

© Коллектив авторов, 2012  
УДК 615.277.3:616-006-018

*Е. Ю. Парнышкова, Е. Н. Безгина, В. П. Лавровская, Л. Л. Павлик,  
Э. И. Лежнев и Д. А. Мошков*

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ТНР-1 IN VITRO ПОД ДЕЙСТВИЕМ ДОФАМИНА

Лаборатория ультраструктуры нейрона (зав. — проф. Д. А. Мошков), лаборатория цитотехнологии (зав. — проф. Э. И. Лежнев), Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, г. Пущино

Изучали действие дофамина (ДА) на жизнеспособность и строение культивированных опухолевых клеток ТНР-1 (острая моноцитарная лейкемия человека). Выявлено, что ДА в концентрации  $10^{-5}$  М практически не влияет на культуру, а в концентрации  $10^{-4}$ – $10^{-3}$  М останавливает рост и вызывает гибель клеток через 24 и 48 ч. Инкубация с ДА приводит к уменьшению диаметра клеток, их прогрессивной вакуолизации и увеличению флюоресценции после обработки по методу Фалька. На электронно-микроскопическом уровне уже через 1 сут после воздействия ДА, начиная с концентрации  $10^{-4}$  М, наблюдаются сглаживание поверхности клеток с исчезновением микроворсинок и клазматозных пузырей, перфорация актиновыми нитями плазмолеммы, появление все более плотной сети филаментов в цитозоле и нуклеоплазме и, наконец, апоптотная гибель клеток. Предположено, что онкотерапевтической мишенью ДА служит цитозольный Г-актин, при определенном содержании ДА превращающийся в филаменты, которые повреждают клетки, нарушают клеточный цикл и вызывают гибель.

**Ключевые слова:** клетки ТНР-1, жизнеспособность, дофамин, реакция Фалька, ультраструктура

Обнаруженная недавно способность дофамина (ДА) проникать в клетку, полимеризовать глобулярный (Г) актин и встраиваться во вновь формируемые нити как интегральный флюоресцентно-идентифицируемый компонент [2, 4] создает предпосылку использовать ДА как молекулярный инструмент для визуализации Г-актина в индивидуальных клетках [6, 7], а также как возможное онкотерапевтическое вещество [3, 13]. На последнее указывают полученные данные о воздействии ДА на культуру нормальных (ЗТЗ) и трансформированных полиомавирусом (ЗТЗ-SV40) фибробластов, одного происхождения (эмбрион мыши), но с разным содержанием Г-актина [10], а также на фибробласты ВНК-21 почки золотистого хомячка. Показано, что в концентрации  $10^{-4}$  М ДА практически не влияет на нормальные фибробласты (ЗТЗ и ВНК-21), имеющие сформированный, дифференцированный актиновый цитоскелет [1, 7], но снижает жизнеспособность малигнизированных фибробластов, в которых пропорция филаментозного (Ф) актина уменьшена [7], что обусловлено вызванной полимеризацией цитозольного актина [9]. Известно, что слабым звеном истинно опухолевых клеток является их «мягкость», проявляемая как двукратное снижение модуля упругости

[12] из-за патологически высокого содержания в цитозоле Г-актина. Поэтому было предположено, что, учитывая указанное свойство ДА, его можно рассматривать как модельный полимеризующий Г-актин противоопухолевый препарат. Действительно, недавно было показано, что ДА высоко эффективен при взаимодействии с клетками рака гортани человека НЕР-2 благодаря индукции сети актиновых нитей в локусах, богатых Г-актином [6]. Однако при этом обнаружилось, что ДА по-разному влияет на находившиеся в суспензии и на прикрепленные клетки, что затрудняет определение морфологических, включая размер, признаков цитотоксического действия и терапевтической концентрации ДА для культур в целом. Для более точного морфологического анализа действия ДА разной концентрации на рост и развитие культуры клеток и выбора эффективной дозы желательнее исследовать опухолевые клетки, постоянно находящиеся в суспензии. Цель настоящей работы — исследование влияния ДА на развитие клеток ТНР-1 (острая моноцитарная лейкемия человека).

**Материал и методы.** Исследованы клетки моноцитарной лейкемии человека ТНР-1, полученные из Российской коллекции клеточных культур (Институт цитологии РАН,

### Сведения об авторах:

*Парнышкова Екатерина Юрьевна* (e-mail: scroll\_live@rambler.ru), *Безгина Елена Николаевна* (e-mail: bezgina@mail.ru), *Лавровская Валентина Петровна* (e-mail: kaf-zito@mail.ru), *Павлик Любовь Леоновна* (e-mail: pavlik@mail.ru), *Лежнев Энрик Иванович* (e-mail: leznev@mail.ru), *Мошков Дмитрий Алексеевич* (e-mail: d\_moshkov@mail.ru), лаборатория ультраструктуры нейрона, лаборатория цитотехнологии, Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, 142290 Пущино, ул. Институтская, 3

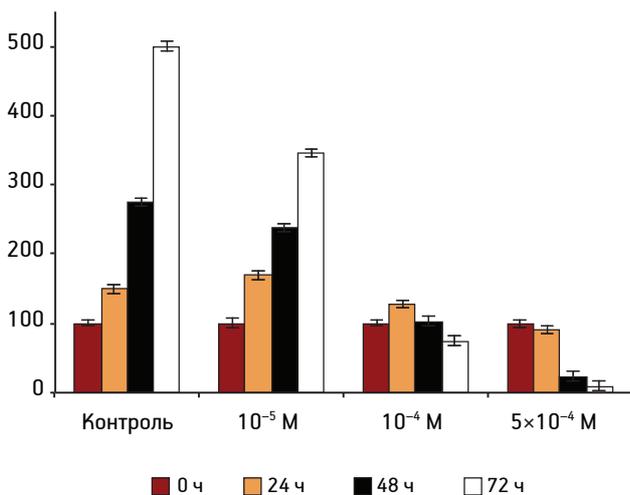


Рис. 1. Зависимость изменения количества клеток моноцитарной лейкемии человека ТНР-1 в культуре от времени инкубации и концентрации дофамина (ДА).

По оси абсцисс — концентрации ДА; по оси ординат — выживаемость клеток (доля клеток от начального количества высеваемых клеток, принятого за 100%), %; вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки

Санкт-Петербург). Клетки культивировали по методике, описанной ранее [6]. ДА вносили в клеточную суспензию одновременно с посевом. Для оценки жизнеспособности клеток и их выживаемости после воздействий ДА разных концентраций и в разные сроки инкубации из чашек Петри отбирали 20 мкл пробы, и в них с помощью камеры Горяева подсчитывали количество живых и мертвых клеток, окрашивая их 0,5% раствором трипанового синего. Оставшиеся в суспензиях клетки подвергали соответствующей обработке для последующего морфологического анализа. Для гистологического исследования клетки осаждали при 900 об/мин, затем фиксировали по электронно-микроскопической методике [6] в тех же сосудах, в которых проводили культивирование, обезвоживали в растворах этилового спирта возрастающей концентрации и ацетоне и заливали в эпоксидную смолу эпон-812. Гистологические срезы толщиной 10 мкм изготавливали на пирамитоме (ЛКВ, Швеция) и изучали под световым микроскопом NU-2E (Carl Zeiss, ГДР). Для ультра-

структурного анализа блоки резали на ультратоме EM UC6 (Leica, ФРГ) и исследовали в электронном микроскопе Tesla BS-500 (Чехословакия).

Для цитохимической визуализации ДА по методу Фалька [11] в клетках культуры ТНР-1 применяли ранее описанную методику изготовления клеточных мазков [6, 7]. В данной работе использовали концентрацию ДА  $1,0 \times 10^{-3}$  М и инкубацию в течение 5 ч. Изохинолины, образовавшиеся в процессе конденсации катехоламинов и паров формальдегида, определяли по флюоресценции при 490–500 нм ( $\lambda_{\text{ex}}=375$  нм) с помощью микроскопа AXIO Imager Z1 (Carl Zeiss, ФРГ).

**Результаты исследования.** Результаты оценки жизнеспособности клеток ТНР-1 под действием ДА в разных концентрациях на протяжении 3 сут представлены на рис. 1. При первоначально равном числе посеянных клеток их количество в контрольной культуре через 24, 48 и 72 ч последовательно увеличивалось в 1,88, 1,67 и 1,44 раза соответственно. Воздействие ДА в концентрации  $10^{-5}$  М мало влияло на характер роста и количество клеток культуры, которое в течение 1–3 сут возрастало в 1,97, 1,25 и 1,47 раза. Число клеток под действием ДА в концентрации  $10^{-4}$  М по дням практически оставалось на одном уровне, немного увеличиваясь через 1 сут, возвращаясь к первоначальному уровню через 2 сут и немного уменьшаясь на 3-и сутки. Характер эффекта ДА в концентрации  $5 \times 10^{-4}$  М на клетки изменялся. На 1-е сутки их число практически оставалось на исходном уровне, а затем резко сокращалось на 2-е сутки в 4,3 раза и на 3-и сутки — в 3,5 раза, приближаясь к нулю (см. рис. 1). Действие ДА в концентрации  $10^{-3}$  М и  $10^{-2}$  М было губительным для клеток уже через 1 сут.

Гистологическое изучение клеток из этих же культур на 3-и сутки культивирования показало, что ДА в концентрации  $10^{-5}$  М практически не влиял на них, их строение было идентично таковому интактных клеток (рис. 2, а, б). Тем не менее, диаметр клеток снижался на 15 % через 1 сут и на

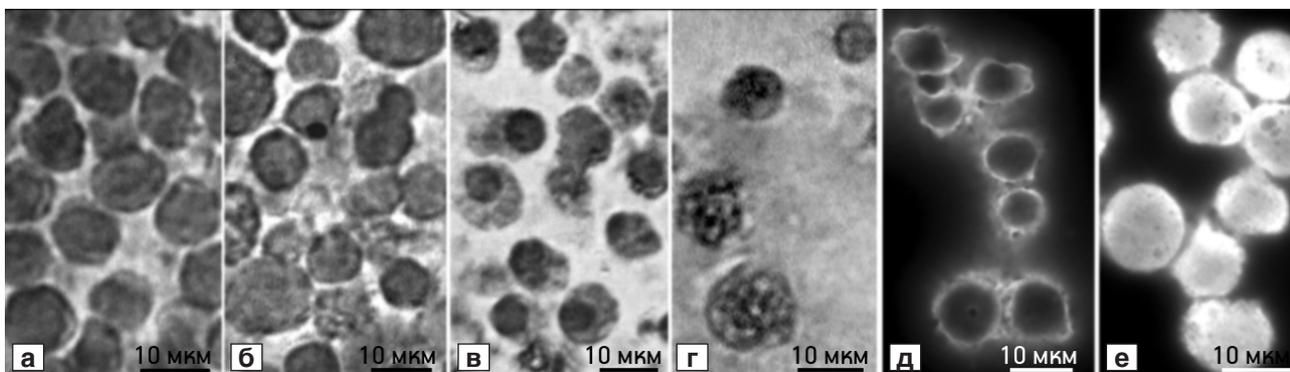


Рис. 2. Клетки острой моноцитарной лейкемии человека после 3 сут действия дофамина (ДА).

а–г — гистологические срезы клеток в контрольных (а) и подопытных культурах, подвергнутых действию ДА в концентрации  $10^{-5}$  М (б),  $10^{-4}$  М (в) и  $10^{-3}$  М (г); д–е — цитохимическое выявление ДА в клетках методом Фалька в контроле (д) и после 5 ч инкубации в среде с ДА в концентрации  $10^{-3}$  М (е)

20% — через 2 и 3 сут (рис. 3). При концентрации ДА  $10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$  и  $10^{-3}$  М эффект становился визуально заметным и выражался в прогрессирующей с ростом концентрации сильной вакуолизации клеток (см. рис. 2, в, г), уменьшении их диаметра на 15% в 1-е сутки, на 21% — во 2-е и на 29% — к 3-м суткам по сравнению с интактными (см. рис. 3). Дальнейшее увеличение концентрации ДА до  $10^{-2}$  –  $10^{-1}$  М приводило к пикнозу, проявляющемуся значительным уменьшением размеров клеток (см. рис. 3). Флюоресцентно-микроскопический анализ опухолевых клеток, обработанных по Фальку до и после действия ДА, показал, что в контроле (см. рис. 2, д) интенсивно светится поверхность клеток (источник свечения не известен), цитозоль же остается едва светлым, а в опыте цитозоль интенсивно диффузно флюоресцирует (см. рис. 2, е).

Результаты электронно-микроскопических исследований (рис. 4) показывали, что ультраструктура контрольных клеток ТНР-1 характерна для опухолевых клеток такого типа. Поверхность их по всему периметру неравномерно покрыта клазматозными выростами и тонкими короткими микроворсинками (см. рис. 4, а, а'). Кортикальный слой практически не выявляется, по-видимому, из-за того, что срез проходит не строго поперек него, и составляющие его фибриллярные структуры попадают в косое сечение и не видны. Зато хорошо видно как цитозоль с содержащимися в ней рибосомами примыкает к внутренней стороне плазмолеммы. Изредка под плазмолеммой встречаются фагоцитозные вакуоли небольшого размера. Остальную часть цитоплазмы занимают немногочисленные митохондрии с конденсированным матриксом, редкие фрагменты одиночных цистерн гранулярной эндоплазматической сети (см. рис. 4, а'') и свободно лежащие рибосомы. Ядра интактных клеток лопастной формы с округлыми контурами имеют хорошо выраженную эухроматиновую структуру и содержат крупные ядрышки. В цитозоле между органеллами встречаются редкие элементы цитоскелета в виде тонких актиновых нитей или небольших фрагментарных пучков (см. рис. 4, а''), в основном же цитоскелет, как таковой, практически полностью отсутствует.

Изучение опухолевых клеток, подвергнутых воздействию ДА в концентрации  $10^{-5}$  М (см. рис. 4, б), показало, что в их ультраструктуре наблюдаются небольшие, но характерные повреждения, связанные, по-видимому, со специфическим эффектом ДА как полимеризующего проникающего в клетку вещества. В первую очередь, это сглаживание поверхности клеток за счет

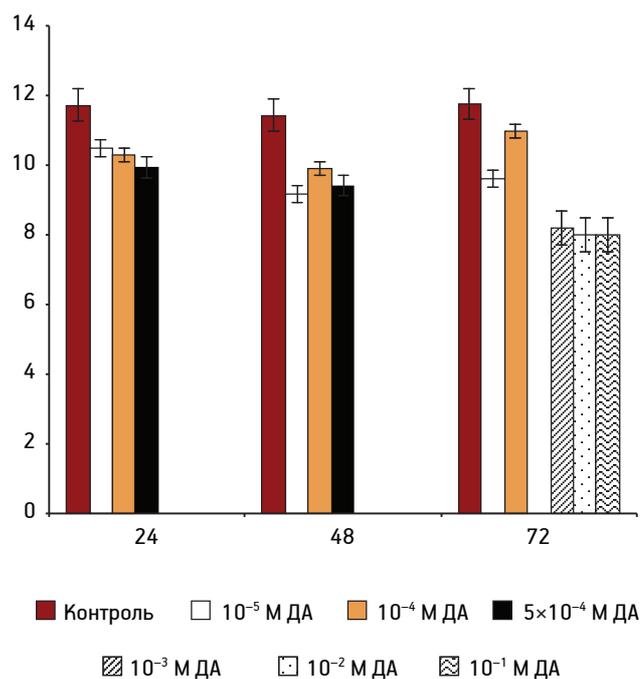


Рис. 3. Зависимость размера клеток моноцитарной лейкемии человека ТНР-1 в культуре от концентрации дофаминна (ДА) и времени его действия.

По оси абсцисс — сроки инкубации культуры при добавлении ДА к среде инкубации (ч); по оси ординат — диаметр клеток (мкм); вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки

почти полного исчезновения клазматозных пузырей (см. рис. 4, б), уменьшение количества рибосом, появление мелких фагоцитозных вакуолей и встречающиеся актиновые мостики, перемикающие два смежных участка плазмолеммы при ее инвагинации (см. рис. 4, б'). Ультраструктура митохондрий не нарушается. Основным отличием таких клеток от контрольных является возникновение во всех локусах, не занятых органеллами, сети, а иногда и небольших пучков актиновых нитей (см. рис. 4, б). Типичной для клеток ТНР-1 и часто наблюдаемой в цитоплазме вблизи ядра структурой является кольчатая пластинка (так называемая annulate lamellae) (см. рис. 4, б''). Ядра и ядерный матрикс сохраняют эухроматический вид. Действие ДА в концентрации  $10^{-4}$  М (см. рис. 4, в) практически не вызывает дополнительных изменений в цитоплазме по сравнению с тем, какие оказывает концентрация  $10^{-5}$  М. Наиболее заметным структурным отличием эффекта ДА в этом случае являются встречающиеся почти в каждом ядре протяженные филаменты (см. рис. 4, в'). Существованием последних можно объяснить угловатость ядерной оболочки, появляющуюся в некоторых клетках. ДА в концентрации  $5 \times 10^{-4}$  М (см. рис. 4, г) оказывает на ультраструктуру клеток ТНР-1 несколько более сильное воздействие,

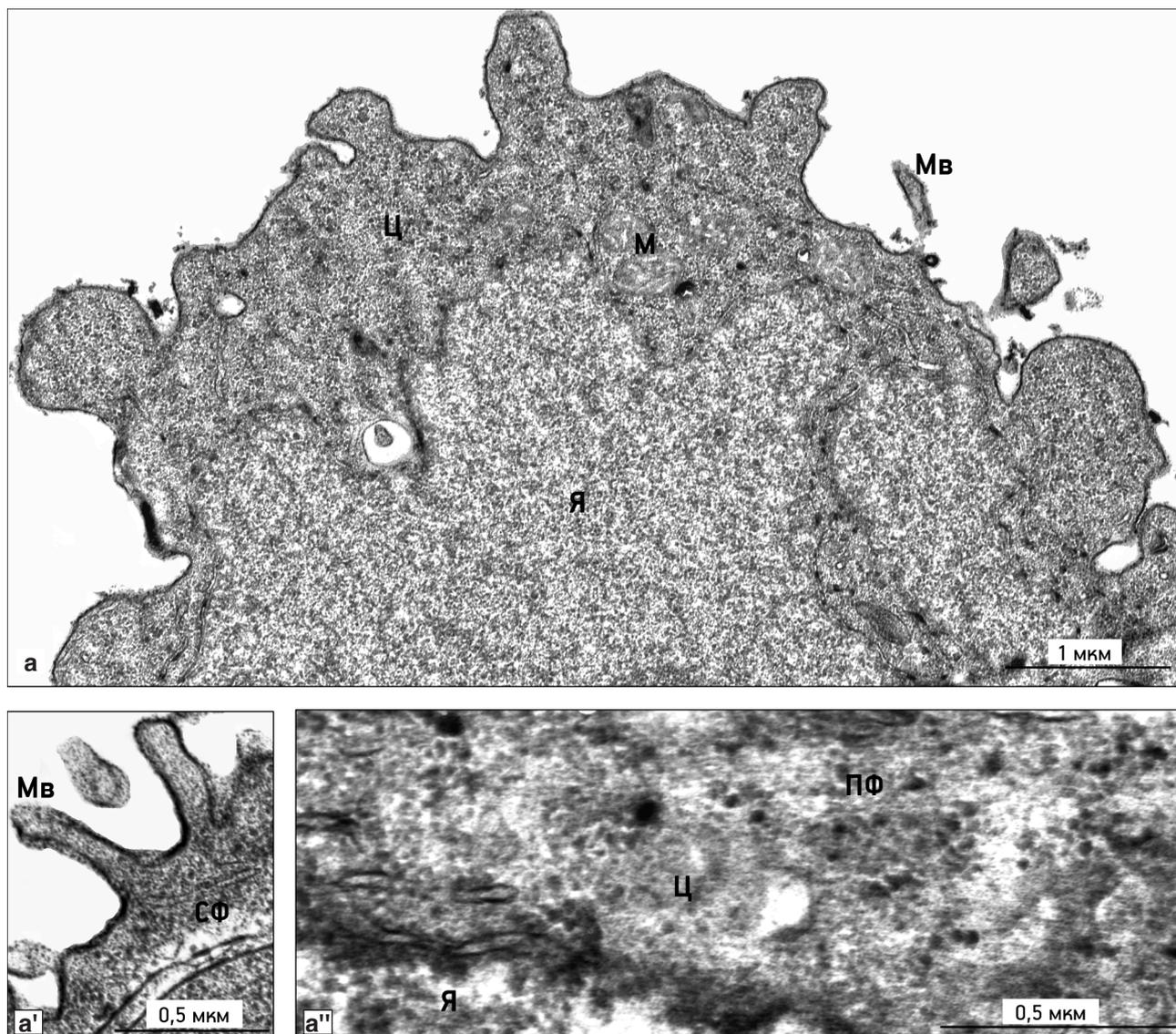
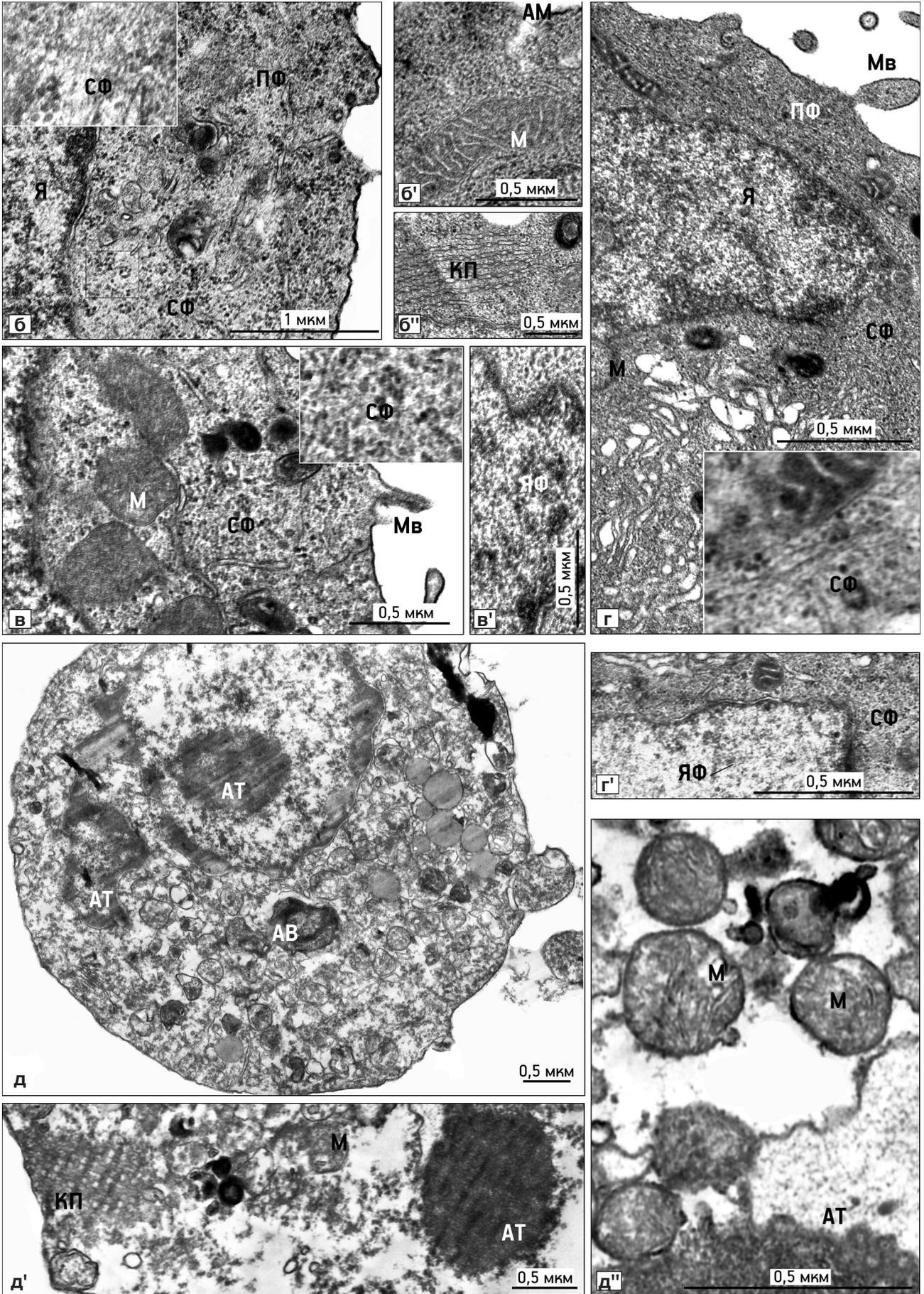


Рис. 4. Ультраструктура лейкемических клеток в контроле (а) и после 1-суточной инкубации с дофамином (ДА) разной концентрации (б–д).

а — часть контрольной клетки; а' — поверхность с микроворсинками; а'' — участок околоядерной зоны; б — часть клетки после воздействия ДА в концентрации  $10^{-5}$  М и увеличенный ( $\times 5$ ) фрагмент сети филаментов; б' — участок поверхности с инвагинацией, перекинутой актиновым мостиком; б'' — кольчатая пластинка в околоядерной зоне; в — часть клетки после воздействия ДА в концентрации  $10^{-4}$  М и увеличенный ( $\times 2$ ) фрагмент сети филаментов; в' — участок ядра с угловатыми инвагинациями и актиновыми филаментами в нуклеоплазме; г — часть клетки после воздействия ДА в концентрации  $5 \times 10^{-4}$  М и увеличенный ( $\times 3$ ) фрагмент сети филаментов; г' — участок ядра с угловатым контуром и пучками актиновых филаментов в нуклеоплазме; д — часть клетки после воздействия ДА в концентрации  $10^{-3}$  М; д' — участок поверхности клетки, где с плазмолеммой контактирует дегенерирующая кольчатая пластинка; д'' — группа митохондрий вблизи апоптозного тельца. Мв — микроворсинки; ПФ — пучки актиновых филаментов; СФ — сеть актиновых филаментов; АМ — актиновый мостик; М — митохондрии; Ц — цитоплазма; Я — ядро; ЯФ — ядерные филаменты; КП — кольчатая пластинка; АТ — апоптозные тела; АВ — автофагическая вакуоль

чем в концентрации  $10^{-4}$  М. Сеть филаментов в цитоплазме становится более густой и осмиофильной, митохондриальный матрикс, в целом остающийся конденсированным, вакуолизируется (см. рис. 4, г). Ядра становятся типично гетерохроматиновыми и приобретают отчетливо выраженную угловатость (см. рис. 4, г'). Наиболее сильные изменения в ультраструктуре клеток наблюдаются при действии на них ДА в концен-

трации  $10^{-3}$  М (см. рис. 4, д). Клетки округляются, поверхность их становится гладкой, однако плазмолемма сохраняет свою целостность, цитоплазма просветляется за счет исчезновения части органелл, большинства рибосом, актинового цитоскелета и появления вакуолей и лизисных лакун (см. рис. 4, д). Ядра распадаются на апоптозные тела, довольно часто ядра в клетках отсутствуют. Кольчатая пластинка мигрирует к поверхности,



примыкает к плазмолемме и приобретает конденсированный (деструктивный) вид (см. рис. 4, д'). При всех отмеченных отчетливо выраженных повреждениях клеток митохондрии сохраняют ультраструктуру, характерную для жизнеспособных органелл. Хотя матрикс их просветляется, они в целом приобретают обычную структуру (см. рис. 4, д''), крист в большинстве митохондрий остается много, что доказывает сохранение ими активности и косвенно указывает на то, что клетки на этот момент остаются живыми.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, установлено, что ДА оказывает на клетки ТНР-1 в условиях *in vitro* негативное действие. Эта культура клеток представляет собой по своей сути истинную опухоль, растущую в трехмерном пространстве, поэтому каждая клетка ориентируется по-разному, в отличие от двумерной модели опухоли, растущей на субстрате и имеющей в связи с этим отчетливо выраженную поляризацию структуры в направлении движения. Разная ориентация органелл клетки в суспензии по сравнению с клеткой, прикрепившейся к субстрату, затрудняет визуализацию компонентов цитоскелета при электронно-микроскопическом исследовании. Тем не менее, и в случае с ТНР-1 видно, что главным структурным признаком действия ДА является появление сети актиновых филаментов в цитозоле, как и в распластанных культивируемых фибробластоподобных и опухолевых клетках [6, 9]. Эксперименты с варьированием концентрации и времени инкубации клеток в среде с ДА, а также гистологические, флуоресцентно-микроскопические и ультраструктурные особенности клеток ТНР-1, подвергнутых действию ДА, подтверждают наши прежние предположения [5, 6], что механизм его цитотоксичности заключается во взаимодействии с цитозольным Г-актином. Существенно, что при этом значительно уменьшается размер клеток. Ранее подобный эффект был обнаружен нами [5] при изучении действия ДА на клетки асцитной карциномы Эрлиха, причем доказательством того, что эффект обусловлен именно полимеризацией актина, служит возврат размера клеток к контрольной величине после обработок их цитохалазином или глутаматом, веществами, деполимеризующими Ф-актин [5]. Эти данные согласуются с заключениями о роли актина в регуляции объема клеток [14]. Одновременно выявлены существенные структурные детали взаимодействия ДА с клетками ТНР-1. Оказалось, что эффективная его концентрация ( $10^{-4}$  М) гораздо ниже, чем та, которая считалась летальной ( $5 \times 10^{-4}$ – $10^{-3}$  М) для культуры клеток НЕР-2, обладающих свойством

распластываться [6]. Ультраструктурные признаки токсичности ДА — нарушение целостности плазмолеммы, формирование плотной сети актиновых филаментов и пучков нитей в цитозоле — все это было отмечено и ранее при наблюдении за поведением распластанных клеток [9]. Новым оказался факт обнаружения пучков нитей в нуклеоплазме, искажающих форму ядра, приобретающего отчетливо выраженные угловатые очертания, типичные в случае полимеризации под действием ДА Г-актина, заключенного внутри липосом [4]. Отмеченные морфологические изменения коррелируют с выявлением апоптозных тел в фазе резкой гибели клеток, что может свидетельствовать о причинно-следственной связи этих явлений, внутриядерной полимеризации актина и апоптозом клеток.

Поэтому, рассматривая в целом эти данные, можно заключить, что ДА оказывает на клетки двоякое действие. С одной стороны, ДА выступает как цитостатик, повреждая плазмолемму и органеллы, в частности, цитоскелет, с другой — как цитотоксический препарат, затрагивая состояние актина в нуклеоплазме, индуцируя формирование в ней актиновых филаментов, непосредственно наблюдаемых на срезах, или по деформации ядерной оболочки, приобретающей угловатую форму в результате полимеризации Г-актина нуклеоплазмы. Подобное искажение контуров липосом с заключенным в них Г-актином после взаимодействия с ДА наблюдается довольно часто [2]. При этом, естественно, нарушается структура ядерного актинового цитоскелета, являющегося ведущим интегрирующим компонентом морфофункциональной организации ядра [8]. По-видимому, это приводит к нарушению клеточного цикла и через неспособность клеток делиться — к апоптозной гибели. На нее указывают появляющиеся во многих клетках на соответствующих стадиях воздействия ДА апоптозные тела, а также факт прекращения роста культуры под действием ДА в концентрации  $10^{-4}$  М и резкой гибели клеток при более высоких дозах на 2-е сутки инкубации, границе клеточного цикла этих клеток. Все это свидетельствует в пользу того, что цитозольный актин опухолевых клеток представляет собой терапевтическую мишень для ДА с четко обозначенным цитоскелетным механизмом действия. Недавно нами было показано, что взаимодействие ДА с клеткой, вызывающее образование в цитозоле стехиометрического актодофаминового комплекса [2], косвенно можно использовать не только для визуализации Г-актина, но и для оценки его количества [7]. Рассматривая под этим углом зрения наши данные о флуоресценции клеток после

воздействия ДА, можно сделать предварительный вывод, что клетки ТНР-1 содержат меньше Г-актина, чем ожидалось, и примерно столько же, сколько в клетках асцитной карциномы Эрлиха [3], тоже трехмерной опухоли суспензионного типа. По-видимому, этим объясняется бóльшая чувствительность их к ДА, чем у распластающихся клеток, имеющих в соответствии с этой особенностью повышенное содержание актина вообще и Г-актина, в частности. Поэтому, наверное, требуются, соответственно, более высокие дозы ДА для полного связывания со свободным Г-актином при взаимодействии, чтобы привести к летальному исходу.

Авторы благодарят д-ра биол. наук И. Р. Прохоренко (ИФПБ РАН) за любезно предоставленные клетки моноцитарной лейкемии человека, а также В. Я. Яшина (ИБК РАН) за содействие в работе.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Мошков Д. А., Абрамова М. Б., Шубина В. С. и др. Влияние дофамина на жизнеспособность клеток ВНК-21. Бюл. экпер. биол., 2010, т. 149, № 3, с. 335–339.
2. Мошков Д. А., Павлик Л. Л., Шубина В. С. и др. Цитоскелетная регуляция клеточной функции дофамином. Биофизика, 2010, т. 55, № 5, с. 850–856.
3. Мошков Д. А., Романченко С. П., Парнышкова Е. Ю. и др. Эффект дофамина на клетки асцитной карциномы Эрлиха. Бюл. экпер. биол., 2012, т. 154, № 11, с. 646–651.
4. Павлик Л. Л., Григорьев П. А., Шубина В. С. и др. Исследование взаимодействия дофамина с искусственными фосфолипидными мембранами. Биофизика, 2008, т. 53, № 1, с. 66–72.
5. Парнышкова Е. Ю., Безгина Е. Н., Казакова Л. И. и др. Дофамин как возможное вещество для онкотерапии и для количественной оценки цитозольного Г-актина. Биофизика, 2012, т. 57, № 5, с. 796–804.
6. Парнышкова Е. Ю., Лавровская В. П., Безгина Е. Н. и др. Морфологические основы влияния дофамина на жизнеспособность опухолевых клеток НЕР-2. Морфология, 2011, т. 140, вып. 6, с. 69–74.
7. Парнышкова Е. Ю., Лавровская В. П., Павлик Л. Л. и др. Цитохимическая визуализация дофамина как способ оценки содержания глобулярного актина в цитозоле живых клеток. Биологические мембраны, 2012, т. 29, № 3, с. 209–214.
8. Парфенов В. Н. и Галактионов К. И. Внутриядерные актиновые микрофиламенты в ооцитах травяной лягушки. Цитология, 1987, т. 29, № 2, с. 142–149.

9. Шубина В. С., Абрамова М. Б., Лавровская В. П. и др. Влияние дофамина на ультраструктуру клеток ВНК-2. Цитология, 2009, т. 51, № 12, с. 996–1004.
10. Bereiter-Hahn J., Munnich A. and Weiteneck P. Dependence of energy metabolism on the density of cells in culture. Cell Struct. Funct., 1998, v. 23, p. 85–93.
11. Falck B. and Owman C. A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular localization of biogenic monoamines. Acta Univ. Lundensds., 1965, v. 11, p. 7–49.
12. Katira P., Zaman M. H. and Bonnecaze R. T. How changes in cell mechanical properties induce cancerous behavior. Phys. Rev. Lett., 2012, v. 108, № 2.
13. Pao J. and Li N. Microfilament actin remodeling as a potential target for cancer drug development. Curr Cancer Drug Targets, 2004, v. 4, № 4, p. 345–354.
14. Pedersen S.F., Hoffmann E.K. and Mills J.W. The cytoskeleton and cell volume regulation. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol., 2001, v. 130, pt. 3, p. 385–399.

Поступила в редакцию 20.05.2012

Получена после доработки 15.07.2012

#### MORPHOLOGICAL CHANGES OF THP-1 TUMOR CELLS EXPOSED TO DOPAMINE IN VITRO

*Ye. Yu. Parnyshkova, Ye. N. Bezgina, V. P. Lavrovskaya, L. L. Pavlik, E. I. Lezhnev, and D. A. Moshkov*

The effect of dopamine (DA) on the viability and morphology of cultured tumor THP-1 cells (human acute monocytic leukemia) was studied. DA in concentration of  $10^{-5}$  M had virtually no effect on the culture, while in concentration of  $10^{-4}$  M to  $10^{-3}$  M it stopped the growth and caused a sharp increase in cell death after 24 and 48 hours. Incubation with DA reduced the cell diameter, progressively increased their vacuolization and intensity of fluorescence after treatment by Falck method. Electron microscopical study has shown that cells exposed for 1 day to DA in the concentrations starting with  $10^{-4}$  M, demonstrated smoothing of their surface with the disappearance of microvilli and clasmatosis vesicles, actin filaments perforating the plasma membrane, the emergence of an increasingly dense network of filaments in the cytosole and karyoplasm and, finally, apoptotic cell death. It is suggested that the oncotherapeutic cellular target for DA is a cytosolic G-actin, which at a certain DA concentration, turns into filaments that damage the cells, break the cell cycle and cause cell death.

**Key words:** THP-1 cells, viability, dopamine effect, Falck reaction, ultrastructure

Laboratory of Neuron Ultrastructure and Laboratory of Cytotechnology, RAS Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Pushchino