

ВЛИЯНИЕ ЛИГАНДОВ И БИОКОМПЛЕКСОВ НА АКТИВНОСТЬ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

Каримова М.М.

Ташкентский педиатрический медицинский институт.

✓ **Резюме**

Были исследованы влияния комплексных соединений витамина U с ионами металлов на процессы биосинтеза ДНК, матричной и рибосомальной РНК во внутриклеточных структурах печени крыс

Ключевые слова: биоконкомплекс, ПОЛ, ДНК-, РНК-полимеразы

ЛИГАНД ВА БИОКОМПЛЕКСЛАРНИНГ ДНК ВА РНК БИОСИНТЕЗИГА ТАЪСИРИНИ ЎРГАНИШ

Каримова М.М.

Тошкент педиатрия тиббиёт институти.

✓ **Резюме**

Каламуш жигари ҳужайраларида содир бўладиган баъзи биосинтетик жараёнларга таркибиди витамин U ва металл ионларидан иборат бўлган комплекс бирикмаларнинг таъсирини ўрганиш мақсадида тажрибалар ўтказилди.

Калит сўзлар: биоконкомплекс, ПОЛ, ДНК-, РНК-полимеразалар

INFLUENCE OF BIOLOGICAL COMPLEX ON THE PROCESS OF BOIOSYNTHESIS OF DNG AND RNG RATS'S LIVER

M.M.Karimova

Tashkent pediatric medical institute.

✓ **Resume**

Experiments on the investigation of the effect of vitamin U and metal ions of complex compounds on some biological processes in the cells of rat's liver were carried out.

Key words: biocomplex, POL, DNG and RNG -polymerize

Актуальность

Изыскание путей регуляции метаболических процессов при помощи эндогенных факторов, в том числе и использование биоконкомплексов представляющих собой соединения микроэлементов с фармако-физиологическими активными лигандами, представляет собой одно из наиболее важных и перспективных направлений в пограничной области клеточной биологии, биологической химии и неорганической химии.

В настоящее время различают несколько видов ДНК-полимераз, отличающихся по физико-химическим свойствам (изоэлектрическая точка, молекулярный вес); по способности катализировать синтез на различных ДНК-денатурированной (одноцепочечной), нативной (двухцепочечной), активированной (кратковременно обработанной ДНК-азой-1, образующей разрывы, содержащие 3-концевые группы); преимущественной локализации (ядро, митохондрии) [1].

Функциональное значение разных ДНК-полимераз до конца не выяснено, хотя можно различать их собственно репликативную функцию в ядре, участие в репарации и репликации в митохондриях. Определены различия во влияниях исследуемых лигандов на активность ДНК-полимеразы, РНК полимераз I и II, отличающихся природой функциональных групп.

Цель: Данная работа посвящена изучению механизма влияния биоконкомплексов и исходных лигандов на биосинтетические процессы внутриклеточных структур печени. Для решения цели было необходимо решить следующие задачи: выявить различия эф-

фекта лигандов и биоконкомплексов на ферменты (активность ДНК-полимеразы, а также РНК-полимераз I и II), ответственные за синтетические процессы, протекающие на уровне клеток.

Материалы и методы

С целью определения возможных закономерностей влияния природы микроэлементов и связанных с ними органических фрагментов на исследуемые показатели были использованы комплексные соединения ряда 3d-металлов с метилметионинсульфония хлоридом (MetSClH) и метионинсульфоксидом (MetSOH), которые были синтезированы на кафедре медицинской химии ТашПМИ под руководством профессора Акбарова А.Б.

В экспериментах, в системе in vitro, исследования влияния лигандов и биоконкомплексов на биосинтетические процессы осуществлялись в пределах их концентраций от 10⁻³ до

10⁻⁷ ммоль/мл. в опытах использовали печень белых беспородных крыс с массой тела 120-150г.

Результаты и обсуждения

Нами были проведены исследования направленные на выявления наиболее существенных факторов, определяющих специфичность вкладов исследуемых лигандов и их биоконкомплексов на активность ДНК-полимеразы, а также РНК-полимераз I и II.

Таблица 1.

**Влияние исследуемых препаратов на активность
ДНК-полимеразы, РНК-полимераз I и II в концентрации**

Биокомплексы	Включение 3Н-дТТрв ядра печени крыс (Имп/мин/мг белка)		
	ДНК полимераза	РНК II полимераза (матричный)	РНК I полимераза (рибосомальный)
Контроль	834 ± 11	10912 ± 12	12491 ± 5
MetSClH	1775 ± 23	10075 ± 15	13863 ± 7
MetSOH	1075 ± 15	8905 ± 5	11075 ± 6
Ni(MetSO) ₂ ·H ₂ O	583 ± 7	8574 ± 5	6263 ± 7
Cu(MetSO) ₂	654 ± 9	15482 ± 9	11465 ± 8
Zn(MetSO) ₂ ·H ₂ O	759 ± 6	9952 ± 7	14795 ± 8
Co(MetSO) ₂ ·2H ₂ O	618 ± 5	9953 ± 7	9667 ± 4
Ni(MetSCl) ₂ ·3H ₂ O	342 ± 3	13969 ± 3	29171 ± 14

Примечание: В экспериментах $P < 0.05$

Проведенные исследования показали, что обе лиганда в определенной степени способствуют усилению ДНК-полимеразной активности ядер печени крыс. Однако, они достаточно заметно отличаются по своему количественному влиянию на эти процессы (табл. 1). В частности, под влиянием MetSClH ДНК-полимеразная активность ядер печени крыс возрастает в более чем в 2 раза относительно контрольного уровня. В то же время эффект влияния MetSOH выражена в меньшей степени. В частности ДНК-полимеразная активность ядер печени крыс под влиянием метионин-сульфоксида возрастает менее чем в 1,3 раза (табл. 1).

Наблюдаемые различия во влиянии лигандов, по всей вероятности, связано с различиями в природе атомов серы входящих в их состав. Можно полагать, что наличие в составе MetSClH положительно заряженного атома серы способствует взаимодействию лиганда с отрицательно заряженными группами активных центров фермента или субстрата, на которую оказывает влияние ДНК полимераза, и тем самым способствует изменению сродства в фермент-субстратном комплексе [1].

Биокомплексам, в отличие от исходных лигандов, характерным является ингибирование ДНК-полиме-

разной активности ядер печени. Это обстоятельство дает основание полагать о непосредственном вовлечении биометалла в ферментативные процессы. Это предположение подтверждается и литературными данными.

Известно, что катионы двухвалентных металлов в области сравнительно высоких концентраций (10^{-2} - 10^{-4} моль/л) сильно подавляют активность большинства ферментов, в том числе и рибонуклеаз [1]. Ингибирующее влияние катионов на ферментативную активность системы в целом могут, носит как непосредственно фермент ингибирующий, так и опосредованный характеры. В последнем случае, металлы могут реагировать с субстратами, ослабляя тем самым их реакционную способность.

В литературе имеются данные, посвященные исследованию наиболее важных факторов, приводящих к ингибированию активности РНКазы А катионами ряда двухвалентных металлов. Например, в работе [1] установлено, что наиболее важными факторами, определяющими специфическую активность металлов являются значения энергий их первого и второго потенциалов ионизации - E , энергии гидротации - ΔH и их электростатистические характеристики - (табл. 2).

Таблица 2.

**Коэффициенты ингибирования (β) РНКазы
А катионами двухвалентных металлов.**

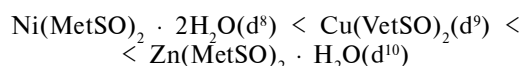
M^{2+}	β , %			Δ	E , эл. В	$E-\Delta H$, эл. в	W , усл.ед
	10^{-2} МОЛЬ/Л	10^{-3} МОЛЬ/Л	10^{-4} МОЛЬ/Л				
Co^{2+}	83 ± 0.01	89 ± 0.01	95 ± 0.2	5.13±0.01	24.91±0.01	3.30±0.01	8.43±0.02
Ni^{2+}	80 ± 0.01	88 ± 0.01	93 ± 0.1	5.41±0.01	25.78±0.01	3.64±0.01	9.05±0.03
Zn^{2+}	24 ± 0.01	47 ± 0.01	68 ± 0.07	4.82±0.01	27.35±0.02	5.86±0.02	10.68±0.1
Cu^{2+}	0	0.1 ± 0.01	17 ± 0.01	5.00±0.01	28.01±0.01	5.94±0.01	10.94±0.1

Примечание: $W = ? + (E - ?H)$

Согласно данным, приведенным в [1], наиболее высокий фермент ингибирующей активностью обладает Cu^{2+} (наибольшее значение W), тогда как иону кобальта характерен показатель наименьшего ингибирования (наименьшее значение W).

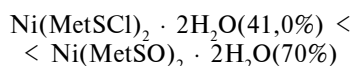
В то же время эффект влияния биокомплексов на уровень накопления ДНК-полимеразы, как и в случае ПОЛ, определяется как природой центрального атома (биометалла), так и координированного к нему лиганда. Например, биокомплексы двухвалентных 3d-

металлов с MetSOH, в зависимости от природы центрального атома и по своему влиянию на уровень активности ДНК полимеразы ядер отвечают следующему взаиморасположению (табл. 2).



указывающего на корреляционную зависимость между исследуемой специфической активностью биокomплексов и заселенностью их d-подуровней (показано в скобках). Это дает основание прийти к заключению в пользу того, что специфическое влияние биокomплексов на активность ДНК полимеразы протекает при непосредственном участии в этих процессах центрального атома.

Нами было установлено, что изменение природы лиганда также оказывает достаточно существенное влияние на активность координационного соединения. В подтверждение сказанному можно привести следующее взаиморасположение биокomплексов в зависимости от природы лиганда никелевых комплексов (в скобках приведены их влияние на активность ДНК полимеразы относительно контрольного уровня, значение которого условно приняты разным 10%):



Эти данные указывают, что в процесс влияния на ДНК полимеразной активности ядер вовлечены, наряду с центральным атомом, и координированные ионы лигандов. Причем, для комплекса содежащие координированные MetSCl - ионы характерен более высокий показатель инактивации исследуемого процесса, что дает основание полагать о вовлеченности координированного лиганда в процесс через положительно заряженный атом серы, способный к взаимодействию с отрицательно заряженными (преимущественно атомами кислорода фосфозфирных связей).

Проведенные исследования также показали, что лиганды оказывают разнонаправленное действия на активность матричной и рибосомальной РНК полимераз.

Например, под влиянием MetSClH активности матричной РНК полимеразы снижается на 8% относительно контрольных значений. В то же время данный лиганд оказывает активирующее влияние на РНК полимеразу I ядер (~11%). Введение в инкубационную среду MetSOH, в отличие от MetSClH, приводит к снижению активности обоих типов РНК полимераз: матричной -на 8%, и рибосомальной -11,3% (табл.1)

Наблюдаемые различия во влияниях обоих лигандов указывают, с учетом различий в природе их функциональных групп, а их непосредственном вовлечении в процессе влияющие на активность ферментов.

Наиболее существенным фактором определяющее особенности влияния MetSClH на активность исследуемых РНК полимераз, как и в предыдущем случае, должно быть наличие в его составе положительно заряженного атома серы, способного, в отличие от MetSOH вступать во взаимодействие с отрицательно заряженными функциональными группами ферментов и субстратов. Очевидно, что в качестве групп способных реагировать с S+(CH₃)₂ группой MetSClH

могут выступать отрицательно заряженные атомы кислорода фосфатной группы, как ферментов, так и субстратов.

Возможности вовлечения атома серы в образование связи с кислородом отрицательно заряженных функциональных групп, в том числе и фосфатной группы, подтверждается и литературными данными.

Интересно отметить, влияние природы центрального атома на активность ферментов в биокomплексах общего состава M(MetSCl)₂ nH₂O. В частности, наличие в составе биокomплекса иона кобальта на ион никеля приводит к заметному усилению активности обоих типов ферментов. При этом под влиянием никелевого комплекса активность РНК полимеразы I возрастает на 28%, а РНК полимеразы II на 133% относительно контрольного уровня (табл. 1)

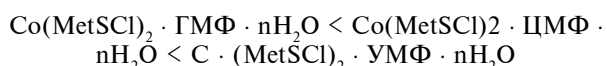
Учитывая одинаковую природу координированного лиганда можно полагать, что наблюдаемые особенности во влияниях этих комплексов определяются, в первую очередь, природой биометалла, и в частности различиями их влияния на реакционно-активные центры ферментов, либо на функциональные группы близко расположенных к активным центрам. В качестве наиболее вероятных центров с которыми могут взаимодействовать биокomплексы посредством как центрального атома, так и функциональных групп лигандов могут атомы азота и фосфатного кислорода входящих в состав биосистем.

Исследуемые биокomплексы, наряду с изложенным выше, также могут реагировать и с биосубстратами в исследуемых системах, в результате которого лабильность участия последних в биопроцессах может изменяться [2,3].

С целью выяснения возможности непосредственного вовлечения центрального атома на процессы влияющие на активность ферментов путем образования новых структурных единиц, являющиеся следствием их взаимодействия как с минорными компонентами (МК) нуклеиновых кислот, так и с субстратами, нами были получены и исследованы аддукты взаимодействия отдельных комплексов с ЦМФ, ГМФ и УМФ с привлечением метода электронной спектроскопии.

Полученные результаты показали, что особенно сти взаимодействия центральных атомов биокomплексов определяется природой их электронного строения. В частности, для аддуктов общего состава Co(MetSCl)₂*МК*nH₂O характерным является смещение энергий электронных переходов в поля с меньшими энергиями (за исключением E1) относительно энергий электронных переходов обнаруживаемых в спектре исходного комплекса состава Co(MetSCl)₂ · H₂O.

Наблюдаемое. По нашему мнению, является следствием изменения природы окружения центрального атома (табл. 3.14). В пользу справедливости такого предположения можно привести и то, что продукты взаимодействия кобальтового комплекса с МК характеризуются более высокими значениями ковалентности центрального поля. Также было установлено, что значения В и β аддуктов зависят и от природы МК. Например, исследуемые биокomплексы кобальта по показателям возрастания ковалентности центрального поля отвечают следующему взаиморасположению:

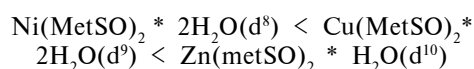


Интересно отметить, что замещение кобальта на ион никеля в составе аддуктов, хотя и приводит к смешениям в энергиях электронных переходов, но не оказывает заметного влияния на ковалентность центрального поля. Значения параметра Рака и нефелоксического эффекта практически не отличаются от значений наблюдаемых для исходного комплекса $Ni(MetSCL)_2 \cdot 3H_2O$.

Наблюдаемые различия, дают основание полагать, что в случае комплексов кобальта к центральному атому биоконплекса координируются преимущественно атомы азота входящие в состав МК с образованием новых продуктов хелатной структуры, тогда как в случае никелевых комплексов координация МК, очевидно, осуществляется преимущественной координацией атомов кислорода от фосфатной группы, т.е процесс носит преимущественно ассоциативную природу и не сопровождается образованием новых хелатных структур [4,98]. Исходя из полученных результатов, также можно полагать, что наиболее важным фактором в особенностях влияния $Ni(MetSCL)_2 \cdot 3H_2O$ на РНК полимеразные активности является взаимодействие координированного лиганда с функциональными группами, либо субстратов, тогда как особенности взаимодействия биометалла с таковыми группами имеет менее выраженный характер.

Возможность непосредственного вовлечения центрального атома во взаимодействие с функциональными группами НК, путем замещения аксиальных молекул воды, подтверждается и литературными данными. Например, согласно [2] ионы переходных металлов связываются с азотистыми основаниями с образованием хелатных структур.

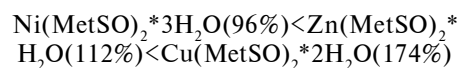
В пользу непосредственного вовлечения центрального атома на процессы определяющие активности РНК полимераз ядер свидетельствуют и различия во влияниях биоконплексов метионинсульфоксида. В частности, соединения общего состава $M(MetSO)_2 \cdot nH_2O$ по своему активирующему влиянию на рибосомальную РНК полимеразу отвечают следующему взаиморасположению:



Коррелирующая с заселенность d-подуровня биометаллов.

Приведенная выше последовательность взаиморасположения биоконплексов по их вкладку на ак-

тивность РНК полимеразы I ядер, в случае матричной РНК полимеразы перетерпывает изменения и отвечает следующему взаиморасположению (в скобках приведены эффекты влияния биоконплексов относительно наблюдаемого для исходного лиганда, показатели которого условно приняты равным 100%):



указывающее на то, что матричный и рибосомальный РНК полимеразы неодноточно отвечают на действие как исходных лигандов. Так и их биоконплексов. В частности, в большинстве случаев активность РНК полимеразы I ядер отличается более выраженной чувствительностью к влиянию исследуемых объектов.

Выводы:

1. Установлено, что биолганды повышают активность ДНК-полимеразы в ядрах в 1,5-2,9 раза, и оказывают разнонаправленное действие неактивность РНК-полимеразы - I и - II.
2. Установлено, что биоконплексам характерна ингибирующее действие на активность ДНК-полимеразы, также и на РНК-полимеразы - I и - II зависимо от заселенности d-подуровня, ковалентных характеристик.
3. Выявлено, что особенность влияния лигандов и биоконплексов на активность ДНК-полимеразы, РНК-полимеразы - I и - II определяется рядом факторов: природой металла, заселенностью его d-подуровня, наличием заряженных ионов лиганда способного взаимодействовать с функциональными группами, как ферментов, так и субстратов, или усиливая их сродство, а также с компонентами нуклеиновых кислот, изменяя биосинтетические процессы в организме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Акбаров А.Б., Харитонов Ю.Я. бионеорганическая химия металлов аминокислот и биоконплексов. Ташкент, Изд.ФАН, 1994, Монография.
2. Акбаров А.Б., и др. Изучение биосинтеза РНК в печени крыс при действии биоконплексов. //ДАН. РУз. 1999. №1 -с.45-47.
3. Акбаров А.Б. и др. Исследование влияния биоконплекса с никелем (II) на окисление липидов внутриклеточных структур печени крыс. //Узб.биол. Журнал №1 2014 3-5с

Поступила 15.12. 2018