

Молекулярный патогенез экспериментального мукозита, вызванного 5-фторурацилом: протеомный анализ нарушений в кишечнике

Научный руководитель – Штиль Александр Альбертович

Исакова Валерия Александровна

Студент (магистр)

Санкт-Петербургский государственный университет, Биологический факультет, Saint Petersburg, Россия

E-mail: valeri.isakova@gmail.com

Ключевые слова: 5-фторурацил, протеомный анализ, биоинформатический анализ, мукозит, кишечник, колоректальный рак.

Злокачественные опухоли органов желудочно-кишечного тракта – одна из нерешенных проблем онкологии. В отличие от новообразований, где таргетная (мишень-направленная) терапия показана, детальные молекулярные исследования опухолей желудка и кишечника выявили множество мишеней [1]. Воздействие на одну мишень не приводит к существенному улучшению результатов, поэтому лекарственная терапия опухолей указанной локализации предусматривает использование препаратов широкого спектра. При раке желудка и кишечника на протяжении десятилетий применяется 5-фторурацил (5ФУ) – важнейший препарат в режимах полихимиотерапии [2]. Механизмы цитотоксичности 5ФУ многочисленны и включают повреждения нуклеиновых кислот (отсутствие опухолеспецифичности). Неизбежным побочным явлением при терапии 5ФУ является поражение слизистых оболочек, главным образом, кишечника (мукозит). Тяжесть симптомов мукозита обуславливает прекращение введения 5ФУ и требует сопроводительной терапии. Требуются углубленные исследования молекулярных особенностей патогенеза 5ФУ-индуцированного кишечного мукозита для разработки средств купирования этого осложнения.

В настоящем исследовании разработана и валидирована экспериментальная модель мукозита кишечника у лабораторных мышей в ответ на воздействие сублетальных доз 5ФУ. Изучение белков тонкого и толстого отделов кишечника выявило многочисленные изменения, расширяющие представления о молекулярном патогенезе лекарственного мукозита и позволяющие исследовать факторы индивидуальной чувствительности к противоопухолевому препарату.

Все процедуры с животными проводились в соответствии с международными этическими требованиями. Мыши-самки BALB/C (22-25 г, возраст 12-14 недель) получали 5ФУ (70 мг/кг в 0,3 мл 0,9% хлорида натрия) внутривентрально ежедневно на протяжении 4-х или 6 сут. Доза, периодичность и путь введения подобраны по результатам предварительных экспериментов. Контрольным животным вводили тот же объем растворителя. В каждой группе 6-8 животных. Через 3-4 сут в группе 5ФУ выявляли симптомы мукозита (снижение подвижности, малое потребление пищи, диарея), выраженность симптомов классифицировали согласно [3]. После завершения воздействий животных выводили из эксперимента и иссекали полнослойные участки тонкой (2 см дистальнее антрального отдела желудка) и толстой (2,5 см проксимальнее анального отверстия) кишок. Один и тот же участок разделяли на две фрагмента: один фиксировали в забуференном формальдегиде, готовили срезы для окраски гематоксилином и эозином. В тонком и толстом отделах кишечника каждой мыши анализировали не менее 60 срезов. Второй фрагмент иссеченной ткани помещали в жидкий азот для масс-спектроскопического исследования белков (протеомные исследования). Биоинформатический анализ данных протомики включал аннотирование функций белков, характеристику метаболических путей и дифференциальной

экспрессии генов для идентификации молекулярных процессов в кишечнике при действии 5ФУ.

Модель подтвердила развитие кишечного мукозита у всех животных, получавших 5ФУ. Гистологически установлены признаки дисрегенераторного процесса, характеризующегося атрофией слизистой оболочки тонкой и толстой кишок и потерей тургора тканей. Уменьшена толщина ворсин и глубина крипт, отсутствуют фигуры митоза, выражена утрата бокаловидных клеток. Протеомные исследования выявили изменения (увеличение или уменьшение) десятков белков в тонкой и толстой кишке по сравнению с контрольными животными. Количественные изменения в два и более (до 40) раз обнаружены для ~50 белков в тонкой и толстой кишке. Резко активированы протеазы; напротив, существенно снизились количества транспортеров пептидов и/или ионов, белки цитоскелета. Особый интерес представляют нарушения транскрипционных факторов. Выделены группы этих белков – master regulators транскрипции генов, дифференциально представленные в тонкой и толстой кишке. Высказаны новые предположения о процессах, приводящих к развитию кишечного мукозита в ответ на 5ФУ, среди которых нетривиальным (не предсказываемым *a priori*) выступает белок-партнер рецептора инсулина. На основании закономерностей, выявленных на тканевом уровне, начато исследование транспортеров и инсулинового сигналинга на уровне организма (ответы на 5ФУ у *Drosophila melanogaster* с мутантными гомологами указанных белков).

Источники и литература

- 1) Li R., Wu Y., Li Y., Shuai W., Wang A., Zhu Y., Hu X., Xia Y., Ouyang L., Wang G. Targeted regulated cell death with small molecule compounds in colorectal cancer: Current perspectives of targeted therapy and molecular mechanisms // Eur. J. Med. Chem. 2024. No. 265. С. 116040.
- 2) Yang L., Yang J., Kleppe A., Danielsen H.D., Kerr D.J. Personalizing adjuvant therapy for patients with colorectal cancer // Nat. Rev. Clin. Oncol. 2024. No. 21. С. 67-79.
- 3) Sakai H., Sagara A., Matsumoto K., Jo A., Hirosaki A., Takase K., Sugiyama R., Sato K., Ikegami D., Horie S., Matoba M., Narita M. Neutrophil recruitment is critical for 5-fluorouracil-induced diarrhea and the decrease in aquaporins in the colon // Pharmacol. Res. 2014. No. 87. С. 71-79.