

Чувствительность к гормональной терапии опухолей молочной железы не зависит от уровня экспрессии p53

Штам Т.А.¹, Пантина Р.А., Варфоломеева Е.Ю., Филатов М.В.

¹ Научный сотрудник, к.б.н.

Петербургский институт ядерной физики им. Б. П. Константинова, РАН, Лаборатория клеточной биологии, г.Гатчина Ленинградской области, Россия

Shtam@fromru.com

Введение и постановка задачи: Одним из наиболее естественных, легко переносимых способов терапии раков молочной железы (РМЖ), является воздействие на гормональную зависимость их роста. Антагонисты эстрадиола - тамоксифен и ралоксифен, конкурентно связываясь с рецепторами эстрадиола, приводят к остановке роста и гибели злокачественно трансформированных клеток. Тамоксифен является наиболее хорошо изученным антиэстрогеном, который может существенно увеличивать как сроки до наступления рецидива болезни, так и общую выживаемость у пациентов с РМЖ. Однако, ситуация осложняется тем, что около трети таких опухолей с самого начала демонстрируют или приобретают в ходе лечения устойчивость к такой терапии. Роль различных онкогенов и антионкогенов в механизме вызванного антиэстрогенами онкостатического эффекта и в индукции устойчивости к тамоксифену во многом остается неясной. В частности представления о роли одного из ключевых антионкогенов, каким является ген *p53*, крайне противоречивы. Существуют, многочисленные указания на то, что аномалии функционирования *p53* обуславливают плохой прогноз РМЖ и пониженную эффективность различных терапевтических воздействий, в том числе гормональных. Все эти заключения основаны на корреляции относительной успешности лечения с использованием тамоксифена и оценкой состояния *p53*. Поскольку результат лечения определяется множеством причин, а функциональный статус *p53*, далеко не всегда однозначно определяется, то доказательность сделанных заключений вызывает сомнения, особенно в виду противоречивости результатов.

Появившиеся в последнее время новые методические возможности прямого специфического выключения функции генов с помощью короткой интерференционной двунитевой РНК (siRNA) позволяют более прямо решать подобные задачи, выявляя не опосредованные корреляции, а непосредственные причинно следственные связи экспрессии гена и клеточных свойств. В задачи представленного исследования входило использование системы РНК-интерференции для установления возможного влияния экспрессии гена *p53* на эффективность терапии тамоксифеном РМЖ..

Материалы и методы: Исследования проводились на культуре клеток рака молочной железы MCF-7, экспрессирующей белок *p53* дикого типа. Транфекцию анти-*p53*-si-РНК осуществляли по методикам, предложенным производителем (Dharmacon). Уровень белка *p53* определяли иммунофлуоресцентным окрашиванием с помощью моноклональных антител к *p53* (Clone BP53-12, Sigma) и FITC-меченых вторичных антител против иммуноглобулинов мыши (Sigma). Визуализировали меченый белок в клетках методом флуоресцентной микроскопии. Количественный анализ уровня экспрессии белка *p53* проводили с помощью техники проточной цитофлуориметрии.

Результаты: В представленной работе мы, используя новый подход РНК-интерференции для подавления экспрессии гена *p53* дикого типа, убедительно продемонстрировали, что практически полное выключение этого гена и, соответственно, снижение уровня белка в клетках РМЖ MCF-7 не влияет на чувствительность клеток этой линии к тамоксифену в концентрации, используемой в клинической практике. Полученные результаты в целом дополняют общую картину исследований значимости этого генетического маркера в гормонотерапии опухолей молочной железы, а использование интерференции РНК открывает перспективы для целенаправленного “гашения” экспрессии генов в изучении молекулярных характеристик опухоли и прогнозирования действия различных лекарственных препаратов.