

Нейроцитотоксичность цинка на модели культивированных зернистых нейронов мозжечка крысы

Научный руководитель – Исаев Николай Константинович

Шеденкова Маргарита Олеговна

Студент (бакалавр)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

E-mail: margarita.shedenkova@yandex.ru

Цинк является основным структурным элементом во многих белках организма. Особое место в исследованиях нарушения гомеостаза цинка занимает его нейроцитотоксичность при различных патологических состояниях головного мозга, так как цинк является кофактором глутамата, основного возбуждающего нейромедиатора. При выделении вместе с глутаматом в синаптическую щель он взаимодействует с различными рецепторами, благодаря чему модулирует возбуждающую и ингибирующую синаптическую передачу [1]. Увеличение внутриклеточной концентрации свободного цинка губительно для нейронов, так как он способен нарушать функционирование митохондрий, что приводит к окислительному стрессу. Примерами патологических состояний головного мозга, при которых в процессы нейродегенерации вовлечены Zn^{2+} являются инсульт и черепно-мозговая травма (ЧМТ). По последним данным, от последней во всем мире страдают до 79 миллионов человек и это число неуклонно растет. Однако участие Zn^{2+} в процессах развития этих патологических состояний крайне неоднозначно [2], что указывает на необходимость исследования механизмов нейроцитотоксичности Zn^{2+} для создания в перспективе новых стратегий лечения нейродегенеративных заболеваний.

Целью данной работы являлось изучение участия внеклеточного pH, ионов кальция и натрия в механизмах нейроцитотоксичности ионов цинка.

Материалы и методы: Эксперименты были выполнены на культивированных в течение 7-8 суток клетках-зернах мозжечка, полученных из 7-дневных крыс. Оценка числа жизнеспособных клеток в культурах производилась методом их подсчета, а измерение внутриклеточных $[Zn^{2+}]$ и $[Ca^{2+}]$ выполняли с помощью флуоресцентных зондов Fluo-4 AM и FluoZin-3 AM и лазерного конфокального микроскопа. Моделирование токсических воздействий производили при различных значениях pH среды инкубации, а также в низкокальциевых и низконатриевых сбалансированных растворах. Данные исследуемых параметров анализировались с помощью теста ANOVA с посттестом Бонферрони. Значения $p < 0,05$ рассматривались как статистически значимые. Результаты представлены в виде среднего и ошибки среднего ($M \pm SEM$)

Результаты:

- 1) При внешнем pH 6,0 выживаемость повышалась во всем исследуемом интервале $[Zn^{2+}]$, а повышение до pH 7,8 при $[Zn^{2+}]$ 30-40 мкМ достоверно снижало гибель клеток, по сравнению с pH 7,2, а в интервале 50-70 мкМ цинка достоверно усиливало клеточную гибель.
- 2) Ca^{2+} и Na^{+} усиливают нейротоксичность Zn^{2+} в сбалансированном солевом растворе.
- 3) В среде без сыворотки 2 мМ Ca^{2+} снижает выживаемость до 20%, а добавление 25 мкМ Zn^{2+} увеличивают ее до 40%.

- 4) Ca^{2+} ускоряет разгрузку нейронов Zn^{2+} .
- 5) Zn^{2+} не влияет на загрузку Ca^{2+} в клетки.

Источники и литература

- 1) Smart, T.G., Hosie, A.M., Miller, P.S. Zn^{2+} ions: modulators of excitatory and inhibitory synaptic activity (2004); *Neuroscientist*, 10, 432–442.
- 2) Ward, R.J., Dexter, D.T., and Crichton, R.R. Chelating agents for neurodegenerative diseases (2012); *Curr. Med. Chem.* 19, 2760-2772.