

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ МЕДЬТРАНСПОРТНЫХ БЕЛКОВ В ОТДЕЛАХ МОЗГА КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ С ПИЩЕЙ СЕРЕБРО

Известно, что добавление солей серебра в пищу лабораторных крыс уже через 2 дня приводит к снижению в плазме крови оксидазной активности церулоплазмينا (ЦП), а через 2-3 недели она снижается практически до нуля. Причиной снижения оксидазной активности является отсутствие ионов меди в молекуле ЦП. К тому же, было показано, что у крыс, получавших серебро, оксидазная активность падает и в гипоталамусе. Данные косвенно указывают на изменение метаболизма меди в мозгу и позволяют считать, что эта модель может быть подходящей для изучения экспрессии генов медьтранспортных белков в отделах мозга в условиях дефицита меди. Такие исследования необходимы для обоснования целесообразности применения искусственного дефицита меди для терапии ряда медьсвязанных заболеваний.

Работа выполнена на самцах линии Вистар. Контрольная группа крыс получала стандартизированный корм и воду без ограничений. В измельченный увлажненный корм опытной группы замешивали AgCl из расчета 50 мг в сутки на 1 кг массы тела. На первом этапе была изучена динамика снижения оксидазной активности в сыворотке крови крыс, получавших с пищей ионы серебра. Для этого в течение 4-х недель кормления в образцах сыворотки крови животных опытной группы (далее Ag-крысы), взятых из хвостовой вены, измеряли уровень фенол оксидазной активности, чувствительной к азиду натрия. Через 4 недели она снижалась примерно в 30 раз (1.7 ± 0.51 , $n=15$, против 53.3 ± 7.82 , $n=5$, мг ЦП/100 мл сыворотки крови). Оксидазная активность, выявляемая *орто*-дианизидином, в крови крыс опытной группы вообще не обнаруживалась. В то же время по данным иммуноблотинга общая концентрация белка ЦП практически не снижалась, однако, основной его формой, являлся апо-ЦП. При этом в течение всего эксперимента Ag-крысы были активны, не теряли вес и аппетит, у них не наблюдали расстройств пищеварения. Это полностью согласуется с данными об отсутствии у ионов серебра токсических свойств.

Мониторинг содержания ионов металлов и уровня экспрессии генов медьтранспортных белков вели в различных отделах мозга: лобные доли коры, мозжечок, гиппокамп, миндалевидное тело, гипофиз, гипоталамус. Отделы иссекали в соответствии с атласом мозга крысы.

Концентрацию Cu, Fe, Zn, Ag определяли методом атомно-абсорбционной спектроскопии. Тотальную РНК выделяли с помощью реагента «Trisol» («TriPure Reagent», Roche). Обратную транскрипцию на матрице полученной РНК проводили с использованием случайных праймеров. На полученной кДНК проведена ПЦР с праймерами, специфическими к генам медьтранспортных белков (ATP7A, ATP7B, CTR1, APP, CP, GPI-CP), супероксиддисмутаз (SOD1, SOD2, COX) и на кДНК β -актина в качестве внутреннего репера.

Анализ результатов выявил снижение концентрации меди только в гипоталамусе. Содержание железа также сохраняется на прежнем уровне, за исключением гипофиза, где его концентрация повышается почти в 6 раз. В гипофизе также повышается и концентрация цинка. В других отделах мозга Ag-крыс содержание цинка, по сравнению с контролем, практически не меняется. Достоверное накопление серебра происходит только в гипоталамусе. Суммируя представленные данные, можно заключить, что у Ag-крыс изменение концентрации трех металлов (Cu, Fe, Ag) имеет место только в гипофизе и гипоталамусе.

В то же время, уровень экспрессии всех взятых в рассмотрение генов медьтранспортных белков во всех отделах существенно снижается. При этом активность генов купроэнзимов сохраняется.

Таким образом:

1) добавление солей серебра в пищу приводит к избирательному накоплению Ag в гипофизе

2) на фоне этого происходит значимое снижение концентрации меди в гипоталамусе, что в свою очередь является причиной снижения синтеза церулоплазмينا (ЦП)

3) дефицит ЦП, играющего ведущую роль в выведении железа из клеток, приводит к накоплению в гипофизе железа.

Возможно, этот ряд событий связан с замещением ионов меди ионами серебра в составе медьтранспортных белков, синтез которых особенно высок в клетках гипофиза и гипоталамуса, и связан с нейросекреторной функцией этих отделов мозга.

Работа выполнена на кафедре биофизики физико-механического факультета СПбГУ и в Отделе молекулярной генетики НИИЭМ РАМН.