

Интервалы численных значений ЭМ (данные спектрометрии у 947 здоровых лиц), которые соответствуют асинхронной (*до- и надкритическое состояние* с $r_{K-Zn} = -0,01$) и синхронной работе мембранных насосов (*критическое состояние* с $r_{K-Zn} = -0,43$) аналогичны данным, полученным в десятикратно большей выборке ($n=10297$).

Выводы:

Активизация (с участием АФК/АФА) мембранных АТРаз и их нормальное функционирование предполагает синхронный (критический) характер трансмембранного трафика металлов.

Синхронная работа мембранных помп подтверждается отрицательной K-Zn связью (Pearson) и признаками *самоорганизованной критичности* (СК) по данным математического анализа.

Полученные результаты указывают на возможную принадлежность гомеостаза электрогенных металлов в эпидермисе к СК-явлениям.

МЕЖОРГАНИЗМНЫЙ МЕХАНИЗМ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ ПОДДЕРЖАНИЕ БАЛАНСА МЕДИ У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

**Пучкова Л.В.^{1,2,3}, Ильичева Е.А.^{1,2,3}, Цымбаленко Н.В.^{2,3},
Скворцов А.Н.¹, Суханова А.С.²**

¹Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого;

²ИТМО Университет; ³Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

Биологическая роль меди как структурного и каталитического кофактора жизненно важных ферментов, с одной стороны, и её потенциальная токсичность как катализатора реакций, продуцирующих супероксидные радикалы [1], с другой – выявила важность систем безопасного транспорта меди, нарушение структуры которых ведет к развитию сердечно-сосудистых, нейродегенеративных и онкологических заболеваний [2]. Белки, осуществляющие транспорт меди в клетке, переносят ее в состоянии окисления Cu(I). Мы предложили использовать редокс-неактивные ионы серебра Ag(I), для изучения маршрутов Cu(I) и влияния Ag(I) на статус меди.

В работе показано, что у крыс (Ag30-крысы), получавших в течение месяца Ag-корм (50 мг AgCl на 1 кг массы тела), концентрация меди в крови падает в 10 раз, а содержание, основной (95%) медь-транспортной-ферроксидазы - холо-церулоплазмина (холо-ЦП), снижается практически

до нуля. Это связано с тем, что ионы серебра, абсорбированные в ЖКТ, с кровью доставляются к печени, поступают в нее через CTR1, транспортируются к аппарату Гольджи, связываются АТР7В, переносятся в люмен аппарата Гольджи и включаются в ЦП, замещая в нем до 3 (из 8) атомов меди. В результате ЦП теряет оксидазную активность, структура его молекулы, по данным UV/vis-спектрометрии и КД, нарушается (Рис. 1А). В то же время, у Ag30-крыс экспрессия гена ЦП в печени, синтез ЦП и его секрета не были нарушены. Однако краткосрочная Ag-диета была причиной острой эмбриотоксичности.

У взрослых крыс, длительное время получавших ионы серебра (с первых дней жизни до 6 месяцев), наблюдали адаптивную компенсацию. У них концентрация меди и холо-ЦП в крови была ниже, чем у контрольных крыс, только в 2 раза и они воспроизводили здоровое потомство.

По морфологическому и анатомическому развитию, а также по эмоциональным и когнитивным характеристикам группа Ag-крысы соответствовали контрольной. В кровотоке Ag-крыс, наряду с апо-ЦПпеченочного происхождения, присутствовал холо-ЦП, по содержанию атомов меди на 1 молекулу ЦП, а также по структуре глобулы соответствующий холо-ЦП (Рис. 1Б). Этот ЦП отличался по аффинному родству к ДЕАЕ-сепарозе и к лектинам.

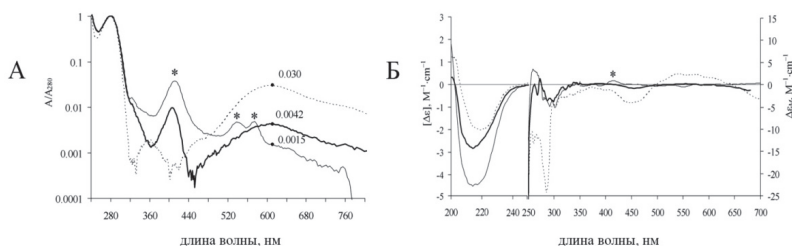


Рис. 1. Спектры поглощения (А) и кругового дихроизма (Б) препаратов ЦП. Черная линия –Ag-крысы; серая линия –Ag30-крысы; пунктирная линия –контроль. Звездочки - примесь гемоглобина.

Данные послужили основанием для выдвижения предположения, что при хроническом дефиците холо-ЦП в организме Ag-крыс активируется эктопический синтез холо-ЦП. Для проверки этого рабочего предположения были проведены эксперименты с импульсным мечением белков *in vivo* на крысах с печенью, хирургически изолированной от кровотока. Данные показали, что в кровотоке этих крыс появляется полноразмерный [^{14}C]ЦП.

Таким образом, у Ag-крыс в органе, не подвергающемся действию ионов серебра и в котором экспрессируется ген ЦП, синтезируется холо-ЦП, компенсирующий дефицит печеночного холо-ЦП в кровотоке. Для идентификации этого органа был поведен анализ распределения серебра у Ag-крыс, который показал, что мышцы, а также внутренний (ВЖ) и подкожный жир (ПЖ) практически не аккумулируют серебро. Методом ОТ-ПЦР было установлено, что в клетках ВЖ и ПЖ экспрессируется ген ЦП, однако, только в ПЖ наблюдали суперэкспрессию гена ЦП и генов, ответственных за его металлизацию (Рис. 2, I). В клетках ПЖ Ag-крыс формируется оксидазный ЦП, который присутствует в аппарате Гольджи и на плазматической мембране по молекулярной массе соответствующий ЦП, формирующемуся в печени (Рис. 2, II). Срезы ПЖ синтезируют и секретируют полноразмерный [14 C]ЦП (Рис. 2, III).

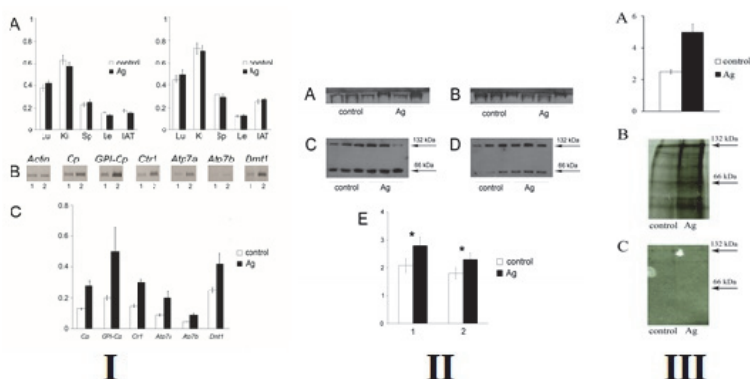


Рис. 2. (I) Суперэкспрессия гена ЦП в клетках ПЖАг-крыс. А: Steady-state уровень мРНК ЦП и ГФИ-ЦП в клетках легких, почек, селезенки, лейкоцитов и внутреннего жира. В и С: экспрессия генов ЦП (ЦП-мРНК и мРНК ГФИ-ЦП), CTR1, Atp7a/b и DMT1 в клетках подкожного жира. (II) Холо-ЦП (А и В) и полноразмерные полипептиды ЦП (С и D) выявляются на плазматической мембране (А и С) и в аппарате Гольджи (В и D). Е: Относительное количество иммунореактивных полипептидов ЦП на плазматической мембране (1) и в аппарате Гольджи (2). (III) Клетки подкожного жира *invivo* синтезируют и секретируют [14 C]ЦП. А: % [14 C]-ЦП в инкубационной среде. В и С: Радиоавтограф ЦП-иммунопреципитата инкубационной среды и мембран. Белые столбики – контроль, темные – Ag-крысы.

Таким образом, данные однозначно показывают, что в организме существует межорганный регуляторный статус меди, направленная на поддержания баланса меди в целом организме.

Литература

1. L. M. Gaetke, H. S. Chow-Johnson and C. K. Chow Copper: toxicological relevance and mechanisms, *Arch. Toxicol.*, 2014. – V. 88, P. 1929–1938.
2. J. H. Kaplan, and E. B. Maryon, How mammalian cells acquire copper: An essential but potentially toxic metal. *Biophysical J*, 2016. – V. 110, – P. 7–13.
3. R. N. Easter, C. Qilin, B. Lai, E. L. Ritman, J. A. Caruso and Q. Zhenyu, Vascular metallomics: copper in the vasculature, *Vasc. Med.* – 2010. – V. 15, – P. 61–69.

ПЛАЗМИНОГЕН-АКТИВАТОРНАЯ ФУНКЦИЯ УРОКИНАЗЫ И ТКАНЕВОГО АКТИВАТОРА В ПРИСУТСТВИИ ИОНОВ Fe^{2+}

Пыжова Н.С., Никандров В.Н.

РНПЦ эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь

Перицеллюлярный протеолиз, включающий звено плазминоген-плазмин (Pg-Pl), играет чрезвычайно важную роль в регуляции жизнедеятельности клеток нервной ткани, а также в защите их от воздействия повреждающих факторов [1]. Тем не менее, молекулярные механизмы регуляции этого звена и их нарушения при патологии все еще далеки от исчерпывающей ясности. Железо – жизненно необходимый элемент, но избыточное накопление его в головном мозгу и в нервной ткани вызывает дегенеративные изменения, включая демиелинизацию [2,3]. В нервной ткани синтезируются Pg, а также его активаторы – урокиназа (UK), тканевый активатор Pg (ТАР) [1]. Железо участвует в регуляции экспрессии гена ингибитора-I активатора плазминогена (РАI-I) и UK [4,5]. Однако данные литературы о влиянии его ионов на Pg-активаторную способность UK и ТАР до наших исследований отсутствовали.

Цель настоящей работы – раскрыть особенности действия ионов Fe^{2+} на Pg-активаторную способность UK и ТАР.