Реферат

Развитие устойчивости к химиопрепаратам может изменять метаболический профиль и пролиферацию опухолевых клеток. В одной из линий, устойчивых к ингибированию Mcl-1, было увеличено клеточное дыхание. Клетки, устойчивые к ингибированию MDM2, обладали повышенным метаболизмом и пролиферацией.

**Ключевые слова:** Mcl-1, MDM2, таргетная терапия, лекарственная устойчивость, апоптоз, метаболизм, пролиферация

**Metabolism and proliferation analysis of tumor cells with acquired resistance to Mcl-1 and MDM2 inhibitors**

Pervushin N.V. 1,2, Yapryntseva M.A.1,2, Badlaeva A.S. 3, Shipunova V.O. 4,5, Maslova O.V. 1, Nilov D.K. 6, Kopeina G.S. 1,2, Zhivotovsky B. 1,2,7

1-Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow 119991, Russia

2-Faculty of Medicine, MV Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia

3-Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Russian Ministry of Health, Moscow 117513, Russia

4-Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow 117997, Russia

5-Moscow Center for Advanced Studies, Moscow 123592, Russia

6-Belozersky Institute of Physicochemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia

7-Division of Toxicology, Institute of Environmental Medicine, Karolinska Institutet, Box 210, Stockholm 17177, Sweden

**Abstract text**

The development of resistance to chemotherapeutics may alter metabolic profile and proliferation of cancer cells. In one of the cell lines, resistant to Mcl-1 inhibition, respiration was elevated. Cells resistant to MDM2 inhibition were more metabolically active and faster-proliferative.

**Keywords**: Mcl-1, MDM2, targeted therapy, drug resistance, apoptosis, metabolism, proliferation

Важной особенностью опухолевых клеток является избегание механизмов запуска программируемой клеточной гибели (ПКГ), в частности, блокирование активации апоптоза. В регуляции апоптоза особую роль играют белки семейства Bcl-2 и транскрипционный фактор р53. Представители белкового семейства Bcl-2 могут как способствовать, так и препятствовать запуску апоптоза. Так, повышение уровней антиапоптотических белков (например, Bcl-2, Bcl-xL, Mcl-1) часто лежит в основе устойчивости опухолевых клеток к активации апоптоза, в то время как подавление этих белков может быть привлекательной стратегией противоопухолевой терапии. В настоящее время селективный антагонист белка Bcl-2 (Венетоклакс) одобрен для клинического применения в терапии гематологичеких опухолей, а ряд антагонистов Mcl-1 продолжают изучаться в клинических испытаниях.

Белок р53 отвечает за стабильность генома в нормальных и стрессовых условиях, препятствуя, тем самым, развитию онкологических заболеваний. Этот белок регулирует процессы клеточного старения, клеточный цикл, останавливает деление клеток после повреждения ДНК, а также способствует активации различных видов ПКГ, включая апоптоз. Мутации гена *TP53*, которые приводят к потере фукциональной активности белка, детектируются примерно в половине случаев развития опухолей у человека. При этом такие злокачественные новообразования характеризуются неблагоприятным прогнозом лечения.

Убиквитин-лигаза MDM2 поддерживает низкий внутриклеточный уровень р53 за счет различных механизмов, главным из которых является протеасомная деградация р53. Нарушение взаимодействия MDM2 с р53 ведет к накоплению последнего и выражается в р53-зависимой активации экспрессии генов эффекторных (BAX) и регуляторных (PUMA/BBC3 и др.) проапоптотических белков семейства Bcl-2, что в результате обеспечивает нейтрализацию их антиапоптотических партнеров и последующую гибель злокачественных клонов за счет запуска апоптоза. Таким образом, блокирование MDM2 может быть эффективным способом подавления опухолей. На данный момент ингибиторы MDM2 активно исследуются в клинических испытаниях.

Серьезным недостатком использования многих лекарственных препаратов, в особенности противоопухолевых агентов целевого действия, является развитие приобретенной лекарственной устойчивости к ним, что ведет к потерe их терапевтической эффективности. Селективные антагонисты Mcl-1 и MDM2 не являются исключением, и для данных соединений также был обнаружен этот эффект. Важно отметить, что, помимо снижения гибели в ответ на действие таргетного препарата, устойчивые опухолевые клетки могут приобрести дополнительные адаптационные преимущества: изменить свой метаболический профиль и пролиферативную активность.

В настоящей работе были получены три опухолевые клеточные линии различного происхождения, характеризующиеся повышенной устойчивостью к действию антагониста Mcl-1 S63845. В двух устойчивых популяциях клеток (аденокарциномы шейки матки HeLa и нейробластомы SK-N-Be(2)c) наблюдалось увеличение уровней других антиапоптотических белков – Bcl-2 или Bcl-xL и не происходило изменений в метаболической активности по сравнению с исходными линиями. В то время как в клетках аденокарциномы легкого Н23 наблюдалась обратная картина: отсутствие изменений в профиле антиапоптотических белков семейства Bcl-2 и повышение базального дыхания клеток. Во всех трех клеточных моделях не наблюдались различия в клоногенной активности между исходными и резистентными клонами. Таким образом, не только повышенное содержание антиапоптотических белков, но и усиление метаболизма могут вносить свой вклад в развитие устойчивости опухолевых клеток к ингибированию Mcl-1.

Также была выведена клеточная линия нейробластомы SH-SY5Y, обладающая повышенной устойчивостью к действию антагониста MDM2 RG7388. При помощи различных *in vitro* и *in silico* методов было обнаружено, что причиной устойчивости является появление мутации в гене *TP53*, ведущей к аминокислотной замене His193Arg, которая встречается в различных типах опухолей. Устойчивые клетки SH-SY5Y по сравнению с исходными характеризовались как повышением гликолиза и клеточного дыхания, так и увеличением клоногенной активности. Более того, повышенная пролиферативная активность была продемонстрирована в *in vivo* экспериментах гистологическими (оценка клеточного обновления) и иммуногистологическими (окраска маркера Ki-67) методами. Полученные данные свидетельствуют, что развитие приобретенной устойчивости опухолевых клеток к подавлению MDM2 сопровождается значительными изменениями их метаболического профиля и пролиферации, что может способствовать увеличению объема опухолевой ткани и неблагоприятному прогнозу выживаемости у таких пациентов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (грант 23-74-30006).