

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

многих случаях возникновение и развитие заболевания связывают с изменением уровня активных форм кислорода (АФК).

До недавнего времени уровень АФК можно было проследить лишь косвенным путем, например, после разрушения клетки и определения степени перекисного окисления липидов. В последние годы появилась возможность характеризовать уровень АФК непосредственно в живой клетке. В частности, для этого используется метод флуоресценции и флуоресцентный зонд – 2' – 7' - дихлордигидрофлуоресцеин диацетат (восстановленный) -2,7-ДХФ-ДА. Наличие ацетатных групп обеспечивает эффективное проникновение соединения в клетку и после гидролиза и окисления вещества наблюдается интенсивное возгорание флуоресценции. Ограничивает применение флуорофора его исключительно высокая стоимость. В ходе работы освоено получение 2,7-ДХФ-ДА по методике [1] и с помощью флуоресцентной микроскопии доказана его эффективность для анализа уровня АФК в мезенхимальных стволовых клетках жировой ткани и раковых клетках.

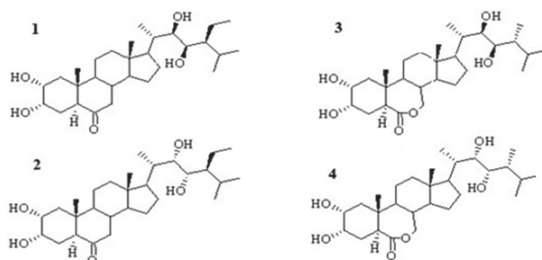


Рис. 1 - Структура исследованных соединений: 1 - 28-гомокастастерон, 2 - (22S,23S)-28-гомокастастерон, 3 - 24-эпибрасинолид, 4 - (22S,23S)-24-эпибрасинолид

Предметом настоящей работы стало выяснение механизма антипролиферативного действия брасиностероидов (БС) и роли в этом процессе АФК.

Для этого методом проточной флуоресцентной цитометрии измерен уровень внутриклеточного АФК в раковой клеточной линии A549 и сопоставлен с антипролиферативной активностью показанных на рис.1 природных БС и их синтетических конформеров (рис.2 А.).

В соответствии с радикальной концепцией возникновения и развития раковых заболеваний антиопухолевую активность терапевтиков обычно связывают с ингибированием АФК[2]. Из наших экспериментов следует,

что введение в раковую клетку БС сопряжено с увеличением интенсивности внутриклеточной флуоресценции, которая в случае наиболее эффективного в гибели раковых клеток соединения более, чем в 5 раз превышает контрольное значение (рис.2 Б.).

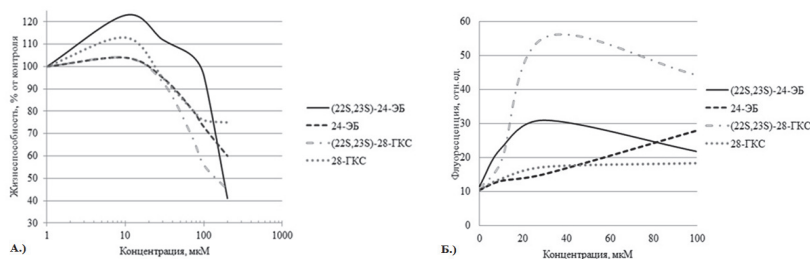


Рис. 2 – Зависимость влияния брассиностероидов на пролиферацию раковых клеток (линия А549) от концентрации изученных соединений (А) и зависимость средней интенсивности флуоресценции DCF в клетках от концентрации брассиностероидов (Б)

Для характеристики возможного механизма воздействия исследуемых соединений на клеточную гибель был проведен ряд экспериментов с использованием этидий бромид (Et-Br). Известно, что этидий бромид обладает интенсивной флуоресценцией после связывания с ДНК. В первой серии экспериментов было охарактеризовано влияние уровня АФК на клеточную проницаемость.

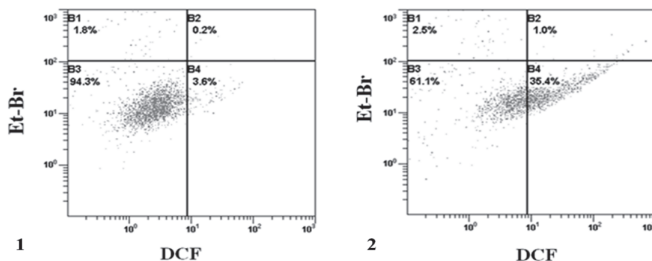


Рис.3 - Сопоставление гибели клеток и уровня внутриклеточного АФК в раковой клеточной линии А549: 1-контроль; 2-10 мкМ (22S,23S)-28-гомокастестерон

Как следует из рис.3, при добавлении синтетического конформера природных БС - (22S,23S)-28-гомокастестерона наблюдается прямая корреляция между интенсивностью свечения клеток, вызванным воздей-

ствием этидий бромида (ось ординат) и уровнем активных форм кислорода (ось абсцисс). Это обусловлено тем, что повышение уровня АФК приводит постепенному нарушению проницаемости клеточной мембраны для Et-Br, что является признаком некроза.

В серии дальнейших экспериментов был охарактеризован клеточный цикл исследуемой раковой линии и проанализирована зона мелких ядерных телец, характеризующая уровень апоптоза. Как видно из таблицы уровень апоптоза под действием природных брассиностероидов увеличивается в 2 раза по сравнению с контролем, в то время как синтетические брассиностероиды не оказывают на него влияние.

Таблица 1.

Описание пробы	% апоптоза
контроль А549	12,15
24-эпибрасинолид	22,75
28-гомокастостерон	24,26
(22S,23S)24-эпибрасинолид	16,09
(22S,23S)28-гомокастостерон	13,65

Таким образом, в случае раковой клеточной линии А549 синтетические конформеры брассиностероидов приводят к увеличению уровня активных форм кислорода и, как следствие, к некротической гибели клеток, в то время как антипролиферативное действие природных БС, скорее всего, обусловлено усилением апоптоза.

Литература

1. Панибрат, О.В. «Синтез и характеристика взаимодействия 2',7'-дихлордигидрофлуо-ресцеина диацетата с пероксидами» / Панибрат О.В., Адамчик С.В., Кисель М.А., Киселев П.А. // Химические реакции, реагенты и процессы малотонажной химии: сб.науч.трудов. Минск., 2013. С.70-75.
2. Manda, G. Reactive Oxygen Species, Cancer and Anti-Cancer Therapies / G. Manda, M. T. Nechifor and T.-M. Neagu // Current Chemical Biology. 2009. Vol. 3 (1). P.342-366.