

## Mecanismos moleculares de las proteínas de choque térmico (HSPs) implicados en el desarrollo neoplásico

### Molecular mechanisms of heat shock proteins (HSPs) involved in neoplasm development

Rafael Guerrero-Rojas<sup>1</sup>, Carlos Guerrero-Fonseca<sup>2</sup>

#### Resumen

*Las proteínas de choque térmico (HSPs) son proteínas inducidas por la mayoría de eventos que generan estrés celular y se expresan en niveles elevados en una amplia gama de tumores, entre los que se incluyen el cáncer de seno, pulmón, próstata, colon, leucemias y estomago, entre otros; esta sobreexpresión está estrechamente asociada generalmente con una resistencia a las terapias establecidas, lo cual genera un mal pronóstico. Las HSPs están involucradas en todas las fases del desarrollo neoplásico, desde la proliferación, la anti-apoptosis hasta en la invasión y metástasis. Entre los mecanismos descritos por los cuales las HSPs incrementan la agresividad tumoral se encuentran la evasión de los estímulos pro-apoptóticos y la respuesta inmune, la pérdida de función de p53, la expresión de proto-oncogenes HER2 y c-Myc, la activación de plasmina y MMP2, entre otros; todos estos eventos cruciales para la tumorigénesis. De esta forma las HSPs se han convertido un objetivo prometedor para el diseño dirigido de fármacos anti-cáncer y estrategias de inmunoterapia.*

**Palabras clave:** Proteínas de choque térmico, cáncer, neoplasia, antitumoral, apoptosis, metástasis.

Fecha de recepción: 22 de julio de 2017  
Fecha de aceptación: 20 de abril de 2017

<sup>1</sup> MD, MSc, candidato a doctorado en Biotecnología. Laboratorio de Biología Molecular de Virus, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

<sup>2</sup> Profesor titular, MD, MSc, Ph.D. Departamento de Ciencias Fisiológicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia.

**Correspondencia:** Rafael Antonio Guerrero Rojas. Universidad Nacional de Colombia, Avenida carrera 30 n° 45, Bogotá (Cundinamarca, Colombia). [raguererror@unal.edu.co](mailto:raguererror@unal.edu.co)

### Abstract

*The heat shock proteins (HSPs) are induced by cells stress and expressed at high levels in a broad range of tumors between including breast, lung, prostate, colon, leukemia and stomach cancer; this overexpression is closely associated with resistance to established therapies instituting a poor prognosis. The HSPs are involved in all cancer stages, from the proliferation, anti-apoptosis, even in invasion and metastasis. Within the mechanisms described by which the HSPs increased tumor aggressiveness and metastasis in some tumor types are evasion of apoptotic stimuli and immune response, loss of p53 function, increased expression of the proto-oncogenes HER2 and c-Myc, activation of plasmin and MMP2, all crucial to tumorigenesis. Thus, the HSPs have become targets for anti-cancer drug design and immunotherapy strategies.*

**Keywords:** Heat shock proteins, cancer, neoplasm growth, antitumor, oncogenesis.

## INTRODUCTION

El propósito de esta revisión es describir los mecanismos por los cuales las HSPs participan en el desarrollo neoplásico, ya que los distintos miembros de las familias de HSPs desempeñan un importante papel en el desarrollo tumoral al facilitar el crecimiento autónomo de las células y proporcionar la estabilidad de algunos oncogenes. En el contexto tumoral, las HSPs bloquean vías de muerte celular programada (apoptosis) y promueven la activación de factores que degradan la matriz extracelular. Cabe resaltar que la expresión de las HSPs es bastante heterogénea en los tejidos neoplásicos, y sumado al hecho de que no se han desarrollado estudios que evalúen la expresión conjunta de todas las familias de HSPs. Es por ello que conocer el papel de estas proteínas en el desarrollo neoplásico resulta importante, ya que la sobreexpresión de las HSPs en muchos tipos de neoplasias ofrece un espacio para el diseño e implementación de tratamientos que puedan inhibirlas o modificar su expresión. Hasta ahora los ensayos que tienen a las HSPs como objetivo terapéutico han mostrado resultados prometedores para el tratamiento del cáncer basado en la inhibición de estas proteínas.

## METODOLOGÍA

Para la realización de este artículo de revisión se hizo una búsqueda de artículos originales y de revisión en las bases de datos de PubMed, Science direct y MEDLINE. Las revistas consultadas fueron PNAS, Cell, Nature, EMBO journal, Oncogene, Cancer Research, BioMedcentral, Nature cell Biology, The Japanese Biochemical Society, Cancer Science, Journal in Medicinal chemistry, Journal of Bioscience, Journal of Biological Chemistry, Journal of Gastroenterology and hepatology, Pathobiology, Clinical cancer research, Journal of neuroscience, Journal of clinical hemathopathology, Oncology, Genes and Development, Chemotherapy, Experimental dermatology, Cancer epidemiology, Molecular Pharmaceutics, Cell stress and chaperones, Journal of Mathematical Biology.

Las palabras clave de búsqueda fueron: proteínas de choque térmico, metástasis y cáncer, HSPs e invasividad tumoral, chaperonas de la tumorogénesis, HSPs y migración celular, proteínas de choque térmico y progresión del cáncer, proteoma de células

tumorales y metastásica, expresión de HSPs en cáncer.

El número de artículos seleccionados fue de 126 (86 artículos originales y 40 de revisión). Se seleccionaron artículos originales a partir del año 2000; para artículos de revisión no se tuvo en cuenta el año. Se revisaron artículos que mostraran evidencia a favor y en contra del papel de las HSPs en cáncer cuyo contenido describiera un rol tanto básico como clínico.

### GENERALIDADES DE LAS HSPs

Actualmente el cáncer constituye una de las principales causas de muerte a nivel mundial, superado tan solo por las enfermedades de origen cardiovascular (1); por tanto resulta muy importante comprender las vías moleculares que facilitan el desarrollo de la célula tumoral. Entre estas vías se encuentran las proteínas de choque térmico (HSPs) o “proteínas de estrés”, que hacen parte fundamental del funcionamiento celular normal y tumoral. Las HSPs conforman una gran familia de proteínas y se clasifican de en los siguientes grupos de acuerdo con su peso molecular, que varía entre 10 000 a 150 000 Daltons: pequeñas HSPs (Hsp10, Hsp27), Hsp40, Hsp60, Hsp70, Hsp90 y Hsp110 (2). La tabla 1 muestra la clasificación de las familias de las proteínas de choque térmico.

Estas proteínas fueron descubiertas en 1962 y recibieron la denominación de proteínas de choque térmico por el hecho de que se detecta-

ron inicialmente al generar un estrés térmico en *Drosophila* (3). En su mayor parte las HSPs son expresadas en forma constitutiva en casi todas las células, mientras que algunas de ellas son inducidas ante la presencia de determinadas agresiones, se sobreexpresan en células sometidas a choque térmico, radiaciones, diversos fármacos, infecciones virales, hipoxia, entre otros, y se restablecen cuando el estrés es eliminado (4-6). Su ubicuidad hizo que inicialmente se las agrupara bajo el nombre genérico de ubiquitinas (7). Constituyen una gran familia de proteínas que se encuentran expresadas en todos los organismos, a lo largo de la escala evolutiva, cumpliendo un papel similar en bacterias, levaduras, plantas y células animales (8); por ejemplo, ayudan al correcto plegamiento de los polipéptidos recién formados y en la adquisición de la estructura terciaria de las proteínas, en la translocación y secreción proteica. Igualmente, participan en la reparación de proteínas anormales o en su degradación vía proteasoma. Están relacionadas con el control del ciclo celular participando en algunas vías de señalización y brindan citoprotección en eventos proapoptóticos y de estrés celular (4, 6, 8-14). También están involucradas en la presentación de antígenos mediante la transferencia de péptidos antigénicos a las moléculas clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH-I). Algunas HSPs secretadas extracelularmente pueden activar a células presentadoras de antígenos, como macrófagos y células dendríticas (15-20).

**Tabla 1.** Clasificación de las familias de las proteínas de choque térmico (HSPs)

Familia	Nombre	Localización celular	Función	Co-chaperona	Referencia
Pequeñas HSPs	p20	Citoplasma	Vaso relajación	Ninguna	(21)
	Hsp22o $\alpha$ B-cristalina	Citoplasma/Núcleo	Estabilización del citoesqueleto		
	Hsp27 (humana)	Citoplasma/Núcleo	Dinámica de la Actina		
Hsp40	Hsp40	Citoplasma	Chaperona	Ninguna	(22)
	Hsp47	Ret. Endoplásmico	Control de síntesis del colágeno		
Hsp60	Hsp58	Mitocondrias	Chaperona	Hsp10	(23, 24)
	Hsp60	Mitocondrias	Chaperona		
Hsp70	Hsc70 (73)	Citoplasma	Chaperona	Hsp40, GrpE, BAG, HSPBP1, Hip, Hop, CHIP	(25, 26)
	Hsc70 (72)	Citoplasma/Núcleo	Chaperona		
	Hsp75	Mitocondria	Chaperona		
	Grp78	Ret. Endoplásmico	Chaperona		
Hsp90	Hsp90 $\alpha$ (86)	Citoplasma	Unión a receptores de esteroides	p23, Hop, FKBP51, FKBP52, Cyp40, cdc37	(25-28)
	Hsp90 $\beta$ (84)	Citoplasma	Unión a receptores de esteroides		
	Grp94	Ret. Endoplásmico	Chaperona		
Hsp110	Hsp105	Citoplasma	Chaperona citoprotectora	Ninguna	(29)
	Hs0110	Nucléolo/citoplasma	Chaperona Citoprotectora		

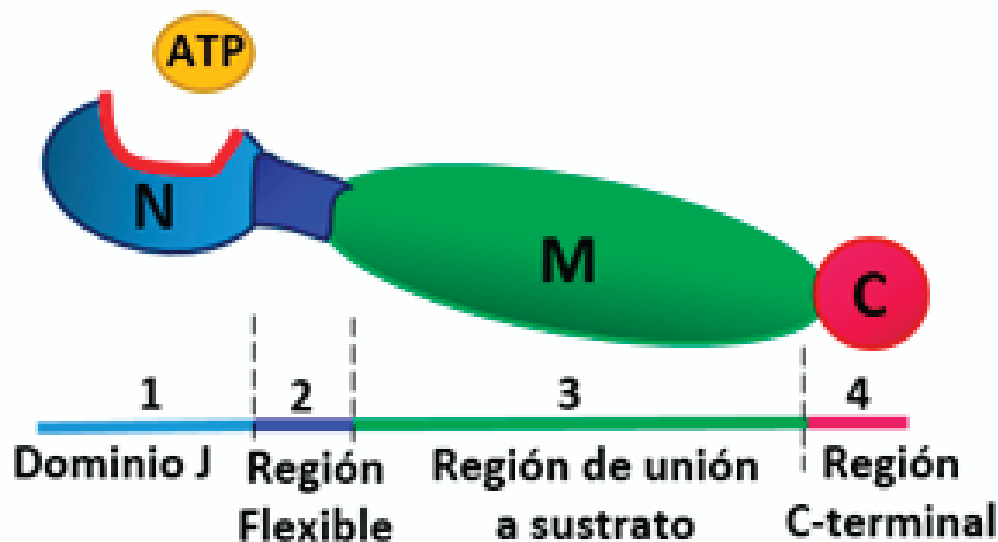
Los números entre paréntesis corresponden a otras denominaciones de las mismas proteínas.

Grp: proteínas relacionadas con glucosa, inducidas por anoxia y privación de glucosa.

## ESTRUCTURA DE LAS HSPS

La estructura de las HSPs (ver figura 1) está representada por 4 regiones funcionales conservadas: la primera pertenece a un dominio N-terminal (llamado dominio J) característico de la familia de las HSPs, corresponde al sitio de regulación por la actividad del ATP. La segunda porción es una región desordenada rica en Glicina/Fenilalanina, responsable de la flexibilidad de las proteínas, está adyacente al

dominio J. La tercer región es un dominio rico en cisteína con repeticiones CXXCXGXG (donde X puede ser cualquier otro aminoácido) de unión al sustrato, está en la región media o central. Por último, la cuarta región corresponde al extremo C-terminal, que permite la dimerización de las HSPs. Estas proteínas se unen a los segmentos hidrofóbicos de los péptidos para poder cumplir su actividad como chaperonas y su unión es dependiente de ATP (10).



Las HSPs tienen 4 regiones funcionales conservadas. En azul claro dominio N-terminal (llamado dominio J), en azul la región flexible rica en glicina/fenilalanina, en verde la región M de unión al sustrato y en rojo la región N-terminal. Fuente: Realizada por los autores de la revisión.

Figura 1. Estructura esquemática de las HSPs.

### FAMILIA DE LAS HSP PEQUEÑAS

Esta familia presenta un peso molecular entre 15 y 30 KDa, son proteínas ubicuas y altamente conservadas. Se han reportado tres isoformas, aunque su función ha sido poco caracterizada. En general se sobre expresan bajo condiciones de estrés celular y contribuyen a preservar la viabilidad de la célula, manteniendo la conformación nativa de las proteínas citosólicas (30, 31).

**Hsp22:** también conocida como  $\alpha$ -B cristalina o Hsp $\beta$ -8, es codificada por el gen HSPB8, localizado en el cromosoma 12 (32), y se encuentra en todas células del cuerpo aunque es particularmente abundante en las células nerviosas. Parece interactuar con la Hsp27 (Hsp $\beta$ -1) en las células nerviosas, ayudando

a organizar la red de neurofilamentos de los axones (33).

**Hsp27:** es producida por el gen HSPBAP1 del cromosoma 3 y fue originalmente denominada Hsp $\beta$ -1 o proteína de respuesta a estrés srp-27(34). Se expresa en órganos sensibles a estrógenos como el útero, la vagina y piel. Presenta cambios significativos en su localización y expresión durante las diferentes fases del ciclo menstrual (35). Adicionalmente, se encuentra en el cordón umbilical y en menor proporción en la placenta (36). Participa en termotolerancia, proliferación celular, resistencia a drogas, polimerización de actina y como chaperona (37, 38). Se sabe que está involucrada en el transporte del receptor estrogénico desde el citoplasma al núcleo (39).

## **FAMILIA HSP40**

Esta familia es codificada por cerca de 44 genes HSPF1 localizados en los cromosomas 3 y 19 (40, 41). Contribuyen al plegamiento de proteínas y previenen su agregación; actúan como cochaperonas junto a la Hsp70, actividad que es regulada por la hidrólisis del ATP en su sitio activo. Pueden actuar como chaperonas por sí solas y se encuentran localizadas principalmente en el retículo endoplásmico. Esta familia se clasifica en 3 subfamilias de A-C o tipo I, II y III. La subfamilia A está constituida por las proteínas con los cuatro dominios antes mencionados, tiene actividad chaperona autónoma y puede interactuar o no junto con Hsp70. La subfamilia B contiene proteínas que carecen del dominio rico en cisteínas y la subfamilia C tiene solo el dominio J, que no se sitúa necesariamente en el extremo N-terminal; estas dos últimas subfamilias dependen totalmente de la actividad de Hsp70 (22).

## **FAMILIA DE HSP60**

Son una familia de chaperonas mitocondriales codificadas por dos genes HSPD1 localizados en el cromosoma 2 (42). Se encuentran localizadas principalmente en la mitocondria, e incluso se han encontrado en la membrana citoplasmática de algunas células. Son responsables del transporte y plegamiento de proteínas desde el citoplasma hacia la matriz mitocondrial (25).

## **FAMILIA DE HSP70**

Son codificadas por 13 genes localizados en los cromosomas 1, 5, 6, 9, 14 y 21 (43, 44) y son abundantes en células eucariotas, donde actúan como chaperonas. En cooperación con otras chaperonas, como Hsp40, Hsp90 y

Hsp110, se unen a los segmentos hidrofóbicos de los polipéptidos durante la traducción y translocación de los mismos hacia los diferentes compartimentos subcelulares. Se encuentran localizadas en el citoplasma, así como dentro de algunos organelos. Participan en la eliminación de las proteínas dañadas o defectuosas mediante la interacción con el extremo C-terminal de la Hsp70 (Proteína CHIP), que es una E3 ubiquitin ligasa (45).

## **FAMILIA HSP90**

Están codificadas por 17 genes agrupados en 4 clases (HSP90AA, HSP90AB, HSP90B y TRAP, localizados en los cromosomas 1, 3, 4, 6, 11, 12, 13, 15 y 16 (46). Se encuentran en el citoplasma, en la superficie celular, e incluso es excretada extracelularmente, y son unas de las proteínas más abundantes de la célula (47, 48). Se han encontrado más de 100 proteínas que son reguladas por la Hsp90, dentro de las que se incluyen proteínas tales como Akt, Neu/Her-2 (ErbB2), HIF-1 $\alpha$ , Bcr-ABL, Raf-1 y p53 mutado (49). Muchas de estas proteínas son importantes mediadores de la transducción de señales y del control del ciclo celular, por ende, la Hsp90 ha sido involucrada como una de las principales HSPs en el desarrollo y progresión tumoral.

## **EVENTOS ESENCIALES PARA LA PROGRESIÓN TUMORAL**

Las neoplasias se forman mediante una serie de pasos en los que la célula normal pasa a ser una célula transformada. Estos pasos implican cambios morfológicos y moleculares que han sido establecidos en los siguientes 6 eventos: 1) Autosuficiencia en las señales de crecimiento, 2) insensibilidad a la inhibición del crecimiento, 3) evasión de la muerte celular programada, 4) potencial replicativo ilimitado y



do, 5) angiogénesis sostenida y 6) invasión tisular y metástasis (50). Es importante aclarar que todos estos pasos no se cumplen para los tumores no sólidos.

Los aumentos en la expresión de HSPs parecen estar implicados no solo en la mayoría de estas etapas del desarrollo tumoral, sino también en la adquisición de fenotipos fármacoresistentes, en especial cuando las neoplasias son sometidas a terapias citotóxicas y con esto seleccionan las células resistentes.

## MECANISMOS MOLECULARES DE LAS HSP<sub>s</sub> QUE FAVORECEN EL DESARROLLO TUMORAL

### Adquisición de un fenotipo maligno/ Autosuficiencia en las señales de crecimiento

Las HSPs se han involucrado como proteínas favorecedoras del proceso de transformación celular durante la oncogénesis por sus efectos sobre rutas anabólicas celulares, como la Hsp27 que interactúa con la proteína-quinasa PKD1. En células PC3 (cáncer de próstata), la proteína PKD1 fosforila a Hsp27 en los residuos de serina 82, y este evento se asocia con el transporte nuclear del receptor de Andrógenos (AR), resultando en un incremento de la actividad transcripcional del AR, lo cual favorecen el crecimiento tumoral (38). En varios ensayos realizados en células Rat-Myc y HeLa se ha encontrado que la Hsp90 es requerida para estabilizar la actividad de HER2, lo cual sugiere que este mecanismo favorece la actividad de las proteínas que se encuentran ubicadas corriente abajo de esta vía, tales como Akt, c-Src, Raf-1 y cdk4, las cuales juegan un papel en el crecimiento y supervivencia celular. Así mismo, en células Rat se muestra que c-Myc directamente se une

a la región proximal del promotor del gen de Hsp90 $\alpha$  e induce una sobreexpresión de la Hsp90 $\alpha$ , lo cual desencadena transformación celular. Cuando Hsp90 es inducida a través de c-Myc puede controlar la actividad de múltiples rutas envueltas en transformación celular; esto se demuestra al emplear RNA de silenciamiento (siRNA) para la Hsp90 $\alpha$ /Hsp86 $\alpha$ , logrando así una reducción de la transformación de las células HeLa y RatMyc, que son positivas para c-Myc (51). Por otro lado, Hsp90 estabiliza la conformación de proteínas oncogénicas que se generan durante la tumorigénesis, tales como v-Src, Bcr-Abl y p53. Esta actividad fue evaluada en células HL-60/Bcr-Abl y células K562, y se demostró que al emplear un inhibidor específico de Hsp90 (geldanamicina o 17-AAG) se induce la degradación vía proteasoma de Bcr-Abl, la acumulación citosólica de citocromo C y activación de las caspasas 9 y 3, lo cual desencadena apoptosis (52). Se debe tener en cuenta que las HSPs pueden proteger a las proteínas celulares, evitando que se desnaturalicen o se plieguen incorrectamente durante la oncogénesis, mediante la conformación de complejos heterogéneos entre múltiples chaperonas (Hsp90, Hop, p23, Hsp70 y Hsp40) y las proteínas celulares, incrementando así la eficiencia del chaperoneo de las HSPs sobre las proteínas oncogénicas (26).

### Insensibilidad a la inhibición del crecimiento

Aunque la Hsp70 y Hsp90 se unen a las proteínas supresoras de tumores p53 y Rb10 y se acumulan en células neoplásicas que tienen mutaciones en p53 (53), el rol que desempeñan las HSPs en esta etapa parece no ser tan trascendental. Se conoce que la Hsp72 disminuye la senescencia en células neoplásicas al disminuir la actividad de p53/

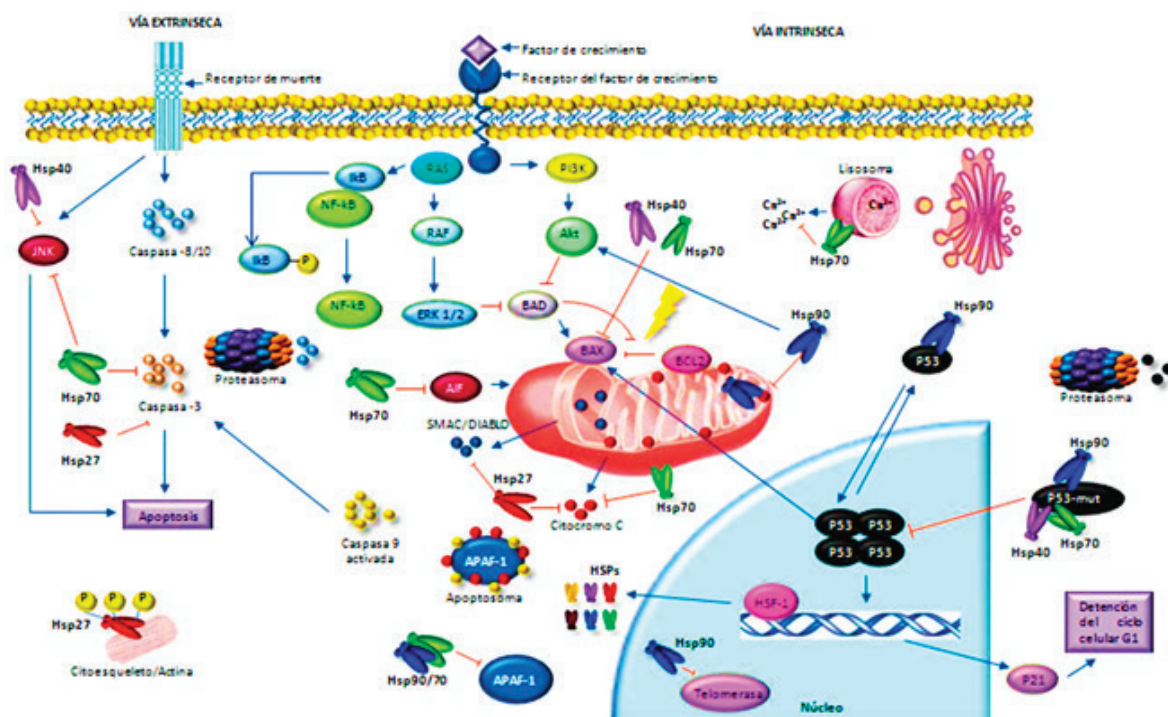
p21 y alternativamente bloquea las señales senescentes reguladas por ERK; estos dos mecanismos activan vías oncogénicas a través de PI3K y Ras (54).

### **Evasión de la muerte celular programada**

La respuesta celular de estrés confiere citoprotección a través de la sobreexpresión de diversas HSPs. Se ha encontrado que la Hsp27 interactúa con el factor de inicio de la traducción 4E (eIF4E), disminuyendo la ubiquitinación y degradación proteasomal de este factor; esta interacción protege el proceso de inicio de la síntesis de proteínas para aumentar la supervivencia celular estableciendo un mecanismo antiapoptótico (55). Hsp70 suprime la apoptosis por la asociación directa con Apaf-1, bloqueando el montaje de un apoptosoma funcional, al prevenir el reclutamiento de caspasas en este complejo (56). Igualmente, Hsp70 inhibe la apoptosis al disminuir los niveles de calcio citosólico y estabilizar los lisosomas, previniendo la liberación de catepsina B de los lisosomas, la translocación de Bax y la liberación de citocromo c mitocondrial (57-61). Los anteriores mecanismos fueron demostrados mediante la transfección con cDNA antisentido dirigido

contra Hsp70 en células PC3 de cáncer de páncreas, células T Jurkat de leucemia linfocítica aguda humana y HT29 de cáncer de colon, líneas celulares que expresan Hsp70 en la membrana del lisosoma. En la línea celular PC3 se incrementó la apoptosis al emplear un oligonucleótido antisentido dirigido contra Hsp70 o al emplear quercetin, un bioflavonoide que disminuye la expresión de Hsp70, lo cual demuestra la importancia de la Hsp70 como proteína antiapoptótica. Por el contrario, al administrar Hsp70 purificada, en la misma línea celular, se inhibe la apoptosis de forma dosis dependiente (62). Al utilizar xenoinjertos de células KATO, de cáncer de estómago que sobreexpresan Hsp105, en un modelo murino de ratones diabéticos no obesos con inmunodeficiencia severa combinada (NOD SCID) y empleando un siRNA dirigido contra Hsp105, se mostró que la supresión de esta proteína induce muerte celular por apoptosis y, que por el contrario, al incrementar la expresión de esta misma proteína la muerte celular disminuye (63), lo cual sugiere que la sobreexpresión de la Hsp105 ofrece una protección ante la apoptosis en células con transformación maligna. La figura 2 resume los diversos mecanismos antiapoptóticos mediados por las HSPs.





En células neoplásicas la respuesta al estrés celular puede conferir citoprotección mediante la sobreexpresión de las HSPs, entre ellas las Hsp90, 70, 40, 27. Por ejemplo Hsp27 estabiliza el citoesqueleto y bloquea a la caspasa 3. El complejo Hsp70/90 suprime la apoptosis por la asociación directa con Apaf-1, bloqueando el montaje de un apoptosoma funcional. Igualmente, Hsp70 y hsp27 inhiben la apoptosis al atenuar los niveles de calcio citosólico y estabilizar los lisosomas, previniendo la liberación de catepsina B de los mismos, la translocación de Bax, SMAC/DIABLO y la liberación de citocromo c mitocondrial. Otro mecanismo antiapoptótico de la Hsp70 se da mediante el bloqueo de AIF y la caspasa 3. El Complejo Hsp90/70/40 bloquea la actividad de P53.

Fuente: Realizada por los autores de la revisión.

Figura 2. Principales mecanismos antiapoptóticos mediados por las HSPs

### Evasión de la respuesta inmune

Las células tumorales liberan varios factores que pueden ayudar a la progresión del tumor, contribuyendo directamente al crecimiento neoplásico y/o a la supresión de la inmunidad antitumoral. Se ha demostrado que varios tumores primarios de mama humanos expresan niveles elevados de Hsp27 a nivel intracelular y que adicionalmente estos pacientes tienen altos niveles de Hsp27 en el intersticio y en el plasma al compararlos con los pacientes control (64). Igualmente, se ha descrito que

las Hsp27 solubles causan la diferenciación de los monocitos a macrófagos asociados a tumores (TAMs) con fenotipos inmunotolerantes (HLA-DR<sup>low</sup>, CD86<sup>low</sup>, PD-L1<sup>high</sup>, ILT2<sup>high</sup> y ILT4<sup>high</sup>), lo cual crea un estado de anergia ante el tumor. Además, estos TAMs pierden actividad tumoricida, se vuelven extremadamente proangiogénicos (65).

Otro estudio que analizó muestras de cáncer de seno mostró un incremento en la localización nuclear de Hsp90 con una disminución del HLA-1. Esta disociación sugiere un me-

canismo de evasión de la respuesta inmune en células tumorales, porque Hsp90 altera la transferencia de péptidos antigénicos al HLA-1, evadiendo la respuesta antitumoral de los linfocitos T citotóxicos (66).

### Potencial replicativo ilimitado

Todas las células somáticas poseen puntos de control que limitan el número de divisiones celulares permitidas, y una vez que las células entran a estos puntos de control se inducen rutas de senescencia. Para escapar de este evento y experimentar un crecimiento ilimitado, las células tumorales deben superar el punto en el cual los telómeros se han acortado lo suficiente en los cromosomas como para evitar futuras divisiones celulares exitosas (67). Las HSPs parecen no ser mediadores importantes en el proceso de proliferación. Sin embargo, Hsp90 junto con la proteína p21, contribuyen al ensamblamiento de la telomerasa, y de esta manera a su activación, lo cual evita un acortamiento del telómero en células no senescentes, y por lo tanto la proliferación celular (68).

### Angiogenesis

La Hsp90 interactúa con el factor inducido por hipoxia HIF-1 $\alpha$ , el cual se ha asociado con procesos angiogénicos y con el incremento en la radioresistencia en varios tipos de neoplasias, entre los que se encuentran principalmente el cáncer pulmonar, seno y estómago. En células A549 de cáncer de pulmón sometidas a radiación, el mecanismo de la expresión de HIF-1 $\alpha$  implica la síntesis de novo de la proteína HIF-1 $\alpha$  a través de PI3K/Akt/mTOR y la estabilización de HIF-1 $\alpha$  mediante la interacción con Hsp90, que se da exclusivamente en células resistentes a la radiación (69). Al emplear el inhibidor de la Hsp90

17-allylamino-17-demethoxygeldamycin (17AAG) se disminuye la expresión del HIF-1 y la interacción entre estas dos proteínas. Lo anterior lleva a una disminución en la supervivencia celular y disminución de la producción de factores angiogénicos. Al aplicar in vivo 17AAG se disminuye el crecimiento tumoral y la angiogénesis (69). En células de cáncer de páncreas humano HPAF-II y L3.6pl se analizaron cambios en la activación de las vías Erk/Akt/HIF-1 relacionadas con Hsp90, y se mostró que al inhibir la Hsp90 con 17-AAG se disminuye la fosforilación del receptor de crecimiento similar a la insulina tipo  $\beta$  (IGF-IR $\beta$ ), lo cual conduce a inhibición de la actividad de HIF1 $\alpha$  y de STAT3/STAT5, que a su vez conduce a una disminución del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Igualmente, empleando 17-AAG en un modelo murino con xenoinjertos de las mismas células tumorales se disminuyó el crecimiento tumoral al reducir la fosforilación de STAT3, y a su vez disminuyó la expresión de IGF-IR $\beta$  y la vascularización en el tejido neoplásico (70). Esto mismo se ha confirmado in vivo en modelos murinos para cáncer gástrico (71).

### Invasión tisular y metástasis

Existen varios estudios que involucran a las HSPs en la capacidad de migración celular que es un paso importante durante el desarrollo neoplásico y la metástasis. Al emplear como modelo células de cáncer uterino (HeLa) y de seno (MDA-MB231) que han sido tratadas con el factor de crecimiento epidermal (EGF) se descubrió que durante el proceso de migración la Hsp70 se une y regula la localización de la enzima transglutaminasa tisular (tTG) (72). La actividad de la enzima tTG se ha asociado con la formación de un borde de ataque en el tejido neoplásico, en indiferenciación celular y en la estabilización de la matriz extracelular

(73). Al emplear inhibidores de la actividad de Hsp70 se altera la unión de Hsp70 con la tTG y se disminuye la migración celular (72).

La excreción de la Hsp90 es considerado como un factor favorecedor del proceso invasivo y metastásico. Se ha descrito que la Hsp90 puede ser secretada por queratinocitos, células CL1-5 de cáncer pulmonar de células no pequeñas y células MCF-7 de cáncer de seno (74-76). Un modelo que emplea las células de cáncer de colon HCT-8, cultivadas en un medio condicionado por privación de suero, mostró un incremento en la secreción de Hsp90 $\alpha$  y en la invasión celular (71). Este fenómeno se disminuyó al emplear un anticuerpo anti-Hsp90 $\alpha$ , lo cual sugiere que Hsp90 $\alpha$  favorece la invasión celular. Igualmente, Hsp90 $\alpha$  induce selectivamente la expresión de la integrina  $\alpha$ V $\beta$ 3 mediante la activación de NF- $\kappa$ B. Esta integrina se sobre expresa en el tejido vascular de carcinoma de colon y se ha asociado como factor promotor de la angiogénesis, relacionándose con altos niveles de Hsp90 en el suero de pacientes con cáncer colorrectal (77, 78). Un modelo que emplea células de fibrosarcoma muestra que la Hsp90 $\alpha$  (pero no la Hsp90 $\beta$ ) secretada a nivel extracelular activa la metaloproteinasas de matriz-2 (MMP-2) y la plasmina, que son moléculas implicadas en la degradación de la matriz extracelular, y al emplear inhibidores de la Hsp90 no permeables a la célula se disminuye la capacidad invasiva y la activación de la MMP-2 y la plasmina (79). También se ha reportado la secreción de la Hsp90 en células de cáncer de colon HCT-8 y su asociación con un incremento en el proceso invasivo ante la privación de suero. En este modelo mediante ensayos de ligación por proximidad (*Proximity ligation assay*) se ha demostrado la unión de Hsp90 con varias proteínas, como Neu, que es tam-

bién conocido como receptor del factor de crecimiento epidérmico humano 2 (HER2), a CD91 $\alpha$ , también conocido como receptor  $\alpha$ 2-macroglobulina ( $\alpha$ 2MR), al receptor de apolipoproteína E (ApoER) o receptor relacionado con lipoproteínas de baja densidad (LPR), que es un inhibidor de proteasas como tripsina, plasmina, elastasa de neutrófilos y colagenasa de fibroblastos. Estos complejos entre Hsp90, Neu y CD91 $\alpha$  inducen las vías de señalización de ERK, PI3K/Akt y NF- $\kappa$ B, p65, que terminan provocando la expresión de la integrina  $\alpha$ V, que ha sido asociada con incremento de la invasividad tumoral tanto en ensayos *in vitro* como *in vivo* (80).

La localización de la Hsp90 en la membrana plasmática de células PC3 ha sido relacionada con un mayor potencial metastásico, porque al inhibir la actividad de la Hsp90 mediante el uso de anticuerpos específicos se inhibe la asociación entre la integrina  $\beta$ 1, la proteína de adhesión focal FAK y c-Src, que son moléculas relacionadas con movilidad y proliferación celular. También se inhibe la fosforilación de FAK y c-Src, lo cual bloquea la activación de la vía integrina  $\beta$ 1/FAK/c-Src/ p38/ATF2/MMP9 y genera una disminución en el porcentaje de migración celular (81). Estos resultados sugieren un mecanismo por el cual la Hsp90 presente en la membrana citoplasmática incrementa el índice metastásico.

## IMPORTANCIA CLÍNICA

### HSPs como marcadores diagnósticos y pronósticos

Se ha asociado a la sobre expresión de HSPs con un mal pronóstico en una amplia gama de neoplasias en humanos, entre los que sobresalen el cáncer gástrico, pulmonar, hepático, endometrio, ovario, seno, osteosarcomas,

leucemia linfoblástica, linfomas, carcinoma prostático y de vejiga (82-89). Aunque los niveles de HSP no proporcionan información a nivel de diagnóstico, los niveles circulantes en sangre de HSPs y de anticuerpos anti-HSPs en pacientes con cáncer pueden ser útiles como marcadores biológicos para establecer el grado de diferenciación, el grado de agresividad y el estado del proceso oncogénico (85, 86, 90-95). Varias HSPs han sido implicadas en el pronóstico de tumores específicos, más notablemente la Hsp27, cuya expresión se asocia con un mal pronóstico en cáncer de seno, gástrico y hepático (96). Así mismo, las Hsp70 y Hsp90 se correlacionan con un mal pronóstico en cáncer de seno, de endometrio, colorrectal, cuello uterino y leucemias (78, 97-99). El incremento en la expresión de las HSPs también puede predecir la respuesta a algunos tratamientos antineoplásicos (69, 100). Por ejemplo, Hsp27 y Hsp70 están implicadas en la resistencia a la quimioterapia en el cáncer de seno y leucemia (101).

### Las HSPs como abordaje terapéutico contra el cáncer

La implicación de las HSPs en el proceso oncogénico ha planteado el desarrollo de dos estrategias principales para el tratamiento de neoplasias. La primera se basa en la modificación farmacológica de la expresión de HSPs o de su actividad como chaperonas moleculares (63, 102-111) y la segunda se fundamenta en el uso de las HSPs como vacunas contra el cáncer, explotando su capacidad para actuar como adyuvantes inmunológicos al presentar péptidos tumorales (112-115). Hasta ahora, solo están disponibles para uso clínico algunos inhibidores farmacológicos de Hsp90, como Geldanamycin y su análogo la 17-alilamino-17-deemethoxygeldanamycin (17-AAG), dos fármacos que actualmente

se encuentran con ensayos en fase I y II para probar su actividad contra el cáncer (116-118). Lamentablemente, existen pocos reactivos que inhiben selectivamente la Hsp70 citosólica (Quercetin:3,3,4,5,7-Pentahydroxyflavone C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub> 2H<sub>2</sub>O; Pifithrin  $\alpha$ ), sin poder inhibir las demás localizaciones. En cuanto a Hsp27 y Hsp70, los oligonucleótidos antisentido contra estas proteínas han demostrado ser útiles contra el cáncer de vejiga para restablecer la apoptosis y retrasar la progresión tumoral (119-122). Estrategias antisentido también se han empleado en el tratamiento de cáncer de ovario (123). Estas estrategias terapéuticas conducen a la degradación de las proteínas sustrato y a la detención del crecimiento tumoral en G1 o G2 y la activación de la apoptosis (124-126). Se usan estos fármacos asumiendo que las células tumorales, en comparación con sus contrapartes normales, exhiben un fenotipo con una dependencia mayor en la acción citoprotectora de las HSPs.

### CONCLUSIONES

Los miembros de las distintas familias de HSPs desempeñan un papel esencial en el desarrollo tumoral al facilitar el crecimiento autónomo al brindar estabilidad de oncogenes sobreexpresados o mutados, lo cual bloquea las vías de muerte celular programada (apoptosis) y promoviendo la activación de factores que degradan la matriz extracelular. La sobreexpresión de las HSPs en muchos tipos de cáncer ofrece un espacio para el diseño e implementación de tratamientos que puedan inhibirlas, coadyuvando al tratamiento antineoplásico. Los ensayos realizados hasta ahora muestran resultados prometedores para el tratamiento del cáncer basado en la inhibición de estas proteínas. Sin embargo, cabe resaltar que la expresión de las HSPs es



bastante heterogénea y no se ha desarrollado un estudio que evalué la expresión conjunta de todas las familias de HSPs para poder establecer cuáles se sobreexpresan o, por el contrario, cuáles disminuyen, por lo tanto se debe evitar la generalización de los resultados obtenidos.

Funding: Universidad Nacional de Colombia.  
Conflict of interests: None to declare.

## REFERENCIAS

1. Timothy J, McCormick F. The molecular pathology of cancer Nature Reviews. Clinical oncology 2010; 7:251-265.
2. Schlesinger MJ. Heat shock proteins. (Translated from eng) The Journal of biological chemistry 1990; 265(21):12111-12114 (in eng).
3. Ritossa P. [Problems of prophylactic vaccinations of infants]. (Translated from ita) Riv Ist Sieroter Ital 1962; 37:79-108 (in ita).
4. Parsell D, Lindquist S. The function of heat-shock proteins in stress tolerance: degradation and reactivation of damaged proteins. (Translated from English) Annual reviews genetic 1993; 27(66):437-496 (in English).
5. Samali A, Cotter T. Heat shock proteins increase resistance to apoptosis. Exp Cell Res 1996; 223(1): 163-170.
6. Bukau B, Horwich A. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. Cell 1998; 92(3):351-366.
7. Finley D, Varshavsky A. The ubiquitin system functions and mechanisms. Trends in Biochem 1985; Sci 10:343-347.
8. Csermely P. Protein, RNAs and chaperones in enzyme evolution: a folding perspective. (Translated from eng) Trends Biochem Sci 1997; 22(5):147-149 (in eng).
9. Ulrich F. Molecular chaperones in cellular protein folding. Nature 1996; 381:571-580.
10. Beissinger M, Buchner J. How chaperones fold proteins. Biol Chem 1998; 379:245-259.
11. Easton D, Kaneko Y, Subject J. The hsp110 and Grp1 70 stress proteins: newly recognized relatives of the Hsp70s. Cell Stress Chaperones 2000; 5(4):276-290.
12. Nylandsted J. Heat shock protein 70 is required for the survival of cancer cells. Annual New York Academy of Science 2000; 926:122-126.
13. Beere H. The stress of dying: the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. J Cell Sci 2004; 117:2641-2651.
14. Bakthisaran R, Tangirala R & Rao CM. Small heat shock proteins: Role in cellular functions and pathology. (Translated from Eng) Biochim Biophys Acta 2014; 1854(4):291-319 (in Eng).
15. Asea S, Kraeft E, Kurt-Jones M, Stevenson L, Chen R, Finberg G. HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. Nat Med 2000; 6:435-442.
16. Srivastava P. Peptide-binding heat shock proteins in the endoplasmic reticulum: role in immune response to cancer and in antigen presentation. Advance Cancer Research 1993; 62:153-177.
17. Menoret A, Peng P, Srivastava P. Association of peptides with heat shock protein gp96 occurs in vivo and not after cell lysis Biochem Biophysics Res Commun 262(3):813-818.
18. Blachere N. The role of heat shock proteins in antigen presentation by MHC- I molecules. Fordham Univ, New York 1998; Ph.D. thesis.
19. Binder R, Harris M, Menoret A, Srivastava P. Saturation, competition, and specificity in interaction of heat shock proteins (hsp) gp96, hsp90, and hsp70 with CD11bC cells J. Immunol 2000; 165(5):2582-2587.
20. Basu R, Binder R, Suto K, Srivastava P. Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial

- maturation signal to dendritic cells and activate the NF- $\kappa$ B pathway. *Int. Immunology* 2000; 12:1539–1546.
21. Arrigo AP. Heat shock proteins as molecular chaperones. *Med. Sci* 2005; 21:619-625.
  22. Borges JC, Fischer H, Craievich AF & Ramos CH. Low resolution structural study of two human HSP40 chaperones in solution. DJA1 from subfamily A and DJB4 from subfamily B have different quaternary structures. (Translated from eng) *The Journal of biological chemistry* 2005; 280(14):13671-13681 (in eng).
  23. Spiess C, Meyer AS, Reissmann S & Frydman J. Mechanism of the eukaryotic chaperonin: protein folding in the chamber of secrets. (Translated from eng) *Trends Cell Biol* 2004; 14(11):598-604 (in eng).
  24. Young JC, Agashe VR, Siegers K & Hartl FU. Pathways of chaperone-mediated protein folding in the cytosol. (Translated from eng) *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004; 5(10):781-791 (in eng).
  25. Bukau B & Horwich AL. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. (Translated from eng) *Cell* 1998; 92(3):351-366 (in eng).
  26. Mayer MP & Bukau B. Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. (Translated from eng) *Cell Mol Life Sci* 2005; 62(6):670-684 (in eng).
  27. Wegele H, Muller L & Buchner J. Hsp70 and Hsp90—a relay team for protein folding. (Translated from eng) *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2004; 151:1-44 (in eng).
  28. Pratt WB & Toft DO. Regulation of signaling protein function and trafficking by the hsp90/hsp70-based chaperone machinery. (Translated from eng) *Exp Biol Med (Maywood)* 2003; 228(2):111-133 (in eng).
  29. Easton DP, Kaneko Y & Subject JR. The hsp110 and Grp170 stress proteins: newly recognized relatives of the Hsp70s. (Translated from eng) *Cell stress & chaperones* 2000; 5(4):276-290 (in eng).
  30. Poulain P, Gelly JC & Flatters D. Detection and architecture of small heat shock protein monomers. (Translated from eng) *PLoS One* 2010; 5(4):e9990 (in eng).
  31. Kourtis N, Nikolettou V & Tavernarakis N. Small heat-shock proteins protect from heat-stroke-associated neurodegeneration. (Translated from Eng) *Nature* 2012 (in Eng).
  32. Hu Z CL, Zhang J, Li T, Tang J, Xu N, Wang X. Structure, function, property, and role in neurologic diseases and other diseases of the sHsp22. *J Neurosci Res* 2007; 85(10):2071-2079.
  33. Irobi J, Van Impe K, Seeman P, Jordanova A, Dierick I, Verpoorten N, et al. Hot-spot residue in small heat-shock protein 22 causes distal motor neuropathy. *Nature* 2004; 36(6):597-601.
  34. Houlden H, De Vrièze W, Blake J, Wood N, Reilly M. Mutations in the HSP27 (HSPB1) gene cause dominant, recessive, and sporadic distal HMN/CMT type 2. *Neurology* 2008; 71(21):1660-1668.
  35. Ciocca D, Stati A, Fanelli M, Gaestel M. Expression of heat shock protein 25000 in rat uterus during pregnancy and pseudopregnancy. *Biol Reprod* 1996; 54:1326-1335
  36. Li D, Gordon C, Stagg C, Udelsman R. Heat shock protein expression in human placenta and umbilical cord. *Shock* 1996; 5:320-323.
  37. Xu Q & Wick G. The role of heat shock proteins in protection and pathophysiology of the arterial wall. (Translated from eng) *Mol Med Today* 1996; 2(9):372-379 (in eng).
  38. Hassan S, Biswas MH, Zhang C, Du C & Balaji KC. Heat shock protein 27 mediates repression of androgen receptor function by protein kinase D1 in prostate cancer cells. (Translated from eng) *Oncogene* 2009; 28(49):4386-4396 (in eng).
  39. Ciocca DR & Luque EH. Immunological evidence for the identity between the hsp27 estrogen-regulated heat shock protein and the p29 estrogen receptor-associated protein



- in breast and endometrial cancer. (Translated from eng) *Breast Cancer Res Treat* 1991; 20(1):33-42 (in eng).
40. Davey K, Parboosingh J, McLeod D, Chan A, Casey R, et al. Mutation of DNAJC19, a human homologue of yeast inner mitochondrial membrane co-chaperones, causes DCMA syndrome, a novel autosomal recessive Barth syndrome-like condition. *J Med Genet* 2006; 43(5):385-393.
41. Hata M, Okumura K, Seto M & Ohtsuka K. Genomic cloning of a human heat shock protein 40 (Hsp40) gene (HSPF1) and its chromosomal localization to 19p13.2. (Translated from eng) *Genomics* 1996; 38(3):446-449 (in eng).
42. Hansen JJ, et al. Genomic structure of the human mitochondrial chaperonin genes: HSP60 and HSP10 are localised head to head on chromosome 2 separated by a bi-directional promoter. (Translated from eng) *Hum Genet* 2003; 112(1):71-77 (in eng).
43. Hendershot LM, Valentine VA, Lee AS, Morris SW, & Shapiro DN. Localization of the gene encoding human BiP/GRP78, the endoplasmic reticulum cognate of the HSP70 family, to chromosome 9q34. (Translated from eng) *Genomics* 1994; 20(2):281-284 (in eng)
44. Brocchieri L, Conway de Macario E, Macario A. hsp70 genes in the human genome: Conservation and differentiation patterns predict a wide array of overlapping and specialized functions. *BMC Evol Biol* 2008; 23:8-19.
45. Osipiuk J, Walsh MA, Freeman BC, Morimoto RI & Joachimiak A. Structure of a new crystal form of human Hsp70 ATPase domain. (Translated from eng) *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 1999; 55(Pt 5):1105-1107 (in eng).
46. Chen B, Piel WH, Gui L, Bruford E & Monteiro A. The HSP90 family of genes in the human genome: insights into their divergence and evolution. (Translated from eng) *Genomics* 2005; 86(6):627-637 (in eng).
47. Sidera K, Samiotaki M, Yfanti E, Panayotou G & Patsavoudi E. Involvement of cell surface HSP90 in cell migration reveals a novel role in the developing nervous system. (Translated from eng) *The Journal of biological chemistry* 2004; 279(44):45379-45388 (in eng).
48. Becker B, et al. Induction of Hsp90 protein expression in malignant melanomas and melanoma metastases. (Translated from eng) *Exp Dermatol* 2004; 13(1):27-32 (in eng).
49. Tsutsumi S & Neckers L. Extracellular heat shock protein 90: a role for a molecular chaperone in cell motility and cancer metastasis. (Translated from eng) *Cancer Sci* 2007; 98(10):1536-1539 (in eng).
50. Fishel R & Kolodner RD. Identification of mismatch repair genes and their role in the development of cancer. (Translated from eng) *Curr Opin Genet Dev* 1995; 5(3):382-395 (in eng).
51. Teng SC, et al. Direct activation of HSP90A transcription by c-Myc contributes to c-Myc-induced transformation. (Translated from eng) *The Journal of biological chemistry* 2004; 279(15):14649-14655 (in eng).
52. Nimmanapalli R, O'Bryan E & Bhalla K. Geldanamycin and its analogue 17-allyl-17-demethoxygeldanamycin lowers Bcr-Abl levels and induces apoptosis and differentiation of Bcr-Abl-positive human leukemic blasts. (Translated from eng) *Cancer research* 2001; 61(5):1799-1804 (in eng).
53. Pinhasi-Kimhi Oea. Specific interaction between the p53 cellular tumour antigen and major heat shock proteins. *Nature* 1986; 320:182-184.
54. Gabai VL, Yaglom JA, Waldman T & Sherman MY. Heat shock protein Hsp72 controls oncogene-induced senescence pathways in cancer cells. (Translated from eng) *Mol Cell Biol* 2009; 29(2):559-569 (in eng).

55. Andrieu C, et al. Heat shock protein 27 confers resistance to androgen ablation and chemotherapy in prostate cancer cells through eIF4E. (Translated from eng) *Oncogene* 2010; 29(13):1883-1896 (in eng).
56. Beere HM, et al. Heat-shock protein 70 inhibits apoptosis by preventing recruitment of procaspase-9 to the Apaf-1 apoptosome. (Translated from eng) *Nature cell biology* 2000; 2(8):469-475 (in eng).
57. Dudeja V, et al. Heat shock protein 70 inhibits apoptosis in cancer cells through simultaneous and independent mechanisms. (Translated from eng) *Gastroenterology* 2009; 136(5):1772-1782 (in eng).
58. Nylandsted J, et al. Heat shock protein 70 promotes cell survival by inhibiting lysosomal membrane permeabilization. (Translated from eng) *J Exp Med* 2004; 200(4):425-435 (in eng).
59. Creagh EM, Carmody RJ & Cotter TG. Heat shock protein 70 inhibits caspase-dependent and -independent apoptosis in Jurkat T cells. (Translated from eng) *Exp Cell Res* 2000; 257(1):58-66 (in eng).
60. Bivik C, Rosdahl I & Ollinger K. Hsp70 protects against UVB induced apoptosis by preventing release of cathepsins and cytochrome c in human melanocytes. (Translated from eng) *Carcinogenesis* 2007; 28(3):537-544 (in eng).
61. Stankiewicz AR, Lachapelle G, Foo CP, Radicioni SM & Mosser DD. Hsp70 inhibits heat-induced apoptosis upstream of mitochondria by preventing Bax translocation. (Translated from eng) *The Journal of biological chemistry* 2005; 280(46):38729-38739 (in eng).
62. Jones EL, Zhao MJ, Stevenson MA & Calderwood SK. The 70 kilodalton heat shock protein is an inhibitor of apoptosis in prostate cancer. (Translated from eng) *Int J Hyperthermia* 2004; 20(8):835-849 (in eng).
63. Hosaka S, et al. Synthetic small interfering RNA targeting heat shock protein 105 induces apoptosis of various cancer cells both in vitro and in vivo. (Translated from eng) *Cancer Sci* 2006; 97(7):623-632 (in eng).
64. Banerjee S, et al. Heat shock protein 27 differentiates tolerogenic macrophages that may support human breast cancer progression. (Translated from eng) *Cancer Res* 2011; 71(2):318-327 (in eng).
65. Banerjee S, et al. Heat shock protein 27 differentiates tolerogenic macrophages that may support human breast cancer progression. (Translated from eng) *Cancer research* 2011; 71(2):318-327 (in eng).
66. Gebhard B, et al. MHC-class-I expression in human breast cancer correlates with nuclear localization of the 90 kDa heat-shock-protein. (Translated from eng) *Anticancer research* 1999; 19(6B):5293-5297 (in eng).
67. Campisi J. Senescent cells, tumor suppression, and organismal aging: good citizens, bad neighbors. (Translated from eng) *Cell* 2005, 120(4):513-522 (in eng).
68. Holt SE, et al. Functional requirement of p23 and Hsp90 in telomerase complexes. (Translated from eng) *Genes Dev* 1999; 13(7):817-826 (in eng).
69. Kim WY, Oh SH, Woo JK, Hong WK & Lee HY. Targeting heat shock protein 90 overrides the resistance of lung cancer cells by blocking radiation-induced stabilization of hypoxia-inducible factor-1alpha. (Translated from eng) *Cancer research* 2009; 69(4):1624-1632 (in eng).
70. Lang SA, et al. Targeting heat shock protein 90 in pancreatic cancer impairs insulin-like growth factor-I receptor signaling, disrupts an interleukin-6/signal-transducer and activator of transcription 3/hypoxia-inducible factor-1alpha autocrine loop, and reduces orthotopic tumor growth. (Translated from eng) *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research* 2007; 13(21):6459-6468 (in eng).

71. Lang SA, et al. Inhibition of heat shock protein 90 impairs epidermal growth factor-mediated signaling in gastric cancer cells and reduces tumor growth and vascularization in vivo. (Translated from eng) *Molecular cancer therapeutics* 2007; 6(3):1123-1132 (in eng).
72. Boroughs LK, Antonyak MA, Johnson JL & Cerione RA. A unique role for heat shock protein 70 and its binding partner tissue transglutaminase in cancer cell migration. (Translated from eng) *The Journal of biological chemistry* 2011; 286(43):37094-37107 (in eng).
73. Griffin M, Casadio R & Bergamini CM. Transglutaminases: nature's biological glues. (Translated from eng) *The Biochemical journal* 2002; 368(Pt 2):377-396 (in eng).
74. Li W, et al. Extracellular heat shock protein-90alpha: linking hypoxia to skin cell motility and wound healing. (Translated from eng) *The EMBO journal* 2007; 26(5):1221-1233 (in eng).
75. Cheng CF, et al. Transforming growth factor alpha (TGFalpha)-stimulated secretion of HSP90alpha: using the receptor LRP-1/CD91 to promote human skin cell migration against a TGFbeta-rich environment during wound healing. (Translated from eng) *Mol Cell Biol* 2008; 28(10):3344-3358 (in eng).
76. Wang X, Song X, Zhuo W, Fu Y, Shi H, et al. The regulatory mechanism of Hsp90alpha secretion and its function in tumor malignancy. *PNAS* 2009; 106(50):21289-21293.
77. Max R, Gerritsen R, Nooijen P, Goodman S, Sutter A, et al. Immunohistochemical analysis of integrin alpha v beta 3 expression on tumor-associated vessels of human carcinomas. *International Journal of Cancer* 1997; 71(3):320-324.
78. Chen WS, Lee CC, Hsu YM, Chen CC & Huang TS. Identification of heat shock protein 90alpha as an IMH-2 epitope-associated protein and correlation of its mRNA overexpression with colorectal cancer metastasis and poor prognosis. (Translated from eng) *International journal of colorectal disease* 2011; 26(8):1009-1017 (in eng).
79. Eustace BK, et al. Functional proteomic screens reveal an essential extracellular role for hsp90 alpha in cancer cell invasiveness. (Translated from eng) *Nat Cell Biol* 2004; 6(6):507-514 (in eng).
80. Chen JS, et al. Secreted heat shock protein 90alpha induces colorectal cancer cell invasion through CD91/LRP-1 and NF-kappaB-mediated integrin alphaV expression. (Translated from eng) *The Journal of biological chemistry* 2010; 285(33):25458-25466 (in eng).
81. Liu X, et al. Cell surface heat shock protein 90 modulates prostate cancer cell adhesion and invasion through the integrin-beta1/focal adhesion kinase/c-Src signaling pathway. (Translated from eng) *Oncology reports* 2011; 25(5):1343-1351 (in eng).
82. Cornford PA, et al. Heat shock protein expression independently predicts clinical outcome in prostate cancer. (Translated from eng) *Cancer research* 2000; 60(24):7099-7105 (in eng).
83. Zhao M, et al. Increased expression of heat shock protein 27 correlates with peritoneal metastasis in epithelial ovarian cancer. (Translated from eng) *Reprod Sci* 2012; 19(7):748-753 (in eng).
84. Szondy K, et al. Tumor cell expression of heat shock protein (HSP) 72 is influenced by HSP72 [HSPA1B A(1267)G] polymorphism and predicts survival in small Cell lung cancer (SCLC) patients. (Translated from eng) *Cancer Invest* 2012; 30(4):317-322 (in eng).
85. Zhang WL, Gao XQ, Han JX, Wang GQ, & Yue LT. [Expressions of heat shock protein (HSP) family HSP 60, 70 and 90alpha in colorectal cancer tissues and their correlations to pathohistological characteristics]. (Translated from chi) *Ai Zheng* 2009; 28(6):612-618 (in chi).

86. Giaginis C, et al. Heat Shock Protein-27, -60 and -90 expression in gastric cancer: association with clinicopathological variables and patient survival. (Translated from eng) *BMC Gastroenterol* 2009; 9:14 (in eng).
87. Isomoto H, et al. Expression of heat shock protein (Hsp) 70 and Hsp 40 in gastric cancer. (Translated from eng) *Cancer letters* 2003 198(2):219-228 (in eng).
88. Maehara Y, et al. Overexpression of the heat shock protein HSP70 family and p53 protein and prognosis for patients with gastric cancer. (Translated from eng) *Oncology* 2000; 58(2):144-151 (in eng).
89. Qiao N, Zhu Y, Li H, Qu Z & Xiao Z. Expression of heat shock protein 20 inversely correlated with tumor progression in patients with ovarian cancer. (Translated from eng) *Eur J Gynaecol Oncol* 2014; 35(5):576-579 (in eng).
90. Huang Q, Zu Y, Fu X & Wu T. Expression of heat shock protein 70 and 27 in non-small cell lung cancer and its clinical significance. (Translated from eng) *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005; 25(6):693-695 (in eng).
91. Kocsis J, Madaras B, Toth EK, Fust G & Prohaszka Z. Serum level of soluble 70-kD heat shock protein is associated with high mortality in patients with colorectal cancer without distant metastasis. (Translated from eng) *Cell stress & chaperones* 2010; 15(2):143-151 (in eng).
92. Pockley AG, Henderson B & Multhoff G. Extracellular cell stress proteins as biomarkers of human disease. (Translated from eng) *Biochem Soc Trans* 2014; 42(6):1744-1751 (in eng).
93. Katsogiannou M, Andrieu C & Rocchi P. Heat shock protein 27 phosphorylation state is associated with cancer progression. (Translated from eng) *Frontiers in genetics* 2014 5:346 (in eng).
94. Kaigorodova EV, et al. Relationship between the expression of phosphorylated heat shock protein beta-1 with lymph node metastases of breast cancer. (Translated from Eng) *Cancer Biomark* 2014; (in Eng).
95. Kaigorodova EV & Bogatyuk MV. Heat shock proteins as prognostic markers of cancer. (Translated from eng) *Current cancer drug targets* 2014; 14(8):713-726 (in eng).
96. Conroy SE, et al. Antibodies to heat-shock protein 27 are associated with improved survival in patients with breast cancer. (Translated from eng) *Br J Cancer* 1998; 77(11):1875-1879 (in eng).
97. Abe M, et al. Plasma levels of heat shock protein 70 in patients with prostate cancer: a potential biomarker for prostate cancer. (Translated from eng) *Clin Prostate Cancer* 2004; 3(1):49-53 (in eng).
98. Cheng Q, et al. Amplification and high-level expression of heat shock protein 90 marks aggressive phenotypes of human epidermal growth factor receptor 2 negative breast cancer. (Translated from Eng) *Breast Cancer Res* 2012; 14(2):R62 (in Eng).
99. Conroy SE, Sasieni PD, Fentiman I & Latchman DS. Autoantibodies to the 90kDa heat shock protein and poor survival in breast cancer patients. (Translated from eng) *European journal of cancer* 1998; 34(6):942-943 (in eng).
100. Lee JH, et al. Overexpression of human 27 kDa heat shock protein in laryngeal cancer cells confers chemoresistance associated with cell growth delay. (Translated from eng) *J Cancer Res Clin Oncol* 2007;133(1):37-46 (in eng).
101. Ciocca DR & Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications. (Translated from eng) *Cell stress & chaperones* 2005; 10(2):86-103 (in eng).
102. Aalinkeel R, et al. The dietary bioflavonoid, quercetin, selectively induces apoptosis of prostate cancer cells by down-regulating the expression of heat shock protein 90. (Trans-



- lated from eng) *Prostate* 2008; 68(16):1773-1789 (in eng).
103. Ashok BT, Kim E, Mittelman A & Tiwari RK. Proteasome inhibitors differentially affect heat shock protein response in cancer cells. (Translated from eng) *Int J Mol Med* 2001; 8(4):385-390 (in eng).
104. Banerji U, et al. An in vitro and in vivo study of the combination of the heat shock protein inhibitor 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin and carboplatin in human ovarian cancer models. (Translated from eng) *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; 62(5):769-778 (in eng).
105. Behnsawy HM, Miyake H, Kusuda Y & Fujisawa M. Small interfering RNA targeting heat shock protein 70 enhances chemosensitivity in human bladder cancer cells. (Translated from Eng) *Urol Oncol* 2011 (in Eng).
106. Braiden V, et al. Eradication of breast cancer xenografts by hyperthermic suicide gene therapy under the control of the heat shock protein promoter. (Translated from eng) *Hum Gene Ther* 2000; 11(18):2453-2463 (in eng).
107. Hamelin C, et al. Identification and verification of heat shock protein 60 as a potential serum marker for colorectal cancer. (Translated from eng) *The FEBS journal* 2011; 278(24):4845-4859 (in eng).
108. Singh S & Suri A. Targeting the testis-specific heat-shock protein 70-2 (HSP70-2) reduces cellular growth, migration, and invasion in renal cell carcinoma cells. (Translated from eng) *Tumour Biol* 2014; 35(12):12695-12706 (in eng).
109. Haggerty TJ, et al. Heat shock protein-90 inhibitors enhance antigen expression on melanomas and increase T cell recognition of tumor cells. (Translated from eng) *PLoS One* 2014; 9(12):e114506 (in eng).
110. Wang Y & McAlpine SR. Regulating the cytoprotective response in cancer cells using simultaneous inhibition of Hsp90 and Hsp70. (Translated from Eng) *Organic & biomolecular chemistry* 2014; (in Eng).
111. Liu H, et al. Targeting heat-shock protein 90 with ganetespib for molecularly targeted therapy of gastric cancer. (Translated from eng) *Cell death & disease* 2015; 6:e1595 (in eng).
112. Blachere NE & Srivastava PK. Heat shock protein-based cancer vaccines and related thoughts on immunogenicity of human tumors. (Translated from eng) *Semin Cancer Biol* 1995; 6(6):349-355 (in eng).
113. Blachere NE, et al. Heat shock protein vaccines against cancer. (Translated from eng) *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 1993; 14(4):352-356 (in eng).
114. Chang CL, Tsai YC, He L, Wu TC, & Hung CF. Cancer immunotherapy using irradiated tumor cells secreting heat shock protein 70. (Translated from eng) *Cancer research* 2007; 67(20):10047-10057 (in eng).
115. Horibe T, Kawamoto M, Kohno M & Kawakami K. Cytotoxic activity to acute myeloid leukemia cells by Antp-TPR hybrid peptide targeting Hsp90. (Translated from eng) *J Biosci Bioeng* 2012; 114(1):96-103 (in eng).
116. Moser C, et al. Blocking heat shock protein-90 inhibits the invasive properties and hepatic growth of human colon cancer cells and improves the efficacy of oxaliplatin in p53-deficient colon cancer tumors in vivo. (Translated from eng) *Molecular cancer therapeutics* 2007; 6(11):2868-2878 (in eng).
117. Oh WK, et al. Multicenter phase II trial of the heat shock protein 90 inhibitor, retaspimycin hydrochloride (IPI-504), in patients with castration-resistant prostate cancer. (Translated from eng) *Urology* 2011; 78(3):626-630 (in eng).
118. Wang S, et al. Inhibition of heat shock protein 90 suppresses squamous carcinogenic progression in a mouse model of esophageal cancer. (Translated from Eng) *J Cancer Res Clin Oncol* 2015; (in Eng).

119. Hadaschik BA, et al. Intravesically administered antisense oligonucleotides targeting heat-shock protein-27 inhibit the growth of non-muscle-invasive bladder cancer. (Translated from eng) *BJU Int* 2008; 102(5):610-616 (in eng).
120. He LF, Hou SK, Yan Z, Ren L, & Wang SW. [The heat shock protein 70 antisense oligomers enhance the sensitivity of bladder cancer cell EJ to mitomycin C]. (Translated from chi) *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2004; 42(18):1108-1110 (in chi).
121. Matsui Y, et al. Intravesical combination treatment with antisense oligonucleotides targeting heat shock protein-27 and HTI-286 as a novel strategy for high-grade bladder cancer. (Translated from eng) *Molecular cancer therapeutics* 2009; 8(8):2402-2411 (in eng).
122. Ozgur A, Tutar L & Tutar Y. Regulation of Heat Shock Proteins by miRNAs in Human Breast Cancer. (Translated from eng) *MicroRNA* 2015; 3(2):118-135 (in eng).
123. Song TF, et al. Small interfering RNA-mediated silencing of heat shock protein 27 (HSP27) Increases chemosensitivity to paclitaxel by increasing production of reactive oxygen species in human ovarian cancer cells (HO8910). (Translated from eng) *J Int Med Res* 2009; 37(5):1375-1388 (in eng).
124. Watanabe G, Behrns KE, Kim JS & Kim RD. Heat shock protein 90 inhibition abrogates hepatocellular cancer growth through cdc2-mediated G2/M cell cycle arrest and apoptosis. (Translated from eng) *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 64(3):433-443 (in eng).
125. Zajac M, Moneo MV, Carnero A, Benitez J & Martinez-Delgado B. Mitotic catastrophe cell death induced by heat shock protein 90 inhibitor in BRCA1-deficient breast cancer cell lines. (Translated from eng) *Molecular cancer therapeutics* 2008; 7(8):2358-2366 (in eng).
126. Zhao ZG & Shen WL. Heat shock protein 70 antisense oligonucleotide inhibits cell growth and induces apoptosis in human gastric cancer cell line SGC-7901. (Translated from eng) *World J Gastroenterol* 2005; 11(1):73-78 (in eng).