

Анализ изменений профиля экспрессии ферментов, участвующих в энергетическом метаболизме при злокачественной трансформации клеток *in vitro*

Научный руководитель – Степанова Дина Сергеевна

Браун Л.А.¹, Куликов Ф.В.², Мариевский В.Е.³

1 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: lanitabraun@gmail.com*; 2 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: phv.kulikov@gmail.com*; 3 - Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия, *E-mail: Worldofmicrosoft@yandex.ru*

На данный момент в мире большое внимание уделяется борьбе с раковыми заболеваниями. Ученые подходят к поиску лечения с самых разных сторон, пытаясь найти мишени для таргетной терапии. Одной из актуальных областей сейчас является изучение метаболизма злокачественных опухолей. При практически нет схожих исследований в отношении доброкачественных новообразований. При этом существуют такие заболевания, при которых опухоли, не смотря на доброкачественную природу, угрожают жизни пациента, но по разным причинам их зачастую нельзя удалить хирургическим путем. К таким заболеваниям относится группа нейрофиброматозов. Сейчас в классификации выделяют 3 основных типа нейрофиброматоза. Наибольший интерес для нас представляет второй тип. Этот тип является крайне тяжелой формой, характеризуется постоянным появлением характерных доброкачественных опухолей в центральной и периферической нервной системе. Особенно тяжелым признаком данного заболевания является то, что доброкачественные опухоли часто малигнизируются. Известно, что причиной заболевания являются инактивирующие мутации в гене *NF2*, но молекулярный патогенез на данный момент в мире большое внимание уделяется борьбе с раковыми заболеваниями. Ученые подходят к поиску лечения с самых разных сторон, пытаясь найти мишени для таргетной терапии. Одной из актуальных областей сейчас является изучение метаболизма злокачественных опухолей. При практически нет схожих исследований в отношении доброкачественных новообразований. При этом существуют такие заболевания, при которых опухоли, не смотря на доброкачественную природу, угрожают жизни пациента, но по разным причинам их зачастую нельзя удалить хирургическим путем. К таким заболеваниям относится группа нейрофиброматозов. Сейчас в классификации выделяют 3 основных типа нейрофиброматоза. Наибольший интерес для нас представляет второй тип. Этот тип является крайне тяжелой формой, характеризуется постоянным появлением характерных доброкачественных опухолей в центральной и периферической нервной системе. Особенно тяжелым признаком данного заболевания является то, что доброкачественные опухоли часто малигнизируются. Известно, что причиной заболевания являются инактивирующие мутации в гене *NF2*, но молекулярный патогенез опухолевой трансформации до сих пор не определен. Кроме того, не разработана фармакотерапия данного заболевания, и единственный вид лечения, доступный пациентам - хирургические операции. Именно поэтому основной моделью в наших экспериментах являются *NF2*-отрицательные клеточные линии.

Целью нашей работы являлось исследование метаболического профиля клеток различных опухолевых линий для выявления схожих особенностей опухолевой трансформации, а также поиска потенциальных мишеней для таргетной терапии опухолевых заболеваний, в частности нейрофиброматоза 2 типа.

Результаты:

Выполнено метаболическое профилирование *Nf2*-отрицательных и контрольных клеточных линий. В *Nf*-отрицательных клетках обнаружено изменение метаболического профиля, по сравнению с контролем. Также в *Nf2*-отрицательных клетках обнаружено существенное повышение уровня экспрессии белков, участвующих в липогенезе, которое связано с активацией комплекса Torc1 в результате повреждения гена *Nf2*. *Nf2*-отрицательные клетки оказались более чувствительны к воздействию ингибитора синтазы жирных кислот церуленина, по сравнению с нормальными клетками. Было доказано, что гибель *Nf*-отрицательных клеткок вызвана накоплением токсичного малонил-коА, а не отсутствием конечного продукта пальмитоил-коА. Также для увеличения чувствительности *Nf*-отрицательных клеток был проведен ряд экспериментов с добавлением модуляторов метаболических ферментов, повышающих внутриклеточные уровни ацетил-коА или малонил-коА, наилучший результат показала комбинация церуленина с дихлорацетатом натрия, который является ингибитором киназы пируватдегидрогеназы.

Сравнение экспрессии генов опухолевых клеток проводилось на клеточной линии аденокарциномы молочной железы (MCF-7), эритромиелоидного лейкоза (K-562, K-562 IS9), нейрофиброматоза I типа (88-3, STS-26 и ST-8814), рака шейки матки (Hela), гепатокарциномы (HepG2) и карцинома гортани (Hep-2) в сравнении с контрольными клеточными линиями арахноидальные клетки человека (Aco-7) и фибробласты кожи взрослого человека (HSF). Установлено, что уровень экспрессии генов сигнального пути mTOR (TSC1 и TSC2) во всех линиях опухолевых клеток повышен в 3-6 раз, а уровень экспрессии гена PTEN понижен в 1,3-6 раз. Однако, в линиях с выраженной малигнизацией (Hela и STS-26) уровень экспрессии гена TSC1 увеличен в большей степени (в 88,34 и в 23,18 раз соответственно). Выявлено, что экспрессия во всех опухолевых линиях гена GSK3beta увеличивается в 1,43-7,945 и даже в 83,87 (STS-26) раз. опухолевой трансформации до сих пор не определен. Кроме того, не разработана фармакотерапия данного заболевания, и единственный вид лечения, доступный пациентам - хирургические операции. Именно поэтому основной моделью в наших экспериментах являются *NF2*-отрицательные клеточные линии.

Целью нашей работы являлось исследование метаболического профиля клеток различных опухолевых линий для выявления схожих особенностей опухолевой трансформации, а также поиска потенциальных мишеней для таргетной терапии опухолевых заболеваний, в частности нейрофиброматоза 2 типа.

Результаты:

Выполнено метаболическое профилирование *Nf2*-отрицательных и контрольных клеточных линий. В *Nf*-отрицательных клетках обнаружено изменение метаболического профиля, по сравнению с контролем. Также в *Nf2*-отрицательных клетках обнаружено существенное повышение уровня экспрессии белков, участвующих в липогенезе, которое связано с активацией комплекса Torc1 в результате повреждения гена *Nf2*. *Nf2*-отрицательные клетки оказались более чувствительны к воздействию ингибитора синтазы жирных кислот церуленина, по сравнению с нормальными клетками. Было доказано, что гибель *Nf*-отрицательных клеткок вызвана накоплением токсичного малонил-коА, а не отсутствием конечного продукта пальмитоил-коА. Также для увеличения чувствительности *Nf*-отрицательных клеток был проведен ряд экспериментов с добавлением модуляторов метаболических ферментов, повышающих внутриклеточные уровни ацетил-коА или малонил-коА, наилучший результат показала комбинация церуленина с дихлорацетатом натрия, который является ингибитором киназы пируватдегидрогеназы.

Сравнение экспрессии генов опухолевых клеток проводилось на клеточной линии аденокарциномы молочной железы (MCF-7), эритромиелоидного лейкоза (K-562, K-562 IS9),

нейрофиброматоза I типа (88-3, STS-26 и ST-8814), рака шейки матки (Hela), гепатокарциномы (HepG2) и карцинома гортани (Hep-2) в сравнении с контрольными клеточными линиями арахноидальные клетки человека (Aco-7) и фибробласты кожи взрослого человека (HSF). Установлено, что уровень экспрессии генов сигнального пути mTOR (TSC1 и TSC2) во всех линиях опухолевых клеток повышен в 3-6 раз, а уровень экспрессии гена PTEN понижен в 1,3-6 раз. Однако, в линиях с выраженной малигнизацией (Hela и STS-26) уровень экспрессии гена TSC1 увеличен в большей степени (в 88,34 и в 23,18 раз соответственно). Выявлено, что экспрессия во всех опухолевых линиях гена GSK3beta увеличивается в 1,43-7,945 и даже в 83,87 (STS-26) раз.