

ПРОБЛЕМНАЯ СТАТЬЯ

**По материалам XI российского национального конгресса
“Человек и лекарство”. Москва, 19–23 апреля 2004 г.**

БИОКОМПЛЕКСЫ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И БИОБЕЗОПАСНОСТЬ

BIOLOGICAL COMPLEXES OF TRACE ELEMENTS AND BIOSAFETY

**Н.И. Калетина
N.I. Kaletina**

ММА им. И.М. Сеченова, кафедра токсикологической химии, Никитский бульвар 13, Москва, 119881.
I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, Department of Toxicological Chemistry, 119881, Moscow, Russia.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: биоконплексы Zn, Cu, Co, Ni, Fe, Mn с лекарственными препаратами, металло-лигандный гомеостаз, индивидуальная элементограмма, персонализированная медицина.

KEY WORDS: biological complexes of Zn, Cu, Co, Ni, Fe, Mn with drugs, metal-ligand homeostasis, individual elementogram, personalized medicine.

РЕЗЮМЕ: 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 или лигандов индивидуальны и связаны с генетическими механизмами металло-лигандного гомеостаза (МЛГ). Анализ развития технологий типирования показывает, что в ближайшие 2–3 года технически станет возможным определение значимых, а в перспективе всех, вариаций соотношений уровней микроэлементов, коррелирующих с генетической информацией ДНК. Индивидуальная элементограмма является динамическим показателем МЛГ и служит для последующего планирования персонализированного лечения пациента.

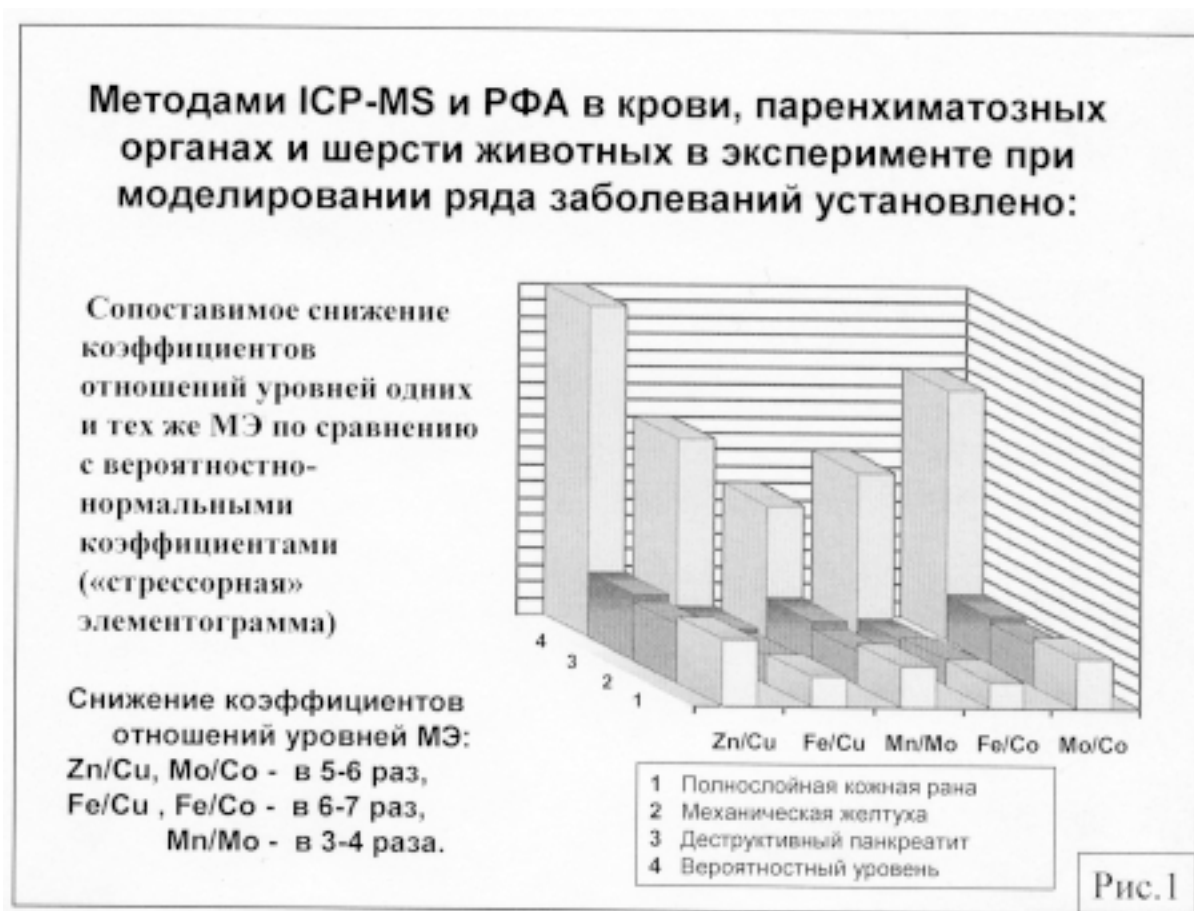
ABSTRACT: Metabolism, transport, deposition and elimination of ions of metals are attributed to their ability to form complexes with endogenous and exogenous ligands. Intensity and specific features of the response of the organism to the imbalance of trace elements or ligands are individual and depend on the genetic mechanisms of metal-ligand homeostasis. The survey of developing technologies in tissue typing shows that in 2–3 years it will be technologically possible to determine the significant variations of trace element levels' ratios and, in perspective, to determine all such variations that correlate with genetic information obtained from DNA. Individual elementogram is a dynamic indicator of metal-ligand homeostasis that is used for further planning of the patients' personalized treatment.

*« И дик, и чуден был вокруг весь Божий мир...»
М.Ю.Лермонтов*

Фундаментальный механизм жизнедеятельности биологических систем опирается на принцип рекомбинационных преобразований, или единства в многообразии: к трансформации свойств системы приводят не только количественные изменения её элементов, но и их перегруппировка на основе рекомбинационных (в том числе конформационных) преобразований (Саркисов, 1987). Принцип рекомбинаций действует на всех уровнях жизнедеятельности — от молекулярного до организменного. В процессе эволюционного развития организм идет по пути оптимальных комбинаций из числа имеющихся структур и функций, что обеспечивает большую экономию энергии, пластического материала и времени на создание новых систем адаптации в норме и патологии по сравнению с количественными вариациями.

Менее века прошло с того дня, когда профессор Московского университета В.И. Вернадский сделал основополагающий доклад о связи химического строения земной коры, рассеянных элементов (микроэлементов) и состояния здоровья человека на XII съезде врачей. Сегодня изучение действия микроэлементов (МЭ) происходит в разных направлениях: молекулярно-генетическом, аналитическом, клиническом, токсикологическом, фармакологическом, гигиеническом и т.д. Однако период научной автаркии продолжается до сих пор.

Организм — сложная динамическая полилигандная и полиметаллическая система, для функциони-



рования которой необходимо поддержание металло-лигандного гомеостаза (МЛГ). Несмотря на зависимость от различных факторов и опосредованный характер большинства биопроцессов, протекающих в организме при участии металлов, они подчиняются глобальному закону химии — закону действующих масс — и описываются константами комплексообразования и нестойкости. Создание и изучение моделей биоконпонентов организма на матрице координационных соединений биометаллов и биолигандов позволяет выявить существенные факторы, определяющие их высокую специфичность (Акбаров, Харитонов, 1994).

Обмен, циркуляция, депонирование ионов металлов объясняются их способностью участвовать в процессах комплексообразования с природными эндогенными лигандами (нуклеиновыми кислотами, углеводами, аминокислотами, пептидами, белками, витаминами, гормонами) и экзогенными лигандами (лекарственными препаратами, пищевыми продуктами и др.)

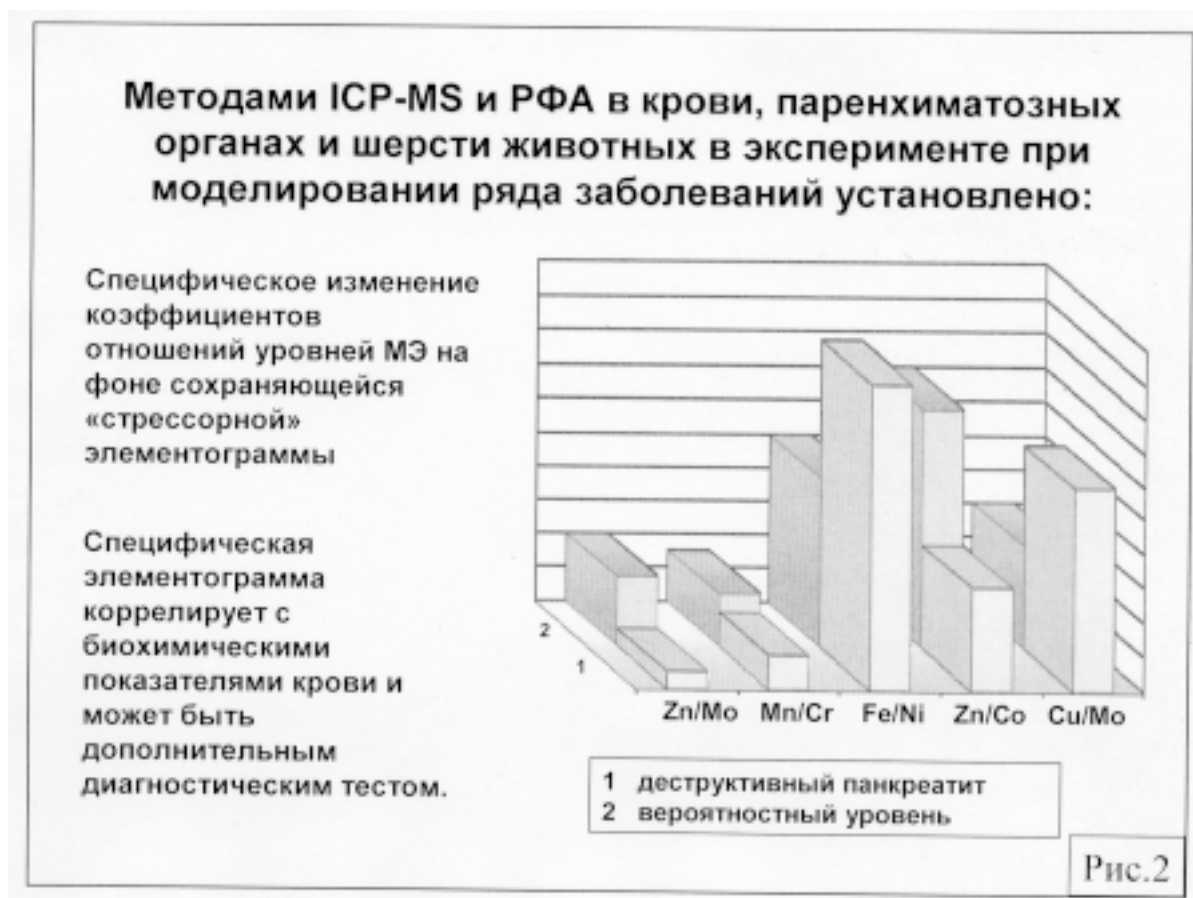
Исследования в области биохимии патологических процессов свидетельствуют о значительных изменениях в обмене и балансе микроэлементов на клеточном, тканевом, организменном уровнях. Интенсивность и особенности реагирования организма индивидуальны и связаны с генетическими меха-

низмами гомеостаза, что в значительной степени объясняет различный ответ организма на дефицит, избыток и дисбаланс МЭ.

Стремление к познанию молекулярно-генетических основ функций МЭ в организме и их клинических проявлений требует системного мультидисциплинарного подхода преимущественно аналитического характера, который может быть выработан в ходе научных дискуссий специалистов по проблеме МЭ: здоровье и болезни человека.

Методами ICP-MS и РФА в биопробах (кровь, волосы) при ряде заболеваний (деструктивный панкреатит, полнослойная кожная рана, механическая желтуха и некоторых других) при сопоставлении с вероятностным уровнем установлена следующая закономерность. Снижение отношений уровней определенных МЭ по сравнению с вероятностно-нормальными коэффициентами («стрессорная» элементограмма): Zn/Cu, Mo/Co — в 5–6 раз, Fe/Cu, Fe/Co — в 6–7 раз, Mn/Mo — в 3–4 раза (рис. 1).

Ряд заболеваний характеризуется как общей «стрессорной» элементограммой, так и специфической (качественной и количественной) элементограммой (рис. 2). Специфическая элементограмма коррелирует с биохимическими показателями крови и может служить дополнительным диагностическим и прогностическим тестом.

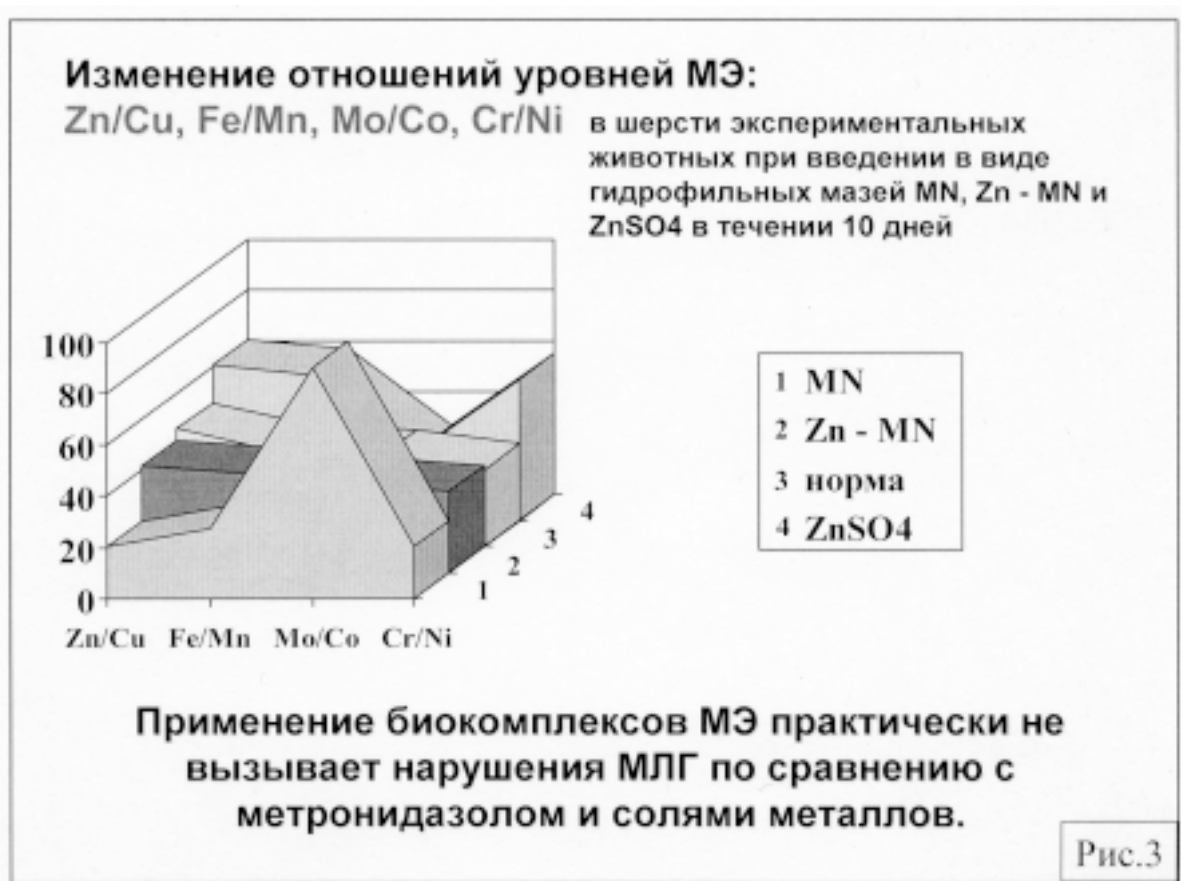


Способ коррекции дисбаланса МЭ, разрабатываемый нами, основан на интегральном подходе к информации: о динамике МЭ состава индивидуального организма при конкретной патологии; об изменении свойств металла и лиганда (лекарства) при комплексообразовании; о принципе «узнаваемости» мембранами клеток структур, близких по строению природным биомолекулам (Калетина и др., 1995). Нами синтезировано и защищено патентами РФ 110 новых биоактивных веществ, построенных по принципу биокоординационных и N-гликозилированных структур Zn, Co, Cu, Ni, Fe, Mn с лигандами — лекарственными средствами.

Рентгеноструктурный анализ показал сопоставимость строения биокомплексов МЭ с активными центрами ряда ферментов. Например, сайт специфичности биокомплекса цинка с метронидазолом (Zn–MN) идентичен активному центру карбоангидразы С: координационная связь Zn с тремя молекулами MN через N3 имидазольного кольца, тетраэдрическая структура комплекса, наличие молекулы воды во внутренней сфере комплекса. Это определяет перенос электронной плотности с имидазол-аниона (кольцо имидазола входит как в структуру гистидина, так и в структуру метронидазола) на центральный атом, снижает электроно-акцепторные способности последнего, делает энергетически выгодным замещение

воды на другой лиганд (субстрат). Таким образом, синтезированный комплекс может проявлять ферментимитирующую активность, что мы неоднократно наблюдали и в других экспериментах.

Банк фармакологических свойств биокомплексов МЭ значительно увеличен по сравнению с лигандами и их механическими смесями с солями металлов. Это — антибактериальная, фунгицидная, антитрихомонадная, антиоксидантная, иммуномодулирующая, противовоспалительная, ранозаживляющая, радиопротекторная активность. Расширение спектра фармакологического действия биокомплексов, по-видимому, связано с их способностью (в отличие от ионогенной формы МЭ) к восстановлению баланса МЭ и нарушений МЛГ, вызванных факторами различной природы. Например, применение биокомплексов МЭ в виде гидрофильных мазей на модели полнослойной кожной раны вызывает значительно меньшее по сравнению с метронидазолом (MN) и солями металлов изменение уровня МЭ — Cu, Zn, Ni, Fe, Mn, Cr, Mo и их соотношений в крови, паренхиматозных органах и шерсти экспериментальных животных (рис. 3). Рассмотренная ситуация является примером качественного и количественного «конструирования» лекарственного средства с включением расчетного соотношения лигандов и металла.



Ионы железа (II) и меди (I) потенцируют образование активных форм кислорода (АФК), таких, как супероксидный анион-радикал, гидроксильный радикал, гидропероксильный радикал, пероксид водорода. Связывание ионов железа (II) и меди (I) в комплекс затрудняет протекание процессов ПОЛ, снижает их скорость. Сайты связывания ионов металлов с различными биолигандами могут: служить «ловушками» супероксидных анион-радикалов, подавлять их образование за счет ингибирования процесса ферментативного продуцирования АФК, встраиваться в гидрофобный кор мембран и снижать текучесть мембранных липидов, создавать пространственные затруднения движению свободных радикалов, т.е. снижать скорость процесса мембранной пероксидации. Тетраэдрическая структура комплексов комплементарна конформации фосфолипидов.

В молекулах биокомплексов МЭ имеется система сайтов, обеспечивающая «узнаваемость» структуры для мембран клетки и позволяющая проявлять ферментитимирующую способность, поставляя активированные ионы МЭ, индуцируя смещение электронной плотности на реакционной части субстрата, т.е. осуществляя процесс динамического узнавания, или индукции соответствия. Способность биокомплексов МЭ к образованию межмолекулярных комплексов с эндогенными лигандами также можно

рассматривать как основу молекулярного распознавания.

Биокомплексы МЭ действуют в малых и сверхмалых концентрациях (феномен «возвращения действия» веществ при уменьшении их дозы), способствуют развитию компенсаторно-приспособительных реакций в печени, селезенке, почках, реализуют регуляторное действие на МЛГ различными путями: в том числе и через иммунную систему.

Гистологическое изучение раневой поверхности при лечении гидрофильными мазями биокомплексов МЭ показало: утолщение эпидермиса краевой зоны раны за счет увеличения количества мелких клеток базального слоя, повышение концентрации нуклеиновых кислот в цитоплазме базального и шиповатого слоев в 1,3–1,5 раза, ускорение эпителизации, которая наступала на 7-е сутки по сравнению с 10 сутками в других сериях, превышение объема коллагеновых волокон и фибробластов в грануляционной ткани в три раза по сравнению с аналогичными показателями при использовании стандартных схем лечения полнослойной кожной раны.

Большое внимание было уделено изучению радиопротекторных свойств ряда биокомплексов МЭ. Исследования особенностей ответной реакции организма как на целостном, так и на молекулярном уровне, при воздействии ионизирующего излуче-

ния указывает на опосредованный механизм радиационного поражения. Нарушение баланса микроэлементов и металло-лигандного гомеостаза является одним из молекулярных механизмов системного радиационного поражения. Последствия ионизирующей радиации опосредованы действием свободных радикалов, повреждающих ДНК и другие клеточные макромолекулы. Несмотря на относительно большое разнообразие радиопротекторов, использование биоконплексов металлов как эффективных и специфических радиопротекторов обсуждается крайне мало. Нами синтезированы новые биокоординационные соединения цинка, кобальта, меди, никеля с метронидазолом, производными нитрофурана и адамантана, гетероциклическими сульфаниламидами. Установлены их состав, структура и пространственное строение (цис-транс изомеры), определены важнейшие физико-химические характеристики, указывающие на специфическую активность и возможные механизмы радиопротекторного действия. Специфическая активность количественно оценивалась по значениям коэффициента вероятности защиты организма от радиационной гибели, средней продолжительности жизни, радиопротекторного индекса. Согласно экспериментальным данным, комплексные соединения проявляют активность в интервале концентраций 0,01–10 мг/кг при дозе облучения до 10 Гр. Установлено, что активность комплексов зависит как от природы металлов, так и лигандов, причем эффективность транс-изомеров значительно выше. Транс-изомеры стабилизируют целостность клеточных мембран и усиливают репарацию поврежденных участков ДНК, а цис-изомеры — замедляют. Наилучшие результаты наблюдали в ряду комплексов металлов с метронидазолом. Строение обсуждаемых комплексов близко к строению карбоангидраз В и С. Существуют кобальт-, медь-, марганец- и другие производные карбоангидраз В и С, причем спектральные и рентгенокристаллографические исследования показали, что кобальт, медь и марганец занимают место, идентичное положению цинка. В синтезированных комплексах лиганд (метронидазол) также является производным имидазола. Полученные комплексы имеют «узнаваемую» структуру, что облегчает, по-видимому, их включение в восстановительный процесс баланса микроэлементов.

В условиях радиолитиза в водном растворе комплекс метронидазола с цинком как акцептор гидроксильных радикалов, считающихся ответственными за радиобиологические эффекты, был сравним по активности с известным радиопротектором мексамином.

При изучении антимуутагенного действия MN-Zn в эксперименте при окислительном стрессе был установлен значительный радиопротекторный эффект по микроядерному тесту в костном мозге.

Учитывая нетоксичность, антибактериальную и антигрибковую активность биоконплексов металлов с метронидазолом, с одной стороны, и пониженный иммунный статус организма при радиационном поражении, с другой стороны, можно рекомендовать использование этих соединений в качестве радиопротекторов. Выбор оптимального радиопротектора из предложенной серии комплексов может быть осуществлен на основе индивидуальной элементограммы пациента, что позволяет считать биоконплексы МЭ новой генерацией лекарственных средств персонализированной медицины.

Анализ развития технологий типирования позволяет предсказать, что в ближайшие 2–3 года технически станет возможной реализация ряда задач персонализированной медицины (например, генетический паспорт человека). Одна из задач персонализированной медицины состоит в определении значимых (в перспективе всех вариаций) соотношений уровней МЭ, коррелирующих с генетической информацией ДНК (индивидуальная элементограмма как динамический показатель МЛГ), для последующего рационального планирования лечения пациента, подбора препаратов, диагностических процедур и стиля жизни.

Познание молекулярно-генетических функций МЭ в организме и их клинических проявлений возможно при мультидисциплинарном подходе к решению проблемы и при использовании системного анализа МЭ в биообъектах. Основная проблема заключается в выборе алгоритмов правильной интерпретации результатов определения МЭ с учетом не только их абсолютных количеств, но и их соотношений, а также содержания клинически важных биомаркеров, или молекулярных индикаторов, дисбаланса МЭ, определения формы нахождения МЭ.

Таким образом, понятия дефицит, избыток и дисбаланс МЭ должны иметь строго аналитический характер. Конечный результат исследования биообъекта должен формулироваться по совокупности полученных данных о соотношении МЭ, форме их нахождения и являться итогом системного анализа.

Литература

- Акбаров А.Б., Харитонов Ю. Я. 1994. Бионеорганическая химия металлов, аминокислот и биоконплексов. Ташкент: Изд-во АН Республики Узбекистан. 325 с.
- Калетина Н.И., Афанасьев Ю.И., Лазурин Л. П. 1995. Роль микроэлементов в нарушении и коррекции металлолигандного гомеостаза // Вестник Российской Академии медицинских наук. № 10. М.: Медицина. С.44–48.
- Саркисов Д.С. 1987. Общие закономерности и структурное обеспечение адаптации и компенсации нарушенных функций // Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М.: Медицина. С.9–83.