

АГЛЯДЫ

УДК 577.352

Ю. М. ГАРМАЗА, А. В. ТАМАШЕВСКИЙ, Е. И. СЛОБОЖАНИНА

МЕТАЛЛОТИОНЕИНЫ МЛЕКОПИТАЮЩИХ: СТРУКТУРА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь,
e-mail: garmaza@yandex.ru, tayzoe@mail.ru, slobozhanina@ibp.org.by*

Металлотионеины млекопитающих – суперсемейство неэнзиматических полипептидов, роль которых до сих пор обсуждается в научной литературе, но аффинность которых к некоторым ионам металлов не вызывает сомнения. Основные функции этих цистеин-обогащенных белков в клетке заключаются в детоксикации как неэссенциальных металлов, так и избытка эссенциальных, а также в изоляции свободных радикалов и внутриклеточном транспорте Zn^{2+} . В данном обзоре рассмотрены биологическое значение, структура и функции металлотионеинов, их роль в окислительном стрессе и в индукции программируемой клеточной гибели.

Ключевые слова: цистеин-обогащенные белки металлотионеины, ионы цинка, окислительный стресс, программируемая клеточная гибель.

Y. M. HARMAZA, A. V. TAMASHEVSKI, E. I. SLOBOZHANINA

MAMMALIAN METALLOTHIONEINS: STRUCTURE AND BIOLOGICAL ROLE

*Institute of biophysics and cell engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk,
e-mail: garmaza@yandex.ru, tayzoe@mail.ru, slobozhanina@ibp.org.by*

Mammalian metallothioneins are a superfamily of enzymatic polypeptides, whose role is still discussed in the scientific literature, but their affinity to some metal ions is undisputable. The main functions of these cysteine-rich proteins in the cell are connected with detoxification of non-essential and excess of essential metals; with isolation of free radicals and intracellular Zn^{2+} transport. In this review, the structure and function of metallothioneins, their biological properties, role in oxidative stress and in the induction of programmed cell death are discussed.

Keywords: cysteine-rich proteins metallothioneins, zinc ions, oxidative stress, programmed cell death.

Введение. Металлотионеины (MTs) млекопитающих представляют собой суперсемейство неэнзиматических полипептидов (61–68 аминокислотных остатков), которые обнаружены во всех эукариотических клетках и некоторых прокариотах и характеризуются небольшой молекулярной массой (6–7 кДа), характерным аминокислотным составом (большим содержанием цистеина) и высоким содержанием серы и металлов (тиолатные кластеры металлов) [1, 2]. *In vivo* они связывают Zn^{2+} , Cu^{+} , Cd^{2+} и Hg^{2+} , в то время как *in vitro* такие металлы, как Ag^{+} , Au^{+} , Bi^{3+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} , Pt^{2+} и Tc^{4+} , дополнительно могут быть присоединены к апотионеину (свободная от металла форма) [3]. Ионы железа (Fe (II) и Fe (III)) имеют очень низкую аффинность к тиолатному комплексу MTs [4]. Однако при физиологических условиях MTs содержат преимущественно Zn^{2+} [5]. При этом стоит отметить, что до сих пор широко изучается и обсуждается отношение аффинности MTs к ионам металлов [6, 7].

Биологические функции MTs разнообразны. К ним относятся: взаимодействие с глутатионом и обеспечение процессов, протекающих с Zn-содержащими белками, регуляция экспрессии генов с помощью Zn-зависимого фактора транскрипции, контроль роста и развития нейронов, учас-

тие в поддержании гомеостаза таких эссенциальных элементов, как Cu и Zn, связывание токсичных тяжелых металлов, а также участие в обеспечении работы антиоксидантной системы [1]. Большинство своих физиологических функций MTs осуществляет благодаря способности предоставлять биодоступный цинк участникам биохимических реакций [1]. Однако механизмы, регулирующие биодоступность металлов в клетках человека и животных, изучены недостаточно.

Структура и функции металлотионеинов. Как указано выше, MTs млекопитающих принадлежат к группе внутриклеточных белков с низкой молекулярной массой, которые были обнаружены в 1957 г., когда M. Margoshes и B. L. Vallee изолировали их из ткани коркового вещества почки лошади [8]. К настоящему времени эти белки уже выделены из клеток прокариот, растений, беспозвоночных и позвоночных животных [9]. MTs состоят в среднем из 61 аминокислотного остатка, среди которых нет ароматических аминокислот, но в то же время 1/3 которых состоит из остатков цистеина, которые и формируют тиолатные кластеры металлов. Металл-связывающий домен MTs состоит из 20 остатков цистеина, расположенных рядом с лизином (Lys) и аргинином (Arg), организованных в два тиол-обогащенных сайта, названных α и β . В полипептидной цепи цистеины расположены в сериях повторов (Cys-X-Cys, Cys-X-Cys-Cys, Cys-X-X-Cys, где X – любой другой аминокислотный остаток), которые абсолютно консервативны у разных видов [2]. Домены отделены друг от друга цистеин-свободной центральной частью, которую обычно называют «спейсер», при этом α -домен часто состоит из аминокислотных остатков 32–61, а β -домен – 1–31. N-концевая часть, отмеченная как β -домен, имеет три связывающих сайта для двухвалентных ионов, обычно для Zn (II) или Cd (II). С-концевая часть (α -домен) способна связывать 4 иона двухвалентных металлов [10, 11]. В итоге одна молекула MTs может связывать 7 атомов ионов двухвалентных металлов, в то время как мольное соотношение для ионов одновалентных металлов (Cu и Ag) составляет 12 [12].

У млекопитающих обнаружены различные изоформы MTs, названные MT-I–MT-IV [1]. Кроме того, известно и описано по меньшей мере 13 связанных с MTs белков в организме человека [13, 14]. Изоформа MT-I кодируется 11 генами (MT-IA, -B, -E, -F, -G, -H, -I, -J, -K, -L и -X), тогда как каждая из других изоформ MTs – одним геном (MT-IIA, MT-III или MT-IV). Номенклатура для изоформ MTs до сих пор не стандартизирована [2], а кроме того, не выяснена и их функциональная роль [4]. В работе [15] после проведения анализа большого объема литературных источников схематически представлена роль различных типов MTs в норме и при патологии. Показано, что наиболее широко распространенными изоформами, которые экспрессированы во многих типах клеток и различных тканях и органах, являются MT-I и MT-II, тогда как MT-III и MT-IV демонстрируют очень ограниченную экспрессию в клетках организма. MT-III представляет собой уникальный металлопротеин, названный также ингибирующим фактором нейронального роста, который ингибирует разрастание нервных клеток [16]. MT-III в сравнении с MT-I и MT-II имеет особые химические, структурные и биологические свойства [17]. MT-IV принадлежит к неиндуцибельным белкам с экспрессией в первую очередь в определенных многослойных тканях [18].

В соответствии с химической природой и имеющимся избытком дисульфидных связей в MTs можно заключить, что эти белки выполняют следующие функции:

1) детоксикация металлов, включая неэссенциальные, и излишек эссенциальных металлов [19], аккумуляция эссенциальных металлов (в основном ионов цинка) [20];

2) «изоляция» в клетках (в англ. *sequestration*) активных форм кислорода (АФК), азота и электрофилов [21];

3) внутриклеточный транспорт ионов цинка [22] (когда внутриклеточная концентрация свободного цинка достигает критического уровня, активируется транскрипционный фактор MTF-1 и индуцирует MTs, которые «захватывают» цинк [20]).

Таким образом, MTs действуют как «механизм», контролирующий концентрацию свободного цинка в клетке путем захватывания Zn^{2+} и его последующего выбрасывания посредством различных биохимических процессов (например, окислительный каскад реакций). В то же время показано, что MT-I и MT-II вовлечены и в ряд других функций: в ответы иммунной защиты, регуляцию «цинковых пальцев» и Zn-содержащих транскрипционных факторов, в термогенез и ангиогенез, а также в процессы клеточной дифференцировки [20, 23].

Биологическая роль металлотионеинов млекопитающих. Цистеин-обогащенные MTs локализованы в цитоплазме и некоторых органеллах, преимущественно в митохондриях, где их количество строго регулируется редокс-состоянием [24]. Установлено, что MTs участвуют в регуляции проницаемости внутренней митохондриальной мембраны [25], в то время как регуляция клеточной и тканевой специфичности митохондриального дыхания и энергетического обмена в печени еще окончательно не выяснена [26]. Из митохондрий, поры наружной мембраны которых пропускают молекулы до 10 кДа, MTs могут быть доставлены в цитоплазму и другие органеллы.

Другим местом локализации MTs в клетках являются лизосомы. Так, присутствие MT-III в лизосомах связано с лизосомальными изменениями и гибелью нейрональных клеток при окислительном стрессе [27]. В работе [28] описана взаимосвязь между внутрилизосомальными перекисными реакциями, катализируемыми железом, защитным эффектом MTs и окислительным стрессом. В зависимости от состояния клеток (особенно в условиях окислительного стресса) MTs быстро транслоцируются в ядро через ядерные поры [29]. MT, локализованные в ядре, окисляются и затем транспортируются в цитозоль [30]. Стоит отметить, что эта система сбалансирована. Перемещение MTs в ядро, вероятнее всего, связано с защитой клетки от повреждения ДНК и запуском процессов апоптоза, с транскрипцией генов во время разных стадий клеточного цикла [31], а также с защитой от высокой внеклеточной концентрации глюкозы в некоторых типах клеток, что продемонстрировано на примере эндотелиальных клеток пупочной вены [32]. У пациентов с сахарным диабетом в эндотелиальных клетках, в которых экспрессия MTs регулируется эндотелином ET-1, обнаружен повышенный уровень последнего.

Контроль металлотионеинами внутриклеточного уровня Zn^{2+} продемонстрирован в ряде статей, посвященных исследованию взаимосвязи MTs с регуляцией клеточного цикла и пролиферацией [33]. Показано, что MTs регулируют цитозольный пул ионов цинка путем высвобождения и передачи их другим металлопротеинам и транскрипционным факторам [34]. Транслокация MTs в ядро играет важную роль в цинк-опосредованной генопротекции в клеточной линии HaCaT [35]. Более того, в работе [36] продемонстрирована роль оксида азота в увеличении ядерной локализации MTs. Авторы связали это со способностью MTs поглощать NO с последующим образованием нитрозотиолов, которые снижают его повреждающее действие в ядре и цитоплазме. При этом в клетках гепатоклеточной карциномы человека HepG2 был выявлен клатрин-опосредованный эндоцитоз MTs. Этот факт подтверждает присутствие как внутриклеточных, так и внеклеточных металлотионеинов, которые выходят из некротических клеток, а также указывает на их роль в процессе передачи информации между клетками [37].

Как отмечалось выше, MTs выполняют множество жизненно важных функций. Наиболее значимые из них: детоксикация как эссенциальных, так и неэссенциальных ионов тяжелых металлов (Cd (II) или Hg (I, II)), гомеостаз, контроль ионов Zn (II) и Cu (II) и реакций переноса металлов [33].

Изучение процессов восстановления и окисления MTs выявило формирование нескольких высокомолекулярных фракций олигомеров MTs, названных агрегатами MTs. Выявлено увеличение внутриклеточного уровня ионов цинка при формировании таких агрегатов, причем восстановленный металлотионеин формирует агрегаты быстрее, чем окисленный [38].

Из-за широкого разнообразия функций, выполняемых MTs, предполагается их связь с защитными реакциями иммунной системы, «цинковыми пальцами» и регуляцией цинк-содержащих транскрипционных факторов, функциями митохондрий и регулированием энергетического метаболизма, ангиогенезом, клеточным циклом, клеточной дифференцировкой и апоптозом. Это еще раз доказывает, что экспрессия MTs чувствительна и строго регулируется окислительным стрессом, индуцированным в ходе митохондриального дыхания [39]. Нарушение регуляции этого состояния может быть связано со многими заболеваниями. Некоторые действия MT-I и MT-II имеют терапевтические возможности при лечении острых, а также хронических заболеваний, где окислительный стресс играет важную роль [23].

MTs вовлечены в канцерогенез, а также способствуют развитию радиорезистентности или лекарственной устойчивости опухолевых клеток [40]. Экспрессия MTs также может быть связана

с ответом клеток на черепно-мозговую травму или с прогрессированием нейродегенеративных заболеваний [41, 42]. У мышей, дефицитных по МТ-III, проявляются аномалии психологического поведения [43]. МТ-III обнаружен также в некоторых клетках почек, железистого эпителия дорсолатеральной доли простаты, в клетках Сертоли и клетках Лейдига в яичках, а также в клетках вкусовых рецепторов на языке крыс [44]. МТ-III в адипоцитах демонстрируют важную защитную функцию против гипоксического повреждения [45, 46]. Установлено, что МТ-IV экспрессируется в многослойном чешуйчатом эпителии, где он играет важную роль (которая, однако, изучена пока недостаточно). Кроме того, интенсивно изучается роль МТs в патогенезе болезни Вильсона и болезни Менкеса из-за существенных изменений в содержании свободных ионов меди (II) в крови пациентов, что может являться результатом повышенной экспрессии данного белка [17].

Индукция экспрессии металлотионеинов: роль ионов металлов. Экспрессия МТs индуцируется многими факторами, включая физический и химический стресс, а также различные эндогенные факторы. Из физических факторов широко изучается роль низкотемпературной обработки, рентгеновского и УФ-излучения. В настоящее время обнаружена повышенная экспрессия МТs под влиянием вышеупомянутых факторов, особенно в тканях печени, почек и тимуса [47].

Химический стресс в клетках происходит в результате воздействия множества соединений, таких как растворители (четырёххлористый углерод, хлороформ и этанол), противоопухолевые препараты (блеомицин, адриамицин и цисплатин), алкилирующие агенты (бромбензол, диэтилмалеат или форон). Радикал-генерирующие вещества, которые способны индуцировать генерацию АФК, принадлежат к группе наиболее значимых индукторов экспрессии генов МТs [48]. Индукция экспрессии МТs в ответ на действие тяжелых металлов (основных загрязнителей окружающей среды) была продемонстрирована во многих тканях, включая печень, почки, кишечник и поджелудочную железу [49, 50]. Наиболее сильную экспрессию МТs наблюдали в клетках печени – основного органа, ответственного за биоаккумуляцию и детоксикацию металлов [51]. Тяжелые металлы, включая металлы, используемые в лечении рака, или металлы с перспективным будущим в терапии онкологических заболеваний, таких как платина, палладий и родий, накапливаются в почках млекопитающих с последующим нарушением абсорбирующей и секреторной функций, которые тесно связаны с МТs. Недавно установлено, что окислительный стресс, сопряженный с перекисным окислением липидов (ПОЛ), апоптозом и некрозом, выступает в качестве общих явлений в нефротоксичности вследствие действия этих металлов [52]. Доказано, что наиболее мощным индуктором экспрессии МТs являются ионы Cd (II) [53].

Анализ литературы показал, что многие ионы металлов (например, Cu (I, II) и Fe (II, III)) хорошо известны в качестве индукторов свободных радикалов кислорода. В то же время они выполняют важные физиологические функции, поэтому их гомеостаз должен строго контролироваться [54, 55]. На клеточном уровне для транспорта Cu (I, II) и Fe (II, III) требуются высокоспецифичные транспортеры. Ионы этих металлов почти никогда не существуют в цитоплазме в виде свободных форм, потому что они быстро вовлекаются в реакции с образованием свободных радикалов кислорода. Ионы меди (II), при увеличении их внутриклеточного уровня, незамедлительно переносятся молекулой глутатиона, и МТs предоставляют эффективные и безопасные механизмы внутриклеточного депонирования и дальнейшего транспорта ионов этого металла. Однако участки с избытком Cu-МТ могут быть чувствительны к окислительному стрессу [56]. Прием как эссенциальных, так и неэссенциальных ионов тяжелых металлов (Zn, Cu, Cd, Hg) приводит к усиленному биосинтезу МТ-I и МТ-II путем индукции транскрипции, инициированной после присоединения металла к MRE-связывающему транскрипционному фактору-1 (MTF-1, где MRE – металл-чувствительный элемент). MTF-1 – составной белок «цинковых пальцев» и единственный известный медиатор восприимчивости МТ-I и МТ-II к металлам [31, 41, 57]. На двух клеточных линиях полосатого данио (*Danio rerio*, в английской литературе – *zebra-fish*) продемонстрирована активация МТs без индукции MTF-1 для многих ионов металлов, включая Cu (II) и Zn (II) [58]. В работе [59] выявлены также положительные корреляции ($R_s = 0,93$) между концентрацией стронция в плазме крови и уровнем МТs.

Роль металлотионеинов в окислительном стрессе. Ранее было продемонстрировано, что АФК дозозависимым образом активируют экспрессию мРНК, кодирующую МТ-I и МТ-II, и,

соответственно, увеличивают содержание MTs [60]. Более того, содержание MT-I и MT-II увеличивается в ответ на действие глюкокортикоидов (транскрипция сигнала через глюкокортикоид-чувствительные элементы – GREs) [61]. Катехоламины подобным образом способны активировать транскрипцию генов, кодирующих MT-I и MT-II [62, 63]. Эти гены активируются окислительно-восстановительными флуктуациями, а также в ответ на гипоксию [64].

Таким образом, очевидно, что индукция MTs происходит в условиях окислительного стресса. Этот факт позволяет заключить, что одной из наиболее важных функций MTs в клетке является защита от свободных радикалов. Известно, что АФК вовлечены в многочисленные сигнальные пути клеток, особенно за счет функционирования митохондриальной системы транспорта электронов и NADPH оксидазы в лейкоцитах и макрофагах. Опасность свободных радикалов заключается в их способности повреждать биомолекулы, в том числе ДНК, белки и полиненасыщенные жирные кислоты – основные компоненты клеточных мембран [39].

В клетке существует несколько защитных систем, например антиоксидантные ферменты, такие как каталаза для утилизации пероксида водорода, супероксиддисмутаза (СОД) для утилизации супероксид аниона и глутатион пероксидаза (ГП) для утилизации пероксида водорода и липидных пероксидов. В последнее время в литературе значительное место уделяют шаперонам меди (CCS), которые специфически доставляют ионы меди (II) к локализованной в цитоплазме клеток млекопитающих Zn-СОД (СОД1). Однако количество CCS превышает уровень ионов меди, необходимый для обеспечения в клетках СОД1. Также показано, что нарушение структуры CCS индуцирует накопление Cu (II) в клетках, однако аккумуляция Cu (II) уменьшается путем индукции MTs, снижения экспрессии гена *Ctrl* и увеличения экспрессии гена *Atp7a*, ответственных за поддержание гомеостаза этого микроэлемента [65].

В митохондриях, которые постоянно подвергаются воздействию окислительного стресса, имеются очень эффективные механизмы антиоксидантной защиты, такие как антиоксидантные ферменты – фосфолипидпероксид глутатионпероксидазы (PHGPx), классическая глутатионпероксидаза и Mn-супероксиддисмутаза (Mn-СОД). Более того, такие неспецифичные антиоксиданты, как восстановленный глутатион, церулоплазмин, аскорбиновая кислота, α -кетокислоты (пируват), пуриновые производные (мочевина) и трансферрин, участвуют в поддержании окислительного статуса клеток. Механизмы действия MTs в качестве антиоксидантов до сих пор неизвестны, но антиоксидантная роль MTs млекопитающих изучена хорошо.

В работе [66] в экспериментах *in vitro* продемонстрировано, что MTs способны поглощать свободные гидроксильные радикалы, которые образуются во время радиолитиза. Такая же способность MTs к захвату свободных радикалов продемонстрирована и для органических радикалов. Некоторые исследования фокусируются на демонстрации роли MTs и их антиоксидантных способностей, таких как захват гидроксильных радикалов в водных организмах. Известно, что последние в большей степени подвергаются воздействию загрязнения окружающей среды, вызывая индукцию биосинтеза MTs в определенных тканях, особенно в печени. Этот факт подтверждается локализацией MTs в межмембранном пространстве митохондрий, где осуществляется перенос электронов с помощью цитохрома *c* во время митохондриального дыхания. Более того, этот факт, вероятно, связан с возросшей ролью MTs у водных организмов (двухстворчатых моллюсков и пресноводных рыб). В связи с этим можно заключить, что роль загрязнения окружающей среды, биосинтез MTs и их антиоксидантные способности требуют дополнительного исследования.

К настоящему времени доказана связь между концентрацией в клетках пероксида водорода и уровнем MTs [67]. Показано также, что Zn-MT является сильным защитным и стабилизационным агентом биомембран в условиях ПОЛ. Высвобожденные ионы цинка сами по себе могут служить как регуляторами, так и ингибиторами этого процесса, но в основном в условиях окислительного стресса [68].

Известно, что ионы цинка могут являться антагонистами каталитических свойств редокс-активных переходных металлов, таких как Cu (I, II) и Fe (II, III), которые связаны с образованием супероксиданиона и гидроксильных радикалов [69]. В экспериментах *in vitro* показано, что тиольные кластеры MTs способны хелатировать железо (II, III) с последующим ингибированием реакции Фентона [28]. Ионы железа (II, III) тесно связаны с ионами цинка, что значительно снижает

опосредованную железом генерацию гидроксильных радикалов и конкурентно ингибирует активность в кишечнике цитозольной аконитазы, которая играет важную роль в поддержании лабильного пула железа (основной элемент реакции Фентона) [70].

Известно лишь небольшое количество исследований, указывающих на прямую способность MTs захватывать свободные радикалы *in vitro*. Более того, опубликованные результаты носят противоречивый характер. Так, в работе [71] было показано, что по сравнению с мышами дикого типа у мышей, «нулевых» по MTs, которые получали физиологический раствор с Zn^{2+} , не выявлено никаких изменений в антиоксидантных защитных системах в условиях окислительного стресса, инициированного γ -излучением и 2-нитропропаном. С другой стороны, на той же модельной системе продемонстрирован защитный эффект MTs при озон-индуцированном воспалении легких через регуляцию окислительного стресса [72]. Показано, что GSH сам по себе не играет особо важной роли, поэтому этот защитный эффект можно в полной мере отнести к MTs [73].

В работе [74] изучены роль синтеза GSH и MTs, а также их антиоксидантные свойства. Показано, что MTs «сотрудничают» с GSH в поддержании клеточного редокс-состояния и могут функционировать в качестве вспомогательного антиоксиданта в защитной системе клетки и проявлять свои антиоксидантные свойства только в экстремальных условиях окислительного стресса [75]. Более того, в работе [76], выполненной на клеточных линиях с заблокированным синтезом GSH, обнаружена повышенная функция MTs. При этом предварительная индукция синтеза MTs приводит к значительному ингибированию ПОЛ, индуцированного окислительным стрессом [77]. Дополнительное введение в рацион мышей ионов цинка активирует синтез MTs в кардиомиоцитах [78].

Таким образом, учитывая ранее опубликованные результаты, можно заключить, что роль ионов цинка, его взаимосвязь с Zn-MT и антиоксидантными свойствами требуют дальнейшего изучения.

Роль металлотионеинов в индукции программируемой гибели клеток. Одним из интенсивно изучаемых физиологических процессов в современной биологии является апоптоз, под которым в широком смысле понимают процесс гибели ядерных клеток с характерными признаками запрограммированной смерти. Апоптоз характеризуется переносом фосфатидилсерина из внутреннего монослоя цитоплазматической мембраны в наружный монослой, выходом цитохрома *c* из межмембранного пространства митохондрий в цитоплазму, активацией каспаз (цистеиновых протеаз), образованием АФК, сморщиванием цитоплазматической мембраны и уменьшением объема клетки, разрывом нитей ДНК в межнуклеосомальных участках, конденсацией хроматина по периферии ядра, распадом ядра на части, фрагментацией клеток на апоптотические тельца – везикулы с внутриклеточным содержимым [79].

Таким образом, апоптоз играет важную роль в ряде физиологических процессов, где «нежелательные» клетки физиологически удаляются из многоклеточных организмов [79, 80]. Аномальный апоптоз или нарушение этого процесса (когда клетки теряют способность к программируемой гибели) связаны с аутоиммунными нарушениями или злокачественными новообразованиями. Многими авторами была продемонстрирована связь между свободными радикалами и экспрессией p53, обусловленная окислительным стрессом и апоптозом [81]. В этом случае MTs играют негативную роль в связи с ингибированием активации p53 и ассоциированных апоптотических эффектов [82]. Окислительный стресс, а именно АФК, считаются индукторами апоптоза [83]. О связи между MTs и свободными радикалами упоминалось выше. В ряде экспериментальных работ установлено, что с повышением чувствительности к апоптозу экспрессия MTs снижается. Полученные результаты указывают на то, что сигналы к запуску апоптоза, такие как АФК, устраняются, а негативный эффект металлотионеинов на пролиферацию клеток обусловлен антиоксидантной активностью MTs. При этом высокие уровни MTs и присутствие мутантного p53 связывают с высокой степенью дифференцировки опухоли. В работе [84], выполненной на инвазивной карциноме протоков молочной железы, показано, что повышенный уровень MTs зависит от гистологической стадии опухоли, а результаты недавних исследований [85] продемонстрировали взаимосвязь между субклассификацией опухоли и экспрессией MTs.

Несмотря на отсутствие детальной информации, вероятность того, что существует взаимосвязь между уровнем MTs и p53, очень высока. Это предположение подтверждается результатами

исследований, проведенных на эпителиальных клеточных линиях NM-1 рака молочной железы человека, где продемонстрировано формирование комплекса p53-аро-МТ [86, 87]. Более того, в работе [88], посвященной изучению роли экспрессии МТs и p27 даун-регуляции (которая контролирует G1 фазу клеточного цикла) при раке желудка, обнаружена корреляция между ростом опухолевых клеток и усиленной экспрессией МТs.

Заключение. Таким образом, можно сделать вывод, что наряду с большим количеством различных типов тиолов, играющих важную роль в функционировании клетки, металлотионеины, благодаря их уникальной структуре, способны связывать ионы металлов и захватывать активные формы кислорода. Это свойство используется во многих реакциях, что позволяет МТs играть существенную роль в различных биохимических процессах. Установлено, что функция металлотионеинов заключается в первую очередь в регулировании метаболизма цинка, а их роль в метаболизме кадмия или в качестве антиоксиданта при окислительном стрессе требует дальнейшего изучения, но с учетом влияния МТs на метаболизм цинка. Получение новых знаний о функции металлотионеинов в регулировании метаболизма цинка принципиально важно для интерпретации последствий влияния многочисленных химических (токсины, лекарственные препараты, питательные вещества), физических/механических (УФ, температура, ультразвук) и биологических (воспалительные и другие процессы) факторов на индукцию синтеза металлотионеинов, а также на окислительно-восстановительную и металлоаккумулятивную способность клеток, тканей, органов и всего организма.

Показано, что металлотионеины вовлечены в процессы старения и в развитие множества заболеваний, ассоциированных с окислительным стрессом, а также являются маркерами окислительного стресса как на уровне мРНК, так и на белковом уровне. Тем самым детекция металлотионеинов при различных заболеваниях (в первую очередь онкологических) может быть полезным прогностическим маркером.

Список использованной литературы

1. *Vasak, M.* Metallothioneins: new functional and structural insights / M. Vasak, D. W. Hasler // *Curr. Opin. Chem. Biol.* – 2000. – Vol. 4. – P. 177–183.
2. *Ghoshal, K.* Regulation of metallothionein gene expression / K. Ghoshal, S. T. Jacob // *Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol.* – 2001. – Vol. 66. – P. 357–384.
3. *Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes* / R. B. Klassen [et al.] // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – P. F393–F403.
4. *Foster, A. W.* Promiscuity and preferences of metallothioneins: the cell rules / A. W. Foster, N. J. Robinson // *BMC Biol.* – 2011. – Vol. 9. – P. 1–3.
5. *Haq, F.* Signaling events for metallothionein induction / F. Haq, M. Mahoney, A. Koropatnick // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 533. – P. 211–226.
6. *Torreggiani, A.* Raman spectroscopy a promising technique for investigations of metallothioneins / A. Torreggiani, A. Tinti // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 246–260.
7. *Studies of metal ion binding by apo-metallothioneins attached onto preformed self-assembled monolayers using a highly sensitive surface plasmon resonance spectrometer* / J. N. Chan [et al.] // *Sens. Actuators B Chem.* – 2007. – Vol. 123, N 2. – P. 784–792.
8. *Margoshes, M.* A cadmium protein from equine kidney cortex / M. Margoshes, B. L. Vallee // *J. Am. Chem. Soc.* – 1957. – Vol. 79. – P. 4813–4814.
9. *Sutherland, D. E. K.* The “magic numbers” of metallothionein / D. E. K. Sutherland, M. J. Stillman // *Metallomics.* – 2011. – Vol. 3. – P. 444–463.
10. *Duncan, K. E. R.* Evidence for noncooperative metal binding to the andalpa; domain of human metallothionein / K. E. R. Duncan, M. J. Stillman // *Febs J.* – 2007. – Vol. 274. – P. 2253–2261.
11. *Luber, S.* Theoretical Raman optical activity study of the β domain of rat metallothionein / S. Luber, M. Reiher // *J. Phys. Chem. B.* – 2010. – Vol. 114. – P. 1057–1063.
12. *Duncan, K. E. R.* Metal-Dependent Protein Folding / K. E. R. Duncan, M. J. Stillman // *J. Inorg. Biochem.* – 2006. – Vol. 100. – P. 2101–2107.
13. *Induction, regulation, degradation, and biological significance of mammalian metallothioneins* / A. T. Miles [et al.] // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 35. – P. 35–70.
14. *Simpkins, C. O.* Metallothionein in human disease / C. O. Simpkins // *Cell. Mol. Biol.* – 2000. – Vol. 46. – P. 465–488.
15. *Кутяков, В. А.* Металлотионеины как сенсоры и регуляторы обмена металлов в клетках / В. А. Кутяков, А. Б. Салмина // *Бюл. сибир. медицины.* – 2014. – Т. 13, № 3. – С. 91–99.

16. Huang, Z. X. Neuronal growth-inhibitory factor (metallothionein-3): a unique metalloprotein / Z. X. Huang // *Febs J.* – 2010. – Vol. 277. – P. 2911–2911.
17. Brewer, G. J. Zinc and tetrathiomolybdate for the treatment of Wilson's disease and the potential efficacy of anticopper therapy in a wide variety of diseases / G. J. Brewer // *Metallomics.* – 2009. – Vol. 1. – P. 199–206.
18. Vasak, M. Chemistry and biology of mammalian metallothioneins / M. Vasak, G. Meloni // *J. Biol. Inorg. Chem.* – 2011. – Vol. 16. – P. 1067–1078.
19. Changes in copper distribution in the plasma and kidneys of LEC rats following acute hepatitis / K. T. Suzuki [et al.] // *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.* – 1993. – Vol. 82. – P. 225–232.
20. Lichtlen, P. The “metal transcription factor” MTF-1: biological facts and medical implications / P. Lichtlen, W. Schaffner // *Swiss Med. Wkly.* – 2001b. – Vol. 131. – P. 647–652.
21. Measurement of radical-scavenging ability in hepatic metallothionein of rat using in vivo electron spin resonance spectroscopy / M. Yoshida [et al.] // *Toxicology.* – 2005. – Vol. 213. – P. 74–80.
22. Metallothionein transfers Zn to mitochondrial aconitase through a direct interaction in mouse hearts / W. Feng [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2005. – Vol. 332. – P. 853–858.
23. Formigari, A. Zinc, antioxidant systems and metallothionein in metal mediated-apoptosis: biochemical and cytochemical aspects / A. Formigari, P. Irato, A. Santon // *Comparative Biochem. and Physiol. Part C.* – 2007. – Vol. 146. – P. 443–459.
24. Banerjee, D. Immunohistochemical localization of metallothionein in cell nucleus and cytoplasm of rat liver and kidney / D. Banerjee, S. Onosaka, M. G. Cherian // *Toxicology.* – 1982. – Vol. 24. – P. 95–105.
25. Metallothionein-induced increase in mitochondrial inner membrane permeability / C. Simpkins [et al.] // *J. Surg. Res.* – 1998. – Vol. 75. – P. 30–34.
26. The involvement of metallothioneins in mitochondrial function and disease / J. Z. Lindeque [et al.] // *Curr. Protein Pept. Sci.* – 2010. – Vol. 11. – P. 292–309.
27. Metallothionein-3 regulates lysosomal function in cultured astrocytes under both normal and oxidative conditions / S. J. Lee [et al.] // *Glia.* – 2010. – Vol. 58. – P. 1186–1196.
28. Baird, S. K. Metallothionein protects against oxidative stress-induced lysosomal destabilization / S. K. Baird, T. Kurz, U. T. Brunk // *Biochem. J.* – 2006. – Vol. 394. – P. 275–283.
29. Metallothionein expression in HaCaT and C6 cell lines exposed to cadmium / Y. Nzengue [et al.] // *J. Trace Elem. Med. Biol.* – 2009. – Vol. 23. – P. 314–323.
30. Takahashi, Y. Nuclear trafficking of metallothionein requires oxidation of a cytosolic partner / Y. Takahashi, Y. Ogra, K. T. Suzuki // *J. Cell. Physiol.* – 2005. – Vol. 202. – P. 563–569.
31. Muller, J. Functional metal ions in nucleic acids / J. Muller // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 318–327.
32. Chen, M. D. Tissue metallothionein concentrations in mice and humans with hyperglycemia / M. D. Chen, Y. M. Song // *Biol. Trace Elem. Res.* – 2009. – Vol. 127. – P. 251–256.
33. Insight to physiology and pathology of zinc(II) ions and their actions in breast and prostate carcinoma / J. Gumulec [et al.] // *Curr. Med. Chem.* – 2011. – Vol. 18. – P. 5041–5051.
34. Formigari, A. Efficacy of zinc treatment against iron-induced toxicity in rat hepatoma cell line H4-II-E-C3 / A. Formigari, A. Santon, P. Irato // *Liver Int.* – 2007. – Vol. 27. – P. 120–127.
35. Effects of cadmium and zinc on solar-simulated light-irradiated cells: potential role of zinc-metallothionein in zinc-induced genoprotection / E. Jourdan [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2002. – Vol. 405. – P. 170–177.
36. Enhancement of nuclear localization of metallothionein by nitric oxide / Y. Ogra [et al.] // *J. Health Sci.* – 2008. – Vol. 54. – P. 339–342.
37. Maret, W. Coordination dynamics of zinc in proteins / W. Maret, Y. Li // *Chem. Rev.* – 2009. – Vol. 109. – P. 4682–4707.
38. Krizkova, S. Study of metallothionein oxidation by using of chip CE / S. Krizkova, V. Adam, R. Kizek // *Electrophoresis.* – 2009. – Vol. 30. – P. 4029–4033.
39. Enhanced metallothionein gene expression induced by mitochondrial oxidative stress is reduced in phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase-overexpressed cells / Y. Kadota [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 626. – P. 166–170.
40. Role of metallothionein as a protective factor against radiation carcinogenesis / K. Shibuya [et al.] // *J. Toxicol. Sci.* – 2008. – Vol. 33. – P. 651–655.
41. Brown, D. R. Metalloproteins and neuronal death / D. R. Brown // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 186–194.
42. Howells, C. Neuronal growth-inhibitory factor (metallothionein-3): evaluation of the biological function of growth-inhibitory factor in the injured and neurodegenerative brain / C. Howells, A. K. West, R. S. Chung // *Febs J.* – 2010. – Vol. 277. – P. 2931–2939.
43. Metallothionein-3 deficient mice exhibit abnormalities of psychological behaviors / A. Koumura [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2009. – Vol. 467. – P. 11–14.
44. Metallothionein-3 is expressed in the brain and various peripheral organs of the rat / I. Hozumi [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2008. – Vol. 438. – P. 54–58.
45. Wang, B. PCR arrays identify metallothionein-3 (MT-3) as a highly hypoxia-inducible gene in human adipocytes / B. Wang, I. S. Wood, P. Trayhurn // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2008. – Vol. 368. – P. 88–93.
46. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity / B. Wang [et al.] // *Proc. Nutr. Soc.* – 2009. – Vol. 68, N 4. – P. 370–377.
47. Metallothionein in radiation exposure: its induction and protective role / L. Cai [et al.] // *Toxicology.* – 1999. – Vol. 132. – P. 85–98.

48. Anthracyclines and ellipticines as DNA-damaging anticancer drugs: recent advances / R. Kizek [et al.] // *Pharmacol. Ther.* – 2012. – Vol. 133. – P. 26–39.
49. Modelling metallothionein induction in the liver of *Sparus aurata* exposed to metal-contaminated sediments / P. M. Costa [et al.] // *Ecotox. Environ. Safe.* – 2008. – Vol. 71. – P. 117–124.
50. Induction and metal speciation of metallothionein in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) along a metal pollution gradient / D. Rogival [et al.] // *Environ. Toxicol. Chem.* – 2007. – Vol. 26. – P. 506–514.
51. *Hamza-Chaffai, A.* Relationship between metallothioneins and metals in a natural population of the clam *Ruditapes decussatus* from Sfax coast: a non-linear model using Box-Cox transformation / A. Hamza-Chaffai, J. C. Amiard, R. P. Cosson // *Comp. Biochem. Physiol. C Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* – 1999. – Vol. 123. – P. 153–163.
52. *Sabolic, I.* Common mechanisms in nephropathy induced by toxic metals / I. Sabolic // *Nephron Physiol.* – 2006. – Vol. 104. – P. 107–114.
53. Cloning of a river pufferfish (*Takifugu obscurus*) metallothionein cDNA and study of its induction profile in cadmium-exposed fish / J. H. Kim [et al.] // *Chemosphere.* – 2008. – Vol. 71. – P. 1251–1259.
54. *Andrews, G. K.* Regulation of metallothionein gene expression by oxidative stress and metal ions / G. K. Andrews // *Biochem. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 59. – P. 95–104.
55. *Kilic, G. A.* Effects of exogenous metallothionein against thallium-induced oxidative stress in rat liver / G. A. Kilic, M. Kutlu // *Food Chem. Toxicol.* – 2010. – Vol. 48. – P. 980–987.
56. *Suntres, Z. E.* Prooxidative effect of copper-metallothionein in the acute cytotoxicity of hydrogen peroxide in Ehrlich ascites tumour cells / Z. E. Suntres, E. M. K. Lui // *Toxicology.* – 2006. – Vol. 217. – P. 155–168.
57. *Blindauer, C. A.* Cytosolic metal handling in plants: determinants for zinc specificity in metal transporters and metallothioneins / C. A. Blindauer, R. Schmid // *Metallomics.* – 2010. – Vol. 2. – P. 510–529.
58. *Cheuk, W. K.* Cytotoxicities and induction of metallothionein (MT) and metal regulatory element (MRE)-binding transcription factor-1 (MTF-1) messenger RNA levels in the zebrafish (*Danio rerio*) ZFL and SJD cell lines after exposure to various metal ions / W. K. Cheuk, P. C. Y. Chan, K. M. Chan // *Aquat. Toxicol.* – 2008. – Vol. 89. – P. 103–112.
59. Electrochemical Investigation of Strontium-Metallothionein Interactions – Analysis of Serum and Urine of Patients with Osteoporosis / I. Fabrik [et al.] // *Electroanalysis.* – 2009. – Vol. 21. – P. 650–656.
60. Megalin mediates renal uptake of heavy metal metallothionein complexes / R. B. Klassen [et al.] // *Am. J. Physiol.-Renal Physiol.* – 2004. – Vol. 287. – P. F393–F403.
61. A pair of adjacent glucocorticoid response elements regulate expression of two mouse metallothionein genes / E. J. Kelly [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 1997. – Vol. 94. – P. 10045–10050.
62. Covalent arylation of metallothionein by oxidized dopamine products: a possible mechanism for zinc-mediated enhancement of dopaminergic neuron survival / M. A. Gauthier [et al.] // *Neurotox. Res.* – 2008. – Vol. 14. – P. 317–328.
63. *Eibl, J. K.* Zinc-metallothionein: a potential mediator of antioxidant defence mechanisms in response to dopamine-induced stress / J. K. Eibl, Z. Abdallah, G. M. Ross // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* – 2010. – Vol. 88. – P. 305–312.
64. Metallothionein induction by hypoxia involves cooperative interactions between metal-responsive transcription factor-1 and hypoxia-inducible transcription factor-1alpha / B. J. Murphy [et al.] // *Mol. Cancer Res.* – 2008. – Vol. 6. – P. 483–490.
65. Roles of copper chaperone for superoxide dismutase 1 and metallothionein in copper homeostasis / T. Miyayama [et al.] // *Metallomics.* – 2011. – Vol. 3. – P. 693–701.
66. *Thornalley, P. J.* Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals / P. J. Thornalley, M. Vasak // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1985. – Vol. 827. – P. 36–44.
67. *Kling, P. G.* Involvement of differential metallothionein expression in free radical sensitivity of RTG-2 and CHSE-214 cells / P. G. Kling, P. E. Olsson // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28. – P. 1628–1637.
68. *Suntres, Z. E.* Antioxidant effect of zinc and zinc-metallothionein in the acute cytotoxicity of hydrogen peroxide in Ehrlich ascites tumour cells / Z. E. Suntres, E. M. K. Lui // *Chem.-Biol. Interact.* – 2006. – Vol. 162. – P. 11–23.
69. *Powell, S. R.* The antioxidant properties of zinc / S. R. Powell // *J. Nutr.* – 2000. – Vol. 130, N 5S. – P. 1447S–1454S.
70. *Sreedhar, B.* Iron dependence and zinc inhibition of duodenal cytosolic aconitase of rat / B. Sreedhar, K. M. Nair // *Indian J. Biochem. Biophys.* – 2004. – Vol. 41. – P. 250–253.
71. Using MT(–/–) mice to study metallothionein and oxidative stress / C. C. Conrad [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 28. – P. 447–462.
72. Role of metallothionein in lung inflammation induced by ozone exposure in mice / K. Inoue [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2008. – Vol. 45. – P. 1714–1722.
73. Glutathione deficient C57BL/6J mice are not sensitized to ozone-induced lung injury / E. Johansson [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 396. – P. 407–412.
74. *Nordberg, J.* Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system / J. Nordberg, E. S. J. Arner // *Free Radic. Biol. Med.* – 2001. – Vol. 31. – P. 1287–1312.
75. Metallothionein-enriched hepatocytes are resistant to ferric nitrilotriacetate toxicity during conditions of glutathione depletion / K. S. Min [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2005. – Vol. 158. – P. 108–115.
76. Involvement of oxidative stress in paraquat-induced metallothionein synthesis under glutathione depletion / I. Nakagawa [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 1998. – Vol. 24. – P. 1390–1395.
77. Metallothionein alleviates oxidative stress-induced endoplasmic reticulum stress and myocardial dysfunction / R. Guo [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 2009. – Vol. 47. – P. 228–237.

78. Cardiac metallothionein induction plays the major role in the prevention of diabetic cardiomyopathy by zinc supplementation / J. X. Wang [et al.] // *Circulation*. – 2006. – Vol. 113. – P. 544–554.
79. *Вересов, В. Г.* Структурная биология апоптоза / В. Г. Вересов. – Минск: Беларус. навука, 2008. – 398 с.
80. *Raff, M.* Cell suicide for beginners / M. Raff // *Nature*. – 1998. – Vol. 396. – P. 119–122.
81. Metallothionein is a potential negative regulator of apoptosis // R. Shimoda [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2003. – Vol. 73. – P. 294–300.
82. Angiotensin II-induced p53-dependent cardiac apoptotic cell death: its prevention by metallothionein / Q. J. Liu [et al.] // *Toxicol. Lett.* – 2009. – Vol. 191. – P. 314–320.
83. Modulation of anti-IgM-induced B cell apoptosis by Bcl-xL and CD40 in WEHI-231 cells. Dissociation from cell cycle arrest and dependence on the avidity of the antibody-IgM receptor interaction / R. Merino [et al.] // *J. Immunol.* – 1995. – Vol. 155. – P. 3830–3838.
84. Over-expression of metallothionein predicts chemoresistance in breast cancer / X. L. Yap [et al.] // *J. Pathol.* – 2009. – Vol. 217. – P. 563–570.
85. Metallothionein as a useful marker in Hodgkin lymphoma subclassification / M. Penkowa [et al.] // *Leuk. Lymphoma*. – 2009. – Vol. 50. – P. 200–210.
86. *Ostrakhovitch, E. A.* Role of p53 and reactive oxygen species in apoptotic response to copper and zinc in epithelial breast cancer cells / E. A. Ostrakhovitch, M. G. Cherian // *Apoptosis*. – 2005. – Vol. 10. – P. 111–121.
87. Interaction of metallothionein with tumor suppressor p53 protein / E. A. Ostrakhovitch [et al.] // *FEBS Lett.* – 2006. – Vol. 580. – P. 1235–1238.
88. p27 downregulation and metallothionein overexpression in gastric cancer patients are associated with a poor survival rate / G. Galizia [et al.] // *J. Surg. Oncol.* – 2006. – Vol. 93. – P. 241–252.

Поступила в редакцию 11.11.2015