

опосредованному окислительному стрессу приводит к повышению анти-оксидантного статуса при длительных временах инкубирования.

Литература

1. Thymoquinone: Potential cure for inflammatory disorders and cancer / C. Woo [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2012. – Vol. 83. – P. 443-451.
2. Thymoquinone and its therapeutic potentials / S. Darakhshan [et al.] // Pharmacol. Res. – 2015. – Vol. 95-96. – P. 138-158.
3. Louis, D.N. Molecular Pathology of Malignant Gliomas / D.N. Louis // Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. – 2006. – V.1. – P.97–117.

РЕОРГАНИЗАЦИЯ АКТИНОВОГО ЦИТОСКЕЛЕТА И ИЗМЕНЕНИЕ ВЕЛИЧИНЫ РАВНОВЕСНОГО ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА КЛЕТОК ЛИНИИ HELA В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ ВНЕШНИМ ЭЛЕКТРИЧЕСКИМ ПОЛЕМ

**Куницкая Ю.Н., Голубева Е.Н., Кочеткова Т.А., Коваленко Е.А.,
Булай П.М.**

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

Актиновый цитоскелет играет ключевую роль в таких процессах как экзо- и эндоцитоз, обеспечение движения клетки как целого, активный внутриклеточный транспорт и клеточное деление. Показано, что стимуляция постоянным электрическим полем с амплитудой 2 В/см приводит к уменьшению эластичности клетки, а также снижению внутриклеточного АТФ, что в свою очередь может приводить к нарушению цитоскелета клеток[1]. Несмотря на эти факты, электротерапия успешно используется в клинических испытаниях для терапии костных и восстановления нервных тканей. Регуляция клеточного гомеостаза посредством воздействия внешнего электрического поля может найти применение в тканевой инженерии на основе стволовых клеток и в регенеративной медицине. Однако выбор параметров электрической стимуляции (длительность воздействия, частота и др.) остается в основном эмпирическим, потому что биофизические механизмы, опосредующие клеточный ответ на электрическую стимуляцию, до сих пор мало изучены.

Ранее нами была показана зависимость равновесного трансмембранного потенциала от фазы клеточного цикла. Выявлено наличие связи

между величиной равновесного трансмембранного потенциала и функциональными параметрами клеток (скорость пролиферации, ориентация отростков клеток и др.). Таким образом, управление величиной равновесного трансмембранного потенциала может стать основой метода регуляции пролиферативной активности и морфологии клеток. Одним из способов управления равновесным трансмембранным потенциалом выступает действие внешним электрическим полем.

В данной работе были использованы клетки аденокарциномы шейки матки линии HeLa. Для проведения электрической стимуляции использовалось внешнее однородное переменное электрическое поле, создаваемое в культуральных сосудах. Равновесный трансмембранный потенциал измерялся с помощью метода пэтч-кламп.

Электрическая стимуляция проводилась согласно ранее разработанному протоколу[2]. Запуск электрической стимуляции производился через 8 часов после пересева клеток, длительность воздействия составляла 12 часов. Амплитуда внешнего электрического поля составляла 6,6 В/м, количество импульсов в пачке 1, 3 и 5 в 1-м, 2-м и 3-м режимах соответственно. В 4-м режиме воздействие внешнего электрического поля на клетки отсутствовало. Изучение актинового цитоскелета клеток линии HeLa проводилось с помощью флуоресцентного красителя PhalloidinConjugates.

В ходе работы был измерен равновесный трансмембранный потенциал при различных режимах электрической стимуляции (Рис. 1). Выявлено, что деполяризация плазматической мембраны клеток наблюдается в 1 (1 стимулирующий импульс, амплитуда 6,6 В/м) и 2 (3 стимулирующих импульса, амплитуда 6,6 В/м) режимах электрической стимуляции относительно контроля. Установлено, что электрическая стимуляция в третьем режиме (5 импульсов в пачке) приводит к гиперполяризации плазматической мембраны. Таким образом, в результате действия внешнего электрического поля наблюдается зависимость величины равновесного трансмембранного потенциала от числа импульсов в трейне. Показано, что при увеличении/уменьшении числа стимулирующих импульсов в трейне, разность потенциалов на плазматической мембране клеток возрастает / уменьшается.

Также была изучена перестройка актинового цитоскелета клеток при действии внешнего электрического поля (Рис. 2). Выявлено, что стимулирование в 1 режиме (амплитуда 6,6 В/м, 1 стимулирующий импульс) приводит к появлению у клеток преимущественно филоподий, фибриллярный актин в основном сконцентрирован на периферии клетки. Клетки, стиму-

лированные во втором режиме (амплитуда 6,6 В/м, 3 стимулирующих импульса), характеризуются диффузным распределением F-актина, наличием ламеллоподий. Воздействие внешнего электрического поля на клетки в третьем режиме (амплитуда 6,6 В/м, 5 стимулирующих импульсов) приводит к появлению большого числа стресс-фибрилл, отвечающих за клеточную адгезию к субстрату. Установлено, что у клеток преимущественно наблюдаются ламеллоподии, а также незначительное количество филоподий. Контрольный образец характеризовался наличием как ламеллоподий, так и филоподий, пучки F-актина наблюдались на периферии клетки, также присутствовали стресс-фибриллы.

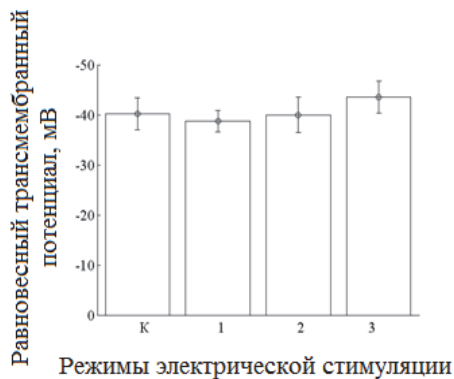


Рисунок 1 –Равновесный трансмембранный потенциал (мВ) клеток линии HeLa

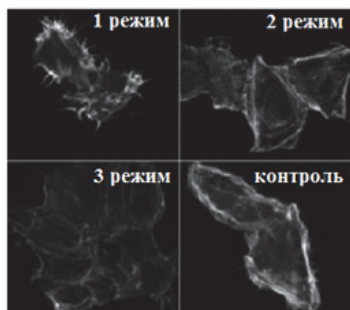


Рисунок 2 –Распределение актинового цитоскелета клеток линии HeLa при различных режимах действия электрической стимуляции

Таким образом, использование 3 стимулирующих импульсов приводит к деполимеризации F-актина. Уменьшение числа стимулирующих импульсов (1 импульс в трейне) вызывает увеличение числа филоподий, снижение количества стресс-фибрилл относительно контроля, в то время как увеличение числа импульсов (5 импульсов в трейне) характеризуется увеличением числа стресс-фибрилл, а также более вытянутой формой тела по сравнению с 1и 2 режимами воздействия.

По результатам работы можно сделать вывод о том, что гиперполяризация плазматической мембраны клеток аденокарциномы шейки матки

приводит к увеличению числа стресс-фибрилл, тем самым улучшая адгезию клеток к субстрату, в то время как деполяризация плазматической мембраны приводит к деполимеризации F-актина (2 режим) и появлению у клеток преимущественно филоподий (1 режим). Таким образом, показано, что воздействие внешнего электрического поля будет приводить к нарушению процесса реорганизации актинового цитоскелета клетки в период клеточного деления, что также может быть обусловлено поляризацией клетки в момент действия внешнего электрического поля, приводящей к нарушению процесса сборки микротрубочек в период деления клетки.

На основании полученных результатов можно сделать заключение о том, что выбор параметров электрической стимуляции позволяет управлять величиной трансмембранного потенциала клеток линии HeLa в культуре, тем самым регулируя их морфофункциональное состояние.

Литература

1. Titushkin I., Cho M. Regulation of Cell Cytoskeleton and Membrane Mechanics by Electric Field: Role of Linker Proteins / Biophysical Journal V. 96 – 2009 – P. 717–728.
2. Куницкая Ю.Н., Голубева Е.Н., Кочеткова Т.А., Коваленко Е.А., Булай П.М / Зависимость пространственной ориентации отростков клеток линии С6 при длительном воздействии внешнего электрического поля от числа стимулирующих импульсов в трейне // Сборник тезисов, Материалы 22 Всероссийской научной конференции студентов-физиков и молодых ученых, 21 – 28 апреля 2016 г. – Издательство АСФ России.

ПРОТИВООПУХОЛЕВАЯ АКТИВНОСТЬ БРАССИНОСТЕРОИДОВ КАК РЕЗУЛЬТАТ ПОВЫШЕНИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО УРОВНЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА

Панибрат О.В., Киселев П.А.

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Не секрет, что смертность от раковых заболеваний находится на втором месте после сердечно-сосудистых патологий и имеет тенденцию к росту. На сегодня известно свыше 200 типов онкологических патологий. Во