

*Гармаза Ю.М.<sup>1</sup>, Тамашевский А.В.<sup>1</sup>, Слобожанина Е.И.<sup>2</sup>*

**Окислительный стресс в системе внутриклеточной цинковой сигнализации**

<sup>1</sup>ГУ «РНПЦ Трансфузиологии и медицинских биотехнологий»,  
Минск, Республика Беларусь

<sup>2</sup>ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси»,  
Минск, Республика Беларусь

В последние десятилетие опубликовано большое число научных работ о важной физиологической функции цинка в качестве второго, наряду с кальцием, основного сигнального иона при передаче внутриклеточ-

ной информации и коммуникации между клетками. Как межклеточные, так и внутриклеточные сигнальные функции  $Zn^{2+}$  влияют на процессы, которые контролируют пролиферацию, дифференцировку и апоптоз. Подобно кальцию, внутриклеточный статус цинка изменяется динамично в ответ на внешние стимулы, и он способен их преобразовывать во внутриклеточные сигнальные процессы. Для возможности регуляции внутриклеточных процессов необходимо изменение концентрации «свободных» ионов цинка в клетке от базального уровня до сотен пМ. Как и для кальция, цинку нужна жесткая система контроля на клеточном уровне этих переходных процессов, т.к. повышение его концентрации может привести к цитотоксичности. К настоящему времени представлены детальные аспекты, характеризующие эту систему контроля (например, депонирующие белки металлотионеины), а также, какие нарушения на уровне клетки и организма могут происходить, если этот контроль нарушен.

**Цель** данной работы – изучить связь цинкового гомеостаза с функционированием эритроцитов человека (в частности с индукцией эритропоэза) и выявить участие внутриклеточного лабильного пула  $Zn^{2+}$  в формировании защитных механизмов клеток при окислительном стрессе.

**Материалы и методы.** В работе использована кровь здоровых доноров в консерванте “гепарин”. Модификацию цинкового гомеостаза в клетках проводили путем инкубации эритроцитов *in vitro* с сульфатом цинка, хелаторами N',N'-тетраakis-(2-пиридил-метил)-этилендиамином (TPEN) и диэтилентридаминпентауксусной кислотой (DTPA), пероксидом водорода. Оценка внутриклеточной концентрации лабильных ионов цинка была проведена с использованием флуоресцентного зонда FluoZin-3. Уровень восстановленного глутатиона (GSH) определяли спектрофотометрически по методу Элмана. Оценку содержания металлотионеинов I/II типов (MTs) проводили с помощью моноклональных антител UC1MT. Жизнеспособность эритроцитов контролировали по эстеразной активности клеток с помощью кальцеина-АМ. Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с использованием непараметрических критериев Уилкоксона и Спирмена.

**Результаты и их обсуждение.** Используя внутриклеточный и внеклеточный хелаторы для  $Zn^{2+}$  – TPEN и DTPA, продемонстрировано существование специфических рецепторов на поверхности эритроцитов и внутриклеточных депо, отвечающих за поддержание цинкового гомеостаза. В тоже время было показано, что увеличение цитозольного пула лабильного  $Zn^{2+}$  свыше 100 нМ приводит к запуску процессов

эриптоза, а цитотоксические эффекты цинка обусловлены внутриклеточными молекулярными механизмами, приводящими к выходу  $Zn^{2+}$  из клеточных депо. Более того, выявлена обратная зависимость между изменением внутриклеточного пула лабильного цинка и эстеразной активности эритроцитов, при моделировании окислительного стресса, используя  $H_2O_2$  *in vitro*, что свидетельствует о прямом участии  $Zn^{2+}$  в запуске эриптоза, а дисбаланс “прооксиданты/антиоксиданты” в пользу первых выступает в качестве триггера данного процесса. Установлено, что одним из механизмов, приводящих к высвобождению  $Zn^{2+}$  из внутриклеточных связывающих сайтов в эритроцитах человека при  $H_2O_2$ -индуцированном окислительном стрессе, может являться уменьшение количества небелковых тиольных групп за счет снижения уровня GSH. При этом обнаружен рост уровня экспрессии цитозольных тиол-содержащих белков MTs, как в эритроцитах, истощенных по  $Zn^{2+}$ , так и в клетках после индукции окислительного стресса *in vitro* путем воздействия TPEN и  $H_2O_2$  соответственно. Это свидетельствует о функционировании данных белков в качестве вспомогательного антиоксиданта в защитной системе эритроцитов в условиях окислительного стресса.

**Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о существовании в эритроцитах человека механизмов регуляции лабильного пула цинка и концентрационной грани между его «эссенциальными» и токсичными свойствами, нарушение которой может привести к запуску патологических процессов, что было продемонстрировано нами ранее на примере сахарного диабета II типа, где цинковый гомеостаз в этиопатогенезе данной патологии играет важную роль.