

# Глюкозозависимый синтез аденозинтрифосфорной кислоты и экспрессия транспортеров GLUT в миеломных клетках RPMI8226

С.С. Шушанов<sup>1</sup>, А.Р. Гизатуллин<sup>2</sup>, Ю.Б. Черных<sup>3</sup>, Т.А. Захарова<sup>1</sup>, Н.П. Акентьева<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115522 Москва, Каширское шоссе, 24;

<sup>2</sup>ФГБУН «Федеральный исследовательский центр проблем химической физики и медицинской химии РАН»;

Россия, 142432 Московская область, Черноголовка, пр-кт Академика Семенова, 1;

<sup>3</sup>ГБУЗ МО «Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского»; Россия, 129110 Москва, ул. Щепкина, 61/2

**Контакты:** Саин Сакинович Шушанов [sainHersh@yandex.ru](mailto:sainHersh@yandex.ru)

**Введение.** Глюкоза – один из основных источников энергии в клетках. Потребление глюкозы раковыми клетками заметно выше по сравнению с нормальными клетками и усиливается по мере злокачественного прогрессирования. Начальным этапом метаболизма глюкозы является ее транспорт через плазматическую мембрану, который опосредуется семейством транспортеров глюкозы GLUT. Исследование механизмов активации GLUT представляет собой многообещающий подход к дифференциальному блокированию регулируемого глюкозой метаболизма в раковых клетках. В данной работе мы исследовали зависимость эффективности синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) и регуляции экспрессии генов классических «переносчиков глюкозы» *GLUT1* – *GLUT4* от количества глюкозы в культуральной среде в миеломных клетках человека RPMI8226.

**Цель исследования** – изучение влияния глюкозы на синтез АТФ и регуляцию экспрессии генов – транспортеров глюкозы *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4* в клетках множественной миеломы человека RPMI8226.

**Материалы и методы.** В работе использовали линию миеломных клеток человека RPMI8226. Жизнеспособность клеток оценивали колориметрическим методом. Влияние глюкозы на синтез АТФ в клетках определяли люминесцентным методом. Экспрессию матричной РНК в клетках изучали методом количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени.

**Результаты.** В ходе исследования установлено, что синтез АТФ в клетках RPMI8226 зависит от метаболизма глюкозы. Снижение жизнеспособности клеток RPMI8226 строго коррелирует со снижением содержания ново-синтезируемой АТФ. Для указанной линии клеток характерна относительно высокая исходная экспрессия гена *GLUT1* и гена *GLUT3*, относительно умеренная – гена *GLUT2*, и относительно слабая – гена *GLUT4*. Исследования по депривации глюкозы выявили активацию экспрессии всех указанных генов транспортеров глюкозы, однако наиболее высокая экспрессия была характерна для генов *GLUT2* и *GLUT4*.

**Заключение.** На основании исследования мы заключаем, что для миеломных клеток RPMI8226 глюкоза является одним из важных источников энергии. Экспрессия генов транспортеров глюкозы *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4* зависит от концентрации глюкозы, однако исходный уровень экспрессии не предсказывает характер ее изменений при глюкозной депривации.

**Ключевые слова:** синтез аденозинтрифосфорной кислоты, экспрессия матричной РНК, транспортер глюкозы GLUT

**Для цитирования:** Шушанов С.С., Гизатуллин А.Р., Черных Ю.Б. и др. Глюкозозависимый синтез аденозинтрифосфорной кислоты и экспрессия транспортеров GLUT в миеломных клетках RPMI8226. Российский биотерапевтический журнал 2025;24(3):10–8.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-3-10-18>

## Glucose-dependent adenosine triphosphate synthesis and GLUT transporter expression in RPMI8226 myeloma cells

Sain S. Shushanov<sup>1</sup>, Artur R. Gizatullin<sup>2</sup>, Yulia B. Chernykh<sup>3</sup>, Tatiana A. Zakharova<sup>1</sup>, Natalia P. Akentieva<sup>2</sup>

<sup>1</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115522, Russia;

<sup>2</sup>Federal Research Center of Problems of Chemical Physics and Medicinal Chemistry, Russian Academy of Sciences; 1 Akademika Semenova Prospekt, Chernogolovka, Moscow region 142432, Russia;

<sup>3</sup>M.F. Vladimirsky Moscow Regional Research and Clinical Institute; 61/2 Shchepkin St., Moscow 129110, Russia

**Contacts:** Sain Sakenovich Shushanov [sainHersh@yandex.ru](mailto:sainHersh@yandex.ru)

**Background.** Glucose is one of the main sources of energy in cells. Glucose consumption by cancer cells is markedly higher compared to normal cells and increases with malignant progression. The initial step in glucose metabolism is its transport across the plasma membrane, which is mediated by the GLUT family of glucose transporters. Although patterns of *GLUT* gene expression in cancer have already been identified, studying the mechanisms of their activation represents a promising approach to differentially block glucose-regulated metabolism in cancer cells. In this work, we investigated the dependence of the efficiency of adenosine triphosphate (ATP) synthesis and the regulation of the expression of the genes of classical “glucose transporters” *GLUT1–GLUT4* on the amount of glucose in the culture medium.

**Aim.** Study of glucose-dependent ATP synthesis and expression of glucose transporter genes: *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4*, involved in glucose transport in human myeloma cells RPMI8226.

**Materials and methods.** The human myeloma cell line RPMI8226 was used in this work. Cell viability was assessed using a colorimetric method. The effect of glucose on ATP synthesis in cells was determined using the luminescent method. The expression of mRNA in cells was studied using real-time quantitative polymerase chain reaction.

**Results.** The study found that ATP synthesis in RPMI8226 cells depends on glucose metabolism. Decreased viability of RPMI8226 cells strongly correlates with decreased levels of newly synthesized ATP. This cell line is characterized by relatively high initial expression of the *GLUT1* gene and the *GLUT3* gene, relatively moderate expression of the *GLUT2* gene, and relatively weak expression of the *GLUT4* gene. Studies on glucose deprivation revealed activation of the expression of all these glucose transporter genes, but the highest expression was characteristic of the *GLUT2* gene and *GLUT4* gene,

**Conclusion.** Based on the study, we conclude that for RPMI8226 myeloma cells, glucose is one of the important sources of energy metabolism. Expression of glucose transporter genes: *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4* depends on glucose concentration, but the initial level of expression does not predict the nature of its changes during glucose deprivation.

**Keywords:** adenosine triphosphate synthesis, mRNA expression, GLUT glucose transporter

**For citation:** Shushanov S.S., Gizatullin A.R., Chernykh Yu.B. et al. Glucose-dependent adenosine triphosphate synthesis and GLUT transporter expression in RPMI8226 myeloma cells. *Rossiiskij bioterapevticeskij zurnal = Russian Journal of Biotherapy* 2025;24(3):10–8. (In Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2025-24-3-10-18>

### Введение

Глюкоза является одним из основных источников энергии в клетках, используется в качестве субстрата для синтеза аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) посредством гликолиза и окислительного фосфорилирования. АТФ — универсальный источник энергии для всех биохимических процессов, протекающих в клетке. Время жизни 1 молекулы АТФ < 1 мин, поэтому ее синтез в клетке происходит непрерывно [1].

Потребление глюкозы раковыми клетками заметно выше по сравнению с нормальными клетками и усиливается по мере злокачественного прогрессирования, что в значительной степени способствует их росту и пролиферации [2–4]. Хотя картина метаболизма опухолевых клеток еще далека от завершения, сегодня предпринимаются попытки повысить

эффективность лечения рака в виде стратегии, получившей название «метаболическая терапия». Противоопухолевая метаболическая терапия предполагает использование небольших молекул, способных специфично ингибировать ключевые метаболические реакции, ассоциированные с опухолевым ростом. Таким образом, изменение энергетического метаболизма в опухолевых клетках может служить мишенью в противоопухолевой терапии, при которой комбинация традиционных химиотерапевтических лекарственных средств и модуляторов метаболизма может повысить эффективность противоопухолевой терапии [5].

Множественная миелома (ММ) представляет собой злокачественное новообразование, характеризующееся клональной пролиферацией антителообразующих

плазматических клеток, которые развиваются из дифференцирующихся В-клеток, изначально характеризующихся низкой метаболической активностью. Дифференцировка В-клеток в плазматические клетки требует увеличения поглощения глюкозы и синтеза АТФ для пролиферации и подготовки к выработке антител [6]. Изменение метаболической активности клеток ММ ассоциируется с изменением регуляции экспрессии генов и белков, участвующих в биоэнергетике и биосинтезе [7]. Например, показано, что в плазматических клетках, полученных от пациентов с впервые диагностированной ММ, гены, участвующие в метаболизме глюкозы, активированы по сравнению с их состоянием в плазматических клетках, полученных от здоровых доноров, и их активность продолжает расти в плазматических клетках больных ММ с рецидивом по сравнению с их активностью в плазматических клетках недавно диагностированных больных ММ [8].

Ключевым этапом потребления глюкозы является транспорт глюкозы через плазматическую мембрану в цитозоль, который опосредуется семейством транспортеров глюкозы (GLUT) [2–4]. На основании гомологии в аминокислотной последовательности и структурного сходства транспортеры глюкозы объединены в 3 класса. В I класс входят транспортеры GLUT1, GLUT2, GLUT3 и GLUT4, которые известны как классические «переносчики глюкозы» и наиболее хорошо изучены [2, 3]. Хотя закономерности экспрессии транспортеров глюкозы при раке уже идентифицированы, однако исследование взаимосвязи между изменением метаболической активности клеток ММ и активностью генов *GLUT* остается актуальным.

**Цель исследования** — изучение влияния глюкозы на синтез АТФ и регуляцию экспрессии генов транспортеров глюкозы *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4* в клетках ММ человека RPMI8226.

## Материалы и методы

### Линии клеток множественной миеломы

В работе использована линия клеток ММ человека, RPMI8226, которая была выведена из образца костного мозга больного ММ. Эта линия клеток получена из Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия). Способ культивирования: суспензионный в среде RPMI1640 с 10 % телячьей эмбриональной сывороткой (FBS) при температуре 37 °С, 5 % CO<sub>2</sub>. Линия клеток RPMI8226 является широко известной и часто используемой для изучения биологии ММ. Она фенотипически охарактеризована (для нее четко установлены критерии дифференцировки [9]) и доказана ее миеломная природа. В этой линии клеток с использованием количественной полимеразной цепной

реакции (ПЦР) в реальном времени мы предварительно исследовали экспрессию генов транспортеров глюкозы *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4* и по количеству циклов ПЦР установили, что эти гены имеют средний уровень экспрессии, что является основным критерием выбора клеточной линии RPMI8226 в качестве модели для исследования.

### Оценка жизнеспособности клеток множественной миеломы колориметрическим методом

Для определения жизнеспособности клеток мы использовали колориметрический метод — МТТ-тест, основанный на способности митохондриальных дегидрогеназ живых клеток превращать «желтый» МТТ — 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид — в «синий» формазан. Клетки RPMI8226 засеивали в 96-луночные планшеты с плотностью  $20 \times 10^3$  клеток на лунку в 3 повторах в 150 мкл среды с сывороткой, содержащей 25 мМ глюкозы (контроль), или без глюкозы. Эти условия повторяли для бессывороточной среды. После инкубации в течение 72 ч в каждую лунку добавляли 20 мкл МТТ (исходная концентрация — 5 мг/мл) и клетки инкубировали при температуре 37 °С еще 4 ч. Через указанное время удаляли среду и добавляли 60 мкл диметилсульфоксида на лунку для растворения осадка. Для гомогенного распределения красителя качали на шейкере в течение 3 мин при 300 об/мин. Анализ проводили на цитофотометре «Унискан» («Пикон», Россия) при фильтре 595 нм. Жизнеспособность клеток оценивалась сопоставлением оптической плотности в экспериментальных лунках с оптической плотностью в контрольных лунках. Значения представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего (SEM).

### Исследование глюкозозависимого синтеза аденозинтрифосфорной кислоты в клетках RPMI8226

Влияние глюкозы на синтез АТФ в клетках определяли люминесцентным методом с использованием набора АТФ-Glo™ («Аксиома БИО», Россия) согласно инструкции. План эксперимента был выполнен с модификацией в соответствии с исследованием [10]. Клетки RPMI8226 дважды отмывали от сыворотки и глюкозы средой без сыворотки и глюкозы. После каждой промывки клетки осаждали центрифугированием при 3000 g в течение 5 мин. Осадок клеток ресуспендировали в 5 мл среды без сыворотки в присутствии 5 мМ глюкозы (низкое содержание глюкозы) и инкубировали в течение 12 ч с целью истощения АТФ. Через 12 ч клетки тщательно отмывали от глюкозы средой без сыворотки и глюкозы и делили поровну на 2 части, далее осаждали и супернатант сливали. Затем к 1-й части осажденных клеток

добавляли среду без сыворотки и глюкозы (контроль), а ко 2-й части осажденных клеток добавляли среду без сыворотки с 25 мМ глюкозы (высокое содержание глюкозы), пипетировали и вносили в лунки 96-луночного планшета по 100 мкл (5 лунок). Затем клетки инкубировали при температуре 37 °С в течение 30 мин. По истечении 30 мин в каждую лунку вносили по 5 мкл АТФ-Глю-коктейля и измеряли интенсивность люминесценции на спектрофлуориметре Multiskan FC 357–908226 (Thermo Fisher Scientific, США) при  $E_{ex}/E_{em} = 546/620$  нм. Расчет общего количества АТФ проводили на основе построенной калибровочной стандартной кривой. Данные представлены как среднее значение 3 повторных экспериментов.

#### Выделение РНК из клеток множественной миеломы и синтез комплементарной ДНК

Для выделения тотальной РНК к осадку клеток добавляли 1 мл тризола (TRIzol, Sigma-Aldrich, США). Процедуру выделения РНК проводили согласно стандартному протоколу. Концентрацию РНК определяли по оптическому поглощению при  $\lambda$  260 нм. Электрофорез выделенной РНК проводили в 1 % агарозном геле при напряжении 100 В в течение 30–40 мин. Качество РНК оценивали по наличию полос рибосомальной РНК. Реакционная смесь для синтеза первой цепи комплементарной ДНК (кДНК) содержала 2 мкг тотальной РНК, 4 мкл 5X реакционного буфера (Fermentas, США), 1 мкл (0,5 мкг) праймеров Oligo (dT)<sub>18</sub> (Fermentas, #S0131, США), 1 мкл 25 мМ смеси dNTP (Thermo Fisher Scientific, #R1121, США), 0,5 мкл (20 ед.) ингибитора РНКаз RiboLock™ (Fermentas, #EO0381, США), 1 мкл (200 ед.) обратной транскриптазы RevertAid™ M–MuLV (Fermentas, #EP0441, США). Объем смеси составлял 25 мкл. Син-

тез первой цепи кДНК с матрицы РНК проводили на амплификаторе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) при 42 °С в течение 60 мин.

#### Количественная полимеразная цепная реакция в реальном времени

Определение экспрессии матричной РНК (мРНК) генов *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3*, *GLUT4* в линиях клеток проводили с помощью Real-time PCR на приборе CFX96 Touch Real-Time PCR (Bio-Rad, США). Использовался набор реагентов для количественной ПЦР Cat#R-412 (Syntol, Россия). Смесь для ПЦР состояла из dNTP, 10X PCR-буфера, ДНК-полимеразы SynTaq, MgCl<sub>2</sub>, красителя SYBR Green, 10 пмоль прямого и обратного праймеров, кДНК образцов и дважды дистиллированной H<sub>2</sub>O в общем объеме 20 мкл. Условия ПЦР были следующими: реакцию проводили при температуре 95 °С в течение 5 мин и 40 циклов при температуре 95 °С в течение 15 с, затем при температуре 60 °С в течение 25 с и температуре 72 °С – в течение 25 с. В данных условиях амплификация не наблюдалась в контрольных образцах без матрицы или без обратной транскрипции. Специфичность продукта амплификации определяли путем анализа кривой плавления для каждой пары праймеров. Данные были проанализированы с помощью сравнительного метода СТ (cycle threshold), а кратность изменения была рассчитана с помощью метода  $2^{-\Delta\Delta CT}$ . Для нормализации эффективности синтеза кДНК использовали амплификацию референсного гена  *$\beta$ -Actin*. Все образцы анализировали в 3 повторях и использовали средние значения экспрессии. В табл. 1 показаны используемые последовательности олигонуклеотидных праймеров и ссылка на источник нуклеотидной последовательности исследуемого гена

**Таблица 1.** Нуклеотидные последовательности праймеров, использованных для количественной полимеразной цепной реакции в реальном времени, из Национального центра биотехнологической информации (NCBI)

Table 1. Nucleotide sequences of primers used for quantitative real-time polymerase chain reaction from the National Center for Biotechnology Information (NCBI)

Ген Gene	Последовательность прямого (F)/обратного (R) праймеров (5'–3') Forward (F)/Reverse (R) primer sequence (5'–3')	Ссылка на источник последовательности нуклеотидов гена из NCBI NCBI reference sequence
<i>GLUT-1</i>	F: CTTCACTGTCGTGTCGCTGT R: TGAAGAGTTCAGCCACGATG	NM_006516.2
<i>GLUT-2</i>	F: GGTTTGTAACCTATGCCTAAG R: GCCTAGTTATGCATTGCAG	NM_000340.1
<i>GLUT-3</i>	F: GACCCAGAGATGCTGTAATGGT R: GACCCAGTGTTGTAGCCAA	NM_006931.2
<i>GLUT-4</i>	F: GCCATGAGCTACGTCTCCATT R: GGCCACGATGAACCAAGGAA	M20747.1
<i><math>\beta</math>-Actin</i>	F: AGCCATGTACGTTGCTATCCA R: ACCGGAGTCCATCACGATG	NM_001101.3

из NCBI – базы данных Национального центра биотехнологической информации.

### Статистическая обработка данных

Данные представлены как среднее значение 3 повторных экспериментов. Статистический анализ полученных данных проводили с помощью компьютерной программы GraphPad Prizm 5.02 (GraphPad Software Inc., США). Статистическую значимость различий в жизнеспособности клеток и синтезе АТФ определяли с применением критерия *t*-тест. Статистическую значимость различий в уровне экспрессии генов определяли с использованием *U*-критерия Манна–Уитни (непараметрического критерия). Значения представлены как среднее (*M*) ± стандартная ошибка среднего (SEM). Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

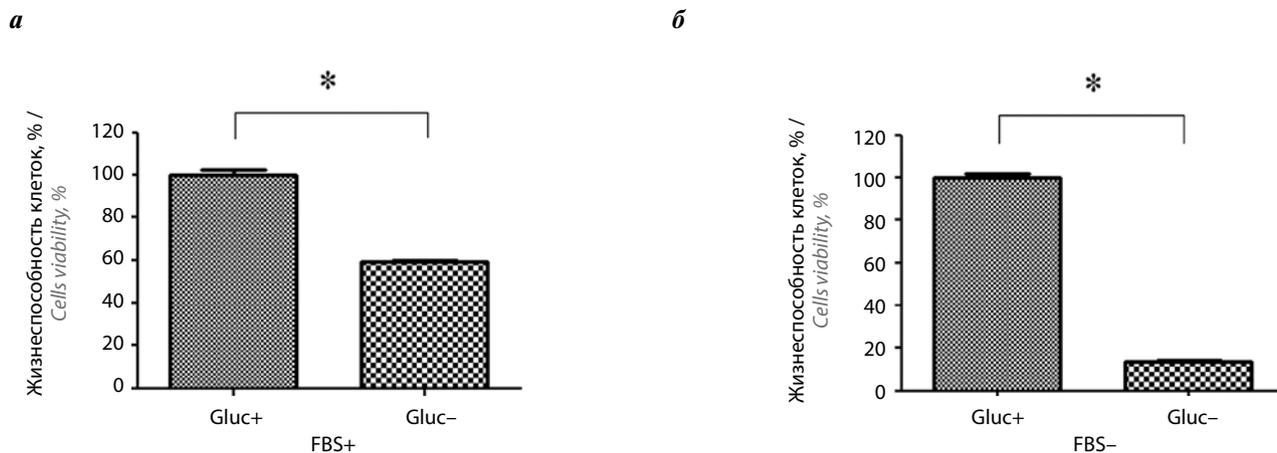
На I этапе нашего исследования мы оценили то, как влияет сыворотка (FBS) на чувствительность глюкозозависимой жизнеспособности клеток RPMI8226. МТТ-тест показал, что депривация глюкозы приводит к заметному снижению жизнеспособности клеток как в присутствии FBS, так и в ее отсутствие. Так, в присутствии FBS и в отсутствие глюкозы средняя жизнеспособность клеток RPMI8226 снизилась до 59,1 % (рис. 1, *a*), а в отсутствие и FBS, и глюкозы средняя жизнеспособность клеток RPMI8226 снизилась до 13,7 % (рис. 1, *б*). Таким образом, полученный результат свидетельствует о том, что депривация глюкозы в отсутствие FBS приводит к более выраженному (в 4,3 раза) снижению жизнеспособности клеток RPMI8226.

На следующем, II этапе мы оценили, как влияет FBS на глюкозозависимое количество АТФ в клетках RPMI8226. Наши данные показали, что в клетках RPMI8226 депривация глюкозы в присутствии FBS и в отсутствие глюкозы приводит к снижению количества АТФ до 47,3 % (рис. 2, *a*), а в отсутствие и FBS, и глюкозы – до 5,0 % (рис. 2, *б*). Таким образом, полученный результат свидетельствует о том, что депривация глюкозы в отсутствие FBS приводит к более выраженному (в 9,5 раза) снижению количества АТФ.

Таким образом, данные, полученные на этом этапе исследований, позволяют нам утверждать, что ответ клеток RPMI8226 на депривацию глюкозы (снижение жизнеспособности и уменьшение количества АТФ) является более чувствительным в условиях отсутствия FBS. Важно также отметить, что отсутствие FBS исключает участие жирных кислот в метаболизме [11–14], что позволяет адекватно исследовать роль глюкозы в синтезе АТФ и регуляции экспрессии генов – транспортеров глюкозы. Именно поэтому последующие эксперименты мы проводили в условиях отсутствия FBS.

На III этапе мы исследовали глюкозозависимый синтез АТФ в клетках RPMI8226 в течение 30 мин (дизайн эксперимента подробно описан в разделе «Материалы и методы»). Наши исследования показали, что в течение 30 мин количество АТФ при концентрации глюкозы 25 мМ увеличилось в 2 раза по сравнению с таковым при концентрации глюкозы 0 мМ (контроль). Эти данные свидетельствуют о том, что синтез АТФ в клетках RPMI8226 зависит от метаболизма глюкозы.

Известно, что в миеломных клетках, кроме глюкозы и жирных кислот, в синтезе АТФ участвует

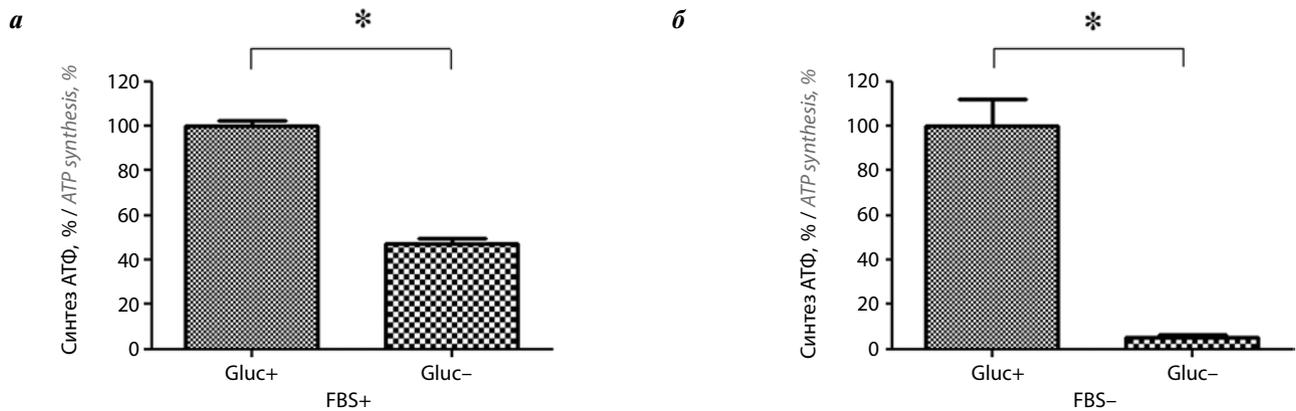


**Рис. 1.** Глюкозозависимая жизнеспособность клеток RPMI8226 в присутствии (*a*) и отсутствии (*б*) FBS. Депривация глюкозы в отсутствие FBS по сравнению с присутствием FBS показала снижение глюкозозависимой жизнеспособности клеток RPMI8226 в 4,3 раза. МТТ-тест, 72 ч.

\* $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой (Gluc+); Gluc – глюкоза; FBS – фетальная бычья сыворотка

**Fig. 1.** Glucose-dependent viability of RPMI8226 cells in the presence (*a*) or absence (*б*) of FBS. Glucose deprivation in the absence of FBS compared with the presence of FBS showed a 4.3-fold decrease in glucose-dependent viability of RPMI8226 cells. MTT assay, for 72 h

\* $p < 0.001$  vs control group (Gluc+); Gluc – glucose; FBS – fetal bovine serum

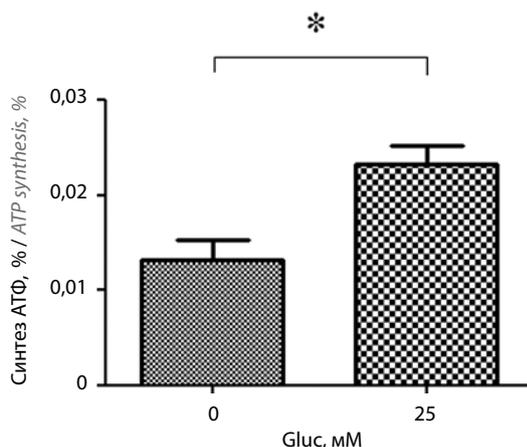


**Рис. 2.** Глюкозозависимое количество аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в клетках RPM18226 в присутствии (а) или в отсутствие (б) FBS. Депривация глюкозы в течение 72 ч в отсутствие FBS по сравнению с его присутствием приводит к снижению количества АТФ в клетках RPM18226 в 9,5 раза

\* $p < 0,001$  по сравнению с контрольной группой (Gluc+); Gluc – глюкоза; FBS – фетальная бычья сыворотка

**Fig. 2.** Glucose-dependent amount of adenosine triphosphate (ATP) in RPM18226 cells in the presence (a) or absence (b) of FBS. Glucose deprivation for 72 h in the absence of FBS compared with its presence resulted in a 9.5-fold decrease in ATP levels in RPM18226 cells

\* $p < 0.001$  compared to the control mixture (Gluc+); Gluc – glucose; FBS – fetal bovine serum



**Рис. 3.** Глюкозозависимый синтез аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в клетках RPM18226 в отсутствие (контроль) или в присутствии глюкозы (Gluc) в течение 30 мин

\* $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой (Gluc+)

**Fig. 3.** Glucose-dependent adenosine triphosphate (ATP) synthesis in RPM18226 cells in the absence (control) or presence of glucose (Gluc) after 30 min

\* $p < 0.05$  vs control group (Gluc+)

глутамин [11–14]. В наших исследованиях глутамин присутствовал в культуральной среде и его роль в синтезе АТФ не исследовалась.

Ранее было показано, что в костном мозге миеломные клетки, в отличие от нормальных плазматических клеток, демонстрируют повышенное поглощение глюкозы [4] и что метаболизм глюкозы им необходим для аэробного гликолиза и окислительного фосфорилирования, а в конечном счете – для синтеза АТФ – источника энергии для поддержания повышенных уровней синтеза и секреции антител [12]. При этом обнаружено, что гены, участ-

вующие в метаболизме глюкозы, активируются в плазматических клетках у пациентов с впервые диагностированной ММ по сравнению с больными с впервые диагностированной ММ [8]. Как сказано ранее, начальным этапом метаболизма глюкозы является его транспорт через плазматическую мембрану, который опосредуется семейством транспортеров глюкозы GLUT.

В данной работе мы исследовали роль глюкозы в регуляции экспрессии генов *GLUT1–GLUT4* как возможного механизма активации транспортеров глюкозы в миеломных клетках. Значения экспрессии генов мы оценивали с помощью ПЦР в реальном времени.

На начальном этапе мы определили исходный уровень экспрессии мРНК генов *GLUT1–GLUT4* и установили, что для клеток RPM18226 характерна относительно высокая экспрессия мРНК генов *GLUT1* ( $11,0 \pm 0,6$ ) и *GLUT3* ( $12,9 \pm 0,3$ ), относительно умеренная – гена *GLUT2* ( $5,4 \pm 0,5$ ) и относительно слабая – гена *GLUT4* ( $1,0 \pm 0,5$ ). Значения экспрессии мРНК генов *GLUT1–GLUT4* были нормализованы к значениям экспрессии мРНК гена *GLUT4*.

В ответ на депривацию глюкозы выявлена активация экспрессии мРНК всех 4 исследуемых генов – транспортеров глюкозы. Наиболее активно реагировали на снижение уровня глюкозы гены *GLUT2* ( $6,17 \pm 2,08$ ) и *GLUT4* ( $7,98 \pm 2,92$ ) (табл. 2).

Из данных литературы известно, что транспортер GLUT2 присутствует в  $\beta$ -клетках островков поджелудочной железы, где он участвует в стимулируемой глюкозой секреции инсулина [15]. В печени GLUT2 вовлечен в механизмы регуляции генов физиологического контроля, чувствительных к глюкозе [15]. В нервной системе GLUT2-зависимая

чувствительность к глюкозе контролирует симпатическую и парасимпатическую активность [15]. Таким образом, экспрессия *GLUT2* характерна для чувствительных к глюкозе клеток, которые активируются либо гипогликемией, либо гипергликемией.

**Таблица 2.** Зависимость экспрессии мРНК *GLUT1–GLUT4* от депривации глюкозы в клетках RPMI8226

Table 2. Dependence of *GLUT1–GLUT4* mRNA expression on glucose deprivation in RPMI8226 cells

Ген Gene	Gluc+	Gluc–
<i>GLUT1</i>	1,0	2,04 ± 0,36*
<i>GLUT2</i>	1,0	6,17 ± 2,08*
<i>GLUT3</i>	1,0	3,92 ± 1,72*
<i>GLUT4</i>	1,0	7,98 ± 2,92*

\* $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой (Gluc+);  
Gluc – глюкоза.

\* $p < 0,05$  vs control group (Gluc+); Gluc – glucose.

В нашем исследовании мы показали, что, хотя ген *GLUT2* и имеет умеренный исходный уровень экспрессии, при депривации глюкозы (при гипогликемии) экспрессия *GLUT2* ( $6,17 \pm 2,08$ ) значительно увеличивается по сравнению с *GLUT1* ( $2,04 \pm 0,36$ ) и *GLUT3* ( $3,92 \pm 1,72$ ). В соответствующей литературе мы не нашли информацию о влиянии депривации глюкозы на экспрессию мРНК *GLUT2* в миеломных клетках. Однако на основании полученных данных мы пришли к выводу о том, что в клетках RPMI8226 *GLUT2* является наиболее глюкозочувствительным геном (среди генов – транспортеров глюкозы I класса).

Вторым геном (после *GLUT2*), экспрессия которого заметно повысилась при депривации глюкозы, был ген *GLUT4* ( $7,98 \pm 2,92$ ) (см. табл. 2). Интересным является тот факт, что гены *GLUT2* и *GLUT4* исходно слабее экспрессируются, чем *GLUT1* и *GLUT3* (см. табл. 2), однако они демонстрируют значительно большую чувствительность к состоянию депривации глюкозы, чем последние (см. табл. 2). Это свидетельствует о том, что исходные уровни экспрессии генов – транспортеров глюкозы не коррелируют с ответом на депривацию глюкозы.

Белок *GLUT4* был обнаружен в чувствительных к инсулину тканях и играет ключевую роль в поддержании жизнеспособности и пролиферации клеток ММ [14]. Ранее было показано, что в жировых клетках i3T3-L1 [16] и в миоцитах [17] депривация глюкозы не влияет на уровень *GLUT4*. Экспрессия белка *GLUT4* регулируется на уровне транскрипции мРНК гена *GLUT4* [14], т.е. изменение количества белка *GLUT4* положительно коррелирует с изменением

мРНК *GLUT4*. Снижение уровня глюкозы в плазме может быть важным последствием ограничения пищи. Показано, что уровень экспрессии мРНК гена *GLUT4* в сердце снижается при голодании и увеличивается при возобновлении питания [18]. Ограничение еды не влияет на экспрессию мРНК гена *GLUT4* в скелетных мышцах [19]. В условиях гипогликемии уровень экспрессии мРНК гена *GLUT4* в гранулоцитах человека увеличивается, тогда как в моноцитах – остается неизменным [20]. Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что ген *GLUT4* в разных типах клеток по-разному реагирует на снижение уровня глюкозы. В нашем исследовании мы показали, что в миеломных клетках RPMI8226 в условиях депривации глюкозы экспрессия мРНК гена *GLUT4* увеличивается.

Гены *GLUT1* и *GLUT3* также активируются в ответ на депривацию глюкозы (см. табл. 2). Однако экспрессия мРНК *GLUT1* повышается всего в 2,04 раза, а *GLUT3* – в 3,92 раза (см. табл. 2), хотя средний исходный уровень экспрессии этих генов является высоким (11,0 и 12,9 соответственно) по сравнению со средним исходным уровнем экспрессии *GLUT2* (5,4) и *GLUT4* (1,0). Эти данные также подтверждают то, что исходные уровни экспрессии генов – транспортеров глюкозы в клетке RPMI8226 не коррелируют с ответом на депривацию глюкозы.

Ранее было продемонстрировано, что депривация глюкозы увеличивает экспрессию *GLUT1* в клетках С6 крысы [21], в адипоцитах 3T3-L1 [16] и в миоцитах L6 [22]. *GLUT1* негативно регулируется глюкозой в миоцитах L8 и NIH 3T3 [23].

Было также показано, что депривация глюкозы повышает уровень мРНК и белка *GLUT3* в мозге мышей и первичных культурах нейронов эмбрионов крысы [24], в хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников крупного рогатого скота [25], в гранулоцитах и моноцитах [20], в нейронах головного мозга крысы [26].

Таким образом, в ответ на депривацию глюкозы в клетках RPMI8228 выявлена активация экспрессии мРНК всех 4 генов – транспортеров глюкозы: *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT3* и *GLUT4*. Наиболее активно реагировали на снижение уровня глюкозы гены *GLUT2* и *GLUT4*, исходный уровень экспрессии которых был ниже, чем экспрессия генов *GLUT1* и *GLUT3* (см. табл. 2). Исследования экспрессии соответствующих белков для транспортеров глюкозы планируются к публикации в будущих работах.

### Заключение

Мы исследовали глюкозозависимый синтез АТФ и экспрессию генов – транспортеров глюкозы *GLUT1–GLUT4*, участвующих в переносе глюкозы в миеломных клетках человека RPMI8226. Установили,

что для этой линии клеток характерна высокая исходная экспрессия мРНК гена *GLUT1* и мРНК гена *GLUT3*, умеренная — гена *GLUT2* и слабая — гена *GLUT4*. Мы показали, что синтез АТФ в клетках RPMI8226 зависит от метаболизма глюкозы, что свидетельствует о важной роли глюкозной компоненты наряду с глутаминовой и липидной компонентами, участвующими в синтезе АТФ. Снижение жизнеспособности клеток RPMI8226 строго коррелирует со снижением содержания новосинтезируемой АТФ. В ответ на депривацию глюкозы выявлена активация экспрессии мРНК всех 4 исследуемых генов-транс-

портеров, однако наиболее выраженная экспрессия была характерна для генов *GLUT2* и *GLUT4*, исходный уровень экспрессии которых был ниже, чем экспрессия генов *GLUT1* и *GLUT3*. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что исходная активность отдельно взятых генов-транспортеров не предсказывает ответ на депривацию глюкозы.

Таким образом, гиперэкспрессия генов *GLUT2* и *GLUT4* в отсутствие глюкозы в миеломных клетках RPMI8226 предполагает проведение дополнительных клинических исследований с целью рассмотрения подходов к их дифференциальному блокированию.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Pinna S., Kunz C., Halpern A. et al. A prebiotic basis for ATP as the universal energy currency. *PLOS Biology* 2022;20(10):e3001437. DOI: 10.1371/journal.pbio.3001437
- Adekola K., Rosen S.T., Shanmugam M. Glucose transporters in cancer metabolism. *Curr Opin Oncol* 2012;24(6):650–4. DOI: 10.1097/CCO.0b013e328356da72
- Rana P.S., Goparaju K., Driscoll J.J. Shutting off the fuel supply to target metabolic vulnerabilities in multiple myeloma. *Front Oncol* 2023;13:1141851. DOI: 10.3389/fonc.2023.1141851
- Wang T., Ma F., Qian H. Defueling the cancer: ATP synthase as an emerging target in cancer therapy. *Mol Ther Oncolytics* 2021;23:82–95. DOI: 10.1016/j.omto.2021.08.015
- Куликов В.А., Беляева Л.Е. Метаболизм раковой клетки как терапевтическая мишень. *Вестник ВГМУ* 2016;15(6):7–20. DOI: 10.22263/2312-4156.2016.6.7  
Kulikov V.A., Belyaeva L.E. Cancer cell metabolism as a therapeutic target. *Vestnik Vitebskogo Gosudarstvennogo Meditsinskogo Universiteta = Bulletin of Vitebsk State Medical University* 2016;15(6):7–20. (In Russ.). DOI: 10.22263/2312-4156.2016.6.7
- Stein M., Dütting S., Mougikakos D. et al. A defined metabolic state in pre B cells governs B-cell development and is counterbalanced by swiprosin-2/EFhd1. *Cell Death Differ* 2017;24(7):1239–52. DOI: 10.1038/cdd.2017.52
- Nair R., Gupta P., Shanmugam M. Mitochondrial metabolic determinants of multiple myeloma growth, survival, and therapy efficacy. *Front Oncol* 2022;12:1000106. DOI: 10.3389/fonc.2022.1000106
- Maiso P., Huynh D., Moschetta M. et al. Metabolic signature identifies novel targets for drug resistance in multiple myeloma. *Cancer Res* 2015;75(10):2071–82. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-3400
- Pellat-Deceunynck C., Amiot M., Bataille R. et al. Human myeloma cell lines as a tool for studying the biology of multiple myeloma: a reappraisal 18 years after [letter]. *Blood* 1995;86:4001–2.
- McGuire C.M., Forgac M. Glucose starvation increases V-ATPase assembly and activity in mammalian cells through AMP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling. *J Biol Chem* 2018;293(23):9113–23. DOI: 10.1074/jbc.RA117.001327
- Yoon H., Shaw J.L., Haigis M.C., Greka A. Lipid metabolism in sickness and in health: emerging regulators of lipotoxicity. *Mol Cell* 2021;81(18):3708–30. DOI: 10.1016/j.molcel.2021.08.027
- Torcasio R., Cantafio M.E.G., Ikeda R.K. et al. Lipid metabolic vulnerabilities of multiple myeloma. *Clin Exp Med* 2023;23(7):3373–90. DOI: 10.1007/s10238-023-01174-2
- Matsumoto T., Jimi S., Migita K. et al. Inhibition of glucose transporter 1 induces apoptosis and sensitizes multiple myeloma cells to conventional chemotherapeutic agents. *Leuk Res* 2016;41:103–10. DOI: 10.1016/j.leukres.2015.12.008
- McBrayer S.K., Cheng J.C., Singhal S. et al. Multiple myeloma exhibits novel dependence on GLUT4, GLUT8, and GLUT11: implications for glucose transporter directed therapy. *Blood* 2012;119(20):4686–97. DOI: 10.1182/blood-2011-09-377846
- Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* 2015;58(2):221–32. DOI: 10.1007/s00125-014-3451-1
- von der Crone S., Deppe C., Barthe A. et al. Glucose deprivation induces Akt-dependent synthesis and incorporation of GLUT1, but not of GLUT4, into the plasma membrane of 3T3-L1 adipocytes. *Eur J Cell Biol* 2000;79(12):943–9. DOI: 10.1078/0171-9335-00118
- Baqué S., Montell E., Camps M. et al. Overexpression of glycogen phosphorylase increases GLUT4 expression and glucose transport in cultured skeletal human muscle. *Diabetes* 1998;47(8):1185–92. DOI: 10.2337/diab.47.8.1185
- Hall J.R., Short C.E., Driedzic W.R. Sequence of Atlantic cod (*Gadus morhua*) GLUT4, GLUT2 and GPDH: developmental stage expression, tissue expression and relationship to starvation-induced changes in blood glucose. *J Exp Biol* 2006;209(Pt 22):4490–502. DOI: 10.1242/jeb.02532
- Takemori K., Kimura T., Shirasaka N. Food restriction improves glucose and lipid metabolism through Sirt1 expression: a study using a new rat model with obesity and severe hypertension. *Life Sci* 2011;88(25-26):1088–94. DOI: 10.1016/j.lfs.2011.04.002
- Korgun E.T., Demir R., Sedlmayr P. et al. Sustained hypoglycemia affects glucose transporter expression of human blood leukocytes. *Blood Cells Mol Dis* 2002;28(2):152–9. DOI: 10.1006/bcmd.2002.0504
- Boado R.J., Pardridge W.M. Glucose deprivation and hypoxia increase the expression of the GLUT1 glucose transporter *via* a specific mRNA cis-acting regulatory element. *J Neurochem* 2002;80(3):552–4. DOI: 10.1046/j.0022-3042.2001.00756.x
- Maher F., Harrison L.C. Stabilization of glucose transporter mRNA by insulin/IGF-1 and glucose deprivation. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;171(1):210–5. DOI: 10.1016/0006-291x(90)91378-6

23. Wertheimer E., Sasson S., Cerasi E., Ben-Neriah Y. The ubiquitous glucose transporter GLUT-1 belongs to the glucose-regulated protein family of stress-inducible proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88(6):2525–9. DOI: 10.1073/pnas.88.6.2525
24. Nagamatsu S., Sawa H., Inoue N. et al. Gene expression of GLUT3 glucose transporter regulated by glucose *in vivo* in mouse brain and *in vitro* in neuronal cell cultures from rat embryos. *Biochem J* 1994;300(Pt 1):125–31. DOI: 10.1042/bj3000125
25. Fladeby C., Skar R., Serck-Hanssen G. Distinct regulation of glucose transport and GLUT1/GLUT3 transporters by glucose deprivation and IGF-I in chromaffin cells. *Biochim Biophys Acta* 2003;1593(2–3):201–8. DOI: 10.1016/s0167-4889(02)00390-7
26. Uehara Y., Nipper V., McCall A.L. Chronic insulin hypoglycemia induces GLUT-3 protein in rat brain neurons. *Am J Physiol* 1997;272(4 Pt 1):E716–9. DOI: 10.1152/ajpendo.1997.272.4.E716

#### Вклад авторов

С.С. Шушанов, Н.П. Акентьева: разработка концепции и дизайна исследования, сбор, обработка, анализ и интерпретация данных, написание и редактирование текста рукописи;

Ю.Б. Черных: предоставление материалов исследования, анализ и интерпретация данных, редактирование рукописи;

А.Р. Гизатуллин, Т.А. Захарова: сбор и обработка данных, редактирование рукописи.

#### Author's contributions

S.S. Shushanov, N.P. Akentieva: research concept and design, data collection and processing, data analysis and interpretation, article written and editing;

Yu.B. Chernykh: provision of research materials, data analysis and interpretation, editing of the article;

A.R. Gizatullin, T.A. Zakharova: data collection and processing, editing of the article.

#### ORCID авторов / ORCID of authors

С.С. Шушанов / S.S. Shushanov: <https://orcid.org/0000-0002-2273-3024>

А.Р. Гизатуллин / A.R. Gizatullin: <https://orcid.org/0000-0002-5709-7486>

Ю.Б. Черных / Yu.B. Chernykh: <https://orcid.org/0000-0002-7271-1560>

Т.А. Захарова / T.A. Zakharova: <https://orcid.org/0000-0001-7545-5876>

Н.П. Акентьева / N.P. Akentieva: <https://orcid.org/0000-0002-9126-3070>

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации, регистрационный номер НИОКТР 123021600106–6 NUYO-2023-0015 (2023–2025), при частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, государственная регистрация № 124020500019-2.

**Funding.** This work was partially funded by the Ministry of Health of the Russian Federation, project No 123021600106–6 NUYO-2023-0015 (2023–2025), and was partially funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation and performed by the state task, state registration No 124020500019-2.

Статья поступила: 23.12.2024. Принята к публикации: 02.07.2025. Опубликовано онлайн: 25.09.2025.

Article submitted: 23.12.2024. Accepted for publication: 02.07.2025. Published online: 25.09.2025.