



Факультет биологии и биотехнологии

ОП бакалавриата «Клеточная и
молекулярная биотехнология»

Москва
30 июня 2025 г.

Химиорезистентные клеточные линии рака мочевого пузыря: механизмы резистентности к гемцитабину

Научный руководитель:

Доктор медицинских наук,
профессор, Степанова Евгения
Владиславовна

Консультант:

Стажер-исследователь, аспирант 1
года обучения, Мария Четверикова

Автор работы: Ланская Майя Алексеевна,
студентка 3 курса



АКТУАЛЬНОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рак мочевого пузыря (РМП) часто развивает устойчивость к стандартной терапии (химиотерапия, иммунотерапия, лучевая терапия), что приводит к рецидивам и прогрессированию болезни.

Неинвазивные и поверхностные опухоли

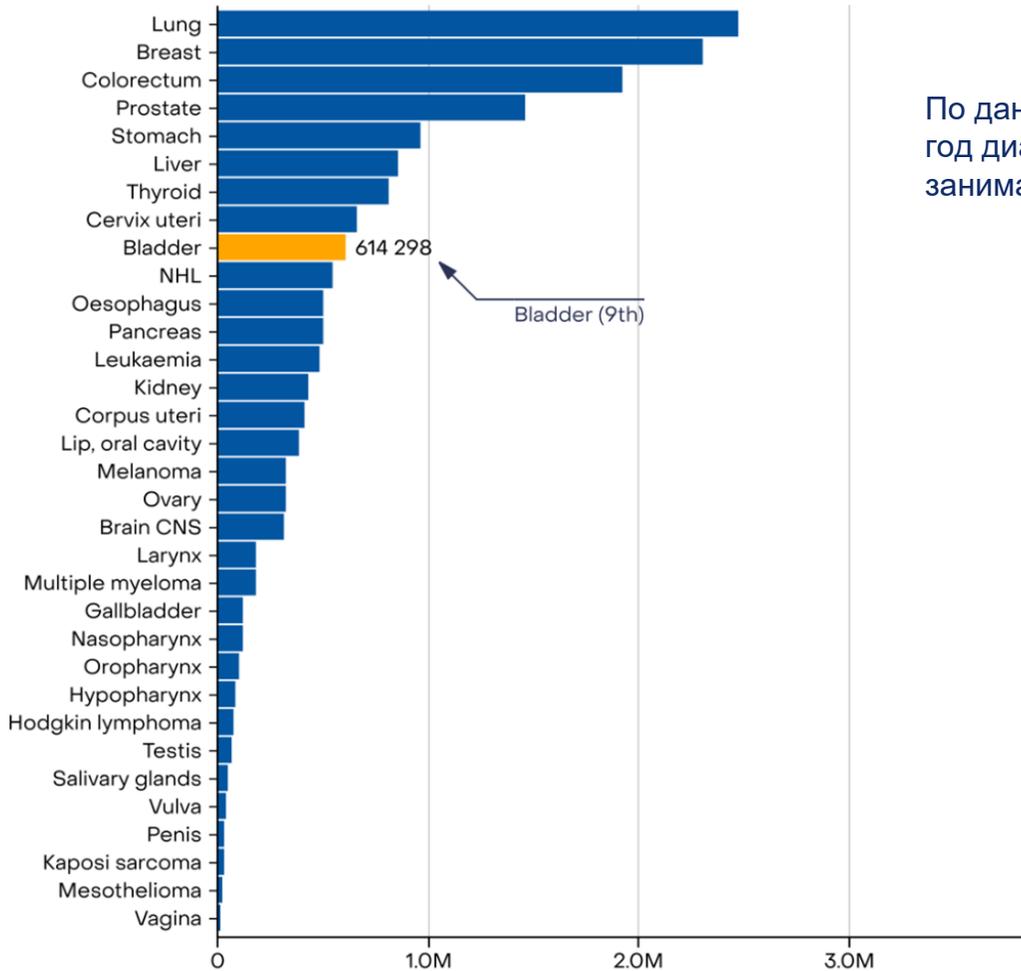
Ta – Рецидивирует в **15–30%** случаев, редко прогрессирует.

T1 – Без лечения рецидивирует в **40–80%** случаев, риск прогрессии – **15–40%**.

При MIBC после химиолучевой терапии или цистэктомии:

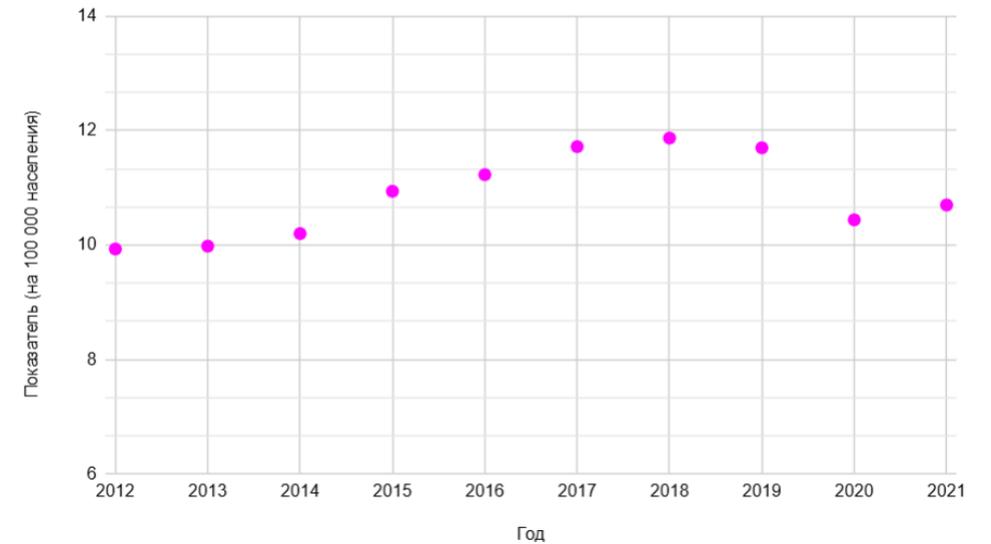
Метастазы развиваются у **~50% пациентов** в течение 2 лет.

Средняя выживаемость при метастатическом РМП – **12–15 месяцев**.

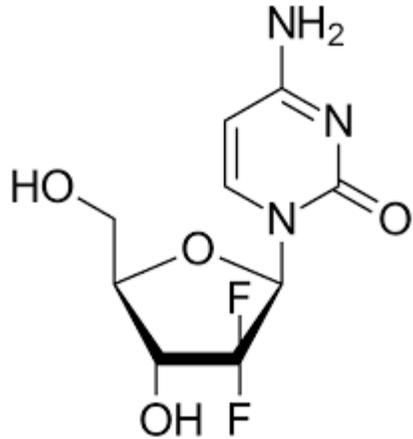


По данным от World Bladder Cancer Patient Coalition на 2022 год диагностирование у пациентов рака мочевого пузыря занимает 9 место среди остальных по частоте.

Диагностика РМП (на 100 000 населения) в год по РФ

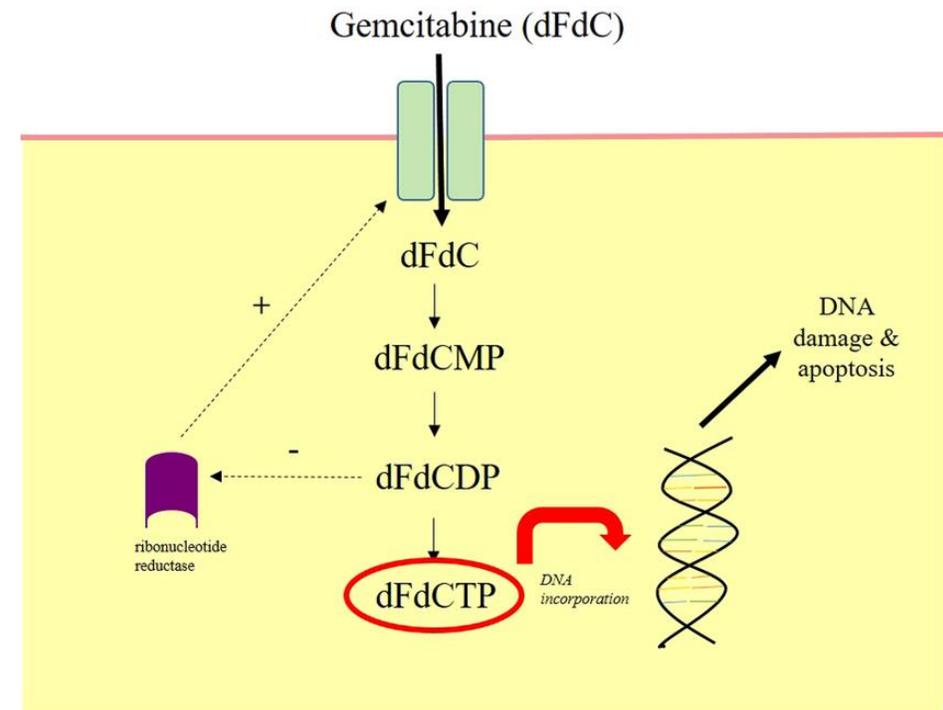


Информационно-аналитическое издание «Вместе против рака»



Гемцитабин -- (2',2'-дифтор-2'-дезоксцитидин; dFdC) – нуклеозид

- Диоксицититинкиназы – фосфорилирование гемцитабина
- Рибонуклеотидредуктаза – способствует активации гемцитабина (dFdC → dFdCTP) и закачиванию его в клетку





Резистентность к гемцитабину. Прямые механизмы

- 1) Дезаминирование гемцитабина цитидиндезаминазой (CDA)
- 2) Дефосфорилирование монофосфатной формы 5'-нуклеотидазами (5'-NT), преобразуя нуклеотиды обратно в нуклеозиды
- 3) Экспрессия насосов оттока (ABC)
- 4) Дефицит hENT1 (белок-транспортер для гемцитабина)
- 5) Снижение экспрессии (dCK – диоксицитидинкиназ) □ ингибирование фосфорилирования гемцитабина
- 6) Уменьшение экспрессии RRM1 и RRM2 – субъединицы рибонуклеотидредуктазы

Непрямые механизмы. Путь Hedgehog (Hh)

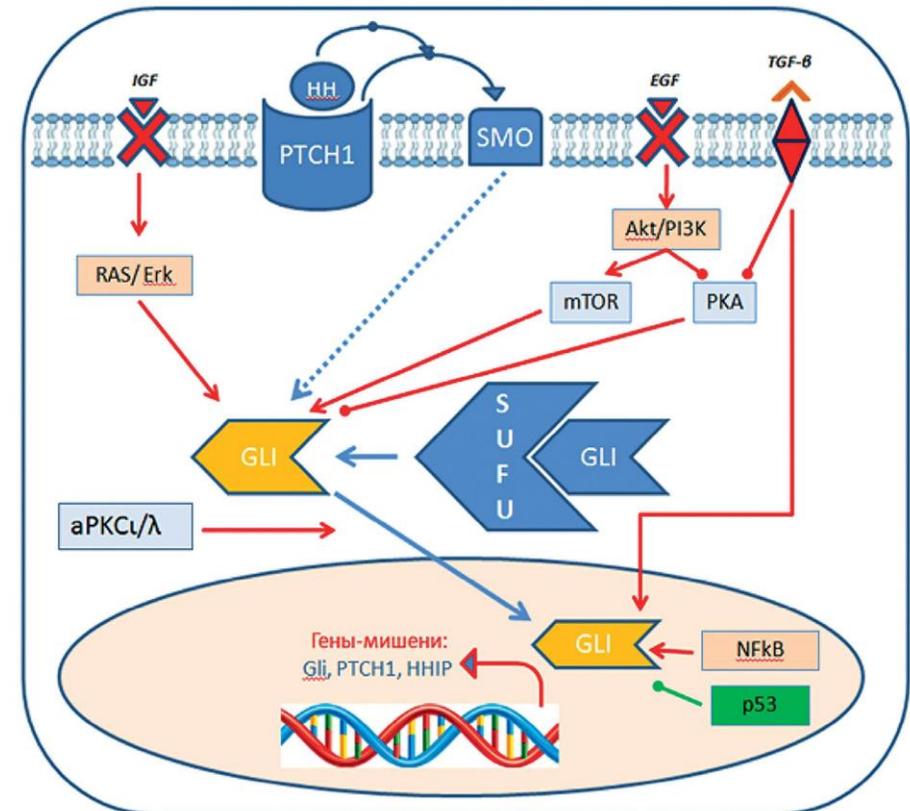
Рецепторы Ptc1, Ptc2 ингибируют Smo в отсутствие лиганда

При наличии лиганда Hedgehog (Shh, Ihh, Dhh) рецепторы ингибированы и белок Smo активирован.

Smo акт. Gli1-3 → Gli 1-3 это транскрипционные факторы →

- транскрипция (BCL2 (антиапоптоз),
- MDR1 / ABC-транспортеры (выброс химиопрепаратов),
- Cyclin D / E (деление клеток),
- DNA repair genes (восстановление ДНК)

Smo также может активировать пути **PI3K/АКТ** — выживание, метаболизм; **MEK/ERK** — рост, пролиферация





Непрямые механизмы. Путь Wnt

Без сигнала Wnt:

- Белки **Axin**, **APC**, **GSK-3 β** собираются в комплекс \rightarrow фосфорилируют **β -катенин**
- Фосфорилированный **β -катенин** распадается (убирается из клетки)
- **Гены выживания и роста не экспрессируются**
- Клетка **чувствительна** к гемцитабину

Сигнал Wnt есть (например, **WNT5A**):

- **Wnt-лиганд** связывается с рецепторами **Frizzled (FZD)** и **LRP5/6**
- Это **блокирует разрушение β -катенина**
- **β -катенин** накапливается \rightarrow попадает в ядро
- Там он активирует транскрипцию генов, включая:
BCL2, **Survivin** — подавляют апоптоз
c-MYC, **Cyclin D1** — стимулируют деление
ZEB1, **Snail** — запускают **ЭМП (EMT)**
ABCB1 (MDR1) — насосы, выкачивающие химиопрепараты
- Клетка **становится устойчивой** к гемцитабину



Непрямые механизмы. Путь Notch

Лиганды **DLL1/3/4**, **Jagged-1/2** → связываются с **Notch-1/2/3/4**-рецепторами

γ-секретаза активирует
освобождение **NICD** внутриклеточного домена рецептора
Notch.

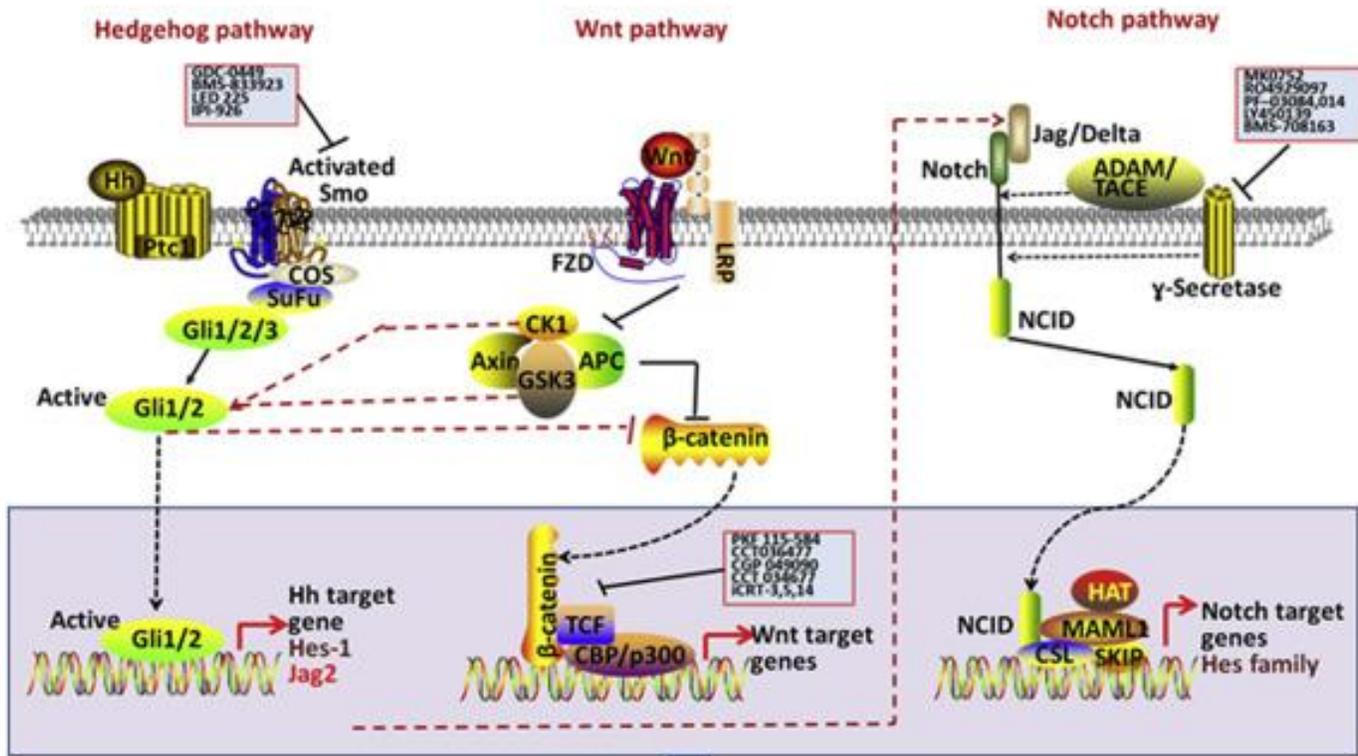
NICD транслоцируется в ядро → активация **Hes-1**, **Hey** →
пролиферация, подавление апоптоза.

Hes-1

- стимулирует пролиферацию.
- подавляет гены, отвечающие за дифференцировку

Hey

- Может блокировать проапоптотические белки
- Биомаркер агрессивности



Gemcitabine resistance:

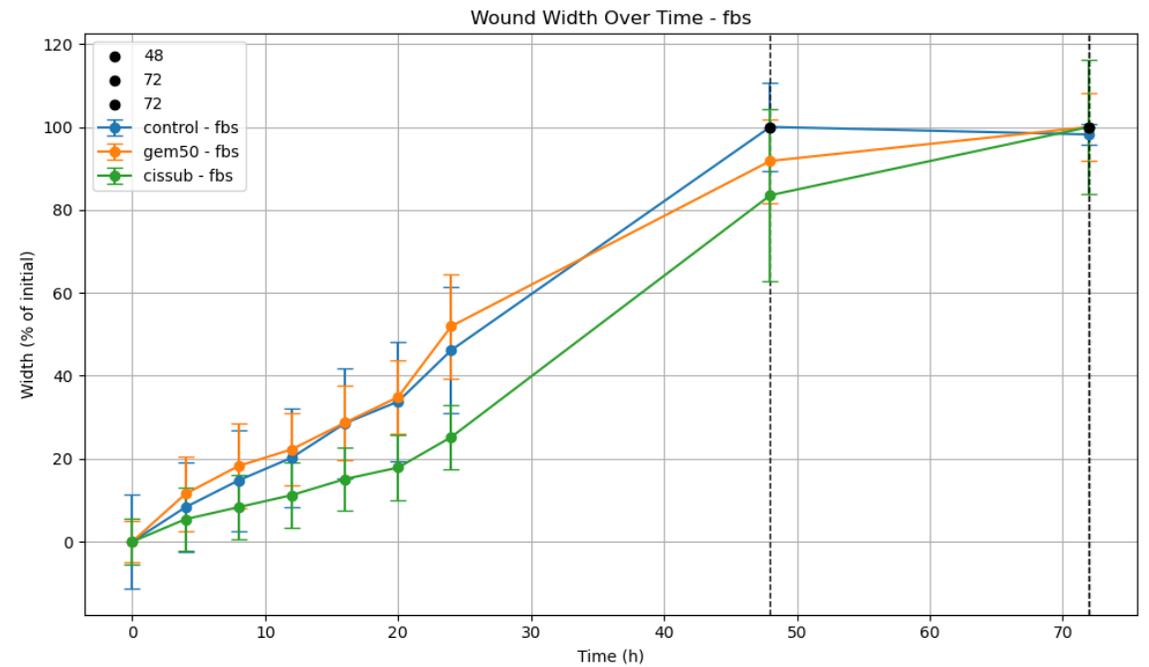
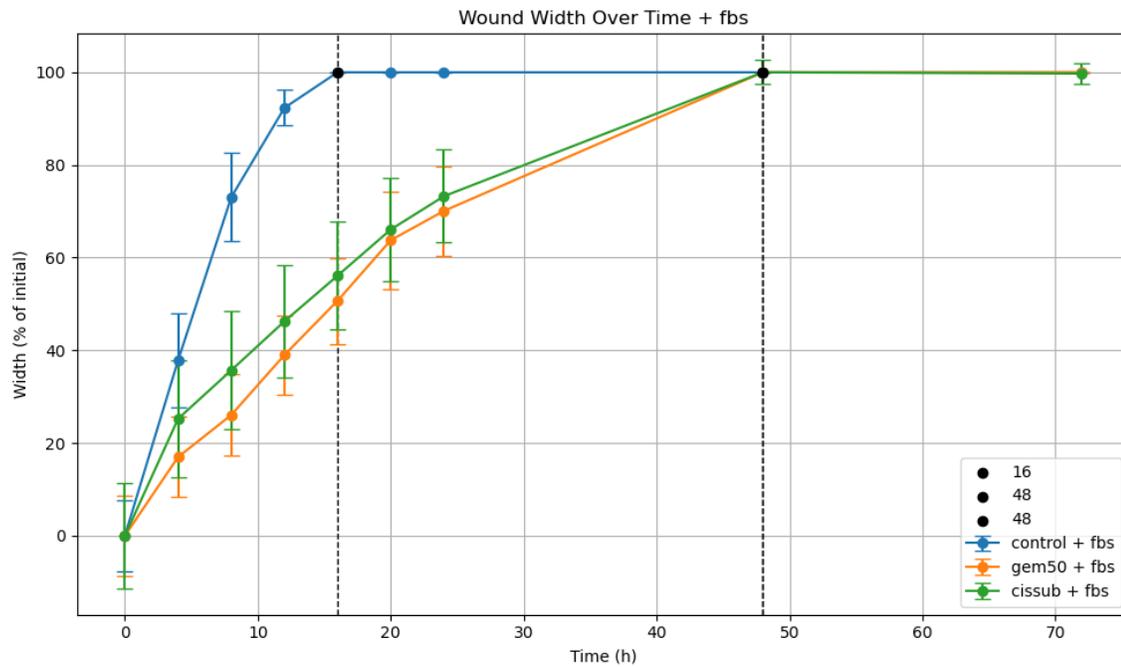
Anti-apoptosis

High expression drug efflux pumps

Activation CSCs

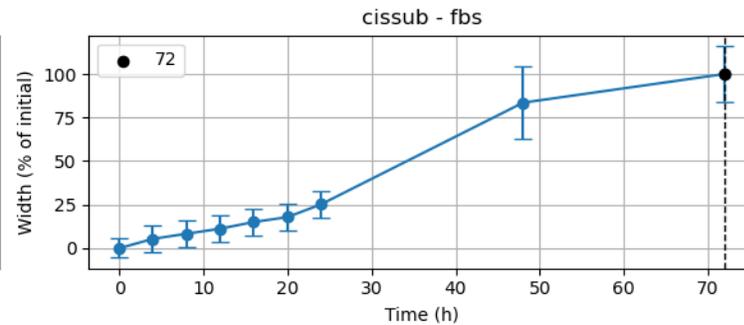
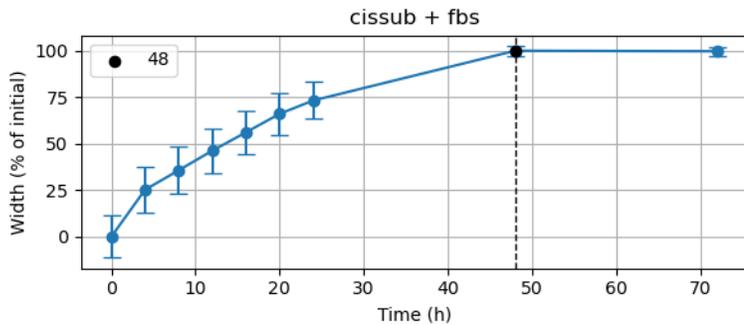
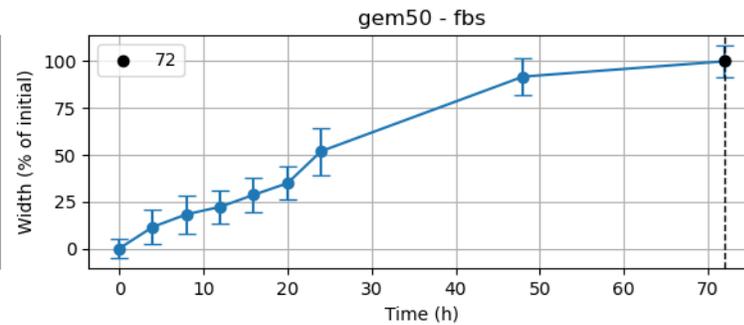
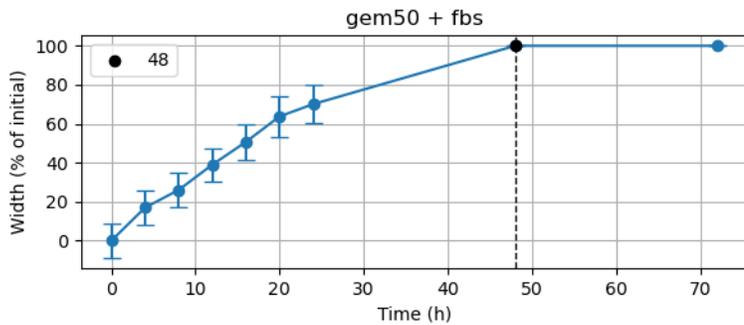
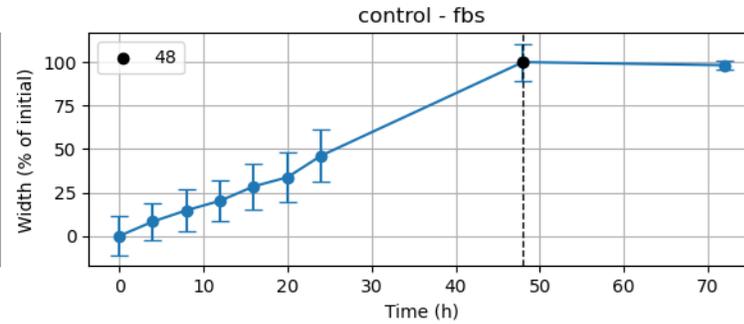
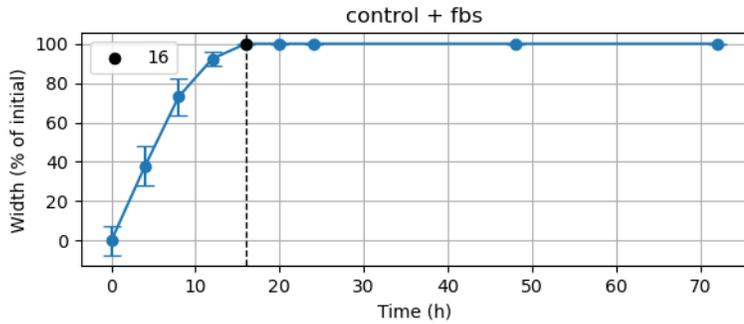


Экспериментальные данные. Scratch-test 21.06



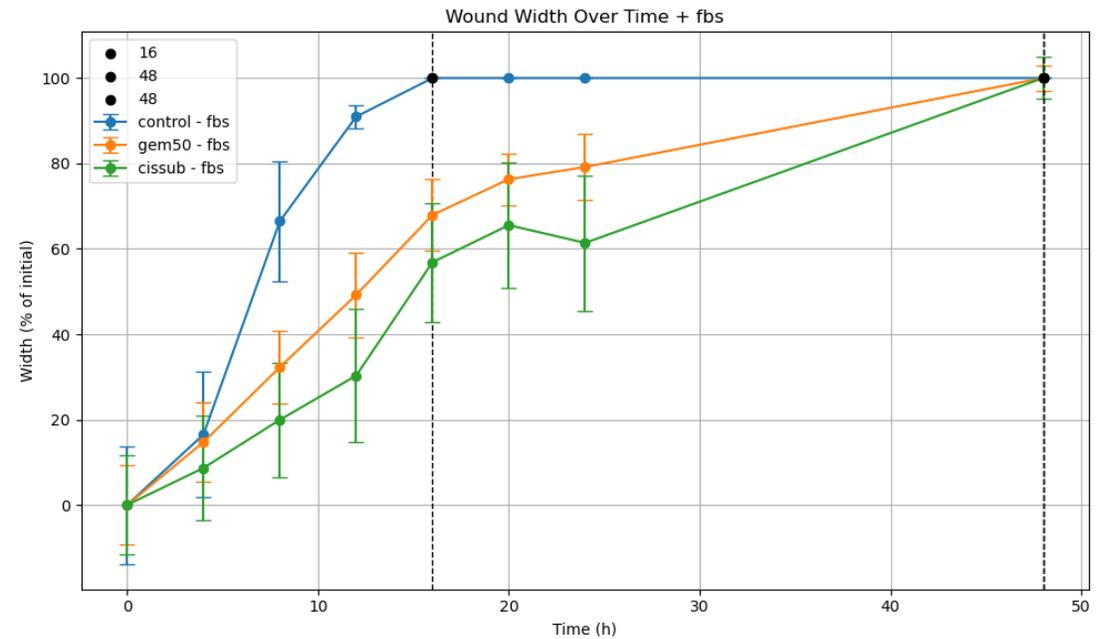
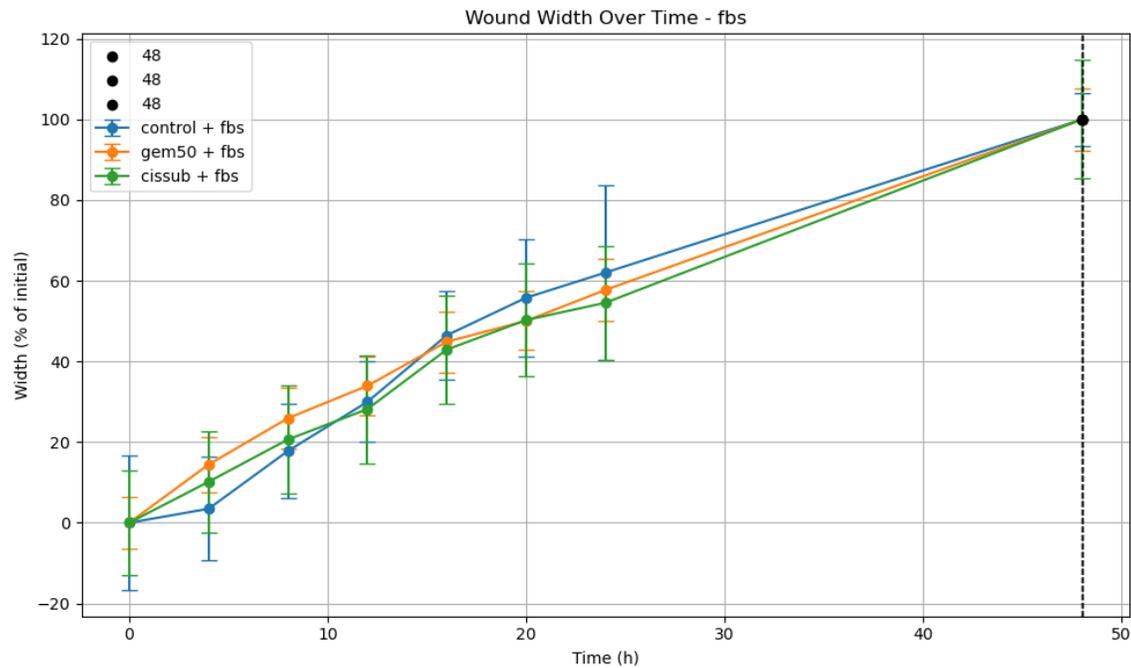


Экспериментальные данные. Scratch-test 21.06



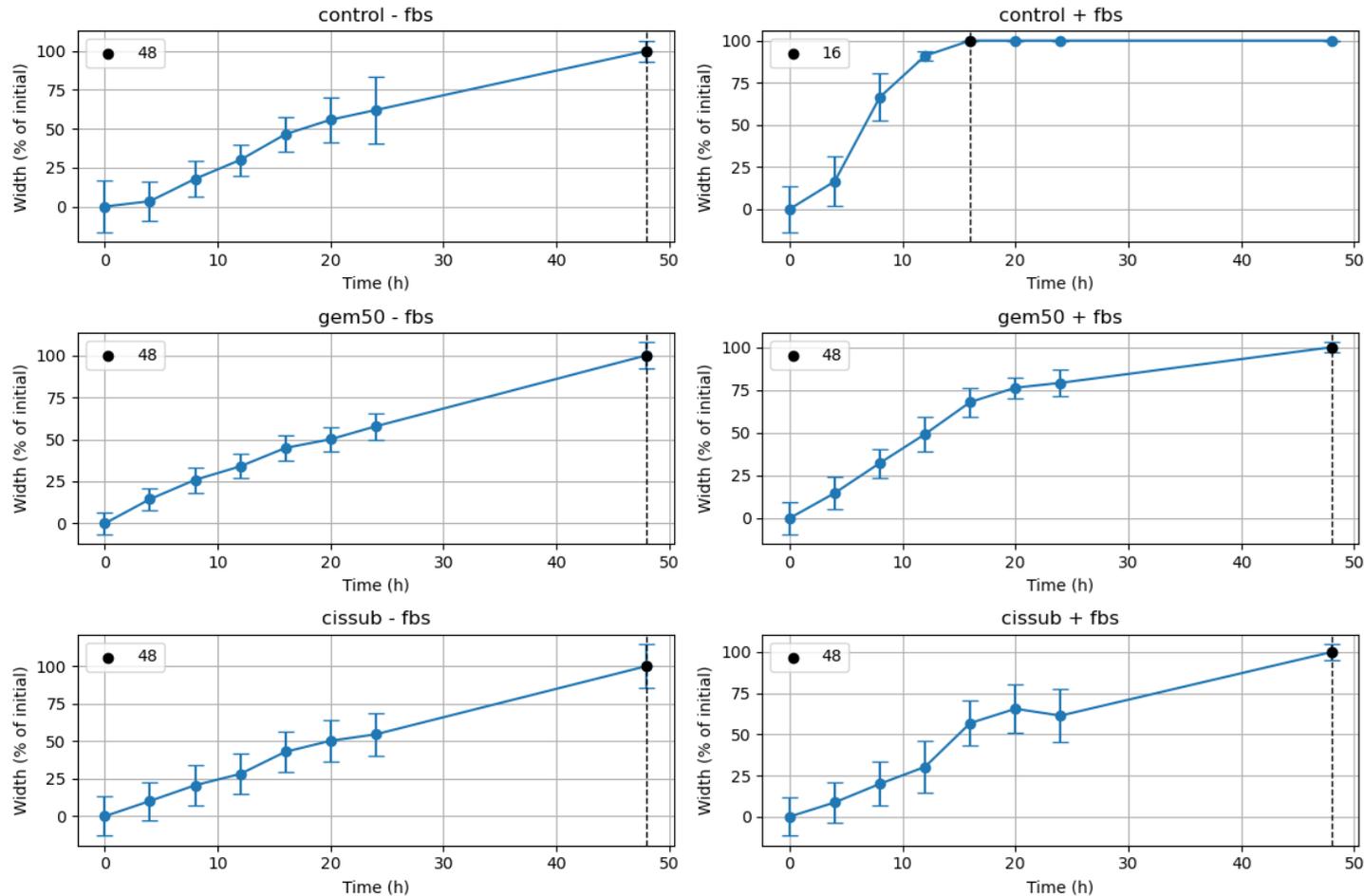


Экспериментальные данные. Scratch-test 06.06

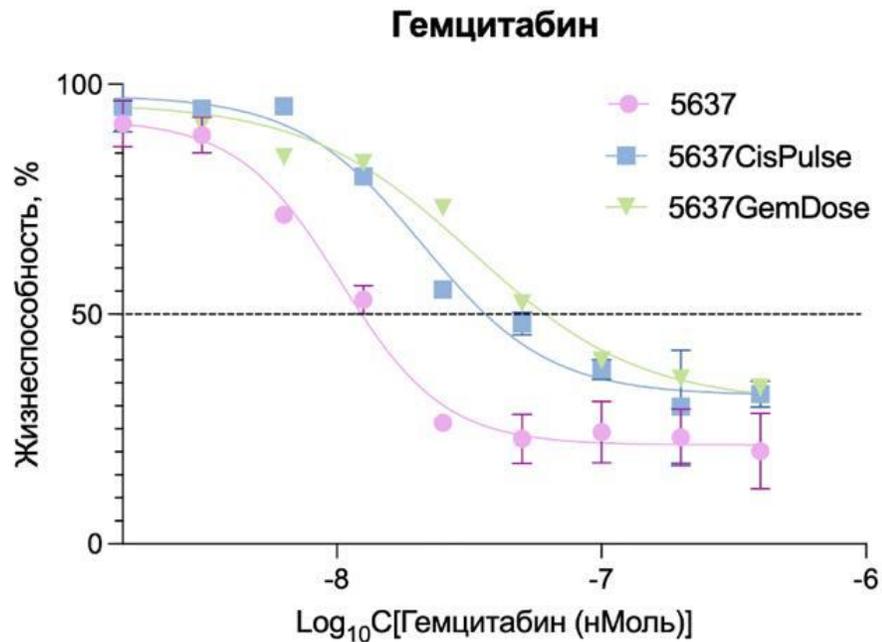




Экспериментальные данные. Scratch-test 06.06



Экспериментальные данные. MTT-assay

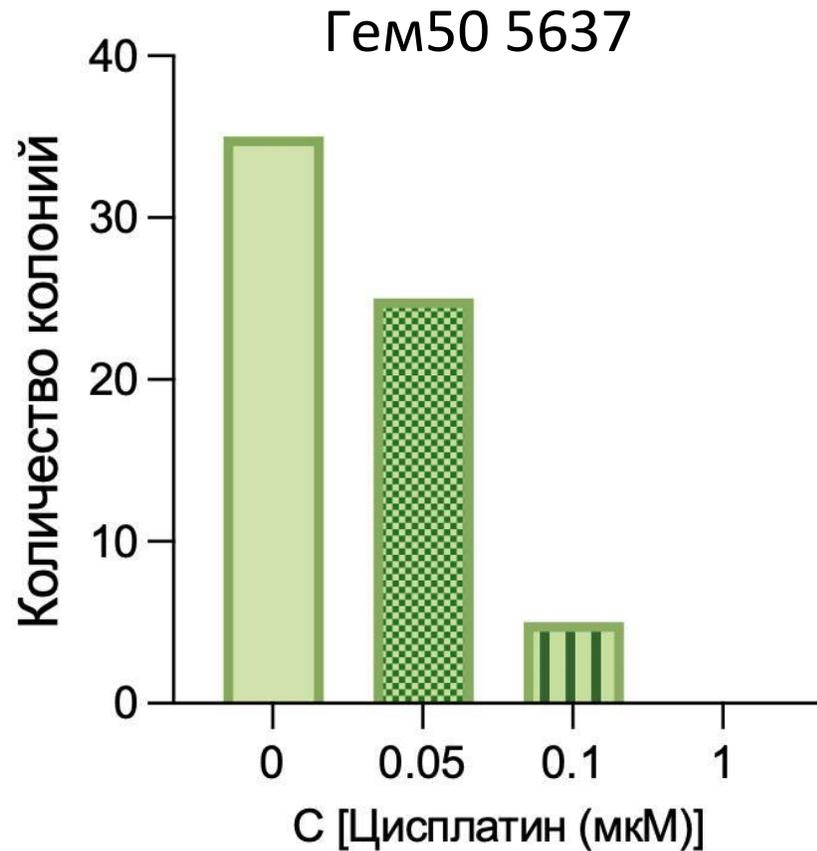


5637	IC ₅₀ , мкМоль	P-value
5637	13,50 ± 0,84	0,149
5637CisPulse	31,03 ± 2,36	0,587
5637GemDose	48,74 ± 1,47	0,275

	Фактор резистентности	P-value
5637CisPulse/ 5637	2,30	<0.0001
5637GemDose/ 5637	3,61	<0.0001

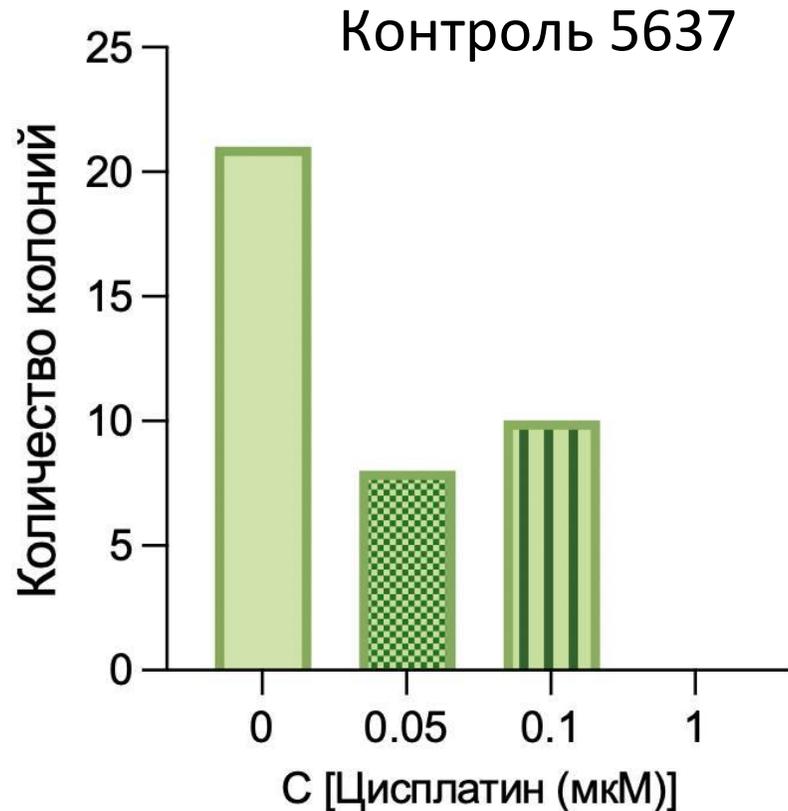
$$\text{Фактор резистентности} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ резистентной линии}}{\text{IC}_{50} \text{ родительской линии}}$$

Экспериментальные данные. Colony-formation assay



Клеточная линия 5637gem50
склонна к образованию
множества колоний
небольшой величины (около
30-40 клеток на колонию)

Экспериментальные данные. Colony-formation assay



клетки, резистентные к гемцитабину, при добавлении цисплатина формируют колонии со скоростью, схожей у контрольной линии



ВЫВОДЫ

Резистентность к гемцитабину →

1) Снижение миграции:

- МТ-регрессия (E-кадгерин↑)
- Rho-киназы↓

2) Повышенная выживаемость и пролиферация:

- Репарация ДНК (ATM/BRCA↑)
- Метаболизм dFdC (dCK↓, 5'-нуклеотидазы↑)
- Антиапоптоз (Bcl-2, Akt↑)



**Благодарю
за внимание!**