

## РАВНОВЕСНЫЙ ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ЛИНИЙ С6, НЕР-2С И НЕК ПРИ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Ю. Н. Куницкая, Е. Н. Голубева

В настоящее время активно ведется поиск и разработка новых методов противоопухолевой терапии. Установлено, что опухолевые клетки по сравнению с клетками в норме обладают рядом специфических свойств, таких как геномные нарушения, измененные межклеточные контакты, трансмембранный потенциал. Показано, что трансмембранный потенциал играет важную роль в регуляции функциональных свойств клеток. Отличие величины потенциала на плазматической мембране опухолевых клеток от трансмембранного потенциала клеток в норме свидетельствует об изменении процессов переноса электронов и протонов через плазматическую мембрану, об увеличении значения внутриклеточного рН и снижении внеклеточного рН среды, об изменении процессов внутриклеточной сигнализации в опухолевых клетках по сравнению с клетками в норме. Таким образом, трансмембранный потенциал может рассматриваться как перспективная мишень противоопухолевой терапии.

Целью работы является определение величины равновесного трансмембранного потенциала опухолевых клеток линий С6, НЕР-2с, НЕК при пролиферации. При проведении исследований использовали клетки линий С6, НЕР-2с и НЕК, культивирование которых проводили согласно стандартным протоколам. На каждые сутки производился подсчет клеток. Определение величины равновесного трансмембранного потенциала проводили методом пэтч-кламп в конфигурации фиксации токов на различные сутки роста опухолевых клеток линий С6, НЕР-2с и НЕК. Определение стадии роста клеток проводили на основании результатов подсчета клеток на различные сутки роста (рис. 1).

На основании результатов исследований получены зависимости величины трансмембранного потенциала клеток линий С6 (рис. 2), НЕР-2с и НЕК от суток культивирования. Форма зависимости равновесного трансмембранного потенциала от суток роста для клеток линий НЕР-2с и НЕК совпадает с формой аналогичной зависимости, полученной для клеток линии С6 (рис 3).

Обнаружено, что значения равновесных трансмембранных потенциалов клеток на 0-е и 1-е сутки группируются около значений - 47 мВ и - 84 мВ. Таким образом, в культуре присутствуют популяции клеток как с деполяризованной плазматической мембраной, так и с гиперполяризованной, что представлено на рис. 2. В свою очередь, нулевым и пер-

вым суткам культивирования клеток линии С6 соответствует латентная фаза роста (лаг-фаза) (рис. 1). На вторые сутки культивирования наблюдается локализация полученных значений вблизи -75 мВ, что свидетельствует о начале деления клеток и переходе в экспоненциальную стадию роста (лог-фазу).

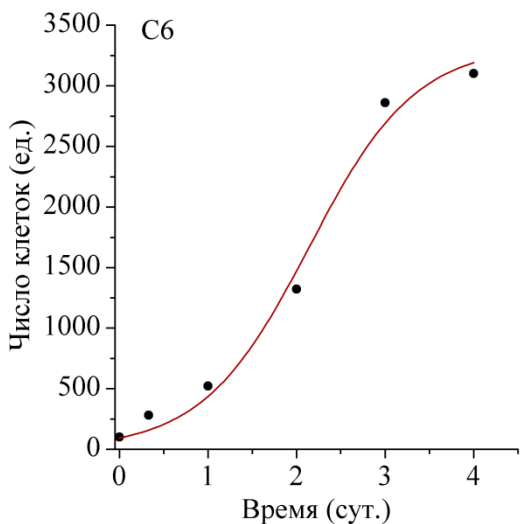


Рис. 1. Зависимость числа клеток от суток культивирования

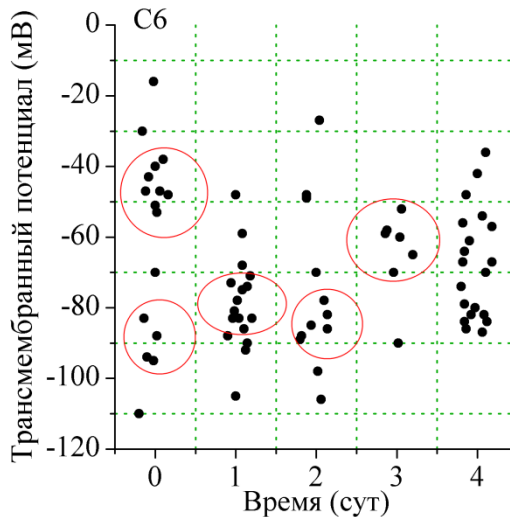


Рис. 2. Значения равновесного трансмембранного потенциала клеток линии С6 на различных стадиях роста

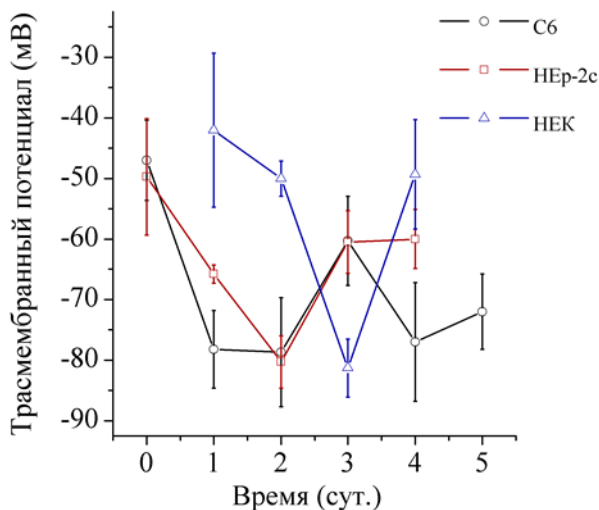


Рис. 3. Зависимость значения равновесного трансмембранного потенциала от суток культивирования клеток

На 4-е сутки роста клеток, как следует из представленных на рис. 1 данных, наблюдается прекращение процесса деления, обусловленное формированием клетками линии С6 монослоя (стационарная фаза). Аналогичные изменения в величинах трансмембранного потенциала в зависимости от суток культивирования получены для клеток линий НЕК и НЕр-2с. На основании результатов, представленных на рис. 2, можно заключить, что деполяризация плазматической мембраны клеток линий С6, НЕр-2с и НЕК на 0-е и 1-е сутки культивирования обусловлена тем, что клетки находятся в G1 фазе. Наличие в культурах популяций клеток, характеризующихся гиперполяризацией плазматической мембраны, на те же сутки культивирования связано с переходом клеток из G1 фазы в S фазу, необходимым для дальнейшего деления клеток [2]. Гиперполяризация плазматической мембраны клеток линий С6, НЕр-2с на 1-е и 2-е сутки культивирования и клеток линии НЕК на 3-и сутки, возможно, обусловлена переходом клеток из фазы покоя G0 в интерфазу (раннюю G1) (логарифмическая стадия роста клеток).

Таблица

**Значение равновесного трансмембранного потенциала на различные сутки культивирования клеток**

Время, сутки						
Значение потенциала, мВ						
Клеточные линии	0-е	1-е	2-е	3-е	4-е	5-е
С6	-49,2±2,7 (5)	-75,4±8,9 (24)	-81,0±7,6 (8)	-62,0±6,7 (7)	-69,9±11,2 (22)	-67,4±9,0 (5)
	-91,0±5,3 (5)					
НЕр - 2с	-49,7±9,6 (3)	-65,8±1,5 (4)	-80,3±4,3 (4)	-60,5±5,2 (4)	-60,0±4,9 (3)	-
НЕК	-	- 42,0±12,7 (6)	-50,0±2,9 (3)	-81,3±4,8 (4)	-49,3±9,0 (3)	-

Из результатов, представленных в таблице, следует, что значение равновесного трансмембранного потенциала клеток линии С6 по абсолютной величине больше, чем остальных культур. Полученное различие в величинах трансмембранных потенциалов, вероятно, обусловлено различной степенью злокачественной трансформированности исследованных клеточных линий. В результате исследований также выявлены различия в формировании клетками линий С6, НЕр-2с и НЕК монослоя. Установлено, что после завершения клеточного цикла клетки линии НЕК формировали области плотного скопления клеток. Клетки линии НЕр-2с также формировали области скопления, однако менее плотного, чем клетки линии НЕК, в то время как клетки линии С6 характеризова-

лись значительным «расхождением» клеток друг от друга и формированием равномерного монослоя.

В свою очередь установлено, что для клеток линии С6 характерна значительная гиперполяризация плазматической мембраны после завершения клеточного цикла, которая сохраняется при «расхождении» (миграции) клеток после деления. Принимая во внимание результаты, представленные S. Chifflet и J. A. Hernandez в [1], можно предположить, что гиперполяризация плазматической мембраны клеток линии С6 ( $\sim -105$  мВ) сразу после деления клеток обуславливает реорганизацию активного цитоскелета, компактизацию актина на периферии клеток, что, в свою очередь, способствует повышению адгезионных свойств клеток и их миграции.

### Литература

1. *Silvia C.* The Plasma Membrane Potential and the Organization of the Actin Cytoskeleton of Epithelial Cells / C. Silvia, Julio A. Hernandez // Hindawi Publishing Corporation International Journal of Cell Biology Volume, Review Article. 2012. V. 13.
2. *Golias C.H.* Cell proliferation and cell cycle control / C.H. Golias, A. Charalabopoulos, K. Charalabopoulos // Rev. 2004 P. 1134–1141.

## ЭСР В ПИРОЛИТИЧЕСКОМ ГРАФИТЕ, МОДИФИЦИРОВАННОМ ИМПУЛЬСНЫМИ ПУЧКАМИ УГЛЕРОД-ВОДОРОДНОЙ ПЛАЗМЫ

С. О. Курбако

Исследованы методом электронного спинового резонанса образцы пиролитического графита, облученные импульсными пучками ионов  $H^+$  и  $C^+$  при значении плотности ионного тока  $20$  А/см<sup>2</sup>; длительность импульса  $80$  нс; ускоряющее напряжение  $220$  кВ. Обнаружено влияние режимов обработки образцов пиролитического графита плазменным углерод-водородным пучком на их парамагнитные и электропроводящие свойства.

### ВВЕДЕНИЕ

Изучению воздействия на графитовые материалы радиационного излучения уделяется большое внимание [1, 2, 3]. В связи с широким использованием углеродных материалов в ракетно-космической технике, ядерных и термоядерных реакторах необходимы исследования их поведения в радиационных полях различной природы (электромагнитные поля, потоки нейтронов и заряженных частиц). Актуальными являются исследования взаимодействия ионов водорода с углеродными материа-