

МИКРОВЯЗКОСТЬ МЕМБРАН ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Хлынова А.Э., Ширманова М.В.

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ

Авторы:

Хлынова Александра Эмильевна, студент 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России

Ширманова Марина Вадимовна, к.б.н., зав. лаб., зам. директора по науке НИИ Экспериментальной онкологии и биомедицинских технологий ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России

Автор, ответственный за переписку:

Хлынова Александра Эмильевна-студент 5 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «ПИМУ» Минздрава России 603005, Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1, sashahlynova@list.ru

DOI: 10.61634/2782-3024-2023-12-44-57

Онкологические заболевания занимают вторую строчку в структуре пациентской смертности в мире. Таким образом актуальную задачу представляет собой разработка новых и усовершенствование уже существующих методов лечения онкологических заболеваний, поиск новых мишеней для химиопрепаратов. Клеточная мембрана может служить таргетной мишенью для терапии, так как является первым барьером для химиопрепаратов. Изменение биофизических параметров плазматической мембраны, в том числе вязкости играет существенную роль в развитии патологических состояний организма.

Несмотря на фундаментальное значение вязкости для жизнедеятельности клетки, этот параметр остается мало изученным и его роль в патогенезе заболеваний и ответе на терапию до конца не ясна. Вязкость мембран опухолевых клеток определяет степень их злокачественности, потенциал метастазирования, происхождение раковых клеток, а также существенно отличается от их нормальных аналогов. Также вязкость мембраны изменяется в процессе индукции резистентности к лекарственным препаратам и отличается у чувствительных опухолевых клеток и их резистентных аналогов, то есть вязкость плазматической мембраны может служить диагностическим показателем.

Вязкостные изменения мембран опухолевых клеток напрямую зависят от их липидного состава плазматической мембраны. Различное содержание в плазматической мембране тех или иных липидов, в частности, холестерина, играет существенную роль в формировании мишеней для химиопрепаратов, их локализации внутри мембраны и проникновении внутрь опухолевой клетки. Липидный состав плазматической мембраны также изменяется в процессе химиотерапии и в процессе индукции резистентности к лекарственным препаратам. Соответственно измененный липидный состав мембраны может служить прогностическим критерием при ответе опухоли на химиотерапию.

На основе анализа состояния исследований в области изучения вязкости опухолевых клеток выявлено, что актуальной задачей является изучение роли вязкости мембран в процессе онкогенеза и ее изменений в процессе терапевтического воздействия. Исследования в этом направлении представляют интерес для разработки новых терапевтических подходов и индивидуализации лечения.

Ключевые слова: онкологические заболевания, химиотерапия, мембрана, микровязкость, флуоресцентные молекулярные ротаторы, оптический биоимиджинг, FLIM, экспериментальная онкология

MICROVISCOSITY OF TUMOR CELL MEMBRANES

Khlynova A.E., Shirmanova M.V.

Volga Region Research Medical University

Oncologic diseases occupy the second line in the structure of patient mortality in the world. Thus, the development of new and improvement of existing methods of treatment of oncologic diseases, search for new targets for chemopreparations is an urgent task. Cell membrane can serve as a targeting target for therapy, as it is the first barrier for chemopreparations. Changes in biophysical parameters of the plasma membrane, including viscosity, play an essential role in the development of pathological states of the organism.

Despite the fundamental importance of viscosity for cell vital activity, this parameter remains poorly studied and its role in disease pathogenesis and response to therapy is not completely clear. Tumor cell membrane viscosity determines the degree of malignancy, metastasis potential, origin of cancer cells, and differs significantly from their normal counterparts. Also, membrane viscosity changes in the process of induction of drug resistance and differs between sensitive tumor cells and their resistant counterparts, i.e. plasma membrane viscosity can serve as a diagnostic indicator.

Viscosity changes in tumor cell membranes directly depend on their lipid composition of the plasma membrane. Different content of certain lipids in the plasma membrane, in particular, cholesterol, plays an essential role in the formation of targets for chemopreparations, their localization inside the membrane and penetration inside the tumor cell. The lipid composition of the plasma membrane is also altered during chemotherapy and during the induction of drug resistance. Accordingly, the altered lipid composition of the membrane may serve as a prognostic criterion for tumor response to chemotherapy.

Based on the analysis of the state of research in the field of tumor cell viscosity studies, it was revealed that it is an urgent task to study the role of membrane viscosity in the process of oncogenesis and its changes in the course of therapeutic action. Studies in this direction are of interest for the development of new therapeutic approaches and individualization of treatment.

Keywords: oncological diseases, chemotherapy, membrane, microviscosity, fluorescent molecular rotors, optical bioimaging, FLIM, experimental oncology

Введение

Микровязкость мембран играет важнейшую роль в функционировании живых клеток, так как является одним из ключевых параметров регуляции ее биофизического и морфологического состояния.

Микровязкость цитоплазматической мембраны контролирует множество процессов, таких как трансмембранный транспорт молекул, проницаемость для молекул, каталитическая активность ферментов. Изменения вязкостных и эластических свойств мембран живых клеток зачастую связаны с развитием тех или иных патологий в организме, в том числе онкологических заболеваний. Однако, связь между микровязкостью мембраны, её липидным составом и ответом опухолевых клеток на лечение, изучена мало. В первую очередь, это связано с отсутствием адекватных методов, позволяющих с высокой точностью измерить микровязкость и липидный состав мембран клеток в реальном времени. Поэтому актуальной задачей является прижизненный анализ изменений микровязкости мембран живых клеток.

Особый интерес представляет исследование микровязкости опухолевых клеток и тканей ввиду повсеместного распространения онкологических заболеваний. Злокачественные опухоли занимают второе место как в общей статистике заболеваний, так и в статистике смертности пациентов. Известно, что вязкость опухолевых клеток отличается от нормальных, теоретически, этот параметр может служить диагностическим показателем. С другой стороны, известно, что микровязкость опухолевых клеток изменяется в процессе терапии (ФДТ, химиотерапии) и, следовательно, может служить инструментом для оценки эффективности проводимой терапии.

Понятие вязкости и её роль в жизнедеятельности клетки

Вязкость, с точки зрения физики, – одно из явлений переноса, свойство текучих тел (жидкостей и газов) оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой. Микровязкость – это трение, испытываемое одной частицей при её взаимодействии в процессе диффузии с окружающей средой в масштабе микрометра длины. Данная величина измеряется в Паскалях (Па) или Пуазах ($1 \text{ пуаз} = \text{Па} \cdot \text{с}$).

Микроскопическая вязкость является одним из ключевых биофизических параметров, контролирующих скорость диффузии молекулярных частиц и, следовательно, влияющих на скорость реакции диффузионно-контролируемых процессов на микроскопическом уровне. Таким образом микровязкость мембран играет ключевую роль в функционировании здоровой клетки, а изменения значений данного параметра с сопутствующим воздействием на активность мембранных белков и клеточную коммуникацию часто сопровождают трансформацию нормальной клетки в злокачественную.

Изменение значения микровязкости в живой клетке может существенно отразиться как на скорости чисто химических реакций, так и на ряде физических явлений, имеющих первостепенное значение для процессов, происходящих в клетке [15]. Например, изменение микровязкости влияет на диффузию химических веществ, скорость Броуновского движения, электропроводность и др. [37,47,62]. Вязкость вносит большой вклад в такие процессы, как внутриклеточный сигналинг и транспорт, диффузия короткоживущих интермедиатов и метаболитов (например, активных форм кислорода и азота), синтетические процессы, каталитическую активность многих ферментов и др. [75,72].

Вязкость является одним из важнейших свойств жидкого содержимого клетки – цитоплазмы. Вязкость цитоплазмы обусловлена структурой составляющих её биополимеров и субклеточных

образований и зависит от степени дисперсности и гидратации коллоидов, содержания воды в клетке, температуры и других факторов. Это свойство цитоплазмы тесно связано с обменом веществ: чем выше вязкость, тем обычно менее интенсивно идут обменные процессы [17]. Цитоплазма представляет собой сложную многокомпонентную среду, влияющую на диффузию биомолекул, и, как следствие, скорость реакций в клетке [54,55,76]. Существует предположение, что цитоплазматическая вязкость изменяется во время разных фаз клеточного цикла [8,28,45]. Однако в недавних исследованиях показана парадоксальная стабильность вязкости цитоплазмы клеток Hela-EGFR во всех фазах в отличие от мембранной вязкости [76]. Единственное значительное изменение вязкости было замечено в S-фазу, но не превышало 20% от среднего значения. Также исследователи установили отсутствие зависимости между цитоплазматической вязкостью и типом ткани, степенью злокачественности, полом и возрастом пациента [41].

Важным параметром, характеризующим состояние живой клетки, является вязкость мембраны. Вязкость мембран существенно отражается как на скорости чисто химических реакций, так и на ряде физических явлений, имеющих первостепенное значение для жизненно-важных процессов в клетке, в частности на подвижности химических веществ, интенсивности Броуновского движения, электропроводности и др. Поэтому вязкость влияет на такие процессы, как сигнализация, внутриклеточный транспорт, диффузия короткоживущих интермедиатов и метаболитов (например, активных форм кислорода и азота), синтетические процессы, взаимодействие между биомакромолекулами [75]. Вязкость мембран клеток во многом обусловлена качественным и количественным содержанием жирных кислот мембранных липидов [51,61,80].

Известно, что именно содержание ненасыщенных жирных кислот в мембранах придает им жидкостные свойства, вязкость при этом снижается [81]. Увеличение в мембранах содержания холестерина и насыщенных жирнокислотных радикалов в фосфолипидах, наоборот, повышает вязкость мембран [64]. Также, было показано, что чем выше подвижность хвостов фосфолипидов, тем меньше вязкость мембран, и тем лучше их проницаемость для диффундирующих веществ [1]. Кроме того, липидный бислой является матриксом для мембранно-связанных ферментов, активность этих ферментов во многом регулируется вязкостью липидной фазы мембран, составом липидов [46].

Интенсивность обновления фосфолипидов зависит от скорости синтеза ДНК в клетке. Имеется связь синтеза ДНК с составом липидов, перераспределением фракций фосфолипидов, степенью ненасыщенности жирнокислотных радикалов (насыщенные жирные кислоты тормозят синтез ДНК). Установлено, что вязкость мембран отличается в разных фазах клеточного цикла: максимальная вязкость достигается в митозе (3.5 пуаз), минимальная в S-фазе (1.9 пуаз) [14]. Все эти данные свидетельствуют о важной регуляторной роли фосфолипидов мембран.

Сложное взаимодействие между всеми этими факторами позволяет живым клеткам поддерживать вязкость мембран в узких пределах, специфичных для каждого типа клеток, что является ключевым моментом клеточного гомеостаза и выживаемости. Известно, что нарушенный липидный обмен – характерная особенность опухолевых клеток [19]. Активно пролиферирующие раковые клетки имеют повышенную потребность в липидах и холестерине, которая удовлетворяется через потребление экзогенных липидов. Накопление липидов и холестерина в мембранах раковых клеток

рассматривается как признак агрессивности опухоли [44]. Кроме того, измененный липидный состав мембран опухолевых клеток сказывается не только на биохимических параметрах мембраны, но и влияет на её биофизические свойства, в частности на вязкость.

Актуальную задачу представляет собой исследование взаимосвязи между нарушением вязкостных характеристик мембран и развитием онкологических заболеваний. Однако эта проблема на сегодня мало изучена.

Микровязкость и вязко-эластические свойства мембран опухолевых клеток

Особое значение представляет исследование вязкости опухолевых клеток. Попытки измерения вязкости опухолевых клеток предпринимались ещё в прошлом столетии с использованием традиционных механических методов. Так, в работах М. Гаера использовался метод центрифугирования гомогенатов клеток опухолевых и нормальных тканей. Было установлено, что вязкость опухолевых клеток выше, чем нормальных, что предположительно связано с накоплением молочной кислоты в них [23]. В более поздних работах, например, в исследовании Р. Fuchs была показана разность в вязкости мембран нормальных фибробластов мыши и фибробластов, инфицированных вирусом, вызывающим развитие полиомы, причем вязкость последних оказалась больше [21].

Вязко-упругие свойства клеток напрямую связана с физиологическими и патологическими состояниями клетки. Вязкоупругие свойства отдельных клеток влияют на то, как они взаимодействуют со своим микроокружением, их различия могут влиять на механосигнальные пути и, в свою очередь, влиять на клеточное поведение [39] и рост [4,16].

Изменения механических свойств клеток, в частности эластичности, связаны с организацией цитоскелета, которая изменяется в различных фазах

клеточного цикла. Так, известно, что во время митоза клетки становятся круглыми и сжатыми, а после возвращаются к привычной продолговатой форме, что отражается на вязко-упругих свойствах [63].

С помощью таких методов, как атомно-силовая микроскопия и аспирация микропипеткой становится возможным изучение вязко-упругих свойств, что в свою очередь приводит к пониманию механических свойств патологических состояний [40,56,20].

Позднее с появлением флуоресцентных молекулярных роторов и развитием метода флуоресцентного имиджинга, стало возможным измерение вязкости отдельных компартментов опухолевых клеток. Интересно, что микровязкость цитоплазмы опухолевых клеток оказалась ниже, чем у нормальных клеток [25], а микровязкость мембран варьирует в разных клеточных линиях [24]. Разница в значениях вязкости у опухолевых и нормальных клеток также подтвердилась с применением метода атомно-силовой микроскопии в культуре [59]. Кроме того, были выявлены отличия в вязкости клеток доброкачественных и злокачественных опухолей. С помощью метода электронного парамагнитного резонанса (ЭПР), авторами работы было установлено, что вязкость клеток доброкачественных опухолей составляет 0.99 кПа, а клеток злокачественных опухолей 1.97 кПа [18]. С использованием атомно-силовой микроскопии в модели прогрессивного рака яичников было показано, что клетки яичников мышей более вязкие в ранней стадии развития рака [36]. В то же время мембраны злокачественных клеток обладают более высокой текучестью, чем доброкачественные [73,74]. Эти данные подтверждены исследованиями на культурах опухолевых клеток [78,33]. Некоторые из них, например, лимфомы и карциномы легких [67,74,9] отличаются более высокой текучестью в отличие от их доброкачественных аналогов. Однако некоторые раковые

клетки могут иметь более низкие значения текучести мембран вследствие более низкой степени ненасыщенности жирных кислот и повышенного содержания холестерина, например, клетки гепатомы.

Вязкостные изменения в мембранах опухолевых клеток оказывают существенное влияние на антигены и рецепторы [13,34], также на способность к метастазированию и проникновению в базальную мембрану [78, 48].

Также было установлено, что микровязкость опухолевых клеток изменяется в процессе фотодинамической терапии. В работе М. Kuimova et al. было показано резкое увеличение вязкости окружения молекулярного ротора при фотоиндуцированной гибели клеток в процессе фотодинамической терапии [38].

Более того, показаны отличия микровязкости мембран у опухолевых клеток, обладающих разной чувствительностью к химиотерапии. Например, V. Cherhun в своей работе обнаружил, что плазматическая мембрана клеток резистентной карциномы Генера отличается от мембраны чувствительной карциномы большей микровязкостью [11]. Z. Huang установил, что микровязкость плазматической мембраны резистентных A549 / DDP клеток увеличилась (1.8 - 2.2 пуаз), а у A549 уменьшилась (1.7 - 1 пуаз) [32]. Поэтому вязкость также может служить для оценки эффективности терапии.

Однако, долгое время работы по измерению микровязкости выполнялись исключительно на модельных мембранах и клетках *in vitro*, в то время как исследования на более сложно организованных моделях не выполнялись совсем. Впервые в работе Shirmanova et al. было показано, что микровязкость мембран клеток опухолевого сфероиды HeLa Kyoto не меняется в процессе его роста и не отличается для клеток внешнего и внутреннего слоя сфероиды [72].

Попытки измерения на опухолях животных были предприняты в работе Shimolina et al. Так, впервые были получены значения микровязкости клеток опухолей колоректального рака на моделях опухолей животных [72]. Отмечается, что данные, полученные в *in vivo* экспериментах хорошо согласуются со значениями микровязкости, полученными для *in vitro* работ.

Таким образом, микровязкость мембран опухолевых клеток может служить предиктором развития онкологических заболеваний, определять степень злокачественности опухолей и потенциал их метастазирования.

Микровязкость мембран опухолевых клеток при химиотерапии и химиорезистентности

Вязкость имеет фундаментальное значение для клеточных биофизических процессов, однако ее роль в патогенезе рака и ответе на химиотерапию, которая на сегодняшний день остается одним из основных методов его лечения, до конца не изучена. Также еще не полностью описаны процессы проникновения и действия лекарственного препарата в живой клетке. Множество исследований показывают, что ответ раковых клеток на химиопрепарат напрямую зависит от биофизических свойств мембраны, таких как вязкость.

На сегодняшний день известно, что вязкость мембран опухолевых клеток изменяется в процессе терапии [59], а также отличается у чувствительных клеток и у их резистентных аналогов [32, 11, 7].

Клеточная мембрана и лекарственные вещества оказывают друг на друга влияние. С одной стороны, препарат изменяет мембранную вязкость за счет прямого взаимодействия с липидным слоем или опосредованно, через перекисное окисление липидов, например. С другой-плазматическая мембрана влияет на активность и токсичность лекарственных препаратов [66]. За счет своих биофизических характеристик, в частности, вязкости,

мембрана непосредственно влияет на проникновение, локализацию препарата внутри мембраны и влияние его на терапевтическую мишень [66]. В то же время мембранные липиды могут являться ключевыми мишенями в преодолении химиорезистентности [26]. Понимание роли цитоплазматической мембраны в ответе раковых клеток на химиотерапию чрезвычайно важно, так как мембрана непосредственно вовлечена во внутриклеточный транспорт лекарственных веществ и регуляцию различных биологических процессов в клетке. Множественная лекарственная устойчивость является основной причиной неэффективности химиотерапии. В особенности это связано с повышенной жесткостью клеточной мембраны, которая ослабляет проникновение лекарственных препаратов в клетку [82].

Цисплатин и другие химиопрепараты на основе платины являются наиболее часто назначаемыми в современной онкологии, их получают около 50% больных раком толстой кишки, шейки матки, молочной железы и др. Их противоопухолевая активность основывается на препятствии репликации и транскрипции ДНК, что в свою очередь приводит к подавлению клеточной пролиферации и индуцированной гибели клеток.

Недавние исследования показывают, что мембранная вязкость раковых клеток меняется под воздействием цисплатина [22, 10]. Ранее было продемонстрировано, что при лечении цисплатином достаточно быстро уменьшилась вязкость в мембранах, а также в липидных рафтах в клетках колоректального рака HT29 при инкубации с препаратом в течение 15 мин - 4 ч [42, 62,72]. Авторы работы предполагают, что основным механизмом повышения вязкости является активация сфингомиелиназы, которая приводит к образованию церамида.

В исследованиях Lacombe и др. и Rebillard и др. на клетках колоректального рака

при лечении цисплатином было продемонстрировано быстрое временное увеличение текучести плазматической мембраны вследствие инициации апоптоза [69]. В исследованиях на нескольких линиях раковых клеток говорится об иницированном цисплатином апоптозе посредством транслокации и/или активации рецептора Fas в клеточных липидных рафтах [42]. То есть определенная терапевтическая концентрация цисплатина снижает вязкость мембран клеток HT29 с сохранением в течение 4 часов (измерено с помощью метода ЭПР) [42], что сопровождалось образованием крупных агрегатов CD95 и их перераспределением вместе с Fas-ассоциированными белками с доменом смерти FasL и прокаспазой-8 в липидные рафты. В исследованиях Lacombe, Rebillard было показано, что опосредованное цисплатином ингибирование NHE1 вызывает каскад изменений - снижение внутриклеточного pH, в ответ на что происходит быстрая временная активация aSMase и стимуляция агрегатов CD95. С использованием метода ЭПР также было показано, что индуцированное цисплатином снижение мембранной вязкости вызывает активацию пути рецептора смерти Fas, что, в свою очередь, приводит к быстрой и временной реорганизации микрофиламентов F-actin [62].

Были показаны отличия микровязкости мембран у опухолевых клеток, обладающих разной чувствительностью к химиотерапии. Например, было обнаружено, что мембраны клеток резистентной карциномы Генера обладают большей вязкостью по сравнению с чувствительной карциномой [12].

С использованием флуоресцентного зонда TMA-DPH было установлено, что вязкость плазматической мембраны резистентных к цисплатину A549/DDP клеток увеличилась до 2.2 пуаз, а у чувствительных A549 уменьшилась до 1 пуаза при апоптозе, это показано на рис. 5 [32]. Также было обнаружено, что

микровязкость плазматической мембраны клеток с множественной лекарственной устойчивостью более гетерогенна по сравнению с не резистентными опухолевыми клетками [7].

В исследованиях на клеточных линиях СТ26 (колоректальный рак мыши) и Hela Kyoto (рак шейки матки) было показано изменение вязкости в процессе химиотерапии цисплатином: значительное увеличение к 24 ч инкубации с препаратом. Данные подтвердились в исследованиях на более сложных моделях - клеточных сфероидов Hela Kyoto: к 24-48 ч инкубации наблюдалось повышение вязкости до 425 сП и 325 сП, соответственно. Интересно отметить, что размеры сфероидов увеличились за счет наличия мертвых клеток и структурной дезорганизации. Исследователи сделали вывод, что это не был временный ответ на лечение, так как повышенная вязкость сохранялась в течение 48 ч после отмены препарата. Также были проанализированы вязкостные изменения при индукции химиорезистентности к цисплатину. Было показано, что при увеличении дозы препарата значения вязкости повышаются в сравнении с контрольными (407 сП и 301 сП, соответственно). Для подтверждения зависимости вязкостных изменений во время химиотерапии от липидного состава мембраны был получен липидный профиль СТ26 с использованием ToF-SIMS. После 24 ч воздействия цисплатина было зарегистрировано повышенное содержание сфингомиелина, фосфатидилхолина и холестерина [70].

Несколько исследований предполагают, что измененный липидный состав и физические свойства клеточной мембраны способствуют развитию химиорезистентности. Наиболее распространенными изменениями липидов в устойчивых к лекарствам раковых клетках являются увеличение содержания сфингомиелина и холестерина, а также более высокая

степень насыщения жирными кислотами. Эти перестройки должны сделать мембрану более вязкой и, следовательно, могут уменьшить проникновение препарата в клетки путем пассивной диффузии.

В недавних исследованиях на линии НСТ116 (колоректальный рак человека) проводилось сравнение влияния химиотерапии на изменения вязкости мембран чувствительных клеток и их резистентных аналогов – НСТ116-ОХАР. При воздействии оксалиплатина у чувствительных к химиотерапии клеток наблюдалась схожая динамика вязкостных изменений с таковой у СТ26 и Hela Kyoto при действии цисплатина. В то время как у НСТ116-ОХАР воздействие оксалиплатина не влияло на вязкость мембраны, на всем протяжении инкубации значения вязкости составляли примерно 450 сП. Проведенный с помощью ToF-SIMS липидный анализ показал незначительное снижение фракции мононенасыщенных ЖК и повышение полиненасыщенных, а также более высокий сигнал от холестерина у клеток НСТ116.

Резистентная линия НСТ116-ОХАР демонстрировала более низкий сигнал от мононенасыщенных жирных кислот, более низкий уровень фосфатидилхолина и более высокий уровень холестерина, что характерно для клеток, устойчивых к препаратам платины. Для дополнительного определения реакции оксалиплатин-чувствительных и резистентных клеток НСТ116 в более естественной среде были проведены эксперименты *in vivo* на опухолевых ксенотрансплантатах мыши, полученных из клеточных линий НСТ116 и НСТ116-ОХАР. В отличие от клеточных культур ротор в опухолях располагался как в мембране, так и диффузно в цитоплазме. Так как внутриклеточная среда характеризуется более низкой вязкостью, значения *in vivo* оказались ниже чем *in vitro*. Вязкость в мембранах клеток НСТ116 и НСТ116-ОХАР была сходной и составляла 268 сП и 272 сП.

Было показано, что, как и в моделях *in vitro*, в резистентных опухолях вязкость не менялась после лечения оксалиплатином. В то время как чувствительные опухоли показали схожую динамику с клеточной культурой – увеличение вязкости до 357 сП. Таким образом, результаты, полученные *in vivo*, коррелируют с результатами *in vitro* и говорят о вовлеченности вязкости мембран в ответе на химиотерапию [70].

Взаимосвязь микровязкости мембран с липидным составом опухолевых клеток

Как правило, различные значения вязкости у опухолевых и нормальных клеток связаны с различием липидного состава мембран этих клеток. При этом, часто нарушается метаболизм холестерина, что приводит к уменьшению или увеличению его содержания в мембранах, что, в свою очередь, влияет на вязкость.

В недавних исследованиях было показано, что мембраны с преобладанием холестерина имеют более высокую вязкость, чем мембраны с низким содержанием холестерина [27,50], а его содержание сильно зависит от происхождения клетки. Также показано, что высокое содержание холестерина напрямую связано с увеличением количества липидных рафтов [26,12], домены которых участвуют в клеточной пролиферации, дифференцировке, апоптозе и миграции и, соответственно, вовлечены в злокачественную трансформацию, неконтролируемый рост, инвазивность и метастазирование [2]. Повышенная вязкость мембран создает обилие белков интегринов, адгезинов, рецепторов CD44 и CD24, которые участвуют в прогрессии опухоли и ее инвазии и локализуются в липидных рафтах [49], [50, 58,53]. Таким образом, можно сказать, что повышенная вязкость мембраны способствует плохому проникновению лекарственных препаратов в клетку.

Метаболизм липидов при онкологических заболеваниях может быть настолько изменен, что

повышенный уровень некоторых из них, таких как фосфатидилсерина, рассматривают как биомаркеры рака [77]. Однако точного липидного профиля, который бы отличал злокачественные клетки от доброкачественных, не существует [52]. Более того, липидный состав раковой клетки может колебаться во времени. Например, если клетка готовится к метастазированию, содержание холестерина в ее мембране снижается для повышения текучести мембран, что способствует лучшему проникновению в кровеносное русло [81].

Однако не только содержание холестерина изменяется в опухолевых клетках. Например, внеклеточные мембраны в клетках гепатоцеллюлярной карциномы содержали в четыре раза больше сфингомиелина и большее количество ненасыщенных жирных кислот, чем их нормальные аналоги [65]. В мембранах клеток колоректального рака повышены все фракции фосфолипидов [27]. Кроме того во многих опухолевых клетках наблюдается снижение сфингомиелина, и его содержание коррелирует с опухолевым генезом [5].

Некоторые липиды, например, фосфатидилсерина выполняют защитную функцию на поверхности раковых для уклонения от аутоиммунного ответа: НК-клеток и других цитотоксических иммунных клеток [6,43].

При изучении устойчивости раковых клеток к химиотерапии было показано, что клетки с более высоким содержанием холестерина в мембране проявляют большую лекарственную устойчивость [2; 52].

Инвазивность раковых клеток также зависит от липидного состава. Повышение инвазивности в частности связывают с большим содержанием ганглиозидов [57].

Таким образом липидный профиль мембраны опухолевой клетки можно рассматривать как важнейший прогностический фактор у

онкологических больных. Кроме того, значительную роль в механизмах устойчивости к химиотерапии и метастазированию играет холестерин, посредством регуляции текучести мембран. Современные представления о липидном составе мембраны позволяют модифицировать лечение онкологических заболеваний, однако в этой области еще многое подлежит изучению.

Заключение. Лечение онкологических заболеваний на сегодняшний день представляет собой актуальную задачу. Большое внимание уделяется разработке новых и усовершенствованию уже существующих методов лечения, поиску новых мишеней, например, отдельных клеточных компартментов.

Клеточная мембрана может служить таргетной мишенью для терапии, так как

ЛИТЕРАТУРА

Иваницкий Г. Р. Математическая биофизика клетки // Рипол Классик 1978.

1. Alves A. C. et al. Biophysics in cancer: The relevance of drug-membrane interaction studies // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 2016; 1858(9):2231-2244.
2. Ayee M. A., Levitan I. Paradoxical impact of cholesterol on lipid packing and cell stiffness // *Front Biosci (Landmark Ed)* 2016; 21:1245-1259.
3. Bao G., Suresh S. Cell and molecular mechanics of biological materials // *Nature materials* 2003; 2(11):715-725.
4. Barceló-Coblijn G. et al. Sphingomyelin and sphingomyelin synthase (SMS) in the malignant transformation of glioma cells and in 2-hydroxyoleic acid therapy // *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2011; 108(49):19569-19574.
5. Birge R. B. et al. Phosphatidylserine is a global immunosuppressive signal in efferocytosis, infectious disease, and cancer // *Cell Death & Differentiation* 2016; 23(6):962-978.
6. Boutin C. C. B. et al. High heterogeneity of plasma membrane microfluidity in multidrug-resistant cancer cells // *Journal of biomedical optics* 2009; 14(3):034030.
7. Broderick R. et al. Cell cycle-dependent mobility of Cdc45 determined in vivo by fluorescence correlation spectroscopy // *PLoS One* 2012; 7(4):e35537.
8. Campanella R. Membrane lipids modifications in human gliomas of different degree of malignancy // *Journal of neurosurgical sciences* 1992; 36(1):11-25.

является первым барьером для химиопрепаратов. Следует подчеркнуть, что вязкость имеет большое значение в озлокачествлении и метастазировании клетки, а также отличается у доброкачественных клеток и их злокачественных аналогов.

Изменения в вязкости мембран обуславливают не только ответ опухолевой клетки на терапию, а также развитие химиорезистентности. Кроме того, вязкость может служить диагностическим показателем, так как вязкость опухолевых клеток отличается от нормальных.

Таким образом, данные литературы показывают, что вязкость может служить полезным инструментом для оценки функционального состояния опухолевых клеток и мониторинга проводимой терапии.

9. Cavallini L. et al. Ganglioside GM1 protection from apoptosis of rat heart fibroblasts // *Archives of biochemistry and biophysics* 1999; 370(2):156-162.
10. Chekhun, V. F. et al. Structural alterations of plasma membranes of Guerin's carcinoma cells upon the development of resistance to doxorubicine // *Experimental Oncology* 2002; 24:279-283.
11. Cohen AW et al. Role of caveolae and caveolins in health and disease // *Physiol Rev* 2004; 84(4):1341-79.
12. Daefler S. et al. Cell membrane fluidity in chronic lymphocytic leukemia (CLL) lymphocytes and its relation to membrane receptor expression // *Journal of experimental pathology* 1987; 3(2):147-154.
13. De Laat S. W., Van Der Saag P. T., Shinitzky M. Microviscosity modulation during the cell cycle of neuroblastoma cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1977; 74(10):4458-4461.
14. Deliconstantinos G., Villiotou V., Stavrides J. C. Modulation of particulate nitric oxide synthase activity and peroxynitrite synthesis in cholesterol enriched endothelial cell membranes // *Biochemical pharmacology* 1995; 49(11):1589-1600.
15. Discher D. E., Janmey P., Wang Y. Tissue cells feel and respond to the stiffness of their substrate // *Science* 2005; 310(5751):1139-1143.
16. Dix J. A., Verkman A. S. Mapping of fluorescence anisotropy in living cells by ratio imaging. Application to cytoplasmic viscosity // *Biophysical journal* 1990; 57(2):231-240.
17. Doblaz S. et al. Magnetic resonance elastography measurements of viscosity: a novel

- biomarker for human hepatic tumor malignancy //Proc. Intl. Soc. Mag. Reson. Med 2011; 19:389.
18. Escribá P. V. et al. Membranes: a meeting point for lipids, proteins and therapies //Journal of cellular and molecular medicine 2008;12(3):829-875.
19. Evans E., Yeung A. Apparent viscosity and cortical tension of blood granulocytes determined by micropipet aspiration //Biophysical journal 1989;56(1):151-160.
20. Fuchs P. et al. Fluorescence polarization and viscosities of membrane lipids of 3T3 cells //Proceedings of the National Academy of Sciences 1975;72(9):3351-3354.
21. Galisteo M. et al. Hepatotoxicity of tacrine: occurrence of membrane fluidity alterations without involvement of lipid peroxidation //Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 2000;294(1):160-167.
22. Guyer M. F., Claus P. E. Tumor of the lung in rats following injections of urethane (ethyl carbamate) //Cancer Research 1947;7(6):342-345.
23. Haidekker M. A., L'Heureux N., Frangos J. A. Fluid shear stress increases membrane fluidity in endothelial cells: a study with DCVJ fluorescence //American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology 2000;278(4):H1401-H1406.
24. Halpern H. J. et al. Diminished aqueous microviscosity of tumors in murine models measured with in vivo radiofrequency electron paramagnetic resonance //Cancer research 1999;59(22):5836-5841.
25. Hendrich AB, Michalak K. Lipids as a target for drugs modulating multidrug resistance of cancer cells //Curr Drug Targets 2003;4(1):23-30.
26. Hildebrand J., Marique D., Vanhouche J. Lipid composition of plasma membranes from human leukemic lymphocytes //Journal of lipid research 1975;16(3):195-199.
27. Hinde E., Cardarelli F. Measuring the flow of molecules in cells //Biophysical Reviews 2011;3(3):119-129.
28. Hochmuth R. M. Micropipette aspiration of living cells //Journal of biomechanics 2000;33(1):15-22.
29. Hoejholt K. L. et al. Calcium electroporation and electrochemotherapy for cancer treatment: Importance of cell membrane composition investigated by lipidomics, calorimetry and in vitro efficacy //Scientific reports 2019;9(1):1-12.
30. Hryniewicz-Jankowska A et al. Membrane rafts as a novel target in cancer therapy //Biochim Biophys Acta Rev Cancer 2014;1845(2):155-65.
31. Huang Z. et al. NMR studies of the relationship between the changes of membrane lipids and the cisplatin-resistance of A549/DDP cells //Cancer Cell International 2003;3(1):1-8.
32. Inbar M. Fluidity of membrane lipids: a single cell analysis of mouse normal lymphocytes and malignant lymphoma cells //FEBS letters 1976;67(2):180-185.
33. Iwagaki H. et al. Cell membrane fluidity in K562 cells and its relation to receptor expression //Research communications in molecular pathology and pharmacology 1994;85(2):141-149.
34. Izbicka E., Streeper R. T. Adaptive membrane fluidity modulation: A feedback regulated homeostatic system hiding in plain sight //in vivo 2021;35(6):2991-3000.
35. Ketene A. N. et al. The effects of cancer progression on the viscoelasticity of ovarian cell cytoskeleton structures //Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine 2012;8(1):93-102.
36. Klaver J. H. et al. Blood and plasma viscosity measurements in patients with glaucoma //British journal of ophthalmology 1985;69(10):765-770.
37. Kuimova M. K. et al. Imaging intracellular viscosity of a single cell during photoinduced cell death //Nature chemistry 2009;1(1):69-73.
38. Kumar S., Weaver V. M. Mechanics, malignancy, and metastasis: the force journey of a tumor cell //Cancer and Metastasis Reviews 2009;28(1):113-127.
39. Kuznetsova T. G. et al. Atomic force microscopy probing of cell elasticity //Micron 2007;38(8):824-833.
40. Kwapiszewska K. et al. Nanoscale viscosity of cytoplasm is conserved in human cell lines //The journal of physical chemistry letters 2020;11(16):6914-6920.
41. Lacour S. et al. Cisplatin-induced CD95 redistribution into membrane lipid rafts of HT29 human colon cancer cells //Cancer research 2004;64(10):3593-3598.
42. Lankry D. et al. The interaction between CD300a and phosphatidylserine inhibits tumor cell killing by NK cells //European journal of immunology 2013;43(8):2151-2161.
43. Li Y. C. et al. Elevated levels of cholesterol-rich lipid rafts in cancer cells are correlated with apoptosis sensitivity induced by cholesterol-depleting agents //The American journal of pathology 2006;168(4):1107-1118.
44. Liang L. et al. Noninvasive determination of cell nucleoplasmic viscosity by fluorescence correlation spectroscopy //Journal of biomedical optics 2009;14(2):024013.
45. Lipowsky R., Sackmann E. (ed.). Structure and dynamics of membranes: I. from cells to vesicles/II. generic and specific interactions. – Elsevier, 1995.
46. Nativ O. et al. Elevated protein tyrosine phosphatase activity and increased membrane viscosity are associated with impaired activation of the insulin receptor kinase in old rats //Biochemical Journal 1994;298(2):443-450.
47. NAKAZAWA I., IWAIZUMI M. A role of the cancer cell membrane fluidity in the cancer

- metastases: an ESR study //The Tohoku journal of experimental medicine 1989;157(3):193-198.
48. Niero EL et al. The multiple facets of drug resistance: one history, different approaches//J Exp Clin Cancer Res 2014;33:37.
49. Peetla C, Vijayaraghavalu S, Labhasetwar V. Biophysics of cell membrane lipids in cancer drug resistance: implications for drug transport and drug delivery with nanoparticles//Adv Drug Deliv Rev 2013;65(13-14):1686-98.
50. Peng X. et al. Fluorescence ratiometry and fluorescence lifetime imaging: using a single molecular sensor for dual mode imaging of cellular viscosity //Journal of the American Chemical Society 2011;133(17):6626-6635.
51. Perrotti F. et al. Advances in lipidomics for cancer biomarkers discovery //International journal of molecular sciences 2016;17(12):1992.
52. Petelska AD, Figaszewski ZA. pH effect of the sphingomyelin membrane interfacial tension//J Membr Biol 2009;230(1):11-9.
53. Wardman P. Approaches to modeling chemical reaction pathways in radiobiology //International Journal of Radiation Biology 2022;1-15.
54. Pierre-Luc Latreille, Jean-Michel Rabanel, Marine Le Goas, Sina Salimi, Jochen Arlt, Shunmoogum A. Patten, Charles Ramassamy, Patrice Hildgen, Vincent A. Martinez, Xavier Banquy. In Situ Characterization of the Protein Corona of Nanoparticles In Vitro and In Vivo. Advanced Materials 34 2022;(38):2203354.
55. Plodinec M. et al. The nanomechanical signature of breast cancer //Nature nanotechnology 2012;7(11):757-765.
56. Pukel C. S. et al. GD3, a prominent ganglioside of human melanoma. Detection and characterisation by mouse monoclonal antibody //The Journal of experimental medicine 1982;155(4):1133-1147.
57. Rauch C. Toward a mechanical control of drug delivery. On the relationship between Lipinski's 2nd rule and cytosolic pH changes in doxorubicin resistance levels in cancer cells: a comparison to published data//Eur Biophys J 2009;38(7):829-46.
58. Rebelo L. M. et al. Comparison of the viscoelastic properties of cells from different kidney cancer phenotypes measured with atomic force microscopy //Nanotechnology 2013;24(5):055102.
59. Rebillard A. et al. Cisplatin-induced apoptosis involves a Fas-ROCK-ezrin-dependent actin remodelling in human colon cancer cells //European journal of cancer 2010;46(8):1445-1455.
60. Renner M., Choquet D., Triller A. Control of the postsynaptic membrane viscosity //Journal of Neuroscience 2009;29(9):2926-2937.
61. Rosencranz R., Bogen S. A. Clinical laboratory measurement of serum, plasma, and blood viscosity //Pathology Patterns Reviews 2006;125(1):S78-S86.
62. Sauer F. C. Mitosis in the neural tube: дис. – University of Kansas, 1934.
63. Schaeffer B. E., Curtis A. S. Effects on cell adhesion and membrane fluidity of changes in plasmalemmal lipids in mouse L929 cells //Journal of Cell Science 1977;26(1):47-55.
64. Selkirk J. K., Elwood J. C., Morris H. P. Study on the proposed role of phospholipid in tumor cell membrane //Cancer research 1971; 31(1):27-31.
65. Seydel J. K. Analytical Tools for the Analysis and Quantification of Drug-Membrane Interactions //Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modeling 2002;15:51-139.
66. Sherbet G. V. Membrane fluidity and cancer metastasis //Pathobiology 1989;57(4):198-205.
67. Shimolina L. E. et al. Imaging tumor microscopic viscosity in vivo using molecular rotors //Scientific reports 2017; 7(1):1-11.
68. Shimolina L. E. et al. Mapping cisplatin-induced viscosity alterations in cancer cells using molecular rotor and fluorescence lifetime imaging microscopy //Journal of biomedical optics 2020;25(12):126004.
69. Shimolina L. et al. The Role of Plasma Membrane Viscosity in the Response and Resistance of Cancer Cells to Oxaliplatin //Cancers 2021;13(24):6165.
70. Shinitzky M. Membrane fluidity and cellular functions //Physiology of membrane fluidity 1984;1:1-51.
71. Shirmanova M. V. et al. Live cell imaging of viscosity in 3D tumour cell models //Multi-Parametric Live Cell Microscopy of 3D Tissue Models. – Springer, Cham 2017;143-153.
72. Sok M. et al. Cell membrane fluidity and prognosis of lung cancer //The Annals of thoracic surgery 2002;73(5):1567-1571.
73. Sok M., Sentjurs M., Schara M. Membrane fluidity characteristics of human lung cancer //Cancer letters 1999;139(2):215-220.
74. Sutharsan J. et al. Molecular rotors: synthesis and evaluation as viscosity sensors //Tetrahedron 2010;66(14):2582-2588.
75. Szczepański K., Kwapiszewska K., Hołyst R. Stability of cytoplasmic nanoviscosity during cell cycle of HeLa cells synchronized with Aphidicolin //Scientific reports 2019;9:1-8.
76. Szlasa W. et al. Lipid composition of the cancer cell membrane //Journal of Bioenergetics and Biomembranes 2020;52(5):321-342.
77. Tarabozetti G. et al. Membrane fluidity affects tumor-cell motility, invasion and lung-colonizing potential //International journal of cancer 1989;44(4):707-713.
78. Weiser BP, Salari R, Eckenhoff RG, Brannigan G (2014) Computational investigation of cholesterol binding sites on mitochondrial VDAC. J. Phys. Chem. B 118(33):9852-9860.

79. Wu Y. et al. Molecular rheometry: direct determination of viscosity in L_o and L_d lipid phases via fluorescence lifetime imaging //Physical Chemistry Chemical Physics 2013;15(36):14986-14993.

80. Zalba S., Ten Hagen T. L. M. Cell membrane modulation as adjuvant in cancer therapy //Cancer treatment reviews 2017;52:48-57.

81. Zhang R. X. et al. Coordinating biointeraction and bioreaction of a nanocarrier material and an anticancer drug to overcome membrane rigidity and target mitochondria in multidrug-resistant cancer cells //Advanced Functional Materials 2017;27(39):1700804.