

КОНЦЕНТРАЦИЯ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ В АСЦИТНЫХ КЛЕТКАХ КАРЦИНОМЫ ЭРЛИХА С РАЗНОЙ СКОРОСТЬЮ ПРОЛИФЕРАЦИИ

Т. Н. Замай, А.С. Замай

Красноярский государственный университет (кафедра биохимии и физиологии человека и животных, кафедра биофизики)

Исследование механизмов управления метаболическими процессами в живых системах в настоящее время является приоритетным направлением современной биологии. Живой организм – функциональная саморегулирующаяся система, находящаяся в состоянии постоянного приспособления к изменяющимся условиям окружающей среды. Адекватный ответ организма на изменение этих условий реализуется на уровне клетки. Происходит трансформация внеклеточного сигнала во внутриклеточный, благодаря чему клетка в зависимости от своего функционального состояния может переходить на разные уровни своего метаболизма. Регуляция внутриклеточного метаболизма осуществляется с помощью различных сигнальных систем. В клетке одним из наиболее важных вторичных мессенджеров является кальций. Изменения его внутриклеточной концентрации играют ключевую роль в запуске и регуляции общих и специализированных клеточных функций. В покое концентрация свободного Ca^{2+} в цитоплазме составляет $\sim 10^{-7}$ М, а ее повышение до 10^{-6} - 10^{-5} М запускает каскад биохимических реакций, адекватных изменению условий окружающей среды. Множество внутриклеточных процессов от митоза до апоптоза регулируется кальцием. Предполагается важная роль катионов кальция в развитии канцерогенеза.

Целью данной работы явилось выявление зависимости между концентрацией внутриклеточного кальция, величиной мембранного потенциала и скоростью пролиферации асцитных клеток карциномы Эрлиха.

Объектом исследования служили белые мыши-самцы массой 20-25 г. Перевивку карциномы Эрлиха осуществляли путем введения 3 млн. асцитных клеток внутрибрюшинно. Мембранный потенциал и концентрацию внутриклеточного кальция измеряли на спектрофлуориметре Aminco Bowman Series 2 с помощью флуоресцентных зондов родамина-123 и Fura-2AM соответственно. Подсчет асцитных клеток для определения скорости их пролиферации производили в камере Горяева.

Кривая скорости пролиферации асцитных клеток в наших опытах не отличалась от стандартной. Скорость роста была минимальна на 4-ые сутки после перевивки асцитных клеток (25000 кл/сут), затем, постепенно увеличиваясь, достигала максимального значения к 12-ым суткам (300000 кл/сут), и к 14-ым суткам уже снижалась до 100000

кл/сут. Ускорение пролиферации опухолевых клеток сопровождалось увеличением концентрации внутриклеточного кальция. В медленно делящихся асцитных клетках (4-7-ые сутки) концентрация внутриклеточного кальция составляла 47 нМ и 74 нМ соответственно. При увеличении скорости пролиферации (10-12-ые сутки) концентрация внутриклеточного кальция постепенно возрастала (10-ые сутки – 147 нМ, 12-ые сутки – 200 нМ). Величина мембранного потенциала оказалась обратно пропорциональной скорости пролиферации асцитных клеток. На 4-7-ые сутки после перевивки опухолевых клеток она составляла 2,2 отн.ед., а в быстро делящихся клетках снижалась до 0,8 отн.ед флуоресценции.

В последнее время не подвергается сомнению тот факт, что внутриклеточная сигнализация, осуществляемая ионами кальция, обусловлена не просто изменением его концентрации в цитоплазме, а их колебательным характером изменения. Следует отметить, что в наших исследованиях амплитуда осцилляций, как внутриклеточного кальция, так и мембранного потенциала в быстро пролиферирующих асцитных клетках была ниже, чем в медленно делящихся. Ответ асцитных клеток на введение глутамата и АТФ также был значительно меньшим именно на 12-ые сутки, когда скорость пролиферации асцитных клеток была максимальна.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что изменения концентрации внутриклеточного кальция и мембранного потенциала асцитных клеток карциномы Эрлиха могут участвовать в регуляции скорости пролиферации асцитных клеток карциномы Эрлиха. Иначе говоря, увеличение содержания внутриклеточного кальция и снижение мембранного потенциала, так же как и уменьшение амплитуды их осцилляций может являться сигналом к запуску деления клетки.

Работа представлена на научную заочную электронную конференцию «Приоритетные направления развития науки, технологий и техники» (15-20 марта, 2004 г.)

