



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**«Ο ρόλος των RSK (ribosomal S6 kinase) στην καρκινογένεση και πιθανή θεραπεία  
του καρκίνου»**

**ΛΙΑΓΚΡΗ ΔΑΝΑΗ**

**ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ**

**ΔΗΜΑΣ ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ (Επιβλέπων)**

**ΤΣΕΖΟΥ ΑΣΠΑΣΙΑ (Μέλος)**

**ΚΥΡΙΑΚΟΥ ΔΕΣΠΟΙΝΑ (Μέλος)**

**ΛΑΡΙΣΑ, 2015**



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

**«The role of RSK (ribosomal S6 kinase) in carcinogenesis and possible treatment of  
cancer»**

# Περίληψη

Οι οδοί σηματοδότησης που διαμεσολαβούν στην ανάπτυξη του καρκίνου του παγκρέατος κατάντη των μεταλλαγμένων Kras, δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως. Η εργασία αυτή επικεντρώνεται στην ριβοσωμική πρωτεΐνη S6 (rpS6), έναν τελεστή του mTOR που δεν έχει εμπλακεί προηγουμένως στον καρκίνο και μελετάται η συμμετοχή της φωσφορυλιωμένης rpS6 στην ανάπτυξη του καρκίνου του παγκρέατος.

Ο καρκίνος του παγκρέατος παραμένει ένας από τους πιο θανατηφόρους ανθρώπινους καρκίνους. Παρά τις σημαντικές πρόσφατες προόδους στην κατανόηση της βιολογίας της ασθένειας αυτής, το αποτέλεσμα παραμένει ζοφερό, με ποσοστό επιβίωσης 5 ετών της τάξης του 5%. Είναι πλέον αποδεκτό ότι ο καρκίνος του παγκρέατος συχνά αναπτύσσεται από πρόδρομες αλλοιώσεις του παγκρέατος, το οποίο ονομάζεται ενδοεπιθηλιακή νεοπλασία.

Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι η φαρμακολογική αναστολή του mTORC1 μπορεί να εξασθενήσει την ανάπτυξη των παγκρεατικών καρκινικών κυτταρικών σειρών *in vitro* και *in vivo*, αλλά η ταυτότητα των κατάντη τελεστών παραμένει σε μεγάλο βαθμό άγνωστος. Η S6K έχει εμπλακεί στην ογκογονικότητα και μάλιστα έχει πολλαπλά υποστρώματα, συμπεριλαμβανομένου του rpS6, του οποίου η φωσφορυλίωση είναι στενά συνδεδεμένη με τη δραστηριότητα του mTORC1. Παρ'όλα αυτά, η ταυτότητα του υποστρώματος-κλειδί που μεσολαβεί στην ογκογονική λειτουργία της S6K δεν είναι ακόμα γνωστή. Η ριβοσωμική πρωτεΐνη S6, ωστόσο, αποτελεί ένα πολλά υποσχόμενο υποψήφιο φάρμακο κατάλληλο για την ανάπτυξη νέων αναστολέων για τη θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος.

# Abstract

The signaling pathways that mediate the development of pancreatic cancer downstream of mutant Kras remain incompletely understood. Here, we focus on ribosomal protein S6 (rpS6), an mTOR effector not implicated previously in cancer and we study the participation of phosphorylated rpS6 in the development of pancreatic cancer.

Pancreatic cancer remains one of the most lethal human cancers. Despite significant recent advances in our understanding of the biology of this disease, the outcome remains dismal with a 5-year survival rate of 5%. It is now accepted that pancreatic cancer often develops from precursor lesions termed pancreatic intraepithelial neoplasia.

Several studies have shown that pharmacologic inhibition of mTORC1 can attenuate the growth of pancreatic cancer cell lines *in vitro* and *in vivo*, but the identity of downstream effectors remains largely unknown. S6K has been implicated in tumorigenicity and yet has multiple substrates, including rpS6, whose phosphorylation is tightly coupled to mTORC1 activity. Nonetheless, the identity of the key substrate(s) that mediate the tumorigenic function of S6K is not known.

The ribosomal protein S6, however, represents a promising drug candidate suitable for the development of novel inhibitors for pancreatic cancer therapy.

# Περιεχόμενα

## Περίληψη

## Abstract

## Κεφάλαιο 1: Εισαγωγή

1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟ ΡΙΒΟΣΩΜΑ	6
1.2 ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ	12
1.3 ΚΙΝΑΣΕΣ	16
1.4 ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΗ S6 ΚΙΝΑΣΗ (RSK)	19
1.5 ΚΑΡΚΙΝΟΣ	22
1.5.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ	22
1.5.2 ΑΙΤΙΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	22
1.5.3 ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΩΝ	23
1.5.4 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟ ΠΑΓΚΡΕΑΣ	25

## Κεφάλαιο 2: Κύριο Μέρος

2.1 RSK ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ	26
2.1.1 ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΗΣ RSK	27
2.1.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ RSK	28
2.1.3 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ RSK	29
2.1.4 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ RSK ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΝΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟ	30
2.1.5 ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΕΣΗ ΤΗΣ RSK	31
2.1.6 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ RSK	31
2.1.7 ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ RSK	32
2.1.8 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΗΣ RSK	33
2.1.9 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΗΣ RSK	39
2.2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ RSK ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ	40
2.3 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ	41

## Κεφάλαιο 3: Συζήτηση

45

## Βιβλιογραφία

46

# 1 Εισαγωγή

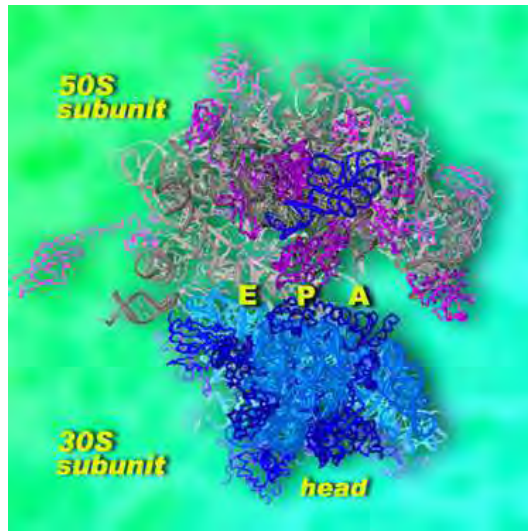
## 1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟ ΡΙΒΟΣΩΜΑ

Το ριβόσωμα αποτελεί μια μεγάλη και πολύπλοκη δομή, η οποία αποτελείται από 2/3 ριβοσωμικό RNA (rRNA) και 1/3 ριβοσωμικές πρωτεΐνες. Εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα, στα μιτοχόνδρια των ευκαρυωτικών κυττάρων, όπως επίσης και στους χλωροπλάστες των φυτών και το μοριακό μέγεθος του κυμαίνεται από ~2,4 MDa (στα βακτήρια) έως και ~4 MDa (στα ευκαρυωτικά κύτταρα). Τα ώριμα ερυθροκύτταρα θηλαστικών αποτελούν την εξαίρεση, διότι δεν περιέχουν ριβοσώματα.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα και τα βακτήρια τα ριβοσώματα λειτουργούν ως ριβοζύμα, τα οποία καταλύουν τη σύνθεση των πρωτεϊνών, μετατρέποντας την πληροφορία που βρίσκεται στα νουκλεοτίδια του αγγελιοφόρου RNA (mRNA) σε αμινοξέα νεοσυντιθέμενων πολυπεπτιδικών αλυσίδων. Στα βακτήρια ο ρυθμός πρωτεϊνοσύνθεσης είναι η ενσωμάτωση 20 αμινοξέων ανά δευτερόλεπτο στη νεοσυντιθέμενη αλυσίδα και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς 5-9 αμινοξέα ανά δευτερόλεπτο.

Στην ενεργή του μορφή το ριβόσωμα αποτελείται από δύο υπομονάδες, οι οποίες διακρίνονται από τους διαφορετικούς συντελεστές καθίζησης. Ο καθορισμός της τρισδιάστατης δομής των μεγάλων και μικρών υπομονάδων του το 2000, επιβεβαίωσε τις προγενέστερες ενδείξεις ότι το rRNA, και όχι οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες, είναι υπεύθυνο για την δομή του ριβοσώματος, για την τοποθέτηση των μεταφορικών RNAs ( tRNAs) στο mRNA , και για την καταλυτική του ικανότητα να σχηματίζει ομοιοπολικούς πεπτιδικούς δεσμούς.

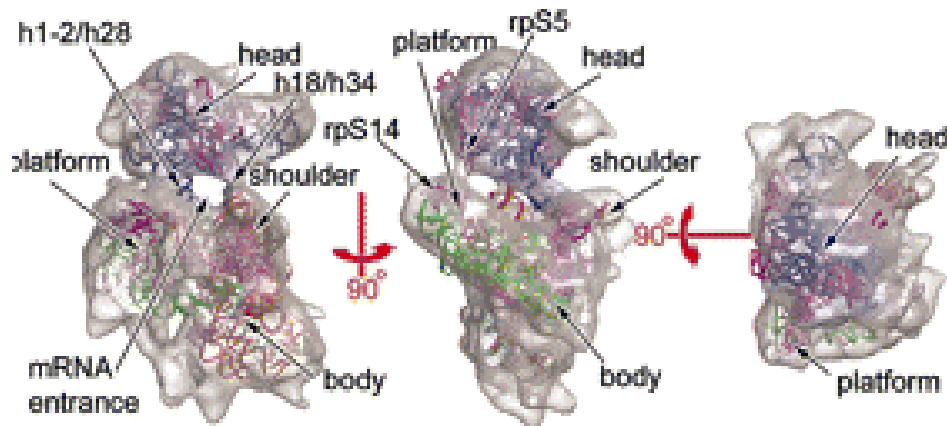
Στο βακτήριο *E.coli*, το ριβόσωμα αποτελεί ένα ριβονουκλεοσωματίδιο με συντελεστή καθίζησης 70S, το οποίο διίσταται στην μεγάλη υπομονάδα L με συντελεστή καθίζησης 50S και στην μικρή υπομονάδα S με συντελεστή καθίζησης 30S. Και οι δύο υπομονάδες αποτελούνται από πρωτεΐνες, οι οποίες για την μεγάλη υπομονάδα συμβολίζονται με το γράμμα L (L1 έως L34) και για την μικρή με το γράμμα S ( S1 έως S21), καθώς και από rRNA, το οποίο για τη μεγάλη υπομονάδα είναι το 23S και το 5S, ενώ για τη μικρή είναι το 16S. Οι πρωτεΐνες L7 και L12 δημιουργούν τετραμερή, ενώ όλα τα υπόλοιπα συστατικά του ριβοσώματος βρίσκονται σε ένα αντίγραφο.



**ΕΙΚΟΝΑ 1.1 :** Δομή του ριβοσώματος από *Escherichia coli* (ανάλυση:3.5 angstroms). Φαίνονται οι υπομονάδες 50S και 30S, καθώς και οι θέσεις E, P, A της πρωτεϊνοσύνθεσης (Πηγή:<http://newscenter.lbl.gov/feature-stories/2005/11/29/ratcheting-swivelingopening-the-groove/>).

Το ριβόσωμα στα ευκαρυωτικά κύτταρα έχει σταθερά καθίζησης 80S και αποτελείται επίσης από δύο υπομονάδες, με σταθερές καθίζησης 60S η μεγάλη και 40S η μικρή. Τα rRNAs που βρίσκονται στην μικρή υπομονάδα είναι το 18S, ενώ στην μεγάλη είναι το 28S, το 5S και το 5,8S. Οι πρωτεΐνες που αποτελούν την μικρή υπομονάδα είναι περίπου 30 και αυτές της μεγάλης υπομονάδας περίπου 40.

Η μικρή υπομονάδα έχει μια χαρακτηριστική μορφολογία, αποτελείται από μια κεφαλή (head), ένα σώμα (body) και μια πλατφόρμα (platform). Η μεγάλη υπομονάδα από την άλλη, έχει τρία εξογκώματα στην ανώτερη περιοχή με πιο χαρακτηριστικό το κεντρικό εξογκώμα (**Wolfe, 1993**).



**ΕΙΚΟΝΑ 1.2 :** Δομική σύγκριση των περιοχών κεφαλής (head), πλατφόρμας (platform) και σώματος (body) της μικρής υπομονάδας και του 80S ριβοσώματος της ζύμης. Η παρατηρούμενη διαφορά είναι μια όρθωση της κεφαλής ~10 Å της μικρής υπομονάδας σε σχέση με την αντίστοιχη περιοχή του ριβοσώματος εξαιτίας της έλλειψης μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων (**Gilbert και συνεργάτες**).

Τα ριβοσώματα που βρίσκονται στα ευκαρυωτικά κύτταρα διακρίνονται σε δύο τύπους : τα ελεύθερα και τα συνδεδεμένα ριβοσώματα. Μεταξύ τους δεν υπάρχουν κάποιες δομικές διαφορές, εναλλάσσονται και οι ριβοσωμικές υπομονάδες τους παραμένουν στο κυτταρόπλασμα, ώστε να μπορέσουν να χρησιμοποιηθούν ξανά για ένα καινούργιο κύκλο πρωτεϊνοσύνθεσης. Τα πολυσώματα αποτελούν ομάδες δέκα ή περισσότερων ριβοσωμάτων, στα οποία γίνεται η μετάφραση του ίδιου μορίου mRNA. Οι πρωτεΐνες που παράγονται κατά αυτόν τον τρόπο, κυρίως προορίζονται για εξωκύττωση, για τα λυσοσωμάτια και τη κυτταρική μεμβράνη.

Αντίθετα με τους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, τα ριβοσώματα στους προκαρυωτικούς βρίσκονται μόνο ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα. Ο αυξημένος αριθμός των ριβοσωμάτων και στους δύο τύπους κυττάρων, παρατηρείται κατά την ωογένεση, την ανάπτυξη και γενικότερα όταν υπάρχει αυξημένη ανάγκη των κυττάρων για τη σύνθεση μεγαλύτερων ποσοτήτων πρωτεϊνών.

Στα ριβοσώματα πραγματοποιείται η διαδικασία της μετάφρασης, με τη συμμετοχή του mRNA, των tRNAs και διαφόρων παραγόντων έναρξης, επιμήκυνσης και τερματισμού. Στην μικρή υπομονάδα βρίσκεται η θέση αποκωδικοποίησης, η οποία είναι η περιοχή αναγνώρισης των κωδικονίων του mRNA από τα αντικωδικόνια του tRNA, στη βάση της ρωγμής που χωρίζει την κεφαλή από την πλατφόρμα. Οι θέσεις A και P που βρίσκονται στην ευρύτερη περιοχή της πεπτιδυλοτρανσφεράσης μέχρι το σημείο εξόδου της νεοσυντιθέμενης πολυπεπτιδικής αλυσίδας εντοπίζονται στη μεγάλη ριβοσωμική υπομονάδα (**Brandt et al., 2009**).

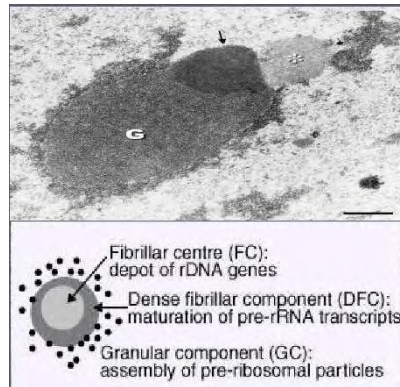


Στα προκαρυωτικά κύτταρα στην έναρξη σύνθεσης των πρωτεϊνών συμμετέχει η μικρή ριβοσωματική υπομονάδα με τη βοήθεια των τριών παραγόντων έναρξης IF1, IF2 και IF3. Μετά την εύρεση του κωδικονίου έναρξης AUG δεσμεύεται και η μεγάλη υπομονάδα. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, η έναρξη γίνεται αφού φορτωθεί η μικρή ριβοσωμική υπομονάδα με το tRNA έναρξης (μεθειονίνη) και έπειτα συνδεθεί στο mRNA με τη βοήθεια των παραγόντων έναρξης eIFs. Αφού συνδεθεί το σύμπλοκο στο κωδικόνιο έναρξης, προστίθεται και η μεγάλη υπομονάδα. Για την επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας χρησιμοποιούνται οι παράγοντες επιμήκυνσης EFs (προκαρυωτικά) και eEFs (ευκαρυωτικά) και για τη λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης οι παράγοντες λήξης RFs(προκαρυωτικά) και eRFs(ευκαρυωτικά). Μετά την απελευθέρωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας το ριβόσωμα δίσταται και πάλι στις δύο υπομονάδες του.

Τα ριβοσώματα αυτοσυγκρατούνται στον πυρηνίσκο από rRNA και πρωτεΐνες (όπως αναφέρθηκε προηγουμένως) και κατόπιν μετακινούνται στο κυτταρόπλασμα. Τα γονίδια που κωδικοποιούν για τα απαραίτητα μόρια rRNAs (18S, 28S και 5,8S) που συμμετέχουν στη συγκρότηση βρίσκονται στον οργανωτή του πυρηνίσκου και του 5S rRNA βρίσκεται σε άλλα σημεία του γενώματος και κατόπιν εισέρχεται στον πυρηνίσκο. Οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες συντίθενται από την πρωτεϊνοσυνθετική μηχανή του κυτταροπλάσματος και κατόπιν εισέρχονται στον πυρήνα. Η είσοδος τους στον πυρήνα επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ειδικής αλληλουχίας αμινοξέων (gly-arg-lys-lys-arg-arg-glu-arg-arg-arg). Η συγκρότηση του ριβοσώματος αρχίζει μόλις συγκεντρωθούν όλα τα δομικά στοιχεία του στον πυρηνίσκο και ολοκληρώνεται στο κυτταρόπλασμα.

Οι πυρηνίσκοι δεν σχηματίζονται τυχαία, αλλά δημιουργούνται γύρω από ειδικούς γενετικούς τόπους που ονομάζονται οργανωτές πυρηνίσκου (NORs-Nuclear Organizing Regions), γι' αυτό και χαρακτηρίζονται ως «γενετικά καθορισμένα στοιχεία». Η περιοχή οργανωτή NOR αποτελείται από πολλαπλές επαναλήψεις των γονιδίων που κωδικοποιούν για τα rRNAs. Μορφολογικά διακρίνονται τρεις περιοχές στον πυρηνίσκο με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο. Αυτές είναι οι εξής :

- 1) **Ινώδες κέντρο (Fibrillar Center - FC)** : Βάφεται ασθενώς από χρώση με βαρέα μέταλλα, αποτελείται από ινίδια, σ' αυτό εντοπίζεται η RNA πολυμεράση I και αποτελεί το 1- 2% του ολικού όγκου του πυρηνίσκου.
- 2) **Πυκνό ινώδες κέντρο (Dense Fibrillar Center - DFC)** : Περιβάλλει το ινώδες κέντρο, αποτελείται από πυκνά «πακεταρισμένα» ινίδια, βάφεται εντονότερα με κάποιες χρωστικές και αποτελεί ένα μεγαλύτερο κομμάτι του πυρηνίσκου (>17%).
- 3) **Κοκκιώδης περιοχή (Granular Region – GR)** : Περιβάλλει και το ινώδες κέντρο αλλά και το πυκνό ινώδες κέντρο, αποτελείται από κοκκία και αποτελεί το μεγαλύτερο κομμάτι του πυρηνίσκου ( ~75%).



**ΕΙΚΟΝΑ 1.3** : Απεικόνιση των περιοχών του πυρηνίσκου, FC(\*) , DFC (↓) και GC (G). (Πηγή : *review-springerlink.springer-Verla 200510.1007/s00418-005-0046-4*).

Στη βιογένεση του ριβοσώματος είναι απαραίτητες τρεις RNA πολυμεράσες (pol I, II, III) οι οποίες δρουν με συντονισμένο τρόπο. Αρχικά τα γονίδια των rRNAs μεταγράφονται σαν μία ενιαία μονάδα από την RNA pol I και γι' αυτή τη διαδικασία είναι απαραίτητοι πολλοί συσχετιζόμενοι με την RNA pol I παράγοντες και rDNA – ειδικοί συνδεδεμένοι παράγοντες. Το αρχικό μόριο που προκύπτει είναι ένα μόριο prerRNA (45S), το οποίο με περαιτέρω επεξεργασία, η οποία περιλαμβάνει τη μεθυλίωση και την δραστικότητα ενδο- και εξω-νουκλεασών, δίνει τα απαιτούμενα 18S, 5,8S και 28S RNA μόρια. Στην ωρίμανση του rRNA συμμετέχει και μία τάξη μικρών πυρηνικών RNAs, τα λεγόμενα snoRNAs, τα οποία βρίσκονται σε σύμπλοκα με πρωτεΐνες και υπάρχουν ως μικρά πυρηνικά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια (snoRNPs').

Ένας μικρός αριθμός πρωτεϊνών έχει βρεθεί ότι παίζει ρόλο στα αρχικά όσο και στα τελικά στάδια της ωρίμανσης των ριβοσωμάτων. Έχει βρεθεί ότι στο αρχικό προ-ριβόσωμα 90S υπάρχουν οι παράγοντες για τη σύνθεση του 40S, αλλά απουσιάζουν αυτοί για τη σύνθεση του 60S (Grandi, Rybin et al., 2002). Η πρωτεΐνη που παίζει το ρόλο της γέφυρας μεταξύ του 90S και του 40S είναι η Epr1p. Η πρωτεΐνη Rio2, η οποία είναι κινάση σερίνης-θρεονίνης, δεσμεύεται στο 40S, ενώ δεν έχει βρεθεί στο πρόδρομο σωματίδιο 90S (Schafer, et al. 2003).

Με τη συγκρότηση της 40S υπομονάδας, συσχετίζεται ο παράγοντας Rrp7p, όπως επίσης και η πρωτεΐνη Nob1 που θεωρείται μάρτυρας της κυτταροπλασματικής εντόπισης της 40S, χωρίς να είναι γνωστός ο ακριβής της ρόλος (Tschochner and Hurt, 2003). Η πρωτεΐνη Hrr25 εντοπίζεται στον πυρήνα, αλλά και στο κυτταρόπλασμα, συμμετέχει στην ωρίμανση του πρόδρομου ριβοσωμικού 40S και παρουσιάζει δράση κινάσης καθώς και ενεργοποιεί τη μετάφραση σε απόκριση βλάβης του DNA. Η πρωτεΐνη Tsr1 μαζί με την Hrr25 εντοπίζονται σε σύμπλοκα 40S ενδιάμεσων σταδίων.

Τα 60S pre-ριβωσώματα μετακινούνται από τον πυρηνίσκο στο πυρηνόπλασμα μετά την ωρίμανση των rRNAs. Οι πρωτεΐνες Nog1, Nog2, Nug1 και Nug2 εμπλέκονται στην επεξεργασία του 27SB και 7S pre-rRNA, εντοπίζονται στον πυρηνίσκο αλλά συνοδεύουν το 60S και στο πυρηνόπλασμα μέχρι τους πυρηνικούς πόρους. Τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα Noc1p-Noc2p και Noc2p-Noc3p συμμετέχουν στην ωρίμανση και την ενδοπυρηνική μετακίνηση των pre-ριβωσωμάτων (**Milkereit et al., 2001**).

Στη διαδικασία φαίνεται ότι συμμετέχουν επίσης οι πρωτεΐνες Nor4p και Nor8p καθώς και οι ελικάσες Dbr6p και Dbr9p, αφού απάλειψη των γονιδίων τους οδηγεί σε μείωση των επιπέδων του 27S pre-RNA (Berge's et al., 1994, Daugeron et al., 1999, Kressler et al., 1998, Sun c. and J.L. Woolford, Jr, 1994, Zanchin, N.I.T. and D.S.Goldfarb., 1999). Η Nip7p φαίνεται να είναι μια πολυλειτουργική πρωτεΐνη, ενώ η Ras1p εμπλέκεται σε μετέπειτα στάδια της πρόδρομης 60S υπομονάδας και απαιτείται για τη στρατολόγηση του συμπλόκου Rp110p/Qsr1p, το οποίο με τη σειρά του είναι απαραίτητο διότι αποτελεί σημείο σύνδεσης της 40S με την 60S υπομονάδα. Η Nmd3 φαίνεται να παρέχει το σήμα εξόδου της 60S στο κυτταρόπλασμα (**Karl et al., 1999**).

Η ριβωσωμική πρωτεΐνη Rp15p αλληλεπιδρά με το 5S rRNA στα πρώιμα στάδια συγκρότησης-βιογένεσης της 60S υπομονάδας και είναι απαραίτητη για τη σταθεροποίηση της 60S (**Deshmukh et al., 1993**). Η Nor53p εντοπίζεται κυρίως στον πυρήνα και φαίνεται να συμμετέχει στη δημιουργία των 60S υπομονάδων καθώς και στο ρυθμό ισορροπίας 60S:40S (**Sydorsky et al., 2005**). Τέλος η κυτταροπλασματική πρωτεΐνη Sgt1p αλληλεπιδρά ισχυρά με το σύμπλοκο σύνδεσης των δύο υπομονάδων. Γενικότερα η βιογένεση των ριβωσωμάτων αποτελεί μια πολύπλοκη διαδικασία και υπάρχουν σημεία που παραμένουν να διαλευκανθούν στο μέλλον.

Μετά τη συγκρότηση των υπομονάδων, αυτές μεταφέρονται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα μέσω των πυρηνικών πόρων οι οποίοι συγκροτούνται από τις νουκλεοπορίνες. Οι πυρηνικοί πόροι, λόγω της ύπαρξης των νουκλεοπορινών και άλλων πρωτεϊνών, περιέχουν αρνητικά φορτισμένες και μη διαμορφωμένες περιοχές με υδρόφοβες επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες FG με τις οποίες αλληλεπιδρούν οι καρυοφερίνες (**Rout et al., 2000**). Οι ριβωσωμικές υπομονάδες χρειάζονται τη βοήθεια διάφορων πρωτεϊνών για τη μεταφορά τους μέσω του πυρήνα, η δε pre-40s υπομονάδα απελευθερώνεται ταχύτατα στο κυτταρόπλασμα (**Leger-Silvestre, Milkereit et al., 2004**).

Οι πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην μεταφορά της 40S υπομονάδας από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα είναι οι Ehp1p/ Rio2 που αλληλεπιδρούν με μια GTP-συνδεόμενη πρωτεΐνη, την Tsr1p (**Thorsten et al, 2003**) όπως επίσης και η GTPάση Ran καθώς και οι νουκλεοπρωτεΐνες των πυρηνικών πόρων (**Moy and Silver, 1999**). Η καρυοφερίνη Ctm1p πιθανώς αλληλεπιδρά με την πρωτεΐνη Rps15p για την έξοδο της 40S υπομονάδας στο κυτταρόπλασμα (**Leger-Silvestre, Milkereit et al., 2004**). Επιπλέον βιοχημικά πειράματα έχουν δείξει ότι η πυρηνική μυοσίνη I (NMI) και η ακτίνη συσχετίζονται λειτουργικά με την έξοδο της μικρής υπομονάδας στο κυτταρόπλασμα, διότι παρεμπόδιση τους οδηγεί στη συσσώρευση της S6 ριβωσωμικής πρωτεΐνης στο πυρηνόπλασμα.

Ο πλήρης μηχανισμός μεταφοράς της 60S υπομονάδας δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, αλλά σύμφωνα με πρόσφατες εργασίες φαίνεται ότι απαιτούνται γι' αυτήν την διαδικασία τρεις υποδοχείς εξόδου : Η πρωτεΐνη Ctm1 προσδέεται στην 60S υπομονάδα μέσω της πρωτεΐνης Nmd3p (**Gadal et al., 2001**) το ετεροδιμερές Mex67/Mtr2 (**Yao et al., 2007**) και ένας μη κανονικός υποδοχέας που προσδέεται απευθείας στην υπομονάδα και τις νουκλεοπορίνες (**Hedges et al., 2006**). Πιο πρόσφατα δεδομένα υποστηρίζουν ότι η έξοδος της μεγάλης υπομονάδας στηρίζεται στην παρουσία ενός ισχυρού σήματος εξόδου πλούσιο σε λευκίνες.

## 1.2 ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΪΝΕΣ

Οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες που συγκροτούν την μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος, όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, χαρακτηρίζονται από το λατινικό γράμμα L το οποίο συνοδεύεται από έναν αριθμό και αντίστοιχα της μικρής υπομονάδας από το λατινικό γράμμα S και έναν αριθμό. Στον επίμυ για παράδειγμα οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες S είναι περίπου 33 ενώ οι L 49. Τα mRNAs που κωδικοποιούν για τις ριβοσωμικές πρωτεΐνες προκύπτουν από την δράση της RNA πολυμεράσης II στον πυρήνα και στη συνέχεια εξέρχονται στο κυτταρόπλασμα, όπου γίνεται η σύνθεση των πρωτεϊνών.

Για να γίνει η συγκρότηση των ριβοσωμικών υπομονάδων, οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες μετά τη σύνθεση τους στον κυτταρόπλασμα μεταφέρονται στον πυρήνα και ακολούθως στον πυρηνίσκο και ενώνονται με τα κατάλληλα rRNAs (**Warner, 2001**). Η είσοδος τους στον πυρήνα επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ειδικής αλληλουχίας αμινοξέων (gly-arg-lys-lys-arg-arg-glu-arg-arg-arg). Οι λειτουργίες που επιτελούν οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες στη βιοσύνθεση του ριβοσώματος σχετίζονται με την επεξεργασία του pre-rRNA, την αναδίπλωση του rRNA, την μεταφορά πρόδρομων ριβοσωμάτων, την σταθερότητα της δομής των ριβοσωμικών υπομονάδων, καθώς αλληλεπιδρούν με διάφορους άλλους παράγοντες.

Μετά την αλληλεπίδραση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών με τα rRNAs για τη δημιουργία των πρόδρομων ριβοσωμικών υπομονάδων, αυτές μεταφέρονται στο κυτταρόπλασμα. Στη συνέχεια οι ριβοσωμικές υπομονάδες ανασυγκροτούνται για να δώσουν το 80S ριβόσωμα, το οποίο επιτελεί τη διαδικασία της μετάφρασης και στην συνέχεια αποσυγκροτούνται όταν ολοκληρωθεί η πρωτεϊνική σύνθεση (**Ανακύκλωση Ριβοσώματος, Mao-De and Jing, 2007**).

Τα επίπεδα των ελεύθερων ριβοσωμάτων, rRNAs και ριβοσωμικών πρωτεϊνών ελέγχονται από δύο συστήματα ανάδρασης (feedback). Το πρώτο σύστημα είναι η ριβοσωμική ανάδραση (ribosomal inhibition), όπου τα πλεονάζοντα ελεύθερα ριβοσώματα καταστέλλουν κατά κάποιο τρόπο την σύνθεση του rRNA. Στο δεύτερο σύστημα (μεταφραστική καταστολή-translational control), ορισμένες ριβοσωμικές πρωτεΐνες καταστέλλουν την μετάφραση ενός mRNA που κωδικοποιεί για μία ριβοσωμική πρωτεΐνη ή περισσότερες.

Οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες παρουσιάζουν μεγάλη ομολογία ανάμεσα στα διάφορα είδη και μπορούν να διακριθούν σε δύο μεγάλες κατηγορίες, αυτές που είναι συντηρημένες ανάμεσα σε βακτήρια, αρχαιοβακτήρια και ευκαρυωτικά κύτταρα και σε αυτές που είναι κοινές σε αρχαιοβακτήρια και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, κάθε ριβοσωμική πρωτεΐνη κωδικοποιείται από ένα λειτουργικό γονίδιο, αλλά υπάρχουν και πολλά ψευδογονίδια για κάθε μία επίσης. Έχει αποδειχθεί ότι υπάρχει μια κοινή ομάδα προγονικών γονιδίων που κωδικοποιούν για τις ριβοσωμικές πρωτεΐνες των ευκαρυωτικών οργανισμών.

Η προέλευση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών μπορεί να βασιστεί σε δύο θεωρίες. Η πρώτη θεωρία υποστηρίζει ότι οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες σχεδιάστηκαν εξ' αρχής αποκλειστικά για το ριβόσωμα και η δεύτερη ότι από ήδη υπάρχουσες πρωτεΐνες είχαν επιλεγεί αυτές που υπηρετούσαν καλύτερα τις ανάγκες του ριβοσώματος. Διακρίνονται κάποια κοινά δομικά χαρακτηριστικά στις ριβοσωμικές πρωτεΐνες των θηλαστικών, τα οποία είναι δέσμες 3 ή 4 βασικών αμινοξέων που εντοπίζονται κοντά στο N-τελικό και στο C-τελικό άκρο, επαναλαμβανόμενες ακολουθίες 3-8 αμινοξέων, δομές δακτυλου ψευδαργύρου και φερμουάρ λευκίνης (Wool, 1995). Πιο σπάνια εντοπίζονται δέσμες όξινων αμινοξέων στο C-τελικό άκρο.

Το μέγεθος των ριβοσωμικών πρωτεϊνών των θηλαστικών κυμαίνεται κατά μέσο όρο στα 18.500 Da και ο αριθμός των αμινοξέων στα 164. Τα όρια για το μοριακό βάρος κυμαίνονται από 3.454 Da για την L41 και 47.280 Da για την L4, ενώ για τον αριθμό αμινοξέων από 25 μέχρι 421. Το φορτίο των περισσότερων ριβοσωμικών πρωτεϊνών είναι βασικό, με τα ισοηλεκτρικά σημεία να κυμαίνονται από 4.07 για την όξινη πρωτεΐνη P1 μέχρι 13.46 για την πολύ βασική L41, με γενικό μέσο όρο το 11.05.

Οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες υφίστανται διάφορες μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις, μετά από τη σύνθεσή τους. Οι τροποποιήσεις αυτές περιλαμβάνουν την ακετυλίωση, τη μεθυλίωση και τη φωσφορυλίωση. Η ακετυλίωση συμβαίνει κυρίως στο N-τελικό άκρο των πρωτεϊνών, αλλά δεν έχει παρατηρηθεί όταν απομονώνονται οι πρωτεΐνες από τα ριβοσώματα. Μία πιθανή εκδοχή είναι ότι η ακετυλίωση συμβαίνει αρχικά, ώστε να συμβάλλει στην παραμονή των ριβοσωμικών πρωτεϊνών στο κυτταρόπλασμα και έπειτα αναιρείται, ώστε να διασφαλιστεί η βιογένεση των ριβοσωμάτων στον πυρηνίσκο σε περαιτέρω στάδια. Η RPD3 είναι μια αποακετυλάση ιστόνης που παίζει σημαντικό ρόλο στην αποακετυλίωση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών (Dinman, 2009).

Η φωσφορυλίωση είναι μια πολύ κοινή τροποποίηση σε πολλές κυτταρικές πρωτεΐνες. Αρκετές ριβοσωμικές πρωτεΐνες υπόκεινται σε φωσφορυλίωση, η οποία με αυτόν τον τρόπο ρυθμίζει διάφορες κυτταρικές λειτουργίες. Μία από αυτές είναι η rpS3 που φωσφορυλιώνεται από τις κινάσες ERC και PKC delta (Kim et al., 2009) ενώ για τις υπόλοιπες δεν είναι γνωστό από ποιες κινάσες. Η rpS5, που είναι και το αντικείμενο μελέτης της συγκεκριμένης εργασίας, έχει βρεθεί ότι είναι φωσφορυλιωμένη όταν δεν είναι ενσωματωμένη στο ριβόσωμα (Matragkou, Papachristou et al, 2009).

Η μεθυλίωση είναι επίσης συχνή μεταμεταφραστική τροποποίηση στις ριβοσωμικές πρωτεΐνες. Για παράδειγμα η prS3 σε ανθρώπινα κύτταρα μεθυλιώνεται από την μεθυλτρανσφεράση 1 (PRMT1) σε κατάλοιπα αμινοξέων αργινίνης. Η παρεμπόδιση της μεθυλίωσης της prS3 παρεμποδίζει την είσοδο της πρωτεΐνης στον πυρηνίσκο, συνεπώς η είσοδος της στον πυρηνίσκο απαιτεί αυτήν την τροποποίηση (**Shin et al., 2009**). Η prS2 έχει βρεθεί επίσης ότι μεθυλιώνεται από την μεθυλτρανσφεράση 3 (PRMT3) σε κατάλοιπα αργινίνης (**Swiercz, Cheng et al., 2007**).

Οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες συμμετέχουν όχι μόνο στη συγκρότηση των ριβοσωμάτων και τη λειτουργία τους, αλλά και σε πολλές διαφορετικές κυτταρικές λειτουργίες. Η εμπλοκή τους αυτή σε μη ριβοσωμικές λειτουργίες έχει αποδειχθεί από την υπερπαραγωγή τους σε διάφορες καρκινικές σειρές όπως επίσης και από την σύνθεση τους ακόμη και αν παρεμποδίζεται η σύνθεση του rRNA.

Οι εξωριβοσωματικές λειτουργίες στις οποίες συμμετέχουν διάφορες ριβοσωμικές πρωτεΐνες είναι η αντιγραφή του DNA, η ρύθμιση της μεταγραφής, η ρύθμιση της αυτομετάφρασης, το μάτισμα και η τροποποίηση του RNA, η δράση της DNA τοποϊσομεράσης, η επιδιόρθωση του DNA, η ρύθμιση της ανάπτυξης, η κυτταρική ανάπτυξη και ρύθμιση του πολλαπλασιασμού, η ρύθμιση της κυτταρικής απόπτωσης, η ρύθμιση των ογκοκατασταλτικών γονιδίων, η ρύθμιση των πρωτοογκογονιδίων, η κακοήθης μεταμόρφωση, η μετάσταση, η δημιουργία όγκων και η διαφοροποίηση ακόμα και η φλεγμονή.

Σε πολλές κληρονομήσιμες γενετικές ασθένειες έχουν βρεθεί μεταλλάξεις σε γονίδια ριβοσωμικών πρωτεϊνών ή διαταραχές έκφρασης των επιπέδων τους. Τέτοιες ασθένειες μπορεί να είναι το σύνδρομο Turner, το σύνδρομο Noonan, το σύνδρομο Bardet-Biedl (**Kongssuwan, Yu et al., 1985**) και διάφορες μορφές καρκίνου όπως του μαστού, προστάτη, τραχήλου της μήτρας, οισοφάγου και ήπατος. Στην καρκινογένεση μπορεί να συμμετέχουν με δύο πιθανούς τρόπους: είτε η διαταραχή των επιπέδων των ριβοσωμικών πρωτεϊνών επηρεάζει την πρωτεϊνική σύνθεση, ή έχουν άμεση συμμετοχή στον μηχανισμό της καρκινογένεσης μέσω του μη ριβοσωμικού τους ρόλου (**Mao-De and Jing, 2007**).

Το πρωτοογκογονίδιο c-myc δρα ρυθμιστικά στη βιογένεση των ριβοσωμάτων (**Coller et al., 2000**) και υπερέκφραση του οδηγεί σε αύξηση του μεγέθους των πυρηνίσκων των κυττάρων και ταυτόχρονη υπερέκφραση πολλών ριβοσωμικών πρωτεϊνών και πρωτεϊνών του πυρηνίσκου (**Kim S et al., 2000**). Η ριβοσωμική πρωτεΐνη S5 αποτελεί έναν από τους στόχους των προϊόντων του c-myc. Μερικές άλλες ριβοσωμικές πρωτεΐνες που αποτελούν στόχοι του c-myc είναι οι L3, L15, L39, L37, S2, S3a, S6 (**Ruggero D and Pandolfi P., 2003**).

Η ριβοσωμική πρωτεΐνη L11 δρα ως αναδραστικός ρυθμιστής του c-myc. Μία εκδοχή είναι ότι δεσμεύεται στον προαγωγέα του γονιδίου c-myc δρώντας έτσι ως καταστολέας της γονιδιακής έκφρασης του. Άλλη εκδοχή είναι ότι μπορεί να ρυθμίζει τα επίπεδα του mRNA του c-myc μέσω του μονοπατιού αποσιώπησης του microRNA. Ο ακριβής μηχανισμός ρύθμισης του c-myc από την L11 είναι ακόμη άγνωστος, αλλά είναι φανερό ότι υπάρχει συσχετισμός του c-myc και της βιογένεσης των ριβοσωμάτων (**Dai and Lu, 2008**).

Η ωρίμανση του ριβοσώματος ελέγχεται επίσης από έναν καταστολέα ογκογονιδίου, τον λεγόμενο PTEN(Phosphatase and Tensin Homolog), ο οποίος καταστέλλει τη δράση της κινάσης που φωσφορυλιώνει την ριβοσωμική πρωτεΐνη S6 μέσω του PI3K μονοπατιού (Vogt, 2001 και Backman et al., 2002). Αυτός ο συσχετισμός πρωτοογκογονιδίων και ριβοσωμικών πρωτεϊνών ενισχύει την άποψη της άμεσης εμπλοκής τους στην καρκινογένεση. Τα ογκογονίδια διαταράσσουν τα επίπεδα έκφρασης των ριβοσωμικών πρωτεϊνών με αποτέλεσμα τη μη φυσιολογική έκφραση τους.

Υπάρχουν περιπτώσεις όμως που οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες μπορεί να εμπλέκονται με έμμεσο τρόπο στα στάδια της καρκινογένεσης. Για παράδειγμα, οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες L5, L11 και L23 αλληλεπιδρούν απευθείας με την ογκοπρωτεΐνη MDM2, η οποία παίζει σημαντικό ρόλο στην αρνητική ρύθμιση της δραστηριότητας της p53 που είναι ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη. Η αλληλεπίδραση αυτή οδηγεί στην παρεμπόδιση της ουβικιτινιλίωσης της p53 μέσω της MDM2 με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση της p53 και συσσώρευση της στην G1 φάση του κυτταρικού κύκλου (Hanhui Ma and Thoru Pederson, 2008).

Άλλες διεργασίες στις οποίες μπορεί να συμμετέχουν οι ριβοσωμικές πρωτεΐνες, όπως αναφέρθηκε νωρίτερα, μπορεί να είναι η επιδιόρθωση του DNA και η κυτταρική απόπτωση. Στην επιδιόρθωση του DNA συμμετέχει η ριβοσωμική πρωτεΐνη S3, η οποία έχει δράση ενδονουκλεάσης (Kim et al., 1995). Η ίδια πρωτεΐνη συμμετέχει και στην κυτταρική απόπτωση, αφού ενεργοποιεί την κασπάση 8 και 3 και οδηγεί στην απόπτωση. Μία ακόμη ριβοσωμική πρωτεΐνη που συμμετέχει στην απόπτωση είναι η L4, διότι σε πειράματα στα οποία προστέθηκε ο αποπτωτικός παράγοντας 5-acazytidine, παρατηρήθηκε αύξηση της έκφρασης του γονιδίου της πριν την αποικοδόμηση του DNA (Naora et al., 1998).

Μία εντυπωσιακή μη ριβοσωμική δράση των ριβοσωμικών πρωτεϊνών είναι η συμμετοχή τους στη φλεγμονή. Όταν προστίθεται ιντερφερόνη γ (INF-γ) σε καλλιέργεια ανθρώπινων μονοκυττάρων, παράγεται σε λίγες ώρες η σερούλοπλασμίνη, η οποία συμμετέχει στη φλεγμονώδη απόκριση. Μετά από 16-24 ώρες μετά την προσθήκη της INF-γ, η έκφραση της σερούλοπλασμίνης αποσιωπάται. Η ριβοσωμική πρωτεΐνη L13a εμπλέκεται στην μετάφραση της σερούλοπλασμίνης, αλληλεπιδρώντας με την περιοχή 3'-UTR του mRNA της προκαλώντας αναστολή της μετάφρασης (Mazumder et al., 2003).

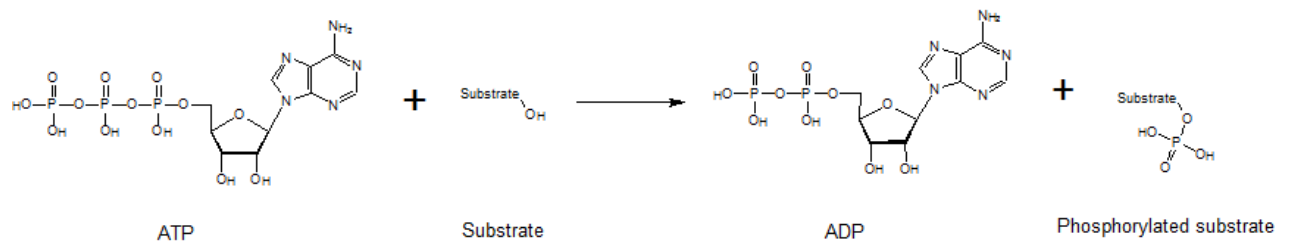
### 1.3 ΚΙΝΑΣΕΣ

Στη βιοχημεία, η κίνηση είναι ένας τύπος ενζύμου που καταλύει τη μεταφορά φωσφορικών ομάδων από υψηλής ενέργειας, μόρια φωσφόρου- δότη σε συγκεκριμένα υποστρώματα. Αυτή η διαδικασία είναι γνωστή ως φωσφορυλίωση όταν το υπόστρωμα αποκτά μία φωσφορική ομάδα και το υψηλά ενεργειακό μόριο ATP δίνει μια φωσφορική ομάδα (παράγοντας ένα φωσφορυλιωμένο υπόστρωμα και ADP). Αντίθετα, αναφέρεται ως αποφωσφορυλίωση όταν το φωσφορυλιωμένο υπόστρωμα δίνει μία φωσφορική ομάδα και το ADP αποκτά μία φωσφορική ομάδα (παράγοντας ένα αποφωσφορυλιωμένο υπόστρωμα και το υψηλά ενεργειακό μόριο του ATP). Αυτές οι δύο διαδικασίες, η φωσφορυλίωση και η αποφωσφορυλίωση, συμβαίνουν τέσσερις φορές κατά τη διάρκεια της γλυκόλυσης (Manning G. et al., 2002). Οι κινήσεις αποτελούν μέρος της μεγαλύτερης οικογένειας φωσφοτρανσφερασών. Οι κινήσεις δεν πρέπει να συγχέονται με τις φωσφορυλάσες, οι οποίες καταλύουν την προσθήκη ανόργανων φωσφορικών ομάδων σε ένα δέκτη, ούτε με τις φωσφατάσες, οι οποίες αφαιρούν φωσφορικές ομάδες. Η φωσφορυλίωση ενός μορίου, είτε αυτό είναι μια πρωτεΐνη, λιπίδιο, ή υδατάνθρακας, μπορεί να επηρεάσει την δραστηριότητα, την αντιδραστικότητα και την ικανότητά του να συνδέεται με άλλα μόρια. Ως εκ τούτου, οι κινήσεις είναι κρίσιμες στο μεταβολισμό, την κυτταρική σηματοδότηση, τη ρύθμιση πρωτεΐνης, την κυτταρική μεταφορά, τις εκκριτικές διαδικασίες, και σε πολλές άλλες κυτταρικές οδούς.

#### Γενική αντίδραση που καταλύεται από κινήσεις

Οι κινήσεις διαμεσολαβούν στην μεταφορά ενός φωσφορικού τμήματος από ένα μόριο υψηλής ενέργειας (όπως ATP) σε μόριο του υποστρώματός τους, όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα (Εικόνα 1.4). Οι κινήσεις απαιτούνται για τη σταθεροποίηση αυτής της αντίδρασης, επειδή ο δεσμός φωσφοανυδρίτη περιέχει ένα υψηλό επίπεδο ενέργειας. Οι κινήσεις προσανατολίζουν καταλλήλως το υπόστρωμα τους και την ομάδα φωσφορυλίου εντός δραστικών θέσεων τους, γεγονός που αυξάνει την ταχύτητα της αντίδρασης. Επιπρόσθετα, συνήθως χρησιμοποιούν θετικά φορτισμένα υπολείμματα αμινοξέων, τα οποία σταθεροποιούν την ηλεκτροστατική μεταβατική κατάσταση, μέσω αλληλεπίδρασης με τις αρνητικά φορτισμένες φωσφορικές ομάδες. Εναλλακτικά, κάποιες κινήσεις χρησιμοποιούν συμπαραγόντες δεσμευμένου μετάλλου στις ενεργές τους θέσεις για το συντονισμό των φωσφορικών ομάδων.





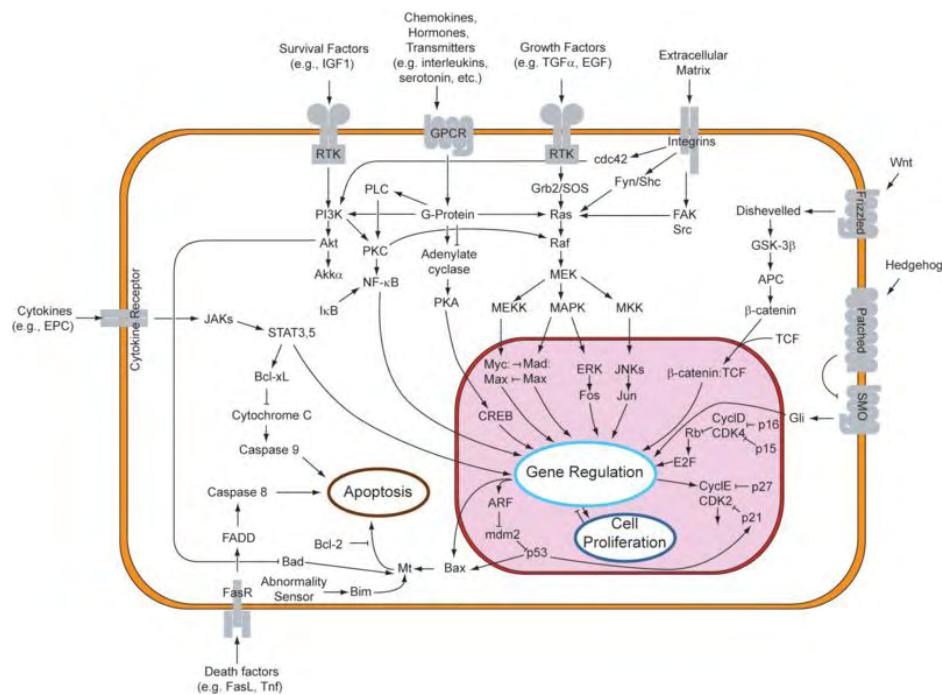
**ΕΙΚΟΝΑ 1.4:** Γενική αντίδραση που καταλύεται από κινάσες.

Οι κινάσες χρησιμοποιούνται εκτεταμένα για τη μετάδοση σημάτων και τη ρύθμιση πολύπλοκων διεργασιών στα κύτταρα. Η φωσφορυλίωση των μορίων μπορεί να ενισχύσει ή να αναστείλλει τη δράση τους και να ρυθμίσει την ικανότητά τους να αλληλεπιδρούν με άλλα μόρια. Η προσθήκη και η απομάκρυνση φωσφορικών ομάδων παρέχει στο κύτταρο διάφορα μέσα ελέγχου, επειδή διάφορες κινάσες μπορούν να ανταποκριθούν σε διαφορετικές συνθήκες ή σήματα. Μεταλλάξεις σε κινάσες που οδηγούν σε απώλεια λειτουργίας ή κέρδος λειτουργίας μπορεί να προκαλέσουν καρκίνο και ασθένειες σε ανθρώπους, συμπεριλαμβανομένων συγκεκριμένων τύπων λευχαιμίας, νευροβλάστωμα, γλοιοβλάστωμα (Bleeker et al., 2014) νωτιαιοπαρεγκεφαλιδική αταξία (τύπος 14), μορφές της αγαμμασφαιριναιμίας και πολλά άλλα (Lahiry et al., 2010).

### ➤ Πρωτεϊνικές κινάσες

Οι πρωτεϊνικές κινάσες δρουν σε πρωτεΐνες, φωσφορυλιώνοντας υπολείμματα σερίνης, θρεονίνης, τυροσίνης ή ιστιδίνης. Η φωσφορυλίωση μπορεί να τροποποιήσει την λειτουργία μιας πρωτεΐνης με πολλούς τρόπους. Αυτό μπορεί να αυξήσει ή να μειώσει τη δραστηριότητά μιας πρωτεΐνης, να την σταθεροποιήσει ή να την επισημάνει για καταστροφή, εντοπίζοντάς την εντός ενός συγκεκριμένου κυτταρικού διαμερίσματος και αυτό μπορεί να ξεκινήσει ή να διακόψει την αλληλεπίδρασή της με άλλες πρωτεΐνες. Οι πρωτεϊνικές κινάσες αποτελούν την πλειοψηφία του συνόλου των κινασών που έχουν ευρέως μελετηθεί (Manning G. et al 2002). Αυτές οι κινάσες, σε συνδυασμό με φωσφατάσες, παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση πρωτεϊνών και ενζύμων, καθώς και την κυτταρική σηματοδότηση.

Ένα κοινό σημείο σύγκυσης προκύπτει όταν σκεφτόμαστε για τους διάφορους τρόπους που ένα κύτταρο μπορεί να επιτύχει βιολογική ρύθμιση. Υπάρχουν αμέτρητα παραδείγματα ομοιοπολικών τροποποιήσεων που οι κυτταρικές πρωτεΐνες μπορούν να υποστούν. Ωστόσο, η φωσφορυλίωση είναι μία από τις λίγες αναστρέψιμες ομοιοπολικές τροποποιήσεις. Συνεπώς η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών είναι ρυθμιστική. Η δυνατότητα να ρυθμίζει τη λειτουργία της πρωτεΐνης είναι τεράστια, δεδομένου ότι υπάρχουν πολλοί τρόποι για να τροποποιήσει ομοιοπολικά μια πρωτεΐνη εκτός από την ρύθμιση που παρέχεται από τον αλλοστερική έλεγχο. Υποστηρίζεται ότι ο αλλοστερικής έλεγχος εξελίχθηκε για να ανταποκριθεί στα μηνύματα που προκύπτουν από το εσωτερικό του κυττάρου, ενώ η φωσφορυλίωση έχει εξελιχθεί για να ανταποκριθεί στα μηνύματα έξω από το κύτταρο. Η ιδέα αυτή συνάδει με το γεγονός ότι η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών συμβαίνει πολύ πιο συχνά σε ευκαρυωτικά κύτταρα σε σύγκριση με τα προκαρυωτικά κύτταρα, επειδή ο πιο πολύπλοκος τύπος κυττάρου έχει εξελιχθεί ώστε να ανταποκρίνεται σε ένα ευρύτερο φάσμα σημάτων (Krebs et al., 1985).



**ΕΙΚΟΝΑ 1.5:** Επισκόπηση των οδών μεταγωγής σήματος. Πολλές από τις πρωτεΐνες που εμπλέκονται είναι κινάσες, συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνικών κινάσων (MAPK όπως και JAK) και κινάσων λιπιδίων (όπως PI3K).

## 1.4 ΡΙΒΟΣΩΜΙΚΗ S6 ΚΙΝΑΣΗ (RS6K)

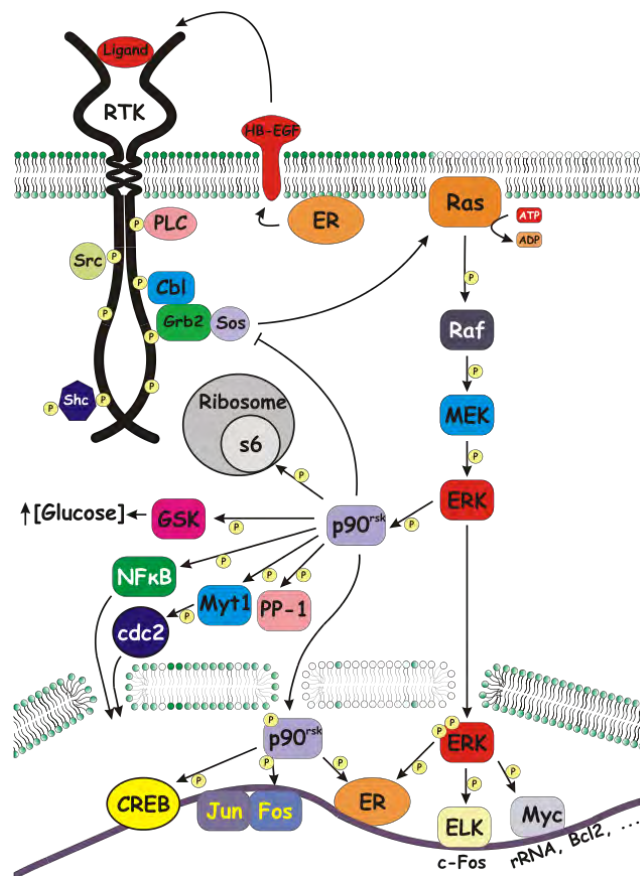
Οι ριβοσωμικές S6 πρωτεϊνικές κινάσες (RS6Ks), είναι μία οικογένεια πρωτεϊνικών κινασών σερίνης / θρεονίνης που ρυθμίζουν διάφορες κυτταρικές διαδικασίες όπως η κυτταρική ανάπτυξη, η κινητικότητα, η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός. Η οικογένεια RSK μπορεί να διαιρεθεί σε δύο υποκατηγορίες: p90 RSK και p70 S6K.

Οι RSKs p90 φωσφορυλιώνουν πολλούς κυτοσολικούς και πυρηνικούς στόχους και δρουν ως μεταγενέστεροι τελεστές του καταρράκτη σηματοδότησης ERK / MAPK (Εικόνα 1.6). Οι τέσσερις ισομορφές του ενζύμου αυτού εκφράζονται πανταχού σε ανθρώπινους ιστούς και υφίστανται σε πολλαπλά υποκυτταρικά διαμερίσματα. Οι RSKs p90 ενεργοποιούνται σε απόκριση σε αυξητικούς παράγοντες, πολλές πολυπεπτιδικές ορμόνες, νευροδιαβιβαστές και χημειοκίνες. Παρεκκλίνουσα ενεργοποίηση των RSKs p90 έχει συνδεθεί με πολλές ασθένειες του ανθρώπου, συμπεριλαμβανομένων του καρκίνου του μαστού και του προστάτη.

Η p70 ριβοσωμική S6 κινάση (S6K) υπάρχει ως δύο ισομορφές - S6K1 και S6K2 - οι οποίες ενεργοποιούνται από μιτογόνα ερεθίσματα, όπως αυξητικούς παράγοντες, ινσουλίνη και κυτοκίνες. Με τη σειρά της, η p70 S6K φωσφορυλιώνει την S6 ριβοσωμική πρωτεΐνη. Η ισομορφή S6K1 φωσφορυλιώνει επίσης άλλες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στη μεταγραφική μηχανή του κυττάρου, συμπεριλαμβανομένων των eIF4B (παράγοντας έναρξης), eEF2K (παράγοντα επιμήκυνσης της 2 κινάσης) και SKAR (RNA πρωτεΐνη δεσμεύσεως). Ως εκ τούτου, πιστεύεται ότι η S6K1 μπορεί να εμπλέκεται άμεσα στην ανάπτυξη των κυττάρων και όταν κρίνεται ότι παράλληλα με τη θέση του προς τα μεταγενέστερα από τις PI3K και mTOR μονοπάτια, η δραστηριότητα αυτή καθιστά την S6K1 ένα δυνητικό στόχο για τη θεραπεία του καρκίνου (**Morten Frödin and Steen Gammeltoft, 1999**).

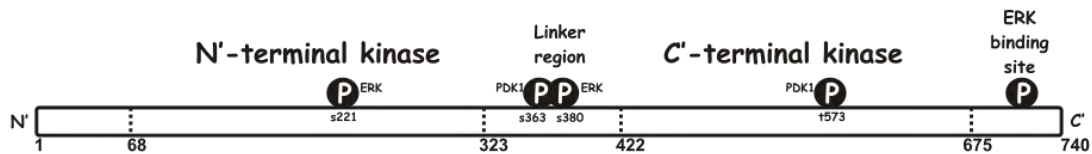
Πίνακας 1.1: Δεδομένα του γονιδίου **ribosomal s6 kinase**

Gene	Species	Gene Symbol	Gene Accession No.	Protein Accession No.
RSK1	Human	<a href="#">RPS6KA1</a>	NM_002953	Q15418
	Mouse	<a href="#">Rps6ka1</a>	NM_009097	P18653
	Rat	<a href="#">Rps6ka1</a>	NM_031107	Q63531
RSK2	Human	<a href="#">RPS6KA3</a>	NM_004586	P51812
	Mouse	<a href="#">Rps6ka3</a>	NM_148945	P18654
	Rat	<a href="#">Rps6ka3</a>	XM_576965	XP_576965



**ΕΙΚΟΝΑ 1.6:** Μερικά από τα γεγονότα σηματοδότησης των RSK (Morten Frödin and Steen Gammeltoft, 1999).

Το κύριο χαρακτηριστικό μεταξύ της p90rsk και p70rsk είναι ότι η 90 kDa οικογένεια περιέχει δύο μη ταυτσημες περιοχές κινάσης, ενώ η 70 kDa οικογένεια περιέχει μόνο μία περιοχή κινάσης (Εικόνα 1.7).



**ΕΙΚΟΝΑ 1.7:** Δομή περιοχής των RSK. Πολλές αναφέρονται σε υπολείμματα αμινοξέων της p90 RSK-1 από αρουραίο (Morten Frödin and Steen Gammeltoft, 1999).

Η οικογένεια της 90 kDa ριβοσωμικής S6 κινάσης (RSK) είναι μια ομάδα από εξαιρετικά συντηρημένες κινάσες Ser / Thr που προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, την ανάπτυξη, την κινητικότητα και την επιβίωση. Η απορρύθμιση της έκφρασης ή της δραστηριότητας της RSK έχει συσχετιστεί με αρκετές ανθρώπινες ασθένειες, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου. Η RSK βρίσκεται μεταγενέστερα από το Ras / μιτογόνο-ενεργοποιημένη κινάση πρωτεΐνης (MAPK), μονοπάτι σηματοδότησης και άμεσα φωσφορυλιωμένη από το εξωκυτταρικό σήμα που ρυθμίζεται από τις κινάσες 1 και 2 (ERK1 / 2). Σημαντικές εξελίξεις στον τομέα της σηματοδότησης της RSK έχουν συμβεί τα τελευταία χρόνια, ξετυλίγοντας κυτταρικά υποστρώματα και βιολογικές λειτουργίες της RSK καθώς και νέους RSK ρυθμιστικούς μηχανισμούς. Μαζί, αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι η RSK μπορεί να είναι ένας ελπιδοφόρος θεραπευτικός στόχος για τη θεραπεία του καρκίνου, ιδιαίτερα εκείνων που χαρακτηρίζονται από ογκογόνες μεταλλάξεις σε συστατικά της οδού σηματοδότησης Ras (Romeo Y and Roux PP, 2011).

## 1.5 ΚΑΡΚΙΝΟΣ

### 1.5.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ

Με τον όρο «καρκίνος» περιγράφεται το σύνολο των ασθενειών ή διαταραχών που χαρακτηρίζονται κυρίως από ανεξέλεγκτο κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Τα καρκινικά κύτταρα εξαπλώνονται είτε άμεσα στον παρακείμενο ιστό με «διήθηση», ή μεταφέρονται σε άλλες θέσεις του οργανισμού μέσω των αιμοφόρων αγγείων και των λεμφαγγείων (μετάσταση). Ο καρκίνος αντιπροσωπεύει μια από τις πιο ενδιαφέρουσες προκλήσεις της μοντέρνας ιατρικής. Ως αίτιο θνησιμότητας είναι δεύτερος, παγκοσμίως, μετά τις καρδιαγγειακές παθήσεις. Κάθε χρόνο διαγιγνώσκεται η ύπαρξη καρκίνου σε έναν στους διακόσιους πενήντα άνδρες και σε μία στις τριακόσιες γυναίκες (**Kardamakis D. 2004**). Η επίπτωση του καρκίνου παρουσιάζει αύξηση στην Ευρώπη. Σήμερα ο καρκίνος διαγιγνώσκεται σε περισσότερους από 1,2 εκατομμύρια ανθρώπους το χρόνο εντός των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης (**Παντελάκος Σ. Παναγιώτης, 2005**). Στις ανεπτυγμένες χώρες, οι πιο συχνά εμφανιζόμενες μορφές καρκίνου είναι πνεύμονα, μαστού, δέρματος, εντέρου και προστάτη.

### 1.5.2 ΑΙΤΙΕΣ ΚΑΡΚΙΝΟΥ

Στη διερεύνηση των αιτιών του καρκίνου, δύο κύριες οδοί μπορούν να ακολουθηθούν:

Η πρώτη αφορά στο γενετικό επίπεδο και η άλλη στις αιτιολογικές συσχετίσεις. Οι αιτίες καρκίνου που περιγράφονται μέχρι σήμερα είναι αρκετές, και οι μηχανισμοί της δημιουργίας του είναι αρκετά πολύπλοκοι (**Kardamakis D. 2004**). Οι αιτίες αυτές μπορεί να είναι χημικές (χημικά καρκινογόνα, ιοντίζουσες και υπεριώδεις ακτινοβολίες), ιογενείς (ιοί και ογκογονίδια), και άλλες, όπως η κληρονομικότητα, τα τραύματα, και οι προκαρκινικές κακώσεις.

Το 25% του πληθυσμού καταλήγει κάποια στιγμή με μια μορφή καρκίνου, ενώ μόνο το 40% αυτών των ασθενών επιβιώνει για μια πενταετία μετά τη διάγνωση της νόσου.

Η βιολογική μονάδα του καρκίνου είναι το καρκινικό κύτταρο, το οποίο είναι παρόμοιο με ένα φυσιολογικό κύτταρο από πολλές απόψεις. Οι θεμελιώδεις ιδιότητες όμως του καρκινικού κυττάρου, είναι αυτές που το διακρίνουν από τα φυσιολογικά αντίστοιχά του. Δυο βασικά χαρακτηριστικά του είναι ο μη ελεγχόμενος πολλαπλασιασμός και η ικανότητα να κάνει μεταστάσεις (**Harrison's Principles of Internal Medicine**). Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι μεταξύ των καρκινικών κυττάρων παρατηρούνται διαφορές στη λειτουργία ή/και τη δομή, όταν προέρχονται από καρκίνους διαφορετικής προέλευσης, πράγμα που δεν παρατηρείται ανάμεσα στα φυσιολογικά κύτταρα (**Landis SH et al., 1999**). Παρόλο, όμως, που ο καρκίνος είναι μια διαταραχή των κυττάρων, συνήθως κατά τη διάγνωση, εμφανίζεται σαν ένας ορατός όγκος που είναι το τελικό αποτέλεσμα μιας ολόκληρης σειράς γενετικών αλλαγών στα κύτταρα που προάγουν την εμφάνιση νέων χαρακτηριστικών στο ανθρώπινο σώμα, που μπορεί να έχει πάρει χρόνια για να αναπτυχθεί.

Ο καρκίνος, λοιπόν, είναι μια νόσος που προκαλείται όταν τα φυσιολογικά κύτταρα διαταραχθούν από κάποιον αιτιολογικό παράγοντα και τότε οδηγούνται σε μη ελεγχόμενη λειτουργία και ανάπτυξη. Αυτή η μη ελεγχόμενη ανάπτυξη προκαλεί το σχηματισμό του όγκου. Αν δεν αντιμετωπισθεί, ο όγκος μπορεί να προκαλέσει προβλήματα με την εισβολή του σε φυσιολογικούς γειτονικούς ιστούς ή ασκώντας πίεση σε άλλες γειτονικές δομές του σώματος, όπως επίσης και να αποβεί θανατηφόρος για τη ζωή του ασθενούς.

### 1.5.3 ΤΥΠΟΙ ΚΑΡΚΙΝΩΝ

Υπάρχουν πάνω από διακόσιοι διαφορετικοί τύποι καρκίνου, γιατί υπάρχουν στο σώμα πάνω από διακόσιοι τύποι διαφοροποιημένων κυττάρων (**Chan AT. et al., 2006**). Οι διαφορετικοί ιστοί του σώματος αποτελούνται από διαφορετικούς τύπους κυττάρων τα οποία εκτελούν διαφορετικές λειτουργίες όμως όλα είναι όμοια στη δομή τους. Φέρουν πυρήνα, μέσα στον οποίο υπάρχουν τα γονίδια, τα οποία ελέγχουν το κύτταρο, και δίνουν οδηγίες για την αναπαραγωγή αλλά και τον θάνατο τους. Όταν διαταραχθεί αυτή η φυσιολογική διαδικασία τότε το κύτταρο αρχίζει να διαιρείται χωρίς κανένα έλεγχο, έτσι ώστε τα κύτταρα αυξάνονται σε αριθμό και συσσωρεύονται στην περιοχή σχηματίζοντας τον όγκο.

Οι όγκοι μπορεί να είναι καλοήθεις ή κακοήθεις.

- Οι καλοήθεις όγκοι σχηματίζονται από πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα εξαιτίας κάποιου ερεθισμού, φαινόμενο που ονομάζεται καλοήθης νεοπλασία. Ωστόσο, όταν ο ~ 9 ~ ερεθισμός αυτός πάψει να υφίσταται, η νεοπλασία διακόπτεται, ο όγκος δεν αναπτύσσεται περαιτέρω, δεν καταστρέφει περιβάλλοντες υγιείς ιστούς (μολονότι μπορεί να ασκήσει βλαπτική επίδραση πάνω τους) και δεν προκαλεί το σχηματισμό νέων όγκων σε άλλα σημεία του σώματος. Παράλληλα, όταν ένας καλοήθης όγκος αφαιρείται από την περιοχή του οργανισμού στην οποία αναπτύχθηκε, δεν παρατηρείται εκ νέου ανάπτυξή του. Οι καλοήθεις όγκοι σπάνια προκαλούν σοβαρά προβλήματα σε έναν οργανισμό, και συνήθως αντιμετωπίζονται εύκολα. Προβλήματα μπορούν να προκαλέσουν μόνο όταν γίνουν αρκετά μεγάλοι, όταν πιέζουν άλλα όργανα, όταν αλλοιωθεί η μορφή τους, και αν εκκρίνουν ορμόνες που επηρεάζουν τις λειτουργίες του σώματος.
- Οι κακοήθεις όγκοι είναι γνωστοί και ως νεοπλάσματα. Σχηματίζονται με τρόπο παρόμοιο με τους καλοήθεις όγκους, αλλά λειτουργούν εντελώς διαφορετικά. Τα πολλαπλασιαζόμενα κύτταρα φέρουν μια παθογένεια που προκαλεί τη συνεχή και άναρχη αύξησή τους. Η κακοήθης νεοπλασία - η διαδικασία του άναρχου πολλαπλασιασμού των κυττάρων που καταλήγει σε σχηματισμό νέων ιστών - εξακολουθεί να δρα, ακόμη και όταν ο αρχικός όγκος αφαιρεθεί από το σώμα, σχηματίζοντας στη θέση του έναν καινούργιο. Ταυτόχρονα, επιδρά καταστροφικά στους γεινιάζοντες ιστούς, στους οποίους εισβάλλει (διαδικασία που ονομάζεται διήθηση) και έχει τη δυνατότητα σχηματισμού νέων όγκων σε άλλα σημεία του σώματος, όταν καρκινικά κύτταρα, αφού αποσπαστούν από τον πρωτογενή όγκο (το σημείο του σώματος όπου ξεκινάει η ανάπτυξη ενός καρκίνου), μετακινούνται μέσω του αίματος ή της λέμφου στο υπόλοιπο σώμα. Η διαδικασία αυτή, όπως προαναφέρθηκε, ονομάζεται μετάσταση (μετεγκατάσταση, δηλαδή, των καρκινικών κυττάρων). Οι κακοήθεις όγκοι, οι οποίοι χαρακτηρίζονται, ανάλογα με το είδος τους, ως καρκινώματα ή σαρκώματα, είναι εν δυνάμει θανατηφόροι, ειδικά αν δε διαγνωστούν έγκαιρα.  
Εκτός από τους συμπαγείς, υπάρχουν και οι αιματολογικοί όγκοι, όπως οι λευχαιμίες, τύποι καρκίνου του αίματος κατά τους οποίους τα καρκινικά κύτταρα μετακινούνται διαρκώς στο σώμα μέσω του κυκλοφοριακού συστήματος. Σε όλες τις περιπτώσεις, βασικό κριτήριο για τη διάγνωση του καρκίνου είναι και το είδος της παθογένειας που προκαλεί τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων.



Οι διαφορετικοί τύποι καρκίνου που δημιουργούνται από τα διαφοροποιημένα κύτταρα του ιστού που προσβάλλεται συμπεριφέρονται διαφορετικά. Έτσι, ο κάθε καρκίνος προκαλεί διαφορετικά συμπτώματα στον κάθε ασθενή, ανάλογα με το ποιο σημείο του σώματος προσβάλλει. Ακόμα, οι διάφοροι τύποι καρκίνου αναπτύσσονται με διαφορετική ταχύτητα και έχουν διαφορετική επίδραση στο σώμα, γιατί εκκρίνουν διαφορετικές ουσίες στο αίμα. Επίσης έχουν διαφορετική τάση εξάπλωσης μέσω της κυκλοφορίας, και παρουσιάζουν διαφορετική ανταπόκριση στα φάρμακα και την ακτινοθεραπεία (Chan AT. et al., 2006) & (Harrison's Principles of Internal Medicine).

#### 1.5.4 ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΣΤΟ ΠΑΓΚΡΕΑΣ

Είναι γνωστοί περισσότεροι από 100 διαφορετικοί τύποι καρκίνου-αρκετοί από αυτούς μπορούν να αναπτυχθούν στο πάγκρεας. Ο καρκίνος του παγκρέατος ονομάζεται επίσης παγκρεατικός καρκίνος ή καρκίνωμα του παγκρέατος. Οι περισσότεροι παγκρεατικοί καρκίνοι ξεκινούν στους παγκρεατικούς πόρους, οι οποίοι μεταφέρουν τα παγκρεατικά υγρά. Ένα σπάνιο είδος καρκίνου ξεκινά από τα κύτταρα που παράγουν την ινσουλίνη και άλλες ορμόνες. Αυτά τα κύτταρα ονομάζονται κύτταρα των νησιδίων ή νησίδια του Langerhans. Καρκίνοι οι οποίοι ξεκινούν από αυτά τα κύτταρα ονομάζονται καρκίνοι από κύτταρα των νησιδίων.

Καθώς ο παγκρεατικός καρκίνος αυξάνεται, ο όγκος μπορεί να προσβάλλει όργανα που περιβάλλουν το πάγκρεας, όπως το στομάχι και το λεπτό έντερο.

Τα παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα μπορούν επίσης να ξεφύγουν από τον όγκο και να μεταναστεύσουν σε άλλα μέρη του σώματος. Όταν εξαπλωθούν συχνά σχηματίζουν νέους όγκους στους λεμφαδένες και στο συκώτι και μερικές φορές στους πνεύμονες ή στα οστά. Οι νέοι όγκοι έχουν το ίδιο είδος μη φυσιολογικών κυττάρων και το ίδιο όνομα όπως ο πρωτοπαθής όγκος του παγκρέατος. Για παράδειγμα, εάν ο παγκρεατικός καρκίνος επεκταθεί στο συκώτι, τα νεοπλασματικά κύτταρα στο συκώτι είναι παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα. Η ασθένεια είναι μεταστατικός καρκίνος του παγκρέατος και όχι καρκίνος του ήπατος.

## 2

# Κύριο Μέρος

### 2.1 RSK ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ

Η οικογένεια των RSK (90 kDa ριβοσωμική S6 κινάση) περιλαμβάνει μία ομάδα άκρως συναφών κινασών σερίνης / θρεονίνης που ρυθμίζει διάφορες κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής ανάπτυξης, του πολλαπλασιασμού, της επιβίωσης και της κινητικότητας. Αυτή η οικογένεια περιλαμβάνει τέσσερις ισομορφές (RSK1, RSK2, RSK3 και RSK4), και ενιαία μέλη της οικογένειας είναι επίσης παρόν στη *Drosophila* και τον *Caenorhabditis elegans*. Οι ισομορφές RSK είναι μεταγενέστεροι τελεστές της Ras / ERK (εξωκυτταρικό σήμα-ρυθμιζόμενο από κινάση) οδού σηματοδότησης. Σημαντικές εξελίξεις στον τομέα της RSK σηματοδότησης έχουν συμβεί τα τελευταία χρόνια, συμπεριλαμβανομένων και αρκετών νέων λειτουργιών που αποδίδονται στις ισομορφές RSK, την ανακάλυψη νέων πρωτεϊνικών υποστρωμάτων και την ενεργό συμμετοχή των διαφόρων ισομορφών RSK στον καρκίνο. Συλλογικά, αυτά τα νέα ευρήματα αυξάνουν την ποικιλία των βιολογικών λειτουργιών που ρυθμίζονται από τις RSK, και επισημαίνουν τυχόν νέες κατευθύνσεις της έρευνας.

Η Ras / MAPK (ενεργοποιημένη από μιτογόνο πρωτεΐνη κινάση) οδός διαδραματίζει έναν κεντρικό ρόλο στη μεταγωγή εξωκυτταρικών σημάτων προς ενδοκυτταρικές πρωτεΐνες-στόχους που εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό (Meloche, S. and Pouyssegur, J. 2007 , Yoon, S. and Seger, R. 2006 & Rubinfeld, H. and Seger, R. 2005 ). Ακατάλληλη ρύθμιση αυτής της οδού οδηγεί σε μια ποικιλία διαταραχών και ασθενειών, συμπεριλαμβανομένων πολλών τύπων καρκίνων (Roux, P. P. and Blenis, J. 2007 ). Σε αυτή την οδό, η Ras GTPάσης ενεργοποιεί Raf ισομορφές (A-, B- και C-Raf), που είναι κινάσες σερίνης / θρεονίνης συχνά μεταλλαγμένες σε ανθρώπινους καρκίνους (Michaloglou, C et al., 2008 & Dhomen, N. and Marais, R. 2007 ) . Με τη σειρά τους, ενεργοποιημένα Raf φωσφορυλιώνουν και ενεργοποιούν τη MEK [MAPK / EKK κινάση] 1/2, τα οποία είναι κινάσες διπλής ειδικότητας ικανή φωσφορυλίωσης και ενεργοποίησης του MAPKs ERK1 / 2. Μόλις ενεργοποιηθούν, τα ERK1 / 2 φωσφορυλιώνουν διάφορα υποστρώματα, συμπεριλαμβανομένων των μελών της οικογένειας RSK (90 kDa ριβοσωμική S6 κινάση) ( Roux, P. P. and Blenis, J. 2004 & Cargnello, M. and Roux, P. P. 2011 ).

Αυτή η οικογένεια αποτελείται από τέσσερις ανθρώπινες ισομορφές (RSK1-4) και τα δύο είναι δομικά ομόλογα, τα οποία ονομάζονται MSK1 [επίσης γνωστή ως RLPK (RSK-όπως πρωτεϊνική κινάση)] και MSK2 [επίσης γνωστή ως RSK-B (RSK-όπως η B)]. Παρά το γεγονός ότι σχετίζονται πολύ με τις RSKs, οι MSKs έχουν πολύ διαφορετικές βιολογικές λειτουργίες και έχουν εξεταστεί εκτενώς (Arthur, J. S. 2008 & Vermeulen, L. Et al., 2009). Ενώ οι RSKs ενεργοποιούνται άμεσα από τις ERK1 / 2 αποκρινόμενες σε διάφορα ερεθίσματα, οι MSKs ενεργοποιούνται τόσο από το ERK1 / 2 όσο και από το p38 μονοπάτι, και γενικά πιστεύεται ότι είναι πιο δεκτικές στο κυτταρικό στρες (Cargnello, M. and Roux, P. P. 2011 ). Τα τελευταία χρόνια έχει παρατηρηθεί μια πληθώρα νέων πληροφοριών σχετικά με τους βιολογικούς ρόλους των RSKs και επισημαίνονται επίσης νέα βιολογικά μονοπάτια που διαμορφώνονται από αυτές τις κινάσες.

### 2.1.1 ΑΝΑΚΑΛΥΨΗ ΤΗΣ RSK

Η ρυθμιζόμενη φωσφορυλίωση της rpS6 (ριβοσωμικής πρωτεΐνης S6) έχει προσελκύσει πολλή προσοχή από την ανακάλυψή της το 1974 (Gressner, A. M. and Wool, I. G. 1974 ). Αυτό οφείλεται στην χρονική συσχέτιση της φωσφορυλίωσης της rpS6 με την έναρξη της πρωτεϊνοσύνθεσης και την υπόθεση ότι η φωσφορυλίωση της, διευκολύνει την συναρμολόγηση του πολυσώματος (Meyuhas, O. 2008 ). Πολλά εργαστήρια έχουν καταβάλει σημαντικές προσπάθειες για τον εντοπισμό των πρωτεϊνικών κινασών, που είναι υπεύθυνες για την φωσφορυλίωση της rpS6 (Blenis, J. and Erikson, R. L. 1984 & Nielsen, P. J. et al., 1982), και το 1985, οι ομάδες των Έρικσον και Maller καθάρισαν μία ενδοκυτταρική κινάση, που ονομάζεται ριβοσωμική S6K (S6 κινάση), η οποία φωσφορυλίωσε την rpS6 από μη γονιμοποιημένα αυγά του *Xenopus laevis* (Erikson, E. and Maller, J. L. 1985). Δύο πρωτεϊνικές κινάσες 85-90 kDa (S6KI και S6KII) εντοπίστηκαν από βιοχημικό καθαρισμό, γεγονός που οδήγησε στην κλωνοποίηση των cDNA που κωδικοποιούν υψηλά ομόλογες πρωτεΐνες που αργότερα μετονομάστηκαν σε p90 RSKs ή RSKs (Jones, S. W. et al., 1988). Στη συνέχεια αποδείχθηκε ότι η S6KII φωσφορυλιώνεται και ενεργοποιείται από την ινσουλίνη που διεγείρεται από την MAP2 (συσχετιζόμενι με τους μικροσωληνίσκους πρωτεΐνη-2) κινάση, η οποία μετονομάστηκε σε ERK2 (Sturgill, T. W., et al., 1988) και παρείχε την πρώτη απόδειξη ότι η S6KII (ή RSK) ενεργοποιείται κατάντη του ERK / MAPK καταρράκτη.

## 2.1.2 ΡΥΘΜΙΣΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ RSK

Όπως περιγράφεται παραπάνω, η RSK αρχικά ταυτοποιήθηκε ως μία *in vitro* κινάσης *ppS6* (Erikson, E. and Maller, J. L. 1985 & Erikson, E. and Maller, J. L. 1986). Ωστόσο, δύο σχετικές πρωτεϊνικές κινάσες, που ονομάζονται 70 kDa ριβοσωματικές S6 κινάσες (S6K1 και S6K2), αργότερα αποδείχθηκε ότι είναι οι κυρίαρχες κινάσες *ppS6*, οι οποίες λειτουργούν στα σωματικά κύτταρα (Blenis, J. et al., 1991 & Chung, J. et al., 1992). Η αναστολή της δραστηριότητας της mTOR (στόχος της ραπαμυκίνης στα θηλαστικά) και επομένως και της ενεργοποίησης των S6K1 / 2 με τη χρήση της ραπαμυκίνης, έδειξε να αποτρέπει πλήρως την φωσφορυλίωση της *ppS6* που διεγείρεται από την ινσουλίνη (Kuo, C. et al., 1992), γεγονός το οποίο έδειχνε ότι οι RSKs έπαιξαν αμελητέο ρόλο στην φωσφορυλίωση της *ppS6*. Το συμπέρασμα αυτό αποδείχθηκε και από πειράματα που διεξήχθησαν σε κύτταρα προερχόμενα από S6K1 - / - S6k2 - / - ποντίκια με διπλό νοκ-άουτ, όπου η απουσία των S6K1 / 2 είναι ταυτόχρονη με μια σχεδόν πλήρη απώλεια της *ppS6* φωσφορυλίωσης (Pende, M., et al., 2004). Είναι ενδιαφέρον, ότι τα χαμηλά επίπεδα της φωσφορυλίωσης της *ppS6* βρέθηκαν να επιμένουν στα S6K1 / 2-ανεπαρκή κύτταρα και να εξαρτάται από το μονοπάτι MAPK, υποδηλώνοντας κάποια εμπλοκή μέρους των RSKs. Ο συγκεκριμένος ρόλος των ισομορφών της RSK στην φωσφορυλίωση της *ppS6*, επιβεβαιώθηκε αργότερα *in vivo* με τη χρήση RNAi (RNA παρεμβολής) και φαρμακολογικών αναστολέων (Roux, P et al., 2007). Πράγματι, τόσο η RSK1 όσο και η RSK2, βρέθηκαν να συμβάλλουν στην φωσφορυλίωση της *ppS6* σε απόκριση προς τους αγωνιστές ή τα ογκογονίδια τα οποία ενεργοποιούν το μονοπάτι MAPK. Είναι ενδιαφέρον ότι, ενώ οι S6K1 / 2 βρέθηκαν να φωσφορυλιώνουν όλες τις θέσεις της *ppS6* (Ser235, Ser236, Ser240 και Ser244), οι RSKs, έδειξαν να φωσφορυλιώνουν ειδικά την Ser235 και την Ser236. Ο ρόλος του συγκεκριμένου ελέγχου παραμένει άγνωστος, αλλά όλο και περισσότερες ενδείξεις δείχνουν ότι η φωσφορυλίωση της *ppS6* μπορεί να συμμετέχει στην τελειοποίηση της κυτταρικής απόκρισης που προκαλείται από ορισμένα σήματα ανάπτυξης (Meyuhas, O. 2008). Η ειδική αξιολόγηση της RSK και συγκεκριμένα γεγονότα της φωσφορυλίωσης της *ppS6* θα είναι αναγκαία να καθορίσουν την πολυπλοκότητα των ρυθμίσεων και της λειτουργίας της.

### 2.1.3 ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΗΣ RSK

Η οικογένεια της RSK περιέχει τέσσερις ισομορφές, που ονομάζονται RSK1, RSK2, RSK3 και RSK4. Οι RSKs είναι 73-80% ταυτόσημες μεταξύ τους και είναι αποκλίνουσες κυρίως στις N- και C-τερματικές αλληλουχίες. Το πιο εντυπωσιακό χαρακτηριστικό της οικογένειας RSK είναι η παρουσία δύο λειτουργικών και μη ταυτόσημων περιοχών φωσφοτρανσφοράς εντός του ίδιου πολυπεπτιδίου (**Fisher, T. L. and Blenis, J. 1996**). Πιστεύεται ότι, κατά τη διάρκεια της εξέλιξης, τα γονίδια για δύο ξεχωριστές πρωτεϊνικές κινάσες έχουν συντηχθεί, δημιουργώντας μια ενιαία πρωτεϊνική κινάση, ικανή να δέχεται ένα σήμα ενεργοποίησης από τις ERK1 / 2 στο CTKD (περιοχή C-τερματική της κινάσης) και να μεταδίδει, με υψηλή απόδοση, την ενεργοποίηση εισόδου στο NTKD (περιοχή N-τελική της κινάσης). Οι περιοχές της κινάσης συνδέονται με μια περιοχή συνδέτη των 100 αα (αμινοξέα), που περιέχει ουσιώδης ρυθμιστικές περιοχές, συμπεριλαμβανομένων των υδρόφοβων και τη σειρά μοτίβων, που εμπλέκονται στην ενεργοποίηση του NTKD (Σχήμα 3). Επειδή διαθέτουν δύο χωριστές καταλυτικές περιοχές, οι RSKs αποτελούν μέρος των δύο διαφορετικών οικογενειών πρωτεΐνης κινάσης. Η NTKD ανήκει στην AGC (πρωτεϊνική κινάση A, G και C) οικογένεια, η οποία περιλαμβάνει επίσης την Akt (επίσης γνωστή ως πρωτεΐνη κινάση B), την SGK (επαγόμενη από ορό και γλυκοκορτικοειδή πρωτεΐνη κινάση) και τις S6K1 / 2. Από την άποψη αυτή, η NTKD της RSK ταυτίζεται περισσότερο με την περιοχή της κινάσης S6K1, με 57% αα ομοιότητα. Η CTKD της RSK ανήκει στην CaMK (Ca<sup>2+</sup> / εξαρτώμενη από καλμοδουλίνη πρωτεϊνική κινάση) οικογένεια η οποία περιλαμβάνει επίσης την AMPK (AMP-ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση), την MARK (MAP-ρυθμιζόμενη κινάση / συγγένεια μικροσωληνίσκων-ρυθμιζόμενη κινάση) και την DAPK (συσχετιζόμενη με τον θάνατο πρωτεΐνη κινάση). Επιπλέον, οι RSKs ανήκουν επίσης σε μία λειτουργική υποομάδα των CAMKs, που ονομάζεται MAPKAPK (MAPK-ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση) οικογένεια, η οποία περιλαμβάνει τις MSK1 / 2, MNKs (MAPK-αλληλεπιδρούμενες κινάσες) (**Buxade, M., et al., 2008**), MK2 / 3 (MAPK-ενεργοποιημένη πρωτεϊνική κινάση) (**Ronkina, N. et al., 2008**) και MK5 (**Perander, M. et al., 2008**). Αυτή η ομάδα χαρακτηρίζεται από το γεγονός ότι ενεργοποιούνται από διαφορετικές MAPKs, και επίσης εμφανίζουν ουσιαστική ομολογία στις περιοχές της κινάσης τους. Ενώ, η NTKD των RSKs είναι υπεύθυνη για τη μεταγενέστερη φωσφορυλίωση του υποστρώματος, η μόνη γνωστή λειτουργία του CTKD είναι η ενεργοποίηση του NTKD μέσω αυτοφωσφορυλίωσης του υδρόφοβου μοτίβου (**Bjorbaek, C et al., 1995 & Vik, T. A. and Ryder, J. W. 1997**), και κανένα εξωγενές υπόστρωμα δεν έχει ακόμη αποδοθεί σε αυτή την περιοχή (**Chrestensen, C. A. and Sturgill, T. W. 2002**). Αν και αυτό είναι αληθές, η ιδέα ότι η CTKD θα μπορούσε να φωσφορυλιώσει ετερόλογα υποστρώματα in trans παραμένει μία ενδιαφέρουσα πιθανότητα.

## 2.1.4 ΕΚΦΡΑΣΗ ΤΗΣ RSK ΣΕ ΕΝΗΛΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΕΜΒΡΥΟΝΙΚΟΥΣ ΙΣΤΟΥΣ

Με εξαίρεση την RSK4, η έκφραση των mRNAs της RSK, έχει δειχθεί να είναι πανταχού παρόν σε κάθε ανθρώπινο ιστό που έχει ελεγχθεί (**Zeniou, M et al., 2002**). Αυτό είναι σύμφωνο με τα πρότυπα έκφρασης που έχουν συναχθεί από EST (εκφραζόμενη αλληλουχία) πηγές προερχόμενες τόσο από ποντικό όσο και άνθρωπο, το οποίο υποδηλώνει ότι η RSK4 είναι χαμηλή σε αφθονία, τόσο στους εμβρυονικούς όσο και στους ιστούς ενηλίκων. Αν και αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν λειτουργικό πλεονασμό, τα διαθέσιμα δεδομένα μικροσυστοιχιών Affymetrix καταδεικνύουν σημαντικές διαφοροποιήσεις ιστού μεταξύ των ισομορφών RSK (BioGPS) (**Wu, C., et al., 2009**), υποδηλώνοντας τουλάχιστον κάποιες συγκεκριμένες λειτουργίες των ισομορφών. Σε συμφωνία με αυτό, πιο στοχευμένες μελέτες έχουν δείξει ότι το mRNA της RSK1 ανευρίσκεται κυρίως στον πνεύμονα, τα νεφρά και το πάγκρεας, ενώ τα mRNAs της RSK2 και της RSK3 είναι πιο άφθονα στον σκελετικό μυ, την καρδιά και το πάγκρεας (**Alcorta, D. A. et al., 1989 & Moller, D. E., et al., 1994**). Στον εγκέφαλο, το mRNA της RSK1 βρέθηκε να εκφράζεται στο κοκκώδη κυτταρικό στρώμα της παρεγκεφαλίδας, ενώ η RSK2 ήταν περισσότερο παρούσα στο νεοφλοιό, τον ιππόκαμπο και την παρεγκεφαλίδα. Η RSK3 είναι επίσης πολύ άφθονη στο κεντρικό νευρικό σύστημα, με υψηλή έκφραση του mRNA στον εγκεφαλικό φλοιό, την οδοντωτή έλικα και την αμυγδαλή (**Heffron, D. and Mandell, J. W. 2005**). Όσον αφορά την RSK4, η έκφρασή της είναι πολύ χαμηλότερη από τις RSK1-3, αλλά η ανάλυση στυπώματος Northern αποκάλυψε την παρουσία του mRNA της RSK4 στον εγκέφαλο, την καρδιά, την παρεγκεφαλίδα, τα νεφρά και τους σκελετικούς μυς, ενώ άλλοι ιστοί όπως του πνεύμονα, του ήπατος, του παγκρέατος και του λιπώδη ιστού, δεν έδειξαν ανιχνεύσιμη έκφραση της RSK4 (**Dummler, B. A. et al., 2005**).

### 2.1.5 ΥΠΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΘΕΣΗ ΤΗΣ RSK

Σε υποκυτταρικό επίπεδο, οι RSK1-3 συνήθως βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα των αδρανών κυττάρων, αλλά κατά τη διέγερση, ένα σημαντικό ποσοστό αυτών των πρωτεϊνών μετατοπίζεται στον πυρήνα. Μέσα σε λίγα λεπτά κατά τη διέγερση, η RSK1 έδειξε να συσσωρεύεται παροδικά στην μεμβράνη του πλάσματος, όπου λαμβάνει πιθανώς πρόσθετες εισόδους απαραίτητες για την ενεργοποίηση πριν από την πυρηνική μετατόπιση (**Richards, S. A. et al., 2001**). Η RSK4 φαίνεται να είναι κυρίως κυτταροπλασματική, και σε αντίθεση με τις άλλες ισομορφές RSK, η RSK4 αξιοσημείωτα δεν αθροίζεται στον πυρήνα μετά τη μιτογόνο διέγερση. Οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην μετατόπιση της RSK προς τον πυρήνα παραμένουν ασαφείς, αλλά ο μικρός τελεστής θανάτου της πρωτεΐνη PEA-15 (φωσφοπρωτεΐνη εμπλουτισμένο σε αστροκύτταρα, 15 kDa) έχειδειχθεί ότι αλληλεπιδρά με την RSK2 και αναστέλλει την πυρηνική μετατόπισή του (**Vaidyanathan, H. and Ramos, J. W. 2003**). Είναι ενδιαφέρον ότι, η RSK2 βρέθηκε πρόσφατα να συνδέεται με την TIA-1 (T-κυττάρων-περιορισμένο ενδοκυτταρικό αντιγόνο-1) και εντοπίζεται σε στρεσογόνους κόκκους κατόπιν οξειδωτικού στρες (**Eisinger-Mathason, T. S., et al., 2008**), υποδηλώνοντας την πιθανότητα ότι η PEA-15 μπορεί επίσης να εντοπίζεται σε αυτές τις δομές. Η RSK3 είναι η μόνη ισομορφή που διαθέτει μια κλασική NLS (σήμα πυρηνικού εντοπισμού), το οποίο αποτελείται από Lys-Lys-Xaa10-Leu-Arg-Arg-Lys-Ser-Arg, αλλά η λειτουργικότητα αυτής της περιοχής δεν έχει ποτέ ελεγχθεί. Σε σύγκριση με άλλες ισομορφές, η RSK3 συχνά βρίσκεται να συνδέεται με ανθεκτικά σε απορρυπαντικά κυτταρικά κλάσματα, δείχνοντας ότι αυτή η ισομορφή μπορεί να εντοπίζονται σε διακριτά κυτταρικά διαμερίσματα. Προς το παρόν, πολύ λίγα είναι γνωστά σχετικά με συγκεκριμένες λειτουργίες των RSKs, αλλά εμφανείς διαφορές στην ενδοκυττάρια κατανομή τους κατά πάσα πιθανότητα καθορίζουν τους αντίστοιχους ρόλους τους.

### 2.1.6 ΕΝΑΛΛΑΚΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ ΤΗΣ RSK

Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η RSK2 φωσφορυλιώνεται επίσης σε κατάλοιπα τυροσίνης σε απόκριση του FGF (ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα) υποδοχέα (**Kang, S., et al., 2007**) και της ενεργοποίησης του Src (**Kang, S., et al., 2008**). Αυτά τα γεγονότα φωσφορυλίωσης βρέθηκαν να ενεργοποιούν την RSK2, σταθεροποιώντας την σύνδεση μεταξύ ERK1 / 2 και RSK2, προτείνοντας έναν εναλλακτικό μηχανισμό για την ενεργοποίηση της RSK σε ανθρώπινους όγκους με ενεργοποιημένη FGFR3 (αυξητικός παράγοντας του υποδοχέα 3) σηματοδότηση και σε απόκριση σε φυσιολογική ενεργοποίηση του EGF υποδοχέα (επιδερμικός αυξητικός παράγοντας).

### 2.1.7 ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΚΟΙ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΤΗΣ RSK

Η ενεργοποίηση της RSK συνδέεται στενά με την δραστηριότητα της ERK1 / 2, και ως εκ τούτου οι MEK1 / 2 αναστολείς (U0126, Pυ98059 και PD184352) χρησιμοποιούνται ευρέως για τη μελέτη της λειτουργίας της RSK. Μέχρι σήμερα, τρεις διαφορετικές κατηγορίες των αναστολέων της RSK έχουν ταυτοποιηθεί (Nguyen, T. L. 2008). Το dihydropteridinone BI-D1870 είναι ένας αναστρέψιμος αναστολέας που ανταγωνίζεται με ATP συνδεδεμένος με το NTKD ATP-αλληλεπιδρούμενη αλληλουχία. Το BI-D1870 είναι αξιοσημείωτα εκλεκτικό για την RSK που σχετίζεται με άλλες κινάσες AGC, και το *in vitro* IC<sub>50</sub> έδειξε να είναι 15-30 nM σε συγκέντρωση ATP 100 μM (Sapkota, G. P. et al., 2007). *In vivo* αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι για να ανασταλεί πλήρως η φωσφορυλίωση των υποστρωμάτων της RSK στα κύτταρα, απαιτείται μια συγκέντρωση 10 μM BI-D1870. Το SL0101 γλυκοσίδιο καμπερόλης είναι ένας άλλος ATP-ανταγωνιστικός αναστολέας της NTKD, και στην πραγματικότητα ήταν ο πρώτος ειδικός αναστολέας της RSK που εντοπίστηκε. Το SL0101 είναι ένα φυσικό προϊόν που λαμβάνεται από το τροπικό φυτό *Fosteronia refracta* και αναφέρθηκε ότι αναστέλλει την RSK2 με IC<sub>50</sub> 90 nM σε ATP συγκέντρωση 10 μM. Η EC<sub>50</sub> του SL0101 βρέθηκε να είναι περίπου 50 μM σε ακέραια κύτταρα (Smith, J. A., et al., 2005), υποδηλώνοντας ότι η δραστηριότητα του SL0101 σε άθικτα κύτταρα είναι σημαντικά ασθενέστερη απ' ό,τι *in vitro*. Όπως το BI-D1870, έτσι και το SL0101 ελέγχθηκε έναντι ενός πάνελ καθαρισμένων κινάσων και βρέθηκε να είναι σχετικά ειδικό για την RSK (Bain, J. et al., 2007). Αντίθετα, ο FMK πυρρολοπυριμιδίνης (Z-VAD-FMK, βενζυλοξυκαρβονυλ-Val-Ala-DL-Asp-φθορομεθυλοκετόνη) είναι ένας μη αντιστρεπτός αναστολέας που τροποποιεί ομοιοπολικά το CTKD του RSK1, RSK2 και RSK4 (Cohen, M. S., et al., 2005). Ο FMK είναι ένας ισχυρός και ειδικός αναστολέας της RSK, και έδειξε να αναστέλλει την RSK2 με μια *in vitro* IC<sub>50</sub> των 15 nM και μία EC<sub>50</sub> των 200 nM. Ο FMK περιέχει ένα αντιδραστικό ηλεκτρόφιλο μέσα στο μοτίβο φθορομεθυλοκετόνης και, στην περίπτωση αυτή, η ισχυρή δραστηριότητα της κινάσης προέρχεται από την ομοιοπολική προσθήκη της λειτουργικότητας της χλωρομεθυλοκετόνης στην ομάδαθειόλης του Cys436 που βρίσκεται στον ATP-θύλακα σύνδεσης του RSK2 CTKD. Παρά το γεγονός ότι υπάρχει ένας μηχανισμός δράσης, που περιλαμβάνει ομοιοπολική προσθήκη στο μοριακό στόχο, ο FMK έδειξε να είναι αξιοσημείωτα ειδικός για την RSK. Στο προϊόν λύσης των ανθρώπινων επιθηλιακών κυττάρων, που περιέχει χιλιάδες πρωτεΐνες, η σημασμένη βιοτίνη του FMK βρέθηκε να αντιδρά μόνο με τις RSK1 και RSK2, οι οποίες ταυτοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας ποσοτική ανοσοεξάντληση με ειδικά αντισώματα. Ως εκ τούτου, υπάρχουν τώρα τρεις ισχυροί και εξαιρετικά εξειδικευμένοι αναστολείς της RSK, οι οποίοι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως χημικοί ανιχνευτές για την ανάλυση των πολύπλοκων γεγονότων σηματοδότησης που συνδέονται με την RSK, και επιπλέον, το δυναμικό τους ως θεραπευτικά υποψηφίοι.



## 2.1.8 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΗΣ RSK

Αν και ορισμένες λειτουργίες την RSK μπορεί να συναχθούν από τη φύση των υποστρωμάτων της, συσσωρεύοντας στοιχεία, το οποία δείχνουν ότι οι ισομορφές της RSK ρυθμίζουν την πυρηνική σηματοδότηση, την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου και τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, την κυτταρική ανάπτυξη και την πρωτεϊνική σύνθεση, τη μετανάστευση των κυττάρων και την επιβίωση των κυττάρων. Η RSK2 έχει μελετηθεί εκτενώς και, μέχρι σήμερα, τα περισσότερα υποστρώματα έχουν ταυτοποιηθεί για αυτήν την ισομορφή. Παρ'όλα αυτά, οι περισσότερες μελέτες δεν έχουν καθορίσει την επιλεκτικότητα των ισομορφών. Ως εκ τούτου, πολλά γνωστά υποστρώματα της RSK2 μπορεί να είναι κοινά με άλλα μέλη της οικογένειας RSK και το αντίστροφο. Έτσι, απαιτείται περισσότερη προσπάθεια για να αξιολογηθεί το δυναμικό λειτουργίας επικάλυψη μεταξύ των ισομορφών RSK. Επιπλέον, το μοτίβο φωσφορυλίωσης της RSK είναι κοινό με άλλα μέλη της οικογένειας AGC, όπως Akt και S6K1, υποδηλώνοντας ότι μια σημαντική λειτουργική επικάλυψη μπορεί να υπάρχει μεταξύ αυτών των βασεόφιλων πρωτεϊνικών κινασών. Πράγματι, αρκετά υποστρώματα της RSK έχουν δείξει να είναι στόχοι και από την Akt [TSC2 (οζώδους σκλήρυνσης 2), Bad (Bcl-2 / Bcl-xL-ανταγωνιστής, προκαλώντας το θάνατο των κυττάρων), GSK3 (κινάση συνθάση γλυκογόνου-3) και p27kip1 (εξαρτώμενος από κυκλίνη αναστολέας κινάσης 1B)] και S6K1 [eEF2K (ευκαρυωτικός παράγοντας επιμήκυνσης-2 κινάση), rpS6, GSK3 και eIF4B (ευκαρυωτικός παράγοντας έναρξης 4B)]. Αυτό πρέπει να ληφθεί υπόψη κατά την ανάλυση του φαινοτύπου των ποντικών νοκ-άουτ ως αποζημίωση που μπορεί να συμβεί μεταξύ αυτών των υψηλά συσχετιζόμενων κινασών.

### Μεταγραφική ρύθμιση

Παγκόσμια ανάλυση των χαρακτηριστικών της RSK έχει αναφερθεί και εντοπίστηκε η RSK ως ένας σημαντικός τελεστής της ERK στην παγκόσμια μεταγραφική ρύθμιση (Doehn, U., et al., 2009). Η RSK βρέθηκε να ρυθμίζει ~ 20% των mRNAs που ελέγχονται από την ERK σε κύτταρα MDCK (Madin-Darby κύτταρα νεφρού) μέσω άμεσων και έμμεσων μηχανισμών, όπως η επαγωγή των παραγόντων μεταγραφής. Πράγματι, ενεργοποιημένα RSK έδειξαν να φωσφορυλιώνουν αρκετούς μεταγραφικούς παράγοντες, μερικοί από τους οποίους συμβάλλουν στην απόκριση του IEG (άμεσο πρώιμο γονίδιο) ή είναι τα ίδια προϊόντα IEG. Δύο μελέτες χρησιμοποιώντας ανθρώπινα κύτταρα από CLS (Coffin-Lowry Σύνδρομο) ασθενείς και πρωτογενείς ινοβλάστες που απομονώθηκαν από Rsk2 - / - ποντίκια έδειξαν ότι η RSK2 μεσολαβεί στη μεταγραφή του επαγόμενου από μιτογόνο c-Fos, ενεργοποιώντας τόσο το Elk1 [όπως η ETS κινάση 1] / SRF (συντελεστής απόκρισης ορού) σύμπλοκο, όσο και το CREB (cAMP-πρωτεΐνη δέσμευσης) (Bruning, J. C., et al., 2000 & De Cesare, D., et al., 1998). Αν και η RSK2 φάνηκε να φωσφορυλιώνει το CREB στη Ser133 (Ginty, D. D., et al., 1994 & Xing, J., et al., 1996), πιο πρόσφατες έρευνες απέδειξαν ότι οι MSK1 / 2 πρωτεϊνικές κινάσες είναι οι κυρίαρχες κινάσες CREB μετά από μιτογονική διέγερση ή στρες σε σωματικά κύτταρα (. Υπολείμματα της φωσφορυλίωσης CREB σε κύτταρα που προέρχονται από MSK1 - /

- Msk2 - / - ποντίκια, πρότεινε ότι η RSK θα μπορούσε συνεργάζεται με τις MSK1 / 2 για την φωσφορυλίωση του CREB που προκαλείται από μιτογόνα, αλλά όχι κυτταρικό στρες, αν και η περισσότερη δουλειά θα χρειαστεί για να ενισχύσει αυτή την (Wiggin, G. R., et al., 2002) υπόθεση. Συνεπώς με αυτή την ιδέα, η ιστόνη H3 αρχικά βρέθηκε να ρυθμίζεται από την RSK, αλλά πειστικές αποδείξεις έδειξαν ότι οι MSK1 / 2 είναι οι κυρίαρχες κινάσες της ιστόνης H3 που λειτουργούν σε απόκριση στο στρες ή σε μιτογονικές διεγέρσεις (Soloaga, A., et al., 2003). Επιπλέον, η RSK1 έδειξε να συμμετέχει στην μετα-μεταφραστική τροποποίηση του IEG προϊόντων του SRF, c-Fos και Nur77. Ο έλεγχος του c-Fos από την RSK2 φάνηκε να παίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιοστάση των οστών και την ογκογένεση (David, J. P., et al., 2005 & Bakiri, L., et al., 2011).

### Πρόοδος του κυτταρικού κύκλου και κυτταρικός πολλαπλασιασμός

Η RSK έχει εμπλακεί άμεσα στη ρύθμιση της προόδου του κυτταρικού κύκλου και του κυτταρικού πολλαπλασιασμού. Η θεραπεία με τον αναστολέα SL0101 ή RNAi έναντι της RSK1 και RSK2, φάνηκε να αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων που προέρχονται από ανθρώπινο προστάτη και από όγκους του μαστού, όπου και οι δύο ισομορφές υπερεκφράζονται (PP Roux, αδημοσίευτη εργασία). Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η RSK1 και η RSK2 ρυθμίζουν θετικά τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων, και σύμφωνα με αυτή την επιβεβαίωση, τα κατά προσέγγιση πρότυπα έκφρασης, που έχουν συναχθεί από EST πηγές, αναφέρουν ότι η RSK1 βρίσκεται συχνά σε υψηλότερη αφθονία σε όγκους σε σύγκριση με τους φυσιολογικούς ιστούς. Αν και αυτό δεν ισχύει και για την RSK2, είναι επίσης ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι η RSK3 και η RSK4, βρίσκονται συνήθως σε χαμηλότερη αφθονία σε δείγματα όγκου.

Η RSK ελέγχει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων μέσω της ρύθμισης των μεσολαβητών του κυτταρικού κύκλου. Η RSK2 φάνηκε να προωθεί την εξέλιξη του κυτταρικού κύκλου μέσω φωσφορυλίωσης του c-Fos, έναν μεταγραφικό παράγοντα που ρυθμίζει θετικά την έκφραση της κυκλίνης D1 κατά τη διάρκεια της G1 / S μετάβασης. Η φωσφορυλίωση, μέσω της RSK, του c-Fos στη Ser362 προωθεί τη σταθερότητά της και τις ογκογόνες ιδιότητες, και βρέθηκε να είναι απαραίτητη για το σχηματισμό οστεοσαρκώματος σε ποντικούς (Chen, R. H., et al., 1996 & Murphy, L. O., et al., 2002). Η RSK1 και η RSK2 μπορεί επίσης να ρυθμίζουν την εξέλιξη της φάσης G1 ελέγχοντας την δραστηριότητα του CDK2 (εξαρτώμενη από κυκλίνη κινάση 2) αναστολέα p27kip1 (Fujita, N., et al., 2003). Η φωσφορυλίωση, μέσω της RSK, της p27kip1 στη Thr198 αποτρέπει την μετατόπισή της προς τον πυρήνα, προωθώντας τη σύνδεσή της με το 14-3-3 (Larrea, M. D., et al., 2009). Η RSK μεσολαβεί επίσης στην πρόοδο του κυτταρικού κύκλου, ρυθμίζοντας αρνητικά την GSK3 (Sutherland, C., et al., 1993), η οποία στοχεύει το c-Myc και την κυκλίνη D1 για αποικοδόμηση (Cohen, P. and Frame, S. 2001). Πιο πρόσφατα, η MAD1 (μιτωτική πρωτεΐνης 1), ένας καταστολέας του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και μετασχηματισμού, μέσω της Myc, φάνηκε να φωσφορυλιώνεται από την RSK στη Ser145 (Zhu, J., et al., 2008). Αυτή η φωσφορυλίωση οδηγεί σε αυξημένη

αποικοδόμηση του MAD1 από το σύστημα ουβικουΐτινης-πρωτεασώματος, οδηγώντας σε αυξημένη Myc-εξαρτώμενη μεταγραφή και κυτταρικό πολλαπλασιασμό. Η αναστολή της δραστηριότητας της RSK έδειξε να εμποδίζει τον εντοπισμό του κινητοχώρου των MAD1 και MAD2, γεγονός που υποδηλώνει ότι η RSK μπορεί να συμμετέχει στο σημείο ελέγχου σχηματισμού της ατράκτου (**Vigneron, S., et al.,2010**). Επιπλέον, η φωσφορυλίωση μέσω της RSK2 στη Ser431 της ογκοκατασταλτικής LKB1 (κινάση ήπατος B1), μια κινάση που βρέθηκε μεταλλαγμένη στο επιρρεπές σε καρκίνο Peutz-Jeghers σύνδρομο (**Sapkota, G. P. et al.,2001**), αναστέλλει την καταστολή της ανάπτυξης μέσω του LKB1 σε μελανώματα μέσω ενός άγνωστου μηχανισμού (**Zheng, B., et al.,2009**).

Ο ρόλος της RSK στην εξέλιξη της G2 / M έχει καθιερωθεί με τη χρήση του προτιμώμενου μοντέλου ωρίμανσης του ωοκυττάρου *Xenopus*. Τα ανώριμα ωάρια συνελήφθησαν στο τέλος της φάσης G2 της πρώτης μειωτικής διαίρεσης του κυττάρου. Μετά την έκθεση σε προγεστερόνη, η σύνθεση του (κινάση κινάσης MAPK) MAPKKK C-MOS ενεργοποιεί τον καταρράκτη MEK1 / ERK / RSK οδηγώντας στην είσοδο της M φάσης και στην επακόλουθη ωρίμανση σε ένα μη γονιμοποιημένο ωάριο. Η είσοδος στη φάση M ελέγχεται εν μέρει από το Cdc2 (διαίρεσης κυτταρικού κύκλου κινάση 2), ένα CDK που ρυθμίζεται μέσω φωσφορυλίωσης τόσο στη Thr14 όσο και στην Tyr15 από την ανασταλτική κινάση Myt1 (παράγοντας μεταγραφής της μυελίνης 1). Μεταξύ των ισομορφών RSK, η RSK2 έχει την πιο υψηλή έκφραση στα ωοκύτταρα *Xenopus* (**Bhatt, R. R. and Ferrell, J. E. 2000**) και φάνηκε να συμμετέχει στον έλεγχο των κρίσιμων σταδίων του μειωτικού κυτταρικού κύκλου (**Schmitt, A. and Nebreda, A. R. 2002**), συμπεριλαμβανομένης της εξέλιξης του G2 / M κατά τη διάρκεια της μείωσης I μέσω φωσφορυλίωσης και αναστολής της Myt1 κινάσης. Στην πραγματικότητα, η Myt1 ήταν το πρώτο υπόστρωμα της RSK που εντοπίστηκε (**Palmer, A., et al.,1998**), παρέχοντας άμεση σύνδεση μεταξύ της RSK και του κυτταρικού κύκλου. Η RSK2 βρέθηκε επίσης να προωθεί την ενεργοποίηση του Cdc2 με άμεση φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του Cdc25C, ένα ένζυμο που εμπλέκεται στην ενεργοποίηση του Cdc2 σε σύμπλεγμα με την κυκλίνη B (**Wang, R., et al.,2010**).

Η RSK ρυθμίζει επίσης τη μείωση του κυτταρικού κύκλου στον *Xenopus* μέσω της παύσης του κυτταρικού κύκλου στην μετάφαση II, μέσω της ERK, μια δραστηριότητα που είναι γνωστή ως CSF (κυτταροστατικός παράγοντας) (**Bhatt, R. R. and Ferrell, J. E. 1999 & Gross, S. D., et al.,1999**). Η RSK1 πιστεύεται ότι συμμετέχει μέχρι την παύση του κυτταρικού κύκλου στην μετάφαση II, εν μέρει φωσφορυλιώνοντας και ενεργοποιώντας την κινάση Bub1, έναν διαμεσολαβητή που αναστέλλει την APC (σύμπλεγμα προώθησης της ανάφασης) (**Schwab, M. S., et al.,2001 & Tunquist, B. J., et al.,2002**). Πιο πρόσφατα, η Emi2 [πρόωρος μιτωτικός αναστολέας 2, που ονομάζεται επίσης Eip1 (Emi1 πρωτεΐνη)], ένας άλλος αναστολέας της APC, έχει ταυτοποιηθεί ως ένα υπόστρωμα της RSK. Η φωσφορυλίωση της Emi2 από την RSK προωθεί την συσχέτιση Emi2-PP2A (πρωτεϊνική φωσφατάση 2A), διευκολύνοντας την αποφωσφορυλίωση της Emi2 σε

συγκεκριμένες θέσεις φωσφορυλίωσης της Cdc2, η οποία με τη σειρά της ενισχύει τη σταθερότητα και τη λειτουργία της Emi2.

Οι RSK1 και RSK2 εμφανίστηκαν πρόσφατα ως βασικοί ρυθμιστές της ογκογένεσης. Η έκτοπη έκφραση της RSK2 αποδείχθηκε ότι αυξάνει τον πολλαπλασιασμό καθώς και τον ανεξάρτητο αγκύρωση μετασχηματισμό (Cho, Y. Y., et al., 2007). Επιπλέον, η RSK2 πιστεύεται ότι μεσολαβεί στον εξαρτώμεο από την FGFR3 μετασχηματισμό των αιμοποιητικών κυττάρων, καθώς η FGFR3 φάνηκε να ενεργοποιεί την RSK2 διευκολύνοντας τόσο την αλληλεπίδραση των ERK-RSK2, όσο και την επακόλουθη φωσφορυλίωση της ERK από την RSK2 σε αυτά τα κύτταρα. Σε αντίθεση με ό, τι αρχικά πίστευαν, η RSK3 πρόσφατα έδειξε να δρα ως δυνητικός καταστολέας όγκων στον καρκίνο των ωοθηκών (Bignone, P. A., et al., 2007). Έκφραση της RSK3 βρέθηκε να υπορυθμίζεται στον καρκίνο των ωοθηκών, και τα κύτταρα που υπερεκφράζουν την RSK3 εμφάνισαν μειωμένο πολλαπλασιασμό, που οφείλεται στην παύση του κυτταρικού κύκλου στη φάση G1 και αυξημένη απόπτωση. Προς το παρόν, οι μηχανισμοί με τους οποίους η RSK3 ρυθμίζει αρνητικά τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων είναι ακόμα άγνωστη. Ο ρόλος της RSK4 στον πολλαπλασιασμό είναι ακόμα πιο αινιγματικός. Όσο για την RSK3, αρκετές αποδείξεις υποδεικνύουν ότι η RSK4 συμπεριφέρεται ως αρνητικός ρυθμιστής του πολλαπλασιασμού των κυττάρων. Εξωγενής έκφραση της RSK4 οδήγησε σε μειωμένο πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων του μαστού και αυξημένη συσσώρευση των κυττάρων στη φάση G0 / G1 του κυτταρικού κύκλου (Thakur, A., et al., 2008). Επιπλέον, η RSK4 βρέθηκε να διαδραματίζει έναν ανασταλτικό ρόλο κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης, καταστέλλοντας την RTK (υποδοχέας κινάσης τυροσίνης) σηματοδότηση (Myers, A. P., et al., 2004), όπως επίσης και να συμμετέχει σε p53-εξαρτώμενη αναστολή της ανάπτυξης των κυττάρων (Berns, K., et al., 2004), και στην κυτταρική γήρανση που προκαλείται από ογκογονίδιο (Lopez-Vicente, L., et al., 2009). Σαφώς, οι RSK3 και RSK4 φαίνεται να διαθέτουν ξεχωριστές λειτουργίες, και πιο εμπειριστατωμένες μελέτες θα πρέπει να κατανοήσουν πλήρως τους μηχανισμούς που διέπουν.

### **Κυτταρική ανάπτυξη και πρωτεϊνική σύνθεση**

Τα πρώτα στοιχεία που συνδέουν την RSK με τον μεταφραστικό έλεγχο προήλθαν από την ταυτοποίηση της RSK1 ως μία *in vitro* ριβοσωμική πρωτεϊνική (RP) S6 κινάση. Ωστόσο, οι S6K1 και S6K2 αργότερα φάνηκαν να είναι οι κυρίαρχες κινάσες rpS6 που λειτουργούν σε σωματικά κύτταρα. Λίγα χρόνια αργότερα, η RSK βρέθηκε να συνδέεται με πολυσώματα (Angenstein, F., et al., 1998), τα οποία είναι ριβοσώματα που μεταφράζουν mRNA. Πιο πρόσφατα, μελέτες που χρησιμοποιούν S6K1 - / - S6k2 - / - κύτταρα ή κύτταρα στα οποία γίνεται αγωγή με ραπαμυκίνη, έδειξαν ότι οι ισομορφές της RSK συμμετέχουν στην φωσφορυλίωση της rpS6 *in vivo*. Μετά την ενεργοποίηση του μονοπατιού RAS/ MAPK, η φωσφορυλίωση της rpS6 μέσω των RSK1 / 2, τόσο στη Ser235 όσο και στη Ser236, βρέθηκε να προάγει την συγκρότηση του cap συμπλόκου σύνδεσης και να συσχετίζεται με αυξημένη cap-εξαρτώμενη μετάφραση. Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν σθεναρά ότι η RSK είναι

ένας σημαντικός ρυθμιστής της μετάφρασης του mRNA, που παρέχει μία επιπλέον είσοδο, που ρυθμίζεται από ογκογονίδια και μιτογόνα, στον έλεγχο έναρξης της μετάφρασης. Αυτά τα δεδομένα υποδεικνύουν επίσης ότι η φωσφορυλίωση της rpS6 μπορεί να συμβεί με ένα τρόπο ανεξάρτητο του mTOR.

Ο mTOR αποτελεί βασικό ρυθμιστή της βιογένεσης του ριβοσώματος, της μετάφρασης του mRNA και της κυτταρικής ανάπτυξης, και η δράση του ελέγχεται από διάφορα αναπτυξιακά μονοπάτια. Η ενεργοποιημένη RSK προωθεί τη σηματοδότηση του mTOR μέσω της φωσφορυλίωσης του TSC2 στη Ser1798, το οποίο εμποδίζει τη δραστηριότητα του GAP (νουκλεοτίδιο γουανίνης -πρωτεΐνη ενεργοποίησης) απέναντι στη μικρή GTPase Rheb (**Roux, P. P., et al., 2004**). Πιο πρόσφατα, η RSK φάνηκε να φωσφορυλιώνει το Raptor, μία σημαντική mTORC1 (mTOR σύμπλοκο 1) δομική πρωτεΐνη, παρέχοντας μία ακόμη σύνδεση μεταξύ των μονοπατιών σηματοδότησης Ras / MAPK και mTOR (**Carriere, A., et al., 2008**). Καθίσταται προφανές ότι ορισμένοι τύποι κυττάρων είναι περισσότερο εξαρτώμενοι από την δραστηριότητα της RSK για τη ρύθμιση της mTOR σηματοδότησης από άλλα, όπως τα καρκινικά κύτταρα που φιλοξενούν ενεργοποιημένες μεταλλάξεις σε συστατικά του Ras / MAPK μονοπατιού (PP Roux, αδημοσίευτη εργασία).

Η RSK μπορεί επίσης να ρυθμίσει τη μετάφραση του mRNA μέσω της φωσφορυλίωσης του GSK3β. Η φωσφορυλίωση από την RSK στη Ser9 αναστέλλει τη δράση της κινάσης της GSK3β και ως εκ τούτου απελευθερώνει την αναστολή του παράγοντα εκκίνησης της μετάφρασης, eIF2B (**Wang, X., et al., 2002**). Είναι ενδιαφέρον ότι, η ενεργοποιημένη GSK3β και η LKB1-ενεργοποιημένη κινάση AMPK διεγείρει επίσης την δραστηριότητα του TSC2 (**Inoki, K., et al., 2003 & Inoki, K., et al., 2006**), γεγονός που υποδηλώνει ότι η RSK ρυθμίζει άμεσα ή έμμεσα τον TSC2. Επιπλέον, η RSK φωσφορυλιώνει την eEF2K (**Wang, X., et al., 2001**) και τον παράγοντα έναρξης της μετάφρασης eIF4B (**Shahbazian, D., et al., 2006**). Η φωσφορυλίωση του eIF4B μέσω της RSK, διεγείρει την πρόσληψή του στο συγκρότημα έναρξης μετάφρασης και ως εκ τούτου προάγει πιθανώς την μετάφραση των mRNAs που κωδικοποιούν πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη και επιβίωση (**Shahbazian, D., et al., 2010**). Αυτά τα ευρήματα δείχνουν επίσης ότι η RSK μπορεί να ελέγχει διάφορες βιολογικές διεργασίες, μεταβάλλοντας το πρότυπο μετάφρασης του mRNA. Πρόσφατα, η RSK βρέθηκε να παίζει ένα ρόλο στη μετάφραση του mRNA που προκαλείται από τους υποδοχείς τύπου III της IFN (ιντερφερόνη) (IFNλ) υποδοχείς, μία νέα οικογένεια κυτοκινών που εμπλέκονται σε ορισμένες ιικές μολύνσεις και κακοήθειες. Μια αδρανής μορφή του RSK1 βρέθηκε να σχετίζεται με την 4E-BP1 (eIF4E-δεσμευτική πρωτεΐνη 1), μία πρωτεΐνη που δεσμεύει την eIF4E και ως εκ τούτου αποτρέπει την έναρξη της μετάφρασης του mRNA. Η ενεργοποίηση της RSK1 μέσω των IFNλ, βρέθηκε να προωθεί τη φωσφορυλίωση της 4E-BP1 στη Thr37 / thr46, προωθώντας έτσι την επιλεκτική cap-εξαρτώμενη μετάφραση των γονιδίων που αναστέλλουν την ανάπτυξη τα γονίδια, των οποίων η μεταγραφή διεγείρεται κατά την εμπλοκή του υποδοχέα IFNλ (**Kroczyńska, B., et al., 2011**).

## Κυτταρική μετανάστευση

Ένας πιθανός ρόλος για την RSK στην κυτταρική μετανάστευση αναφέρθηκε για πρώτη φορά από την ταυτοποίηση της κυτταροσκελετικής πρωτεΐνης filamin A ως ένα υπόστρωμα φωσφορυλίωσης τόσο της RSK1 όσο και της RSK2. Πράγματι, αυτές οι ισομορφές της RSK προτάθηκαν να διαδραματίσουν ένα ρόλο στην μεμβράνη ruffling με τη φωσφορυλίωση της filamin A στη Ser2152 (**Woo, M. S., et al., 2004**), μια περιοχή που προηγουμένως φάνηκε να είναι φωσφορυλιωμένη από την PAK1 (p21-ενεργοποιημένη κινάση-1) και αναγκαία για τη μεμβράνη ruffling σε απόκριση της PAK1 ενεργοποίησης (**Vadlamudi, R. K. Et al., 2002**). Πιο πρόσφατα, οι RSK1 / 2 προσδιορίστηκαν ως βασικοί τελεστές του EMT (επιθηλιακή-μεσεγχυματική μετάβαση) μέσω του Ras / ERK. Οι RSK1 / 2 βρέθηκαν να διεγείρουν την κινητικότητα και την εισβολή, ενεργοποιώντας ένα μεταγραφικό πρόγραμμα που διαμορφώνει συντονισμένα το εξωκυτταρικό περιβάλλον, την κινητικότητα της ενδοκυτταρικής διάταξης και τους υποδοχείς που μεσολαβούν στην επικοινωνία μεταξύ αυτών των διαμερισμάτων. Ως εκ τούτου, οι RSK1 και RSK2 φάνηκαν να είναι σημαντικοί ERK1 / 2 τελεστές της Raf1 -εξαρτώμενης μετανάστευσης σε κύτταρα MDCK. Κατά συνέπεια, μια εξέταση RNAi ευρείου γονιδιώματος, υπογράμμισε έναν εξέχοντα ρόλο για την RSK ως ένας κοινός τελεστής για πολλαπλά μεταναστευτικά ερεθίσματα. Φαρμακολογικοί αναστολείς όλων των ισομορφών της RSK χρησιμοποιήθηκαν σε μία μελέτη, υποδεικνύοντας ότι διάφορες ισομορφές της RSK θα μπορούσαν να εμπλέκονται στον μεταναστευτικό φαινότυπο (**Smolen, G. A., et al., 2010**). Πιο πρόσφατα, η RSK φάνηκε να φωσφορυλιώνει την περιοχή SH3 (Src ομολογίας 3) που περιέχει την πρωτεΐνη SH3P2 σε ένα κατάλοιπο που αναστέλλει την λειτουργία του (**Tanimura, S., et al., 2011**). Αυτή η πρωτεΐνη φαίνεται να είναι ένας αρνητικός ρυθμιστής της κυτταρικής κινητικότητας, υποδεικνύοντας ένα νέο μηχανισμό με τον οποίο η ενεργοποίηση της RSK προάγει την κυτταρική μετανάστευση.

## 2.1.9 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΤΗΣ RSK

Η συμμετοχή των ισομορφών της RSK σε φυσιολογικές λειτουργίες τονίστηκε από την διαπίστωση ότι η αδρανοποιημένες μεταλλάξεις στο γονίδιο *Rps6ka3* (το οποίο κωδικοποιεί την RSK2) ήταν η αιτία του CLS (**Trivier, E., et al., 1996**). Το CLS είναι ένα σύνδρομο X νοητικής υστέρησης, το οποίο χαρακτηρίζεται από άνδρες ασθενείς με σοβαρή ψυχοκινητική καθυστέρηση, και δυσπλασίες προσώπου, χεριών και σκελετικές (**Pereira, P. M., et al., 2010**). Οι γυναίκες ασθενείς επηρεάζονται συνήθως πιο ήπια και μεταβλητά, και συνεπώς είναι πιο δύσκολο να εντοπιστεί. Επιπλέον, τα άτομα με CLS εμφάνισαν σημαντικά μειωμένο συνολικό όγκο του εγκεφάλου, με την παρεγκεφαλίδα και τον

ιππόκαμπο να επηρεάζονται ιδιαίτερα (**Kesler, S. R., et al., 2007**). Μεταλλάξεις στην *Rps6ka3* είναι ετερογενείς και συχνά οδηγούν σε περικομμένες μορφές της RSK2 που στερούνται δραστηριότητα φωσφοτρανσφεράσης (**Delaunoy, J., et al., 2001**). Οι ποντικοί RSK2-νοκ-άουτ έχουν δημιουργηθεί και μελετηθεί εκτενώς. Αυτά τα ποντίκια παρουσιάζουν προβλήματα στην μάθηση και στις γνωστικές λειτουργίες, καθώς και έλλειψη συντονισμού σε σύγκριση με τα νεογνά αγρίου τύπου, γεγονός που υποδηλώνει ότι η RSK2 μπορεί να απαιτείται για τη σωστή νευρωνική ανάπτυξη και λειτουργία (**Poirier, R., et al., 2007**). Συνεπώς, μια πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η εξάντληση της RSK2 μέσω των shRNA (μικρή φουρκέτα RNA), διαταράσσει τη διαφοροποίηση των πρόδρομων νευρώνων σε νευρώνες και τους διατηρεί ως πολλαπλασιαζόμενα ακτινωτά πρόδρομα κύτταρα (**Dugani, C. B., et al., 2010**). Παρά το γεγονός ότι αυτά τα ευρήματα έδειξαν ότι άλλες ισομορφές της RSK δεν αντισταθμίζουν την απώλεια της RSK2, ο αναπτυξιακός ρόλος της RSK2 στο νευρικό σύστημα παραμένει άγνωστος και θα απαιτήσει περαιτέρω έρευνα. Διαγραφή της ενιαίας RSK ισομορφής της *Drosophila* οδηγεί σε προβλήματα μάθησης (**Putz, G., et al., 2004**), αλλά εάν αυτά τα προβλήματα προκύπτουν από τη συγκεκριμένη απώλεια της δραστηριότητας της RSK ή από την απορυθμισμένη ενεργοποίηση ή λειτουργία της ERK, μένει να καθοριστεί. Ποντίκια που στερούνται της RSK2 αναπτύσσουν, επίσης, οστεοπενία, μια προοδευτική σκελετική νόσος που προκαλείται από κύτταρικές ανωμαλίες στη δράση των οστεοβλαστών. Τα ευρήματα έδειξαν ότι οι μεταγραφικοί παράγοντες ATF4 και c-Fos μπορεί να είναι *in vivo* υποστρώματα της RSK2 υπεύθυνα για την ανάπτυξη οστεοσαρκώματος. Κατά συνέπεια, η διαγραφή του ATF4 στον ποντικό βρέθηκε να *phenocopy* εν μέρει την απώλεια του RSK2. Επιπλέον, τα ποντίκια knockout-RSK2 είναι περίπου 15% μικρότερα από ό, τι τα νεογνά αγρίου τύπου, με μια συγκεκριμένη απώλεια λευκού λιπώδη ιστού, που συνοδεύεται από μειωμένα επίπεδα ορού του λιποκυτταρικού πεπτιδίου, τη λεπτίνη (**El-Haschimi, K., et al., 2003**). Αν και τα τριπλά-νοκ άουτ RSK1 / RSK2 / RSK3 είναι βιώσιμα, καμία άλλη πληροφορία σχετικά με το φαινότυπό τους δεν έχει ακόμη αναφερθεί (**Dumont, J., et al., 2005**). Το γονίδιο *Rps6ka6*, το οποίο κωδικοποιεί την RSK4, βρίσκεται στο χρωμόσωμα X και προτάθηκε ότι εμπλέκεται σε μη-ειδική φυλοσύνδετη νοητική καθυστέρηση. Πρόσφατα στοιχεία δείχνουν ότι η διαγραφή της *Rps6ka6* διαταράσσει την πρόιμη εμβρυϊκή ανάπτυξη (**Cox, B. J., et al., 2010**), αλλά

περαιτέρω πειράματα θα πρέπει να επιβεβαιώσουν και να χαρακτηρίσουν αυτά τα προκαταρκτικά αποτελέσματα σχετικά με τον ρόλο της RSK4 κατά την ανάπτυξη.

## 2.2 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ RSK ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΠΑΓΚΡΕΑΤΟΣ

Το 2012 διεξήχθη μια μελέτη από τον Abed Khalaileh και τους συνεργάτες του, έχοντας ως στόχο να εξασθενίσουν βλάβες του DNA και την καταστολή του όγκου, κατά την ανάπτυξη του καρκίνου του παγκρέατος, μέσω της φωσφορυλίωσης της ριβοσωμικής πρωτεΐνης S6. Η μελέτη αυτή επικεντρώθηκε στην ριβοσωμική πρωτεΐνη S6 (rpS6), η οποία είναι ένας τελεστής της mTOR, η οποία δεν έχει εμπλακεί προηγουμένως στον καρκίνο. Η φωσφορυλίωση του rpS6 αυξήθηκε σε παγκρεατικά κυψελοειδή κύτταρα κατά την εμφύτευση του χημικού καρκινογόνου 7,12-διμεθυλοβενζ (α) ανθρακένιο (DMBA) ή διαγονιδιακή έκφραση του μεταλλαγμένου KRAS. Για να εξεταστεί η λειτουργική σημασία της φωσφορυλίωσης της rpS6, χρησιμοποιήθηκαν ποντίκια knockin, τα οποία στερούνται των πέντε φωσφορυλιωμένων θέσεων της rpS6 ( rpS6P / ποντίκια). Εντυπωσιακά, η ανάπτυξη πρόδρομων βλαβών του παγκρεατικού καρκίνου που προκαλείται είτε από το DMBA ή από μεταλλαγμένο Kras, ήταν σημαντικά μειωμένη στα rpS6P /ποντίκια. Οι μεταλλάξεις της rpS6 που εκφράζουν ογκογόνο Kras, έδειξαν αυξημένη p53 μαζί με αυξημένη χρώση G-H2AX και 53bp1 (Trp53bp1) σε περιοχές μεταπλασικών κυψελιδικών πόρων, γεγονός που υποδηλώνει ότι η φωσφορυλίωση της rpS6 εξασθενεί τον Kras, ο οποίος προκαλεί βλάβη του DNA και την καταστολή του όγκου μέσω της p53. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι η φωσφορυλίωση της rpS6 είναι σημαντική για την έναρξη του καρκίνου του παγκρέατος (**Abed Khalaileh et. al, 2012**).



## 2.3 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΗ

Το 2014 διεξήχθη μία μελέτη από τον HENRY I.C. LOWE και τους συνεργάτες του, με στόχο τη διερεύνηση της θεραπευτικής σκοπιμότητας της διβενζυλ-τρισουλφιδικής (DTS) ως ένας ισχυρός αναστολέας της κινάσης μικρών μορίων για τη θεραπεία του καρκίνου. Συγκεκριμένα ερευνήθηκαν οι ανασταλτικές επιδράσεις της DTS έναντι ενός μεγάλου πάνελ κινασών χρησιμοποιώντας μια καθιερωμένη διαδικασία ανταγωνιστικής πρόσδεσης. Στοιχεία του πολλαπλασιασμού των κυττάρων ελήφθησαν με τη χρήση της χρωματομετρικής δοκιμασίας WST-1. Βρέθηκε ότι η DTS ανέστειλε τη δραστηριότητα της περιοχής C-τερματισμού της κινάσης της RSK1 ( 80% σε σύγκριση με τον έλεγχο) με ένα kd από 1.3μM. Αντι-πολλαπλασιαστική δράση της DTS παρατηρήθηκε σε μικρά καρκινικά κύτταρα του πνεύμονα, του παγκρέατος, του μαστού και του προστάτη με τιμές IC50 κυμαινόμενες από 0,34 έως 0,84 μM. Συμπερασματικά, η DTS έχει εντοπιστεί ως ένας εξαιρετικά επιλεκτικός και ισομορφής ειδικός αναστολέας της κινάσης RSK1 με ευρείες δυνατότητες στη θεραπεία του καρκίνου (HENRY I.C. LOWE et al., 2014).

Το 2011 πραγματοποιήθηκε μία άλλη σημαντική μελέτη από τον Shin-Kang S και τους συνεργάτες του, με στόχο την καταστολή καρκινικών κυττάρων του παγκρέατος. Στην έρευνα αυτή, μελετήθηκαν οι τοκοτριενόλες, οι οποίες είναι μέλη της οικογένειας της βιταμίνης E, αλλά, σε αντίθεση με τις τοκοφερόλες, κατέχουν μία ακόρεστη ισοπρενοειδούς πλευρική αλυσίδα που παρέχει ανώτερες αντι-καρκινικές ιδιότητες. Η ικανότητα των τοκοτριενολών να αναστέλλουν επιλεκτικά το μονοπάτι της αναγωγής HMG-CoA μέσω της μετα-μεταφραστικής αποδόμησης και να καταστέλλουν την δραστηριότητα του παράγοντα μεταγραφής NP-κB θα μπορούσε να είναι η βάση για μερικές από αυτές τις ιδιότητες. Οι μελέτες τους έδειξαν ότι η γ- και δ-τοκοτριενόλες έχουν ισχυρή αντιπολλαπλασιαστική δράση σε παγκρεατικά καρκινικά κύτταρα (Panc-28, MIA PaCa-2, Panc-1 και BxPC-3). Πράγματι, οι δύο τοκοτριενόλες επάγουν κυτταρικό θάνατο (> 50%) με τον προσδιορισμό κυτταρικής βιωσιμότητας MTT σε τέσσερις παγκρεατικές καρκινικές κυτταρικές σειρές. Εξετάσθηκαν επίσης, οι επιπτώσεις των τοκοτριενολών για τα AKT και Ras / Raf / MEK / ERK μονοπάτια σηματοδότησης με την ανάλυση του Western blot. Οι γ- και δ-τοκοτριενόλη θεραπεία των κυττάρων μείωσε την ενεργοποίηση της ERK MAP κινάσης και τον μεταγενέστερο μεσολαβητή RSK (πρωτεϊνική ριβοσωμική S6 κινάση) καθώς και την καταστολή της ενεργοποίησης της AKT πρωτεϊνικής κινάσης. Η καταστολή της ενεργοποίησης AKT με γ-τοκοτριενόλη οδήγησε σε αρνητική ρύθμιση του p-GSK-3β και σε θετική ρύθμιση συνοδευόμενη από την πυρηνική μετατόπιση του Foxo3. Αυτές οι επιδράσεις προκαλούνται από την αρνητική ρύθμιση του Her2 / ErbB2 σε επίπεδο αγγελιοφόρου. Οι τοκοτριενόλες αλλά όχι οι τοκοφερόλες ήταν σε θέση να προκαλέσουν τις παρατηρούμενες επιδράσεις. Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι οι ισομορφές της τοκοτριενόλης της βιταμίνης E μπορεί να επάγουν απόπτωση σε καρκινικά κύτταρα του παγκρέατος μέσω της καταστολής ζωτικής κυτταρικής επιβίωσης και πολλαπλασιαστικών οδών σηματοδότησης, όπως αυτές που προκαλούνται από την PI3-κινάση / AKT και ERK / MAP κινάσες μέσω της αρνητικής ρύθμισης έκφρασης του Her2 / ErbB2. Τα μοριακά συστατικά αυτού του μηχανισμού δεν έχουν διευκρινιστεί πλήρως και χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση (Shin-Kang S et al., 2011).

Μία ακόμη μελέτη πραγματοποιήθηκε το 2013 από τον Nada Milosevic και τους συνεργάτες του, με στόχο την ανάπτυξη αναστολέων για τη θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος. Ο καρκίνος του παγκρέατος χαρακτηρίζεται από υψηλό βαθμό αντοχής στη χημειοθεραπεία. Η αναστολή του υποδοχέα του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα (EGFR) χρησιμοποιώντας το μικρό μοριακό αναστολέα-erlotinib, έδειξε να παρέχει ένα μικρό όφελος επιβίωσης σε μια υποομάδα ασθενών. Για τον προσδιορισμό των κινάσων των οποίων η αναστολή δρα συνεργικά με τον αναστολέα erlotinib, ο Nada Milosevic και η ομάδα του χρησιμοποίησαν ένα μικρό παρεμβαλλόμενο RNA (siRNA) -με βάση την απώλεια λειτουργίας με την παρουσία του erlotinib. Από τις 779 κινάσες που δοκιμάστηκαν, εντοπίστηκαν αρκετοί στόχοι, των οποίων η αναστολή ενεργεί συνεργιστικά θανατηφόρα με την αναστολή του EGFR από το erlotinib, μεταξύ των οποίων και η S6 ριβοσωμική πρωτεϊνική κινάση S6 κινάση 2 (RPS6KA2) / ριβοσωμική S6 κινάση 3. Η ενεργή RPS6KA2 εκφράστηκε σε περίπου 40% των 123 ανθρωπίνων καρκινικών παγκρεατικών ιστών. Η RPS6KA2 έδειξε να ενεργεί κατάντη της EGFR / RAS / μιτογονική πρωτεϊνική κινάση(MEK) / εξωκυτταρικού σήματος κινάση (ERK) σηματοδότησης και ενεργοποιήθηκε από τον EGF ανεξάρτητα από την παρουσία του KRAS μεταλλάξεων. Knockdown του RPS6KA2 με siRNA οδήγησε σε αυξημένη απόπτωση μόνο με την παρουσία του erlotinib, ενώ η ενεργοποίηση ή υπερέκφραση της RPS6KA2, η οποία έχει διασωθεί από erlotinib- και gemcitabine προκάλεσε απόπτωση. Αυτό το αποτέλεσμα προκλήθηκε τουλάχιστον εν μέρει από την ενεργοποίηση της ριβοσωμικής πρωτεΐνης S6. Η Γενετική καθώς και η φαρμακολογική αναστολή της RPS6KA2 από τον αναστολέα BI-D1870 ενήργησε συνεργιστικά με το erlotinib. Με την εφαρμογή αυτής της θανατηφόρας συνεργιστικής εξέτασης, χρησιμοποιώντας μια βιβλιοθήκη παρεμβαλλόμενου RNA, εντοπίστηκε η RPS6KA2 ως πιθανός στόχος φαρμάκων των οποίων η αναστολή, ενισχύει συνεργιστικά το αποτέλεσμα του erlotinib για την επιβίωση των καρκινικών κυττάρων. Συνεπώς, η παρούσα κινάση αντιπροσωπεύει ένα υποσχόμενο υποψήφιο φάρμακο κατάλληλο για την ανάπτυξη νέων αναστολέων για τη θεραπεία του καρκίνου του παγκρέατος (Nada Milosevic et al., 2013).

Μία άλλη πολύ σημαντική μελέτη, που αναφέρθηκε και παραπάνω, η οποία διεξήχθη το 2012 από τον Abed Khalaileh και τους συνεργάτες του, παρείχε γενετικές αποδείξεις για τη συμμετοχή της φωσφορυλιωμένης gpS6 στην ανάπτυξη του καρκίνου του παγκρέατος. Η φωσφορυλίωση της gpS6 μέσω του mTORC1 αυξάνεται σε κυψελοειδή κύτταρα και μεταπλαστικές περιοχές στο πάγκρεας εμφυτευμένων ποντικών με DMBA ή που εκφράζουν μεταλλαγμένες Kras, αλλά όχι σε αγωγούς και PanIN βλάβες. Χρησιμοποιώντας τόσο ραπαμυκίνη όσο και μεταλλαγμένα ποντίκια που στερούνται της gpS6 φωσφορυλίωσης, έδειξαν ότι η φωσφορυλίωση της gpS6 είναι ένας σημαντικός μεσολαβητής του ογκογόνου αποτελέσματος του Kras. Τα στοιχεία τους δείχνουν ότι στην απουσία της p-gpS6, το μεταλλαγμένο Kras προκαλεί βλάβη στο DNA κατά προτίμηση σε μεταπλαστικές περιοχές, το οποίο πυροδοτεί έκφραση του p53. Με τη σειρά του το p53, μπορεί να μετριάσει την ανάπτυξη PanIN βλάβης. Έτσι, τα σημερινά ευρήματά τους όρισαν μία εκπληκτική νέα λειτουργία της gpS6 φωσφορυλίωσης στη βιολογία του καρκίνου, αποτρέποντας τις βλάβες που προκαλούνται από το μεταλλαγμένο KRAS. Η φωσφορυλιωμένη gpS6 θα μπορούσε κατ' αρχήν να μειώνει το σχηματισμό των ROS, ένας γνωστός επαγωγέας βλάβης του DNA, ή εναλλακτικά να μειώνει το ογκογονικό στρες κατά την αντιγραφή και την επακόλουθη βλάβη του DNA. Τα αποτελέσματά τους δείχνουν ότι η αναστολή της φωσφορυλίωσης της gpS6 μπορεί να εξασθενήσει την ανάπτυξη καρκίνου μόνο με την παρουσία ενός άθικτου μονοπατιού p53. Ωστόσο, αναγνωρίζεται ότι τα ευρήματα αυτά δεν αποδεικνύουν ότι η βλάβη του DNA και η επαγωγή του p53 είναι οι μεσολαβητές-κλειδιά της αναστολής καρκίνου σε gpS6 μεταλλάξεις. Πειράματα με KRAS gpS6P / ποντίκια που στερούνται της p53, μπορεί να παρέχουν μια αιτιώδη συνάφεια: το μοντέλο τους προβλέπει ότι η ανεπάρκεια της p53 θα ακυρώσει τις αντιογκογονικές επιπτώσεις της ανεπάρκειας της gpS6 φωσφορυλίωσης. Πειράματα που εξετάζουν αυτή την ιδέα βρίσκονται σε εξέλιξη.

Ενώ η σημασία του mTORC1 στον καρκίνο είναι καλά κατανοητή, συνήθως πιστεύεται ότι ο τελεστής- κλειδί αυτής της οδού στον καρκίνο είναι ο 4E-BP. Η S6K είναι επίσης γνωστή ως ένας σημαντικός παράγοντας στην ανάπτυξη του καρκίνου, αλλά σχετικά λίγη προσοχή έχει δοθεί στο ρόλο της φωσφορυλίωσης της gpS6 στην ογκογονικότητα. Η εργασία αυτή παρέχει μια πρώτη άμεση λειτουργική σύνδεση μεταξύ της φωσφορυλίωσης gpS6 και του καρκίνου. Ο ρόλος της p-gpS6 στην ανάπτυξη του καρκίνου του παγκρέατος είναι ιδιαίτερα ενδιαφέροντα υπό το φως του ήπιου φαινοτύπου των gpS6P / ποντικών. Εννοιολογικά, αυτό θυμίζει συνθετικές θανατηφόρες αλληλεπιδράσεις, που εκθέτουν μια απαίτηση για ένα συγκεκριμένο γονίδιο μόνο στο πλαίσιο της έκφρασης του ογκογονιδίου και του φαινομένου του «μη-ογκογονικού εθισμού». Κατ' αρχήν, απαιτούνται γονιδιακά προϊόντα για την ανάπτυξη του καρκίνου, έχοντας μικρή επίδραση στα φυσιολογικά κύτταρα, τα οποία αποτελούν ιδανικούς στόχους για τη θεραπεία του καρκίνου, με ελάχιστη αναμενόμενη τοξικότητα. Ενώ οι φαρμακολογικοί αναστολείς της gpS6 φωσφορυλίωσης δεν υπάρχουν αυτή τη στιγμή, αναστολείς της mTORC1 όπως η ραπαμυκίνη, είναι σε κλινική χρήση, συμπεριλαμβανομένων των κλινικών δοκιμών στον άνθρωπινο καρκίνο του παγκρέατος (PDAC). Δυστυχώς, τα αποτελέσματα

αυτών των δοκιμών είναι μέχρι στιγμής απογοητευτικά. Τα δεδομένα αυτής της μελέτης πρότειναν τουλάχιστον μια μερική εξήγηση για αυτή την έκβαση. Οι δοκιμές ραπαμυκίνης διεξήχθησαν σε ασθενείς με προχωρημένο PDAC. Σε τέτοιες περιπτώσεις, είναι ιδιαίτερα πιθανό ότι η p53 ή η οδός της p53 έχει ήδη αδρανοποιηθεί, και ως εκ τούτου, η απενεργοποίηση της pS6 φωσφορυλίωσης έχει χάσει την επίδραση καταστολής του όγκου. Τα στοιχεία τους δείχνουν ότι η αναστολή της φωσφορυλίωσης pS6 (και ενδεχομένως της mTORC1) στον καρκίνο του παγκρέατος είναι πιο πιθανό να έχουν επίδραση στο πλαίσιο του άθικτου p53, που είναι σε πολύ πρώιμα στάδια της ασθένειας. Ως εκ τούτου, η χρόνια χρήση αναστολέων mTOR και / ή η ανάπτυξη ενός πιο συγκεκριμένου φαρμάκου με στόχο την pS6 φωσφορυλίωση για την πρόληψη της νόσου σε άτομα που διατρέχουν κινδύνου για PDAC είναι ενδιαφέρουσες δυνατότητες (**Abed Khalaileh et. al, 2012**).

Με βάση τις πρόσφατες προόδους στην κατανόηση των βιολογικών λειτουργιών της, η RSK αναδύεται ως ένας πολυλειτουργικός τελεστής του καταρράκτη σηματοδότησης Ras / MAPK. Αυτές οι ανακαλύψεις έχουν διευκολυνθεί με τη χρήση μικρών μοριακών αναστολέων και RNAi, τα οποία έχουν επεκτείνει το ρεπερτόριο των βιολογικών λειτουργιών που σχετίζονται με την οικογένεια RSK. Ως κρίσιμοι ρυθμιστές των διαφόρων υποστρωμάτων που εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη, τον πολλαπλασιασμό, την επιβίωση και την κινητικότητα, γίνεται ολοένα και πιο σημαντικό να εξεταστεί ο ρόλος των μεμονωμένων ισομορφών της RSK σε αυτές τις βιολογικές διεργασίες. Προς αυτό το σκοπό, η ανάπτυξη ζώων knockout για τις άλλες ισομορφές RSK μάλλον θα βοηθήσει στην επίλυση των βιολογικών και φυσιολογικών λειτουργιών τους. Πρόσφατα, μια μεγάλης κλίμακας πρωτεομική προσέγγιση, εντόπισε μεγάλο αριθμό πιθανών υποστρωμάτων της RSK, και τέτοιες προσεγγίσεις υψηλής απόδοσης θα βοηθήσουν να καθορίσουν τους ακριβείς στόχους ή / και συνεργάτες, ειδικοί για κάθε ισομορφή της RSK.

Λόγω του αυξανόμενου αριθμού καρκίνων που εμφανίζουν απορυθμισμένη έκφραση ή / και δραστηριότητα της RSK, οι ρόλοι που παίζονται από το κάθε μέλος της οικογένειας RSK σε ανθρώπινες ασθένειες θα απαιτήσουν επίσης περαιτέρω έρευνα. Επιπλέον, η ανακάλυψη των RSK-ειδικών αναστολέων θα επιτρέψει τη δοκιμή της RSK ως δυνητικός θεραπευτικός στόχος σε προ-κλινικές μελέτες καρκίνου. Η έρευνα σε αυτόν τον τομέα θα διευρύνει τις γνώσεις μας της RSK σηματοδότησης στον καρκίνο και θα αποκαλύψει νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις για θεραπεία. Πράγματι, η στόχευση της RSK στον καρκίνο μπορεί να είναι μία πολύτιμη και πιο ειδική εναλλακτική της αναστολής των ανάντη συστατικών του μονοπατιού Ras / MAPK, όπως οι MEK1 / 2, αλλά αυτή η ενδιαφέρουσα υπόθεση θα πρέπει να αξιολογηθεί άμεσα.

# Βιβλιογραφία

Alcorta, D. A., Crews, C. M., Sweet, L. J., Bankston, L., Jones, S. W. and Erikson, R. L. (1989) Sequence and expression of chicken and mouse rsk: homologs of *Xenopus laevis* ribosomal S6 kinase. *Mol. Cell. Biol.* **9**, 3850-3859

Angenstein, F., Greenough, W. T. and Weiler, I. J. (1998) Metabotropic glutamate receptor-initiated translocation of protein kinase p90<sup>rsk</sup> to polyribosomes: a possible factor regulating synaptic protein synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**, 15078-15083

Arthur, J. S. (2008) MSK activation and physiological roles. *Front. Biosci.* **13**, 5866-5879

Backman S., V. Stambolic, et al. (2002). "PTEN function in mammalian cell size regulation". *Curr Opin Neurobiol* **12**(5): 516-22.

Bain, J., Plater, L., Elliott, M., Shpiro, N., Hastie, C. J., McLauchlan, H., Klevernic, I., Arthur, J. S., Alessi, D. R. and Cohen, P. (2007) The selectivity of protein kinase inhibitors: a further update. *Biochem. J.* **408**, 297-315

Bakiri, L., Reschke, M. O., Gefroh, H. A., Idarraga, M. H., Polzer, K., Zenz, R., Schett, G. and Wagner, E. F. (2011) Functions of Fos phosphorylation in bone homeostasis, cytokine response and tumorigenesis. *Oncogene* **30**, 1506-1517

Berns, K., Hijmans, E. M., Mullenders, J., Brummelkamp, T. R., Velds, A., Heimerikx, M., Kerkhoven, R. M., Madiredjo, M., Nijkamp, W. and Weigelt, B. (2004) A large-scale RNAi screen in human cells identifies new components of the p53 pathway. *Nature* **428**, 431-437

Bhatt, R. R. and Ferrell, J. E. (1999) The protein kinase p90 rsk as an essential mediator of cytotstatic factor activity. *Science* **286**, 1362-1365

Bhatt, R. R. and Ferrell, J. E. (2000) Cloning and characterization of *Xenopus* Rsk2, the predominant p90 Rsk isozyme in oocytes and eggs. *J. Biol. Chem.* **275**, 32983-32990

Bignone, P. A., Lee, K. Y., Liu, Y., Emilion, G., Finch, J., Soosay, A. E., Charnock, F. M., Beck, S., Dunham, I., Mungall, A. J. and Ganesan, T. S. (2007) RPS6KA2, a putative tumour suppressor gene at 6q27 in sporadic epithelial ovarian cancer. *Oncogene* **26**, 683-700

Bjorbaek, C., Zhao, Y. and Moller, D. E. (1995) Divergent functional roles for p90<sup>rsk</sup> kinase domains. *J. Biol. Chem.* **270**, 18848-18852

Bleeker, FE; Lamba, S; Zanon, C; Molenaar, RJ; Hulsebos, TJ; Troost, D; van Tilborg, AA; Vandertop, WP; Leenstra, S; van Noorden, CJ; Bardelli, A (26 September 2014). "Mutational profiling of kinases in glioblastoma.". *BMC cancer* **14**: 718.

Blenis, J. and Erikson, R. L. (1984) Phosphorylation of the ribosomal protein S6 is elevated in cells transformed by a variety of tumor viruses. *J. Virol.* **50**, 966-969

Blenis, J., Chung, J., Erikson, E., Alcorta, D. A. and Erikson, R. L. (1991) Distinct mechanisms for the activation of the RSK kinases/MAP2 kinase/pp90<sup>rsk</sup> and pp70-S6 kinase signaling systems are indicated by inhibition of protein synthesis. *Cell Growth Differ.* **2**, 279-285

Brandt F., S.A. Etchells, et al. (2009). "The native 3D organization of bacterial polysomes." *Cell* **136**(2): 261-71.

Bruning, J. C., Gillette, J. A., Zhao, Y., Bjorbaeck, C., Kotzka, J., Knebel, B., Avci, H., Hanstein, B., Lingohr, P. and Moller, D. E. (2000) Ribosomal subunit kinase-2 is required for growth factor-stimulated transcription of the *c-Fos* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **97**, 2462-2467

Buxade, M., Parra-Palau, J. L. and Proud, C. G. (2008) The Mnks: MAP kinase-interacting kinases (MAP kinase signal-integrating kinases). *Front. Biosci.* **13**, 5359-5373

Cargnello, M. and Roux, P. P. (2011) Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **75**, 50-83

Carriere, A., Cargnello, M., Julien, L. A., Gao, H., Bonneil, E., Thibault, P. and Roux, P. P. (2008) Oncogenic MAPK signaling stimulates mTORC1 activity by promoting RSK-mediated raptor phosphorylation. *Curr. Biol.* **18**, 1269-1277

Chan AT, Manson JE, Albert CM, Chae CU et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, acetaminophen, and the risk of cardiovascular events. *Circulation* **113**(12) (2006) 1578-87

Chen, R. H., Juo, P. C., Curran, T. and Blenis, J. (1996) Phosphorylation of c-Fos at the C-terminus enhances its transforming activity. *Oncogene* **12**, 1493-1502

Cho, Y. Y., Yao, K., Kim, H. G., Kang, B. S., Zheng, D., Bode, A. M. and Dong, Z. (2007) Ribosomal s6 kinase 2 is a key regulator in tumor promoter induced cell transformation. *Cancer Res.* **67**, 8104-8112

Chrestensen, C. A. and Sturgill, T. W. (2002) Characterization of the p90 ribosomal S6 kinase 2 carboxyl-terminal domain as a protein kinase. *J. Biol. Chem.* **277**, 27733-27741

- Chung, J., Kuo, C. J., Crabtree, G. R. and Blenis, J. (1992) Rapamycin-FKBP specifically blocks growth-dependent activation of and signaling by the 70 kd S6 protein kinases. *Cell* **69**, 1227-1236
- Cohen, P. and Frame, S. (2001) The renaissance of GSK3. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2**, 769-776
- Cohen, M. S., Zhang, C., Shokat, K. M. and Taunton, J. (2005) Structural bioinformatics based design of selective, irreversible kinase inhibitors. *Science* **308**, 1318-1321
- Cox, B. J., Vollmer, M., Tamplin, O., Lu, M., Biechele, S., Gertsenstein, M., van Campenhout, C., Floss, T., Kuhn, R. and Wurst, W. (2010) Phenotypic annotation of the mouse X chromosome. *Genome Res.* **20**, 1154-1164
- Dai M.S. and H. Lu (2008). "Crosstalk between c-Myc activity and ribosome in ribosomal biogenesis and cancer." *J Cell Biochem* **105**(3): 670-7.
- David, J. P., Mehic, D., Bakiri, L., Schilling, A. F., Mandic, V., Priemel, M., Idarraga, M. H., Reschke, M. O., Hoffmann, O., Amling, M. and Wagner, E. F. (2005) Essential role of RSK2 in c-Fos-dependent osteosarcoma development. *J. Clin. Invest.* **115**, 664-672
- De Cesare, D., Jacquot, S., Hanauer, A. and Sassone-Corsi, P. (1998) Rsk-2 activity is necessary for epidermal growth factor-induced phosphorylation of CREB protein and transcription of *c-fos* gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **95**, 12202-12207
- Delaunoy, J., Abidi, F., Zeniou, M., Jacquot, S., Merienne, K., Pannetier, S., Schmitt, M., Schwartz, C. and Hanauer, A. (2001) Mutations in the X-linked RSK2 gene (*RPS6KA3*) in patients with Coffin–Lowry syndrome. *Hum. Mutat.* **17**, 103-116
- Deshmukh M., Y.F. Tsay, et al. (1993). "Yeast ribosomal protein L1 is required for the stability of newly synthesized 5S rRNA and the assembly of 60S ribosomal subunits." *Mol Cell Biol* **13**(5): 2835-45.
- Dhomen, N. and Marais, R. (2007) New insight into BRAF mutations in cancer. *Curr. Opin. Genet. Dev.* **17**, 31-39
- Dinman J.D. (2009). "The eukaryotic ribosome: current status and challenges." *J Biol Chem* **284**(18): 11761-5.
- Doehn, U., Gammeltoft, S., Shen, S. H. and Jensen, C. J. (2004) p90 ribosomal S6 kinase 2 is associated with and dephosphorylated by protein phosphatase 2Cδ. *Biochem. J.* **382**, 425-431
- Dugani, C. B., Paquin, A., Kaplan, D. R. and Miller, F. D. (2010) Coffin–Lowry syndrome: a role for RSK2 in mammalian neurogenesis. *Dev. Biol.* **347**, 348-359



Dummler, B. A., Hauge, C., Silber, J., Yntema, H. G., Kruse, L. S., Kofoed, B., Hemmings, B. A., Alessi, D. R. and Frodin, M. (2005) Functional characterization of human RSK4, a new 90-kDa ribosomal S6 kinase, reveals constitutive activation in most cell types. *J. Biol. Chem.* **280**, 13304-13314

Dumont, J., Umbhauer, M., Rassinier, P., Hanauer, A. and Verlhac, M. H. (2005) p90<sup>Rsk</sup> is not involved in cytostatic factor arrest in mouse oocytes. *J. Cell Biol.* **169**, 227-231

Eisinger-Mathason, T. S., Andrade, J., Groehler, A. L., Clark, D. E., Muratore-Schroeder, T. L., Pasic, L., Smith, J. A., Shabanowitz, J., Hunt, D. F., Macara, I. G. and Lannigan, D. A. (2008) Codependent functions of RSK2 and the apoptosis-promoting factor TIA-1 in stress granule assembly and cell survival. *Mol. Cell* **31**, 722-736

El-Haschimi, K., Dufresne, S. D., Hirshman, M. F., Flier, J. S., Goodyear, L. J. and Bjorbaek, C. (2003) Insulin resistance and lipodystrophy in mice lacking ribosomal S6 kinase 2. *Diabetes* **52**, 1340-1346

Erikson, E. and Maller, J. L. (1985) A protein kinase from *Xenopus* eggs specific for ribosomal protein S6. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **82**, 742-746

Erikson, E. and Maller, J. L. (1986) Purification and characterization of a protein kinase from *Xenopus* eggs highly specific for ribosomal protein S6. *J. Biol. Chem.* **261**, 350-355

Fisher, T. L. and Blenis, J. (1996) Evidence for two catalytically active kinase domains in pp90<sup>rsk</sup>. *Mol. Cell Biol.* **16**, 1212-1219

Fujita, N., Sato, S. and Tsuruo, T. (2003) Phosphorylation of p27<sup>Kip1</sup> at threonine 198 by p90 ribosomal protein S6 kinases promotes its binding to 14-3-3 and cytoplasmic localization. *J. Biol. Chem.* **278**, 49254-49260

Gadal O., D. Strauss, et al. (2001). "Nuclear export of 60S ribosomal subunits depends on Xpo1p and requires a nuclear export sequence-containing factor, Nmd3p, that associates with the large subunit protein Rpl10p." *Mol Cell Biol* **21**(10): 3405-15.

Gilbert. R.J., Y. Gordiyenko, et al. (2007). "Reconfiguration of yeast 40S ribosomal subunit domains by the translation initiation multifactor complex." *Proc Natl Acad Sci U S A* **104**(14): 5788-93.

Ginty, D. D., Bonni, A. and Greenberg, M. E. (1994) Nerve growth factor activates a Ras-dependent protein kinase that stimulates c-fos transcription via phosphorylation of CREB. *Cell* **77**, 713-725

Gressner, A. M. and Wool, I. G. (1974) The phosphorylation of liver ribosomal proteins *in vivo*. Evidence that only a single small subunit protein (S6) is phosphorylated. *J. Biol. Chem.* **249**, 6917-6925

Gross, S. D., Schwab, M. S., Lewellyn, A. L. and Maller, J. L. (1999) Induction of metaphase arrest in cleaving *Xenopus* embryos by the protein kinase p90<sup>Rsk</sup>. *Science* **286**, 1365-1367

Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th edition 282-287

Hedges J., Y. I. Chen, et al. (2006). " Mapping the functional domains of yeast NMD3, the nuclear export adapter for the 60S ribosomal subunit." *J Biol Chem* **281**(48): 36579-87.

Heffron, D. and Mandell, J. W. (2005) Differential localization of MAPK-activated protein kinases RSK1 and MSK1 in mouse brain. *Brain Res. Mol. Brain Res.* **136**, 134-141

Inoki, K., Zhu, T. and Guan, K. L. (2003) TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival. *Cell* **115**, 577-590

Inoki, K., Ouyang, H., Zhu, T., Lindvall, C., Wang, Y., Zhang, X., Yang, Q., Bennett, C., Harada, Y. and Stankunas, K. (2006) TSC2 integrates Wnt and energy signals via a coordinated phosphorylation by AMPK and GSK3 to regulate cell growth. *Cell* **126**, 955-968

Jones, S. W., Erikson, E., Blenis, J., Maller, J. L. and Erikson, R. L. (1988) A *Xenopus* ribosomal protein S6 kinase has two apparent kinase domains that are each similar to distinct protein kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85**, 3377-3381

Kang, S., Dong, S., Gu, T. L., Guo, A., Cohen, M. S., Lonial, S., Khoury, H. J., Fabbro, D., Gilliland, D. G. and Bergsagel, P. L. (2007) FGFR3 Activates RSK2 to mediate hematopoietic transformation through tyrosine phosphorylation of RSK2 and activation of the MEK/ERK pathway. *Cancer Cell* **12**, 201-214

Kang, S., Dong, S., Guo, A., Ruan, H., Lonial, S., Khoury, H. J., Gu, T. L. and Chen, J. (2008) Epidermal growth factor stimulates RSK2 activation through activation of the MEK/ERK pathway and src-dependent tyrosine phosphorylation of RSK2 at Tyr-529. *J. Biol. Chem.* **283**, 4652-4657

Kardamakis D. Πανεπιστημιακές παραδόσεις ακτινοβιολογίας, ακτινοπροστασίας και ακτινοθεραπείας. Πάτρα 2004

Kesler, S. R., Simensen, R. J., Voeller, K., Abidi, F., Stevenson, R. E., Schwartz, C. E. and Reiss, A. L. (2007) Altered neurodevelopment associated with mutations of RSK2: a morphometric MRI study of Coffin-Lowry syndrome. *Neurogenetics* **8**, 143-147

- Kim J., L.S. Chubatsu, et al. (1995). "Implication of mammalian ribosomal protein S3 in the processing of DNA damage." *J Biol Chem* **270**(23): 13620-9.
- Krebs, EG; Tan, ST; Carrow, DJ; Watts, MK (Oct 1985). "The phosphorylation of proteins: a major mechanism for biological regulation. Fourteenth Sir Frederick Gowland Hopkins memorial lecture." *Biochemical Society transactions* **13** (5): 813–20.
- Kroczyńska, B., Joshi, S., Eklund, E. A., Verma, A., Kotenko, S. V., Fish, E. N. and Plataniás, L. C. (2011) Regulatory effects of ribosomal S6 kinase 1 (RSK1) in IFN $\lambda$  signaling. *J. Biol. Chem.* **286**, 1147-1156
- Kuo, C. J., Chung, J., Fiorentino, D. F., Flanagan, W. M., Blenis, J. and Crabtree, G. R. (1992) Rapamycin selectively inhibits interleukin-2 activation of p70 S6 kinase. *Nature* **358**, 70-73
- Lahiry, Piya; Torkamani, Ali; Schork, Nicholas J.; Hegele, Robert A. (January 2010). "Kinase mutations in human disease: interpreting genotype–phenotype relationships". *Nature Reviews Genetics* **11** (1): 60–74.
- Landis SH, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 1999. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* 48 (1998) 6-29
- Larrea, M. D., Hong, F., Wander, S. A., da Silva, T. G., Helfman, D., Lannigan, D., Smith, J. A. and Slingerland, J. M. (2009) RSK1 drives p27<sup>Kip1</sup> phosphorylation at T198 to promote RhoA inhibition and increase cell motility. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106**, 9268-9273
- Leger-Silvestre I., P. Milkereit, et al. (2004). "The ribosomal protein Rps15p is required for nuclear exit of the 40S subunit precursors in yeast." *Embo J* **23**(12): 2336-47.
- Lopez-Vicente, L., Armengol, G., Pons, B., Coch, L., Argelaguet, E., Lleó, M., Hernández-Losa, J., de Torres, I. and Ramon y Cajal, S. (2009) Regulation of replicative and stress-induced senescence by RSK4, which is down-regulated in human tumors. *Clin. Cancer Res.* **15**, 4546-4553
- Manning G, Whyte DB et al. (2002). "The protein kinase complement of the human genome". *Science* **298** (5600): 1912–1934.
- Matragkou C., H. Papachristou, et al. (2009). "On the intracellular trafficking of mouse S5 ribosomal protein from cytoplasm to nucleoli." *J Mol Biol* **392**(5): 1192-204.
- Mazumber B., P. Sampath, et al (2003). "Regulated release of L13a from the 60S ribosomal subunit as a mechanism of transcript-specific translational control." *Cell* **115**(2): 187-98.

- Meloche, S. and Pouyssegur, J. (2007) The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G<sub>1</sub>- to S-phase transition. *Oncogene* **26**, 3227-3239
- Meyuhas, O. (2008) Physiological roles of ribosomal protein S6: one of its kind. *Int. Rev. Cell Mol. Biol.* **268**, 1-37
- Michaloglou, C., Vredeveld, L. C., Mooi, W. J. and Peeper, D. S. (2008) BRAF<sup>E600</sup> in benign and malignant human tumours. *Oncogene* **27**, 877-895
- Milkereit P., O. Gadal, et al. (2001). "Maturation and intranuclear transport of preribosomes requires Noc proteins." *Cell* **105**(4): 499-509.
- Moller, D. E., Xia, C. H., Tang, W., Zhu, A. X. and Jakubowski, M. (1994) Human rsk isoforms: cloning and characterization of tissue-specific expression. *Am. J. Physiol.* **266**, 351-359
- Morten Frödin and Steen Gammeltoft. 1999. Role and regulation of 90 kDa ribosomal S6 kinase (RSK) in signal transduction. *Molecular and Cellular Endocrinology* **151**(1-2):Pages 65-77
- Murphy, L. O., Smith, S., Chen, R. H., Fingar, D. C. and Blenis, J. (2002) Molecular interpretation of ERK signal duration by immediate early gene products. *Nat. Cell Biol.* **4**, 556-564
- Myers, A. P., Corson, L. B., Rossant, J. and Baker, J. C. (2004) Characterization of mouse Rsk4 as an inhibitor of fibroblast growth factor-RAS-extracellular signalregulated kinase signaling. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 4255-4266
- Naora Honami Takai I., Adachi M., Naora Hiroto. (1998) Altered cellular response by varying expression of a ribosomal protein gene: Sequential coordination of enhancement and suppression of ribosomal protein S3a gene expression induces apoptosis. *J. Cell Biology*, **3**, 741-753.
- Nguyen, T. L. (2008) Targeting RSK: an overview of small molecule inhibitors. *Anticancer Agents Med. Chem.* **8**, 710-716
- Nielsen, P. J., Thomas, G. and Maller, J. L. (1982) Increased phosphorylation of ribosomal protein S6 during meiotic maturation of *Xenopus* oocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **79**, 2937-2941
- Palmer, A., Gavin, A. C. and Nebreda, A. R. (1998) A link between MAP kinase and p34<sup>cdc2</sup>/cyclin B during oocyte maturation: p90<sup>rsk</sup> phosphorylates and inactivates the p34<sup>cdc2</sup> inhibitory kinase Myt1. *EMBO J.* **17**, 5037-5047
- Pende, M., Um, S. H., Mieulet, V., Sticker, M., Goss, V. L., Mestan, J., Mueller, M., Fumagalli, S., Kozma, S. C. and Thomas, G. (2004) S6K1<sup>-/-</sup>/S6K2<sup>-/-</sup> mice exhibit perinatal lethality and rapamycin-sensitive 5'-terminal oligopyrimidine mRNA

translation and reveal a mitogen-activated protein kinase-dependent S6 kinase pathway. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 3112-3124

Perander, M., Keyse, S. M. and Seternes, O. M. (2008) Does MK5 reconcile classical and atypical MAP kinases? *Front. Biosci.* **13**, 4617-4624

Pereira, P. M., Schneider, A., Pannetier, S., Heron, D. and Hanauer, A. (2010) Coffin–Lowry syndrome. *Eur. J. Hum. Genet.* **18**, 627-633

Poirier, R., Jacquot, S., Vaillend, C., Souththiphong, A. A., Libbey, M., Davis, S., Laroche, S., Hanauer, A., Welzl, H., Lipp, H. P. and Wolfer, D. P. (2007) Deletion of the Coffin–Lowry syndrome gene *Rsk2* in mice is associated with impaired spatial learning and reduced control of exploratory behavior. *Behav. Genet.* **37**, 31-50

Putz, G., Bertolucci, F., Raabe, T., Zars, T. and Heisenberg, M. (2004) The S6KII (*rsk*) gene of *Drosophila melanogaster* differentially affects an operant and a classical learning task. *J. Neurosci.* **24**, 9745-9751

Richards, S. A., Dreisbach, V. C., Murphy, L. O. and Blenis, J. (2001) Characterization of regulatory events associated with membrane targeting of p90 ribosomal S6 kinase 1. *Mol. Cell. Biol.* **21**, 7470-7480

Romeo Y and Roux PP, 2011. Paving the way for targeting RSK in cancer. *Expert Opin Ther Targets.* 2011 Jan;15(1):5-9.

Ronkina, N., Kotlyarov, A. and Gaestel, M. (2008) MK2 and MK3 – a pair of isoenzymes? *Front. Biosci.* **13**, 5511-5521

Roux, P. P., Ballif, B. A., Anjum, R., Gygi, S. P. and Blenis, J. (2004) Tumor-promoting phorbol esters and activated Ras inactivate the tuberous sclerosis tumor suppressor complex via p90 ribosomal S6 kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101**, 13489-13494

Roux, P. P. and Blenis, J. (2004) ERK and p38 MAPK-activated protein kinases: a family of protein kinases with diverse biological functions. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **68**, 320-344

Roux, P. P. and Blenis, J. (2007) MAPK signaling in human diseases. In *Apoptosis, Cell Signaling, and Human Diseases: Molecular Mechanisms* (Srivastava R., ed.), pp. 135-149, Humana Press, Totowa

Roux, P. P., Shahbazian, D., Vu, H., Holz, M. K., Cohen, M. S., Taunton, J., Sonenberg, N. and Blenis, J. (2007) RAS/ERK signaling promotes site-specific ribosomal protein S6 phosphorylation via RSK and stimulates cap-dependent translation. *J. Biol. Chem.* **282**, 14056-14064

Rubinfeld, H. and Seger, R. (2005) The ERK cascade: a prototype of MAPK signaling. *Mol. Biotechnol.* **31**, 151-174

Ruggero D. and P.P. Pandolfi (2003). "Does the ribosome translate cancer?" *Nat Rev Cancer* **3**(3): 179-92.

Sapkota, G. P., Kieloch, A., Lizcano, J. M., Lain, S., Arthur, J. S., Williams, M. R., Morrice, N., Deak, M. and Alessi, D. R. (2001) Phosphorylation of the protein kinase mutated in Peutz–Jeghers cancer syndrome, LKB1/STK11, at Ser<sup>431</sup> by p90<sup>RSK</sup> and cAMP-dependent protein kinase, but not its farnesylation at Cys<sup>433</sup>, is essential for LKB1 to suppress cell growth. *J. Biol. Chem.* **276**, 19469-19482

Sapkota, G. P., Cummings, L., Newell, F. S., Armstrong, C., Bain, J., Frodin, M., Grauert, M., Hoffmann, M., Schnapp, G. and Steegmaier, M. (2007) BI-D1870 is a specific inhibitor of the p90 RSK (ribosomal S6 kinase) isoforms *in vitro* and *in vivo*. *Biochem. J.* **401**, 29-38

Schafer T., D. Strauss, et al. (2003). "The path from nucleolar 90S to cytoplasmic 40S pre-ribosomes." *Embo J* **22**(6): 1370-80.

Schmitt, A. and Nebreda, A. R. (2002) Signalling pathways in oocyte meiotic maturation. *J. Cell Sci.* **115**, 2457-2459

Schwab, M. S., Roberts, B. T., Gross, S. D., Tunquist, B. J., Taieb, F. E., Lewellyn, A. L. and Maller, J. L. (2001) Bub1 is activated by the protein kinase p90<sup>Rsk</sup> during *Xenopus* oocyte maturation. *Curr. Biol.* **11**, 141-150

Shahbazian, D., Roux, P. P., Mieulet, V., Cohen, M. S., Raught, B., Taunton, J., Hershey, J. W., Blenis, J., Pende, M. and Sonenberg, N. (2006) The mTOR/PI3K and MAPK pathways converge on eIF4B to control its phosphorylation and activity. *EMBO J.* **25**, 2781-2791

Shahbazian, D., Parsyan, A., Petroulakis, E., Topisirovic, I., Martineau, Y., Gibbs, B. F., Svitkin, Y. and Sonenberg, N. (2010) Control of cell survival and proliferation by mammalian eukaryotic initiation factor 4B. *Mol. Cell. Biol.* **30**, 1478-1485

Shin H.S., C.Y. Yang, et al. (2009). "Arginine methylation of ribosomal protein S3 affects ribosome assembly." *Biochem Biophys Res Commun* **385**(2): 273-8.

Swiercz R., D. Cheng, et al. (2007). "Ribosomal protein rpS2 is hypomethylated in PRMT3-deficient mice." *J Biol Chem* **282**(23): 16917-23.

Smith, J. A., Poteet-Smith, C. E., Xu, Y., Errington, T. M., Hecht, S. M. and Lannigan, D. A. (2005) Identification of the first specific inhibitor of p90 ribosomal S6 kinase (RSK) reveals an unexpected role for RSK in cancer cell proliferation. *Cancer Res.* **65**, 1027-1034

Smolen, G. A., Zhang, J., Zubrowski, M. J., Edelman, E. J., Luo, B., Yu, M., Ng, L. W., Scherber, C. M., Schott, B. J. and Ramaswamy, S. (2010) A genome-wide RNAi screen identifies multiple RSK-dependent regulators of cell migration. *Genes Dev.* **24**, 2654-2665

Soloaga, A., Thomson, S., Wiggin, G. R., Rampersaud, N., Dyson, M. H., Hazzalin, C. A., Mahadevan, L. C. and Arthur, J. S. (2003) MSK2 and MSK1 mediate the mitogen- and stress-induced phosphorylation of histone H3 and HMG-14. *EMBO J.* **22**, 2788-2797

Sturgill, T. W., Ray, L. B., Erikson, E. and Maller, J. L. (1988) Insulin-stimulated MAP-2 kinase phosphorylates and activates ribosomal protein S6 kinase II. *Nature* **334**, 715-718

Sutherland, C., Leighton, I. A. and Cohen, P. (1993) Inactivation of glycogen synthase kinase-3  $\beta$  by phosphorylation: new kinase connections in insulin and growth-factor signalling. *Biochem. J.* **296**, 15-19

Sydorsky Y., D. J. Dilworth, et al. (2005). "Nop53p is a novel nucleolar 60S ribosomal subunit biogenesis protein." *Biochem J* **388**(Pt 3): 819-26.

Tanimura, S., Hashizume, J., Kurosaki, Y., Sei, K., Gotoh, A., Ohtake, R., Kawano, M., Watanabe, K. and Kohno, M. (2011) SH3P2 is a negative regulator of cell motility whose function is inhibited by ribosomal S6 kinase-mediated phosphorylation. *Genes Cells* **16**, 514-526

Thakur, A., Sun, Y., Bollig, A., Wu, J., Biliran, H., Banerjee, S., Sarkar, F. H. and Liao, D. J. (2008) Anti-invasive and antimetastatic activities of ribosomal protein S6 kinase 4 in breast cancer cells. *Clin. Cancer Res.* **14**, 4427-4436

Trivier, E., De Cesare, D., Jacquot, S., Pannetier, S., Zackai, E., Young, I., Mandel, J. L., Sassone-Corsi, P. and Hanauer, A. (1996) Mutations in the kinase Rsk-2 associated with Coffin-Lowry syndrome. *Nature* **384**, 567-570

Tunquist, B. J., Schwab, M. S., Chen, L. G. and Maller, J. L. (2002) The spindle checkpoint kinase Bub1 and cyclin E/Cdk2 both contribute to the establishment of meiotic metaphase arrest by cytostatic factor. *Curr. Biol.* **12**, 1027-1033

Vadlamudi, R. K., Li, F., Adam, L., Nguyen, D., Ohta, Y., Stossel, T. P. and Kumar, R. (2002) Filamin is essential in actin cytoskeletal assembly mediated by p21-activated kinase 1. *Nat. Cell Biol.* **4**, 681-690

Vaidyanathan, H. and Ramos, J. W. (2003) RSK2 activity is regulated by its interaction with PEA-15. *J. Biol. Chem.* **278**, 32367-32372

Vermeulen, L., Berghe, W. V., Beck, I. M., De Bosscher, K. and Haegeman, G. (2009) The versatile role of MSKs in transcriptional regulation. *Trends Biochem. Sci.* **34**, 311-318

Vigneron, S., Brioudes, E., Burgess, A., Labbe, J. C., Lorca, T. and Castro, A. (2010) RSK2 is a kinetochore-associated protein that participates in the spindle assembly checkpoint. *Oncogene* **29**, 3566-3574

- Vik, T. A. and Ryder, J. W. (1997) Identification of serine 380 as the major site of autophosphorylation of *Xenopus* p90<sup>RSK</sup>. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **235**, 398-402
- Wang, X., Li, W., Williams, M., Terada, N., Alessi, D. R. and Proud, C. G. (2001) Regulation of elongation factor 2 kinase by p90<sup>RSK1</sup> and p70 S6 kinase. *EMBO J.* **20**, 4370-4379
- Wang, X., Janmaat, M., Beugnet, A., Paulin, F. E. and Proud, C. G. (2002) Evidence that the dephosphorylation of Ser<sup>535</sup> in the  $\epsilon$ -subunit of eukaryotic initiation factor (eIF) 2B is insufficient for the activation of eIF2B by insulin. *Biochem. J.* **367**, 475-481
- Wang, R., Jung, S. Y., Wu, C. F., Qin, J., Kobayashi, R., Gallick, G. E. and Kuang, J. (2010) Direct roles of the signaling kinase RSK2 in Cdc25C activation during *Xenopus* oocyte maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **107**, 19885-19890
- Warner J.R. (2001). Nascent ribosomes." *Cell* **107**(2): 133-6.
- Wiggin, G. R., Soloaga, A., Foster, J. M., Murray-Tait, V., Cohen, P. and Arthur, J. S. (2002) MSK1 and MSK2 are required for the mitogen- and stress-induced phosphorylation of CREB and ATF1 in fibroblasts. *Mol. Cell. Biol.* **22**, 2871-2881
- Woo, M. S., Ohta, Y., Rabinovitz, I., Stossel, T. P. and Blenis, J. (2004) Ribosomal S6 kinase (RSK) regulates phosphorylation of filamin a on an important regulatory site. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 3025-3035
- Wool I.G., Chan Y.L., Gluck A. (1995) Structure and evolution of mammalian ribosomal proteins. *Biochem. Cell Biol.*, **73**, 933-947.
- Wu, C., Orozco, C., Boyer, J., Leglise, M., Goodale, J., Batalov, S., Hodge, C. L., Haase, J., Janes, J., Huss, J. W. and Su, A. I. (2009) BioGPS: an extensible and customizable portal for querying and organizing gene annotation resources. *Genome Biol.* **10**, R130
- Xing, J., Ginty, D. D. and Greenberg, M. E. (1996) Coupling of the RAS-MAPK pathway to gene activation by RSK2, a growth factor-regulated CREB kinase. *Science* **273**, 959-963
- Yoon, S. and Seger, R. (2006) The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors* **24**, 21-44
- Zeniou, M., Ding, T., Trivier, E. and Hanauer, A. (2002) Expression analysis of RSK gene family members: the *RSK2* gene, mutated in Coffin-Lowry syndrome, is prominently expressed in brain structures essential for cognitive function and learning. *Hum. Mol. Genet.* **11**, 2929-2940



Zheng, B., Jeong, J. H., Asara, J. M., Yuan, Y. Y., Granter, S. R., Chin, L. and Cantley, L. C. (2009) Oncogenic B-RAF negatively regulates the tumor suppressor LKB1 to promote melanoma cell proliferation. *Mol. Cell* **33**, 237-247

Zhu, J., Blenis, J. and Yuan, J. (2008) Activation of PI3K/Akt and MAPK pathways regulates Myc-mediated transcription by phosphorylating and promoting the degradation of Mad1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **105**, 6584-6589

Παντελάκος Σ. Παναγιώτης. Διασφάλιση ποιότητας στην Ακτινοθεραπεία. 2ο Διεταρικό Αντικαρκινικό Συνέδριο (2005) 364-375