

УДК 577.391; 616.006

## СТРУКТУРНИЙ СТАН КЛІТИННИХ МЕМБРАН САРКОМИ 37 В ДИНАМІЦІ РОСТУ

<sup>1</sup>Сорокіна Л. В., <sup>1</sup>Хижняк С. В., <sup>2</sup>Діденко Г.В., <sup>1</sup>Степанова Л.І., <sup>3</sup>Капля О.А.

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ „Інститут біології”, Київ, Україна  
e-mail: hsv@univ.kiev.ua

<sup>2</sup>Інститут експериментальної патології, онкології та радіобіології ім. Р.Є.Кавецького НАН України,  
Київ, Україна

<sup>3</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ, Україна

Надійшла до редакції 10.03.2010

Проведено дослідження структурно-динамічних властивостей внутрішньої мітохондріальної мембрани та мембран мікосом саркоми 37 з використанням методу флуоресцентних зондів. Встановлено, що ріст саркоми 37 супроводжується модифікацією структури та фізичних властивостей мембран: структурною реорганізацією поверхневого їх шару, впорядкованості ліпідної компоненти, конформаційними перебудовами мембранних білків. Встановлена здатність препарату натрій дихлорацетату (НДХА) інгібувати ріст саркоми 37 поряд із змінами структурно-динамічної впорядкованості мембран (найбільше виражено для мітохондріальної мембрани), що може бути в основі механізму дії досліджуваного препарату.

**Ключові слова:** саркома 37, натрій дихлорацетат, мітохондрії, мембрани, флуоресцентні зонди, ліпідний бішар, мікров'язкість.

### ВСТУП

Визначальною є роль біологічних мембран у формуванні структурної організації клітин в цілому та її окремих компартментів, а також їх функціонуванні [1]. Мембрани залучені у формування пухлинного фенотипу клітини, одними з притаманних ознак якого є посилення мітотичної активності, стійке порушення прооксидантно-антиокисної рівноваги, послаблення взаємозв'язку клітини з позаклітинними структурами, реорганізація цитоскелету та модифікація транспортних процесів у клітині, інгібування каскадів програмованої клітинної загибелі [2]. Плазматична мембрана забезпечує взаємозв'язок зовнішньо- та внутрішньоклітинних процесів, які супроводжуються перебудовами цитоскелету і функціональною модифікацією множинних сигнальних шляхів у трансформованих клітинах [3]. У реалізації сигнальних каскадів при канцерогенезі приймають участь мітохондрії, оскільки ці органели, окрім енергопродукуючої функції, забезпечують регуляцію кальцієвого гомеостазу та рецепторнезалежного шляху апоптозу [4].

Використання мішенних препаратів для лікування злоякісних захворювань вважається одним із найбільш багатообіцяючих підходів у сучасній онкологічній практиці [5]. На відміну від нормальних, мікрооточення злоякісних клітин характеризується нестачею поживних речовин, енергетичних субстратів та надлишком продуктів розпаду пухлинних клітин. За даних умов вплив на мітохондрії з метою

досягнення метаболічної катастрофи може досягатися при використанні натрій дихлорацетату (ДХАН), здатного виступати інгібітором кінази піруватдегідрогенази, активної в пухлинних клітинах [6]. Цей фермент характеризується здатністю фосфорилювати піруватдегідрогеназний комплекс, який трансформує піруват до ацетил-КоА, та пригнічувати його активність. У зв'язку з цим, при дії натрій дихлорацетату забезпечується активація піруватдегідрогеназного комплексу, а отже і посилення процесів енергетичного обміну в мітохондріях.

Функціонування мембранних систем, в тому числі й інтегральних мембранних білків, залежить від їх ліпідного оточення та динамічних властивостей. Слід враховувати, що регуляція активності мембранозв'язаних ферментів та сигнальних білків відбувається на рівні молекулярних взаємодій білкових молекул та анулярних ліпідів (білок-ліпідні взаємодії), а зміни мікров'язкості (структурної впорядкованості) ліпідної компоненти модифікують організацію функціонально-активної конформації білкових молекул в мембрані [3]. Тому доцільною є оцінка структурно-динамічних властивостей клітинних мембран у злоякісно трансформованих тканинах, у тому числі за введення таргетної сполуки - ДХАН.

Мета даної роботи полягала у дослідженні структурного стану клітинних мембран пухлин у динаміці росту саркоми 37 та за введення ДХАН.

## МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Дослідження проводили на білих мишах-самцях лінії Balb/c віком 2-2,5 міс. та вагою 20-25 г. Утримання тварин та процедури над ними здійснювали відповідно до прийнятих міжнародних правил проведення робіт із експериментальними тваринами. Для індукції пухлин тваринам перещеплювали у м'яз стегна  $2 \cdot 10^6$  клітин саркоми 37 (C37) на тварину у розчині Хенкса. Клітини до перещеплення культивували у середовищі RPMI-1640 («Sigma», США) з додаванням 10 % ембріональної сироватки («Sigma», США), 2 мМ L-глутаміну, 40 мкг/мл гентаміцину при  $+37^\circ\text{C}$  у вологій атмосфері з 5 %  $\text{CO}_2$ . Підрахунок життєздатних клітин C37 проводили з використанням камери Горяєва та 3% трипанового синього.

Тварин із пухлинами розподілено на 2 групи: 1 – миші з пухлинами, яким замість препарату вводили 0,9 % NaCl; 2 – миші з C37, які отримували внутрішньоочеревинно натрій дихлорацетат у дозі 86 мг/кг на добу починаючи від 3-ї доби після перещеплення пухлини впродовж терміну експерименту.

Ріст саркоми 37 характеризували за зміною розмірів пухлини (у трьох вимірах) на 6-у, 11-у, 14-у, 17-у, 20-у та 24-у добу, оцінюючи об'єм пухлини з використанням формули:  $V$  (см<sup>3</sup>) =  $(\pi \cdot d^3)/6$ , де  $d$  – лінійний розмір пухлини, см<sup>3</sup>.

Декапітацію піддослідних тварин із подальшим вилученням пухлин проводили на 14-у (1 термін), 17-у (2 термін), 20-у (3 термін) та 24-у добу (4 термін) після перещеплення саркоми 37.

Отримання мітохондріальної та постмітохондріальної (мікосомальної) фракцій клітин пухлин проводили із застосуванням методу диференційного центрифугування [7]. З метою одержання препаратів внутрішньої мітохондріальної мембрани (ВММ) проводили дворазову процедуру заморожування-відтаювання суспензії мітохондрій з подальшим центрифугуванням при 25000 g протягом 30 хв. Концентрацію білка вимірювали методом Грінберга [8]. Ступінь чистоти препаратів ВММ та мембран мікосом (ММ) оцінювали за активністю маркерних ферментів - сукцинатдегідрогенази [9] та 5'-нуклеотидази [10] відповідно.

Використовуючи флуоресцентні зонди, які локалізуються в різних ділянках мембрани, вивчали структурно-динамічні властивості ліпідної та білкової компонент ВММ та ММ саркоми 37. Враховували, що 1-анілінонафталін-8-сульфонату (АНС) локалізується переважно в поверхневих ділянках мембран, а пірен – у зоні жирнокислотних ланцюгів фосфоліпідів [11]. Мікрор'язкість ліпідної компоненти мембран визначали за ступенем ексимеризації пірену N ( $N = F_e/F_m$ , де  $F_e$  – інтенсивність флуоресценції ексимерів пірену, а  $F_m$  – мономерів) для загальної ліпідної фази при  $\lambda_{36} = 335\text{ нм}$  ( $N_{335}$ ) і анулярних ліпідів при  $\lambda_{36} = 280\text{ нм}$  ( $N_{280}$ ) [12]. Конформаційний стан білкових молекул у мембранах оцінювали за ефективністю гасіння акриламідом триптофаної флуоресценції

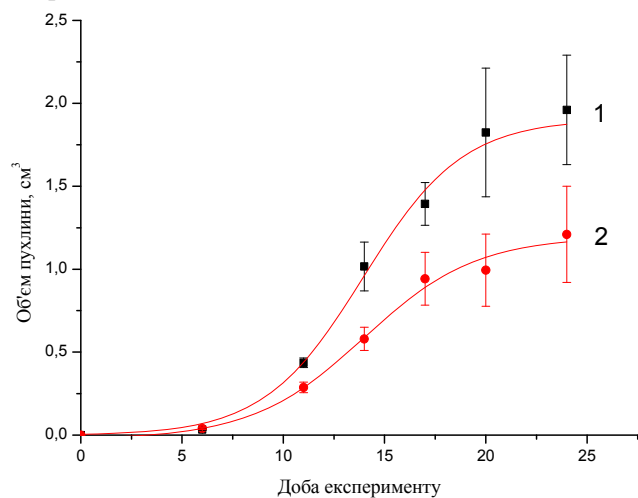
згідно [13]. Флуоресцентні дослідження проводили на спектрофлуориметрі Shimadzu-RF510 (Японія) в кварцовій односантиметровій кюветі при  $+25^\circ\text{C}$ .

Для обробки отриманих результатів використовували загальноприйняті методи статистичного аналізу [14].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів росту саркоми 37 впродовж 24 діб після перещеплення пухлини вказує на неоднорідний характер змін об'єму пухлини. Так, ріст саркоми 37 у проміжок від 9-ї по 16-17-у добу після перещеплення має лінійний характер. 17-18-а доба характеризується початком сповільнення темпів росту на 49,8 % ( $p \leq 0,05$ ) у порівнянні з попереднім часовим інтервалом та стабілізацією значень об'єму пухлини до 24-ї доби (рис. 1).

Це дозволяє виділити у загальному терміні дослідження лаг-фазу росту саркоми 37, яка при перещепленні мишам лінії Balb/c внутрішньом'язово становить проміжок від моменту перещеплення пухлини до 9-ї доби її росту. Цей період змінюється на фазу експоненціального росту саркоми 37, яка триває до 17-18-ї доби після перещеплення пухлини та передує фазі стаціонарного росту, за якої розміри саркоми 37 змінюються менш швидко.



**Рис. 1.** Ріст саркоми 37 в експериментальній моделі на мишах лінії Balb/c при внутрішньом'язовому перещепленні. За відсутності (1) та за введення (2) НДХА ( $p \leq 0,05$ ).

Результати, представлені на рис. 1, свідчать про те, що використання НДХА призводить до зниження темпу росту саркоми 37 на 32% ( $p \leq 0,05$ ) в експоненціальній фазі та на 53 % ( $p \leq 0,05$ ) у терміні стаціонарного росту порівняно з контролем, що вказує на здатність препарату в режимі метронормального його введення спричинювати інгібування росту саркоми 37.

Використання методу флуоресцентних зондів дозволило охарактеризувати структурно-динамічні властивості ВММ та ММ саркоми 37 на різних етапах росту пухлини та оцінити стан цих мембран за введення НДХА.

Отримані дані по дослідженню взаємодії флуоресцентного зонду АНС з ММ свідчать, що величина показника інтенсивності флуоресценції зонду для пухлин обох досліджуваних груп тварин не змінюється (табл. 1). Враховуючи те, що майже вся вимірювана флуоресценція АНС зумовлена зв'язуванням зонду з мембраною, можливо визначити параметри його зв'язування з мембраною - константу зв'язування ( $K_{АНС}$ ) та число місць зв'язування ( $N_{АНС}$ ) [11]. Встановлено, що за всіх термінів росту саркоми 37 величина константи зв'язування зонда не

змінюється, а кількість місць зв'язування зонду зростає із зростанням терміну росту (табл. 1). Це свідчить про появу додаткових ділянок зв'язування АНС, можливо внаслідок конформаційних змін білкової та ліпідної компонентів мембрани. Введення НДХА обумовлює наступні зміни параметрів зв'язування зонду: величина константи зв'язування АНС знижується у середньому на 28 %, що свідчить про зростання спорідненості зонду з мембраною [11, 15], а кількість місць зв'язування зонду зростає (табл. 1).

Таблиця 1.

**Спектральні характеристики флуоресцентного зонду АНС, зв'язаного з препаратами мікосомальних мембран (ММ) саркоми 37 у різні терміни росту пухлини ( $M \pm m$ ,  $n = 9$ )**

Термін (доба)	Об'єкт дослідження	Інтенсивність флуоресценції АНС, відн.од.	Константа зв'язування, $10^4 \cdot M^{-1}$	Кількість місць зв'язування, нмоль / мг білка
1 (14)	С37	1	13,60±1,50	45,3±3,5**
	С37+НДХА	1,02±0,04	9,51±0,51*	46,7±4,5
2 (17)	С37	1	15,42±1,12	53,4±4,7
	С37+НДХА	0,95±0,05	12,58±1,10*	63,7±6,3
3 (20)	С37	1	14,17±1,41	75,5±4,6
	С37+НДХА	1,03±0,06	9,36±0,57*	81,6±6,3
4 (24)	С37	1	14,57±1,11	69,0±4,9
	С37+НДХА	1,01±0,08	10,72±1,02*	80,1±6,1

Примітка (тут та далі): С37 – саркома 37, С37+НДХА – саркома 37 за умов введення НДХА, \* -  $p \leq 0.05$  відносно саркоми 37 для відповідного терміну;

\*\* -  $p \leq 0.05$  відносно саркоми 37 для інших термінів.

Таблиця 2.

**Спектральні характеристики флуоресцентного зонду АНС, зв'язаного з препаратами внутрішньої мітохондріальної мембрани (ВММ) саркоми 37 у різні терміни росту пухлини ( $M \pm m$ ,  $n = 9$ )**

Термін, (доба)	Об'єкт дослідження	Інтенсивність флуоресценції АНС, відн.од.	Константа зв'язування, $10^4 \cdot M^{-1}$
1 (14)	С37	1	71,04±7,35
	С37+НДХА	1,12±0,09*	36,41±1,45*
2 (17)	С37	1	62,06±6,25
	С37+НДХА	0,97±0,06	49,32±2,35*
3 (20)	С37	1	51,13±4,03
	С37+НДХА	0,99±0,07	27,18±1,95*
4 (24)	С37	1	50,0±4,09
	С37+НДХА	1,01±0,05	24,11±1,41*

Виявлені зміни спектральних характеристик флуоресцентного зонду АНС, зв'язаного з ММ саркоми 37, вказують на локальні структурні модифікації поверхневих ділянок мембрани у місцях зв'язування АНС за умов введення НДХА.

Отримані дані по дослідженню взаємодії флуоресцентного зонду АНС з ВММ свідчать, що інтенсивності флуоресценції та константа зв'язування АНС з ВММ пухлин без введення НДХА суттєво не змінюється (табл. 1). Результати дослідження впливу НДХА вказують на зростання інтенсивності флуоресценції зв'язаного з ВММ саркоми 37 зонду лише за 1 терміну дослідження в середньому на 12 % та зниження величини константи зв'язування АНС у середньому на 46 % при всіх термінах (табл. 2).

Таким чином, у динаміці росту саркоми 37 у початковий термін дослідження, що відповідає фазі експоненціального росту, спостерігаються відмінності поверхневої структури ММ та ВММ, порівняно із іншими термінами, про що свідчать зміни параметрів зв'язування АНС із мембранами. У присутності НДХА за усіх термінів росту спостерігається структурна модифікація поверхневих ділянок ММ та ВММ. Враховуючи, що флуоресценція змішаного бішару мембран залежить від його стану [15], локальні структурні перебудови в місцях зв'язування АНС можуть визначатися не лише фізичними властивостями мікрооточення зонду, протіканням ПОЛ, а й можливістю конформаційних змін мембранних компонентів.

Мікрів'язкість ліпідної компоненти мембран досліджували з використанням гідрофобного зонду пірену, молекули якого локалізуються в ділянці жирнокислотних ланцюгів фосфоліпідів. При фіксованій температурі та концентрації зонду ступінь ексімеризації зонду залежить від мікрів'язкості його оточення і може виступати її характеристикою.

Одержані результати для препаратів ММ та ВММ саркоми 37 (табл. 3) свідчать про зростання в'язкості ліпідів, які безпосередньо контактують з білковими молекулами порівняно з ліпідним бішаром (ступінь ексімеризації пірену для анулярних ліпідів зростає

порівняно із загальною ліпідною фазою), що узгоджується з уявленням про імобілізуєчий вплив білкових молекул на вуглецеві залишки ліпідних молекул [16]. Мікрів'язкість ліпідного бішару в ММ при рості саркоми 37 практично не змінюється (табл.3). В той же час, мікрів'язкість ліпідної компоненти ВММ саркоми 37 дещо знижується, оскільки ступінь ексімеризації пірену зростає, наприклад, на 20-у добу експерименту для анулярних ліпідів на 18 %, а загальної ліпідної фази на 20 % порівняно із 14-ю добою (табл.3).

Таблиця 3.

Ступінь ексімеризації пірену для загальної ліпідної фази ( $N_{335}$ ) та анулярних ліпідів ( $N_{280}$ ) в препаратах внутрішньої мітохондріальної мембрани (ВММ) та мембран мікросом (ММ) саркоми 37 ( $M \pm m, n = 9$ )

Термін, (доба)	ВММ		ММ	
	С37	С37+НДХА	С37	С37+НДХА
$N_{335}$ , відн. од.				
1 (14)	0,98±0,04	1,13±0,11	0,79±0,06	0,68±0,06
2 (17)	1,07±0,07	1,18±0,09	0,67±0,05	0,53±0,03*
3 (20)	1,18±0,05	0,98±0,07*	0,68±0,05	0,59±0,04*
$N_{280}$ , відн. од.				
1 (14)	0,78±0,06	0,94±0,10*	0,59±0,06	0,57±0,06
2 (17)	0,80±0,04	0,98±0,09*	0,60±0,05	0,56±0,03
3 (20)	0,92±0,06**	0,79±0,04*	0,61±0,05	0,69±0,04

Таблиця 4.

Параметри гасіння триптофаної флуоресценції акриламідом в препаратах внутрішньої мітохондріальної мембрани (ВММ) та мембран мікросом (ММ) саркоми 37 ( $M \pm m, n = 9$ )

Термін, доба	ВММ		ММ	
	С37	С37+НДХА	С37	С37+НДХА
Інтенсивність триптофаної флуоресценції, відн. од.				
14	215,6±16,1	144,0±11,1*	71,1±6,6	53,3±4,6*
17	172,5 ±15,7**	110,6±10,0*	51,5±4,5**	53,5±4,3
20	124,7±10,5**	103,8±9,7*	63,2±5,5	54,5±4,4
24	128,7±10,6**	91,4±8,5*	-	-
Частка флуоресценції, яка доступна для гасіння, $\beta$				
14	0,52±0,03	0,53±0,04	0,83±0,06	0,77±0,06
17	0,49±0,04	0,48±0,03	0,86±0,05	0,94±0,07
20	0,56±0,06	0,49±0,04	0,90±0,07	0,92±0,05
24	0,60±0,05	0,57±0,05	-	-
Ефективна константа гасіння, $K_{SV}$ ( $M^{-1}$ )				
14	2,17±0,11	1,27±0,10*	5,53±0,40	13,05±0,98*
17	1,72±0,10*	1,32±0,05*	4,76±0,41	7,87±0,65*
20	1,68±0,04*	1,24±0,04*	5,99±0,45	8,63±0,74*
24	1,86±0,04*	1,09±0,04*	-	-

За умов введення НДХА відбувається зменшення ступеня ексімеризації пірену в ММ при  $\lambda_{збуд}=335$  нм ( $N_{335}$ ) (на 21 та 13 % за 17-ї та 20-ї доби росту пухлини, відповідно), що вказує на зростання мікрів'язкості

загальної ліпідної фази. Для ВММ за ранніх термінів дослідження (14-а та 17-а доба) ступінь ексімеризації пірену дещо зростає, а на 20-ту добу знижується для анулярних ліпідів у середньому на 14 %, а для

загальної ліпідної фази - на 17-25% відносно саркоми 37 мишей, які не отримували НДХА, що вказує на зростання мікров'язкості ліпідного бішару ВММ за введення НДХА (табл. 3).

В'язкість ліпідів, як відомо, є інтегральною величиною і залежить від складу фосфоліпідів, вмісту холестеролу, який впорядковує структуру мембрани, кількості ненасичених жирних кислот, ступеня їх ненасиченості та від інтенсивності протікання ПОЛ в мембранах тощо. Зростання в'язкості ліпідної фази мембран може бути зумовлене порушенням гідрофобних взаємодій між молекулами ліпідів та  $\alpha$ -спіральними ділянками білків [12].

Зростання мікров'язкості ліпідної фази ММ та ВММ на пізніх етапах росту саркоми 37, може бути пов'язано із інтенсифікацією ПОЛ, порушенням взаємодій й взаємовпливу між білками та ліпідами, що і може обумовлювати функціональну дестабілізацію мембран, яка посилюється за впливу НДХА. Оскільки в основі механізму цитотоксичної дії НДХА на пухлинні клітини є редокс-активоване відкривання пори перехідної проникності мітохондрій та запуск подій мітохондріального апоптозу [17], а з іншого боку зростання мікров'язкості супроводжує відкривання пори перехідної проникності у мітохондріальній мембрані [18], можна припустити, що зростання мікров'язкості ліпідів ВММ саркоми 37 обумовлено використанням НДХА.

Для оцінки структурних змін білкової компоненти мембран досліджували інтенсивність флуоресценції триптофанілів білкових молекул. Встановлено, що препарати ВММ саркоми 37 характеризуються зниженням інтенсивності триптофанової флуоресценції білкових молекул у середньому на 40% із зростанням терміну росту порівняно з 14-ю добою росту. Водночас, за цих умов інтенсивність триптофанової флуоресценції для ММ пухлинних тканин знижується на 11-17 % порівняно з 14-ю добою росту (табл.4).

За умов введення НДХА в препаратах ВММ саркоми 37 інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків мембранних білків знижується порівняно з ВММ пухлин мишей групи контролю на 33 % за 1-го терміну, на 36 % за 2-го терміну, на 17 % за 3-го терміну та на 29 % за 4-го терміну дослідження, а в препаратах ММ – у середньому на 25 % за 1-го терміну, порівняно з ВММ саркоми 37 мишей, які не отримували препарат (табл. 4). Зменшення інтенсивності флуоресценції триптофанілів може бути спричинене конформаційними перебудовами білкових макромолекул чи переходом триптофанових залишків у більш полярне оточення [13].

Для оцінки конформаційних перебудов мембранних білків використано метод гасіння триптофанової флуоресценції зовнішнім гідрофільним гасником – акриламідом. Аналіз даних по гасінню флуоресценції триптофанілів досліджуваних мембран в модифікованих координатах Штерна-Фольмера дозволяє визначити частку флуоресценції

триптофанових залишків ( $\beta$ ), яка доступна для гасіння, та ефективну константу гасіння ( $K_{SV}$ ), зміни якої відображають структурну динаміку білкових молекул [19]. Слід враховувати, що використання модифікованого рівняння Штерна-Фольмера передбачає існування двох типів флуорофорів – повністю доступних чи недоступних гасінню. Тому відмінності значення  $\beta$  від одиниці свідчать про існування певної кількості триптофанілів, що недоступні для гасіння акриламідом [13].

Встановлено, що частка доступних для гасіння триптофанових залишків білкових молекул ММ та ВММ саркоми 37 відрізняється, але не змінюється як за росту пухлин, так і за умов введення НДХА. При рості пухлини для ВММ саркоми 37 величина  $K_{SV}$  знижується на 14-23 %, починаючи від 17-ї доби дослідження у порівнянні з 14-ю добою, а при введенні НДХА на 23-41 %, порівняно із відповідними величинами для ВММ С37 мишей, які не піддавалися введенню НДХА (табл. 4), що свідчить про зменшення внутрішньомолекулярної рухливості білкових молекул ВММ саркоми 37 як за росту пухлини, так і за введення НДХА. Для препаратів ММ саркоми 37 за умов введення НДХА відмічено зростання величини  $K_{SV}$  на 136 %, 65 % та 44 % відповідно для 1-го, 2-го та 3-го термінів досліджень, що свідчить про зростання внутрішньомолекулярної рухливості молекул білків ММ саркоми 37 за цих умов.

Таким чином, процес пухлинного росту характеризується структурною модифікацією мембран мітохондрій та мікросом, які пов'язані, перш за все, з конформаційними перебудовами білкових молекул, та зростанням мікров'язкості ліпідної компоненти, що найбільш виражено для мембран мітохондрій. Введення тваринам з саркомою 37 НДХА призводить до різноспрямованих змін структурного-динамічного стану даних мембран, що впливає на їх функціональні властивості.

## ВИСНОВКИ

Аналіз отриманих результатів свідчить, що ріст саркоми 37 супроводжується певними змінами структури та фізичних властивостей внутрішньої мембрани мітохондрій та мембран мікросом пухлинних клітин, які полягають у модифікації поверхневих ділянок мембран, структурної впорядкованості ліпідної компоненти, гідрофобних білок-ліпідних взаємодій, конформації мембранних білків. Введення тваринам з саркомою 37 препарату НДХА призводить до поглиблення змін структурно-динамічної впорядкованості мембран пухлин, в більшій мірі мітохондріальних, що може призводити до змін функціонування транспортних систем цих мембран, процесів сигнальної трансдукції за їх участю, процесів енергетичного обміну в мітохондріях тощо в пухлинних клітинах. Це може виступати складовою механізму дії

НДХА на пухлинні клітини, що підтверджено результатами стосовно інгібування росту саркоми 37.

### Література

1. *Brown B.S.* Biological membranes. – Manchester: «Oxford Road», 1996. – 45 p.
2. *Hanahan D., Weinberg R.A.* The hallmarks of cancer // *Cell.* – 2000. – Vol. 100, N 1. – P. 57-70.
3. *Генніс Р.* Биомембраны: Молекулярная структура и функции. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
4. *Gogvadze V., Orrenius S., Zhivotovsky B.* Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? // *Trends Cell Biol.* – 2008. – Vol. 18, №4. – P. 165-173.
5. *Gogvadze V., Orrenius S., Zhivotovsky B.* Mitochondria in cancer cells: what is so special about them? // *Trends Cell Biol.* – 2008. – Vol. 18, №4. – P. 165-173.
6. *Андреев А. Ю., Кулишарева Ю. Е., Старков А. А.* Метаболизм активных форм кислорода в митохондриях // *Биохимия.* – 2003. – Т. 70, № 2. – С. 246-264.
7. Практикум по биохимии: Учебное пособие/ Под ред. С.Е. Северина, Г.А.Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509с.
8. *Greenberg C.S., Craddock P.R.* Rapid single-step membrane protein assay // *Clin. Chem.* – 1982. – Vol.28, № 7. – P.1725-1726.
9. *Ещенко Н.Д., Вольський Г.Г.* Определение количества янтарной кислоты и активности сукцинатдегидрогеназы // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Л: Из-во Ленингр. ун-та, 1982. – С.207-212.
10. *Болдырев А.А., Курелла Е.Г., Павлова Т.Н.* Биологические мембраны. – М.: Изд-во МГУ, 1992. – 142 с.
11. *Добрецов Г.Е.* Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов. – М.: Наука, 1989. – 277с.
12. *Литвинов И.С., Образцов В.В.* Изучение вязкости свободных и связанных с белком липидов в мембранах // *Биофизика.* – 1982. – Т. XXVII, № 1. – С.81-86.
13. *Лактович Дж.* Основы флуоресцентной спектроскопии. – М.: Мир, 1986. – 236 с.
14. *Кучеренко М.С., Бабенюк Ю.Д., Войцицкий В.М.* Сучасні методи біохімічних досліджень. – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 424с.
15. *Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е.* Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран.- М.:Наука, 1980.- 320 с.
16. *Дерзунов А.Д., Капрельянц А.С., Кабишев А.А., Симакова И.М., Молчанов М.И., Островский Д.Н.* Существование пограничных липидов в реконструированной системе гидрофобный белок-липид // *Биохимия.* –1982. – Т.47, № 2. – С. 296-303.
17. *Michelakis E. D., Webster L., Mackey J. R.* Dichloroacetate (DCA) as a potential metabolic-targeting therapy for cancer // *Brit J Cancer.* – 2008. – Vol. 99. – P. 989-994.
18. *Riechelli F., Gobbo S., Moreno G., Salet C.* Changes in the fluidity of mitochondrial membranes induced by the permeability transition // *Biochemistry.* - 1999. – Vol. 38. – P. 9295-9300.
19. *Демченко А.П.* Люминесценция и динамика структуры белков. – К.: Наук. думка, 1988. – 280 с.

### СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН САРКОМЫ 37 В ДИНАМИКЕ РОСТА

Сорокіна Л.В., Хижняк С.В., Діденко Г.В., Степанова Л. И., Капля О.А.

Проведено исследование структурно-динамических свойств внутренней мембраны митохондрий и мембран микросом саркомы 37 с использованием метода флуоресцентных зондов. Показано, что рост саркомы 37 сопровождается модификацией структуры и физических свойств мембран, структурной реорганизацией их поверхностного слоя, упорядоченности липидной компоненты, конформационными перестройками мембранных белков. Установлена способность препарата натрия дихлорацетата (НДХА) ингибировать рост саркомы 37, а также приводит к изменениям структурно-динамической свойств мембран (более выраженных для мембраны митохондрий), что может быть в основе механизма действия исследуемого препарата.

**Ключевые слова:** саркома 37, натрий дихлорацетат, митохондрии, мембраны, флуоресцентные зонды, липидный бислой, микровязкость.

### THE STRUCTURAL STATE OF CELLULAR MEMBRANES FROM SARCOMA 37 IN THE GROWTH DYNAMICS

Sorokina L.V., Khyzhnyak S. V., Didenko G. V., Stepanova L.I., Kaplia O. A.

The structural and dynamic state of inner mitochondrial membranes and microsomal membranes of sarcoma 37 were investigated using the method of fluorescent probes. It was shown that the growth of sarcoma 37 characterizes with the modifications of the structure and physical properties of these membranes. During sarcoma 37 growth the structural reorganization of the superficial layer of membranes and lipid component, conformational changes of protein macromolecules occur. It was also evaluated that sodium dichloroacetate (SDA) inhibits the rate of sarcoma 37 growth in the experiment in vivo and leads to the changes of structural and dynamical state of membranes from tumor cells (especially for mitochondrial membrane) that could be considered as the link in the mechanism of SDA action.

**Key words:** sarcoma 37, sodium dichloroacetate, mitochondria, membranes, fluorescent probes, lipid bilayer, microviscosity.