

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-260

**ВЛИЯНИЕ НИЗКИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ВРА
НА МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКУЮ ХАРАКТЕРИСТИКУ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ
АДЕНОКАРЦИНОМЫ ТОЛСТОЙ КИШКИ ЧЕЛОВЕКА HT-29**

**THE EFFECT OF LOW CONCENTRATIONS OF BPA ON THE MOLECULAR BIOLOGICAL
CHARACTERISTICS OF THE HUMAN COLON ADENOCARCINOMA HT-29 CELL LINE**

Е. А. Мирошниченко^{1,2}, М. Н. Диатроптова¹, А. С. Ефимушкина¹, А. М. Косырева^{1,2}

¹*НИИ морфологии человека им. акад. А. П. Авцына,
Российский научный центр хирургии им. акад. Б. В. Петровского, Москва*
²*НИИ молекулярной и клеточной медицины РУДН, Москва*

E. A. Miroshnichenko^{1,2}, M. N. Diatroptova¹, A. S. Efimushkina¹, A. M. Kosyreva^{1,2}

¹*Avtsyn Research Institute of Human Morphology, Petrovsky National Research Centre of Surgery, Moscow*

²*Research Institute of Molecular and Cellular Medicine, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow*

✉ katerinamir10011@gmail.com

Аннотация

Согласно литературным данным, Бисфенол А может оказывать негативное влияние на состояние эпителия толстой кишки и приводить к развитию колоректального рака. В данном исследовании мы оценили выживаемость, цитотоксичность и уровень экспрессии ряда генов, сопряженных с пролиферацией опухоли и метастазированием, в культуре клеток аденокарциномы человека HT-29 при инкубации с бисфенолом А в концентрациях 5, 25 и 50 мкмоль/л.

Abstract

According to the literature, Bisphenol A can exert a negative influence on the colon epithelium and lead to the development of colorectal cancer. In this study, we assessed the survival, cytotoxicity, and expression level of a number of genes associated with tumor progression and metastasis in human adenocarcinoma HT-29 cell culture when incubated with bisphenol A at concentrations of 5, 25, and 50 $\mu\text{mol/L}$.

Введение. Бисфенол А (ВРА) — эстроген-подобное вещество, широко используемое в качестве мономеров в производстве поликарбонатных пластиков, эпоксидных смол, бутылок для воды, облицовки консервных банок и упаковки для пищевых продуктов, термобумаги, а также медицинского оборудования. ВРА относится к эндокринным дисрапторам, участвующим в развитии опухолевых (пролиферации, миграции, инвазии опухолевых клеток) и воспалительных процессов, модуляции иммунных реакций [1]. Аденокарцинома — наиболее частый вид колоректального рака (КРР), распространенность которого ежегодно растет, в том числе среди молодого населения [2]. Влияние ВРА на развитие и прогрессирование КРР изучено недостаточно.

Целью нашей работы было исследование выживаемости, цитотоксичности и уровня экспрессии мРНК генов *CD44*, *PI3K*, *CDK1*, *p65*, *EGFR*, *VEGFA*, *TP53*, *ESR1a*, *ESR2b*, *HIF-1a*, *CDH1* в культуре клеток HT-29 (КРР) при инкубации с ВРА в концентрациях 5, 25 и 50 мкмоль/л в течение 24 ч.

Материалы и методы. В исследовании использовали культуру клеток линии HT-29 аденокарциномы толстой кишки человека. Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с L-глутамином (ПанЭко) с добавлением 10 % ФБС (Biosera) и 50 ед/мл антибиотика пенициллин-стрептомицин (ПанЭко) при 37 °С и 5 % CO₂ до вхождения клеток в фазу экспоненциального роста. К клеткам добавляли ВРА в концентрации 5, 25 и 50 мкмоль/л и инкубировали в течение 24 ч. Оценку пролиферативной активности культуры HT-29 в норме и при воздействии на нее ВРА проводили путем построения кривых роста. Клетки снимали с чашек Петри в течение 5 суток с разницей в 24 ч и подсчитывали на автоматическом счетчике клеток TC-20 (Bio-Rad Laboratories). Цитотоксичность ВРА исследовали с помощью МТТ-теста. Для оценки оптической плотности (ОП) использовали микропланшетный ИФА-ридер при длине волны 490 нм. Клеточную жизнеспособность определяли как соотношение ОП клеток с ВРА к ОП контроля, выраженное в процентах. Методом ПЦР-РВ определяли уровень экспрессии мРНК генов, сопряженных с пролиферацией опухолевых клеток — *CD44*, *PI3K*, *CDK1*, *p65*, *EGFR* — и ангиогенезом опухоли — *VEGFA*; гена-супрессора опухоли — *TP53*; генов к рецепторам эстрогена — *ESR1a* и *ESR2b*; а также мРНК

генов фактора, индуцируемого гипоксией HIF-1 α и маркера эпителиально-мезенхимального перехода *CDH1*. Полученные данные нормировали по GAPDH и обрабатывали в программе Statistica.

Результаты и обсуждение. В результате построения кривой роста опухолевых клеток культуры HT-29 по показателям оптической плотности не было обнаружено различий между контролем и группами с добавлением ВРА в концентрациях 5, 25 и 50 мкмоль/л. Цитотоксичность, оцененная с помощью МТТ-теста, между группами также не различалась. По данным анализа ПЦР-РТ, по сравнению с контрольной группой у группы с добавлением ВРА 5 мкмоль/л отмечалось снижение экспрессии *CD44* и *CDK1*. По сравнению с группой с добавлением ВРА в концентрации 5 мкмоль/л концентрация 25 мкмоль/л приводила к повышению уровня экспрессии мРНК *HIF-1 α* , *CD44*, *p65*, *EGFR*, *VEGFA*, *TP53*, *CDK1*. При инкубации HT-29 с ВРА в дозе 50 мкмоль/л отмечалось увеличение уровня экспрессии мРНК *HIF-1 α* , *CD44*, *p65* по сравнению с дозой 5 мкмоль/л. Различий в экспрессии мРНК эстрогеновых рецепторов, с которыми может связываться ВРА, выявлено не было, как и в экспрессии мРНК *CDH1*, низкие уровни которого коррелируют с неблагоприятным прогнозом при КРР. Таким образом, инкубация клеток культуры HT-29 с ВРА в концентрации 25 мкмоль/л приводит к повышению экспрессии мРНК генов — участников метаболических путей, способствующих прогрессии опухоли и метастазированию.

Литература

1. Hahladakis J.N., Iacovidou E., Gerassimidou S. An overview of the occurrence, fate, and human risks of the bisphenol-A present in plastic materials, components, and products // Integrated Environmental Assessment and Management. 2023. Vol. 9 (1). P. 45–62.
2. Constantinou V., Constantinou C. Focusing on colorectal cancer in young adults (Review) // Molecular and Clinical Oncology. 2023. Vol. 20 (1). P. 8.