Оригинальные исследования

© ЗАМАЙ А. С., КОЛОВСКАЯ О. С., КОНДРАСЕНКО А. А., ФАЛАЛЕЕВ О. В., САМОЙЛОВА А. А.,
ТИТОВА Н. М., ПАЦ Ю. С., ТОЛМАЧЕВА Т. В., ЗАМАЙ Т. Н.

УДК 577.29

ИЗМЕНЕНИЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО СТАТУСА ОПУХОЛИ В ПРОЦЕССЕ ЕЕ РАЗВИТИЯ

А. С. Замай^{1,2}, О. С. Коловская^{1,2}, А. А. Кондрасенко¹, О. В. Фалалеев¹,
А. А. Самойлова³, Н. М. Титова³, Ю. С. Пац², Т. В. Толмачева², Т. Н. Замай^{2,3}

¹Красноярский научный центр СО РАН, председатель президиума – академик В. Ф. Шабанов;

²ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени
проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, ректор – д. м. н., проф. И. П. Артюхов;

³ГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет, ректор – акад. РАН Е. А. Ваганов.

Цель исследования. Оценка роли энергетического статуса опухолевых клеток в процессе ее развития.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали клетки асцитной карциномы Эрлиха. Функциональное состояние опухоли оценивали по митотическому индексу и количеству в ней апоптотических и некротических клеток. Энергетическое состояние опухоли определяли по соотношению Pi/β -NTP.

Результаты. Выявлено, что на протяжении роста опухоли наблюдалось фазное изменение количества в ней опухолевых клеток – быстрый рост опухоли сменялся резким снижением количества опухолевых клеток и затем столь же резким увеличением их числа с постепенным наступлением терминальной фазы. Скорость потребления кислорода асцитными клетками в разные фазы роста карциномы Эрлиха практически не изменялась. Энергетическое состояние клеток постепенно ухудшалось, а затем восстанавливалось.

Заключение. Энергетическое состояние асцитных клеток не является фактором, определяющим скорость роста асцитной карциномы Эрлиха в условиях *in vivo*. Основная роль в регуляции роста опухоли принадлежит нарушению баланса между антагонистическими сигнальными путями, осуществляющими баланс между процессами клеточной гибели и клеточного деления, в норме обеспечивающего строгое поддержание необходимого количества клеток в ткани.

Ключевые слова: асцитные клетки, апоптоз, некроз, митотический индекс, ^{31}P -ЯМР-спектроскопия, эндогенное дыхание.

CHANGING OF THE TUMOR ENERGY STATUS IN THE PROCESS OF ITS DEVELOPMENT

A. S. Zamay^{1,2}, O. S. Kolovskaya^{1,2}, A. A. Kondrasenko¹, O. V. Falaleev¹, A. A. Samoilova³,
N. M. Titova³, Yu. S. Patc², T. V. Tolmacheva², T. N. Zamay^{2,3}

¹Krasnoyarsk Research Center Siberian Branch, Russian Academy of Sciences;

²Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky; ³Siberian Federal University

The aim of the research. To evaluate the role of the energy status of the tumor cells in the process of its development.

Materials and methods. As the object of study were used the cells of Ehrlich ascites carcinoma. Functional state of the tumor was evaluated by the mitotic index and number of apoptotic and necrotic cells in it. Energy state of the tumor was determined by the Pi/β -NTP ratio.

Results. *It was revealed that during tumor growth it was observed the phase changing the number of tumor cells in it – the rapid growth of the tumor was replaced by a sharp decline in the number of tumor cells, and then equally increasing its number, with a gradual beginning of the terminal phase. The rate of oxygen consumption by the ascites cells in different phases of Ehrlich carcinoma growth remained practically unchanged. The energy state of the cells is gradually deteriorating, and then restored.*

Conclusion. *Energystateofascitescells is not a factor determining the rate of growth of the Ehrlich ascites carcinoma in conditions in vivo. The main role in the regulation of tumor growth belongs to imbalance between antagonistic signaling pathways engaged balance between cell death and cell division processes, normally providing the strict maintenance of the required number of cells in the tissue.*

Key words: *ascites cells, apoptosis, necrosis, mitotic index, $^{31}\text{R-NMR}$ -spectroscopy, endogenous respiration.*

Введение

Многоклеточные организмы обладают различными способами регуляции пролиферативной активности клеток. И хотя опухолевым клеткам присущ автономный способ регуляции пролиферации, не вызывает сомнений, что организм способен оказывать непосредственное влияние на их рост и размножение. Регуляция роста клеточной массы осуществляется на разных уровнях организации (молекулярном, клеточном, популяционном, тканевом, органном, организменном) с помощью различных механизмов, однако, в первую очередь, это – доступность питательных субстратов и кислорода [12,13], а также наличие эндогенных и экзогенных регуляторов. Регуляторные механизмы могут быть построены по типу ауто- и паракриной регуляции, отрицательной и положительной обратной связи, строгого контроля за величиной определенных констант и др. Несмотря на то, что регуляция присуща всем уровням организации многоклеточных, в конечном итоге все регуляторные влияния реализуются на клеточном уровне и воздействуют на внутриклеточные регуляторные системы. В первую очередь, эта регуляция касается активности ферментов, которая может изменяться в процессе фосфорилирования протеинкиназами или дефосфорилировании фосфатазами, при ацетилировании и метилировании, вызванными внешними стимулами. Зачастую изменения активности ферментов вызывают либо индукцию генов, либо их репрессию. Воздействие организма на рост клеточной популяции может проявляться на уровне иммунной системы, осуществляющей «иммунологический надзор».

Кроме того, опухоль обладает способностью регулировать свою численность с помощью эндогенных белков-ингибиторов пролиферации [14].

При исследовании динамики роста асцитной карциномы Эрлиха мы обнаружили в ней временное снижение количества асцитных клеток, которое наблюдалось на 12-е сутки после трансплантации опухоли [3], сменявшееся на следующие сутки резким увеличением их числа. По-видимому, снижение количества асцитных клеток отражало какие-то особенности взаимодействия организма-опухоленосителя с самой опухолью. Однако оставалось неясным, какие конкретные причины могли привести к снижению количества асцитных клеток – их гибель или (и) снижение их пролиферативной активности, а также, какие факторы оказались способными к подавлению роста опухоли, а затем к стимуляции ее роста.

Основным фактором, ограничивающим рост клеточной популяции, является дефицит питательных субстратов в окружающей среде. Этот фактор работает на всех уровнях организации биологических систем вплоть до биоценозов. Так, известно, что даже небольшие сдвиги содержания АТФ в клетке, вызванные недостатком кислорода и субстратов окисления, изменяют клеточный метаболизм, а истощение в среде питательных субстратов снижает энергетический статус клеток, подавляет их пролиферацию и, таким образом, замедляет рост клеточной популяции, а дефицит определенных аминокислот вызывает остановку клеточного цикла и синхронизацию клеток в фазе G_1 .

Цель работы – исследование роли энергетического статуса опухолевых клеток в регуляции опухолевого роста.

Материалы и методы

Работа выполнена на асцитных клетках карциномы Эрлиха, изолированных на 5-16-е сутки после их внутрибрюшинной трансплантации белым мышам ICR. На каждые сутки исследования было использовано по 10 животных.

Для приготовления экстрактов опухолевых клеток использовали модифицированную методику, описанную Л.Н. Бубновской с соавт. [1]. 1 мл упакованных асцитных клеток немедленно замораживали в жидком азоте. К замороженным клеткам добавляли такое же количество 1,2 N раствора хлорной кислоты. Замороженный образец растирали, медленно размораживая (все последующие процедуры проводили в ледяной бане). После размораживания экстракта к нему добавляли 0,1 мл деионизированной дистиллированной воды и центрифугировали в течение 5 мин при 5000 об/мин (4°C) для осаждения остатков клеток. Экстракт титровали 5N KOH до pH 7,0-7,5, после чего вновь центрифугировали для удаления $KClO_4$ в тех же условиях. Двухвалентные катионы удаляли добавлением Chelex (10 мг/мл) (Sigma, USA).

Исследования экстрактов проводили методом ^{31}P -ЯМР-спектроскопии на спектрометре Bruker Avance (Германия) с частотой протонного резонанса 200 МГц в ампулах диаметром 5 мм. Спектры ЯМР ^{31}P наблюдались на частоте 81,96 МГц с применением $\pi/4$ -импульса с 10 секундной релаксационной задержкой между прохождением. Записанные спектры были получены путем накопления не менее 3000 сигналов, после чего с целью уменьшения шума перед преобразованием Фурье, спектры умножались на экспоненциальную функцию с добавочным уширением 2 Гц. Все спектры ЯМР ^{31}P записывали при постоянной температуре 4°C. В качестве внешнего стандарта использовался раствор ортофосфата калия в тяжелой воде, химический сдвиг неорганического фосфат-иона принимался за 0,00 м.д. При отнесении пиков в спектрах ЯМР раствор фосфата калия вносился в образец после записи спектров, использованных в расчетах. Интегральные показатели спектров

находились с применением стандартных процедур, программного обеспечения спектрометра Bruker.

Скорость потребления кислорода асцитными клетками определяли на кислородомере типа № 5221, используя электрод № 5972 с тефлоновой мембраной. Среда инкубации содержала (мМ): NaCl – 140; KCl – 6,2; $MgCl_2$ – 1,5; Na_2HPO_4 – 12; pH 7,5. Определение проводили при температуре 37°C в изолированной ячейке объемом 1 мл. Для определения скорости потребления кислорода использовали упакованные асцитные клетки, которые готовились путем центрифугирования в течение 5 мин при 5000 об/мин. В ячейку добавлялось 50 мкл упакованных асцитных клеток.

Содержание глюкозы в асцитной жидкости определяли глюкозооксидазным методом с помощью наборов «Новоглюк-К,М» (Вектор-Бест, Россия).

Митотическую активность определяли подсчетом количества делящихся клеток на 100 асцитных клеток [4]. Мазки асцитных клеток фиксировались 10 мин в 96%-ном этиловом спирте и окрашивались по методу Романовского-Гимза (рис. 1).

Некротические и апоптотические клетки идентифицировали с помощью флуоресцентных зондов Propidium iodid и Heurst на флуоресцентном микроскопе [10].

Статистическую обработку результатов проводили в программах Origin 5.0 и Statistica 7.0. Проверку гипотезы о статистической достоверности различий выборок проводили с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни. Описательные статистики были представлены абсолютными значениями, среднеарифметической величиной и ее стандартной ошибкой.

Результаты и обсуждение

О скорости роста асцитной карциномы судили по величине митотического индекса, поскольку, как известно, он хорошо коррелирует с показателями, характеризующими пролиферативную клеточную активность. Результаты исследований показали (рис. 2), что на пятые сутки после трансплантации опухоли митотический индекс составлял 22%, затем постепенно снижался и на 11-е сутки становился равным 6,7%. 12-е сутки характеризовались величиной индекса, равной 21,5%, такой уровень пролиферативной активности сохранялся и на 13-е сутки,

Рис. 1. Асцитные клетки на разных стадиях деления. Клетка в состоянии митоза показана стрелкой, для сравнения на фотографии присутствуют неделящиеся клетки.

Рис. 2. Изменение величины митотического индекса в ходе роста асцитной карциномы Эрлиха.
Примечание: статистически значимые отличия от предыдущей точки: * $P < 0,05$; *** — $P < 0,001$.

а на 14-е снизился до 6,1%. К 16-м суткам, в терминальную фазу роста, асцитные клетки практически полностью прекращали деление. Было очевидно, что подавление митотической активности асцитных клеток на 11-е сутки стало одной из причин снижения количества клеток в опухоли на 12-е сутки, а стимуляция их деления на 12-е сутки — причиной увеличения их числа на 13-е сутки.

Одним снижением митотической активности невозможно в полной мере объяснить спад количества асцитных клеток в опухоли. Поэтому на протяжении всего роста опухоли мы определяли качественный состав клеточной популяции, то есть оценивали в ней долю живых клеток и клеток, находящихся в состоянии апоптоза (рис. 3). Исследования показали, что в первую фазу развития опухоли количество клеток в состоянии апоптоза было стабильным и составляло 3,4%, а затем резко в течение суток возрастало до 29%. Следует отметить, что увеличение числа апоптотических клеток совпадало с уменьшением митотического индекса.

Очевидно, что эти два фактора — снижение митотической активности и увеличение числа клеток в состоянии апоптоза в совокупности и привели к резкому спаду общего количества клеток. Улучшение энергообеспечения оставшихся в живых клеток вследствие уменьшения их количества, видимо, стимулировало новый подъем митотической активности и затормозило запуск апоптоза в дальнейшем. Однако на терминальной стадии развития опухоли количество клеток в состоянии апоптоза вновь резко возросло и составило 77,6% от общего количества клеток.

Поскольку одним из наиболее важных факторов регуляции пролиферативной активности является

Рис. 3. Изменение числа живых и апоптотических клеток в ходе роста асцитной карциномы Эрлиха.
Примечание: статистически значимые отличия от предыдущей точки: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$.

ограничение питательных ресурсов, необходимых для субстратного и окислительного фосфорилирования, мы предположили, что причиной снижения митотической активности и гибели клеток мог стать дефицит питательных веществ и кислорода вследствие интенсивного роста опухоли в начальную фазу ее развития из-за увеличения в ней плотности асцитных клеток. Недостаток питательных веществ и гипоксия, как известно, могут подавлять синтез ДНК и вызывать апоптоз и некроз опухолевых клеток [8], хотя некоторые протоонкогены (Bcl-2 и Bcl-Xl) обладают защитным эффектом и позволяют опухолевым клеткам пережить это состояние. Поэтому для того, чтобы определить причину подавления митотической активности асцитных клеток и увеличения числа апоптотических клеток в опухоли, было важно, в первую очередь, оценить энергетический статус опухоли в динамике ее развития.

На уровне организма исследовать степень обеспеченности опухолевых клеток питательными веществами, в первую очередь, глюкозой, используемой клеткой в процессах субстратного и окислительного фосфорилирования, сложно, поскольку опухолевая клетка считается «ловушкой для глюкозы» и весь доступный субстрат она быстро поглощает, поэтому обнаружить глюкозу в асцитной жидкости практически невозможно. По данным Э. Г. Горожанской с соавт.,

концентрация глюкозы на 2-й день после перевивки опухоли в асцитной жидкости карциномы Эрлиха составляет 0,08 мг/л, но на 5-6-й день уже не определяется [2]. Однако в условиях насыщения асцитных клеток кислородом их метаболизм с анаэробного переключается на окислительный, в результате чего эффективность использования глюкозы возрастает и ее потребление асцитными клетками снижается. Поэтому при насыщении кислородом концентрация глюкозы в асцитной жидкости увеличивается. Таким образом, по содержанию глюкозы в асците можно определить степень гипоксии асцитных клеток. В наших исследованиях глюкозу в асцитной жидкости на протяжении всего роста опухоли выявить не удалось. Было очевидно, что глюкоза из асцитной жидкости клетками быстро поглощалась. На основании этого было сделано заключение о том, что карцинома Эрлиха в условиях интенсивного роста, который наблюдался в наших экспериментах, испытывала гипоксию, и, по-видимому, ее энергетический статус в процессе роста ухудшался.

Для подтверждения вывода о гипоксическом состоянии карциномы Эрлиха во время ее роста исследовали метаболическую активность асцитных клеток по скорости потребления кислорода. Обнаружено, что потребление кислорода асцитными клетками было на протяжении всего роста опухоли

Рис. 4. Потребление кислорода клетками асцитной карциномы Эрлиха в динамике роста асцитной карциномы Эрлиха.

достаточно высоким (рис. 4). Высокая скорость потребления кислорода наблюдалась даже в терминальную фазу роста опухоли, когда содержание апоптотических клеток в опухоли было подавляющим. Однако

величина скорости потребления кислорода в условиях *in vitro* отражает, скорее всего, потенциальную способность асцитных клеток, поскольку проводится в условиях полного насыщения кислородом, тогда как обеспеченность опухолевых клеток в опухоли кислородом обычно составляет лишь 25% от обеспеченности кислородом нормальных клеток в ткани. К тому же опухоль около 20-30% потребности в АТФ покрывает за счет процессов субстратного фосфорилирования в гликолизе, а в асцитных опухолях эта величина возрастает даже до 50%, в то же время степень сопряжения процессов окисления и фосфорилирования может колебаться в зависимости от различных факторов. Так, например, апоптоз сопровождается разобщением процессов окисления и фосфорилирования.

По данным некоторых авторов, ЯМР-спектроскопия считается удобным способом оценки энергетического статуса опухолевых клеток [1,6] и позволяет судить о реальном энергообеспечении клеток.

³¹P-ЯМР спектры экстрактов асцитных клеток, полученных нами, представлены на рис. 5. На спектрах видны пики РМЕ (этот пик включает в себя АМР

Рис. 5. Типичный ³¹P-ЯМР-спектр экстракта асцитных клеток на 5-е сутки после трансплантации опухоли.

Рис. 6. Изменение $P_i/\beta\text{-NTP}$ в асцитных клетках в динамике роста АКЭ.

Примечание: статистически значимые отличия от предыдущей точки: ** — $P < 0,01$; *** — $P < 0,001$.

и фосфорные эфиры сахаров — глюкозо-6 фосфат, фруктозо-6-фосфат и фруктозо-1,6-дифосфат), P_i , PDG и $\beta\text{-NTP}$. На некоторых спектрах присутствуют пики NAD(P)H. Оценка энергетического состояния клетки осуществляли по соотношению $P_i/\beta\text{-NTP}$ (рис. 6). Именно этот показатель используется обычно для оценки энергетического статуса клетки [1,6].

Результаты исследований показали, что величина $P_i/\beta\text{-NTP}$ на 7-е сутки, в период интенсивного роста опухоли, составляла $0,62 \pm 0,09$. Уже на 9-е сутки значение соотношения $P_i/\beta\text{-NTP}$ возросло до $2,51 \pm 0,20$, а на 10-е — уменьшилось ($1,27 \pm 0,18$). Однако через сутки начало возрастать и так продолжалось до 12-х суток, пока не приняло значение $3,75 \pm 0,56$, но к 13-м суткам вновь снизилось и составило $1,23 \pm 0,16$. Следовательно, начиная с 7-х и до 12-х суток, энергетическое состояние асцитных клеток заметно ухудшалось, что соответствовало нашим первоначальным предположениям. 12-е сутки характеризовались наиболее плохим энергоснабжением асцитных клеток, поскольку соотношение неорганического фосфата и нуклеотидтрифосфатов в это время было максимальным — $3,75 \pm 0,56$. Удивительно, что, именно в этот период мы наблюдали максимальное ускорение роста опухоли.

Таким образом, предположение о том, что ухудшение энергетического статуса асцитных клеток могло стать фактором, подавляющим скорость роста опухоли, не подтвердилось. По-видимому, подавление роста опухоли отражало какой-то феномен взаимодействия организма-опухоленосителя с опухолью. Это воздействие со стороны организма стимулировало апоптоз асцитных клеток, затормозило их клеточный цикл на определенной стадии и таким образом синхронизировало рост опухолевых клеток. После окончания действия этого фактора клетки вступили в цикл клеточного деления одновременно, вследствие чего мы наблюдали резкий подъем величины митотического индекса асцитных клеток. В пользу наличия синхронизирующего фактора свидетельствует резкое повышение содержания катионов кальция в асцитных клетках на 12-е сутки, в момент стимуляции роста опухоли [3]. Как известно, для клеток, находящихся на разных стадиях клеточного цикла, характерна различная концентрация катионов кальция, поэтому в первую фазу развития опухоли, когда клеточный цикл не был синхронизирован и асцитные клетки находились на разных его этапах, содержание катионов кальция в клеточной популяции в целом усреднялось, и только синхронизация клеточного цикла могла способствовать увеличению содержания катионов кальция в клеточной популяции в целом. Причем резкое увеличение содержания катионов кальция в асцитных клетках сопровождалось ростом митотического индекса и предвещало рост количества асцитных клеток в опухоли, а, как известно, для перехода клеточного цикла в S-фазу необходимо увеличение содержания катионов кальция в цитозоле [15].

Проведенное нами исследование показало, что в условиях *in vivo* временное подавление роста асцитной карциномы Эрлиха не было обусловлено ухудшением энергетического состояния асцитных клеток. Вероятно, факторы, заблокировавшие рост опухоли, нужно искать на популяционном уровне или на уровне взаимодействия опухоли и организма-опухоленосителя. На уровне организма подавление роста могло осуществиться иммунными факторами. Косвенным доказательством этому служит резкое

увеличение количества апоптотических клеток на 11-е сутки. Запуск апоптоза в асцитных клетках мог реализоваться с помощью Fas-опосредованного механизма. Все изученные опухолевые клетки, как известно, экспрессируют Fas-рецепторы и, таким образом, становятся уязвимыми для лимфоцитов, секретирующих FasL. Но, возможно, апоптоз асцитных клеток могли запустить и сами асцитные клетки, что на первый взгляд кажется маловероятным. Однако если принять во внимание, что опухолевые клетки могут экспрессировать не только Fas-рецепторы, но и FasL, то тогда такую вероятность исключать нельзя. С другой стороны, Fas-рецепторы могут запускать как апоптоз, так и пролиферацию, и, возможно, выбор ответа (апоптоз или пролиферация) асцитных клеток на воздействие Fas-L будет определяться условиями, в которых в данный момент находится опухоль. Тогда становится вполне вероятным, что и лимфоциты могут участвовать в стимуляции пролиферации опухолевых клеток при определенных условиях. Возможно, именно этим фактом объясняются данные о невозможности индукции у бестимусных животных опухолей химическими канцерогенами и вирусами, тогда как пересадка тимуса восстанавливает их канцерогенный эффект. Эти данные прямо свидетельствуют о наличии индуцирующих влияний Т-лимфоцитов на рост опухолей [11].

На уровне клеточной популяции торможение роста может осуществляться с помощью системы кейлонов [7]. Кейлоны — это пептидные соединения молекулярной массой до 20 kDa, которые действуют как белковые гормоны — подходят к рецепторам на клеточной мембране, а дальнейший сигнал передается через G белок. Они обладают ингибирующим действием на делящиеся клетки и стимулируют дифференцировку. Доказательства подавления роста опухоли эндогенными ингибиторами были получены в опытах по введению асцитной жидкости из развитой опухоли мышам, которые находились в экспоненциальной стадии роста карциномы. При этом остановка роста клеток происходила в фазе G_1 или G_2 и была недолговременной. После окончания действия ингибитора начиналось быстрая компенсаторная пролиферация [5]. Такое поведение опухоли было

характерным и в наших экспериментах — резкое уменьшение количества клеток в опухоли в течение суток стимулировало пролиферативные процессы в асцитных клетках.

Заключение

Таким образом, сопоставление функционального состояния опухолевых клеток и их энергетического статуса поставили под сомнение главенствующую роль энергообмена в регуляции роста опухоли. Очевидно, что основная роль в регуляции роста опухоли принадлежит нарушению баланса между антагонистическими сигнальными путями [9], осуществляющими баланс между процессами клеточной гибели и клеточного деления, в норме обеспечивающего строгое поддержание необходимого количества клеток в ткани.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00805).

Литература

1. Бубновская Л.Н., Михайленко В.М., Кондричин И.С., Осинский С.П., Ковельская А.В., Сиган А.А., Левитин И.Я. Регистрация ответа опухолевых клеток на воздействие комплексами Co(III) и Fe(III) методом ^{31}P -ЯМР-спектроскопии // Экспериментальная онкология. — 2002. — № 24. — С. 128-134.
2. Горожанская Э.Г., Гуревич Б.С., Шапот В.С. О содержании некоторых компонентов углеводного обмена в асцитической и плевральной жидкостях у онкологических больных // Вопросы онкологии. — 1964. — № 10. — С. 27.
3. Замай Т.Н., Замай А.С. Влияние АТР на концентрацию катионов кальция в асцитных клетках карциномы Эрлиха в динамике ее роста // Биохимия. — 2006. — Т. 71, № 10. — С. 1347-1353.
4. Рогозин Е.А., Уразова Л.Н., Серебров В.Ю. Изменение цитологических показателей опухоли Эрлиха, индуцированные комплексной терапией винкристином и вакцинным штаммом вируса Венесуэльского энцефаломиелимита // Бюллетень СО РАМН. — 2003. — № 2(108). — С. 121-124.
5. Bichel P. Self-limitation of ascites tumor growth: A possible chalone regulation // Nat. Cancer Inst. Monogr. — 1973. — Vol. 38. — P. 197-203.

6. Eskey C.J., Koretsky A.P., Domach M.M., Jain R.K. Role of oxygen vs. glucose in energy metabolism in a mammary carcinoma perfused ex vivo: direct measurement by ³¹P NMR // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1993. — Vol. 90, № 7. — P. 2646-2650.

7. Gamer L.W., Nove J., Rosen V. Return of the chalones // *Dev. Cell*. — 2003. — Vol. 4, № 2. — P. 143-144.

8. Goda N., Ryan H.E., Khadivi B., McNulty W., Rickert R.C., Johnson R.S. Hypoxia-inducible factor 1 alpha is essential for cell cycle arrest during hypoxia // *Molecular and Cellular Biology*. — 2003. — Vol. 23. — P. 359-369.

9. Hill E.M., Petersen C.P. Wnt/Notum spatial feedback inhibition controls neoblast differentiation to regulate reversible growth of the planarian brain // *Development*. — 2015. — Vol. 142, № 24. — P. 4217-4229.

10. Izumov D.S., Avetisyan A.V., Pletjushkina O.Yu. «Wages of Fear»: transient threefold decrease in intracellular ATP level imposes apoptosis // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2004. — Vol. 1658. — P. 141-147.

11. Koutab N., Lutila J.W. The role of the thymus in the leukemic process // *Mont. Acad. Sci.* — 1973. — Vol. 33. — P. 56-66.

12. Lu C.L., Qin L., Liu H.C., Candas D., Fan M., Li J.J. Tumor cells switch to mitochondrial oxidative phosphorylation under radiation via mTOR-mediated hexokinase II inhibition--a Warburg-reversing effect // *PLoS One*. — 2015. — Vol. 10, № 3. — e0121046.

13. Oronsky B.T., Oronsky N., Fanger G.R., Parker C.W., Caroen S.Z., Lybeck M., Scicinski J.J. Follow the ATP: tumor energy production: a perspective // *Anticancer Agents Med Chem*. — 2014. — Vol. 14, № 9. — P. 1187-1198.

14. Roeyen C.R.C., Zok S., Pruessmeyer J., Boor P., Nagayama Y., Fleckenstein S., Cohen C.D., Eitner F., Gröne H-J., Ostendorf T., Ludwig A., Floege J. Growth arrest-specific protein 1 is a novel endogenous inhibitor of glomerular cell activation and proliferation // *Kidney Int*. — 2013. — Vol. 83, № 2. — P. 251-263.

15. Wahl M., Gruenstein P. Intracellular Free Ca²⁺ in the Cell Cycle in Human Fibroblasts: Transitions Between G1 and G0 and Progression into S Phase // *Molecular Biology of the Cell*. — 1993. — Vol. 4. — P. 293-302.

References

1. Bubnovskaya L.N., Mikhailenko V.M., Kondrichin I.S., Osinskiy S.P., Kovel'skaya A.V., Sigan A.L., Levitin I.Ya. Registration the response of tumor cells to the effects of the complexes Co (III) and Fe (III) by ³¹P-NMR spectroscopy // *Experimental Oncology*. — 2002. — № 24. — P. 128-134.

2. Gorozhanskaya E.G., Gurevich B.S., Shapot V.S. About content of some components of carbohydrate metabolism in ascites and pleural fluids of cancer patients // *Questions of Oncology*. — 1964. — № 10. — P. 27.

3. Zamay T.N., Zamay A.S. Effect of ATP to the concentration of calcium cations in Ehrlich carcinoma ascites cells in the dynamics of its growth // *Biochemistry*. — 2006. — Vol. 71, № 10. — P. 1347-1353.

4. Rogozin E.A., Urazova L.N., Serebrov V.Yu. Change of cytological indicators of Ehrlich tumor induced by complex therapy with vincristine and vaccine strain of the virus Venezuelan encephalomyelitis // *Bulletin SB RAMS*. — 2003. — № 2 (108). — P. 121-124.

5. Bichel P. Self-limitation of ascites tumor growth: A possible chalone regulation // *Nat. Cancer Inst. Monogr*. — 1973. — Vol. 38. — P. 197-203.

6. Eskey C.J., Koretsky A.P., Domach M.M., Jain R.K. Role of oxygen vs. glucose in energy metabolism in a mammary carcinoma perfused ex vivo: direct measurement by ³¹P NMR // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1993. — Vol. 90, № 7. — P. 2646-2650.

7. Gamer L.W., Nove J., Rosen V. Return of the chalones // *Dev. Cell*. — 2003. — Vol. 4, № 2. — P. 143-144.

8. Goda N., Ryan H.E., Khadivi B., McNulty W., Rickert R.C., Johnson R.S. Hypoxia-inducible factor 1 alpha is essential for cell cycle arrest during hypoxia // *Molecular and Cellular Biology*. — 2003. — Vol. 23. — P. 359-369.

9. Hill E.M., Petersen C.P. Wnt/Notum spatial feedback inhibition controls neoblast differentiation to regulate reversible growth of the planarian brain // *Development*. — 2015. — Vol. 142, № 24. — P. 4217-4229.

10. Izumov D.S., Avetisyan A.V., Pletjushkina O.Yu. «Wages of Fear»: transient threefold decrease in intracellular ATP level imposes apoptosis // *Biochim. Biophys. Acta*. — 2004. — Vol. 1658. — P. 141-147.

11. Koutab N., Lutila J.W. The role of the thymus in the leukemic process // *Mont. Acad. Sci.* — 1973. — Vol. 33. — P. 56-66.

12. Lu C.L., Qin L., Liu H.C., Candas D., Fan M., Li J.J. Tumor cells switch to mitochondrial oxidative phosphorylation under radiation via mTOR-mediated hexokinase II inhibition-a Warburg-reversing effect // *PLoS One.* — 2015. — Vol. 10, № 3. — e0121046.

13. Oronsky B.T., Oronsky N., Fanger G.R., Parker C.W., Caroen S.Z., Lybeck M., Scicinski J.J. Follow the ATP: tumor energy production: a perspective // *Anticancer Agents Med Chem.* — 2014. — Vol. 14, № 9. — P. 1187-1198.

14. Roeyen C.R.C., Zok S., Pruessmeyer J., Boor P., Nagayama Y., Fleckenstein S., Cohen C.D., Eitner F., Gröne H-J., Ostendorf T., Ludwig A., Floege J. Growth arrest-specific protein 1 is a novel endogenous inhibitor of glomerular cell activation and proliferation // *Kidney Int.* — 2013. — Vol. 83, № 2. — P. 251-263.

15. Wahl M., Gruenstein P. Intracellular Free Ca²⁺ in the Cell Cycle in Human Fibroblasts: Transitions Between G1 and G0 and Progression into S Phase // *Molecular Biology of the Cell.* — 1993. — Vol. 4. — P. 293-302.

Сведения об авторах

Замай Анна Сергеевна — доктор биологических наук, руководитель лаборатории биомолекулярных и медицинских технологий, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8 (391) 2280876; e-mail: annazamay@yandex.ru.

Коловская Ольга Сергеевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, лаборатория биомолекулярных и медицинских технологий, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8 (391) 2280876; e-mail: olga.kolovskaya@gmail.com.

Кондрасенко Александр Александрович — кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, Красноярский научный центр СО РАН.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50, стр. 24; тел. 8(391) 2051948; e-mail: nmr@icct.ru.

Фалалеев Олег Владимирович — кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, Красноярский научный центр СО РАН.

Адрес: 660036, г. Красноярск, Академгородок, г. 50, стр. 24; тел. 8(391) 2051948; e-mail: nmr@icct.ru.

Самойлова Алиса Александровна — заместитель заведующего кафедрой биофизики, ГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет Минобрнауки РФ.

Адрес: 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79/10; тел. 8(391)2062307; e-mail: biophysics_sfu@mail.ru.

Титова Надежда Митрофановна — кандидат биологических наук, профессор ГАОУ ВПО Сибирский федеральный университет Минобрнауки РФ.

Адрес: 660041, г. Красноярск, пр. Свободный, 79/10; тел. 8(391)2280876; e-mail: tinami6@mail.ru.

Пац Юрий Степанович — кандидат медицинских наук, профессор кафедры физиологии имени проф. А.Т. Пионика, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2283640; e-mail: tzamay@yandex.ru.

Толмачева Татьяна Владимировна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры физиологии имени проф. А.Т. Пионика, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2283640; e-mail: tzamay@yandex.ru.

Замай Татьяна Николаевна — доктор биологических наук, лаборатория биомолекулярных и медицинских технологий, кафедра физиологии имени проф. А. Т. Пионика, ГБОУ ВПО Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого МЗ РФ.

Адрес: 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, г. 1; тел. 8(391) 2283640; e-mail: tzamay@yandex.ru.

Authors

Zamay Anna Sergeevna — *Doct.Biol.Sc., Laboratory For Biomolecular and Medical Technologies, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.*

Address: 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022; phone: 8 (391) 2280876; e-mail: annazamay@yandex.ru.

Kolovskaya Olga Sergeevna — *Cand.Biol.Sc., Laboratory For Biomolecular and Medical Technologies, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.*

Address: 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022; phone: 8 (391) 2280876; e-mail: olga.kolovskaya@gmail.com.

Kondrasenko Alexandr Alexandrovich — *Cand. Phys.-Mat. Sc., Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.*

Address: Akademgorogok, Krasnoyarsk, 660036; phone: 8(391) 2051948; e-mail: nmr@icct.ru.

Falaleev Oleg Vladimirovich — *Cand. Phys.-Mat. Sc., Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences.*

Address: Akademgorogok, Krasnoyarsk, 660036; phone: 8(391) 2051948; e-mail: nmr@icct.ru.

Samoilova Alisa Alexandrovna — *Deputy Head of the Department of Biophysics, Siberian Federal University.*

Address: Svobodnyi pr. 79, Krasnoyarsk, 660041 Russia; phone: 8(391)2062307; e-mail: biophysics_sfu@mail.ru.

Titova Nadezda Mitrofanovna — *Cand.Biol.Sc., Department of Medical Biology, Siberian Federal University.*

Address: Svobodnyi pr. 79, Krasnoyarsk, 660041 Russia; phone: 8 (391) 2280876; e-mail: tinami6@mail.ru.

Patc Yuri Stepanovich — *Cand.Med.Sc., Department of Physiology, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.*

Address: 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022; phone: 8(391) 2283640; e-mail: tzamay@yandex.ru.

Tolmacheva Tatiana Vladimirovna — *Cand.Med.Sc., Department of Physiology, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.*

Address: 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022; phone: 8(391) 2283640; e-mail: tzamay@yandex.ru.

Zamay Tatiana Nikolaevna — *Dr. Biol.Sc., Laboratory For Biomolecular and Medical Technologies, Department of Physiology, Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V. F. Voino-Yasenetsky, Ministry of Health of the Russian Federation.*

Address: 1, Partizana Zheleznyaka St., Krasnoyarsk, 660022; phone: 8(391) 2283640; e-mail: tzamay@yandex.ru.