

**Роль статуса p53 в ответ на ионизирующее излучение в линии клеток
колоректального рака НСТ116**

Научный руководитель – Штиль Александр Альбертович

Кучур Олег Александрович

Аспирант

Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: kuchur@scamt-itmo.ru

Лучевая терапия является одним из основных и самых эффективных методов лечения рака. Тем не менее, в ответ на гамма-облучение часть клеток может выживать и приводить к образованию вторичных опухолей и прогрессированию заболевания. Среди молекулярных детерминант ответа опухолевых клеток пути p53 уже давно установлены в качестве ключевых регуляторов баланса между выживанием и гибелью клеток.

В нашем исследовании для оценки эффекта облучения мы использовали пару изогенных клеточных линий с диким типом и нефункциональным p53, а именно колоректальную карциному человека НСТ116 и её вариант НСТ116p53КО по обоим аллелям гена p53. В клетках НСТ116 арест в фазе G2/M клеточного цикла, зависящий от дозы и времени, наблюдался с 1 по 7 дни после облучения 1-4 Гр. При подобном воздействии на линию НСТ116p53КО был, напротив, обнаружен больший процент апоптотических (subG1) клеток. Это указывает на то, что инактивация p53 негативно влияет на выживание облученных клеток. Клоногенный анализ культур клеток продемонстрировал в 3 раза более низкую долговременную (14 дней) выживаемость p53-негативных аналогов по сравнению с клетками p53 дикого типа. Кроме того, белок p53 накапливался в клетках НСТ116 с 1 по 10 дни после облучения дозой 2 Гр; одновременно с этим наблюдалось увеличение белка p21 в дни с 1 по 7, что было определено методом иммуноблоттинга. Можно предположить, что в клетках, несущих p53 дикого типа, вызванное облучением повреждение ДНК активирует протеинкиназы Chk1/2, которые, в свою очередь, стимулируют фосфатазу Cdc25. Этот путь также стимулирует экспрессию опухолевого супрессора p53. Накопленный p53 активирует ингибитор клеточного цикла p21, тем самым задерживая клетки в контрольной точке посредством подавления Cdc25 и предотвращения перехода через фазу G2/M. В p53-отрицательных клетках не происходит блокирования в ответ на повреждение ДНК, и Cdc25 позволяет клеткам с нарушениями пройти через митоз, что приводит к апоптозу. Кроме того, нарушение взаимодействия p53-Mdm2 в присутствии Nutlin-3a с последующим облучением вызвало более выраженную гибель клеток с нокаутом p53 по сравнению с аналогами p53 дикого типа, обработанными Nutlin-3a, что доказывает, что эффект Nutlin-3a зависит от наличия p53.

Полученные результаты свидетельствуют о терапевтических комбинациях, направленных на усиление цитотоксического, а не цитостатического ответа облученных клеток.