**Лекция 2. Базовые механизмы возникновения опухолей. Избыточное размножение клеток вследствие нарушений позитивной и негативной регуляции клеточного цикла.**

В основе образования опухоли лежит избыточное размножение определенных клеток. Совершенно естественно поэтому, что нарушения регуляции клеточного цикла являются неотъемлемым и основополагающим признаком неопластической клетки. "Мотором" клеточного цикла, как известно, служат активности последовательно сменяющих друг друга циклинзависимых киназ [ Morgan, ea 1997 ] ( рис.1 ).

Каждая циклинзависимая киназа (Сdk) представляет собой каталитическую субъединицу холоферментного комплекса, для активности которой требуется присутствие активаторной субъединицы - циклина . Регуляция активности Сdk осуществляется за счет направленного изменения уровня определенных циклинов в определенные фазы клеточного цикла . Кроме того, активность Сdk регулируется изменениями фосфорилирования их определенных аминокислотных остатков. В активной форме комплексы циклин- Cdk фосфорилируют регуляторные белки, контролирующие протекание данной фазы.

Большинство известных протоонкогенов и опухолевых супрессоров тем или иным образом регулируют активность циклинзависимых киназ, ответственных за вход в S-фазу клеточного цикла. Продукты некоторых из клеточных ( Mdm2 ) или вирусных ( Т-антиген вируса SV40 , E1A аденовирусов , E7 HPV и др.) онкогенов связывают и инактивируют основной субстрат таких Cdk - pRb . По-видимому, нарушения в сигнальных путях Cdk2,4/6 - pRb - E2F/DP являются необходимыми для появления постоянно пролиферирующих неопластических клеток. Нарушение регуляции клеточного цикла это способ подстегнуть клетку к нерегулируемому размножению. Раковые клетки могут производить избыточные количества циклина D и циклина Е , в них могут отсутствовать такие ключевые регуляторы клеточного цикла, как р53 или р16 .

Другой важнейшей точкой приложения активностей онкогенов и опухолевых супрессоров является регуляция апоптоза (программированной гибели клеток). Апоптоз, как известно, вызывается различными сигналами: связыванием с рецепторами специфических киллерных лигандов, нехваткой факторов роста/выживания, повреждениями ДНК и разрушениями цитоскелета, гипоксией и другими неблагоприятными условиями. В регуляции апоптоза выделяют два основных этапа: фазу индукции (принятия решения) и фазу экзекуции (исполнения приговора). Последняя осуществляется путем активации каспаз - семейства цистеиновых протеиназ, расщепляющих свои субстраты по остаткам аспартатовой кислоты. Расщепление каспазами 3, 6, 7 (так называемые "эффекторные" или "казнящие" каспазы) ряда ключевых субстратов, в частности DFF45/ICAD - ингибитора нуклеазы DFF40/CAD (осуществляется каспазой 3), ламинов - ядерных цитоскелетных белков (осуществляется каспазой 6) и т.д., приводит к фрагментации ДНК и деструкции клетки. Каспазы присутствуют в цитоплазме в виде проэнзимов и активируются до полностью функциональных протеаз путем расщепления проэнзима на большую и малую субъединицы и дальнейшего отщепления от них N-концевых доменов. Затем субъединицы собираются в тетрамер с двумя активными центрами. Расщепление прокаспаз могут осуществлять различные протеазы, в том числе и другие каспазы. Предполагается, что существует по меньшей мере два принципиально разных сигнальных пути, приводящих к активации каспаз 3, 6, 7. Один из них инициируется связыванием специфических киллерных молекул (Fas-лиганд, TNFa и др.) со своими рецепторами, что вызывает рекрутирование адаптерных белков и прокаспаз, в частности прокаспазы 8. Агрегация молекул прокаспазы 8 достаточна, чтобы инициировать их аутопроцессирование (расщепление) и образование активных форм каспазы 8, которая, в свою очередь, процессирует "казнящие" каспазы. При альтернативном механизме расщепление каспаз 3, 6, 7 осуществляется каспазой 9, активация которой инициируется выходом из митохондрий протеазы AIF (Apoptosis Inducing Factor) и/или цитохрома с, стимулирующего связывание прокаспаз 9 с белком Apaf1 (гомолог белка CED-4 у C. elegans) и, как следствие, образование агрегатов прокаспаз 9 и аутопроцессирование их до активных форм. Проницаемость митохондриальной мембраны для AIF и цитохрома с регулируется белками семейства Bcl2. Это семейство структурно сходных белков включает более двух десятков членов, в том числе продукты протоонкогенов bcl2 и bcl-x, обладающие способностью блокировать апоптоз, и опухолевый супрессор Bax, наоборот, индуцирующий апоптоз. Предполагается, что антиапоптогенные молекулы Bcl2 и Bcl-x, локализуясь в мембранах митохондрий, закрывают каналы, через которые осуществляется выброс цитохрома с и/или AIF. Bax, находящийся в норме в определенных компартментах цитоплазмы, при апоптогенных сигналах перемещается в митохондриальные мембраны, где он, взаимодействуя с интегральным белком наружной митохондриальной мембраны VDAC, стимулирует открытие канала, через который секретируется цитохром с. Кроме того, Bax образует гетеромерные комлексы с белками Bcl2, Bcl-x, что, возможно, открывает закрытые до этого каналы. Другие проапоптотические белки семейства Bcl2 (Bak, Bad, Bid и т.д.), по-видимому, обладают сходным действием