

## **Ag(I) ВЛИЯЕТ НА ПРОФИЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ БЕЛКОВ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИХ МЕТАБОЛИЗМ Cu(I) У КРЫС**

**Цымбаленко Н.В.<sup>1,2</sup>, Ильичева Е.Ю.<sup>1,2</sup>, Пучкова Л.В.<sup>1,2,3</sup>**

<sup>1</sup>*ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург,  
Россия*

<sup>2</sup>*ФГБОУ ВПО «ИТМО Университет», Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup>*ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет  
Петра Великого», Санкт-Петербург, Россия*

Медь - важнейший микроэлемент для всех организмов, так как является структурным и энзиматическим ко-фактором жизненно важных купроэнзимов. Она стимулирует процесс формирования сосудов, участвует в развитии иммунного ответа и в регуляции клеточного цикла, контролирует перепрограммирование нормального энергетического метаболизма на специфичный для опухолевых клеток. В то же время она может служить источником АФК. Безопасный перенос меди осуществляет высоко консервативная метаболическая система меди (МСМ), включающая интегральные мембранные и растворимые цитозольные белки. Белки МСМ транспортируют медь в состоянии окисления Cu(I) однонаправлено и последовательно при прямых белок-белковых взаимодействиях. МСМ органо- и тканеспецифична и изменяется в течение онтогенеза. В поддержании гомеостаза меди в целом организме ключевую роль играет печень. В зависимости от периода развития различают два типа поддержания баланса меди, которые определяются как эмбриональный и взрослый типы метаболизма меди. Наследственные и развивающиеся под влиянием различных экологических факторов нарушения метаболизма меди приводят к тяжелым заболеваниям (нейродегенеративные заболевания пожилого возраста, болезни сердечно-сосудистой системы, рак и др.).

Ag(I) изоэлектронен Cu(I) и их координационные свойства похожи. Ag(I) связывается с транспортерами Cu(I), снижая ее биодоступность, и встраивается в активные центры купроэнзимов, вызывая их инактивацию. Это делает актуальным и необходимым исследование влияния серебра на различные аспекты метаболизма меди у млекопитающих.

Ранее нами было показано, что у взрослых крыс, содержащихся на Ag-диете (50 мг AgCl/kg веса ежедневно при стандартном содержании в корме Cu) в течение 30 дней (Ag-A30 крысы), Ag всасывается в кишечнике, доставляется в печень, где встраивается в церулоплазмин (Ср), нару-

шая его третичную структуру и ферментативные функции: оксидазная активность в сыворотке крови исчезает [1-3]. Однако профили экспрессии генов МСМ у Ag-A30 и контрольных крыс по данным полуколичественной ПЦР не отличаются [1, 3]. В представляемой работе исследовали показатели метаболизма меди у крыс, получающих Ag в течение 6-ти месяцев (сначала с молоком Ag-матерей, а потом с кормом в виде AgCl). Для исследования были взяты контрольные и получающие AgCl животные (Ag-Нкрысы) в возрасте 5, 20, 40 и 180 дней жизни. Оксидазная активность Ср в крови у Ag-N5 и Ag-N20 крысят не отличалась от таковой у их ровесников из контрольных групп, а у крыс Ag-N40 и Ag-N180 оказалась снижена в 1,5 и 2 раза соответственно. К тому же, в крови Ag-N180 крыс была выявлена изоформа Ср, отличная по третичной структуре от печеночной изоформы. Непеченочная изоформа Ср не содержит Ag и проявляет оксидазную активность [3]. Выявленный эффект Ag(I), поступающего с кормом на протяжении всей жизни на фоне постоянного содержания Cu(I), отразился и на профиле экспрессии генов белков МСМ в печени Ag-N180 крыс (рис. 1).

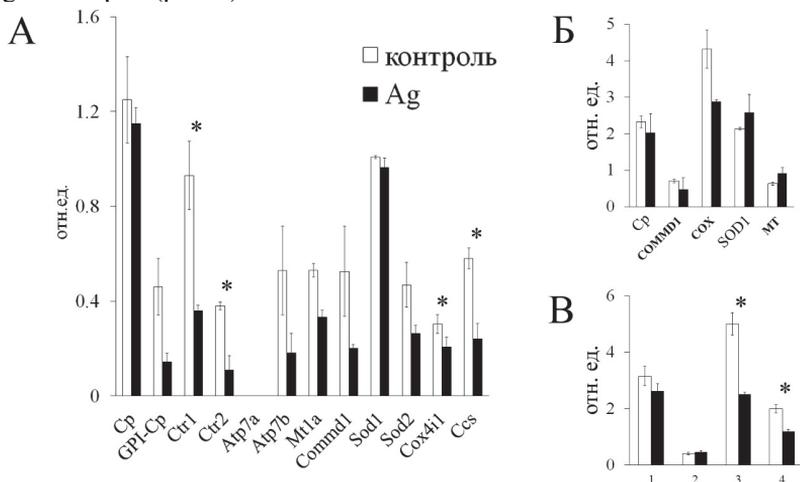


Рисунок 1. Экспрессия генов метаболической системы меди в печени Ag-180 крыс. А - транскрипционная активность исследуемых генов медь транспортных белков и купроэнзимов; Б – результаты иммуноблотинга: Ср; Cox в митохондриях и Sod1 в цитозоле; Commd1 и Mt в цитозоле; В – результаты измерения ферментативной активности в геле: 1, 2, - Sod1 в цитозоле и митохондриях печени, 3, 4 – соответственно оксидазная и ферроксидазная активности Ср в крови.

Таким образом, охарактеризована транскрипционная активность генов: медь связывающих и транспортирующих белков (MT, COMMD1, CTR1, CTR2, ATP7A, ATP7B, Cu(I)-шаперона супероксиддисмутазы CCS), а также цитозольных, митохондриальных, секреторных и мембраносвязанных купроэнзимов (SOD1, изоформа 1 субъединицы IV комплекса COX, Ср и GPI-Ср) (рис.1-А). Уровень транскрипции генов сопоставлен с удельным содержанием соответствующих белков, определенным методом иммуноблотинга: Ср (сыворотка крови), COMMD1, SOD1, MT и COX IV (цитозоль и митохондрии клеток печени соответственно) (рис. 1-Б). Активность Ср (оксидазная и ферроксидазная) и SOD1 измерена методом определения в геле (рис. 1-В). У Ag-N180 крыс оксидазная и ферроксидазная активности в сыворотке крови, как и активность генов метаболизма меди в печени (Ctr1, Ctr2, Mtl1a, Commd1, Cox4i1, Ccs), снижаются в 2 раза.

Обсуждается вопрос адаптации гомеостаза меди у Ag-крыс к ее хроническому дефициту в онтогенезе, обусловленному хроническим поступлением с пищей ионов и Ag.

Работа поддержана грантами РФФИ №16-34-60219, №14-04-01640.

### Литература

1. Клотченко С. А., Цымбаленко Н. В., Соловьёв К. В., Скворцов А. Н., Затуловский Е. А., Бабич П. С., Платонова Н. А., Шавловский М. М., Пучкова Л. В., Броджини М. Влияние ионов серебра на метаболизм меди и экспрессию генов медьтранспортных белков в печени крыс // Доклады Академии Наук, – 2008. – V. 418. – P. 549-552.
2. А.Н. Скворцов, Е.Ю. Ильичева, Е.А. Затуловский, А.Н. Савельев, Н.В. Цымбаленко, М.М. Шавловский, Л.В. Пучкова. Частичная характеристика церулоплазмينا крысы, выделенного из сыворотки крови животных, получавших с пищей соли серебра // Цитология, – 2010. – V. 52. – P. 70-76.
3. E.Yu. Plyechova, A. N. Saveliev, A. N. Skvortsov, P. S. Babich, Yu. A. Zatulovskaia, M. G. Pliss, D. E. Korzhevskii, N. V. Tsymbalenko and L. V. Puchkova. The effects of silver ions on copper metabolism in rats // Metallomics, – 2014. – V. 6. – P. 1970–1987.