύτταρα της επιφάνειας του δέρματος, των γεννητικών οργάνων, του πρωκτού, του λαιμού και της στοματικής κοιλότητας. Η είσοδος του ιού στο σώμα πιστεύεται ότι γίνεται από κάποιο τραύμα που προϋπάρχει είτε στο δέρμα είτε στον βλεννογόνο. (1)

Η αρχική μόλυνση προκαλείται σε βασικά επιθηλιακά κύτταρα. Ο ιός μολύνει τα κύτταρα αυτά καθώς αλληλεπιδρά με υποδοχείς τους όπως είναι η ιντεγκρίνη α6 (διαμεμβρανική γλυκοπρωτεΐνη). Μετά την είσοδο των ιικών σωματιδίων το γονιδίωμα του ιού μαζί με την δομική πρωτεΐνη L1 μεταναστεύουν στον πυρήνα των προσβεβλημένων κυττάρων. Εκεί τα ιικά γονιδιώματα λειτουργούν ως επισώματα (γενετικό υλικό εκτός από το κύριο DNA των ανθρώπινων κυττάρων) με χαμηλή συχνότητα αντιγραφής. (16)

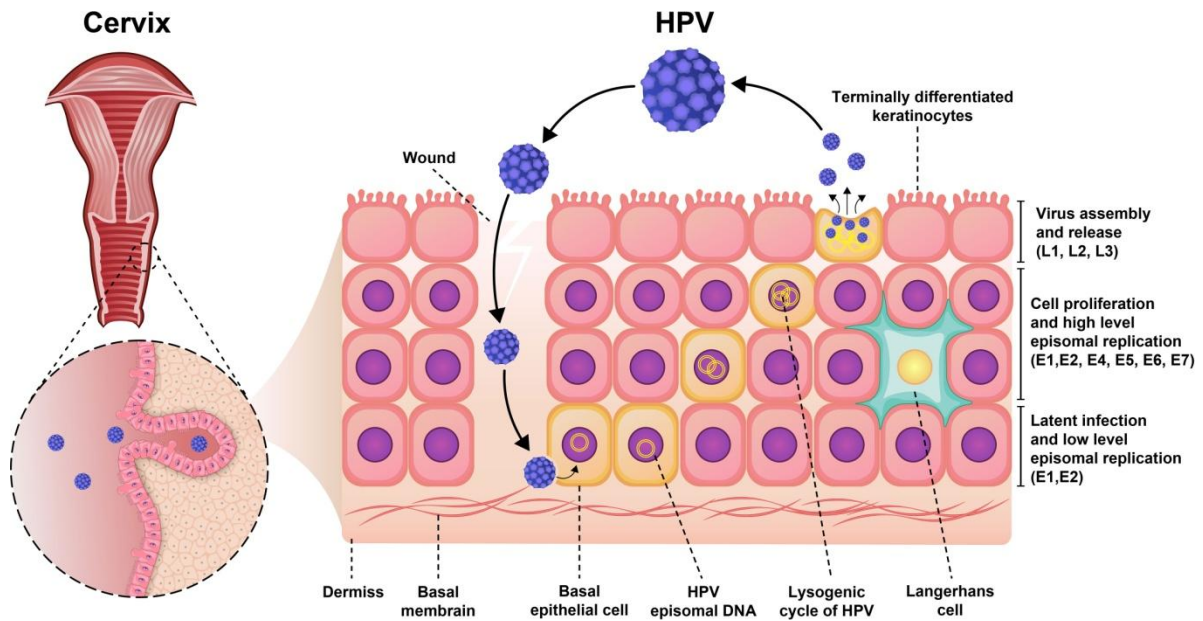
Μετά την εγκατάσταση τους στον πυρήνα των κυττάρων του ξενιστή αρχίζουν να αναπαράγονται πιο γρήγορα έως και 10-200 αντίγραφα ανά κύτταρο. Με την αύξηση της αναπαραγωγής σηματοδοτείται μία φάση ενίσχυσης του ιικού παράγοντα που θα οδηγήσει τελικά στην εγκατάσταση της λοίμωξης. Κατά την διάρκεια αυτής της φάσης μόνο ο πρώιμος ιικός υποκινητής είναι ενεργός ( $P_E$  στην εικόνα 1) και συνεπώς μεταγράφονται και μεταφράζονται μόνο οι λειτουργικές πρωτεΐνες του HPV. (17)

Τα γονιδιώματα του ιού, που βρίσκονται στον πυρήνα αντιγράφονται μαζί με το κύριο DNA του ανθρώπινου κυττάρου. Κατά την φάση S τα αντίγραφα του γονιδιώματος (και του κυττάρου αλλά και του ιού) θα κατανεμηθούν ισάριθμα στα δύο θυγατρικά κύτταρα που θα προκύψουν. (18) Από αυτά το ένα θα παραμείνει στην βασική στοιβάδα όπου θα συνεχίσει να πολλαπλασιάζεται και το άλλο θα μεταναστεύσει σε ανώτερες στοιβάδες του επιθηλίου και θα ξεκινήσει την διαδικασία διαφοροποίησης του.

Κατά την διαδικασία αυτή στα μολυσμένα κύτταρα ενισχύεται η παραγωγή του γονιδιώματος του ιού. Αυτό σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την αύξηση της έκφρασης των λειτουργικών πρωτεϊνών E1 και E2, με αποτέλεσμα την δημιουργία χιλιάδων αντιγράφων γονιδιώματος.

Τέλος, στα τελικά διαφοροποιημένα στρώματα του επιθηλίου ενεργοποιείται ο όψιμος εκκινητής ( $P_L$  στην εικόνα 1) και εκφράζονται οι δομικές πρωτεΐνες του ιού, L1 και L2. Έπειτα λαμβάνει χώρα η συναρμολόγηση των ώριμων ιικών σωματιδίων και τελικά ο ιός αποβάλλεται μαζί με τα νεκρά κύτταρα του επιθηλίου και προκαλεί έτσι εκ νέου λοίμωξη. (17)





**Εικόνα 4.** Σχηματική αναπαράσταση του κύκλου ζωής του ιού HPV. Η μόλυνση ξεκινά από τα βασικά κύτταρα του επιθηλίου με προοδευτική εξάπλωση σε ανώτερες στοιβάδες. (Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, Bakhtiari T, Azizi M, Bastan R, Hosseini R, Eskandari. An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy. N.Front Immunol. 2022 Jan 27;12:805695.)

Σε ακανθοκυτταρικά καρκινώματα του τραχήλου της μήτρας το DNA των υψηλών κινδύνου γονοτύπων HPV εντοπίζεται ενσωματωμένο στο γονιδίωμα των ανθρώπινων κυττάρων. Ενώ σε προκαρκινικές βλάβες που οφείλονται σε HR-HPV υπάρχουν σαν εξωχρωμοσωμικά επισώματα.

Γενικά θεωρείται πως υπάρχει μία συσχέτιση μεταξύ της φυσικής κατάστασης του ιικού γονιδιώματος και της εξέλιξης σε καρκίνο. Συγκεντρωτικά κυριαρχούν τα επισώματα του ιικού DNA σε αρχικά στάδια ενώ στις καρκινικές βλάβες στα καρκινώματα εμφανίζεται ενσωματωμένο στο κύριο DNA του κυττάρου. (19)

Η ενσωμάτωση παρατηρείται πολλές φορές στο ανοιχτό πλαίσιο ανάγνωσης του γονιδίου E2 με αποτέλεσμα να διαταράσσεται η έκφρασή του και να αυξάνεται η έκφραση των E6 και E7 πρωτεϊνών, που συμβάλλουν περαιτέρω στην κακοήθη εξέλιξη. (18)

## ΕΝΟΤΗΤΑ 2<sup>η</sup>

### Νοσήματα και Ιός των Ανθρώπινων Θηλωμάτων

#### 2.1 Νοσήματα που σχετίζονται με τον Ιό

Ο ιός των ανθρώπινων θηλωμάτων αποτελεί τη συνηθέστερη σεξουαλικά μεταδιδόμενη λοίμωξη παγκοσμίως, σχετίζεται πολύ ισχυρά με την δημιουργία καρκίνου σε πολλές ανατομικές περιοχές με διαφορετική συχνότητα. (20)

Το μεγαλύτερο ποσοστό αναφέρει τον ιό HPV ως βασικό αίτιο του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, όπου το >99% των δειγμάτων είναι HPV-θετικά. Οι ασθένειες λόγω του ιού εμφανίζουν διαφορετική συσχέτιση μεταξύ των δύο φύλων: για τις γυναίκες περίπου το 8,6% των καρκίνων συνδέονται με μολύνσεις από τον HPV, ενώ για τους άνδρες το ποσοστό αυτό είναι λιγότερο από 1%. (20) (21)

Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι στην γεωγραφική κατανομή των κρουσμάτων καρκίνου του τραχήλου της μήτρας ένα μεγάλο ποσοστό εμφανίζεται στις αναπτυγμένες χώρες, όπου υπάρχουν διαθέσιμα προγράμματα ενημέρωσης, εμβολιασμού αλλά και έλεγχοι για την πρόληψη της εκδήλωσης των νόσων από τον ιό HPV. (21) (22)

Οι γονότυποι HPV χωρίζονται σε δύο κατηγορίες ανάλογα με την ασθένεια που προκαλούν, σε υψηλού κινδύνου και χαμηλού κινδύνου. Η ομάδα υψηλού κινδύνου συνδέεται ισχυρά με την δημιουργία καρκινογένεσης. Ενώ η ομάδα που περιλαμβάνει τους χαμηλού κινδύνου και αποτελείται από την πλειοψηφία των 200 περίπου HPV γνωστών ιών προκαλεί ως επί το πλείστον καλοήθεις υπερπλαστικές βλάβες. Εντούτοις, οι χαμηλού κινδύνου ιοί HPV μπορεί να είναι υπεύθυνοι, λιγότερο συχνά για την ανάπτυξη κακοήθους καρκινώματος στον γενικό πληθυσμό. (23)

## 2.2 Υψηλού κινδύνου γονότυποι HPV

Υπάρχουν 16 γονότυποι υψηλού κινδύνου (High Risk HPV ή HR-HPV) που συνδέονται με την ανάπτυξη καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, του πρωκτού, του πέους, του κόλπου, του αιδοίου και του στοματοφάρυγγα. Οι γονότυποι αυτοί είναι Hpv 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 και 68. (24)

### 2.2.1 Καρκίνος του Τραχήλου της Μήτρας

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας αποτελεί τον πιο συχνό καρκίνο στις γυναίκες με περίπου 600.000 νέα περιστατικά και 300.000 θανάτους κάθε χρόνο παγκοσμίως. (25)

Σε ποσοστό έως και 90% οι καρκίνοι του τραχήλου της μήτρας αποδίδονται σε υψηλού κινδύνου HPV. Συγκεκριμένα οι δύο πιο διαδεδομένοι γονότυποι που ανευρίσκονται είναι ο HPV16 και ο HPV18 σε ποσοστά 62,5% και 15,7% των περιπτώσεων αντίστοιχα. (26)

Τα είδη των καρκίνων του τραχήλου της μήτρας είναι το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του τραχήλου της μήτρας στην πλειονότητα των περιστατικών (70%), το αδenoκαρκίνωμα της μήτρας (25%) και οι διάφοροι μικτοί ιστολογικοί όγκοι (<5%). Οι προκαρκινικές πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές αλλοιώσεις στον τράχηλο της μήτρας λόγω των ιών HPV, χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, στις χαμηλού βαθμού (LSIL) και στις υψηλού βαθμού (HSIL).

Τέλος πολύ σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη καρκίνου στην μήτρα είναι η ανοσοκαταστολή καθώς ευνοεί την δημιουργία δυσπλασιών. Συνεπώς παράγοντες που προκαλούν καταστολή του ανοσοποιητικού συστήματος όπως ο ιός HIV αυξάνουν την πιθανότητα εμφάνισης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Συγκεκριμένα σε ασθενείς του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας

αυξάνεται 5 φορές ο κίνδυνος ανάπτυξης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας από ότι σε υγιή άτομα. (26)

### 2.3 Χαμηλού κινδύνου γονότυποι HPV

Οι χαμηλού κινδύνου γονότυποι (LR-HPV) αποτελούν την πλειοψηφία των περίπου 200 γνωστών γονοτύπων του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων. Κατά κανόνα δεν προκαλούν κακοήθεις αλλοιώσεις στον γενικό πληθυσμό αλλά σχετίζονται με καλοήθεις υπερπλαστικές βλάβες. Γενικά, λόγω της μικρής τους επίδρασης ως καρκινικοί παράγοντες, δεν έχει δοθεί αρκετή προτεραιότητα στην έρευνα για αυτή την ομάδα ιών. (3)

Η ομάδα χαμηλού κινδύνου περιλαμβάνει τους εξής γονότυπους HPV 5, 26, 53, 66, 67, 68, 70, 73, 82, 30, 34, 69, 85 και 97. Συνολικά οι μολύνσεις που προκαλούν οι LR-HPV είναι αυτοπεριοριζόμενες και τελικά το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή τις εξαφανίζει. Αυτό ισχύει για τα ανοσοεπαρκή άτομα στα οποία κατά κανόνα οι LR-HPV προκαλούν ασυμπτωματικές μολύνσεις ή εντοπίζονται σε πλακώδεις ενδοεπιθηλιακές βλάβες και ονομάζονται τύποι διάμεσου κινδύνου. (27)

Όσον αφορά τους ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς οι χαμηλού κινδύνου γονότυποι HPV εάν είναι ανθεκτικοί στην θεραπεία μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές παθολογικές καταστάσεις όπως η υποτροπιάζουσα αναπνευστική θηλωμάτωση (RRP) και η επιδερμοδυσπλασία Verruciformis (EV), ακόμα και η ανάπτυξη καρκίνων. (23) (28) (29)

Αρκετοί τύποι HPV χαμηλού αλλά και υψηλού κινδύνου έχει βρεθεί ότι βρίσκονται στο δέρμα μη ανοσοεπαρκών ατόμων χωρίς να προκαλούν προβλήματα, αλλά αποτελώντας μέρος της φυσιολογικής μικροχλωρίδας της περιοχής. (30)

Παρά την ποικιλομορφία που παρουσιάζουν οι δύο κατηγορίες ιών HPV στις βλάβες που προκαλούν, φαίνεται πως μοιράζονται πολλές ομοιότητες στον κύκλο ζωής τους. Ενώ ίσως η πιο βασική διαφορά τους μπορεί να είναι πως οι πρωτεΐνες LR-HPV E6 και E7, και ιδιαίτερα εκείνες που κωδικοποιούνται από τους α-τύπους χαμηλού κινδύνου HPV, έχουν συχνά θεωρηθεί λιγότερο ισχυρά προϊόντα σε σχέση με εκείνες που παράγονται από τις HR-HPV και συντελούν στην επιτυχημένη λοίμωξη και μεταγενέστερα καρκινογένεση. (31)

Συγκεντρωτικά, οι LR-HPV ευθύνονται για ένα φάσμα καλοηθών νεοπλασιών οι οποίες περιλαμβάνουν τα κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων (HPV 6 και 11), τα κοινά κονδυλώματα (HPV 2, 27 και 57), τα επίπεδα κονδυλώματα (HPV 3 και 10), τις μυρμηγκιές (HPV 1) και άλλες δερματικές βλάβες. (3) Τέτοιες λοιμώξεις είναι αρκετά συχνές όμως τα θηλώματα που οφείλονται στον ιό HPV μπορεί να είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στην θεραπεία και να επιμένουν για χρόνια προκαλώντας αισθητικά, ψυχολογικά και πρακτικά προβλήματα στους ασθενείς ανάλογα με την εστία της μόλυνσης, τον αριθμό και έκταση των βλαβών. (31)

Οι δερματικές μολύνσεις από τον HPV είναι πιο συχνές στον γενικό πληθυσμό και εμφανίζονται κυρίως σε παιδιά που δεν έχουν έρθει προηγουμένως σε επαφή με τον ιό. (30)

Ακόμη, παρόλο που σχεδόν όλοι οι γονότυποι που ανήκουν στους χαμηλού κινδύνου HPV δεν προκαλούν γενικά καρκινικές υπερπλασίες στην περίπτωση του HPV11 (χαμηλής επικινδυνότητας γονότυπος) προκαλούνται επίμονα θηλώματα στον λάρυγγα σε ενήλικες και σε παιδιά, που απαιτούν χειρουργική επέμβαση προκειμένου να αφαιρεθούν οι όγκοι που εμποδίζουν την αναπνοή. Σε αντίθετη περίπτωση σχετίζονται με ανάπτυξη καρκίνου στην περιοχή σε ποσοστό 1-3%. Τέλος, έχει απομονωθεί το DNA των χαμηλού κινδύνου HPV6, HPV42, HPV44 και HPV70 από διηθητικούς καρκίνους του τραχήλου της μήτρας και του πρωκτού. (32)

### 2.3.1 Κονδυλώματα Γεννητικών Οργάνων

Τα κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων μεταδίδονται με την σεξουαλική επαφή ή μέσω του δέρματος συνήθως κατά την διάρκεια σεξουαλικών πρακτικών. Περίπου το 90% όσων εκτίθενται στο ιό HPV με αυτόν τον τρόπο δεν θα αναπτύξουν κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων. Μόνο το 10% που έχουν μολυνθεί θα αναπτύξουν τον ιό και οι γονότυποι του ιού που θα βρεθούν σε αυτές τις περιπτώσεις θα είναι ο HPV6 και HPV11. (33)

Οι λοιμώξεις HPV των γεννητικών οργάνων έχουν εκτιμώμενο επιπολασμό 10% έως 20%, με κλινικές εκδηλώσεις μόνο στο 1%. Η συχνότητα της λοίμωξης από τον HPV έχει αυξηθεί. Αν και οι θεραπείες μπορούν να αφαιρέσουν τα κονδυλώματα, δεν αφαιρούν τον ιό HPV. Τα κονδυλώματα μπορεί μερικές φορές να υποχωρήσουν αυτόματα. Οι παραδοσιακές θεωρίες υποστηρίζουν ότι ο ιός παραμένει στο σώμα για μια ζωή. Ωστόσο, σήμερα πιστεύεται ότι ο ιός μπορεί είτε να καθαριστεί είτε να κατασταλεί σε επίπεδα κάτω από αυτά που μπορούν να μετρήσουν οι δοκιμές αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR). (34)

Τέλος οι θεραπείες για τα γεννητικά κονδυλώματα είναι είτε αφαιρετικές είτε περιλαμβάνουν τη χρήση φυσικών παραγόντων. Οι τελευταίες συνήθως χρησιμοποιούνται για μικρότερες σε έκταση βλάβες όμως οι αφαιρετικές είναι γενικά πιο αποτελεσματικές. (35)

### 2.4 Συνοπτικά οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι τύποι του Ιού

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται οι τύποι του ιού HPV που συναντώνται πιο συχνά στον άνθρωπο, καθώς και τα σημεία του οργανισμού όπου εμφανίζονται οι HPV-εξαρτώμενες ασθένειες.

**Πίνακας 1.** Οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι τύποι HPV και οι ασθένειες που προκαλούν. (de Sanjosé S, Brotons M, Pavón MA. The natural history of human papillomavirus infection. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. 2018 Feb;47:2-13.)

Ιός HPV	Γονότυποι	Σχετιζόμενες Ασθένειες
<b>υψηλού κινδύνου ή ογκογόνοι</b>	HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, του πρωκτού, του κόλπου, του αιδοίου, του πέους και του στοματοφάρυγγα καθώς και πρόδρομες βλάβες
<b>χαμηλού κινδύνου</b>	HPV 6, 11	κονδυλώματα των γεννητικών οργάνων, υποτροπιάζουσα αναπνευστική θηλωμάτωση
<b>πιθανά καρκινογόνοι</b>	HPV 68	καρκίνος του τραχήλου της μήτρας
<b>δυνατόν καρκινογόνοι</b>	HPV 5, 6	ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα του δέρματος σε ασθενείς που έχουν προσβληθεί από επιδερμοδυσπλασία Verruciformis
<b>δυνατόν καρκινογόνοι</b>	HPV 26, 30, 43, 53, 66, 67, 69, 70, 73, 82, 85, 97	αβέβαιο



## ΕΝΟΤΗΤΑ 3<sup>η</sup>

### Ο Καρκίνος του τραχήλου της μήτρας

#### 3.1 Προδιαθεσικοί παράγοντες

Ο καρκίνος συνεχίζει να απασχολεί την δημοσία υγεία παγκοσμίως, παρά τα νέα τεχνολογικά και φαρμακοθεραπευτικά επιτεύγματα των τελευταίων δύο δεκαετιών. (36)

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας σε παγκόσμιο επίπεδο, αποτελεί έναν από τους πιο συχνούς καρκίνους και κάθε χρόνο οδηγεί σε μεγάλο αριθμό θανάτων γυναικών. (37) (38)

Οι προδιαθεσικοί παράγοντες που σχετίζονται με τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας περιλαμβάνουν αρχικά την λοίμωξη στην περιοχή του τραχήλου από κάποιον υψηλού κινδύνου τύπου HPV (Human Papillomavirus), αλλά και άλλων ιών όπως ο HIV (Human Immunodeficiency Virus) και ο ιός του απλού έρπητα 2 (HSV2). Πιο συγκεκριμένα οι γυναίκες που ζουν μολυσμένες από τον ιό HIV έχουν 6 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να αναπτύξουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. (39) Ακόμα, περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν στην εμφάνιση και στην εξέλιξη του καρκίνου, όπως και ο τρόπος ζωής του ασθενή όπως η σεξουαλική συμπεριφορά, το κάπνισμα, η παχυσαρκία, η πρόωρη εμμηνόπαυση κτλ. Ωστόσο ο ιός HPV αποτελεί μία από τις πιο συχνές αιτίες που τελικά θα οδηγήσει σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. (40)

### 3.2 Επιδημιολογία

Ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας κατέχει την θέση του τέταρτου πιο συχνού καρκίνου στις γυναικές παγκοσμίως, μετά τον καρκίνο του μαστού, του παχέος εντέρου και του πνεύμονα. Αποτελεί την τέταρτη αιτία θανάτου στις γυναίκες παγκοσμίως και την κύρια αιτία θανάτου στις αναπτυσσόμενες χώρες. (41)

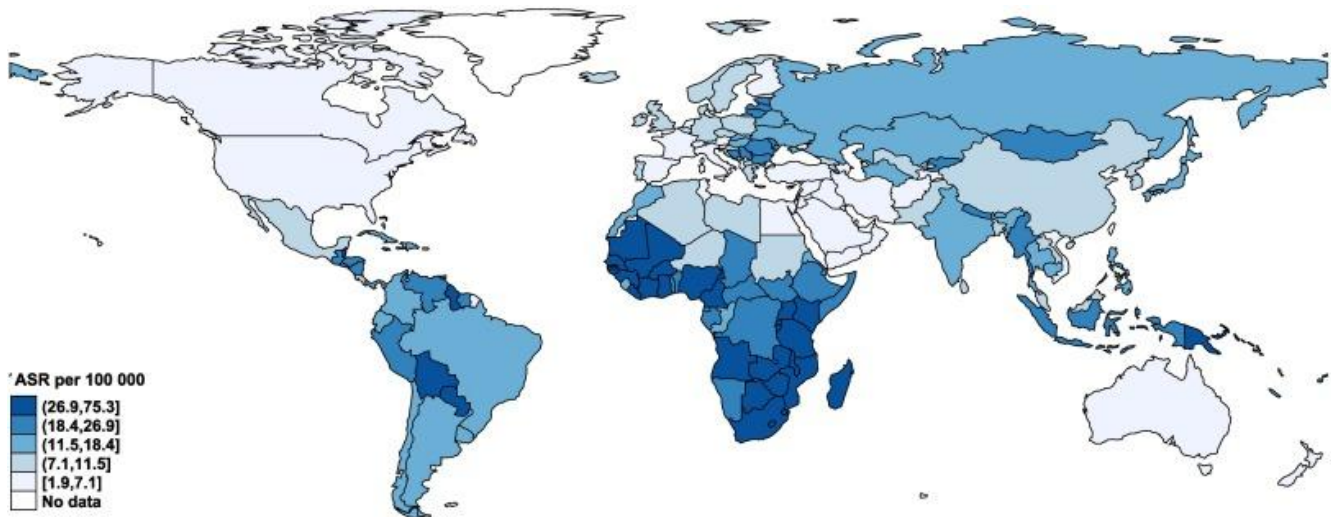
Σύμφωνα με διεθνείς μελέτες φαίνεται ότι το 2020 604.000 νέες περιπτώσεις διαγνώστηκαν και 342.000 γυναίκες έχασαν την ζωή τους εξαιτίας του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Επιπλέον περίπου το 90% των νέων περιπτώσεων και θανάτων εξαιτίας του καρκίνου αυτού, για την ίδια χρονιά (2020) φαίνεται ότι εμφανίζεται σε χώρες με λιγότερη οικονομική και ιατροδιαγνωστική ανάπτυξη. (42)

Παρόλο που υπάρχουν ανεπτυγμένες γεωγραφικές περιοχές στις οποίες ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας έχει περιοριστεί δραματικά, όπως το Ηνωμένο Βασίλειο, υπάρχουν εκατομμύρια γυναίκες που διαγιγνώσκονται με υψηλού βαθμού επικινδυνότητας μολύνσεις που οφείλονται στον ιό HPV. Φαίνεται ότι στα επόμενα 2 χρόνια, το 10 % αυτών των μολύνσεων στις HPV (+) γυναίκες θα εξελιχθούν και τελικά θα καταλήξουν σε υψηλού βαθμού δυσπλασία του τραχήλου της μήτρας. (43)

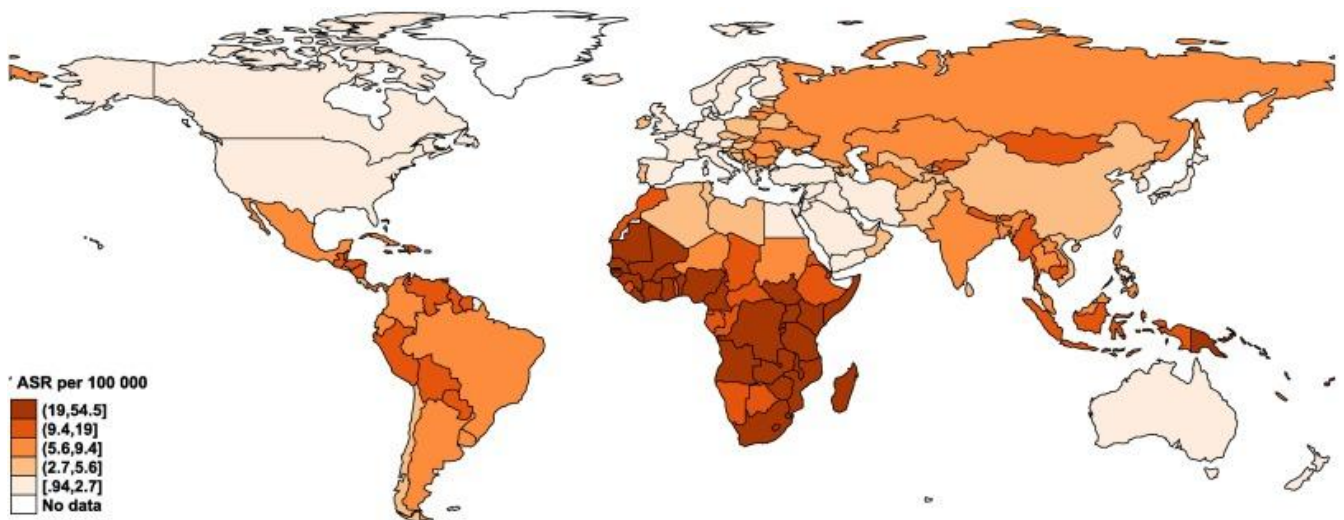
Οι τύποι HPV16 και HPV18 μαζί ευθύνονται παγκοσμίως για το 71% του καρκίνου τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως. (44)

Ο τύπος HPV45 εμφανίζεται σε ποσοστό 6%, ο HPV31 σε 4%, ο HPV33 επίσης σε 4%, ο HPV52 σε 3% και ο HPV58 σε 2% των περιπτώσεων καρκίνου τραχήλου της μήτρας. Συνολικά, αυτοί οι επτά τύποι υψηλών κινδύνων HPV είναι υπεύθυνοι για σχεδόν το 90% των ακανθοκυτταρικών καρκινωμάτων που είναι θετικό για HPV DNA. (45)

Με βάση την επιδημιολογία που εμφανίζεται στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως, υπολογίζεται ότι ο αριθμός των γυναικών που εμφανίζουν προκαρκινικές αλλοιώσεις στην περιοχή του τραχήλου είναι μεταξύ 30-40 εκατομμύρια. (46)



**Εικόνα 5.** Η εμφάνιση του καρκίνου τραχήλου της μήτρας στις γυναίκες παγκοσμίως, όλων των ηλικιών για το έτος 2018 (ανά 100.000). (Huang J, Deng Y, Boakye D, Tin MS, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE 3rd, Xu W, Zheng ZJ, Elcarte E, Withers M, Wong MCS; NCD Global Health Research Group; Association of Pacific Rim Universities (APRU). *Gynecol Oncol.* 2022 Jan;164(1):85-92.)



**Εικόνα 6.** Η παγκόσμια θνησιμότητα για τον καρκίνο τραχήλου της μήτρας στις γυναίκες, όλων των ηλικιών για το έτος 2018 (ανά 100.000). (Huang J, Deng Y, Boakye D, Tin MS, Lok V, Zhang L, Lucero-Prisno DE 3rd, Xu W, Zheng ZJ, Elcarte E, Withers M, Wong MCS; NCD Global Health Research Group; Association of Pacific Rim Universities (APRU). *Gynecol Oncol.* 2022 Jan;164(1):85-92.)

### 3.3 Πρόληψη

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) το 2018, έπειτα από την μεγάλη επίπτωση του καρκίνου τραχήλου της μήτρας, ανακοίνωσε πως κύριος στόχος πλέον δεν αποτελεί ο περιορισμός/έλεγχος αλλά η αποφασιστική εξάλειψη αυτού του καρκίνου μέσω της πρόληψης. (47) Η πρόληψη εκτός από την ολοκληρωμένη ενημέρωση του πληθυσμού κάθε χώρας για τον συγκεκριμένο καρκίνο, βασίζεται και στον επιτυχή εμβολιασμό καθώς και στα διαθέσιμα τεστ ελέγχου πριν εμφανιστούν συμπτώματα. Όλα αυτά προσφέρουν ταυτόχρονα την έγκαιρη διάγνωση που συνήθως οδηγεί και σε αποτελεσματικότερη θεραπεία.

Το 2019 η Αυστραλία παρουσίασε και έθεσε σε λειτουργία ένα 20ετές πλάνο που δείχνει ότι η εξάλειψη του καρκίνου τραχήλου της μήτρας είναι δυνατόν να επιτευχθεί. (48)

Υπάρχουν διαθέσιμα προληπτικά HPV εμβόλια που παρέχουν προστασία εναντίον επίμονων λοιμώξεων που οδηγούν σε κακοήθειες με την επαγωγή δημιουργίας αντισωμάτων (κυρίως IgG). (49)

Υπολογίζεται ότι η στρατηγική του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) για την πρόληψη του καρκίνου τραχήλου της μήτρας, μέσω των προληπτικών εμβολίων κατά του ιού HPV, θα μπορούσε να αποτρέψει 60 εκατομμύρια νέες περιπτώσεις και πάνω από 45 εκατομμύρια θανάτους στα επόμενα 100 χρόνια. (50) (51)

Έως σήμερα υπάρχουν έξι εγκεκριμένα προληπτικά εμβόλια για τον ιό HPV. Αυτά είναι το Cervarix, το Cocolin, το Walrinvax, το Gardasil, το Cervanax και το Gardasil9. Όλα αυτά τα εμβόλια έχουν κατασκευαστεί χρησιμοποιώντας τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA και κυτταροκαλλιέργειας, από καθαρή δομική πρωτεΐνη του ιού HPV, την πρωτεΐνη L1. Επιπλέον περιέχουν σωματίδια που μοιάζουν με ιό (VLPs) εναντίον των υψηλού κινδύνου τύπων HPV16 και HPV18. Το εννιαδύναμο (Gardasil9) και τετραδύναμο (Gardasil) εμβόλιο περιέχουν ακόμα VLPs εναντίον των ιών που σχετίζονται με τα πρωκτογεννητικά κονδυλώματα και περιέχουν τους τύπους HPV6 και HPV11. Τέλος, το εννιαδύναμο εμβόλιο περιέχει ακόμα VLPs εναντίον των υψηλού κινδύνου τύπων 31, 33, 45, 52 και 58. (52)

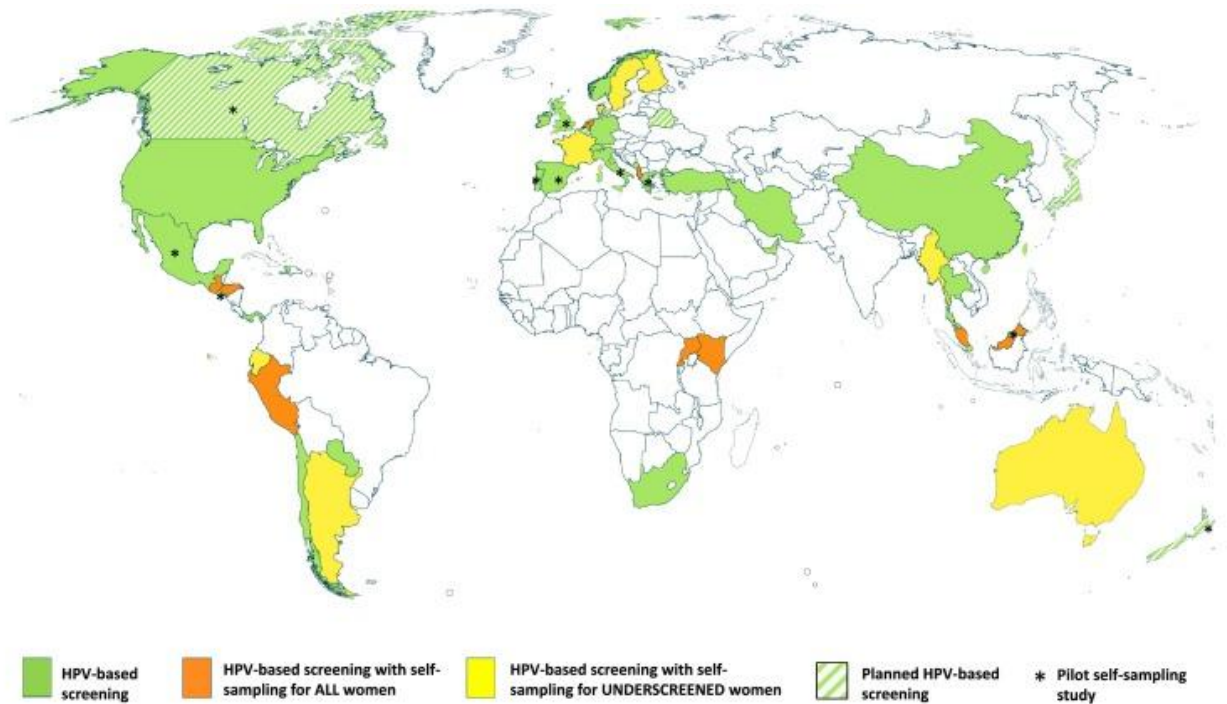
Όλα τα εμβόλια HPV ενδείκνυνται για χρήση σε γυναίκες ηλικίας 9 ετών και άνω και έχουν έγκριση για χρήση έως 26 ή 45 ετών. Ορισμένα εμβόλια HPV έχουν επίσης άδεια για χρήση και σε άνδρες. Συνολικά είναι κατάλληλα για την πρόληψη των προκακοηθών βλαβών του τραχήλου της μήτρας και καρκίνους που προκαλούνται από τύπους υψηλών κινδύνων HPV, οι οποίοι ποικίλουν ανάλογα με το προϊόν του εμβολίου. Τέλος και τα έξι εμβόλια είναι διαθέσιμα

σε φιαλίδια μίας ή δύο δόσεων, συνήθως για τα νεαρά άτομα κάτω των 15 ετών χορηγούνται 2 δόσεις ενώ για υψηλού κινδύνου ομάδες καθώς και για γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας σε 3 δόσεις. (52)

Τα τεστ ελέγχου για την πρόληψη του καρκίνου τραχήλου της μήτρας περιλαμβάνουν την δοκιμασία υβριδικής καταγραφής II, το test Pap, τα self test που τα τελευταία χρόνια διατίθενται για αυτό τον σκοπό καθώς και διάφορες άλλες ιστολογικές αναλύσεις δειγμάτων από τον τράχηλο της μήτρας. (53)

Όλα αυτά τα τεστ στοχεύουν σε έλεγχο για λοίμωξη από τον ιό HPV και εμφάνιση πρόδρομων βλαβών καρκίνου σε γυναίκες που δεν εμφανίζουν συμπτώματα. Επιπλέον όταν ο προσυμπτωματικός έλεγχος ανιχνεύσει προκαρκινικές αλλοιώσεις του τραχήλου της μήτρας μπορεί εύκολα να ξεκινήσει η θεραπεία και έτσι να αποφευχθεί ο καρκίνος. Ακόμα, με τους τρόπους πρόληψης είναι δυνατή η ανίχνευση καρκίνου σε πρώιμα στάδια, περίοδο κατά την οποία η θεραπεία έχει μεγάλες δυνατότητες ίασης. (54)

Στην Εικόνα 7, παρουσιάζεται η προσέγγιση αυτοδειγματοληψίας που προτείνεται, στις 17 χώρες που συνιστούν επίσημα τον προσυμπτωματικό έλεγχο για τον ιό HPV. Το συμπαγές μοτίβο υποδηλώνει ότι η χώρα συνιστά προσυμπτωματικό έλεγχο για τον HPV [είτε ξεχωριστά μόνο για τον ιό είτε σε συνδυασμό με κυτταρολογία ή/και με οπτική παρατήρηση του κόλπου με οξικό οξύ (VIA)]. Το ριγέ μοτίβο υποδηλώνει ότι η χώρα σχεδιάζει την εισαγωγή προσυμπτωματικού ελέγχου για τον ιό HPV τα επόμενα χρόνια. (55)



**Εικόνα 7.** Προσέγγιση αυτοδειγματοληψίας σε χώρες που συνιστούν επίσημα προσυμπτωματικό έλεγχο για τον ιό HPV. (Worldwide use of HPV self-sampling for cervical cancer screening. Serrano B, Ibáñez R, Robles C, Peremiquel-Trillas P, de Sanjosé S, Bruni L. *Prev Med.* 2022 Jan;154:106900.)

### 3.4 Διάγνωση

Εάν και η κλινική εικόνα του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας γενικά χαρακτηρίζεται από μη φυσική κολπική αιμορραγία (π.χ. μετά την σεξουαλική επαφή) (56) (57), είναι πιθανό να μην εμφανιστούν καθόλου συμπτώματα στα αρχικά στάδια του καρκίνου και έτσι να διαγνωστεί στο πλαίσιο του προληπτικού ελέγχου ή κατά την εξέταση της περιοχής για άλλους λόγους. (56)

Τα αποτελέσματα του τεστ Παπανικολάου ή η κολποσκόπηση είναι οι εξετάσεις που θα δώσουν την επιβεβαίωση για την ύπαρξη μη φυσιολογικών αλλοιώσεων του κολπικού και του τραχηλικού βλεννογόνου. (58)

Στις γυναίκες που δεν εμφανίζουν ορατές βλάβες, η κλινική εκτίμηση απαιτεί περαιτέρω εξετάσεις οι οποίες είναι: κωνική βιοψία με ενδοτραχηλική απόξεση, ακτινογραφία θώρακος, έλεγχος για HIV και ηπατίτιδες καθώς και ορολογικό έλεγχο για την σύφιλη RPR (Rapid Plasma Reagin). (58)

Στις περιπτώσεις όπου εμφανίζονται βλάβες, η κλινική εκτίμηση περιλαμβάνει φυσική εξέταση της περιοχής, ολοκληρωμένο τεστ αίματος, τραχηλική βιοψία, ακτινογραφία θώρακος και έλεγχο για τον ιό HIV. (59)

Γενικά μελέτες απεικόνισης δεν χρησιμοποιούνται για την διάγνωση του καρκίνου τραχήλου της μήτρας, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων, αξονική τομογραφία, μαγνητική τομογραφία πυέλου, κυστεοσκόπηση και κολonosκόπηση για την σταδιοποίηση και την αξιολόγηση σε γυναίκες που φέρουν ήδη γνωστή κακοήθεια. (60)

Τέλος ο τύπος του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας διαγιγνώσκεται με βάση την ιστολογική αξιολόγηση της βιοψίας του τραχηλικού βλεννογόνου. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, οι δύο πιο συχνοί τύποι καρκίνου του τραχήλου της μήτρας περιλαμβάνουν το ακανθοκυτταρικό καρκίνωμα (έως το 85% των περιπτώσεων) (61) (60) και το αδενοκαρκίνωμα (έως το 25% των περιπτώσεων). (61) (62)

### 3.5 Παθογένεια εξαρτώμενη από τον Ιό των Ανθρώπινων Θηλωμάτων

Ο τράχηλος της μήτρας ή αλλιώς cervix uteri που ανατομικά καταλαμβάνει το κατώτερο τμήμα της γυναικείας μήτρας αποτελείται από δύο διαφορετικά στοιχεία, τον εξωτράχηλο και τον ενδοτράχηλο. Το επιθήλιο του ενδοτραχήλου είναι μονόστιβο κυλινδρικό, ενώ του εξωτραχήλου πολύστιβο πλακώδες. Η περιοχή αυτής της μετάπτωσης αποτελεί έδαφος για προκαρκινικές αλλοιώσεις εξαιτίας του ιού HPV, και συγκεκριμένα από του τύπους HR-HPV.



Μετά την μόλυνση και την εγκατάσταση του ιού HPV, οι πρώτες λοιμώξεις περιλαμβάνουν τις χαμηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές βλάβες (LSIL) και την τραχηλική ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία τύπου I (CIN I). Αυτές οι αλλοιώσεις που οφείλονται στον ιό HPV στις περισσότερες περιπτώσεις συνήθως αντιμετωπίζονται από το ανοσοποιητικό σύστημα μέσα σε 2 χρόνια από την στιγμή της μόλυνσης. (40)

Επίσης σε περίπτωση που δεν αποβληθεί ο ιός ή υπάρξει επαναμόλυνση της περιοχής από τον ιό, το πιο πιθανό είναι ότι και πάλι δεν θα οδηγήσει στην δημιουργία καρκίνου. Συγκριτικά, ένα μικρό ποσοστό γυναικών θα εμφανίσουν καρκίνο του τραχήλου της μήτρας έπειτα από λοίμωξη με τον ιό HPV (HR-HPV) στην περιοχή αυτή, κάτι που υποδηλώνει ότι ίσως εκτός από τους περιβαλλοντικούς παράγοντες υπάρχουν και γενετικοί παράγοντες που επηρεάζουν την εμφάνιση καρκίνου. (63)

Σε εμμένουσα λοίμωξη από τον ιό HPV (από HR-HPV) στην περιοχή του τραχήλου της μήτρας, οι αρχικές βλάβες εξελίσσονται με το πέρασμα του χρόνου, το ιικό φορτίο ενισχύεται και στην θέση ενσωμάτωσης του ιού παρατηρείται σύνθεση ιστού. Ακόμα, στις περιπτώσεις πολλών επαναλοιμώξεων, οι βλάβες επεκτείνονται και καταλήγουν σε προκαρκινικές καταστάσεις όπως οι υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές βλάβες και οι τραχηλικές ενδοεπιθηλιακές νεοπλασίες II και III (CIN II και CIN III αντίστοιχα). (64)

Αυτές οι φάσεις εξάπλωσης του ιού και εξαλλαγής των βλαβών, που αναφέρονται ως και υψηλή δυσπλασία, έχουν την δυνατότητα να οδηγήσουν προοδευτικά σε καρκίνωμα ή ακόμα και σε διηθητικό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. (65)

Η καρκινική παθογένεια του ιού HPV στο τράχηλο της μήτρας πρακτικά αρχίζει με μία εμμένουσα λοίμωξη στο σημείο αυτό, από κάποιον τύπο υψηλής επικινδυνότητας HPV. Παρόλο που όλοι οι τύποι υψηλού κινδύνου

προδιαθέτουν για την εμφάνιση καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, ορισμένοι τύποι φαίνεται ότι είναι πιο καρκινογόνοι. Για παράδειγμα, ο πρωκτογεννητικός τύπος HPV16 φαίνεται πως είναι ο πιο καρκινογόνος από όλους. Επιπλέον, κάποιοι τύποι του ιού εμφανίζουν διαφορετική παθογονικότητα έπειτα από διάφορες μεταλλάξεις στο γονιδίωμα τους (όπως ο HPV16, ο HPV33 και ο HPV45). (66) (67) (68)

Αλλαγές στο γονιδίωμα του ιού πιστεύεται ότι ίσως έχουν προκύψει από τα ένζυμα του ξενιστή που σχετίζονται με την επιδιόρθωση του DNA και ανήκουν στην οικογένεια APOBEC (Απολιποπρωτεΐνη Β, mRNA επιδιορθωτικά ένζυμα και καταλυτικό πολυπεπτίδιο). (69)

Από τα πιο σημαντικά χαρακτηριστικά της παθογένειας του ιού των ανθρώπινων θηλωμάτων, είναι η έκφραση των γονιδίων E6 και E7 μετά την αναπαραγωγή του ιού στα κύτταρα του ξενιστή. Γενικά, η παθογονικότητα και η ιδιότητα της καρκινογένεσης του ιού HPV προκύπτει από μία σειρά ενεργειών που προκαλούνται από την δράση αυτών των πρωτεϊνών (E6 και E7). Αυτό συμβαίνει γιατί οι πρωτεΐνες E6 και E7 του ιού HPV αλληλεπιδρούν με πρωτεΐνες που είναι απαραίτητες για την ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου. (70)

Πιο συγκεκριμένα, η πρωτεΐνη E6 συνδέεται με τον παράγοντα p53 και μειώνει την δράση του, οποίος κατέχει σημαντικό ρόλο στην επιδιόρθωση του DNA, στην ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου και στην απόπτωση. Επίσης η E6 συνδέεται σε μία πλούσια σε λευκίνη περιοχή εντός της κυτταρικής πρωτεΐνης E6AP. Ακολούθως το ετεροδιμερές E6/E6AP ελέγχει και υποβιβάζει την λειτουργία της p53 και τελικά αναστέλλει την μεταγραφική της δυνατότητα. (71) (72) (70) Η E6 συμμετέχει ακόμα στην ενεργοποίηση της τελομεράσης. (73)

Η πρωτεΐνη E7 συνδέεται με την πρωτεΐνη του ρετινοβλαστώματος Rb απελευθερώνοντας τον μεταγραφικό παράγοντα E2F, και επιτρέπει έτσι στα προσβεβλημένα από τον ιό κύτταρα να παρακάμψουν την φάση G1 του

κυτταρικού κύκλου και συνεπώς εμποδίζεται η αναστολή της κυτταρικής διαίρεσης. (74)

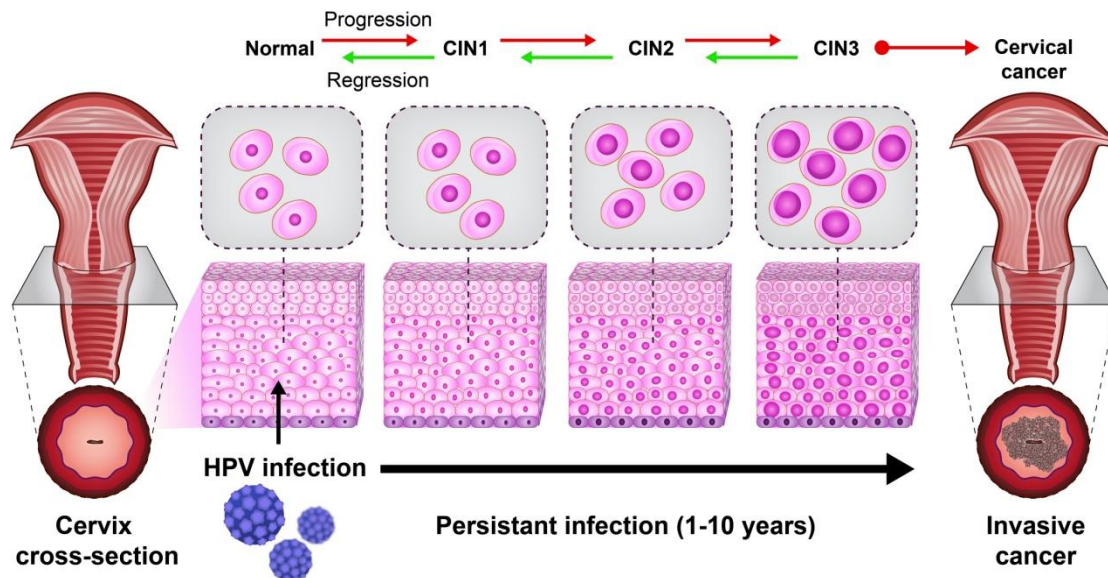
Η πρωτεΐνη E7 μέσω της πρωτεΐνης p21 (πρωτεΐνη αναστολέας της κινάσης) επίσης αναστέλλει την δράση της p53, επηρεάζοντας έτσι τον κυτταρικό έλεγχο που επιτελεί η ίδια. Επιπλέον, η E7 πρωτεΐνη μέσω του μεταγραφικού παράγοντα E2F, προκαλεί αστάθεια στην έκφραση της p16 πρωτεΐνης (p16<sup>INK4A</sup> ή p16), πρωτεΐνη που επιβραδύνει την κυτταρική εξέλιξη. Η p16 έχει μεγάλη σημασία για την διάγνωση του καρκίνου στον τράχηλο της μήτρας, καθώς αποτελεί έναν προγνωστικό δείκτη. (75) (76)

Η υπερέκφραση των πρωτεϊνών E6 και E7 φαίνεται ότι μειώνει και την δράση του toll-like υποδοχέα (TLR) που μεσολαβεί στην έκκριση της ιντερφερόνης (ουσία που απελευθερώνεται από κύτταρα μολυσμένα από τον ιό) τύπου I (IFN-α και β) και ενεργοποιεί κυρίως τα T-λεμφοκύτταρα. (77)

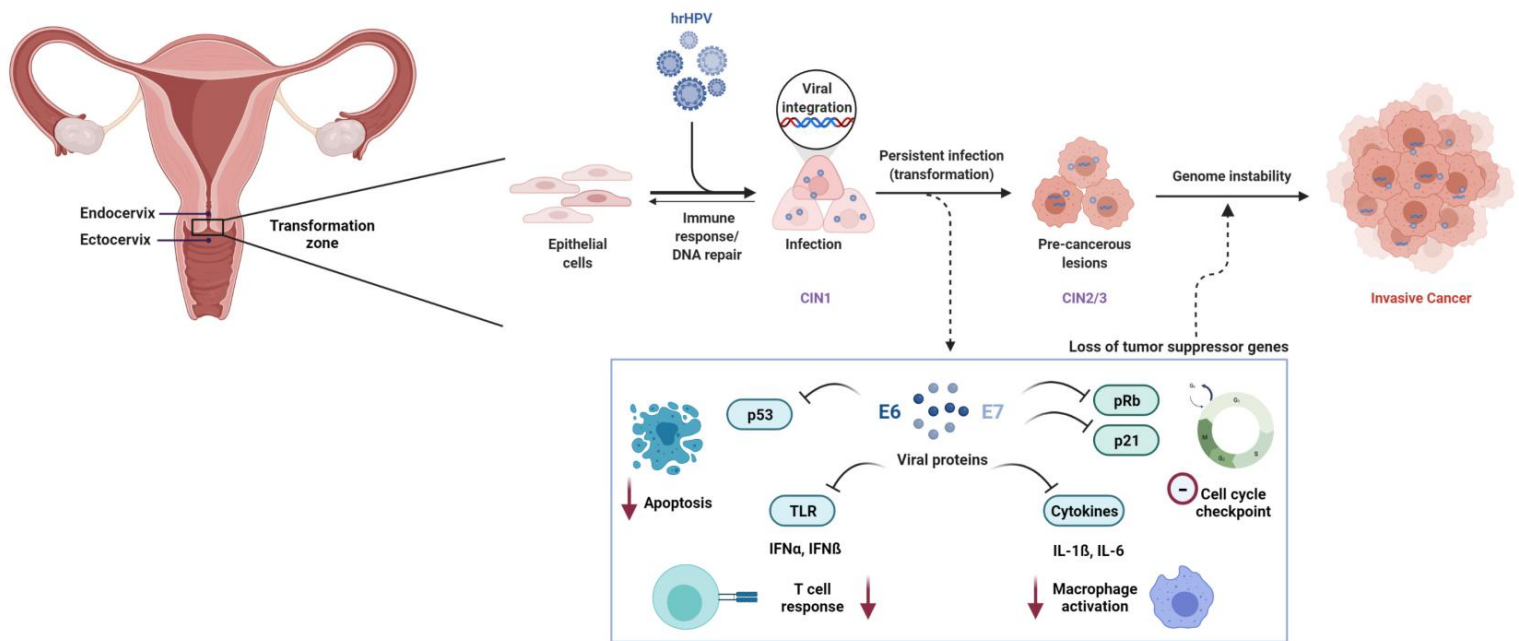
Οι δράσεις και των δύο πρωτεϊνών, E6 και E7, διαταράσσουν την φυσιολογική λειτουργία και την ρύθμιση της απόπτωσης των προσβεβλημένων κυττάρων. Η απορύθμιση του κυτταρικού κύκλου, η ενεργοποίηση της τελομεράσης και οι γονιδιακή αστάθεια προκαλούν ένα ευνοϊκό περιβάλλον για τον επιθηλιακό κυτταρικό ανασχηματισμό.

Τέλος τα προσβεβλημένα κερατινοκύτταρα εκφράζουν κυτοκίνες με σκοπό να ενεργοποιήσουν τα διπλανά κύτταρα, κυρίως τα μακροφάγα, τα κύτταρα του Langerhans και τα T-λεμφοκύτταρα. Όμως, ο συνδυασμός των παραπάνω μηχανισμών, που προκαλείται από τα γονίδια E6 και E7 του ιού, φαίνεται ότι δεν επιτρέπει στα περισσότερα κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος να εκδηλώσουν την λειτουργία τους με αποτέλεσμα να είναι ανίκανα να περιορίσουν τον ιικό και κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Έτσι, ο ανεξέλεγκτος πολλαπλασιασμός οδηγεί σε υψηλού βαθμού ενδοεπιθηλιακές νεοπλασίες και τελικά στον καρκίνο. (78)

Πολύ σημαντικό είναι επίσης ότι στην καρκινογόνο διαδικασία συμβάλλει και η αδρανοποίηση της έκφρασης του γονιδίου E2. Η πρωτεΐνη E2 αποτελεί τον κύριο αναστολέα των γονιδίων E6 και E7. (79)



**Εικόνα 8.** Σχηματική απεικόνιση της εξαλλαγής φυσιολογικού επιθηλίου σε βαθμιαίες ενδοεπιθηλιακές βλάβες και τελικά σε διηθητικό καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η κλίμακα της ενδοεπιθηλιακής νεοπλασίας του τραχήλου της μήτρας (CIN) ταξινομείται σε CIN1 (ήπια δυσπλασία), CIN2 (μέτρια δυσπλασία), CIN3 (σοβαρή νεοπλασία και καρκίνωμα in situ). (Yousefi Z, Aria H, Ghaedrahmati F, Bakhtiari T, Azizi M, Bastan R, Hosseini R, Eskandari. An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy. N.Front Immunol. 2022 Jan 27;12:805695.)



**Εικόνα 9.** Σχηματικά η παθογένεια του καρκίνου τραχήλου της μήτρας έπειτα από εμμένουσα μόλυνση με HR-HPV (Dhanya Ramachandran, Thilo Dörk. *Genomic Risk Factors for Cervical Cancer. Cancers 2021, 13(20), 5137;*)

### 3.6 Μοριακά Μονοπάτια Σηματοδότησης στον Καρκίνο του Τραχήλου της Μήτρας

Η επιβίωση, ο πολλαπλασιασμός και η μετάσταση των καρκινικών κυττάρων καθοδηγούνται από την υπερβολικά αυξημένη σηματοδότηση των υποδοχέων του αυξητικού παράγοντα EGFR. (80) Ο EGFR είναι μία μονομερής γλυκοπρωτεΐνη 170 kDA. Εκφράζεται σε πολλούς ενήλικους ιστούς και εμπλέκεται σε πολλές κυτταρικές διεργασίες απαραίτητες για την επιβίωση και την ανάπτυξη των κυττάρων. (81)

Για παράδειγμα, στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας η αυξημένη ενεργοποίηση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) λόγω μεταλλάξεων, οδηγεί σε υπερενεργοποίηση των μονοπατιών της κινάσης της φωσφατιδυλινοσιτόλης 3 (PI3K) / πρωτεϊνικής κινάσης B (Akt) και της ενεργοποιημένης από το μιτογόνο Ras πρωτεϊνικής κινάσης (MARK). Με αυτόν

τον τρόπο επέρχεται η κυτταρική επιβίωση και ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός. (82)

Επιπλέον, η αυξημένη ενεργοποίηση αυτών των μονοπατιών σηματοδότησης συμβάλλει στην αντοχή που εμφανίζεται κατά την χημειοθεραπεία/ραδιοθεραπεία για την αντιμετώπιση του καρκίνου. (83) (84)

Οι πρωτεϊνικές κινάσες JNK και η εξωκυτταρική κινάση (ERK), που ανήκουν στην οικογένεια MARK, έχουν επίσης βρεθεί υπερενεργοποιημένες. (85) (86) Εκτός από τα παραπάνω, μόρια σηματοδότησης όπως οι μετατροπείς σήματος και ενεργοποιητές μεταγραφής (STAT 3) (87), η πρωτεϊνική κινάση C (PKC) (88) καθώς και ο παράγοντας NF-κB (89) διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην τραχηλική καρκινογένεση.

Μονοπάτι Wnt/ $\beta$ -catenin. Η ενεργοποίηση αυτή της οδού σηματοδότησης είναι απαραίτητη για τον μετασχηματισμό και την αθανασία των επιθηλιακών κυττάρων και για την διατήρηση του παθολογικού φαινοτύπου. (90) Η συσσώρευση της  $\beta$ -κατενίνης στο κυτταρόπλασμα και στην συνέχεια στον πυρήνα, οδηγεί στον σχηματισμό ενός ενεργού μεταγραφικού συμπλέγματος που επάγει τις κυκλίνες c-Jun, c-myc και D, την survivin, τον αγγειακό ενδοθηλιακό αυξητικό παράγοντα (VEGF), τη COX-2 και τις μεταλλοπρωτεϊνάσες. (91) (92) (93) (94) Για τον HPV16 έχει βρεθεί ότι η ογκοπρωτεΐνη E6 ενεργοποιεί την οδό Wnt/ $\beta$ -catenin. (95) Συνολικά, η λανθασμένη λειτουργία της οδού Wnt/ $\beta$ -catenin φαίνεται ότι είναι κρίσιμη για την έναρξη και την διατήρηση των καρκίνων HPV, και ίσως η στοχευμένη θεραπεία αυτής να αποτελέσει θεραπευτική επιλογή για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας.

Μονοπάτι PI3K/Akt. Η ενεργοποίηση του μονοπατιού PI3K/Akt αποτελεί κύρια οδό καρκινογένεσης. (92) Η φωσφορυλίωση του Akt ενεργοποιεί την φωσφορυλίωση γονιδίων στόχων που ελέγχουν τον κυτταρικό κύκλο, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την αγγειογένεση, την αντιαποπτωτική δραστηριότητα και την κυτταρική επιβίωση. (96) (97) Τα παραπάνω οδηγούν σε

αυξημένη εξέλιξη του όγκου, μετάσταση και αντοχή σε φάρμακα. Η μόλυνση από τον ιό HPV συνοδεύεται από έκφραση των ογκοπρωτεϊνών E6 και E7 που ενεργοποιεί το μονοπάτι σηματοδότησης PI3K/Akt αλλάζοντας μοριακά συμβάντα που οδηγούν στην δημιουργία υψηλών βαθμών βλαβών καρκίνου. (97) Συγκεκριμένα η E7 αυξάνει την δραστηριότητα του Akt με αποτέλεσμα να αυξάνεται η δυνατότητα αδρανοποίησης της πρωτεΐνης Rb και η επαγωγή της καρκινογένεσης. (98) Για τους λόγους αυτούς, υποστηρίζεται ότι η στόχευση αυτής της οδού δίνει την ευκαιρία για έγκυρη διάγνωση και πρόγνωση των καρκίνων HPV. (99)

Μονοπάτι EMT. Κατά την HPV καρκινογένεση, οι ογκοπρωτεΐνες E6 και E7 εκφράζονται σταθερά στους HPV όγκους και φαίνεται ότι εμπλέκονται στο μονοπάτι EMT (επιθήλιο-μεσεγχυματική μετάβαση). Ο αυξητικός παράγοντας μετατροπής b-1 είναι ο πιο κοινός παράγοντας που συμμετέχει στην ρύθμιση της οδού σηματοδότησης EMT. Οι ογκοπρωτεΐνες E6/E7 του HPV16 ενεργοποιούν τον Notch1 υποδοχέα και τον συνδέτη Jagged1, που σχετίζονται με την επαγωγή της σηματοδότησης EMT που προκαλείται από το PI3K σε HPV-οφειλόμενους καρκίνους του τραχήλου της μήτρας. (100)

Μονοπάτι ERK/MARK. Μετά την ενεργοποίηση του μονοπατιού MARK, τα Ras/Raf/Mek/Erk μονοπάτια σηματοδότησης έχουν αποδειχθεί ότι αναστέλλουν την απόπτωση και αυξάνουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό. (101) Έχει αναφερθεί ότι η ογκοπρωτεΐνη E5 του ιού HPV διεγείρει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την ενεργοποίηση του μονοπατιού ERK/MARK καθώς και την φωσφορυλίωση μεταγραφικών παραγόντων όπως c-fos, c-myc, Ets1, Ets2, Elk-1, και c-jun. (102) (103)

Μονοπάτι JAK/STAT. Η οικογένεια μεταγραφικών παραγόντων STAT είναι υπεύθυνη για την επιβίωση και την εξέλιξη σε διάφορους τύπους καρκίνου. Ο παράγοντας STAT3 μεταφέρει σήματα από πολλές κυτοκίνες και από αυξητικούς παράγοντες με σκοπό να στοχεύσει γονίδια στον πυρήνα του JAK/STAT μονοπατιού. Μία πιθανή θέση δέσμωσης του STAT3 έχει υποστηριχθεί ότι είναι

η 5' μακρά περιοχή ελέγχου του HPV16, η οποία ελέγχει την έκφραση ιικών ογκογονιδίων (104) και φαίνεται ότι έχει σημαντικό ρόλο στην επιθηλιακή καρκινογένεση. (105)

Μονοπάτι NF-κΒ. Ο παράγοντας NF-κΒ εμπλέκεται στην παθογένεια πολλών καρκίνων και παίζει καθοριστικό ρόλο στον έλεγχο μίας ευρείας ποικιλίας γονιδιακών λειτουργιών όπως του πολλαπλασιασμού, της μετανάστευσης, της αγγειογένεσης και της απόπτωσης. Η υψηλότερη έκφραση και η αυξημένη δέσμευση του παράγοντα NF-κΒ στο DNA έχει συσχετιστεί με την εξέλιξη του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. (106) (107)

Τέλος για τον HPV-οφειλόμενο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας έχει αποδειχθεί ότι η πρωτεΐνες E6 και E7 μπορούν να απορυθμίσουν την έκφραση του κυτταρικού microRNA, το οποίο μεταβάλει οδούς κυτταρικής σηματοδότησης. Ακόμα η ογκοπρωτεΐνη E5 έχει την ικανότητα να διεγείρει τον υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) και με αυτό τον τρόπο να αυξήσει την ενεργοποίηση των οδών PI3K/Akt και MARK και να αναστείλει το εξωγενές μονοπάτι απόπτωσης. (108)

### 3.7 Θεραπεία

Η μεγάλη επίδραση του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας στην παγκόσμια υγεία έχει θέσει την ανάγκη να βρεθεί κάποια αποτελεσματική θεραπεία με τις λιγότερες δυνατές παρενέργειες. Οι κλασικές θεραπείες που χρησιμοποιούνται σήμερα περιλαμβάνουν την συστηματική χημειοθεραπεία, την χειρουργική αντιμετώπιση και την ακτινοθεραπεία. Στην περίπτωση του HPV-σχετιζόμενου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας αυτοί οι τρόποι θεραπείας δεν επηρεάζουν ουσιαστικά την αλληλεπίδραση μεταξύ του ιού και των κυττάρων του ξενιστή.

Για όλους αυτούς τους λόγους τις τελευταίες δεκαετίες έχουν γίνει σημαντικές προσπάθειες για την ανάπτυξη άλλων μεθόδων θεραπείας για τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Οι μέθοδοι αυτές επιδιώκουν στην πιο γρήγορη και



στοχευμένη θεραπεία, χωρίς τις τοξικές και επίπονες παρενέργειες για τον ανθρώπινο οργανισμό.

Τέτοιες νέες τεχνικές είναι η ανοσοθεραπεία και η θεραπεία με φυσικά και εδώδιμα προϊόντα που εμφανίζουν χημειοπροστατευτική, κυτταροστατική και αντικαρκινική δράση. Τα φυσικά αυτά παράγωγα περιλαμβάνουν την ρεσβερατρόλη, την κουρκουμίνη, την πτεροστιλβένη κ.ά., και αποτελούν μία υποσχόμενη θεραπευτική επιλογή για τον περιορισμό του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παγκοσμίως. (109) (110) (111) Για το λόγο αυτό, στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε ανασκόπηση της διεθνούς βιβλιογραφίας προκειμένου να διερευνηθεί η δράση της ρεσβερατρόλης έναντι του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας.

## B. Ειδικό Μέρος

### ΕΝΟΤΗΤΑ 4<sup>η</sup>

#### Η Φυσική Ουσία Ρεσβερατρόλη

##### 4. Δομή και Δράσεις Ρεσβερατρόλης

Τα βότανα και τα φυτικά παράγωγα χρησιμοποιούνται εδώ και αρκετά χρόνια ως μία συμπληρωτική ή διαιτητική θεραπεία με σκοπό την αλλαγή κυτταρικών μονοπατιών. (112)

Η ρεσβερατρόλη (3,4',5-trihydroxy-trans-stilbene)(Εικόνα 9) αποτελεί μία φυσική ουσία που εμφανίζεται σε διάφορα φρούτα και τρόφιμα, και τελευταία έχει λάβει μεγάλη προσοχή για τις πιθανές χημειοπροστατευτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες που διαθέτει. Ένα πλήθος μελετών *in vitro* και *in vivo* αναφέρει την ρεσβερατρόλη ως μία ουσία που παρουσιάζει σημαντικές κυτταροστατικές και χημειοπροστατευτικές ιδιότητες εναντίον διαφόρων τύπων καρκίνων. (113) Για τον λόγο αυτό, τις τελευταίες δεκαετίες χρησιμοποιείται σαν μία εναλλακτική θεραπεία προκειμένου να περιορίσει την ανάπτυξη διαφόρων καρκίνων στον ανθρώπινο οργανισμό ή ακόμα σαν συμπληρωματική θεραπεία μαζί με τα χημειοθεραπευτικά φάρμακα. (114)

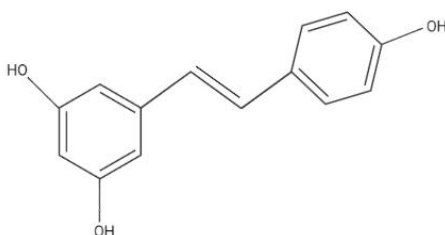
Πιο συγκεκριμένα, η ένωση της ρεσβερατρόλης είναι μία φυσική ουσία της κατηγορίας των φυτοαλεξινών με βασική δομή στιλβενίων, που ανακαλύφθηκε πρώτη φορά το 1997. Αυτό το φυσικό παράγωγο βρίσκεται κυρίως στα σταφύλια, στην φλούδα και στους σπόρους του φρούτου, αλλά και σε περισσότερα φυσικά προϊόντα όπως το κρασί, τα φιστίκια, τα μούρα και το τσάι. (115) Γενικά η ουσία αυτή παράγεται από ένα μεγάλο πλήθος φυτών, περίπου 70, ως απόκριση σε ορισμένα εξωτερικά ερεθίσματα όπως στρες, βακτηριακές

και μυκητιασικές λοιμώξεις, τραυματισμοί και έκθεση σε υπεριώδη ακτινοβολία. (116)

Ειδικότερα, η ποσότητα της ρεσβερατρόλης που περιέχεται στα σταφύλια και στον χυμό τους υπολογίζεται περίπου από 0.05 με 0.5 έως 3.54 mg/L. (117)

Επιπλέον φαίνεται πως η ρεσβερατρόλη διαθέτει μεγάλη θεραπευτική δυνατότητα εναντίον βακτηρίων, μυκήτων και ιών, και ακόμα βελτιώνει την καρδιοαναπνευστική δραστηριότητα του ανθρώπινου οργανισμού όταν λαμβάνεται συστηματικά ως συμπλήρωμα. (118)

Οι αντικαρκινικές της ιδιότητες έχουν μελετηθεί σε αρκετά είδη καρκίνων με τα πιο σημαντικά τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, του μαστού, της μήτρας, του αίματος και των νεφρών. Η επίδρασή της ενάντια στον καρκίνο ενισχύεται καθώς η ρεσβερατρόλη έχει την ικανότητα να ρυθμίζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την κυτταρική διαφοροποίηση και την λειτουργία των ιστών του οργανισμού. (113) Ένα από τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα της ρεσβερατρόλης είναι ότι ενώ έχει την δυνατότητα να τροποποιεί αρκετά μονοπάτια που σχετίζονται με την εμφάνιση καρκίνου ταυτόχρονα φαίνεται ότι διαθέτει ελάχιστη έως μηδενική τοξικότητα προς τα κύτταρα του ξενιστή. Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι ότι μπορεί να εκδηλώνει την αντικαρκινική της δράση και να είναι ανεκτή από τα φυσιολογικά κύτταρα του ξενιστή, χωρίς να εμφανίζονται σημαντικές παρενέργειες στις λειτουργίες τους. (119)



**Εικόνα 10.** Οργανική ένωση της ρεσβερατρόλης (Δημιουργήθηκε με BioRender)

## ΕΝΟΤΗΤΑ 5<sup>η</sup>

### Μελέτες Ρεσβερατρόλης στον HPV Καρκίνο Τραχήλου της Μήτρας

Σύμφωνα με μελέτες η ρεσβερατρόλη επιδρά μέσω τριών οδών στα διάφορα προσβεβλημένα καρκινικά κύτταρα. Αυτές οι οδοί περιλαμβάνουν αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, επιδράσεις στο μηχανισμό της απόπτωσης και την εκδήλωση αντιφλεγμονώδους δράσης. (115)

Ωστόσο μέχρι και σήμερα συνολικά οι δράσεις της ρεσβερατρόλης εναντίον των HPV καρκινικών κυττάρων τραχήλου της μήτρας δεν φαίνεται να έχουν αποσαφηνιστεί πλήρως καθώς σε νέες αναλύσεις (*in vitro* και *in vivo*) που πραγματοποιούνται, συχνά εμφανίζονται καινούργιοι τρόποι δράσης της.

Συνολικά η ρεσβερατρόλη φαίνεται πως επηρεάζει μεσολαβούμενες οδούς σηματοδότησης των κυττάρων σε διάφορες καρκινικές σειρές καρκίνου τραχήλου της μήτρας, όμως η δράση της δεν ακολουθεί τους ίδιους μηχανισμούς σε όλες αυτές τις κυτταρικές σειρές. (120) (121)

Οι μελέτες των τελευταίων περίπου 20 ετών πάνω στην δράση της ρεσβερατρόλης στον HPV-οφειλόμενο καρκίνο του τραχήλου της μήτρας παρατίθενται παρακάτω με χρονολογική σειρά.

#### 5.1 *In vitro* μελέτες

Στις ακόλουθες, *in vitro* μελέτες έχουν χρησιμοποιηθεί διάφορες καρκινικές κυτταρικές σειρές προκειμένου να παρουσιαστούν οι επιδράσεις της ρεσβερατρόλης (RSV) στον καρκίνο της μήτρας. Η πρώτη μελέτη δημοσιεύτηκε το 2002 και η πιο πρόσφατη το 2022. Όλα τα κύτταρα που χρησιμοποιήθηκαν περιέχουν τουλάχιστον ένα αντίγραφο του γονιδιώματος του ιού HPV και

συνεπώς σε αρκετές περιπτώσεις τονίζεται η επίδραση της ρεσβερατρόλης σε βασικά ογκογονίδια του ιού.

Πολύ σημαντικό είναι να επισημανθεί ότι στις περιπτώσεις που δεν αναφερόταν στις *in vitro* μελέτες ο τύπος του ιού HPV με τον οποίο είναι μολυσμένα τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται, θεωρήθηκε ως δεδομένο ο τύπος του ιού που κατά κανόνα έχει βρεθεί στην κάθε κυτταρική σειρά. Έτσι όλες οι κυτταρικές σειρές και οι τύποι του ιού HPV που παρουσιάζονται στις *in vitro* μελέτες παρατίθενται παρακάτω.

**Πίνακας 2.** Οι καρκινικές σειρές του τραχήλου μήτρας και ο τύπος του ιού HPV που περιέχουν.

Κυτταρική Σειρά	Τύπος HPV
HeLa	HPV18+
SiHa	HPV16+
SKGI	HPV18+
SKGII	HPV18+
SKGIIIa	HPV16+
SKGIIIb	HPV16+
CaLo	HPV18+
CaSki	HPV16+
W12	HPV16+
HT-3	HPV30+ (όχι σε όλες τις περιπτώσεις)

(Skok K, Gradišnik L, Maver U, Kozar N, Sobočan M, Takač I, Arko D, Kavalarić R. Gynaecological cancers and their cell lines. *J Cell Mol Med.* 2021 Apr;25(8):3680-3698.) (Zuñiga Martinez ML, López Mendoza CM, Tenorio Salazar J, García Carrancá AM, Cerbón Cervantes MA, Alcántara-Quintana LE. Establishment, authenticity, and characterization of cervical cancer cell lines. *Mol Cell Oncol.* 2022 Jun 1;9(1):2078628.) (Milligan SG, Veerapraditsin T, Ahamet B, Mole S, Graham SV. Analysis of novel human papillomavirus type 16 late mRNAs in differentiated W12 cervical epithelial cells. *Virology.* 2007 Mar 30;360(1):172-81.) (Hwang ES, Riese DJ 2nd, Settleman J, Nilson LA, Honig J, Flynn S, DiMaio D.

1)Χρησιμοποιώντας κύτταρα καρκίνου τραχήλου της μήτρας, HeLa και SiHa, ο Zoberi και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι η ρεσβερατρόλη (RSV) ενίσχυσε την απόκριση των κυττάρων σε θεραπεία με ιονίζουσα ακτινοβολία. Αυτό το αποτέλεσμα ευαισθησίας στην ακτινοβολία συσχετίστηκε με εμφανή διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην S φάση και με αισθητή μείωση της δραστηριότητας της κυκλοοξυγενάσης-1 (COX-1). Ακόμη η ανάπτυξη και η επιβίωση των κυττάρων μειώθηκε σημαντικά στις κυτταρικές σειρές όπου παρούσα ήταν η ρεσβερατρόλη σε σχέση με τα κύτταρα αναφοράς. (122)

2)Η θεραπεία καρκινικών κυττάρων HeLa με RSV σύμφωνα με τον Woo και τους συνεργάτες του, είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή της κυτταρικής μετανάστευσης και μείωσης της μεταστατικής ικανότητας αυτών των κυττάρων. Επιπρόσθετα, η θεραπεία με την ρεσβερατρόλη μείωσε σημαντικά την ποσότητα, τα επίπεδα δραστηριότητας και το mRNA της μεταλλοπρωτεϊνάσης μήτρας-9 (MMP-9), που επάγεται από την PMA (phorbol-12-myristate-13-acetate). Αυτή η μείωση σχετίζεται και με την αναστολή της PMA-επαγόμενης c-Jun N-τελικής κινάσης (JNK), όπως και με την ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C (PKCδ). Ακόμα η RSV ελάττωσε ικανοποιητικά τον ενεργοποιητή της πρωτεΐνης-1 και την σηματοδότηση του πυρηνικού παράγοντα κάππα Β (NFκΒ). (123)

3)Ο Tang και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν καρκινικά κύτταρα HeLa μολυσμένα με τις ογκοπρωτεΐνες E6 και E7 του HPV-16 και παρατήρησαν αυξημένη έκφραση του επαγόμενου από την υποξία μεταγραφικού παράγοντα 1α (HIF-1α) και του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα (VEGF). Ακόμη μονοπάτια σηματοδότησης των πρωτεϊνών PI3K και ERK (πρωτεΐνες μεταφοράς σήματος από υποδοχέα στο DNA του κυττάρου) συμμετείχαν σε αυτή την διαδικασία όπως φανερώνουν τα αυξημένα επίπεδα φωσφορυλίωσης

των Akt και ERK. Η χρήση ειδικών αναστολέων αυτών των μονοπατιών (LY294002 για την αναστολή της PI3K και PD98059 για την αναστολή της ERK) ελάττωσε σημαντικά τα επίπεδα του παράγοντα HIF-1α που προκλήθηκαν από τις πρωτεΐνες E6 και E7. Η θεραπεία με RSV είχε το ίδιο αποτέλεσμα στα επίπεδα του HIF-1α όπως και η θεραπεία με HIF-1α siRNA. Συγκεντρωτικά, αυτή η μελέτη έδειξε ότι η ρεσβερατρόλη διαθέτει πιθανές αντι-αγγειογενετικές ικανότητες και αναστέλλει την λειτουργία των πρωτεϊνών E6 και E7 σε οφειλόμενο HPV καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. (124)

4)Ο Hsu και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι η θεραπεία καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας HeLa, SiHa και SKGIIIb με RSV (100-200 μM) είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης και την επαγωγή της απόπτωσης των κυττάρων, όπως φανερώνουν η αύξηση του κυτοχρώματος C (Cyto C) και των επιπέδων της κασπάσης 3 (Casp-3). Επιπλέον η θεραπεία των κυττάρων HeLa με RSV αύξησε την κυτταρική αυτοφαγία, όπως φαίνεται από τον δείκτη αυτοφαγίας LC3-II. Ακόμα η θεραπεία της ίδιας κυτταρικής σειράς με 100 μM RSV επέφερε αύξηση στα κυτταροπλασματικά επίπεδα και στην δραστηριότητα της καθεψίνης L (cat L). Με την χρησιμοποίηση ενός μικρού παρεμβαλλόμενου RNA (siRNA) ο Hsu και η ομάδα του, κατάφεραν να ρυθμίσουν αρνητικά την καθεψίνη L και έτσι να καταργήσουν την επαγόμενη από την RSV απόπτωση. Παράλληλα, η μείωση της ρύθμισης του siRNA του αντιγόνου 1 του ακανθοκυτταρικού καρκινώματος (SCCA1) προώθησε την επαγόμενη από την RSV απόπτωση, υποδεικνύοντας ένα ρόλο ως αρνητικός ρυθμιστής. Η θεραπεία με RSV επίσης επέφερε αύξηση στην διαπερατότητα της λυσοσωμική μεμβράνης (LMP). Τέλος, η αναστολή της αυτοφαγίας με ασπαραγίνη ή wortmannin εξασθένισε τις απαντήσεις των κυττάρων εξαιτίας της RSV (αυξημένη LMP, LC3-II και απόπτωση). Συνολικά, η συγκεκριμένη μελέτη υποστηρίζει ότι η αυτοφαγία που προκαλείται από την παρουσία της RSV έχει ως αποτέλεσμα την ελάττωση της LMP, της κυτταροπλασματικής καθεψίνης L, του κυτοσώματος C, της κασπάσης 3 και της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας. (125)

5)Ο Krammer και οι συνεργάτες του μετά την επίδραση σε HeLa καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας με RSV βρήκαν ότι ελαττώθηκε σημαντικά ο πολλαπλασιασμός των κυττάρων και ο κυτταρικός κύκλος στην φάση S (παρατηρήσεις έπειτα από 24 ώρες επίδρασης με RSV). Ωστόσο, αυτή η διακοπή του κυτταρικού κύκλου εμφανίστηκε αναστρέψιμη καθώς ο πληθυσμός των κυττάρων στην G2/M επανεμφανίστηκε μετά από 32-48 ώρες αγωγής με RSV. Συνοπτικά η μελέτη αυτή δείχνει πως η RSV διαθέτει την ικανότητα να προκαλέσει διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση S σε κύτταρα HeLa, αλλά με έναν παροδικό και αναστρέψιμο τρόπο. (126)

6)Επίδραση με RSV (10, 30 & 100  $\mu$ M) σε διάφορες κυτταρικές σειρές καρκίνου του τραχήλου της μήτρας (SKG-I, SKG-II, SKG-IIIa & HeLa) είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της κυτταρικής επιβίωσης. Επιπλέον, η θεραπεία των κυττάρων αυτών με RSV αύξησε την κυτταρική αυτοφαγία και απόπτωση. Ο ATAD3A αυξήθηκε σε καρκίνο του τραχήλου της μήτρας που προκλήθηκε από τον ιό HPV. Τέλος, αυτό το άρθρο δείχνει την προοπτική της ρεσβερατρόλης για την αντιμετώπιση των καρκινικών διαδικασιών που οφείλονται στον ιό HPV. (127)

7)Ο Kim και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν RSV (10, 30 & 100  $\mu$ M) εναντίον καρκινικών κυττάρων HeLa τραχήλου της μήτρας και ανακάλυψαν σημαντική αναστολή της κυτταρικής μετανάστευσης και εισβολής που προκαλείται από την οξική μυριστική φορβόλη (PMA). Αυτό το αποτέλεσμα συνδέθηκε με μείωση των επιπέδων και της δραστηριότητας της μεταλλοπρωτεϊνάσης μήτρας-9 (MMP-9), του παράγοντα NF- $\kappa$ B και της πρωτεΐνης AP-1. Ακόμα, η RSV ανέστειλε τη μεσολαβούμενη από τον NF- $\kappa$ B μεταγραφή της MMP-9. Συνολικά, αυτή η έρευνα υποδηλώνει ότι η RSV έχει μία πιθανή δράση στην αναστολή της μετάστασης του καρκίνου τραχήλου της μήτρας. (128)

8)Η επίδραση της καρκινικής σειράς HeLa τραχήλου μήτρας με RSV (25  $\mu$ M) είχε ως αποτέλεσμα αύξηση της κυτταρικής απόπτωσης, όπως διαφαίνεται από τα αυξημένα επίπεδα της κασπάσης-3 και -9, την μείωση του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης και τον κατακερματισμό του DNA. Επίσης,



ανιχνεύτηκε μείωση στα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου HDM2. Τέλος, αυτή η μελέτη δείχνει ότι η RSV έχει την ικανότητα να προκαλεί απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας μέσω της ενεργοποίησης των μονοπατιών κασπασών, και με την ελάττωση της έκφρασης του γονιδίου HDM2. (129)

9)Ο Garcia-Zerpeda και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν την RSV (150–250  $\mu\text{M}$  για 48 h) έναντι καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας (HeLa, CaLo, CaSki & SiHa). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής έδειξαν μείωση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και μείωση στην απόπτωση και αυτοφαγία. Επιπλέον, οι περισσότερες κυτταρικές σειρές εμφάνισαν αύξηση στην έκφραση του παράγοντα p53 και ταυτόχρονα μείωση των p65 και NFkB εξαιτίας της RSV. (130)

10)Οι καρκινικές σειρές τραχήλου μήτρας (HeLa & SiHa) έπειτα από επίδραση με RSV (100  $\mu\text{M}$  για 48 h) εμφάνισαν μείωση στην κυτταρική ανάπτυξη και αύξηση της απόπτωσης. Η ανάλυση με ανοσοαποτύπωση κατά Western έδειξε ελάττωση στην φωσφορυλίωση του Notch1/2, Hes1, Wnt2/5a,  $\beta$ -κατεΐνης και του μετατροπέα σήματος και ενεργοποιητή της μεταγραφής (STAT3). Ταυτόχρονα τα επίπεδα του PIAS3 εμφάνισαν αύξηση. Ακόμα η επίδραση με RSV προκάλεσε διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση S και επαγωγή της απόπτωσης. Αυτά τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με την επίδραση του AG490, ενός επιλεκτικού αναστολέα των STAT3/JAK3. Η χρήση του L-685.458 (αναστολέας του μονοπατιού Notch) ή του XAV-939 (αναστολέας του μονοπατιού Wnt) δεν μιμήθηκε ούτε επέφερε τα αποτελέσματα της RSV. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι η επαγόμενη από RSV απόπτωση προκαλείται από την αναστολή του STAT3. (131)

11)Αντίστοιχα, ο Li και οι συνεργάτες του έπειτα από επίδραση με RSV (10-100  $\mu\text{M}$ ) σε HeLa καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας παρατήρησαν μείωση στην βιωσιμότητα, στον πολλαπλασιασμό και στην επιβίωση των κυττάρων. Αυτά τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με μείωση της φωσφορυλίωσης του μονοπατιού STAT3 και αύξηση στην έκφραση του γονιδίου GRIM-19 (gene associated with

retinoid-IFN-induced mortality 19). Η υπερέκφραση του GRIM-19 μείωσε τα επίπεδα της φωσφορυλίωσης του μονοπατιού STAT3, της κυκλίνης B1, του παράγοντα VEGF και της πρωτεΐνης Bcl-2. Την ίδια στιγμή η μείωση της έκφρασης του GRIM-19, χρησιμοποιώντας ένα μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (SiRNA), προκάλεσε μείωση στην φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του μονοπατιού STAT3 και άμβλυνε τις επιπτώσεις της RSV. Συνοπτικά, η μελέτη αυτή παραθέτει στοιχεία κατά τα οποία η RSV έχει ως στόχο το μονοπάτι ενεργοποίησης GRIM-19-STAT3 ως αποτέλεσμα της αντικαρκινικής δράσης της. (132)

12)Ο Zhang και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν δύο διαφορετικές κυτταρικές σειρές (HeLa και SiHa) και έπειτα από την επίδραση 100 μM RSV για χρονική διάρκεια 48 ωρών παρατήρησαν μείωση στην ανάπτυξη και, στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ενώ παράλληλα παρατηρήθηκε αύξηση στην απόπτωση. Η ανοσοκυτταροχημική χρώση (ICC), η ανοσοαποτύπωση κατά Western και η ανάλυση με RT-PCR αποκάλυψαν ακόμα μείωση στον αναστολέα p-STAT3 καθώς και αναστολή στην πρωτεΐνη survivin, στον παράγοντα c-Myc, στην κυκλίνη D1 και στην έκφραση του παράγοντα VEGF και στις δύο κυτταρικές σειρές. Επιπλέον, ενώ τα βασικά επίπεδα του καταστολέα της σηματοδότησης κυτοκίνης 3 (SOCS3) και του αναστολέα πρωτεΐνης του ενεργοποιημένου STAT3 (PIAS3) αρχικά ήταν χαμηλά ενώ αυξήθηκαν μετά την επίδραση με RSV. Πολύ σημαντικό είναι επίσης ότι αναφέρθηκε μια αρνητική συσχέτιση μεταξύ της έκφρασης του PIAS3 και της πυρηνικής μετατόπισης του STAT3. Τέλος, τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν ότι η RSV διαθέτει την ικανότητα να τροποποιεί την φωσφορυλίωση του STAT3, την ενεργοποίηση και την πυρηνική μετατόπισή του μέσω της αυξανόμενης έκφρασης του PIAS3, και έτσι τελικά να οδηγεί στην αναστολή του πολλαπλασιασμού και της επιβίωσης των καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας. (133)

13)Ο Ruiz και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν καρκινικά κύτταρα τραχήλου HeLa εμπλουτισμένα με καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSC) θετικά για CD49F που

ονομάζονται σφαιρικά HeLa (HeLa SP) και είναι λιγότερο ευαίσθητα στην ετοποσίδη (VP16). Η επίδραση σε αυτά τα κύτταρα με RSV και VP16 είχε ως αποτέλεσμα τη σημαντική μείωση της κυτταρικής βιωσιμότητας και αύξηση της απόπτωσης. Η αύξηση της απόπτωσης συσχετίστηκε με μείωση των επιπέδων της πρωτεΐνης RAD51. Ακόμη η αρνητική ρύθμιση της πρωτεΐνης RAD51, με την χρήση ενός siRNA επέφερε παρόμοια αποτελέσματα όπως η επίδραση με RSV. Συνοπτικά, αυτή η μελέτη υποδηλώνει ότι η RSV έχει την ικανότητα να στοχεύει στην πρωτεΐνη RAD51 και να αυξάνει την αποτελεσματικότητα του αντικαρκινικού φαρμάκου VP16 κατά την θεραπεία CSC εμπλουτισμένων καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας. (134)

14) Η επίδραση σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας HeLa με RSV (5-40  $\mu\text{M}$  για 24-48 h) μείωσε την κυτταρική βιωσιμότητα και μετανάστευση, ενώ σταμάτησε το κυτταρικό κύκλο στην φάση S. Ο Chatterjee και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι η RSV ρυθμίζει αρνητικά την ογκοπρωτεΐνη E6 του ιού HPV, προκαλεί την ενεργοποίηση της κασπάσης-3 ενώ ρυθμίζει θετικά τα επίπεδα της πρωτεΐνης p53. (135)

15) Επίσης σε HeLa καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας μετά από επίδραση με RSV, τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, αύξηση της κυτταρικής απόπτωσης και αυξημένη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση G1/S. Η ανοσοαποτύπωση κατά Western έδειξε σημαντική αύξηση στα επίπεδα της πρωτεΐνης p53. Αυτές οι επιπτώσεις της RSV εμφανίστηκαν ακόμα και σε HeLa κύτταρα που στερούνται τον υποδοχέα υδρογονάνθρακα αρυλίου (AHR), κάτι που υποδεικνύει ότι η δράση της RSV είναι ανεξάρτητα του AHR. (136)

16) Ο Li και οι συνεργάτες του παρατήρησαν ότι τα καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας HeLa μετά από την έκθεσή τους σε RSV εμφάνισαν μειωμένη βιωσιμότητα, αναστολή του πολλαπλασιασμού και επαγωγή της απόπτωσης, εξαρτώμενα από την δόση και τον χρόνο θεραπείας. Η RSV οδήγησε σε επαγωγή

μονοπατιών ενεργοποίησης των κασπασών-3 και -9, αύξησε την έκφραση της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bax και μείωσε τα επίπεδα των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 και Bcl-XL. Τέλος, τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης p53 αυξήθηκαν ενώ τα επίπεδα της κυκλίνης B1 μειώθηκαν. Συνολικά, το άρθρο αυτό δείχνει ότι η RSV διαθέτει ισχυρές ανασταλτικές δράσεις στα κύτταρα HeLa. (137)

17) Η θεραπεία καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας HeLa με RSV μείωσε την βιωσιμότητα και τον πολλαπλασιασμό που συσχετίστηκε με μείωση της φωσφολιπιδικής scramblase 1 (PLSCR1). (138)

18) Ο Nakamura και οι συνεργάτες του υπέβαλαν SiHa καρκινικά κύτταρα τραχήλου της μήτρας σε θεραπεία με RSV (100 μΜ για 24 h). Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση στην έκφραση της survivin, μίας αντι-αποπτωτικής πρωτεΐνης που συχνά υπερεκφράζεται στα καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας. Όταν χρησιμοποίησαν ένα siRNA για να αποκλείσουν την δράση της survivin τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια έπειτα από επίδραση με RSV. Επιπλέον, όταν στα κύτταρα αυτά πραγματοποιήθηκε συνδυαστική επίδραση με RSV και με τον επαγωγικό συνδέτη του παράγοντα νέκρωσης όγκων-A που σχετίζεται με απόπτωση (TRAIL), εμφανίστηκε μία αξιοσημείωτη μείωση της βιωσιμότητας κυττάρων, διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση G2/M, αύξηση στην απόπτωση και θετική ρύθμιση της E-καντχερίνης. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι η RSV σε συνδυασμό με τον TRAIL διαθέτουν μία συνεργιστική δράση στην επαγωγή της απόπτωσης των καρκινικών κυττάρων τραχήλου SiHa. (139)

19) Ο Assad και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν HeLa καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας και τα κατεργάστηκαν με RSV. Τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση στην βιωσιμότητα των κυττάρων και στην κυτταροτοξικότητα, παρόμοια με αυτά που παρατηρήθηκαν όταν τα κύτταρα επώαστηκαν με τους αναστολείς mTOR temsirolimus και everolimus που χρησιμοποιούνται στην θεραπεία του καρκίνου. Επιπλέον, η επώαση με RSV όπως και η επώαση με temsirolimus και everolimus, ενίσχυσε την κυτταροτοξική επίδραση της θεραπείας με ακτινοβολία

(2Gy). Τέλος αυτή η μελέτη υποδεικνύει τις ακτινο-ευαίσθητες ιδιότητες της RSV. (140)

20)Καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας HeLa έπειτα από την έκθεσή τους σε RSV, εμφάνισαν μείωση στον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και αύξηση στην απόπτωση, όπως φανερώνουν αποτελέσματα τόσο με μετρήσεις κυτταρομετρίας ροής/αννεξίνης όσο και με αυξημένα επίπεδα της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης BIM. Τέλος, η ανοσοαποτύπωση κατά Western έδειξε μειωμένα επίπεδα φωσφορυλίωσης των ERK και FOXO3a μετά την επίδραση με RSV. (141)

21)Η θεραπεία ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας HeLa και SiHa με RSV είχε ως αποτέλεσμα μείωση του πολλαπλασιασμού, μειωμένη ικανότητα επούλωσης πληγών, μετανάστευσης, και εισβολής, υποδεικνύοντας μείωση και στην μετάσταση των κυττάρων. Η επώαση με RSV (40  $\mu$ M για 24 h) είχε ως επίδραση μία σημαντική αύξηση της E-καντχερίνης ενώ μειώθηκε η N-καντχερίνη και η βιμεντίνη, υποδηλώνοντας αναστολή της μετάβασης του επιθηλίου σε μεσεγχυματικό (EMT). Η ανοσοαποτύπωση κατά Western αποκάλυψε μείωση στα επίπεδα των πρωτεϊνών MMP-3 και -13. Συμπληρωματικά, η θεραπεία με RSV ελάττωσε την φωσφορυλίωση/ενεργοποίηση της πρωτεΐνης STAT3. (142)

22)Ο Rap1 και οι συνεργάτες υπέβαλαν κύτταρα HeLa σε επώαση με RSV και τα αποτελέσματα έδειξαν μείωση την βιωσιμότητα που συσχετίστηκε με αντίστοιχη μείωση στην ενδοκυτταρική γλυκόζη. Το αποτέλεσμα αυτό υποδηλώνει μείωση στην πρόσληψη της γλυκόζης από τα καρκινικά κύτταρα. Παρόμοια, τα επίπεδα του γαλακτικού εμφανίστηκαν μειωμένα, τα επίπεδα πυροσταφυλικού αυξημένα και τέλος η μειώθηκε αναλογία NADH/NAD<sup>+</sup>, υποδηλώνοντας διαταραχές στο φαινόμενο Warburg που παρατηρείται συνήθως στα καρκινικά κύτταρα. (143)

23)Όταν σε υποκλώνους W12 κυττάρων (που προέρχονται από προκαρκινικές βλάβες του τραχήλου της μήτρας και περιέχουν επισωματικό και ενσωματωμένο HPV16 DNA) πραγματοποιήθηκε επίδραση με RSV, τα αποτελέσματα έδειξαν μεγάλη μείωση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. (144)

24)Η επώαση κυττάρων HeLa και CaSki με RSV είχε ως αποτέλεσμα την αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, την διακοπή του κυτταρικού κύκλου και την προώθηση της απόπτωσης. Η κυτταρομετρία ροής έπειτα από την θεραπεία με RSV αποκάλυψε αυξημένο ποσοστό κυττάρων στην φάση G1 του κυτταρικού κύκλου, ενώ ταυτόχρονα αρκετά μειωμένο ποσοστό κυττάρων στην φάση S. Η ποσότητα του mRNA των πρωτεϊνών p16, p21, p27 και BAX αυξήθηκε, ενώ αντίθετα των CDK4, E2F1, p-pRb1 και BCL-2 μειώθηκε. Επιπλέον, αναλύσεις μέσω ανοσοϊστοχημείας και ανοσοαποτύπωσης κατά Western έδειξαν μεγάλη μείωση στις πρωτεΐνες του ιού HPV E6 και E7 και στην p-pRb1, ενώ παράλληλα μειώθηκε σημαντικά και η πρωτεΐνη p53. (121)

25)Έπειτα από επίδραση με RSV σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας HT-3, παρατηρήθηκε μείωση της βιωσιμότητας, του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και αύξηση της απόπτωσης. Η μέγιστη επαγωγή της απόπτωσης παρατηρήθηκε σε συγκέντρωση 1,25  $\mu$ M της RSV. (145)

26)Ο Devi και οι συνεργάτες του εξέθεσαν κύτταρα HeLa σε RSV και τα αποτελέσματα έδειξαν μειωμένη κυτταρική επιβίωση και αυξημένη έκφραση του εναλλάκτη νατρίου/λιθίου/ασβεστίου (NCLX). Ο εναλλάκτης NCLX είναι μία πρωτεΐνη που εντοπίζεται στην μιτοχονδριακή μεμβράνη και μετακινεί το ασβέστιο έξω από τα μιτοχόνδρια (στο κυτταρόπλασμα) με ανταλλαγή ιόντων νατρίου ή λιθίου. Η αυξημένη έκφραση του NCLX που προήλθε από την επίδραση με RSV σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ασβεστίου στο κυτόπλασμα. Αυτά τα δεδομένα υποστηρίζουν την άποψη ότι η μειωμένη κυτταρική βιωσιμότητα που προέρχεται από την RSV οφείλεται στην κυτταροτοξικότητα που προκαλείται από το ασβέστιο. Η επίδραση της RSV στην κυτταρική βιωσιμότητα είναι παρόμοια με εκείνη που εμφανίζεται κατά την αρνητική

ρύθμιση του NCLX μέσω ενός SiRNA. Η αρνητική ρύθμιση του NCLX οδηγεί σε υπερφόρτωση των μιτοχονδρίων με ασβέστιο και έτσι εμφανίζεται η κυτταροτοξικότητα. Ο συνδυασμός της RSV και του NCLX SiRNA οδήγησε σε μεγαλύτερη μείωση της βιωσιμότητας των κυττάρων από ότι η επίδραση με το καθένα ξεχωριστά. Συνολικά, αυτή η μελέτη υποδηλώνει ότι ανωμαλίες στην κυτταρική ομοιόσταση του ασβεστίου οδηγούν στην κυτταροτοξικότητα, και πως ο συνδυασμός της RSV και του NCLX SiRNA θα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω ως αντικαρκινική θεραπεία. (146)

27) Η επώαση κυττάρων HeLa με RSV είχε ως αποτέλεσμα την μείωση της κυτταρικής επιβίωσης και την παύση του κυτταρικού κύκλου στην φάση S. Οι απεικονίσεις με ανοσοφθορισμό έδειξαν ακόμη μία σημαντική αρνητική ρύθμιση του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) έπειτα την επίδραση με RSV. (147)

Στον Πίνακα 3 που ακολουθεί, παρατίθενται οι *in vitro* μελέτες διερεύνησης της δράσης της ρεσβερατρόλης εναντίον των διάφορων HPV καρκινικών κυτταρικών σειρών τραχήλου μήτρας.

**Πίνακας 3.** Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης στις HPV καρκινικές κυτταρικές σειρές τραχήλου μήτρας: *in vitro* μελέτες.

Καρκινική Σειρά	Ρεσβερατρόλη Συγκέντρωση/Διάρκεια	Δράσεις	Βιβλιογραφία
<b>HeLa</b> <b>SiHa</b>	10 μΜ 1-8 ημέρες	↑ επίδρασης της ακτινοβολίας ↓ κυτταρικής ανάπτυξης ↓ κυτταρικής επιβίωσης ↑ διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην φάση S ↓ COX-1 δραστηριότητα	Zoberi et al 2002
<b>HeLa</b>	50 & 75 μΜ 24 ώρες	↓ PMA επιδράσεων ↓ MMP-9 (mRNA, πρωτεΐνη & δραστηριότητα) ↓ JNK ↓ PKC δ ↓ AP-1 ↓ NFκB	Woo et al 2004
<b>HeLa</b> που εκφράζουν HPV ογκοπρωτεΐνες E6 & E7	25, 50 & 100 μΜ 16 ώρες	↓ HIF-1a ↓ VEGF	Tang et al 2007
<b>HeLa</b> <b>SiHa</b> <b>SKGIIIb</b>	100-400 μΜ 24-72 ώρες	↓ κυτταρικής ανάπτυξης ↑ αυτοφαγίας ↑ απόπτωσης ↑ LC3-II ↑ LMP ↑ Cat L ↑ κυτοχρώματος C ↑ κασπάσης-3	Hsu et al 2009
<b>HeLa</b>	5,25 & 50 μΜ 24-48 ώρες	↓ κυτταρικής ανάπτυξης – Διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση S	Krammer et al 2009
<b>SKGI</b> <b>SKGII</b> <b>SKGIIIa</b> <b>HeLa</b>	10, 30 & 100 μΜ	↑ αυτοφαγίας ↑ απόπτωσης ↓ αντίσταση των φαρμάκων ↓ ATAD3A ↑ τριβή της εξωτερικής μεμβράνης των μιτοχονδρίων ↑ αυτοφαγοσωμάτων	Chen et al 2011



Καρκινική Σειρά	Ρεσβερατρόλη Συγκέντρωση/Διάρκεια	Δράσεις	Βιβλιογραφία
HeLa	10, 30 & 100 μM 24, 48 & 72 ώρες	↓κυτταρικής εισβολής ↓μετάστασης ↓MMP-9 (επίπεδα & δραστηριότητα) ↓NF-κB ↓AP-1	Kim et al 2012
HeLa	25 μM 24, 48 & 72 ώρες	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑απόπτωσης ↑κασπάσης-9 ↑κασπάσης-3 ↓δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης -JC-1 σε μονομερή μορφή ↓HDM	Dhandayuthapani et al 2013
HeLa (HPV18+) CaLo (HPV18+) CaSki (HPV16+) SiHa (HPV16+)	150-250 μM 48 ώρες	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑απόπτωσης ↓δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης ↑μιτοχονδριακής και λυσosomalικής διαπερατότητας ↑p53 ↓p65 ↓NF-κB	Garcia-Zepeta et al 2013
HeLa SiHa	100 μM 12-48 ώρες	↑διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην S φάση ↑απόπτωσης ↓p-STAT3 ↓Notch-1/2 ↓Hes1 ↓Wnt2/5a ↓β-catenin ↑PIAS3	Zhang et al 2014
HeLa	10 & 100 μM 24 ώρες	↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↓κυτταρικής επιβίωσης ↑GRIM-19 ↓p-STAT3 ↓B1 κυκλίνης ↓VEGF ↓Bcl-2	Li et al 2015

Καρκινική Σειρά	Ρεσβερατρόλη Συγκέντρωση/Διάρκεια	Δράσεις	Βιβλιογραφία
HeLa SiHa	100 μM 12, 24, 36 & 48 ώρες	↓κυτταρικής ανάπτυξης ↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑απόπτωσης ↓p-STAT3 ↓survivin ↓c-Myc ↓Cyclin D1 ↓VEGF ↑SOCS3 ↑PIAS3	Zhang et al 2015
καρκινικά βλαστοκύτταρα (CSC) από καλλιέργειες HeLa (HeLa SP)	137 μM 48-72 ώρες	↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↑απόπτωσης ↓RAD51	Ruiz et al 2018
HeLa	5-40 μM 24-48 ώρες	↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↓κυτταρικής μετανάστευσης ↑διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην S φάση ↓ικκής πρωτεΐνης E6 ↑p53	Chatterjee et al 2018
HeLa	10-80 μM 12-36 ώρες	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην G1/S φάση ↑p53 ↑απόπτωσης	Flores-Perez et al 2018
HeLa	10-40 μM 24-48 ώρες	↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑απόπτωσης ↑κασπάσης-3 ↑κασπάσης-9 ↑Bax ↓Bcl-2 ↓Bcl-XL ↑p53 ↓Cyclin B1	Li et al 2018

Καρκινική Σειρά	Ρεσβερατρόλη Συγκέντρωση/Διάρκεια	Δράσεις	Βιβλιογραφία
<b>HeLa</b>	0-100 $\mu$ M 24-96 ώρες	↓κυτταρικής ανάπτυξης ↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↓Phospholipid scramblase-1	Zhao et al 2018
<b>SiHa</b>	100 $\mu$ M 24 ώρες	↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↑διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην G2/M φάση ↑απόπτωσης ↓επιπέδων mRNA της survivin ↓πρωτεϊνικών επιπέδων της survivin ↑E-cadherin	Nakamura et al 2018
<b>HeLa</b>	2,5-150 $\mu$ M 24-48 ώρες	↓κυτταρικής βιωσιμότητας ↑κυτταροτοξικότητας ↑νέκρωσης	Assad et al 2018
<b>HeLa</b>	0-80 $\mu$ M 48 ώρες	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑απόπτωσης ↓p-FOXO3a ↑FOXO3a ↑Bim ↓p-ERK	Liu et al 2020
<b>HeLa</b> <b>SiHa</b>	0-40 $\mu$ M 24 ώρες	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↓επούλωσης πληγών ↓μετανάστευσης/εισβολής ↓μετάστασης ↑E- cadherin ↓N- cadherin ↓vimentin ↓πρωτεϊνικών επιπέδων των MMP-3/-13 ↓πρωτεϊνικών επιπέδων του STAT3	Sun et al 2020

Καρκινική Σειρά	Ρεσβερατρόλη Συγκέντρωση/Διάρκεια	Δράσεις	Βιβλιογραφία
<b>HeLa</b>	20 μM 24 ώρες	↓κυτταρικής επιβίωσης ↑κυτταροτοξικότητας ↓πρόσληψης γλυκόζης ↓της αναλογίας NADH/NAD <sup>+</sup> ↓γαλακτικού ↑πυροσταφυλικού	Pani et al 2021
<b>W12</b>	0-100 μM	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού	Einbond et al 2021
<b>HeLa CaSki</b>	5-40 μM 24 ώρες	↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην S φάση ↑απόπτωσης ↑p16/21/27 ↓CDK4 ↓E3EF1 ↓p-pRb1 ↓πρωτεϊνικών επιπέδων και mRNA της Bcl-2 ↓mRNA της Bcl-XL ↑πρωτεϊνικών επιπέδων της Bax ↑E6 & E7 ↑p53	Sun et al 2021
<b>HT-3</b>	0,16-0,25 μM 0-48 ώρες	↓κυτταρικής επιβίωσης ↓κυτταρικής ανάπτυξης ↓κυτταρικού πολλαπλασιασμού ↑απόπτωσης	Alharbi et al 2021
<b>HeLa</b>	262,87 μM 24 ώρες	↓κυτταρικής επιβίωσης ↑απόπτωσης ↑mRNA των κασπασών-3/- 8/-9 ↑NCL	Devi et al 2021
<b>HeLa</b>	20 μM 24 ώρες	↑διακοπής του κυτταρικού κύκλου στην S φάση ↓σχηματισμού αποικίας ↓EGFR	Pani et al 2022

## 5.2 *In vivo* μελέτες

Οι ελάχιστες *in vivo* μελέτες διερεύνησης της δράσης της ρεσβερατρόλης έχουν πραγματοποιηθεί μόλις τα τελευταία 4 χρόνια. Οι επιδράσεις που προκύπτουν από την χορήγηση της RSV σε ζωικά μοντέλα καρκίνου του τραχήλου της μήτρας παρατίθενται παρακάτω.

1) BALB/C 'γυμνοί' ποντικοί υποβλήθηκαν σε υποδόρια ένεση με κύτταρα HeLa και στην συνέχεια ακολούθησαν θεραπεία με RSV (10 mg/kg σωματικού βάρους) καθημερινά για 28 ημέρες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής η θεραπεία με RSV προκάλεσε σημαντική μείωση στο βάρος του όγκου. (148)

2) Σε θηλυκούς C57BL/6 ποντικούς χορηγήθηκαν μέσω υποδόριας ένεσης στον αυχένα TC-1 κύτταρα, τα οποία εξέφραζαν τις ογκοπρωτεΐνες του ιού HPV16 E6 και E7 καθώς και την πρωτεΐνη p21. Μετά την ικανοποιητική εδραίωση των όγκων (15 με 20 ημέρες από την κυτταρική ένεση), οι όγκοι χωρίστηκαν σε τέσσερα τεταρτημόρια και για κάθε τεταρτημόριο ακολουθήθηκε θεραπεία με RSV (10  $\mu$ L από 1 mM πυκνού διαλύματος, συνολικά 40  $\mu$ L χορηγήθηκαν με ένεση εντός της βλάβης) για 5 συνεχόμενες ημέρες. Αυτή η θεραπεία είχε ως αποτέλεσμα την σημαντική μείωση στο μέγεθος του όγκου. Η ανοσοϊστοχημεία από τον ιστό του όγκου έδειξε σημαντική μείωση των επιπέδων της E6 ογκοπρωτεΐνης, του αγγειακού ενδοθηλιακού αυξητικού παράγοντα και του πολλαπλασιαζόμενου πυρηνικού αντιγόνου (PCNA). Τα παραπάνω δεδομένα υποδηλώνουν ότι η απευθείας θεραπεία των όγκων με RSV είχε ως αποτέλεσμα μεγάλη συρρίκνωση του όγκου εξαιτίας της αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της διακοπής του κυτταρικού κύκλου, που όπως φαίνεται σχετίζεται με ελάττωση των επιπέδων της ογκοπρωτεΐνης E6. (149)

3) BALB/C 'γυμνοί' ποντικοί χωρίστηκαν σε μία ομάδα προ θεραπείας με RSV και σε μία ομάδα θεραπείας. Η ομάδα προθεραπείας με RSV ακολούθησε ενδογαστρική χορήγηση με 30 mg/kg RSV επί 3 φορές την εβδομάδα και για 2 εβδομάδες. Έπειτα μέσω υποδόριας ένεσης στην ομάδα προθεραπείας χορηγήθηκαν κύτταρα HeLa ( $5 \times 10^6$  cells) και στην συνέχεια ακολούθησε θεραπεία για ακόμα 3 εβδομάδες. Η ομάδα θεραπείας υποβλήθηκε σε ενδογαστρική χορήγηση RSV (30 mg/kg, 3 φορές την εβδομάδα) για χρονικό διάστημα 5 εβδομάδων, 10 ημέρες μετά την ένεση με κύτταρα HeLa. Τα δεδομένα και από τις δύο ομάδες έδειξαν σημαντική ελάττωση στο μέγεθος και στο βάρος του όγκου. Η ανάλυση των δειγμάτων όγκων με ανοσοαποτύπωση Western αποκάλυψε σπουδαία μείωση στην φωσφορυλίωση του STAT3, της b-κανταχερίνης, της βιμεντίνης και των επιπέδων της MMP-3 και της MMP-13. Η ανοσοϊστοχημεία επίσης αποκάλυψε μείωση στην p-STAT3, στην N-κανταχερίνης και στην βιμεντίνη και αύξηση στην E-κανταχερίνης. (142)

4) Ο Hao και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν μελέτη για τις ιδιότητες της RSV και χρησιμοποίησαν BALB/C 'γυμνούς' θηλυκούς ποντικούς. Στους ποντικούς χορηγήθηκαν υποδορίως  $2 \times 10^6$  κύτταρα HeLa και 1 εβδομάδα μετά, ακολούθησε από του στόματος θεραπεία με RSV, 30 mg/kg RSV επί 3 φορές την εβδομάδα για χρονικό διάστημα 3 εβδομάδων. Αυτός ο τρόπος θεραπείας είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του μεγέθους και βάρους του. Τα πρωτεϊνικά επίπεδα και τα επίπεδα του mRNA των E6 και E7 εμφανίστηκαν μειωμένα, ενώ τα πρωτεϊνικά επίπεδα (έπειτα από εκτίμηση μέσω ανοσοαποτύπωσης κατά Western και ανοσοχρωστικές τεχνικές) των ογκοκατασταλτικών πρωτεϊνών p53 και Rb1 αυξήθηκαν σημαντικά στους ιστούς του όγκου. (150)

5) Σε BALB/C 'γυμνούς' θηλυκούς ποντικούς χορηγήθηκαν με υποδόρια ένεση HeLa καρκινικά κύτταρα. Έπειτα ακολουθήθηκε θεραπεία με 15 mg/kg RSV ενδογαστρικά για χρονικό διάστημα 5 εβδομάδων, τρεις φορές την εβδομάδα. Κατά την διάρκεια αυτής της θεραπείας, το βάρος του όγκου μειώθηκε

σημαντικά. Ανοσοαποτύπωση κατά Western του ιστού από τον οποίο προέρχεται ο όγκος αποκάλυψε μείωση στις πρωτεΐνες E6 και E7, στην p-pRb1 και ταυτόχρονη αύξηση στην ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη p53. (121)

Στον Πίνακα 4 που ακολουθεί παρατίθενται οι δράσεις της ρεσβερατρόλης από *in vivo* μελέτες σε ποντικούς.

**Πίνακας 4.** Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης σε ζωικά μοντέλα HPV καρκίνου του τραχήλου μήτρας: *in vivo* μελέτες.

Τύποι Ποντικών & Καρκινική Σειρά	Ρεσβερατρόλη Συγκέντρωση/Διάρκεια	Δράσεις	Βιβλιογραφία
<b>Θηλυκοί BALB/C ‘γυμνοί’ ποντικοί ενέθηκαν υποδόρια με <math>2 \times 10^6</math> HeLa κύτταρα/mL (100 <math>\mu</math>L/ποντικό)</b>	Χορήγηση 10 mg/kg RSV από του στόματος, καθημερινά για 28 ημέρες	↓ βάρος όγκου ↑ PLSCR1	Zhao et al 2018
<b>Θηλυκοί C57BL/6 ποντικοί ενέθηκαν υποδόρια με TC-1 (HPV ογκογονίδια E6, E7 θετικά) κύτταρα</b>	Χορήγηση 40 $\mu$ L RSV εντός του όγκου καθημερινά για 5 ημέρες	↓ μέγεθος όγκου ↑ διακοπής του κυτταρικού κύκλου ↓ επίπεδα E6 ↓ επίπεδα VEGF ↓ PCNA	Chatterjee et al 2019
<b>BALB/C ‘γυμνοί’ ποντικοί ενέθηκαν υποδόρια με <math>5 \times 10^6</math> HeLa κύτταρα/mL</b>	Χορήγηση 30 mg/kg RSV ενδογαστρικά, 3 φορές την εβδομάδα για 2 εβδομάδες συνολικά (προ-θεραπεία)	↓ μέγεθος του όγκου ↓ βάρος του όγκου ↓ πρωτεΐνης STAT3 ↓ πρωτεϊνικών MM-3/-13 επιπέδων ↑ E-cadherin ↓ N-cadherin ↓ Vimentin	Sun et al 2020
<b>Θηλυκοί BALB/C ‘γυμνοί’ ποντικοί ενέθηκαν υποδόρια με <math>2 \times 10^6</math> HeLa κύτταρα/mL</b>	Χορήγηση 30 mg/kg RSV από του στόματος, 3 φορές την εβδομάδα για 3 εβδομάδες συνολικά	↓ μέγεθος του όγκου ↓ βάρος του όγκου ↓ πρωτεϊνικών επιπέδων E6/7 ↓ mRNA επιπέδων E6/7 ↑ έκφρασης p53 ↑ έκφρασης Rb1	Hao 2021
<b>Θηλυκοί BALB/C ‘γυμνοί’ ποντικοί ενέθηκαν υποδόρια με <math>2 \times 10^6</math> HeLa κύτταρα/mL (100 <math>\mu</math>L/ποντικό)</b>	Χορήγηση 15 mg/kg RSV ενδογαστρικά, 3 φορές την εβδομάδα για 5 εβδομάδες συνολικά	↓ μέγεθος του όγκου ↓ βάρος του όγκου ↓ mRNA επιπέδων E6/7 ↓ πρωτεϊνικών επιπέδων E6/7 ↓ p-Rb1 ↑ έκφρασης p53	Sun et al 2021



## ΕΝΟΤΗΤΑ 6<sup>η</sup>

### Μέθοδοι-Τρόποι αναζήτησης πληροφοριών

Ο σκοπός αυτής της βιβλιογραφικής έρευνας, που αναφέρεται στην παρουσίαση των τρόπων δράσης της ρεσβερατρόλης στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, ήταν εκτός από την δημιουργία πτυχιακής εργασίας και η δημιουργία ενός άρθρου ανασκόπησης. Συνεπώς, πέρα από την αναζήτηση των επιμέρους πληροφοριών, ακολουθήθηκαν όλα τα στάδια που είναι απαραίτητα για την συγγραφή αυτού του είδους άρθρου. Τα στάδια περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

**1<sup>ο</sup> Στάδιο:** Εφόσον το θέμα της εργασίας και του άρθρου ανασκόπησης είναι οι τρόποι δράσης της ρεσβερατρόλης στον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας, η αναζήτηση στην ιστοσελίδα του Pubmed περιορίστηκε ως εξής α) cervical cancer and resveratrol *in vitro* και β) cervical cancer and resveratrol *in vivo*.

**2<sup>ο</sup> Στάδιο:** Όλα τα άρθρα που προέκυψαν από κάθε αναζήτηση μελετήθηκαν λεπτομερώς και επιλέχθηκαν όσα περιείχαν πληροφορίες σχετικά με το θέμα της εργασίας.

**3<sup>ο</sup> Στάδιο:** Συνολικά επιλέχθηκαν 27 άρθρα που αφορούν τις *in vitro* και τα 5 άρθρα *in vivo* μελέτες της ρεσβερατρόλης εναντίον του καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Η επιλογή των μελετών έγινε αποκλειστικά με βάση την περιεκτικότητά τους σε πληροφορίες σχετικά με το θέμα της εργασίας.

**4<sup>ο</sup> Στάδιο:** Όλα τα άρθρα μελετήθηκαν αναλυτικά και στην συνέχεια συντάχθηκε μία μικρή περίληψη για το καθένα, στην οποία περιλαμβάνονται όλες οι πληροφορίες για την δράση της ρεσβερατρόλης είτε *in vitro* είτε *in vivo*.

**5<sup>ο</sup> Στάδιο:** Στην συνέχεια οι δράσεις της ρεσβερατρόλης συγκεντρώθηκαν σε δύο πίνακες, ξεχωριστά για τις *in vitro* και τις *in vivo* μελέτες.

**6° Στάδιο:** Μετά από μελέτη των μηχανισμών δράσης της ρεσβερατρόλης, οι πιο συχνά εμφανιζόμενοι στο σύνολο των μελετών επιλέχθηκαν για να παρουσιαστούν στα αποτελέσματα.

**7° Στάδιο:** Δημιουργήθηκαν μέσω Biorender οι δύο εικόνες που αφορούν τους μηχανισμούς δράσης της ρεσβερατρόλης στις *in vitro* και *in vivo* μελέτες που είναι διαθέσιμες μέχρι στιγμής.

**8° Στάδιο:** Τέλος έγινε η παρουσίαση των δεδομένων καθώς και των συμπερασμάτων. Η παρουσίαση των δεδομένων και γενικά η συγγραφή του άρθρου ανασκόπησης, ακολούθησε την ίδια πορεία με αυτή της πτυχιακής εργασίας και τα δεδομένα-αποτελέσματα που αναφέρονται και στα δύο είναι τα ίδια.

## ΕΝΟΤΗΤΑ 7<sup>η</sup>

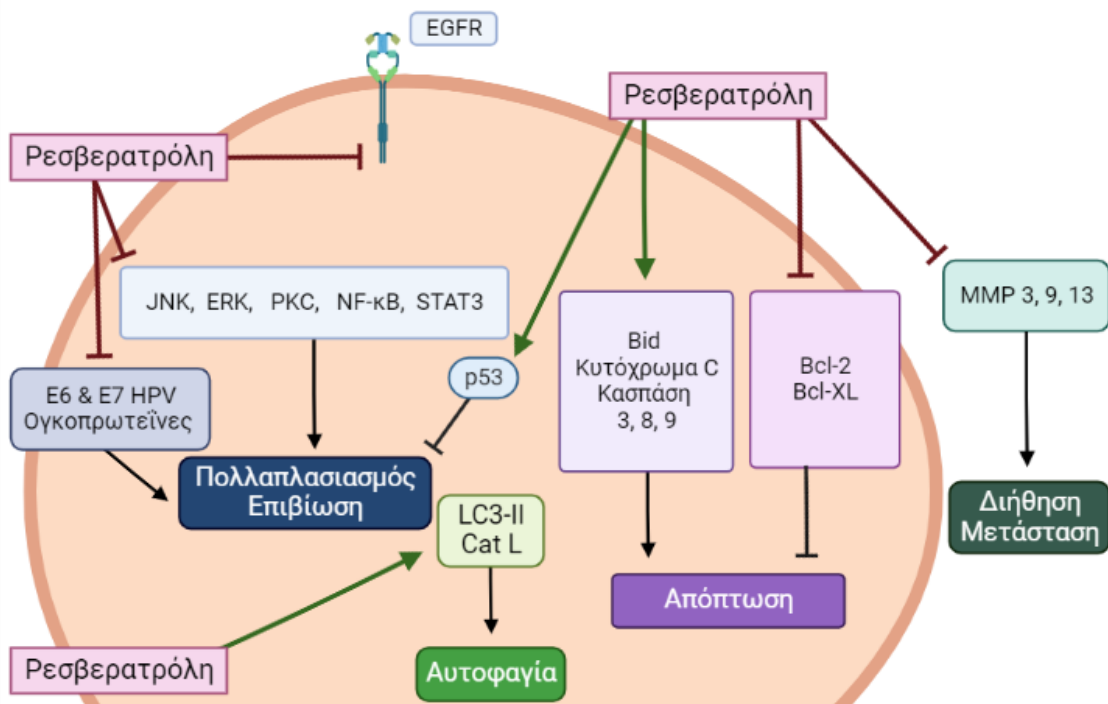
### Συμπεράσματα/Συζήτηση

Από τις *in vitro* μελέτες προκύπτει ότι οι συγκεντρώσεις της ρεσβερατρόλης που χρησιμοποιούνται κατά την επίδραση σε καρκινικές σειρές τραχήλου μήτρας, κυμαίνονται από 0,16-262  $\mu\text{M}$ . Επίσης η μέγιστη αντικαρκινική δράση παρατηρείται σε συγκεντρώσεις 50-100  $\mu\text{M}$  ρεσβερατρόλης.

Οι *in vitro* μελέτες παρέχουν επίσης επαρκή στοιχεία για το γεγονός ότι η ρεσβερατρόλη έχει την δυνατότητα να αναστέλλει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την κυτταρική επιβίωση και να προκαλεί την απόπτωση των καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας (Πίνακας 3). Ακόμα στοιχεία σχετικά με τους μηχανισμούς που εμπλέκονται στις αντικαρκινικές ιδιότητες της ρεσβερατρόλης, αποκαλύπτουν αναστολή των EGFR, ERK, JNK, PKC, STAT3, και NF-kB. Επίσης τα επίπεδα της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53, των προ-αποπτωτικών κασπασών-3, -8, -9 και του ενζύμου PARP αυξάνονται, ενώ τα επίπεδα των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 Bcl-XL μειώνονται, καταδεικνύοντας πως η ρεσβερατρόλη επηρεάζει τον μηχανισμό της απόπτωσης. Τέλος, η ρεσβερατρόλη φαίνεται ότι αυξάνει τα επίπεδα της πρωτεΐνης LC3-II υποδηλώνοντας την πρόκληση της κυτταρικής αυτοφαγίας, ενώ η μείωση των πρωτεϊνών MMP 3, 9 και 13 σχετίζεται με ελάττωση της διήθησης και μετάστασης των καρκινικών κυττάρων. Στην Εικόνα 11 παρατίθενται οι επιδράσεις της ρεσβερατρόλης στα διάφορα μοριακά μονοπάτια σηματοδότησης στα καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας.

Δυστυχώς, καμία από τις διαθέσιμες *in vitro* μελέτες που εξετάστηκαν δεν αναφέρει τις δράσεις της ρεσβερατρόλης σε φυσιολογικά/υγιή κύτταρα τραχήλου μήτρας. Με μία επιπλέον βιβλιογραφική έρευνα, δεν βρέθηκαν μελέτες που να εξετάζουν τις επιπτώσεις της ρεσβερατρόλης σε υγιή επιθηλιακά κύτταρα.

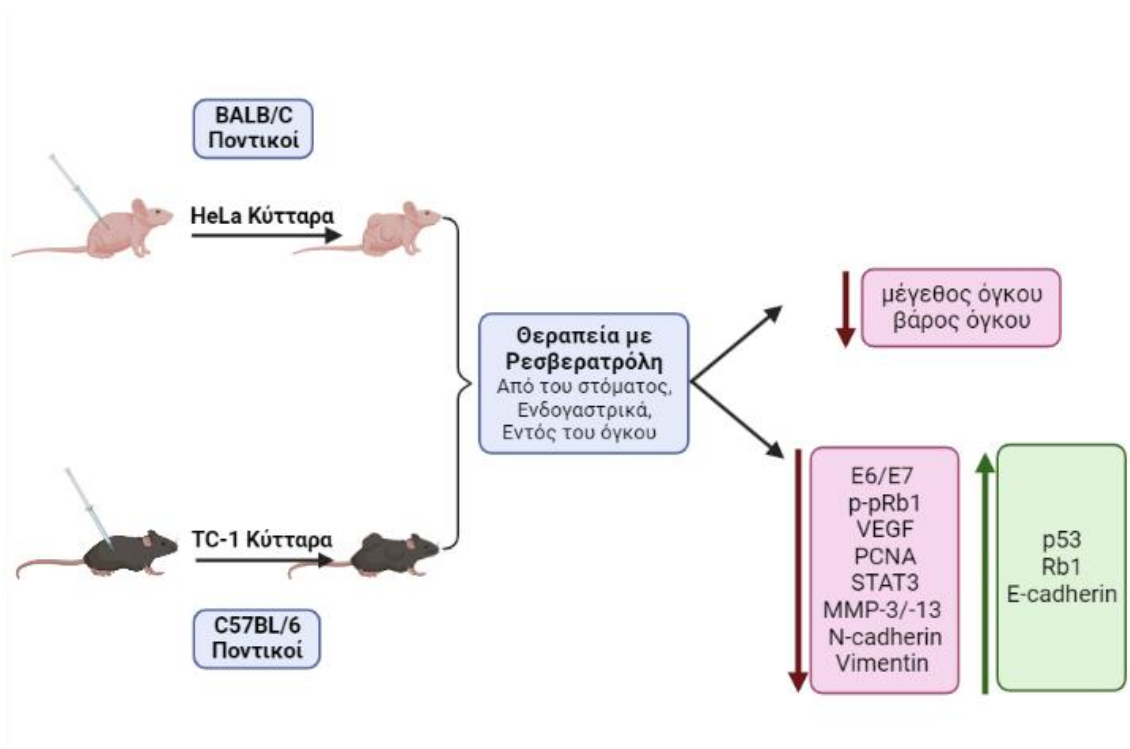
Ωστόσο, σε μία παλαιότερη μελέτη που αναφέρεται στην θεραπεία του καρκίνου του προστάτη με ρεσβερατρόλη, βρέθηκε σημαντική αναστολή της επιβίωσης των καρκινικών προστατικών κυττάρων PC3 και 22RV1, ενώ τα φυσιολογικά PNT1A επιθηλιακά κύτταρα προστάτη δεν επηρεάστηκαν καθόλου έπειτα από την χορήγηση της ρεσβερατρόλης. (151)



**Εικόνα 11.** Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης όπως προκύπτουν από τις *in vitro* μελέτες (Δημιουργήθηκε με BioRender). Η ρεσβερατρόλη μειώνει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την κυτταρική επιβίωση και προκαλεί την απόπτωση στις καρκινικές σειρές του τραχήλου μήτρας.

Συγκριτικά οι *in vivo* μελέτες της ρεσβερατρόλης είναι πολύ λιγότερες από τις *in vitro* ωστόσο δείχνουν ότι σε ποντικούς με ξενομόσχευμα καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας, η θεραπεία με ρεσβερατρόλη μειώνει σημαντικά το μέγεθος και το βάρος του όγκου συγκριτικά με μη θεραπευμένους με ρεσβερατρόλη

ποντικούς (Εικόνα 12). Επιπλέον μετά την χορήγηση της ρεσβερατρόλης οι ογκοπρωτεΐνες E6 και E7 του ιού HPV, ο παράγοντας VEGF και οι πρωτεΐνες MMP-3, -13 μειώνονται σημαντικά ενώ οι ογκοκατασταλτικές πρωτεΐνες p53 και Rb1 αυξάνονται. Στην Εικόνα 12 παρατίθενται οι δράσεις της ρεσβερατρόλης *in vivo* σε ξενομοσχευμένους ποντικούς με καρκινικές σειρές τραχήλου μήτρας.



**Εικόνα 12.** Οι δράσεις της ρεσβερατρόλης με βάση τα δεδομένα από τις διαθέσιμες *in vivo* μελέτες. (Δημιουργήθηκε με BioRender). Η θεραπεία με ρεσβερατρόλη στους ποντικούς επιφέρει σημαντική μείωση στο μέγεθος και στο βάρος του όγκου, συγκριτικά με τους μη θεραπευμένους ποντικούς.

Σχετικά με τις *in vivo* μελέτες που δείχνουν σημαντική μείωση του μεγέθους και του βάρους του όγκου έπειτα από την δράση της ρεσβερατρόλης, τα αποτελέσματα δεν συνοδεύονται από μετρήσεις της ρεσβερατρόλης στο αίμα ποντικών.

Ακόμα, η απορρόφηση της ρεσβερατρόλης μέσω της γαστρεντερικής οδού είναι αρκετά χαμηλή και η ίδια μεταβολίζεται γρήγορα και αποβάλλεται από την συστηματική κυκλοφορία. Τα παραπάνω αποτελούν αποτελέσματα της χαμηλής βιοδιαθεσιμότητας της ρεσβερατρόλης. (152)

Μία πρόσφατη μελέτη, αποκάλυψε ότι η από του στόματος χορήγηση ρεσβερατρόλης σε ποντικούς για 4 εβδομάδες (αντίστοιχη δόση για τον άνθρωπο – 4,6 mg/kg/ημέρα), πως η μικροχλωρίδα του εντέρου κατέχει πολύ σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό και στις δράσεις αυτής της ουσίας. (153)

Υπάρχουν περιορισμένες μελέτες σχετικά με την βιοδιαθεσιμότητα της ρεσβερατρόλης στον ανθρώπινο οργανισμό. Σε μία μελέτη, μονή δόση από του στόματος των 25 mg έδειξε συγκέντρωση 2 μM ρεσβερατρόλης στο αίμα έπειτα από 60 λεπτά. (154)

Όλα τα παραπάνω υποδεικνύουν ότι η από του στόματος χορήγηση ρεσβερατρόλης, παρά την χαμηλή βιοδιαθεσιμότητά της, οδηγεί σε συγκέντρωση ρεσβερατρόλης στο πλάσμα σε μικρομοριακό εύρος.

## Περιορισμοί

1)Από τις *in vitro* μελέτες, είναι εμφανές ότι οι δράσεις της ρεσβερατρόλης σε κύτταρα από μη καρκινικό ιστό τραχήλου μήτρας δεν έχουν μελετηθεί, και επιπλέον μελέτες είναι απαραίτητες. Συγκεκριμένα, θα ήταν πολύ χρήσιμο οι μελλοντικές μελέτες να εξετάζουν παράλληλα τις δράσεις της ρεσβερατρόλης σε καρκινικά και φυσιολογικά/υγιή κύτταρα του ίδιου ιστού.

2)Παρόλο που αρκετές μελέτες (συνολικά 27) εξετάζουν τις επιδράσεις της ρεσβερατρόλης σε καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας *in vitro*, μόνο 5 υπάρχουν που αναφέρονται στις *in vivo* δράσεις. Όλες οι μελέτες στα ζώα χρησιμοποιούν μοντέλα ετερόλογης μεταμόσχευσης καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Η ετερόλογη μεταμόσχευση αφορά την μεταμόσχευση ζωντανών κυττάρων, ιστών ή οργάνων από ένα είδος σε ένα άλλο. Σε αυτή την περίπτωση

μεταμοσχεύτηκαν ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα τραχήλου μήτρας σε δύο διαφορετικά είδη ανοσοκατασταλμένων ποντικών μέσω υποδόριας ένεσης, σε διαφορετική θέση (όχι στον τράχηλο μήτρας των ποντικών-εκτοπικά μοντέλα). Παρόλο που αυτά τα μοντέλα φαίνεται πως είναι εύκολο να δημιουργηθούν και παρέχουν καλή ποσοτικοποίηση του όγκου, διαθέτουν και μειονεκτήματα. Δεν μιμούνται ακριβώς την ανάπτυξη και το μικροπεριβάλλον του όγκου που εμφανίζεται στους ασθενείς με καρκίνο του τραχήλου της μήτρας. Η χρήση ορθοτοπικών μοντέλων (η θέση μεταμόσχευσης είναι ίδια με την θέση από όπου προέρχονται τα κύτταρα) καρκίνων τραχήλου της μήτρας, εμφανίζει πλεονεκτήματα και απεικονίζει το μικροπεριβάλλον του όγκου και τις οδούς σηματοδότησης που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και τη μετάσταση του όγκου όπως παρατηρούνται σε ανθρώπινους καρκίνους τους τραχήλου της μήτρας. (155) Πολύ χρήσιμο θα είναι εάν οι μελλοντικές μελέτες επιλέξουν ορθοτοπικά και κλινικά μοντέλα ποντικών (χειρουργική εμφύτευση κυττάρων που προέρχονται από όγκους που έχουν αφαιρεθεί από τον τράχηλο ασθενών) για την μελέτη των επιδράσεων της ρεσβερατρόλης.

3) Άλλος ένας πολύ σημαντικός περιορισμός προκειμένου να κατανοήσουμε τον τρόπο δράσης και τα αποτελέσματα από την θεραπεία με ρεσβερατρόλη, είναι η έλλειψη κλινικών δοκιμών. Έπειτα από αναζήτηση στην εθνική ιστοσελίδα ClinicalTrials.gov των Η.Π.Α, βρέθηκαν 191 κλινικές δοκιμές που αφορούν την ρεσβερατρόλη από τις οποίες μόνο οι 17 ήταν σχετικές με διάφορους καρκίνους. Τελικά μόνο μία εκ των 17 μελετών, παρουσιάζει και αποτελέσματα. Η κλινική δοκιμή αυτή είχε ως θέμα τον συνδυασμό της ρεσβερατρόλης μαζί με το φάρμακο Bortezomib σε 24 ασθενείς με πολλαπλό μυέλωμα. Στους ασθενείς χορηγήθηκαν 5 g ρεσβερατρόλης με μορφή πόσιμου εναιωρήματος κάθε πρωί για 20 ημέρες, και δυστυχώς οι 12 από τους 24 (50%) συμμετέχοντες εμφάνισαν σοβαρές παρενέργειες. Σημαντικό είναι να σημειωθεί ότι η δόση των 5 g ρεσβερατρόλης είναι πολύ αυξημένη σε σχέση με τις υπόλοιπες διαθέσιμες μελέτες και έχουν αναφερθεί αρνητικές επιπτώσεις σε ασθενείς ήδη σε δόσεις των 2,5 g. (156) (157) (158) Συνολικά και από τις υπόλοιπες κλινικές δοκιμές μπορούμε να διακρίνουμε ότι υπάρχει μία μεγάλη απόκλιση στην ποσότητα της

ρεσβερατρόλης που χρησιμοποιείται, με τιμές που κυμαίνονται από 20 mg έως και 1,5-5 g. Ίσως αυτές οι διαφορές στην δόση να αντιμετωπιστούν σε μελλοντικές κλινικές μελέτες.

4)Σημαντικό να σημειωθεί επίσης είναι ότι η δομή της ρεσβερατρόλης είναι παρόμοια με την δομή της στεροειδής γυναικείας ορμόνης, οιστραδιόλης. Για τον λόγο αυτό υπάρχουν αρκετές μελέτες που χρησιμοποιούν καρκινικές σειρές μαστού *in vitro* και ζωικά μοντέλα καρκίνου του μαστού με σκοπό να αποσαφηνίσουν τις δράσεις της ρεσβερατρόλης σε θεραπεία αυτών. Οι μελέτες αυτές έχουν δείξει ότι η ρεσβερατρόλη λόγω της δομής της δρα ως ανταγωνιστής των υποδοχέων οιστρογόνων και παρουσιάζει έτσι αντικαρκινικές επιδράσεις. (159) (160) Ωστόσο, άλλες μελέτες έχουν αναφέρει επίσης ότι η ρεσβερατρόλη εμφανίζει και πιθανή οιστρογονική δράση, με αποτέλεσμα να προκαλεί προβλήματα στον ανθρώπινο οργανισμό. (161) (162) (163) Εύκολα γίνεται κατανοητό ότι είναι απαραίτητες επιπλέον μελέτες σε ζωικά μοντέλα και κλινικές δοκιμές προκειμένου να αποσαφηνιστεί εάν η ρεσβερατρόλη δρα ως αγωνιστής ή ανταγωνιστής του υποδοχέα των οιστρογόνων *in vivo*.

5)Τέλος, ορισμένα άρθρα ανασκόπησης αναφέρονται στην κυτταροτοξικότητα της ρεσβερατρόλης καθώς και στις αρνητικές επιπτώσεις που εμφανίζονται στους ανθρώπους μετά την χρήση της. (164) (165) (166) Ο Cottart και οι συνεργάτες του εξέτασαν συνολικά όλες τις διαθέσιμες μελέτες έως το 2010 και συμπέραναν ότι η από του στόματος λήψη ρεσβερατρόλης στους ανθρώπους είναι αρκετά καλά ανεκτή. Πρέπει να σημειωθεί, ότι στην πλειοψηφία αυτών των μελετών, η ρεσβερατρόλη χορηγήθηκε ως μονή δόση σε ποσότητα λιγότερη του 1 g σε υγιή άτομα. Χορήγηση ρεσβερατρόλης σε υψηλότερες δόσεις και/ή σε ασθενείς που έπασχαν από διάφορα νοσήματα, μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετικά αποτελέσματα. Πράγματι, παρενέργειες όπως ναυτία, εμετός, διάρροια και δυσλειτουργία του ήπατος εμφανίστηκαν σε ασθενείς με αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος σε δόσεις 2,5 g και άνω. (158) Επίσης ο Pollack και οι συνεργάτες του στην μελέτη που πραγματοποίησαν, αναφέρουν ότι χορήγηση 3 g ρεσβερατρόλης καθημερινά σε ενήλικες με δυσανεξία στην γλυκόζη για 6 εβδομάδες, οδήγησε σε σοβαρά γαστρεντερικά προβλήματα που



εξαφανίστηκαν μόνο όταν η δοσολογία μειώθηκε στα 1 g δύο φορές την ημέρα. (167) Συνολικά, αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι τα αναφερόμενα γαστρεντερικά προβλήματα είναι δοσοεξαρτώμενα από την θεραπεία με ρεσβερατρόλη. Η πιθανή τοξικότητα και οι παρενέργειες από την μακροχρόνια λήψη της ρεσβερατρόλης, απομένουν να εξεταστούν. Επιπλέον η ρεσβερατρόλη φαίνεται ότι διαθέτει διαφορετικό εύρος αποτελεσματικής δόσης *in vitro* από την βιοδιαθεσιμότητά της *in vivo*, κάτι που καθιστά δύσκολο τον προσδιορισμό του αποτελεσματικού εύρους συγκέντρωσης που θα πρέπει να βρίσκεται η ένωση στον ανθρώπινο οργανισμό. Συνεπώς δεν έχει καθοριστεί ακόμα το βιολογικά αποτελεσματικό εύρος της ρεσβερατρόλης *in vivo*. (120) (168) Επίσης ένα σημαντικό πρόβλημα που προκύπτει στην χρήση της ρεσβερατρόλης ως αντικαρκινική θεραπεία είναι η χαμηλή συστηματική βιοδιαθεσιμότητα που έχει. Για παράδειγμα η από του στόματος λήψη 25 mg ρεσβερατρόλης εμφανίζει χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα, καθώς η ποσότητα της μη μεταβολισμένης ρεσβερατρόλης που ανιχνεύεται στο πλάσμα του αίματος είναι μικρότερη των 5 ng/mL. (169) Λόγω της μειωμένης βιοδιαθεσιμότητάς της, τελικά η ποσότητα της ουσίας που θα εισέλθει στην συστηματική κυκλοφορία μπορεί να είναι μικρή και έτσι να εμφανίζεται χαμηλή αποτελεσματικότητα στον ανθρώπινο οργανισμό. (170) Προκειμένου να ξεπεραστεί το συγκεκριμένο πρόβλημα, γίνονται προσπάθειες για την ανάπτυξη παραγώγων ρεσβερατρόλης που διαθέτουν μεγαλύτερη συστηματική βιοδιαθεσιμότητα. (171)

Τέλος, μελέτες σε ζώα ενοχοποιούν την ρεσβερατρόλη για επιβλαβείς επιδράσεις και σε μοριακό επίπεδο. Σύμφωνα με αυτές, οι μεταβολίτες της ρεσβερατρόλης μπορούν να παρουσιάσουν κυτταροτοξικές επιδράσεις και να προκαλέσουν θραύση του DNA, οξειδωτικό στρες, καταστολή δραστηριότητας σημαντικών πρωτεϊνών όπως COX-1 και COX-2, ακόμη την εξασθένιση φαρμάκων που λαμβάνονται ταυτόχρονα με την ρεσβερατρόλη. (172) Επιπλέον *in vivo* και *in vitro* μελέτες στον ανθρώπινο οργανισμό δείχνουν ότι η ρεσβερατρόλη μπορεί να οδηγήσει σε υπερευαισθησία και μεταβολή των παραμέτρων της κυτοκίνης, του αίματος και του ήπατος και να αυξήσει την βλάβη του DNA και την πρωτεόλυση. (172)

Συνολικά θα μπορούσε να αναφερθεί ότι η ρεσβερατρόλη στις *in vitro* και *in vivo* μελέτες φαίνεται ότι εμφανίζει ευεργετικά αποτελέσματα σε χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ οι υψηλές δόσεις της συνδέονται συνήθως με τοξική δράση. (173)

## Συμπεράσματα

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν από τις *in vitro* μελέτες, και συνοψίζονται σε αυτή την πτυχιακή εργασία, υποδεικνύουν ότι η θεραπεία καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας με ρεσβερατρόλη μειώνει την κυτταρική επιβίωση και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό ενώ επάγει την απόπτωση και την αυτοφαγία. Κάποιες μελέτες δείχνουν διακοπή του κυτταρικού κύκλου στην φάση G1/S. Οι περισσότερες όμως αναφέρουν επαγωγή της απόπτωσης μέσω των αυξημένων επιπέδων της καταλυτικής πρωτεΐνης PARP, των κασπασών-3, -8 και -9, της προ-αποπτωτικής πρωτεΐνης Bax και ταυτόχρονα μέσω των μειωμένων επιπέδων των αντι-αποπτωτικών πρωτεϊνών Bcl-2 και Bcl-XL. Επιπλέον, η θεραπεία με ρεσβερατρόλη οδηγεί σε αναστολή των μονοπατιών EGFR, VEGFR, PKC, JNK, ERK, NF-κB και STAT3. Πολύ σημαντικό ακόμα είναι ότι σε ένα μεγάλο αριθμό μελετών αναφέρεται η μείωση των ογκοπρωτεϊνών E6 και E7, καθώς και η αύξηση των επιπέδων της ογκοκατασταλτικής πρωτεΐνης p53, έπειτα από την χορήγηση ρεσβερατρόλης.

Οι *in vivo* μελέτες σε ζώα (ποντικούς), με ξενομόσχευμα καρκίνου του τραχήλου της μήτρας, δείχνουν ότι η θεραπεία με ρεσβερατρόλη είναι ικανή να μειώσει το μέγεθος και το βάρος του όγκου.

Συνολικά, είναι φανερό από όλα τα άρθρα που μελετήθηκαν, ότι η θεραπεία καρκινικών κυττάρων τραχήλου μήτρας με ρεσβερατρόλη μειώνει σημαντικά την ικανότητα επιβίωσης και εξέλιξης των καρκινικών κυττάρων καθώς επηρεάζει την κυτταρική επιβίωση, τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την διήθηση και την μετάσταση των καρκινικών κυττάρων. Η θεραπεία με ρεσβερατρόλη ακόμη μειώνει το μέγεθος και το βάρος του όγκου στα ζωικά μοντέλα καρκίνου του

τραχήλου της μήτρας. Τα αποτελέσματα αυτά είναι ελπιδοφόρα για την πιθανή χρήση της ρεσβερατρόλης ως συμπληρωματικής θεραπείας για την αντιμετώπιση του HPV-σχετιζόμενου καρκίνου του τραχήλου της μήτρας. Ωστόσο μελλοντικές μελέτες (*in vivo*, *in vitro* και κλινικές δοκιμές) είναι απαραίτητες προκειμένου να αποσαφηνίσουν τους μηχανισμούς κυτταρικής σηματοδότησης που εμπλέκονται και να γίνει πλήρως κατανοητή η επίδραση της ρεσβερατρόλης σε κακοήθεις και υγιείς ιστούς. (174)

## Βιβλιογραφία

1. Handler M.Z., Handler N.S., Majewski S., Schwartz R.A. (2015a). Human papillomavirus vaccine trials and tribulations: Clinical perspectives. *J Am Acad Dermatol.* 73, 743-56; quiz 757-8.
2. Zheng ZM, Baker CC. Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci.* 2006; 11:2286–2302.
3. Doorbar J, Egawa N, Griffin H, Kranjec C, Murakami I (2015) Human papillomavirus molecular biology and disease association. *Rev Med Virol* 25(Suppl 1):2–23.
4. World Health Organization (WHO). Human papillomavirus (HPV).
5. Bergvall M, Melendy T, Archambault J. The E1 proteins. *Virology.* 2013; 445:35–56. McBride AA. The papillomavirus E2 proteins. *Virology.* 2013; 445:57–79.
6. Wiest T, Schwarz E, Enders C, Flechtenmacher C, Bosch FX (2002) Involvement of intact HPV16 E6/E7 gene expression in head and neck cancers with unaltered p53 status and perturbed pRb cell cycle control. *Oncogene* 21:1510–1517.
7. Doorbar J, The E4 protein; structure. function and patterns of expression. *Virology.* 2013; 445:80– 98.
8. DiMaio D, Petti LM. The E5 proteins. *Virology.* 2013; 445:99–114.
9. Vande Pol SB, Klingelutz AJ. Papillomavirus E6 oncoproteins. *Virology.* 2013; 445:115–137.
10. Roman A, Munger K. The papillomavirus E7 proteins. *Virology.* 2013; 445:138–168.
11. Buck CB, Day PM, Trus BL. The papillomavirus major capsid protein L1. *Virology.* 2013; 445:19–1764.
12. Bernard HU, Burk RD, Chen Z, van Doorslaer K, zur Hausen H, de Villiers EM. Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology.* 2010; 401:70–79.
13. de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H. Classification of papillomaviruses. *Virology.* 2004; 324:17–27.
14. World Health Organization (WHO). Human papillomavirus (HPV) and cervical cancer 2019.
15. Forman D, de Martel C, Lacey CJ, Soerjomataram I, Lortet-Tieulent J, Bruni L, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Plummer M, Franceschi S. Global burden of human papillomavirus and related diseases. *Vaccine.* 2012; (30 Suppl 5):F12–F23.
16. DiGiuseppe, S.; Bienkowska-Haba, M.; Guion, L.G.; Sapp, M. Cruising the cellular highways: How human papillomavirus travels from the surface to the nucleus. *Virus Res.* 2017, 231, 1–9.).

17. McKinney, C.C.; Hussmann, K.L.; McBride, A.A. The Role of the DNA Damage Response throughout the Papillomavirus Life Cycle. *Viruses* 2015, 7, 2450–2469.
18. Moody, C.A.; Laimins, L.A. Human papillomavirus oncoproteins: Pathways to transformation. *Nat. Rev. Cancer* 2010, 10, 550–560.
19. Senapati, R.; Senapati, N.N.; Dwibedi, B. Molecular mechanisms of HPV mediated neoplastic progression. *Infect. Agent Cancer* 2016, 11, 59.
20. Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Health.* (2016) 4:e609–16.
21. Crosbie EJ, Einstein MH, Franceschi S, Kitchener HC. Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet.* (2013) 382:889–99.
22. Vaccarella S, Franceschi S, Engholm G, Lönnberg S, Khan S, Bray F. 50 years of screening in the Nordic countries: quantifying the effects on cervical cancer incidence. *Br J Cancer.* (2014) 111:965–9.
23. M. Carifi, D. Napolitano, M. Morandi, D. Dall’Olio Recurrent respiratory papillomatosis: current and future perspectives. *Ther. Clin. Risk Manag.*, 11 (2015), pp. 731-738.
24. Han KH. Evaluation of human papillomavirus (HPV) genotyping assays using type-specific HPV L1 reference DNA. *Genes Genomics.* 2021;43(7):775–81).
25. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71:209–49.
26. Guan P, Howell-Jones R, Li N, Bruni L, de Sanjosé S, Franceschi S, et al. Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer.* (2012) 131:2349–59.
27. Harro CD, Pang YY, Roden RB, Hildesheim A, Wang Z, Reynolds MJ, et al. Safety and immunogenicity trial in adult volunteers of a human papillomavirus 16 L1 viruslike particle vaccine. *J Natl Cancer Inst.* 2001;93(4):284–92.
28. N. Egawa, K. Egawa, H. Griffin, J. Doorbar Human papillomaviruses; epithelial tropisms, and the development of neoplasia *Viruses*, 7 (7) (2015), pp. 3863-3890.
29. K.D. Quint, R.E. Genders, M.N. deKoning, C. Borgogna, M. Gariglio, J.N. Bouwes Bavinck, J. Doorbar, M.C. Feltkamp Human Beta-papillomavirus infection and keratinocyte carcinomas *J. Pathol.*, 235 (2) (2015), pp. 342-354.
30. M.N. deKoning, K.D. Quint, S.C. Bruggink, J. Gussekloo, J.N. Bouwes, Bavinck, M.C. Feltkamp, W.G. Quint, J.A. Eekhof High prevalence of cutaneous warts in elementary school children and the ubiquitous presence of wart-associated human papillomavirus on clinically normal skin *Brit. J. Dermatol.*, 172 (1) (2015), pp. 196-201.
31. S.C. Woodhall, M. Jit, K. Soldan, G. Kinghorn, R. Gilson, M. Nathan, J.D. Ross, C.J. Lacey, Q.s. group The impact of genital warts: loss of quality of life and cost of treatment in eight sexual health clinics in the UK *Sex. Transm. Infect.*, 87 (6) (2011), pp. 458-463.

32. A.M. Cornall, J.M. Roberts, S.M. Garland, R.J. Hillman, A.E. Grulich, S.N. Tabrizi Anal and perianal squamous carcinomas and high-grade intraepithelial lesions exclusively associated with low-risk HPV genotypes 6 and 11 *J. Int. du Cancer Journal international du cancer*, 133 (9) (2013), pp. 2253-2258.
33. Sendagorta-Cudós E, Burgos-Cibrián J, Rodríguez-Iglesias M. Genital infections due to the human papillomavirus. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed)*. 2019 May;37(5):324-334.
34. Lisboa C, Santo I, Azevedo J, Azevedo L, Pista A, Dias C, Cunha MJ. High Prevalence of Human Papillomavirus on Anal and Oral Samples from Men and Women with External Anogenital Warts: The HERCOLES Study. *Acta Derm Venereol*. 2019 May 01;99(6):557-563.
35. Workowski KA, Bolan GA., Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep*. 2015 Jun 05;64(RR-03):1-137.
36. Seyed, M. A., Jantan, I., Bukhari, S. N. A., and Vijayaraghavan, K. (2016). A Comprehensive Review on the Chemotherapeutic Potential of Piceatannol for Cancer Treatment, with Mechanistic Insights. *J. Agric. Food Chem*. 64: 725–37.
37. Bruni, L.; Albero, G.; Serrano, B.; Mena, M.; Gómez, D.; Muñoz, J.; Bosch, F.; de Sanjosé, S. ICO HPV Information Centre Human Papillomavirus and Related Diseases Report-Germany. Summary Report. ICO/IARC Information Centre HPV Cancer. 2019.
38. Arbyn, M.; Weiderpass, E.; Bruni, L.; de Sanjosé, S.; Saraiya, M.; Ferlay, J.; Bray, F. Estimates of incidence and mortality of cervical cancer in 2018: A worldwide analysis. *Lancet Glob. Health* 2020, 8, e191–e203.
39. Stelzle D, Tanaka LF, Lee KK, et al. Estimates of the global burden of cervical cancer associated with HIV. *Lancet Glob Health* 2020; published online Nov 16. DOI:S2214-109X(20)30459-9.
40. Burd, E.M.; Dean, C.L. Human Papillomavirus. *Microbiol. Spectr*. 2016, 4, 4.
41. Ojesina, A. I., Lichtenstein, L., Freeman, S. S., Peadamallu, C. S., Imaz-Rosshandler, I., et al. (2014). Landscape of genomic alterations in cervical carcinomas. *Nature*. 506(7488): 371-75.
42. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71: 209- 249.
43. Khan, M. J., Castle, P. E., Lorincz, A. T., Wacholder, S., Sherman, M., Scott, D. R. et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice. *J. Natl Cancer Inst*. 97, 1072–1079 (2005).
44. de Sanjose S et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study. *Lancet Oncology*, 2010;11:1048–1056.

45. Serrano B et al. Human papillomavirus genotype attribution for HPVs 6,11,16,18,31,33,45,52 and 58 in female anogenital lesions. *EurJCancer*. 2015;51(13):1732-41.
46. Bruni, L., Albero, G., Serrano, B., Mena, M., Gómez, D., Muñoz, J. et al. Human Papillomavirus and Related Diseases in the World. Summary Report (ICO/IARC Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre), 2019.
47. World Health Organization (WHO). Executive board, session 144; document EB144/28, 30 January 2019.
48. Hall MT, Simms KT, Lew JB, Smith MA, Brotherton JM, Saville M, et al. The projected timeframe until cervical cancer elimination in Australia: a modelling study. *Lancet Public Health*. 2019;4(1):e19–e27. pmid:30291040.
49. Garbuglia AR, Lapa D, Sias C, Capobianchi MR, Porto PD. The Use of Both Therapeutic and Prophylactic Vaccines in the Therapy of Papillomavirus Disease. *Front Immunol* (2020) 11: (February):1–14.
50. Brisson M et al. Impact of HPV vaccination and cervical screening on cervical cancer elimination: a comparative modelling analysis in 78 low-income and lower-middleincome countries. *Lancet*. 2020; 395(10224):575-590.
51. Canfell K et al. Mortality impact of achieving WHO cervical cancer elimination targets: a comparative modelling analysis in 78 low-income and lower-middle-income countries. *Lancet*. 2020; 395: 591–603.
52. List of prequalified vaccines. Geneva: World Health Organization ([https://extranet.who.int/gavi/PQ\\_Web/](https://extranet.who.int/gavi/PQ_Web/), accessed August 2022).
53. Clinical validation of full HR-HPV genotyping HPV Selfy assay according to the international guidelines for HPV test requirements for cervical cancer screening on clinician-collected and self-collected samples. Avian A, Clemente N, Mauro E, Isidoro E, Di Napoli M, Dudine S, Del Fabro A, Morini S, Perin T, Giudici F, Cammisuli T, Foschi N, Mocenigo M, Montrone M, Modena C, Polenghi M, Puzzi L, Tomaic V, Valenti G, Sola R, Zanolli S, Vogrig E, Riva E, Angeletti S, Ciccozzi M, Castriciano S, Pachetti M, Petti M, Centonze S, Gerin D, Banks L, Marini B, Canzonieri V, Sopracordevole F, Zanconati F, Ippodrino R. *J Transl Med*. 2022 May 17;20(1):231.
54. Burd EM. 2003. Human papillomavirus and cervical cancer. *Clinical Microbiology Reviews* 16:1–17.
55. Worldwide use of HPV self-sampling for cervical cancer screening. Serrano B, Ibáñez R, Robles C, Peremiquel-Trillas P, de Sanjosé S, Bruni L. *Prev Med*. 2022 Jan;154:106900. doi: 10.1016/j.ypmed.2021.106900. Epub 2021 Nov 30.
56. Stapley, S.; Hamilton, W. Gynaecological symptoms reported by young women: Examining the potential for earlier diagnosis of cervical cancer. *Fam. Pract*. 2011, 28, 592–598.
57. Lim, A.W.; Ramirez, A.J.; Hamilton, W.; Sasieni, P.; Patnick, J.; Forbes, L.J. Delays in diagnosis of young females with symptomatic cervical cancer in England: An interview-based study. *Br. J. Gen. Pract*. 2014, 64, e602–e610.

58. B.A. Wuerthner, M. Avila-Wallace. Cervical cancer: screening, management, and prevention. *Nurse Pract*, 41 (2016), pp. 18-23.
59. National Comprehensive Cancer Network. Cervical Cancer (Version 3.2019). [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/cervical.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cervical.pdf).
60. C. Bourgioti, K. Chatoupis, L.A. Mouloupoulos. Current imaging strategies for the evaluation of uterine cervical cancer. *World J Radiol*, 8 (2016), pp. 342-354.
61. Frumovitz, C.C. Sun, L.R. Schover, et al. Quality of life and sexual functioning in cervical cancer survivors. *J Clin Oncol*, 23 (2005), pp. 7428-7436.
62. W. Small Jr, M.A. Bacon, A. Bajaj, et al. Cervical cancer: a global health crisis. *Cancer*, 123 (2017), pp. 2404-2412.
63. de Araujo Souza, P.S.; Sichert, L.; Maciag, P.C. HPV variants and HLA polymorphisms: The role of variability on the risk of cervical cancer. *Futur. Oncol.* 2009, 5, 359–370.
64. De Brot, L.; Pellegrini, B.; Moretti, S.T.; Carraro, D.M.; Soares, F.A.; Rocha, R.M.; Baiocchi, G.; da Cunha, I.W.; de Andrade, V.P. Infections with multiple high-risk HPV types are associated with high-grade and persistent low-grade intraepithelial lesions of the cervix. *Cancer Cytopathol.* 2017, 125, 138–143.
65. Burd, E.M.; Dean, C.L. Human Papillomavirus. *Microbiol. Spectr.* 2016, 4, 4.) (Zur Hausen, H. Papillomaviruses and cancer: From basic studies to clinical application. *Nat. Rev. Cancer* 2002, 2, 342–350.
66. Cornet, I.; Gheit, T.; Franceschi, S.; Vignat, J.; Burk, R.D.; Sylla, B.S.; Tommasino, M.; Clifford, G.M. Human Papillomavirus Type 16 Genetic Variants: Phylogeny and Classification Based on E6 and LCR. *J. Virol.* 2012, 86, 6855–6861.
67. Chen, A.A.; Heideman, D.A.M.; Boon, D.; Chen, Z.; Burk, R.D.; De Vuyst, H.; Gheit, T.; Snijders, P.J.F.; Tommasino, M.; Franceschi, S.; et al. Human papillomavirus 33 worldwide genetic variation and associated risk of cervical cancer. *Virology* 2014, 448, 356–362.
68. Chen, A.A.; Heideman, D.A.M.; Boon, D.; Gheit, T.; Snijders, P.J.F.; Tommasino, M.; Franceschi, S.; Clifford, G.M. Human Papillomavirus 45 Genetic Variation and Cervical Cancer Risk Worldwide. *J. Virol.* 2014, 88, 4514–4521.
69. Hirose, Y.; Onuki, M.; Tenjimbayashi, Y.; Mori, S.; Ishii, Y.; Takeuchi, T.; Tasaka, N.; Satoh, T.; Morisada, T.; Iwata, T.; et al. Within-Host Variations of Human Papillomavirus Reveal APOBEC Signature Mutagenesis in the Viral Genome. *J. Virol.* 2018, 92, 1–14.
70. Martinez-Zapien D, Ruiz FX, Poirson J, Mitschler A, Ramirez J, Forster A, Cousido-Siah A, Masson M, Vande Pol S, Podjarny A, et al: Structure of the E6/E6AP/p53 complex required for HPV-mediated degradation of p53. *Nature.* 529:541–545. 2016.
71. Huibregtse JM, Scheffner M and Howley PM: Localization of the E6-AP regions that direct human papillomavirus E6 binding, association with p53, and ubiquitination of associated proteins. *Mol Cell Biol.* 13:4918–4927. 1993.



72. Scheffner M, Werness BA, Huibregtse JM, Levine AJ and Howley PM: The E6 oncoprotein encoded by human papilloma-virus types 16 and 18 promotes the degradation of p53. *Cell*. 63:1129–1136. 1990.
73. Thomas, M.; David, P.; Banks, L. The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. *Oncogene* 1999, 18, 7690–7700.
74. Shin, M.K.; Balsitis, S.; Brake, T.; Lambert, P.F. Human papillomavirus E7 oncoprotein overrides the tumor suppressor activity of p21Cip1 in cervical carcinogenesis. *Cancer Res*. 2009, 69, 5656–5663.
75. Keating, J.T.; Cviko, A.; Riethdorf, S.; Riethdorf, L.; Quade, B.J.; Sun, D.; Duensing, S.; Sheets, E.E.; Munger, K.; Crum, C.P. Ki-67, Cyclin E, and p16 INK4 Are Complimentary Surrogate Biomarkers for Human Papilloma Virus-Related Cervical Neoplasia. *Am. J. Surg. Pathol*. 2001, 25, 884–891.
76. Von Knebel Doeberitz, M. New markers for cervical dysplasia to visualise the genomic chaos created by aberrant oncogenic papillomavirus infections. *Eur. J. Cancer* 2002, 38, 2229–2242.
77. Herdman, T.M.; Pett, M.R.; Roberts, I.; Alazawi, W.O.F.; Teschendorff, A.E.; Zhang, X.Y.; Stanley, M.A.; Coleman, N. Interferon- $\beta$  treatment of cervical keratinocytes naturally infected with human papillomavirus 16 episomes promotes rapid reduction in episome numbers and emergence of latent integrants. *Carcinogenesis* 2006, 27, 2341–2353.
78. Dhanya Ramachandran , Thilo Dörk. Genomic Risk Factors for Cervical Cancer. *Cancers* 2021, 13(20), 5137;
79. McBride AA, Warburton A. The role of integration in oncogenic progression of HPV-associated cancers. *PLoS Pathog* 2017 ; 13(4), e1006211.
80. Muthusami, S.; Sabanayagam, R.; Periyasamy, L.; Muruganantham, B.; Park, W.Y. A Review on the Role of Epidermal Growth Factor Signaling in the Development, Progression and Treatment of Cervical Cancer. *Int. J. Biol. Macromol*. 2022, 194, 179–187.
81. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995;19:183-232.
82. Shi, X.; Wang, J.; Lei, Y.; Cong, C.; Tan, D.; Zhou, X. Research Progress on the PI3K/AKT Signaling Pathway in Gynecological Cancer. *Mol. Med. Rep*. 2019, 19, 4529–4535.
83. Mitra, T.; Elangovan, S. Cervical Cancer Development, Chemoresistance, and Therapy: A Snapshot of Involvement of MicroRNA. *Mol. Cell. Biochem*. 2021, 476, 4363–4385.
84. George, I.A.; Chauhan, R.; Dhawale, R.E.; Iyer, R.; Limaye, S.; Sankaranarayanan, R.; Venkataramanan, R.; Kumar, P. Insights into Therapy Resistance in Cervical Cancer. *Adv. Cancer Biol.-Metastasis* 2022, 6, 100074.
85. Morgan, E.L.; Scarth, J.A.; Patterson, M.R.; Wasson, C.W.; Hemingway, G.C.; Barba-Moreno, D.; Macdonald, A. E6-Mediated Activation of JNK Drives EGFR Signalling to

- Promote Proliferation and Viral Oncoprotein Expression in Cervical Cancer. *Cell Death Differ.* 2021, 28, 1669–1687.
86. Yang, Q.; Al-Hendy, A. The Regulatory Functions and the Mechanisms of Long Non-Coding RNAs in Cervical Cancer. *Cells* 2022, 11, 1149.
  87. Smola, S. Immunopathogenesis of HPV-Associated Cancers and Prospects for Immunotherapy. *Viruses* 2017, 9, 254.
  88. He, S.; Li, Q.; Huang, Q.; Cheng, J. Targeting Protein Kinase C for Cancer Therapy. *Cancers* 2022, 14, 1104.
  89. Tilborghs, S.; Corthouts, J.; Verhoeven, Y.; Arias, D.; Rolfo, C.; Trinh, X.B.; van Dam, P.A. The Role of Nuclear Factor-Kappa B Signaling in Human Cervical Cancer. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2017, 120, 141–150.
  90. R.T. Moon, A.D. Kohn, G.V. De Ferrari, A. Kaykas. WNT and beta-catenin signalling: diseases and therapies. *Nat Rev Genet*, 5 (2004), pp. 691-701.
  91. B. He, Y.H. Meng, N.F. Mivechi. Glycogen synthase kinase 3beta and extracellular signal-regulated kinase inactivate heat shock transcription factor 1 by facilitating the disappearance of transcriptionally active granules after heat shock. *Mol Cell Biol*, 18 (1998), pp. 6624-6633.
  92. J. Manzo-Merino, A. Contreras-Paredes, E. Vazquez-Ulloa, L. Rocha-Zavaleta, A.M. Fuentes-Gonzalez, M. Lizano. The role of signaling pathways in cervical cancer and molecular therapeutic targets. *Arch Med Res*, 45 (2014), pp. 525-539.
  93. I. Ramachandran, E. Thavathiru, S. Ramalingam, et al. Wnt inhibitory factor 1 induces apoptosis and inhibits cervical cancer growth, invasion and angiogenesis in vivo. *Oncogene*, 31 (2011), pp. 2725-2737.
  94. T. Yamada, A.S. Takaoka, Y. Naishiro, et al. Transactivation of the multidrug resistance 1 gene by T-cell factor 4/beta-catenin complex in early colorectal carcinogenesis. *Cancer Res*, 60 (2000), pp. 4761-4766.
  95. H. Lichtig, D.A. Gilboa, A. Jackman, et al. HPV16 E6 augments Wnt signaling in an E6AP-dependent manner. *Virology*, 396 (2009), pp. 47-58.
  96. C.L. Chen, F.C. Hsieh, J.C. Lieblein, et al. Stat3 activation in human endometrial and cervical cancers. *Br J Cancer*, 96 (2007), pp. 591-599) (J. Rodon, R. Dienstmann, V. Serra, J. Tabernero. Development of PI3K inhibitors: lessons learned from early clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol*, 10 (2013), pp. 143-153.
  97. J. Rodon, R. Dienstmann, V. Serra, J. Tabernero. Development of PI3K inhibitors: lessons learned from early clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol*, 10 (2013), pp. 143-153.
  98. C.W. Menges, L.A. Baglia, R. Lapoint, D.J. McCance. Human papillomavirus type 16 E7 up-regulates AKT activity through the retinoblastoma protein. *Cancer Res*, 66 (2006), pp. 5555-5559.
  99. J. Polivka Jr., F. Janku. Molecular targets for cancer therapy in the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Pharmacol Ther*, 142 (2013), pp. 164-175.

100. F. Bernard, A. Krejci, B. Housden, B. Adryan, S.J. Bray. Specificity of Notch pathway activation: twist controls the transcriptional output in adult muscle progenitors. *Development*, 137 (2010), pp. 2633-2642.
101. H. Chang, K.G. Shyu, S. Lin, et al. The plasminogen activator inhibitor-1 gene is induced by cell adhesion through the MEK/ERK pathway. *J Biomed Sci*, 10 (2003), pp. 738-745.
102. G.R. Fanger. Regulation of the MAPK family members: role of subcellular localization and architectural organization. *Histol Histopathol*, 14 (1999), pp. 887-89.
103. J.M. Kyriakis. Activation of the AP-1 transcription factor by inflammatory cytokines of the TNF family. *Gene Expr*, 7 (1999), pp. 217-231.
104. I. Arany, K.G. Grattendick, S.K. Tying. Interleukin-10 induces transcription of the early promoter of human papillomavirus type 16 (HPV16) through the 5'-segment of the upstream regulatory region (URR). *Antiviral Res*, 55 (2002), pp. 331-339.
105. D.J. Kim, K.S. Chan, S. Sano, J. Digiovanni. Signal transducer and activator of transcription 3 (Stat3) in epithelial carcinogenesis. *Mol Carcinog*, 46 (2007), pp. 725-731.
106. B.K. Prusty, B.C. Das. Constitutive activation of transcription factor AP-1 in cervical cancer and suppression of human papillomavirus (HPV) transcription and AP-1 activity in HeLa cells by curcumin. *Int J Cancer*, 113 (2005), pp. 951-960.
107. M. Branca, C. Giorgi, M. Ciotti, et al. Upregulation of nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) is related to the grade of cervical intraepithelial neoplasia, but is not an independent predictor of high-risk human papillomavirus or disease outcome in cervical cancer. *Diagn Cytopathol*, 34 (2006), pp. 555-563.
108. Chen J. Signaling pathways in HPV-associated cancers and therapeutic implications. *Rev Med Virol*. 2015 Mar;25 Suppl 1:24-53.
109. Smola, S.. 2017. Immunopathogenesis of HPV-Associated Cancers and Prospects for Immunotherapy. *Viruses* 9(9):E254.
110. Tewari, K. S., M. W. Sill, H. J. Long, 3rd, R. T. Penson, H. Huang, L. M. Ramondetta, et al. 2014. Improved survival with bevacizumab in advanced cervical cancer. *N. Engl. J. Med.* 370: 734– 743.
111. Liu, M. L., and Zhang, S. J. (2014). Effects of resveratrol on the protein expression of survivin and cell apoptosis in human gastric cancer cells. *J. BUON*. 19(3): 713-7.
112. Martin, K. R. (2006). Targeting apoptosis with dietary bioactive agents. *Exp. Biol. Med.* 231: 117–29.
113. Pallauf K, Rimbach G, Rupp PM, Chin D, Wolf IM (2016) Resveratrol and lifespan in model organisms. *Curr Med Chem* 23: 4639–4680.
114. Aluyen, J. K., Ton, Q. N., Tran, T., Yang, A. E., Gottlieb, H. B., and Bellanger, R. A. (2012). Resveratrol: Potential as Anticancer Agent. *J. Diet. Suppl.* 9(1): 45-56.

115. Shrikanta A, Kumar A, Govindaswamy V (2015) Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. *J Food Sci Technol* 52: 383–390.
116. Hasan M, Bae H (2017) An overview of stress-induced resveratrol synthesis in grapes: perspectives for resveratrol-enriched grape products. *Molecules* 22.
117. Jang, M., Cai, L., Udeani, G. O., Slowing, K. V., Thomas, C. F., Beecher, C. W. et al. (1997). Cancer chemoprotective activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science*. 275: 218-220.
118. Therapeutic Research Faculty. *Natural medicines comprehensive database* (12th ed.). 2010. Retrieved March 2010).
119. Mukherjee, S.; Dudley, J.I.; Das, D.K. Dose-dependency of resveratrol in providing health benefits. *Dose Response* 2010, 8, 478–500.
120. Bottner, M.; Christoffel, J.; Jarry, H.; Wuttke, W. Effects of long-term treatment with resveratrol and subcutaneous and oral estradiol administration on pituitary function in rats. *J. Endocrinol.* 2006, 189, 77–88.
121. Sun X, Fu P, Xie L, Chai S, Xu Q, Zeng L, Wang X, Jiang N, Sang M. Resveratrol inhibits the progression of cervical cancer by suppressing the transcription and expression of HPV E6 and E7 genes. *Int J Mol Med.* 2021 Jan;47(1):335-345.
122. Zoberi, I.; Bradbury, C.M.; Curry, H.A.; Bisht, K.S.; Goswami, P.C.; Roti Roti, J.L.; Gius, D. Radiosensitizing and Anti-Proliferative Effects of Resveratrol in Two Human Cervical Tumor Cell Lines. *Cancer Lett.* 2002, 175, 165–173.
123. Woo, J.; Lim, J.; Kim, Y.; Suh, S.; Min, D.; Chang, D.; Lee, Y.; Park, Y.; Kwon, T. Resveratrol Inhibits Phorbol Myristate Acetate-Induced Matrix Metalloproteinase-9 Expression by Inhibiting JNK and PKC Delta Signal Transduction. *Oncogene* 2004, 23.
124. Tang, X.; Zhang, Q.; Nishitani, J.; Brown, J.; Shi, S.; Le, A.D. Overexpression of Human Papillomavirus Type 16 Oncoproteins Enhances Hypoxia-Inducible Factor 1 Alpha Protein Accumulation and Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Human Cervical Carcinoma Cells. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2007, 13, 2568–2576.
125. Hsu, K.-F.; Wu, C.-L.; Huang, S.-C.; Wu, C.-M.; Hsiao, J.-R.; Yo, Y.-T.; Chen, Y.-H.; Shiao, A.-L.; Chou, C.-Y. Cathepsin L Mediates Resveratrol-Induced Autophagy and Apoptotic Cell Death in Cervical Cancer Cells. *Autophagy* 2009, 5, 451–460.
126. Kramer, M.P.; Wesierska-Gadek, J. Monitoring of Long-Term Effects of Resveratrol on Cell Cycle Progression of Human HeLa Cells after Administration of a Single Dose. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2009, 1171, 257–263.
127. Chen, T.-C.; Hung, Y.-C.; Lin, T.-Y.; Chang, H.-W.; Chiang, I.-P.; Chen, Y.-Y.; Chow, K.-C. Human Papillomavirus Infection and Expression of ATPase Family AAA Domain Containing 3A, a Novel Anti-Autophagy Factor, in Uterine Cervical Cancer. *Int. J. Mol. Med.* 2011, 28, 689–696.

128. Kim, Y.S.; Sull, J.W.; Sung, H.J. Suppressing Effect of Resveratrol on the Migration and Invasion of Human Metastatic Lung and Cervical Cancer Cells. *Mol. Biol. Rep.*2012, 39, 8709–8716.
129. Dhandayuthapani, S.; Marimuthu, P.; Hörmann, V.; Kumi-Diaka, J.; Rathinavelu, A. Induction of Apoptosis in HeLa Cells via Caspase Activation by Resveratrol and Genistein. *J. Med. Food*2013, 16, 139–146.
130. García-Zepeda, S.P.; García-Villa, E.; Díaz-Chávez, J.; Hernández-Pando, R.; Gariglio, P. Resveratrol Induces Cell Death in Cervical Cancer Cells through Apoptosis and Autophagy. *Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP*2013, 22, 577–584.
131. Zhang, P.; Li, H.; Yang, B.; Yang, F.; Zhang, L.-L.; Kong, Q.-Y.; Chen, X.-Y.; Wu, M.-L.; Liu, J. Biological Significance and Therapeutic Implication of Resveratrol-Inhibited Wnt, Notch and STAT3 Signaling in Cervical Cancer Cells. *Genes Cancer*2014, 5, 154–164.
132. Li, Y.-G.; Xia, H.-J.; Tao, J.-P.; Xin, P.; Liu, M.-Y.; Li, J.-B.; Zhu, W.; Wei, M. GRIM-19-mediated Stat3 Activation Is a Determinant for Resveratrol-induced Proliferation and Cytotoxicity in Cervical Tumor-derived Cell Lines. *Mol. Med. Rep.*2015, 11, 1272–1277.
133. Zhang, P.; Yang, B.; Yao, Y.-Y.; Zhong, L.-X.; Chen, X.-Y.; Kong, Q.-Y.; Wu, M.-L.; Li, C.; Li, H.; Liu, J. PIAS3, SHP2 and SOCS3 Expression Patterns in Cervical Cancers: Relevance with Activation and Resveratrol-Caused Inactivation of STAT3 Signaling. *Gynecol. Oncol.*2015, 139, 529–535.
134. Ruíz, G.; Valencia-González, H.A.; León-Galicia, I.; García-Villa, E.; García-Carrancá, A.; Gariglio, P. Inhibition of RAD51 by siRNA and Resveratrol Sensitizes Cancer Stem Cells Derived from HeLa Cell Cultures to Apoptosis. *Stem Cells Int.*2018, 2018.
135. Chatterjee, K.; AlSharif, D.; Mazza, C.; Syar, P.; Al Sharif, M.; Fata, J.E. Resveratrol and Pterostilbene Exhibit Anticancer Properties Involving the Downregulation of HPV Oncoprotein E6 in Cervical Cancer Cells. *Nutrients*2018, 10, 243.
136. Flores-Pérez, A.; Elizondo, G. Apoptosis Induction and Inhibition of HeLa Cell Proliferation by Alpha-Naphthoflavone and Resveratrol Are Aryl Hydrocarbon Receptor-Independent. *Chem. Biol. Interact.*2018, 281, 98–105.
137. Li, L.; Qiu, R.-L.; Lin, Y.; Cai, Y.; Bian, Y.; Fan, Y.; Gao, X.-J. Resveratrol Suppresses Human Cervical Carcinoma Cell Proliferation and Elevates Apoptosis via the Mitochondrial and P53 Signaling Pathways. *Oncol. Lett.*2018, 15, 9845–9851.
138. Zhao Y, Yuan X, Li X and Zhang Y: Resveratrol significantly inhibits the occurrence and development of cervical cancer by regulating phospholipid scramblase 1. *J Cell Biochem.* Oct 22–2018.
139. Nakamura, H.; Taguchi, A.; Kawana, K.; Baba, S.; Kawata, A.; Yoshida, M.; Fujimoto, A.; Ogishima, J.; Sato, M.; Inoue, T.; et al. Therapeutic Significance of Targeting Survivin in Cervical Cancer and Possibility of Combination Therapy with TRAIL. *Oncotarget*2018, 9, 13451–13461.

140. Assad, D.X.; Borges, G.A.; Avelino, S.R.; Guerra, E.N.S. Additive Cytotoxic Effects of Radiation and MTOR Inhibitors in a Cervical Cancer Cell Line. *Pathol. - Res. Pract.* 2018, 214, 259–262.
141. Liu, Z.; Li, Y.; She, G.; Zheng, X.; Shao, L.; Wang, P.; Pang, M.; Xie, S.; Sun, Y. Resveratrol Induces Cervical Cancer HeLa Cell Apoptosis through the Activation and Nuclear Translocation Promotion of FOXO3a. *Pharmazie* 2020, 75, 250–254.
142. Sun, X.; Xu, Q.; Zeng, L.; Xie, L.; Zhao, Q.; Xu, H.; Wang, X.; Jiang, N.; Fu, P.; Sang, M. Resveratrol Suppresses the Growth and Metastatic Potential of Cervical Cancer by Inhibiting STAT3 Tyr705 Phosphorylation. *Cancer Med.* 2020, 9, 8685–8700.
143. Pani, S.; Sahoo, A.; Patra, A.; Debata, P.R. Phytocompounds Curcumin, Quercetin, Indole-3-Carbinol, and Resveratrol Modulate Lactate–Pyruvate Level along with Cytotoxic Activity in HeLa Cervical Cancer Cells. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 2021, 68, 1396–1402.
144. Einbond, L.S.; Zhou, J.; Wu, H.-A.; Mbazor, E.; Song, G.; Balick, M.; DeVoti, J.A.; Redenti, S.; Castellanos, M.R. A Novel Cancer Preventative Botanical Mixture, TriCurin, Inhibits Viral Transcripts and the Growth of W12 Cervical Cells Harboring Extrachromosomal or Integrated HPV16 DNA. *Br. J. Cancer* 2021, 124, 901–913.
145. Alharbi, H.; Alshehri, A.S.; Ahmad, M.; Guo, W.W. Promising Anti- Cervical Carcinoma and Inflammatory Agent, Resveratrol Targets Poly (ADP-Ribose) Polymerase 1 (PARP-1) Induced Premature Ovarian Failure with a Potent Enzymatic Modulatory Activity. *J. Reprod. Immunol.* 2021, 144.
146. Devi, R.V.; Raj, D.; Doble, M. Lockdown of Mitochondrial Ca<sup>2+</sup> Extrusion and Subsequent Resveratrol Treatment Kill HeLa Cells by Ca<sup>2+</sup> Overload. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2021, 139.
147. Pani, S.; Mohapatra, S.; Sahoo, A.; Baral, B.; Debata, P.R. Shifting of Cell Cycle Arrest from the S-Phase to G2/M Phase and Downregulation of EGFR Expression by Phytochemical Combinations in HeLa Cervical Cancer Cells. *J. Biochem. Mol. Toxicol.* 2022, 36.
148. Zhao, Y.; Yuan, X.; Li, X.; Zhang, Y. Resveratrol Significantly Inhibits the Occurrence and Development of Cervical Cancer by Regulating Phospholipid Scramblase 1. *J. Cell. Biochem.* 2018, 120, 1527–1531.
149. Chatterjee, K.; Mukherjee, S.; Vanmanen, J.; Banerjee, P.; Fata, J.E. Dietary Polyphenols, Resveratrol and Pterostilbene Exhibit Antitumor Activity on an HPV E6-Positive Cervical Cancer Model: An in Vitro and in Vivo Analysis. *Front. Oncol.* 2019, 9, 352.
150. Hao, X.; Sun, X.; Zhu, H.; Xie, L.; Wang, X.; Jiang, N.; Fu, P.; Sang, M. Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin-Complexed Resveratrol Enhanced Antitumor Activity in a Cervical Cancer Model: In Vivo Analysis. *Front. Pharmacol.* 2021, 12, 573909.
151. Rashid, A.; Liu, C.; Sanli, T.; Tsiani, E.; Singh, G.; Bristow, R.G.; Dayes, I.; Lukka, H.; Wright, J.; Tsakiridis, T. Resveratrol Enhances Prostate Cancer Cell Response to Ionizing Radiation. Modulation of the AMPK, Akt and MTOR Pathways. *Radiat. Oncol. Lond. Engl.* 2011, 6, 144.

152. Walle, T. Bioavailability of Resveratrol. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2011, 1215, 9–15.
153. Li, F.; Han, Y.; Wu, X.; Cao, X.; Gao, Z.; Sun, Y.; Wang, M.; Xiao, H. Gut Microbiota-Derived Resveratrol Metabolites, Dihydroresveratrol and Lunularin, Significantly Contribute to the Biological Activities of Resveratrol. *Front. Nutr.* 2022, 9, 912591.
154. Almeida, L.; Vaz-da-Silva, M.; Falcão, A.; Soares, E.; Costa, R.; Loureiro, A.I.; Fernandes-Lopes, C.; Rocha, J.-F.; Nunes, T.; Wright, L.; et al. Pharmacokinetic and Safety Profile of Trans-Resveratrol in a Rising Multiple-Dose Study in Healthy Volunteers. *Mol. Nutr. Food Res.* 2009, 53 (Suppl. S1), S7–S15.
155. Murakami, T.; Murata, T.; Kawaguchi, K.; Kiyuna, T.; Igarashi, K.; Hwang, H.K.; Hiroshima, Y.; Hozumi, C.; Komatsu, S.; Kikuchi, T.; et al. Cervical Cancer Patient-Derived Orthotopic Xenograft (PDOX) Is Sensitive to Cisplatin and Resistant to Nab-Paclitaxel. *Anticancer Res.* 2017, 37, 61–65.
156. Poulsen, M.M.; Vestergaard, P.F.; Clasen, B.F.; Radko, Y.; Christensen, L.P.; Stødkilde-Jørgensen, H.; Møller, N.; Jessen, N.; Pedersen, S.B.; Jørgensen, J.O.L. High-Dose Resveratrol Supplementation in Obese Men: An Investigator-Initiated, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial of Substrate Metabolism, Insulin Sensitivity, and Body Composition. *Diabetes* 2013, 62, 1186–1195.
157. Timmers, S.; de Ligt, M.; Phielix, E.; van de Weijer, T.; Hansen, J.; Moonen-Kornips, E.; Schaart, G.; Kunz, I.; Hesselink, M.K.C.; Schrauwen-Hinderling, V.B.; et al. Resveratrol as Add-on Therapy in Subjects With Well-Controlled Type 2 Diabetes: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care* 2016, 39, 2211–2217.
158. Brown V.A., Patel K.R., Viskaduraki M., Crowell J.A., Perloff M., Booth T.D., Vasilinin G., Sen A., Schinas A.M., Piccirilli G., et al. Repeat dose study of the cancer chemopreventive agent resveratrol in healthy volunteers: Safety, pharmacokinetics and effect on the insulin-like growth factor axis. *Cancer Res.* 2010;70:9003–9011.
159. Sinha, D.; Sarkar, N.; Biswas, J.; Bishayee, A. Resveratrol for Breast Cancer Prevention and Therapy: Preclinical Evidence and Molecular Mechanisms. *Semin. Cancer Biol.* 2016, 40–41, 209–232.
160. Dandawate, P.R.; Subramaniam, D.; Jensen, R.A.; Anant, S. Targeting Cancer Stem Cells and Signaling Pathways by Phytochemicals: Novel Approach for Breast Cancer Therapy. *Semin. Cancer Biol.* 2016, 40–41, 192–208.
161. Gehm, B.D.; McAndrews, J.M.; Chien, P.Y.; Jameson, J.L. Resveratrol, a Polyphenolic Compound Found in Grapes and Wine, Is an Agonist for the Estrogen Receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 14138–14143.
162. Bowers, J.L.; Tyulmenkov, V.V.; Jernigan, S.C.; Klinge, C.M. Resveratrol Acts as a Mixed Agonist/Antagonist for Estrogen Receptors Alpha and Beta. *Endocrinology* 2000, 141, 3657–3667.
163. Zhang, S.; Cao, H.J.; Davis, F.B.; Tang, H.-Y.; Davis, P.J.; Lin, H.-Y. Oestrogen Inhibits Resveratrol-Induced Post-Translational Modification of P53 and Apoptosis in Breast Cancer Cells. *Br. J. Cancer* 2004, 91, 178–185.

164. Cottart, C.H.; Nivet-Antoine, V.; Laguillier-Morizot, C.; Beaudoux, J.L. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol. Nutr. Food Res.* 2010, 54, 7–16.
165. Shaito, A.; Posadino, A.M.; Younes, N.; Hasan, H.; Halabi, S.; Alhababi, D.; Al-Mohannadi, A.; Abdel-Rahman, W.M.; Eid, A.H.; Nasrallah, G.K.; et al. Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 2084.
166. Ren, B.; Kwah, M.X.-Y.; Liu, C.; Ma, Z.; Shanmugam, M.K.; Ding, L.; Xiang, X.; Ho, P.C.-L.; Wang, L.; Ong, P.S.; et al. Resveratrol for Cancer Therapy: Challenges and Future Perspectives. *Cancer Lett.* 2021, 515, 63–72.
167. Pollack, R.M.; Barzilai, N.; Anghel, V.; Kulkarni, A.S.; Golden, A.; O’Broin, P.; Sinclair, D.A.; Bonkowski, M.S.; Coleville, A.J.; Powell, D.; et al. Resveratrol Improves Vascular Function and Mitochondrial Number but Not Glucose Metabolism in Older Adults. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2017, 72, 1703–1709.
168. Sale, S.; Verschoyle, R.D.; Boocock, D.; Jones, D.J.; Wilsher, N.; Ruparelia, K.C.; Potter, G.A.; Farmer, P.B.; Steward, W.P.; Gescher, A.J. Pharmacokinetics in mice and growth-inhibitory properties of the putative cancer chemopreventive agent resveratrol and the synthetic analogue trans 3,4,5,4’-tetramethoxystilbene. *Br. J. Cancer* 2004, 90, 736–744.
169. Walle, T.; Hsieh, F.; DeLegge, M.H.; Oatis, J.E., Jr.; Walle, U.K. High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metab. Dispos.* 2004, 32, 1377–1382.
170. Francioso, A.; Mastromarino, P.; Masci, A.; d’Erme, M.; Mosca, L. Chemistry, stability and bioavailability of resveratrol. *Med. Chem.* 2014, 10, 237–245.
171. Fulda, S. Resveratrol and derivatives for the prevention and treatment of cancer. *Drug Discov. Today* 2010, 15, 757–765.
172. Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review. Shaito A, Posadino AM, Younes N, Hasan H, Halabi S, Alhababi D, Al-Mohannadi A, Abdel-Rahman WM, Eid AH, Nasrallah GK, Pintus G. *Int J Mol Sci.* 2020 Mar 18;21(6):2084.
173. Calabrese, E.J.; Mattson, M.P.; Calabrese, V. Resveratrol commonly displays hormesis: occurrence and biomedical significance. *Hum. Exp. Toxicol.* 2010, 29, 980–1015.
174. Nadile M, Retsidou MI, Gioti K, Beloukas A, Tsiani E. Resveratrol against Cervical Cancer: Evidence from In Vitro and In Vivo Studies. *Nutrients.* 2022 Dec 10;14(24):5273.