

СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О РОЛИ В КЛЕТОЧНОМ ЦИКЛЕ БЕЛКОВ – ИНГИБИТОРОВ ЦИКЛИН-ЗАВИСИМЫХ КИНАЗ p16 И p27

*Кафедра патологической анатомии им. ак. А. И. Струкова
ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет
имени И. М. Сеченова» Минздрава России,
Россия, 119991, г. Москва, ул. Малая Трубецкая, 8, стр. 1;
тел. 89032428816. E-mail: veter278@rambler.ru*

Нарушения клеточного цикла имеют свои характерные особенности при новообразованиях кожи. Наибольшее внимание исследователей уделено злокачественным опухолям, тогда как доброкачественные новообразования кожи мало изучены. В статье приводятся данные об особенностях экспрессии белков ингибиторов циклин-зависимых киназ p16, p27, их роли в клеточном цикле и онкогенезе.

Ключевые слова: белки – ингибиторы циклин-зависимых киназ p16, p27, иммуногистохимия, клеточный цикл, опухоль, себорейный кератоз.

A. K. ALEKSANDROVA, V. A. SMOLYNNIKOVA

CURRENT VIEW OF THE INHIBITOR PROTEIN CYCLIN-DEPENDENT KINASE p16, p27
AND THEIR ROLE IN THE CELL CYCLE

*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
M. Trubetskaya str., 8, blbd 1, Moscow, 119991, Russia*

Violations of the cell cycle have their own characteristics in the skin lesions. The greatest attention is paid to the research of cancers, whereas benign tumors of the skin insufficiently studied. The article presents data on the characteristics of protein expression of cyclin dependent kinase inhibitor p16, p27, and their role in the cell cycle and oncogenesis.

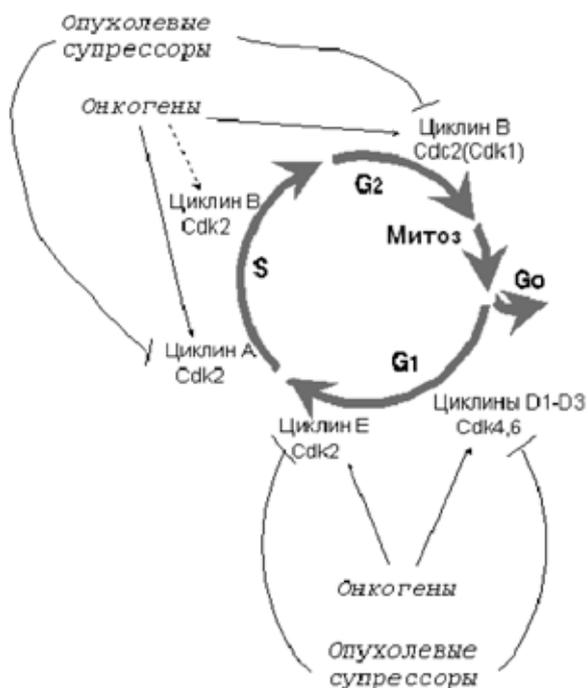
Key words: tumor suppressor protein p16, 27, immunohistochemistry, cell cycle, tumor, seborrheic keratosis.

Известно, что подавляющее большинство про-тоонкогенов и опухолевых супрессоров являются компонентами нескольких общих сигнальных путей, контролирующих клеточный цикл, апоптоз, целостность генома, морфогенетические реакции и дифференцировку клеток. Изменения именно в этих сигнальных путях в конце концов и приводят к развитию новообразований.

К настоящему времени известно около сотни потенциальных онкогенов (клеточных и вирусных) и около двух десятков опухолевых супрессоров. Выявлены характерные для преимущественно злокачественных новообразований человека их изменения, в том числе высокоспецифичные аномалии, используемые для постановки диагноза, тогда как доброкачественным образованиям практически не уделено внимание [1–3]. В клеточном цикле существует контрольная система, обеспечивающая продолжительность и координацию фаз клеточного цикла и правильный порядок их протекания. На протяжении фазы G1 в растущей клетке блокируется активность циклин-зависимых киназ (англ. Cdk) до момента вступления клетки в

очередной клеточный цикл. Сдерживание активности Cdk обеспечивается тремя контрольными механизмами. Во-первых, снижением экспрессии генов циклинов. Во-вторых, увеличением степени деградации циклинов. Наконец, к третьему типу сдерживания активности Cdk относят ингибиторы циклин-зависимых киназ, своего рода устройства, запускающие этапы клеточного цикла в нужное время и обеспечивающие правильный порядок, чтобы предотвратить ошибки (рисунки) [4].

Идентифицировано два семейства белков – ингибиторов циклин-зависимых киназ: Ink4 и Cip/Kip. Первое включает четыре представителя, в том числе опухолевые супрессоры p15INK4b и p16INK4a. Белки Ink4 обладают достаточно узкой специфичностью: связывая циклин-зависимую киназу (Cdk) Cdk4 и Cdk6, они препятствуют образованию их комплексов с циклинами D. Семейство Cip/Kip состоит из трех членов: p21WAF1/CIP1, p27KIP1a и p57KIP2. Эти белки связывают и ингибируют уже полностью сформированные комплексы циклина D – Cdk4(6), циклина E – Cdk2 и циклина A – Cdk2 [5, 6]. Ингибирование функций



Движение по клеточному циклу определяется последовательной активацией различных комплексов циклина Cdk. Большинство из них – мишени активирующего действия онкогенов или ингибирующего действия опухолевых супрессоров

циклин-зависимых киназ приводит к гипофосфорилированию белка pRB, что уменьшает экспрессию E2F-зависимых генов, блокируется переход клетки из фазы G1 в фазу S, и осуществляется контроль клеточного деления и пролиферации [7, 8]. Во многих источниках подтверждается, что нарушения в G1-фазе и G1/S-контрольной точке приводят к неконтролируемому росту опухолей [4]. Так, экспериментально доказано, что снижение экспрессии белка p16 приводит к гиперфосфорилированию pRB и в дальнейшем ведет к активации транскрипции генов, специфичных для S-фазы [9].

Белок p16 был обнаружен исследователями в 1993 году и с момента своего открытия стал одним из наиболее востребованных маркеров в области исследования рака [10]. Он кодируется геном – супрессором опухолевого роста CDKN2A, расположенным на хромосоме 9 (9p21.3). Участие этого гена отмечено в развитии как спорадической, так и семейной формы меланомы, глиомы, при раке легких, Т-клеточном лейкозе, В-клеточном лейкозе. Кроме того, p16 в настоящее время используют в качестве прогностического биомаркера для пациентов с плоскоклеточной карциномой ротоглотки, с раком шейки матки [11]. Экспрессия данного белка и его роль в патогенезе доброкачественных новообразований кожи, в частности себорейного кератоза, изучены мало. Себорейный кератоз (СК) – распространенная

эпителиальная опухоль, встречающаяся преимущественно у лиц после 35–40 лет, с неясной этиологией. Роль в развитии СК таких факторов, как повышенная инсоляция, канцерогены, вирус папилломы человека, не доказана, не исключается возможность и генетической предрасположенности как основного этиологического фактора [12]. Находит все больше сторонников теория старения кератиноцитов при СК. Старение происходит на клеточном уровне и отражает как генетически заложенную программу, так и суммарное повреждение, полученное в результате действий окружающей среды. Старение препятствует неограниченному и бесконтрольному росту поврежденных клеток, тем самым защищая от перерождения, но, с другой стороны, повышает устойчивость клеток к апоптозу [13]. Таким образом, старение клеток отличается от состояния покоя тем, что это состояние, вызванное повреждением ДНК или деградацией, – биохимическая альтернатива саморазрушению для сильно поврежденных клеток. Наконец, покой – обратимое состояние, а старение – нет. Одним из основных генов, ответственных за процессы старения, является ген CDKN2A, продуктом которого является белок p16. Во многих работах указано, что экспрессия p16 с возрастом увеличивается, и это происходит не за счет увеличения его синтеза, а связано с уменьшением его деградации. Поэтому определение p16 некоторыми исследователями были использованы как тест, измеряющий, насколько быстро клетки организма стареют на молекулярном уровне [14]. Так, увеличение уровня p16 в поджелудочной железе в процессе старения ингибирует пролиферацию бета-клеток, снижает их способность реагировать на повреждение. Это один из возможных механизмов развития болезней старости – сахарного диабета, ИБС, инсульта и т. д. Повышенную экспрессию гена p16 с возрастом раковые клетки преодолевают путем его инактивации, с помощью гиперметилирования или делеции. Как было сказано выше, мутации гена p16 встречаются при многих видах онкологических заболеваний [15]. Таким образом, действие данного гена и его продукта белка p16 соединяет разные процессы: онкогенез и старение. С одной стороны, гиперметилирование, мутации, делеции p16 приводят к нарушению регуляции гена и развитию рака через нарушение регуляции клеточного цикла. С другой, активация p16 через повреждения ДНК, возраст приводят к накоплению в тканях p16, угнетают пролиферативную активность клеток и участвуют в процессе старения клеток [8]. Результаты единичных работ по изучению экспрессии ингибиторов циклин-зависимых киназ при СК противоречивы, их интерпретация дается каждым автором по-свое-

му, без учета клинических данных [16, 17]. Так, Y. H. Wu et al. в 17 случаях себорейного кератоза с признаками бовеноидной трансформации обнаружил в клетках повышенную экспрессию p16 и p21, характерную также для болезни Боуэна и бовеноидного папулеза. Им было предложено исследовать p16 у пациентов с себорейным кератозом для выявления возможной малигнизации элементов [18]. Другие авторы – S. Nakamura et al., выявив в образцах кожи из очагов СК (в том числе в культуре кератиноцитов от пациентов с СК) выраженную экспрессию белка p16 во всех клетках опухоли, связали это не с возможностью малигнизации, а с нарушением клеточного цикла, блокированием входа в S-фазу клеток и их преждевременным старением. В подтверждение данной гипотезы в 4 изучаемых образцах СК при проведении генетического анализа он выявил отсутствие фрагментации ДНК в клетках опухоли, тогда как в нормальном эпидермисе фрагментация присутствовала в зернистом и роговых слоях. Это свидетельствует о сдерживании апоптоза при СК [16]. Brueks et al., изучая по 10 случаев себорейных кератом исключительно акантотического и раздраженного типов, отметил средний уровень экспрессии белка p16 и выраженную, диффузную экспрессию другого белка – ингибитора киназы p27, что свидетельствует, по его мнению, о доминирующем влиянии данного белка на пролиферативную активность клеток [17]. Как и p16, белок p27 (Kip1) регулирует течение клеточного цикла, отвечает за его остановку в G1-фазе. Он является продуктом гена CDKN1B человека [19]. До начала клеточного цикла белок p27, находясь в высокой концентрации, предотвращает активацию протеинкиназ CDK4 или CDK6 циклинами D1, D2 или D3. В таких условиях клетка остается в фазе G0 или ранней фазе G1 до получения митогенного стимула. После адекватной стимуляции происходит уменьшение концентрации ингибитора p27 на фоне возрастания внутриклеточного содержания циклинов D. Это сопровождается активацией CDK и в конечном счете фосфорилированием белка pRb, освобождением связанного с ним фактора транскрипции E2F и активацией транскрипции соответствующих генов. Важно отметить, что CDKN1B является ядерно-цитоплазматическим белком, его внутриклеточная локализация регулируется посттрансляционными модификациями. Свои ингибиторные функции он выполняет в ядре, после его перемещения в цитоплазму становится возможным дальнейшее продвижение клетки по циклу. Нарушение баланса между количеством ядерного и цитоплазматического CDKN1B обнаруживается в некоторых злокачественных опухолях [19, 20, 21]. Мутации в гене CDKN1B, кодирующем белок p27 (Kip1), обуславливают

предрасположенность к развитию множественных опухолей эндокринных желёз у человека и крыс. Это заболевание, описанное на примере одной семьи, получило название множественной эндокринной неоплазии IV типа [22].

Хотя оба белка – p16 и p27 – обладают способностью ингибировать активность CDK4 и CDK6, первый имеет большее сродство к данным протеинкиназам. Если концентрация p16 повышается до уровня, при котором он полностью подавляет активность киназ CDK4/6, белок p27 становится основным ингибитором киназы CDK2 [22].

Таким образом, на сегодняшний день представления о роли белков – ингибиторов циклин-зависимых киназ в онкогенезе не совсем ясны, данные большинства исследований противоречивы. Возможность использования их в практической деятельности как прогностических биомаркеров открывает перспективу для индивидуального подхода в терапии каждого пациента, понимания патогенеза многих как злокачественных, так и доброкачественных опухолей человека, что обуславливает актуальность и необходимость их дальнейшего изучения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bishop J. M. // Cell. – 1991. – V. 64. – P. 235–248.
2. Levine A. J. // An. rev. biochem. – 1993. – V. 62. – P. 623–651.
3. Rabbits T. H. // Nature. – 1994 – V. 72. – P. 143–149.
4. Morgan David. The cell cycle: principals of control. – London: New science press LTD, 2007.
5. Morgan D. O. // An. rev. cell dev. biol. – 1997. – V. 13. – P. 261–291.
6. Sherr C. J. // Science. – 1996. – V. 274. – P. 1672–1677.
7. Serrano M., Lee H., Chin L., Cordon-Cardo C., Beach D., DePinho RA. Role of the INK4a locus in tumor suppression and cell mortality // Cell. – 1996. – V. 85. – P. 27.
8. Rayess H., Wang M. B., Srivatsan E. S. Cellular senescence and tumor suppressor gene p16 // Int. j. cancer – 2012. – V. 130 (8). – P. 171–174.
9. Rosso A. A., Tong L., Lee J. O., Jeffrey P. D., Pavlitch N. P. Structural basis for inhibition of the ciklin-dependent kinase Cdk6 by the tumour suppressor p16/INK4A // Nature. – 1998. – V. 395. – P. 237–243.
10. Liggett W. H., Sidransky D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer // J. clin. oncol. – 1998. – V. 16 (3). – P. 1197–1206.
11. Cioffi-Lavina M., Chapman-Fredricks J., Gomez-Fernandez C., Ganjei-Azar P., Manoharan M., Jorda M. P16 expression in squamous cell carcinomas of cervix and bladder // Appl. immunohistochem. mol. morphol. – 2010. – V. 18 (4). – P. 344–347.
12. Hafner C., Vogt T. Seborrheic keratosis // J. dtsch. dermatol. ges. – 2008. – V. 6 (8). – P. 664–677.
13. Wolff K., Goldsmith L. A., et al. Fitzpatrick's dermatology in general medicine, seventh edition // McGraw-hill medical. – 2012.
14. Liu Y., Sanoff H. K., Cho H., Burd C. E., Torrice C., Ibrahim J. G., Thomas N. E., Sharpless N. E. Expression of p16(INK4a)

in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging // *Aging cel.* – 2009. – V. 8 (4). – P. 439–448.

15. *Roussel M. F.* The INK4 family of cell cycle inhibitors in cancer // *Oncogene.* – 1999. – V. 18 (38). – P. 5311–5312.

16. *Nakamura S., Nishioka K.* Enhanced expression of p16 in seborrhoeic keratosis; a lesion of accumulated senescent epidermal cells in G1 arrest // *Br. j. dermatol.* – 2003. – Sep. V. 149 (3). – P. 560–565.

17. *Bruecks A. K., Kalia S., Trotter M. J.* Overexpression of p27KIP1 in seborrhoeic keratosis // *J. cutan. med. surg.* – 2007. – Sep.-oct. V. 11 (5). – P. 174–178.

18. *Wu Y. H.1, Hsiao P. F., Chen C. K.* Seborrhoeic keratosis with bowenoid transformation: The immunohistochemical features and its association with human papillomavirus infection // *Am. j. dermatopathol.* – 2015. – V. 17. – P. 45–48.

19. *Mitrea D. M., Yoon M. K., Ou L., Kriwacki R. W.* Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27 // *Biol. chem.* – 2012. – V. 393 (4). – P. 259–274.

20. *Sanchez-Garcia I.* // *An. rev. genet.* – 1997. – V. 31. – P. 429–453.

21. *Dyson N., Baiman A.* Oncogenes and cell proliferation // *Current opinion in genetics and development.* – 1999. – V. 9. – P. 11–14.

22. *Pellegata N. S., Quintanilla-Martinez L., Siggelkow H., Samson E., Bink K., Höfler H., Fend F., Graw J., Atkinson M. J.* Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans // *Proc. natl. acad. sci. USA.* – 2006. – V. 103. – P. 15558–15563.

23. *Lodish Harvey, et al.* *Molecular cell biology/ 6th.* – New York city: W. H. Freeman and Company, 2008.

24. *Li M., Cheng R., Shi M., Liu J., Zhang G., Liu Q., Yu H., Yao Z.* Analyses of FLG mutation frequency and filaggrin expression in isolated ichthyosis vulgaris (IV) and atopic dermatitis-associated IV // *Br. j. dermatol.* – 2013. – V. 168 (6). – P. 1335–1338.

Поступила 16.12.2015

**К. А. БЕДРОСОВА¹, П. А. ГАЛЕНКО-ЯРОШЕВСКИЙ¹,
В. Л. ПОПКОВ², Л. А. ФАУСТОВ³, Н. Л. СЫЧЕВА⁴**

БЕНЗОФУРОКАИН КАК КОРРЕКТОР ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ДЕСНЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА

¹*Кафедра фармакологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. 8-928-429-21-22.*

E-mail: Galenko.Yarochovsky@gmail.com;

²*кафедра ортопедической стоматологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. 8-928-427-00-31. E-mail: popkov.victor@rambler.ru;*

³*курс патологической анатомии НОЧУ ВПО «КМИ»,
Россия, 350015, г. Краснодар, ул. Буденного, 15; тел. 8 (861) 255-46-07. E-mail: kubmedinstitut@mail.ru;*

⁴*ООО «Три-3-СитиЛаб»,*

Россия, 350072, г. Краснодар, ул. Московская, 96; тел. 8-918-21-22-742. E-mail: OK@city-lab.info.ru

При экспериментальном пародонтите у крыс бензофуорокаин в сочетании с традиционной медикаментозной терапией стимулирует ангиогенез, увеличивая васкуляризацию регенерата. При этом в большей степени проявляется способность тканей к органотипической регенерации собственной пластинки слизистой оболочки десны в сочетании с купированием альтеративных проявлений в эпителиальном покрове. Традиционная медикаментозная терапия без бензофуорокаина приводит к развитию в десне главным образом склеротических изменений без нормализации морфофункционального состояния ее эпителиального покрова.

Ключевые слова: экспериментальный пародонтит, регенерация, бензофуорокаин.

**К. А. BEDROSOVA¹, P. A. GALENKO-YAROSHEVSKY¹,
V. L. POPKOV², L. A. FAUSTOV³, N. L. SYCHEVA⁴**

**BENZOFUROKAIN AS A CORRECTOR OF REGENERATIVE
PROCESSES IN THE GUMS IN EXPERIMENTAL PERIODONTITIS TREATMENT**

¹*Chair of pharmacology, SBEI HPE Ministry of health care of Russia,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4;*

tel. 8-928-429-21-22. E-mail: Galenko.Yarochovsky@gmail.com;

²*chair of orthopedic stomatology, SBEI HPE Ministry of health care of Russia,
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4; tel. 8-928-427-00-31. E-mail: popkov.victor@rambler.ru;*