

**Механизмы гибели клеток MYCN положительных нейробластом под действием новых разобщителей комплекса CDK2 - циклин E**

**Научный руководитель – Штиль Александр Альбертович**

*Гандалипов Эрик Рафикович*

*Аспирант*

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

*E-mail: gandalirov@scamt-itmo.ru*

Настоящая работа направлена на изучение молекулярных ответов и эффектов при действии новых низкомолекулярных соединений — разобщителей комплекса циклинзависимой киназы 2 и циклина E на линиях клеток MYCN-положительных нейробластом человека, которые в клинической практике имеют наиболее неблагоприятный прогноз.

Ингибиторы белков — регуляторов клеточного цикла находят всё большее применение в онкологической практике. Малые химические соединения, направленные на циклинзависимые киназы 2, 4, 6 и 7 проходят клинические испытания или уже одобрены к использованию [1]. Тем не менее, остаётся неудовлетворённая потребность в соединениях данного класса в связи с низкой эффективностью и селективностью текущих решений в применении к определённым типам заболеваний. В частности, уже была показана синтетическая летальность при проведении нокдауна CDK2 в моделях MYCN-положительных нейробластом [2], однако таргетной низкомолекулярной терапии по CDK2 для пациентов с таким диагнозом до сих пор не существует.

В ходе работы была обнаружена микромолярная активность данных ингибиторов в отношении клеток IMR-32 и Kelly (5 и 7 копий гена MYCN относительно пloidности, соответственно) в то время как клетки SK-N-AS, SK-N-SH и SH-SY5Y (1 копия гена MYCN) оставались резистентны к действию препарата. Равно как полностью резистентными к действию препарата вплоть до субмиллимолярных концентраций являются фибробласты лёгкого эмбриона и мезенхимальные клетки стромы человека.

Было показано, что на MYCN-положительных нейробластомах G<sub>1</sub>-арест наступает в первые 6 часов после добавления препаратов, и затем не отменяется до момента гибели клетки спустя 72 часа. При этом гибель клеток демонстрирует черты апоптоза, такие как стремительный рост subG<sub>1</sub>-положительных клеток в популяции, интенсивное окрашивание по анексину V в отсутствие окраски пропидия йодидом, и наличие расщеплённого белка PARP. Также важным является то, что эффект препаратов является необратимым уже спустя 6 часов воздействия.

Интересным результатом является так же то, что добавление данных ингибиторов к чувствительным клеткам ведёт не только к снижению активности CDK2 в клетках (было отмечено снижение фосфорилирования pRb по положениям 811 и 780), но и к снижению содержания CDK2 как таковой, в то время как содержание циклинов A и E не изменяется.

Таким образом, был показан потенциал новых разобщителей комплекса CDK2 и циклина E в качестве агентов для таргетной химиотерапии нейробластом с высокой амплификацией гена MYCN. Более того, факт снижения уровня CDK2 в результате их действия несёт в себе важный фундаментальный вопрос о механизмах реализации петли обратной связи и стабилизации CDK2 в ходе клеточного цикла.

**Источники и литература**

- 1) Zhang M, Zhang L, Hei R, Li X, Cai H, Wu X, Zheng Q, Cai C. CDK inhibitors in cancer therapy, an overview of recent development. Am J Cancer Res. 2021 May 15;11(5):1913-1935. PMID: 34094661; PMCID: PMC8167670.
- 2) Molenaar JJ, Ebus ME, Geerts D, Koster J, Lamers F, Valentijn LJ, Westerhout EM, Versteeg R, Caron HN. Inactivation of CDK2 is synthetically lethal to MYCN over-expressing cancer cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Aug 4;106(31):12968-73. doi: 10.1073/pnas.0901418106. Epub 2009 Jun 12. PMID: 19525400; PMCID: PMC2695754.

### **Иллюстрации**

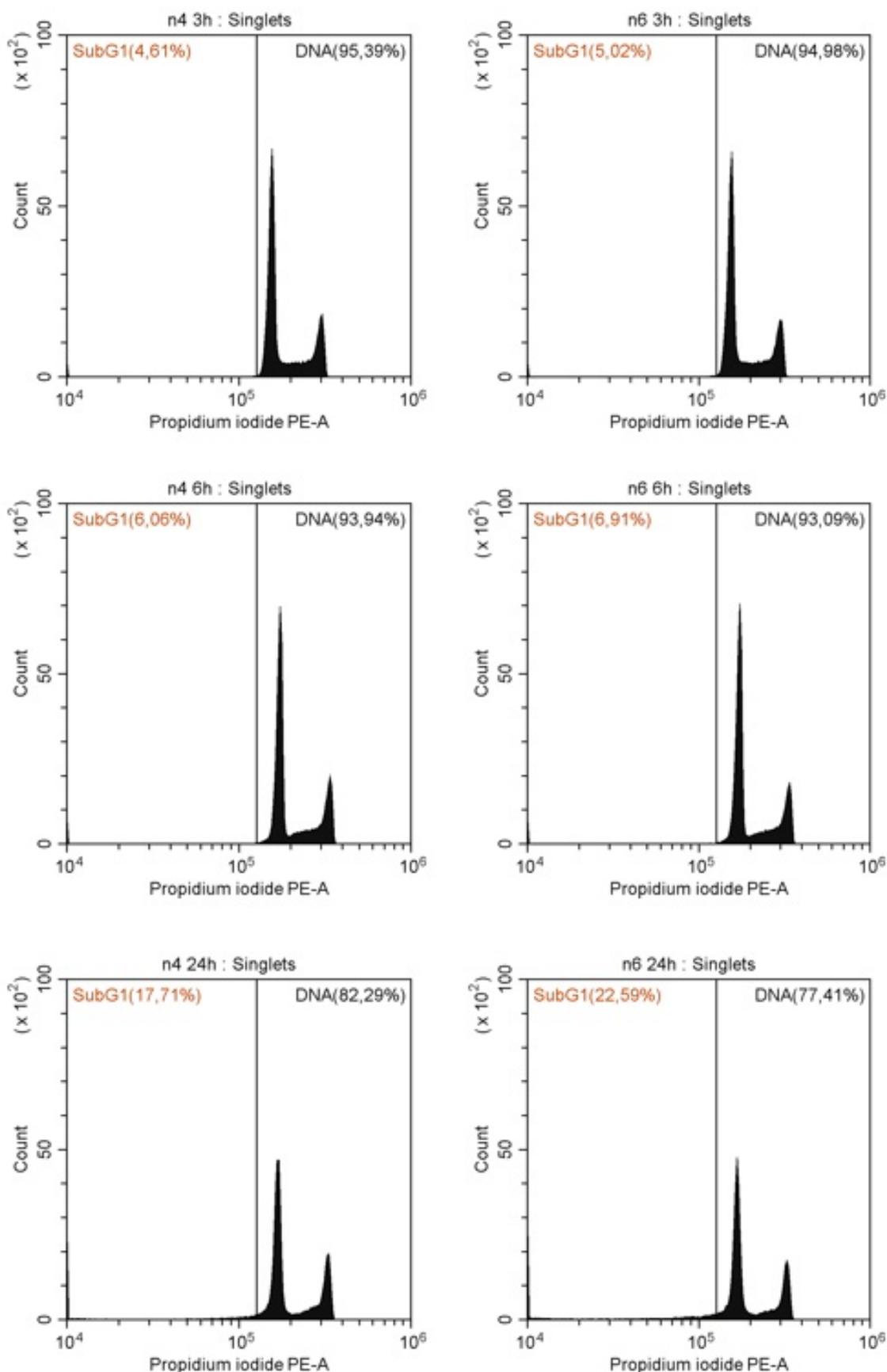


Рис. Рисунок 1. G1-арест в клетках IMR-32 под действием разобщителей комплекса CDK2 и циклина E через 3, 6 и 24 часа после добавления препаратов.