

# ПРОБЛЕМНАЯ СТАТЬЯ

## ВОЗМОЖНОСТИ ГАММА-РЕЗОНАНСНОЙ (МЁССБАУЭРОВСКОЙ) СПЕКТРОСКОПИИ В ОЦЕНКЕ ВЛИЯНИЯ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ АПОПТОЗА

### POSSIBILITY OF GAMMA-RESONANS SPECTROSCOPY (MOSSBAUER SPECTROSCOPY) IN ESTIMATION OF THE INFLUENCE OF TRACE ELEMENTS ON REGULATION OF APOPTOSIS

Н.И. Калетина<sup>1\*</sup>, Г.И. Калетин<sup>2</sup>, А.И. Брусиловский<sup>3</sup>  
N.I. Kaletina<sup>1\*</sup>, G.I. Kaletin<sup>2</sup>, A.I. Brusilovskiy<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГОУ ВПО ММА им. И.М. Сеченова, кафедра токсикологической химии.

<sup>2</sup> Институт доклинической и клинической экспертизы лекарственных средств ФГУ «НЦ ЭСМП» МЗСР РФ.

<sup>3</sup> Dr. AIB's Private Histology, Лос-Анжелес, США.

<sup>1</sup> I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, Department of Toxicological Chemistry.

<sup>2</sup> Institute before clinical and clinical assessment of medicines FSA Department of Health and Social Development RF.

<sup>3</sup> Dr. Aib's Private Histology, Los Angeles, USA.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** апоптоз, микроэлементы, N-гликозиламины, комплексы, ГРС, клатраты, железо, кобальт, токсичность, экология

**KEY WORDS:** apoptosis, trace elements, N-glycosylamines, GRS, complexes, clutrates, iron, cobalt, toxicity, ecology

«Маленьким ключом можно открыть большой сундук»  
Аварская пословица

**РЕЗЮМЕ:** Проанализированы материалы по фундаментальной проблеме биологии и медицины программированной клеточной гибели – апоптоза – под влиянием различных химических форм микроэлементов (кобальта и железа).

Благодаря высокой чувствительности метода гамма-резонансной (ГРС) спектроскопии, возможно установить влияние структуры комплексов (клатратов) железа и кобальта с N-гликозиламины на регуляцию апоптоза *Paramecium caudatum*. Применение мёссбауэровской спектроскопии позволяет контролировать динамику процесса апоптоза *P. caudatum*. Клатраты кобальта угнетают конъюгацию *P. caudatum*. Активность комплексов  $Fe^{2+}$  и  $Fe^{3+}$  с одинаковыми лигандами в регуляции апоптоза *P. caudatum* различна. Мёссбауэровская спектроскопия может быть использована

как метод контроля за состоянием окружающей среды по загрязнению соединениями железа и кобальта, а также в оценке формирования ответных реакций организма на экстремальные воздействия.

**SUMMARY:** Materials on a fundamental phenomenon in biology and medicine, programmed cell loss – apoptosis – under the influence of different forms of trace elements (iron, cobalt) are analyzed. Owing to the high sensitivity of gamma-resonance spectroscopy, it was possible to establish the influence of the structure of the iron and cobalt complexes with the N-glycosylamines on regulation of apoptosis in *Paramecium caudatum*. The Mossbauer spectroscopy enables one to check up the dynamics of processes of apoptosis in *P. caudatum*. The clutrates of cobalt with bioligands depress the conjugation of *P. caudatum*. Bioactivity of the complexes of  $Fe^{2+}$  and  $Fe^{3+}$  with the same ligands, salts of  $Fe^{2+}$  and  $Fe^{3+}$  on regulation of apoptosis in *P. caudatum* are different. Mossbauer spectroscopy can be used as an environment control method in compounds polluted with iron and cobalt, as well as in estimation of the creation reciprocal reactions of the body to the extreme exposures has been shown.

\*Адрес для переписки:

Калетина Наталья Ивановна  
Россия, Москва, 121019, Никитский бульвар, д.13  
ГОУ ВПО ММА им. И.М. Сеченова,  
Кафедра токсикологической химии  
E-mail: among@mail.ru

Среди наиболее опасных и наименее контролируемых угроз человечеству большинство экспертов различных стран называют биотерроризм и «экологические» войны. Особое внимание привлекают биоагенты, содержащие «гены-убийцы», могущие оказать необратимое разрушительное влияние на организм и, в частности, гены, кодирующие белки, которые, в свою очередь, контролируют апоптоз.

Механизм апоптоза – это регуляция расщепления и деградации ДНК ядра клетки с участием белков семейства bcl-2. Регуляция осуществляется белковой продукцией проапоптотического гена Вах и антиапоптотического гена bcl-2. Жизнь клетки возможна только при сохранении баланса проапоптотических белков и антиапоптотических белков семейства bcl-2. При увеличении проапоптотических белков развивается гибель клетки, при увеличении антиапоптотических белков – иммортализация («вечное» существование). Например, повышенная активация апоптоза является звеном патогенеза СПИД, нейродегенеративных и миелодиспластических заболеваний, а также ишемических повреждений разных органов. Ингибирование клеточной гибели определяет опухолевые поражения различной природы, аутоиммунные и вирусные заболевания. В эмбриогенезе нарушение апоптоза клеток приводит к внутриутробной гибели плода, врожденным уродствам, злокачественным новообразованиям (Пальцев и др., 2004).

В отличие от некроза, когда одновременно гибнут массы соседствующих клеток, апоптоз развивается изолированно в единичных клетках. Апоптоз – это коллапс ядра клетки, на биохимическом уровне реализующийся фрагментацией и деградацией ДНК вследствие активации эндонуклеаз (конденсация и фрагментация хроматина). Апоптоз может регулироваться различными внутренними и внешними сигналами. Остановимся на обсуждении способности микроэлементов (МЭ) индуцировать или блокировать механизм апоптоза. Ведущим внутриклеточным супрессором апоптоза выступает протоонкоген bcl-2. С помощью различных методов bcl-2 обнаружен в ядерной оболочке, эндоплазматическом ретикулуме (на цитозольной стороне) и наружной митохондриальной мембране. Недавние исследования показали, что белок bcl-2 локализован в митотическом ядре, входит в состав комплекса ядерной поры, участвует в регулировании ядерного транспорта. Известно, что пространство между наружной и внутренней ядерными мембранами содержит значительные запасы внутриклеточного  $Ca^{2+}$ , играющего важнейшую роль в клеточной гибели. Литература по этому вопросу обширна. Как известно, ионы ряда металлов:  $Ni^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  и других могут вызывать мутации или повреждение Rb-гена, что приводит к клонированию мутировавшей клетки.

Белки семейства bcl-2 и другие способны проникать в липидный бислой мембран и формировать рН-чувствительные ионные каналы, которые переносят катионы металлов в виде комплексов согласно кинетическим закономерностям. Таким образом, bcl-2 выступает транспортером различных металлов, что

подчеркивает общность механизма взаимодействия МЭ с апоптотическим аппаратом. В генной регуляции апоптоза играют важную роль ингибитор апоптоза – белок bcl-2, обладающий антиоксидантными свойствами, действующий подобно свободно-радикальной ловушке, и другой регулятор генной стабильности – p53. Например, апоптоз, индуцированный агентами, вызывающими разрывы ДНК (металлы, радиация), зависит от транскрипции p53. В доступной нам литературе есть информация о синергизме и антагонизме МЭ в реализации геноповреждающего действия (Koudfine, 1998). Известно, что Cr, Pb, Hg, Cd проявляют синергизм в реализации генотоксического эффектов. Другая группа: Se – Mo, Ni, As, Hg, Cr; As – Zn, Se; Zn – Ni, Pb, Fe, Cu, Cd, Hg, As; Pb – Mn, Co, Fe, Cu, Zn; Co – Pb, Cd; Fe – Mn, Cd, Cu, Hg, Zn, Ni, Pb; Cu – Pb, Fe, Cd, Zn; Cd – Mn, Co, Fe, Cu, Zn, Hg, Se; Hg – Fe, Cd, Se, Zn проявляет антагонизм в реализации геноповреждающего действия.

Металлы, как индукторы ПОЛ, свободные радикалы, p53 и bcl-2 оказываются тесно связанными. МЭ, подавляющие радикал-индуцированный апоптоз, способствуют стабилизации генома и предупреждению гибели клеток. Анализ развития технологий типирования показывает, что в ближайшие 2-3 года технически станет возможным определение значимых вариаций соотношений уровней МЭ, коррелирующих с генетической информацией ДНК. Обмен, транспорт, депонирование и элиминирование ионов металлов объясняются их способностью участвовать в процессах комплексообразования с эндогенными и экзогенными лигандами. Интенсивность и особенности реагирования организма на дисбаланс микроэлементов (МЭ) или лигандов (L) индивидуальны и связаны с генетическими механизмами гомеостаза.

Поддержание стабильного уровня внутриклеточных МЭ является важнейшим фактором клеточного гомеостаза. Учитывая специфическое влияние различных МЭ на регуляцию апоптоза, дисбаланс МЭ опосредованно может стать пусковым механизмом нарушения апоптоза. Хорошо известно, что дисбаланс МЭ может быть следствием как неполноценного питания, социально-экономического неблагополучия, природных условий геобиопровинций, в почвах и водах которых очень низкое или очень высокое содержание тех или иных МЭ, интоксикации, вызванной введением различных групп токсикантов (например, введением ряда лекарственных препаратов, этанола или наркотиков), так и следствием нетрадиционной биотеррористической атаки или непродуманных медико-профилактических мероприятий типа всеобщей йодной профилактики, «борьбы» с анемией, использованием в детских учреждениях мультиминеральных смесей с витаминами различных химических групп и т.д. Обсудим реальность опасности на примере соединений железа и кобальта. Железо – важнейший эссенциальный МЭ. Однако хорошо известно, что ионы  $Fe^{2+}$  – как индукторы ПОЛ – провоцируют разрывы ДНК, участвуют в мутагенезе и канцерогенезе. С другой стороны, *in vivo* железо находится в виде комплексов в составе трансферрина,

лактоферрина и ферритина, которые обрывают цепь дальнейших реакций повреждения генома. Обладает ли железо генотоксичным эффектом?

Ионы кобальта  $Co^{2+}$ , подобно ионам  $Fe^{2+}$ , индуцируют ПОЛ, подавляют репарацию ДНК и обладают комутагенными с  $Ni^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$  эффектами, запускают синтез противовоспалительного цитокина TNF- $\alpha$ , вызывающего апоптоз и некроз клеток-мишеней. Фактор некроза опухолей (TNF- $\alpha$ ) является одним из основных медиаторов воспаления и участвует в иммунных реакциях, связанных с трансформированными клетками. В 308 положении гена существует генетический полиморфизм приводящий к повышению уровня продукции белка. Например, была показана ассоциация между присутствием вариантного аллеля и повышенным риском развития рака молочной железы (Chouchne L. et al. 1997). Относительно длительная экспозиция (около месяца) солями кобальта вызывает образование опухолей легких и фибросарком. Является ли ион  $Co^{2+}$  генотоксичным?

Согласно литературным и собственным экспериментальным данным органические комплексы железа и кобальта стабилизируют геном, однако в ионизированном состоянии эти элементы могут вызывать повреждение ДНК и провоцировать смерть клетки (Калетина и др., 1995; Дешмух и др., 2003)

Постоянно растет число работ о влиянии различных факторов на содержание железа и, самое главное, на восстановление внутриклеточного баланса этого элемента в организме (Lauffer, 1992; Oberleas, 1997, 2000; Beattie, 1998; Kaletina, 1991). К настоящему времени идентифицированы IRE (iron response element) – железо-отвечающие элементы, регулирующие метаболизм железа, как в норме, так и при патологии. Эти структуры находятся в иРНК и регулируют трансляцию иРНК трансферринового рецептора на посттранскрипционном уровне. Когда внутриклеточная концентрация железа достаточно высокая, образуются комплексы Fe(II)-IBP (железо-связывающий белок), которые не соединяются с IRE, что дестабилизирует иРНК трансферринового рецептора. Снижение экспрессии рецепторов к трансферрину на клеточной поверхности ограничивает поступление железа (Ross, 1995; Oria, 1995). Однако эта модель действует только в диапазоне адаптационных возможностей организма.

Ранее нами были синтезированы комплексы Fe(II) и Fe(III) с N-гликозилированным производным адамантана, обладающие в отличие от исходного лиганда сильным бактериостическим и бактерицидным эффектом соответственно (Калетина, 2003). Структуры комплексов установлены методами ГРС, ИКС, ПМР. Влияние комплексов и солей железа на изменение баланса МЭ изучено методом ИСП-МС – масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (Kaletina, 2004). Для комплексов Fe(II) и Fe(III) с производным адамантана, несмотря на достаточно большое содержание железа в них (около 5%), зарегистрирована низкая вероятность эффекта Мессбауэра, что обусловлено отсутствием жестких внутри- и межмолекулярных связей, высокой внут-

римолекулярной подвижностью иона железа.

Метод мессбауэровской, или гамма-резонансной (ГРС), спектроскопии является прямым методом определения электронного состояния железа и дает возможность рассматривать роль железа в структуре комплекса в зависимости от ближайшего лигандного окружения, значений pH среды, степени гидратации, а также определить, в какой форме (Fe(II) или Fe(III), ионогенной или ковалентной) оно находится в образце. Гамма-резонансные измерения проводили на установке электродинамического типа с постоянным ускорением; источник –  $^{60}Co$  в матрице хрома. Значения изомерных сдвигов получены относительно нитропрусида натрия.

Замороженные растворы образцов в диметилформамиде готовили впрыскиванием диметилформамидного раствора образца в жидкий азот, чтобы избежать кристаллизации соединений из раствора. ГР спектры полученных комплексов отличаются от спектров исходных хлоридов железа. Параметры ГР спектров характерны для октаэдрических высокоспиновых комплексов Fe(II) и Fe(III). ГР спектры замороженных растворов комплексов в диметилформамиде не отличаются в пределах ошибки от ГР спектров этих же образцов в твердом состоянии. Это указывает на отсутствие межмолекулярной координации и на вхождение хлорид-ионов в первую координационную сферу как в твердом состоянии, так и в замороженных растворах. Мессбауэровские спектры растворов комплекса Fe(II) с N-гликозилированным производным адамантана выявляют наличие ионов Fe(II) с параметрами: изомерный сдвиг  $\delta = 1,51 \pm 0,03$  мм/с, квадрупольное расщепление  $\Delta E = 3,00 \pm 0,10$  мм/с. Мессбауэровские спектры растворов комплекса Fe(III) с N-гликозилированным производным адамантана выявляют наличие ионов Fe(III) с параметрами: изомерный сдвиг  $\delta = 0,68 \pm 0,03$  мм/с, квадрупольное расщепление  $\Delta E = 2,34 \pm 0,10$  мм/с. Большая величина квадрупольного расщепления октаэдрического высокоспинового комплекса Fe(III) указывает на резко асимметричную структуру центрального узла и характерна для плоских комплексов Fe(III). По видимому, комплекс Fe(III) образует искаженную (вытянутую) структуру октаэдра. При изучении токсичности полученных комплексов было установлено, что наименее искаженная структура октаэдрического высокоспинового комплекса Fe(II) имеет значительно меньшую острую токсичность и обладает бактериостическим эффектом. Плоский комплекс Fe(III) обладает бактерицидным действием.

Влияние синтезированных комплексов на регуляцию апоптоза изучали в модельном эксперименте. Объектами исследования были выбраны *Ragataesium caudatum*. Железо вносили в среду в виде синтезированных адамантановых комплексов Fe(II) и Fe(III) и в ионогенном состоянии (хлориды и сульфаты) под контролем ГРС. После культивирования в указанных средах при определенных экспозициях *Ragataesium caudatum*, отмытые в центрифуге физиологическим раствором, исследовали методом ГРС в виде влажной пасты и в высушенном состоянии при комнатной

температуре и температуре жидкого азота. ГР спектры различных образцов показывают отсутствие единого механизма железотрансформации *P. caudatum* при потреблении железа в различной форме (ионогенной или ковалентной) и максимальный эффект поглощения железа при внесении в среду комплексов N-гликозилированных производных адамантана.

Биокомплекс Fe(II) не проявлял угнетающего действия на репродуктивную функцию, в частности, на возможность конъюгации. Для *P. caudatum* характерно как бесполое размножение, так и конъюгация (обмен генетической информацией с последующим митотическим делением). Действие комплекса Fe(III) с N-гликозилированным производным адамантана в отличие от адамантанового комплекса Fe(II) и свободного лиганда приводило к гибели *P. caudatum*, что связано, по-видимому, с избирательным транспортом и метаболизмом железа. Известно о способностях живых организмов образовывать магнетит (оксид железа смешанной валентности). У *Paramecium caudatum* магнетит находится в форме однородных по размерам одиночных магнитных доменов. На основе результатов, полученных с помощью просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения, и данных ГРС, была предложена гипотеза образования магнетита в *P. caudatum*: комплекс Fe(III) проходит через плазматическую мембрану, во внутренней водной среде происходит разрушение комплекса, а в мембране магнитосомы происходит образование гидроксида Fe(III), который трансформируется в магнетит. Начальные реакции этой схемы аналогичны образованию «ядра» из ферригидрата у железозапасающего белка ферритина. Стадия преобразования гидроксида Fe(III) в магнетит согласуется с результатами ГРС. У *P. caudatum* кристаллы магнетита расположены рядом с образованиями, имеющими аморфную структуру. По-видимому, формирование этих кристаллов идет под контролем регуляторных систем, а не путем пассивной кристаллизации. Образующийся значительный избыток магнетита в *P. caudatum* при поглощении комплекса Fe(III) (но не комплекса Fe(II) с N-гликозилированным производным адамантана!) является прогностическим признаком гибели клетки при избыточном поглощении железа. Явление биомagnetизма свойственно многим живым объектам – от бактерий до человека. Однако функции магнетита и механизмы его биосинтеза, локализации и трансформации изучены недостаточно. При морфологическом изучении погибшей *Paramecium caudatum* констатировали ее апоптоз. Комплекс Fe(III) с N-гликозилированным производным адамантана в отличие от адамантанового комплекса Fe(II) и свободного лиганда вызывал деградацию ДНК ядра *P. caudatum*: образование крупных фрагментов ДНК, содержащих 700, 200-250, 50-70 тыс. пар оснований, конденсацию хроматина и выпячивание ядерной мембраны, характерные для апоптоза. В эксперименте был использован метод электрофореза ДНК апоптотических клеток для подтверждения следующего этапа фрагментации ДНК – межнуклеосомной деградации, т.е. расщепления

в результате формирования дунитевых разрывов между нуклеосомами с формированием фрагментов, равных протяженности нити ДНК в нуклеосоме или кратных по величине. При деградации ДНК образуются амфотерные полидезоксирибонуклеотиды, определение которых стало возможным при использовании нового типа окраски клетки (AB\*HE), разработанного профессором биологии А. Брусиловским (Brusilovskiy, 2004). Были проведены диагностические исследования, выявляющие связь между активностью генов и общими фенотипами, получаемыми при окрасках AB\*HE. Амфотерные продукты протеолиза внутриклеточных ядерных белков – ламина В, топоизомеразы I, гистона P1, которые являются маркером апоптоза, вызванного TNF- $\alpha$ , были обнаружены также при помощи метода окраски по Брусиловскому. Причем время приготовления препарата составляло 20-30 сек. вместо обычных 10-15 мин. Из литературы известно, что при апоптозе происходит активация фермента поли-(ADP-рибоза) полимеразы, которая активируется при возникновении разрывов ДНК и обуславливает перенос ADP-рибозного комплекса с NAD на белки; вследствие этого истощается пул NAD и на его восстановление тратится АТФ, снижение содержания которой в клетке также регистрируется при апоптозе (Кудрин и др., 2000). По нашим данным, полученным методами автордиографии и флюоресцентного зонда, содержание АТФ достоверно снижалось более чем в 3 раза.

Минимальные ингибирующие концентрации сульфатов и хлоридов Fe(II) и Fe(III) не отличались в пределах ошибки и составили, в среднем, 0,8 и 0,6 мг/мл соответственно. Использование хлоридов Fe(II) и Fe(III) в концентрации 0,07 мг/мл в течение 15 дней вызывало перманентную гибель *P. caudatum*, сопровождавшуюся деградацией ДНК ядра.

Аналогичный эксперимент проводили, используя хлорид Co(II), и биокомплекс Co(II) с N-гликозилированным производным адамантана.

Экспериментальные результаты измерений образцов *P. caudatum*, полученные методом ГРС, показали отсутствие единого механизма трансформации кобальта и максимальный эффект поглощения кобальта при внесении в среду комплекса N-гликозилированного адамантана. Структура комплекса ранее определена методами ПМР, ИКС и ГРС. Влияние комплекса и соли кобальта на изменение баланса МЭ изучено методом ИСП-МС – масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (Kaletina, 2003). Биокомплекс Co(II) проявлял значительное угнетающее действие на репродуктивную функцию, в частности, на возможность конъюгации.

При понижении температуры измерений было обнаружено, что ГР спектры образцов *Paramecium caudatum*, обитавших в растворе биокомплекса Co(II), имеют магнитную сверхтонкую структуру (СТС). Наличие внутренних магнитных полей на ядрах, проявляющееся в магнитной сверхтонкой структуре ГР спектров, связано с особенностями электронной структуры комплексных соединений. Внутренние

поля на ядрах возникают в случае парамагнитных комплексов (в комплексах парамагнитным центром обычно является металл) за счет магнитного момента электронной оболочки, при этом магнитное взаимодействие ядерного и электронного магнитных моментов наиболее эффективно проявляется в ГР спектрах, если магнитный момент комплекса локализован на мессбауэровском атоме.

ГР спектры изученных образцов представляют собой дублеты с двумя системами магнитной сверхтонкой структуры в различном соотношении по интенсивности ( $H_{\text{эфф}} = 450$  кэ и 400 кэ при 800 К). Наличие магнитной СТС в ГР спектрах может указывать на то, что исследуемые соединения являются не чистым продуктом, а смесью, причем одним из компонентов смеси могут быть частицы гидроокиси, покрытые свободными лигандами. Данные рентгенофазового анализа, которым был исследован биокomплекс, отрицают наличие частиц гидроокиси кобальта. Учитывая совокупность результатов исследования, полученных методами ГРС, ИКС, ПМР, рентгенофазового анализа, электронной микроскопии можно считать, что продукты взаимодействия  $\text{Co(II)}$  с биолигандами *P. caudatum* представляют собой клатраты – неорганические полимерные структуры, в которые включены эти биолиганды, удерживаемые силами межмолекулярного взаимодействия.

Минимальная ингибирующая концентрация хлорида  $\text{Co(II)}$  составила 0,06 мг/мл. Использование хлорида  $\text{Co(II)}$  в концентрации 0,006 мг/мл в течение 15 дней вызывало гибель *P. caudatum*, сопровождавшуюся деградацией ДНК ядра.

Экспериментальные результаты, полученные на модельных системах *P. caudatum*, показали возможность выявления корреляции между физиологическим действием металлов, их биокomплексов и изменением электронной структуры центрального атома. МЭ в зависимости от ближайшего лигандного окружения, значений pH среды, степени окисления, ионогенной или ковалентной формы нахождения в образце по разному действуют на клетку и опосредованно влияют на регуляцию апоптоза. В многоклеточном организме взаимодействие между клетками происходит не только механически, но и коммуникационно. Существуют многочисленные механизмы передачи и обмена информацией между клетками. Сигнальные молекулы – первичные мессенджеры – пересекают плазмолемму несколькими путями, в том числе, путем изменения ионных каналов. Известно три группы сигнальных молекул трансдукции: небольшие липофильные молекулы, диффундирующие через плазмолемму мембраны; липофильные молекулы, взаимодействующие с рецепторами клеточной поверхности; гидрофильные молекулы, взаимодействующие с рецепторами клеточной поверхности (Пальцев, 2004). Две последние группы реагируют с рецепторами (мембранными протеинами) на клеточной поверхности, формируют молекулы вторичных мессенджеров – молекул, передающих сигнал внутрь цитоплазмы, и запускают каскад внутриклеточных сигналов, приводящих

в итоге к тем или иным физиологическим эффектам. Различают три больших класса рецепторов клеточной поверхности: рецепторы, содержащие 1 трансмембранный домен; рецепторы, содержащие 7 трансмембранных доменов; рецепторы, содержащие 4 трансмембранных домена. Последний класс рецепторов служит регулятором работы ионных каналов. Связывание с лигандами приводит к изменению конформации рецептора и открытию или закрытию ионных каналов, изменению проницаемости плазмолеммы для определенного иона. В зависимости от механизма передачи сигнала рецепторы клеточной поверхности подразделяются на 4 класса: рецепторы, сопряженные с G-белками, которые активируют или ингибируют специфические вторичные мессенджеры (через G-белки также осуществляется регуляция ионных каналов); рецепторы, регулирующие только ионные каналы; рецепторы, ассоциированные с цитозольными тирозиновыми протеинкиназами; каталитические рецепторы, проявляющие ферментативную активность. Все перечисленные механизмы в той или иной степени связаны с участием ионов металлов-макро- и микроэлементов.

Известны признаки генетического оружия: медленные темпы воздействия, высокая специфичность, абсолютная физиологичность эффекта, неконтролируемость применения и производства, многообразие средств доставки. (Пальцев и др., 2004).

Взаимодействия "МЭ-апоптоз" имеют различную степень специфичности в каждом конкретном случае и зависят от типа МЭ, вида соединения, времени и дозы при экспозиции. (Koudrine A. V., 1998). Условно можно выделить 2 группы МЭ:

1. МЭ, ингибирующие апоптоз: цинк;
2. МЭ, модулирующие (способные индуцировать и ингибировать) апоптоз: все остальные МЭ (Cd, Pb, Ni, Fe, Cu, Se и др.).

Таким образом, соединения металлов различной природы, обладающие как прямым, так и непрямым генотоксическим эффектом, могут вмешиваться в процессы апоптоза и быть использованы для регуляции апоптоза как в лечебных целях, так и при скрытой форме биотеррористических актов (экологических диверсий) с отдаленными результатами, приводящими к сокращению времени жизни человека и животных, значительному ухудшению ее качества. Следует обратить внимание, что как дефицит, так и избыток или дисбаланс ряда МЭ могут оказать усугубляющее влияние на проявление генотоксического эффекта металлов в ионогенной форме. С другой стороны, известно о феномене низкодозовой гиперчувствительности живых организмов при сочетанных воздействиях металлов под влиянием естественного встречающихся изменений в колебаниях сверхслабых геомагнитных полей. Поэтому весьма важно иметь дополнительные доказательства скрытой роли металлов – экотоксикантов в деструкции здоровья человека. Речь идет об аналитической диагностике и регистрации патогенного действия химических ультра микро импульсов на протяжении всего цикла развития поколения, а не только в период производственной деятельности.

Получить достоверные и надежные результаты при необходимости массовых исследований возможно в лабораториях, использующих совокупность чувствительных методов анализа, таких, как ИСП-МС, ГРС, ГХМС. Для широкого практического применения метода ГРС в токсикологических исследованиях весьма целесообразным было бы использование отечественных специализированных приборов. Институт аналитического приборостроения в Санкт-Петербурге имеет высококлассные разработки в этой области (Александров и др., 1991). ГР спектрометры, на наш взгляд, могли бы также стать эффективным инструментом при создании банка эталонных данных по идентификации и содержанию различных форм железа, кобальта, олова в организме как в норме, так и при ряде заболеваний или интоксикаций, с учетом региональных, сезонных, возрастных, половых и других особенностей метаболизма МЭ. Увеличивающийся масштаб загрязнений окружающей среды оборачивается ростом генетических мутаций, раковых, сердечно-сосудистых и профессиональных заболеваний, отравлений, дерматозов, нарушений иммунитета и связанных с этим болезней. К большому сожалению, в РФ нет четких указаний на обязательность элементного анализа при медико-диагностических исследованиях.

### Литература

- Артамонов В.В., Любченко Л.Н., Немцова М.В., Залетаев Д.В. 2004. Неблагоприятная экология и молекулярные системы проспективной диагностики высокого риска развития онкозаболевания (на примере рака молочной железы) // Вестник НИИ молекулярной медицины. Молекулярная медицина и биобезопасность. Вып.4. С.37-55.
- Введение в молекулярную медицину. /Под редакцией М.А. Пальцева. 2004. М.: Медицина. С.191-233.
- Гладских О.П. Клеточные системы – оптимальный подход к биобезопасному выбору терапии. 2004. // Вестник НИИ Молекулярной медицины. Молекулярная медицина и биобезопасность. Вып.4. С.86-105.
- Дешмух Р., Петров В.Е., Аляутдин Р.Н. 2003. Транспорт лекарственных веществ через гемато-энцефалический барьер // Вестник НИИ молекулярной медицины. Вып.3. С.11-29.
- Калетина Н.И., Арзамасцев Е.В, Афанасьева Е.Ю. 2002. Биоконплексы микроэлементов – регуляторы металло-лигандного гомеостаза // Микроэлементы в медицине. Т.3. Вып.1. С.8-14.
- Калетина Н.И., Калетин Г.И., Скальный А.В. 2004. Нарушение металло-лигандного гомеостаза /МЛГ/ как возможная причина развития неблагоприятных побочных эффектов лекарственных средств. // Микроэлементы в медицине. Т. Вып. С.
- Калетина Н. И., Соломонов А.Г., Глебова И.Н. 1991. Исследование состояния железа в растительном лекарственном сырье и синтетических биоконплексах методом мессбауеровской спектроскопии // Биологические науки. Биофизика. №12. С.37-45.
- Кудрин А.В., Скальный А.В., Жаворонков А.А., Скальная М.Г., Громова О.А. 2001. Иммунофармакология микроэлементов. М.: изд-во КМК. 537 с.
- Пальцев М.А., Иванов А.А., Северин Е.С. 2003. Межклеточные взаимодействия. М.: Медицина. С.12-38, 44-94, 184-188.
- Пальцев М.А. 2004. Молекулярная медицина: Достижения и перспективы. // Молекулярная медицина. №4. С.3-12.
- Brusilovskiy A.I. 2004. The new phenomenon in histology. // Newsletter. January-June. Los Angeles, CA USA
- Brusilovskiy A.I. 2004. Two worlds in histology H&E and AB H&E // Newsletter. July-December. Los Angeles, CA USA
- Chouchne L., Ahmed S.B., Baccouche S., Remadi S. 1997. Polymorphism in the necrosis factor-alpha promoter region and in the heat shock protein 70 genes associated with malignant tumors. // Cancer. V.80. P.1489-1496.
- Kaletina N.I., Irkaev S.M., Babanin V.F. 1995. Mossbauer spectrometry and quality control of medicine // 14-th Conference of the Biomedical Engineering Society. Dely. P.7-11
- Kaletina N.I. 2004. Biological complexes of trace elements and their implication in personalized medicine. // Lecture of 2nd International FESTEM Symposium on Trace Elements and Minerals in Medicine and Biology. Germany, Munich.
- Nishimuta M. 1990. The concept intra and extra cellular. // Metal Ions in Biology and Medicine /Eds. Ph. Collery et al. Paris. Vol.2. P.69-74.
- Oberleas D. Ferrous and feric ions with phytate in vitro. 2000. // Metal Ions in Biology and Medicine / Eds. Ph Collery et al. Paris. Vol.6. P.558-560.
- Oria R., Sanchez L. 1995. Effect of nitric oxide on cellular iron metabolism in K562 human erythroleukemia cells. // Blood. Vol.85. No.10. P.2962-2966.
- Ross J. 1995. MRNA stability in mammalian cells // Microbiol. Rev. Vol.59. No.3. P.423-450