

Влияние физиологической среды на метаболизм гепатоцитов при их инфекции вирусом гепатита С.

Научный руководитель – Иванов Александр Владимирович

Голиков Михаил

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: cool.mik3492594@yandex.ru

Вирус гепатита С является глобальной проблемой здравоохранения, по данным ВОЗ во всем мире им поражено около 71 миллиона человек. У носителей вируса могут возникать патологии печени, например: фиброз, цирроз, гепатоцеллюлярная карцинома. Возникающие патологии могут стать причиной смерти: ежегодно около 400 тысяч человек умирает от различных патологий, ассоциированных с ВГС. В данный момент лечения от некоторых генотипов ВГС является часто или неэффективным, или дорогостоящим. Вакцины от вируса гепатита С не существует.

Известно, что развитие вирусной инфекции имеет отклик в метаболизме пораженных клеток, при этом сам метаболизм клеток непосредственно связан с условиями культивирования. Исследования метаболизма инфекционного процесса испытывают затруднения из-за слишком сильного влияния нефизиологических (стандартных) культуральных сред (напр. DMEM, F12). В последние годы были предложены физиологически обоснованные среды (напр. PlasmaX, HPLM) и было показано, что метаболические изменения в таких условиях имеют иной характер. Целью данной работы было исследование метаболических изменений гепатоцитов в физиологических и стандартных средах при их инфекции вирусом гепатита С. Объектом исследования была линия клеток Huh7.5 перmissive к ВГС и система реплика (JFH1). Экспрессия генов оценивалась методом ОТ-ПЦР в реальном времени, а цитотоксичность веществ - МТТ-тестом.

Хорошо известно, что раковые клетки, являющиеся основной моделью экспериментов, часто являются зависимыми от анаплеоротических реакций цикла мочевины, например, от метаболического пути глутаминолиза. По-видимому, эта зависимость во многом вызвана искусственно созданными условиями культивирования, уровень экспрессии ключевого фермента этого метаболического пути - глутаминазы (GLS) был ниже для клеток, культивируемых в физиологической среде PlasmaX. Другим существенным отличием раковых клеток является эффект Варбурга - усиление гликолиза путем переработки пирувата в лактат лактатдегидрогеназой. При культивировании клеток в среде PlasmaX уровень экспрессии LDHA был снижен по сравнению с его уровнем в DMEM. Также при переходе к физиологической среде была выявлена активация пути биосинтеза серина и глицина, что согласуется с более низкими уровнями экспрессии PKM2, кроме того, снизился уровень транскрипции G6PD - ключевого фермента пентозофосфатного пути. Помимо всего прочего переход к физиологической среде снизил чувствительность клеток к ингибированию LDHA и, наоборот, повысил чувствительность к ингибитору HK2. Изменения были выявлены и в уровнях клеточного дыхания (Seahorse), а также в неинфекционной модели репликации (JFH1).

Основываясь на анализе более 70 генов, были выявлены изменения в экспрессии генов многих метаболических путей: глутаминолиз, биосинтез серина, глицина, пентозофосфатный путь и других, изменения в чувствительности к ингибиторам ферментов, уровнях клеточного дыхания и эффективности репликации JFH1.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ №19-74-10086.