



Факультет биологии и
биотехнологии НИУ ВШЭ

Научно-учебная группа
«Механизмы роста и прогрессии
опухолей»

Москва
2025

Химиорезистентные клеточные линии рака мочевого пузыря: химиорезистентность к цисплатину

Потемкин Алексей Николаевич

выполняли Потемкин А.Н., Ланская М.А., Четверикова М.М.
руководитель - профессор, доктор мед. наук Степанова Е.В.



Что такое химиорезистентность?

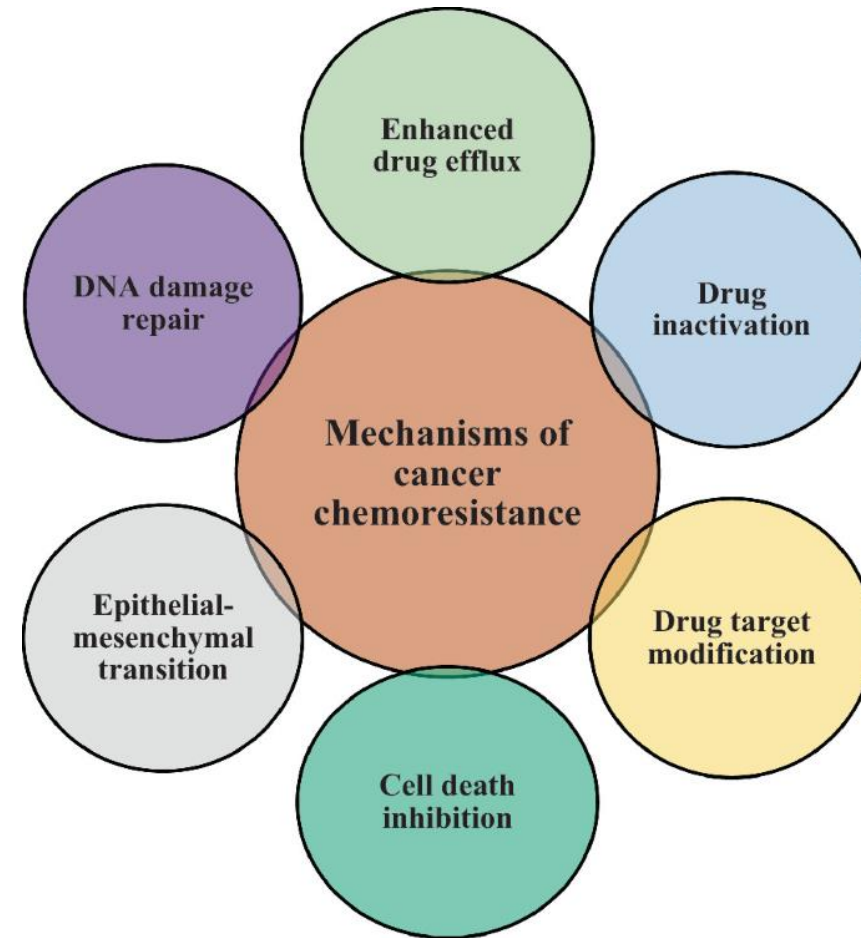
Химиорезистентность — одна из ключевых проблем при борьбе со злокачественными опухолями. Она представляет собой феномен, при котором раковые клетки становятся менее чувствительными или полностью устойчивыми к воздействию химиотерапевтических препаратов.

Есть два основных типа:

- Первичная (врождённая)
 - В этом случае опухоль изначально не реагирует на препарат. Это может быть связано с мутациями или особенностями экспрессии генов ещё до начала терапии.
- Вторичная (приобретённая)
 - Развивается в процессе лечения. Сначала опухоль чувствительна к препарату, но затем адаптируется и становится устойчивой.

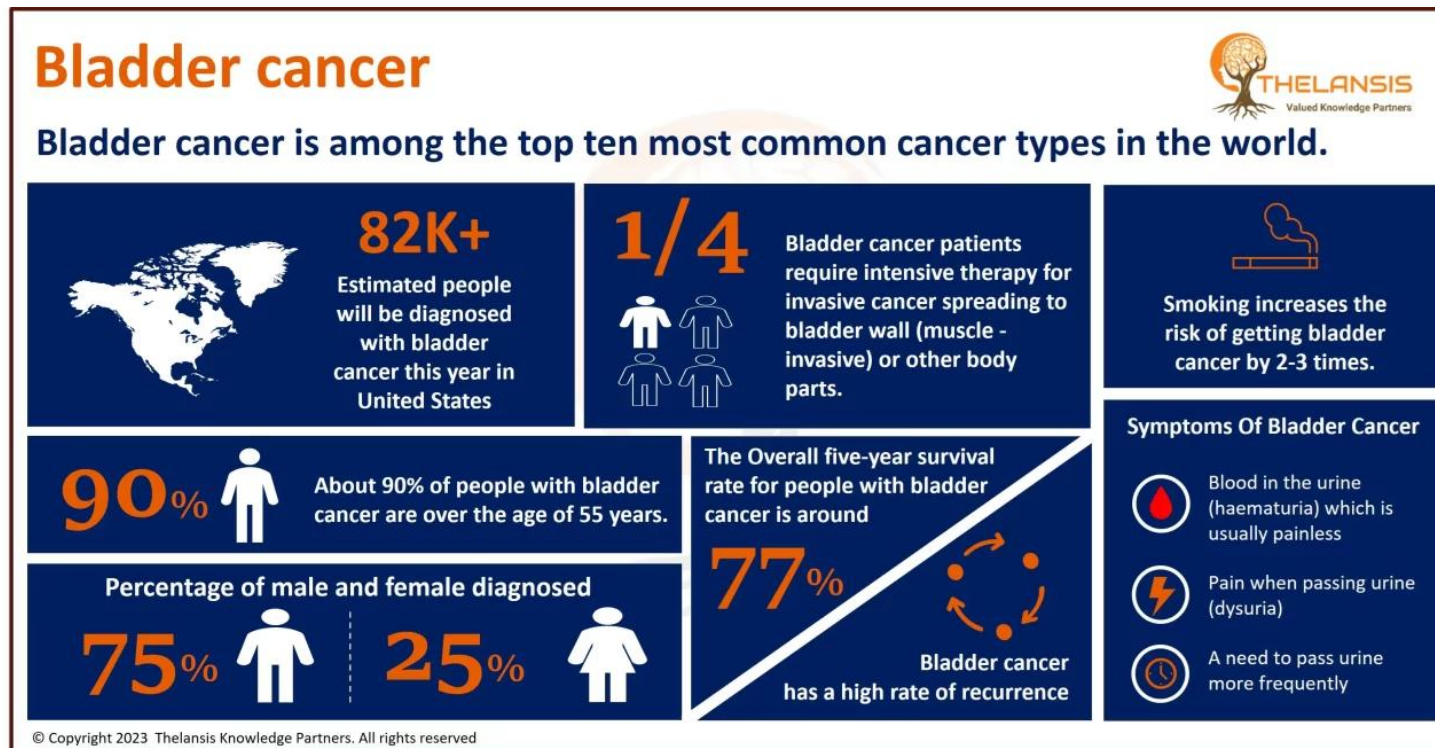
Многообразие

- Существует огромное разнообразие причин и механизмов возникновения приобретенной резистентности
- В одних случаях опухолевые клетки научаются эффективнее защищаться от действия препарата, восстанавливая ДНК или блокируя апоптотические пути
- В других же появляются методы борьбы с самим препаратом, путём его активного выведения или модификации для снижения цитотоксических свойств



Рак мочевого пузыря

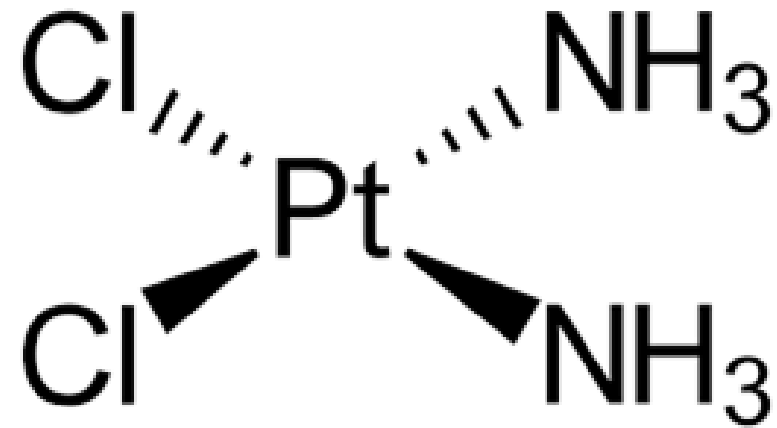
Согласно данным ВОЗ за 2022 год, ежегодно в мире регистрируется более 600 000 новых случаев рака мочевого пузыря, что составляет примерно 3% от всех новых случаев онкологических заболеваний. Он занимает 11-е место по частоте возникновения среди других видов рака.





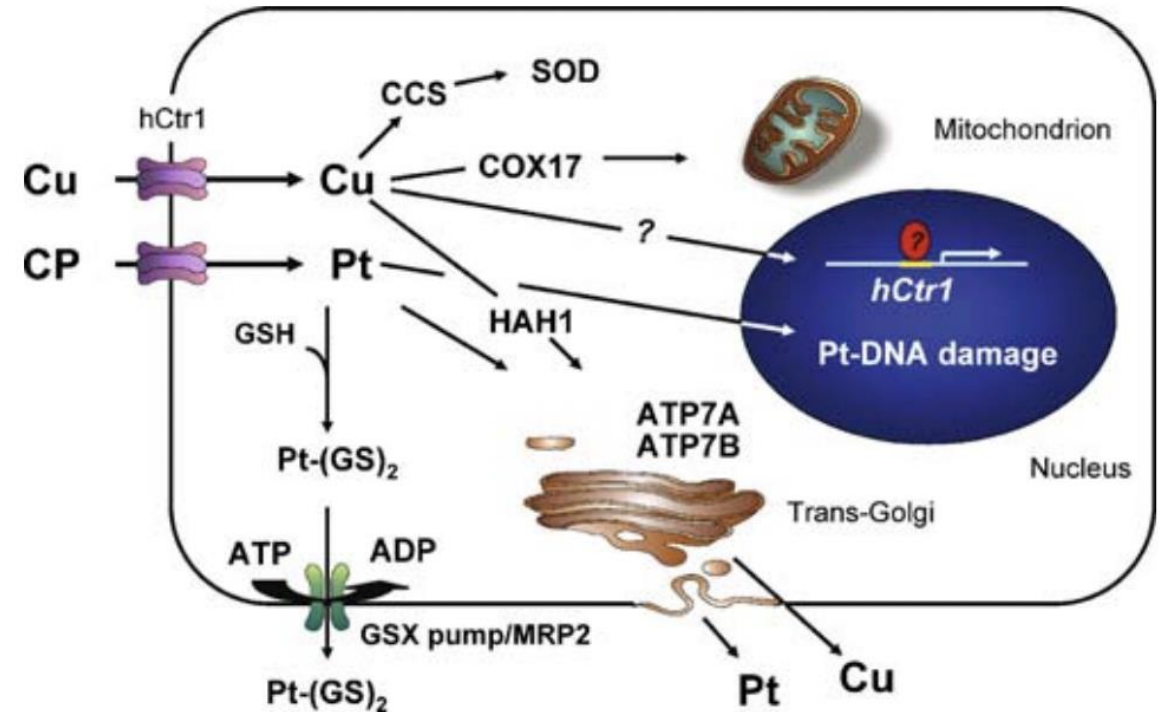
Цисплатин

Цисплатин — химиотерапевтический препарат на основе платины (цис-[Pt(NH₃)₂Cl₂]), эффективен против рака яичек, яичников, мочевого пузыря, легких, головы и шеи. Связывается с ДНК, образуя множественные внутрицепочечные сшивки, нарушающие процессы репликации и транскрипции, связанные с такими нарушениями каскады вызывают апоптоз раковых клеток. Высокая эффективность, особенно при раке яичек (ремиссия 75–85%)



Основные механизмы резистентности

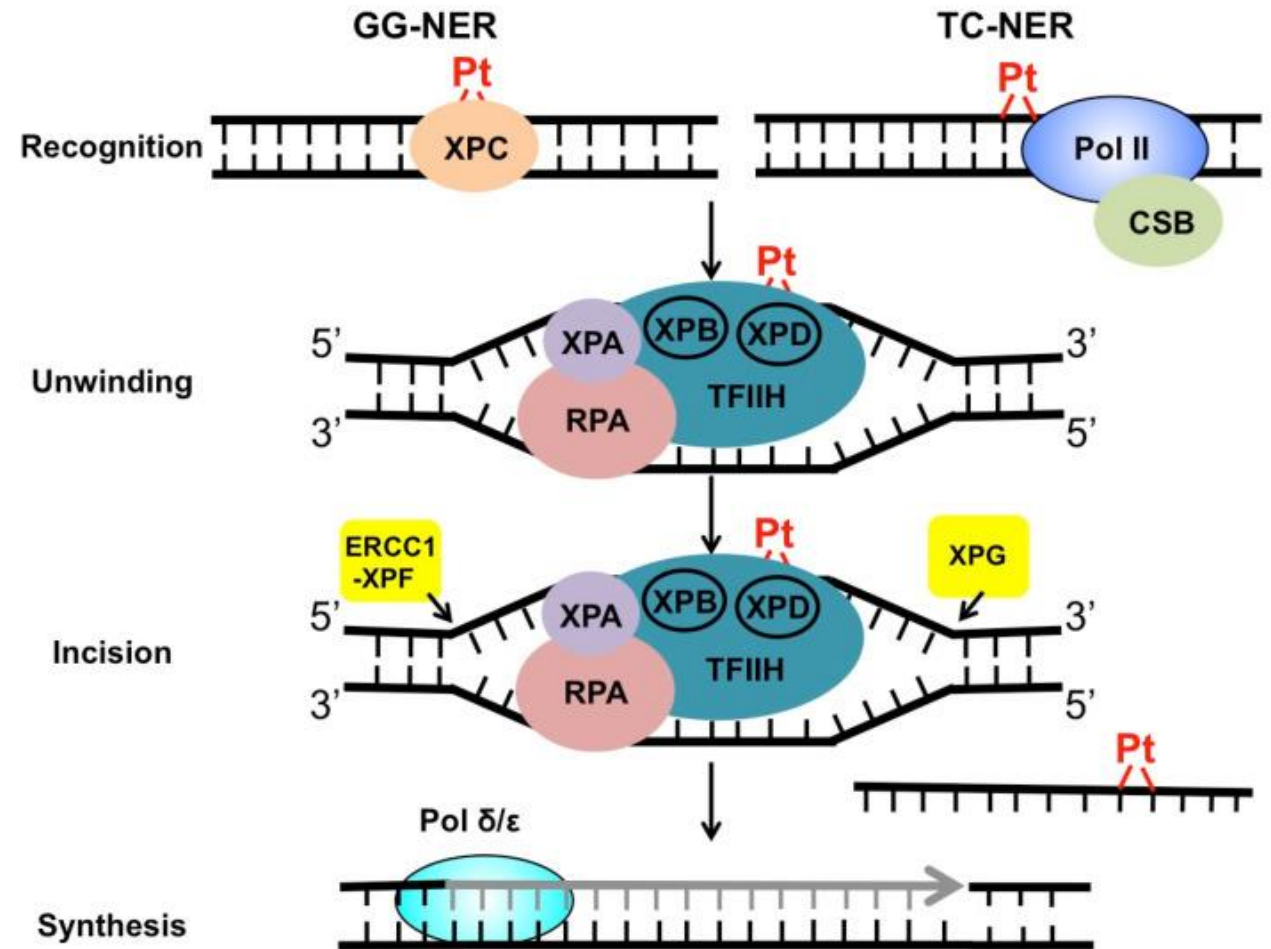
- Снижение накопления цисплатина в клетке за счёт регуляции экспрессии транспортёров:
 - Связана с даунрегуляцией экспрессии транспортёра меди hCtr1, который также вносит в клетку цисплатин (и прочие препараты на основе платины).
 - И также с апрегуляцией ATP7A и ATP7B выносящих из клетки медь и цисплатин



Основные механизмы резистентности

- Восстановление вызванного цисплатином повреждения ДНК с помощью NER, при её повышенной активности. Повреждение цисплатином может быть распознано с помощью контрольного белка XPC или удлиняющей РНК Pol II, чтобы инициировать GG-NER или TC-NER. После распознавания повреждений два подпроцесса используют один и тот же набор репарационных ферментов для раскручивания ДНК, двойного разреза, синтеза репарационных соединений и перевязки.

<https://doi.org/10.3390/ijms21239248>





Основные механизмы резистентности

- Повышение экспрессии антиапоптотических белков (BCL-2, BCL-XL), или понижение экспрессии проапоптотических белков (BAX, PUMA)
 - Если в клетке повышена экспрессия BCL-2 или BCL-XL, эти белки связывают и инактивируют BAX и BAK, тем самым блокируя образование пор в мембранах митохондрий и предотвращая выход цитохрома c. В результате, несмотря на массивное повреждение ДНК цисплатином, каспазный каскад не активируется, и клетка избегает смерти. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.05.039>
 - В случае с BAX и PUMA ситуация обратная: при их недостатке каспазный ответ останется неактивным <https://doi.org/10.3892/ijo.2013.2070>



Основные механизмы резистентности

- PI3K/AKT путь. Запускается при стимуляции рецепторов роста (EGFR, IGF-1R и др.), после чего активируется PI3K, а затем AKT (также известный как Protein Kinase B), который выполняет несколько важных анти апоптотических функций:
 - Фосфорилирует и инактивирует проапоптотический белок BAD, тем самым препятствуя его взаимодействию с BCL-2/BCL-XL
 - Подавляет транскрипционные факторы, активирующие апоптоз (например, FOXO)
 - Усиливает синтез белков выживания через активацию mTOR
 - Ингибирует активность p53 и связанных с ним путей



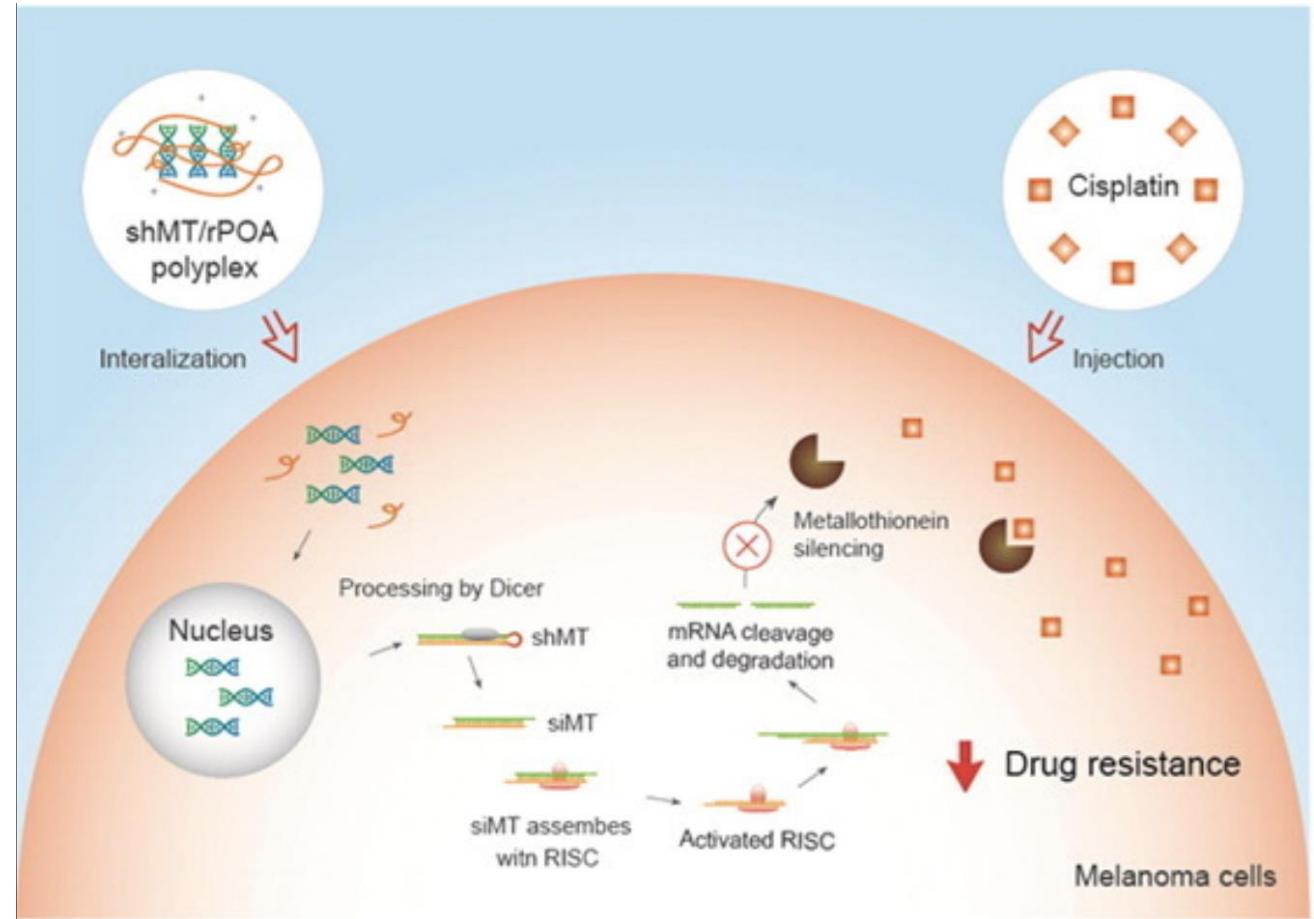
Основные механизмы резистентности

- MAPK (Mitogen-Activated Protein Kinase) каскад также активируется рецепторами роста и включает последовательную активацию: $RAS \rightarrow RAF \rightarrow MEK \rightarrow ERK$. Сама ERK имеет несколько важных антиапоптотических функций:
 - Активация факторов транскрипции, стимулирующих пролиферацию и выживание
 - Подавление каспаз и апоптоза
 - Стабилизация антиапоптотических белков (в том числе BCL-2)
 - Поддержание клеточного цикла даже при наличии ДНК-повреждений

Основные механизмы резистентности

- Цисплатин может быть связан и обезврежен внутриклеточными веществами — например, глутатионом (GSH) или металлотионеинами. Эти молекулы содержат SH-группы, которые прочно связываются с платиной, образуя неактивные комплексы.
- Так как глутатион и в норме присутствует в цитоплазме клетки, то при появлении цитотоксического агента она может легко увеличивать синтез GSH, как защитный механизм, чтобы нейтрализовать токсичность препарата

[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(17\)32565-X](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)32565-X)





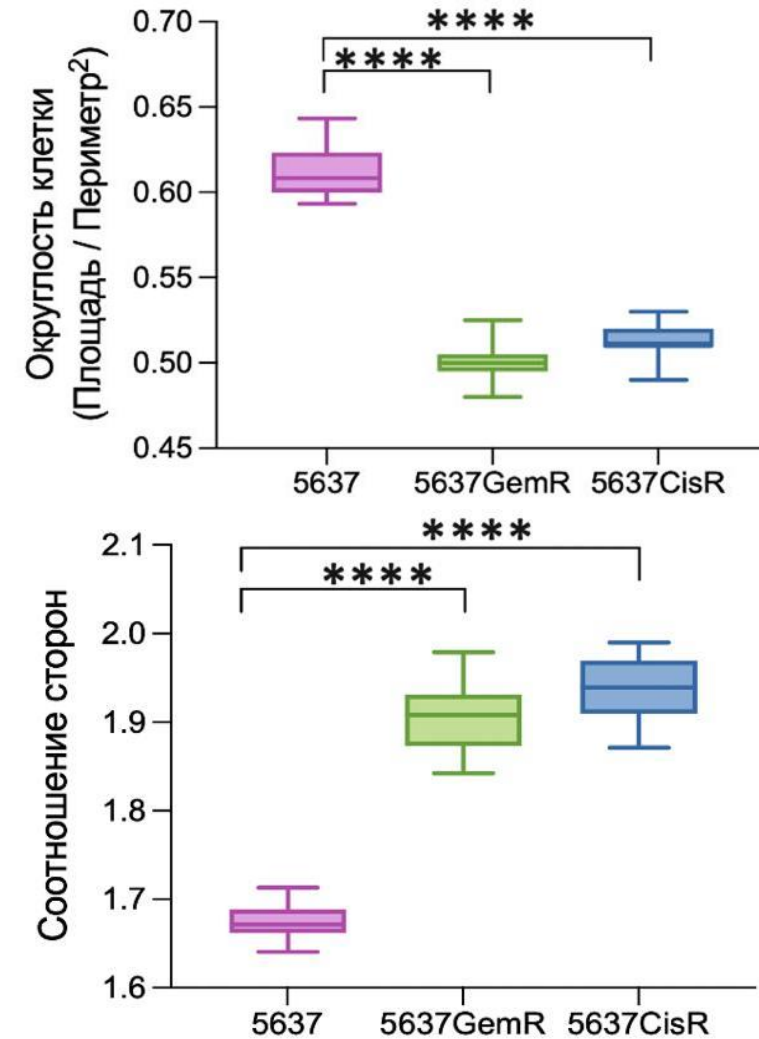
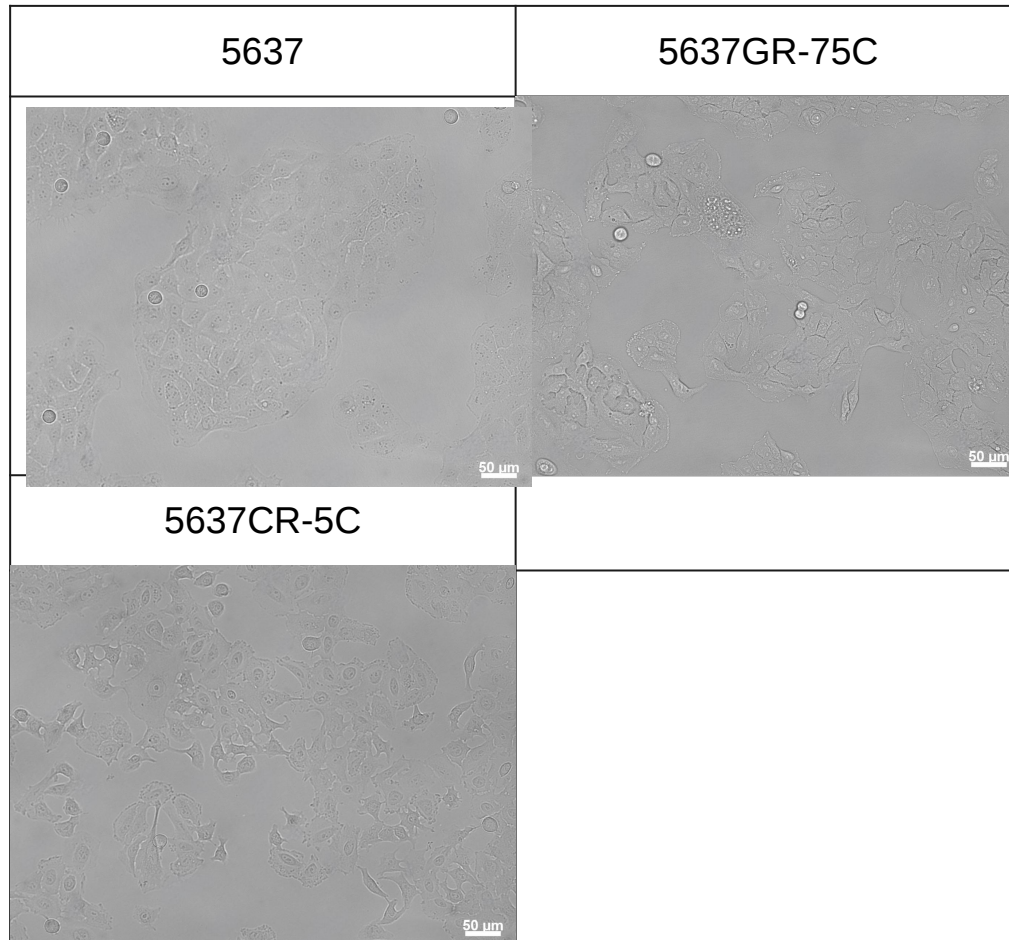
Основные механизмы резистентности

Ещё один механизм резистентности связан с повышенной экспрессией ACTL6A

- ACTL6A (Actin-like protein 6A) — это субъединица хроматин-ремоделирующего комплекса SWI/SNF, который играет важную роль в регуляции структуры хроматина и доступности ДНК для репарационных механизмов.
- Участвуя в формировании резистентности ACTL6A усиливает активность комплекса SWI/SNF, который облегчает доступ репарационных белков к поврежденным участкам ДНК за счет ремоделирования хроматина.

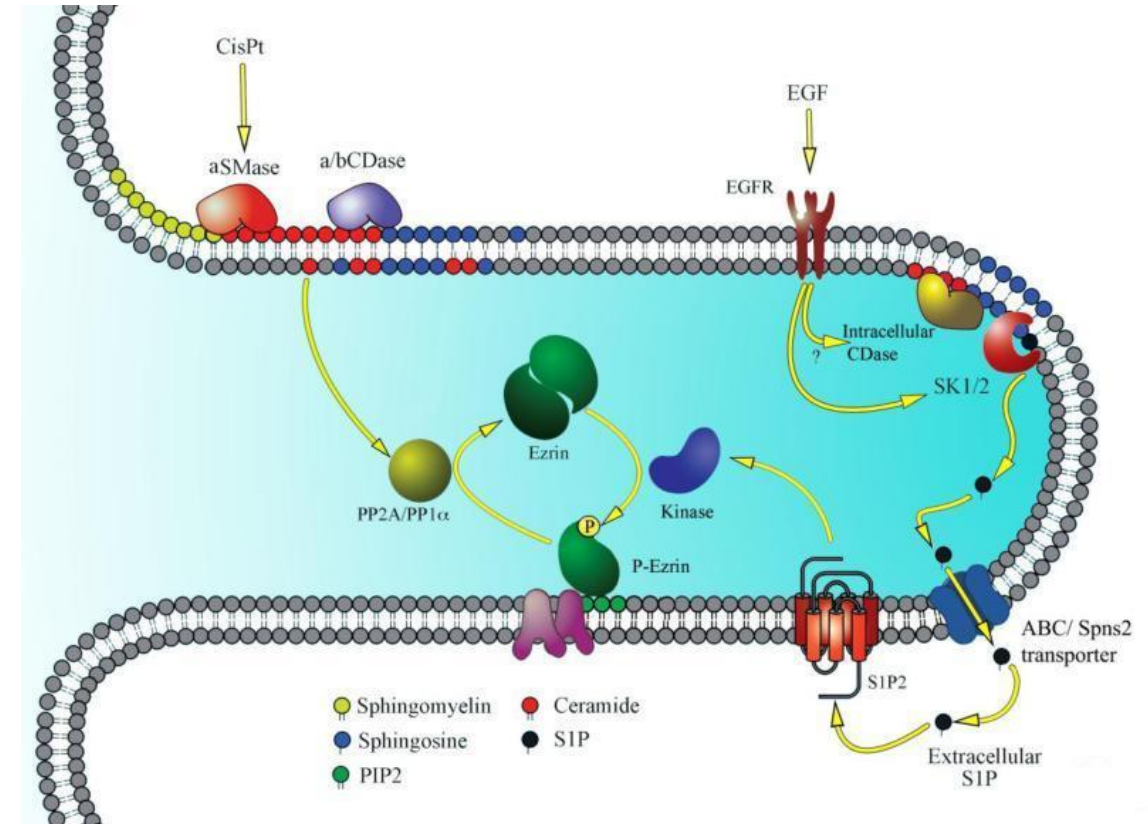


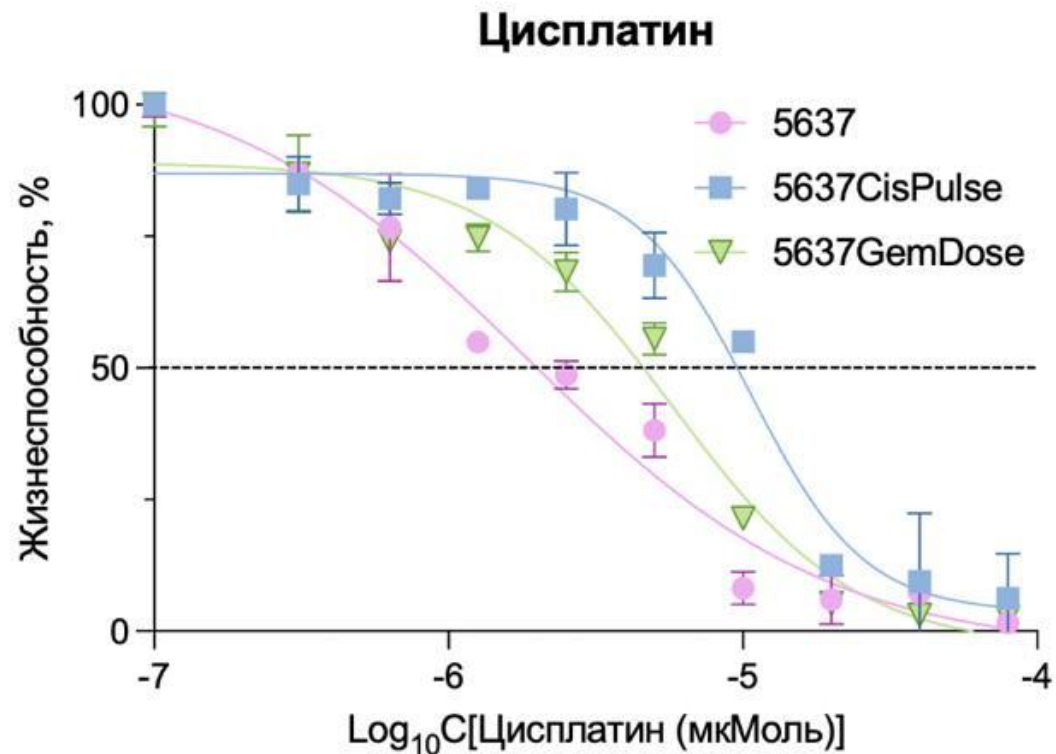
Морфометрический анализ линий



Обсуждение

На основании полученных данных морфологии, а также литературных источников можно предположить, что такие изменения связаны с изменением взаимодействия эзрина. Цисплатин вызывает активацию кислой сфингомиелиназы (aSMase), которая вызывает выработку церамида. Церамид активирует протеинфосфатазу 2A (PP2A), вызывая дефосфорилирование эзрина и отсоединение от клеточной мембраны. Значит, если такое взаимодействие почему-то не произойдёт, то у нас будет больше связей актин-мембрана, так как эзрин эту связи и опосредует. А если таких связей будет больше, то и форма клетки нарушится и приобретёт неправильную звездчатую форму как в экспериментальных образцах





5637	IC ₅₀ , мкМоль	P-value
5637	2,42 ± 0,42	0,166
5637CisPulse	11,50 ± 0,48	0,195
5637GemDose	6,53 ± 0,30	0,132

	Фактор резистентности	P-value
5637CisPulse/ 5637	4,99	<0.0001
5637GemDose/ 5637	2,70	0,026

$$\text{Фактор резистентности} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ резистентной линии}}{\text{IC}_{50} \text{ родительской линии}}$$



Выводы

- Была изучена морфология клеток резистентных линий, а также проведена оценка их резистентности при помощи мтт-теста
- На основании этих данных очевидно, что у клеток выработалась неполная кросс-резистентность к цисплатином гемцитабину при обработке гемцитабином.
- Также изменения морфологии клеток по отношению к контролю явно выражены и сходны в обеих измененных линиях, что также может указывать на сходные механизмы резистентности к этим двум препаратам.
- На следующем этапе планируется постановка Пцр для более детального изучения молекулярных механизмов и проверки сложившейся гипотезы

