

УДК 616-003.725:615.015.3

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДЕЙСТВИЯ Фуллеренов C_{60-80} В СВЕРХМАЛЫХ ДОЗАХ НА УРОВЕНЬ ЖИРНЫХ КИСЛОТ МЕМБРАН КАРДИОМИОЦИТОВ И В МЕЖКЛЕТОЧНОМ ВЕЩЕСТВЕ И ЦИТОПЛАЗМЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МИОКАРДИТЕ У КРЫС

Денисов Ю.Д.

НИИ Кардиологии и внутренних болезней Министерства здравоохранения и социального развития Республики Казахстан, Алматы, e-mail: yuriagnostic@yandex.ru

В статье анализируется сравнительное воздействие фуллеренов C_{60-80} в сверхмалых дозах $2,3 \cdot 10^{-13}$ – $2,3 \cdot 10^{-16}$ М (СМД) на включение жирных кислот в фосфолипиды мембран кардиомиоцитов и содержание жирных кислот в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов при экспериментальном миокардите. Показано, что фуллерены C_{60-80} активизируют включение жирных кислот как в фосфолипиды мембран, так и их содержание в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов дозозависимо. Большеей активностью обладали фуллерены C_{60-80} в СМД $2,3 \cdot 10^{-16}$ М.

Ключевые слова: фуллерены C_{60-80} , сверхмалые дозы, жирные кислоты, экспериментальный миокардит

COMPARATIVE ANALYSIS OF INFLUENCE FULLERENES C_{60-80} IN ULTRA-LOW DOSES ON THE LEVELS OF FATTY ACID MEMBRANES OF CARDIOMYOCYTES AND IN THE INTERCELLULAR SUBSTANCE AND CYTOPLASM IN EXPERIMENTAL INFARCTION IN RATS

Denisov Y.D.

Institute of Cardiology and Internal Diseases of the Ministry of Health and Social Development of the Republic of Kazakhstan, Almaty, e-mail: yuriagnostic@yandex.ru

The article analyzes the comparative effects of fullerenes S_{60-80} in midget doses of $2,3 \cdot 10^{-13}$ – $2,3 \cdot 10^{-16}$ М (ULD) in the inclusion of fatty acids in the membrane phospholipids of cardiomyocytes and the fatty acid content in the intercellular substance and the cytoplasm of cardiomyocytes in experimental infarction. It is show that the influence of fullerenes C_{60-80} for activation the inclusion of fatty acids to membrane's phospholipids and their content in intercellular substance and cytoplasm of cardiomyocytes dose-dependent manner. Greater activity had fullerenes C_{60-80} in ULD $2,3 \cdot 10^{-16}$ М.

Keywords: fullerenes C_{60-80} , ultra-low doses, fatty acids, experimental myocarditis

Более двадцати лет исследуется феномен сверхмалых доз (СМД) во всем мире. На настоящее время изучено действие гормонов, цитостатиков, нестероидных противовоспалительных, психотропных препаратов и вакцин в СМД [1]. Данный список можно было бы продолжить. Главное из достоинств действия препаратов в СМД – активность препаратов на том же уровне, что и в среднетерапевтических дозах, а второе, и на наш взгляд, очень серьезное свойство – отсутствие побочных явлений. Кроме того, препараты в СМД обладают синергическим эффектом – они потенцируют действие тех же препаратов в среднетерапевтических дозах.

В настоящее время в медицинской практике используется несколько препаратов в сверхмалых дозах. Видимо, их количество было бы значительно больше, если бы врачи знали механизм действия препаратов в СМД, а фармацевты могли бы проводить анализ качества лекарственных препаратов. Сложность, как первого, так и второго в количестве действующего вещества.

В наших предыдущих сообщениях [2,3,4] было показано, что для анализа активности препаратов в СМД (в нашем случае диклофенак, лепримар, беталейкин) мы использовали изучение уровня жирных кислот (ЖК) в мембранах и межклеточном веществе и цитоплазме сердца, печени и почек. Как показали исследования, данный метод эффективно показывает изменение концентрации ЖК при влиянии разных доз, в том числе и разных СМД.

Последнее десятилетие ознаменовалось активным исследованием и использованием нанопрепаратов в медицине и биологии. Была показана их значительная эффективность. Однако, как и в вопросе о действии препаратов в СМД, большая проблема обозначилась в контроле их действия и механизме действия нанопрепаратов. Кроме того, нанопрепараты обладают токсическим действием на биологические объекты. Именно в этой связи стало развиваться новое направление – нанотоксикология. И здесь, по аналогии с СМД, требуется адекватный

метод изучения влияния нанопрепаратов на организм животных и человека.

Все эти факты подвели нас к исследованию влияния одного из наиболее популярных нанопрепаратов – фуллерен C_{60-80} . Было исследовано влияние фуллеренов C_{60-80} в разных дозах от эквивалента среднетерапевтических доз до СМД.

Целью работы было изучение влияния фуллеренов C_{60-80} в сверхмалых дозах (СМД-1 – $2,3 \cdot 10^{-13}$ М и СМД-2 – $2,3 \cdot 10^{-16}$ М) на уровень жирных кислот фосфолипидов мембран и межклеточного вещества и цитоплазмы кардиомиоцитов при экспериментальном миокардите у крыс.

Материалы и методы исследования

В эксперименте использовались неимбредные крысы – самцы, весом 220-240 г. Экспериментальный миокардит моделировался «цитокиновым взрывом» – введением перикардially бета-лейкина. Фуллерены C_{60-80} растворялись в растительном масле соответственно с необходимой концентрации. Эмульгатором служил ТВИН – 80. Полученная эмульсия вводилась энтерально с помощью желудочного зонда. Мембраны клеток исследуемых органов с последующим выделением фосфолипидов проводились по стандартной методике. После гидролиза ЖК подвергались метилированию. Качественный и количественный анализ ЖК проводился с помощью газового хроматографа «Agilent 8090». Статистическая обработка проводилась с помощью программного пакета

«Statistica-8». В исследовании изучались фуллерены в СМД, равной $2,3 \cdot 10^{-13}$ и $2,3 \cdot 10^{-16}$ М.

Результаты исследования и их обсуждение

Как видно из таблицы, фуллерены C_{60-80} в СМД влияют на включение жирных кислот в фосфолипиды мембран кардиомиоцитов. При изучении количественных характеристик уровней ЖК, было показано, что фуллерены C_{60-80} в СМД – 1 уменьшают концентрацию Миристолеиновой, Пальмитолеиновой, Линолеадиновой, Докозагексаеиновой и Нервоновой кислот по отношению к действию фуллеренов C_{60-80} в СМД – 2. Концентрация Линолеиновой и Эйкозаноиновой кислот статистически недостоверно различаются. Уровни Петроселининовой, Вакцениковой, Олеиновой, Арахидоноиновой и Эруковой кислот под действием фуллеренов C_{60-80} в СМД -1 достоверно повышаются. Уровни Элаидиновой кислоты под действием фуллеренов C_{60-80} как в СМД-1, так и в СМД – 2 были в следовых концентрациях, а уровень Линолеиновой кислоты был в следовой концентрации только под действием СМД-1.

Таким образом, включение ЖК в фосфолипиды мембран кардиомиоцитов эффективнее контролируется фуллеренами C_{60-80} в СМД, равной $2,3 \cdot 10^{-16}$ М.

Изменение уровня жирных кислот в мембранах и внеклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов под действием Фуллеренов C_{60-80}

Жирные кислоты	Концентрация фуллеренов C_{60-80}			
	Мембраны		Межклеточное вещество	
	$2,3 \cdot 10^{-13}$ М	$2,3 \cdot 10^{-16}$ М	$2,3 \cdot 10^{-13}$ М	$2,3 \cdot 10^{-16}$ М
Myristoleic acid	17,8±1,8	19,2±1,89	4,04±0,4	5,12±0,52
Methyl Palmitoleate	3,31±0,34	4,5±0,5	2,3±0,23	2,57±0,26
Linoleadic acid	2,01±0,2	3,48±0,35	18,14±1,81*	19,4±1,94*
Cis-6-Petroselenic acid	3,98±0,4	3,1±0,31	13,91±1,4	15,4±1,43
Elaidic acid	с/к	с/к	3,78±0,39	3,6±0,36
Methyl LenoleNate	2,98±0,29*	3,01±0,3*	с/к	с/к
Methyl Linoleate	с/к	1,9± 0,2	с/к	с/к
Cis – Vaccenic acid	2,38±0,24	1,63±0,16	с/к	с/к
Oleic Acid	2,25±0,22	1,15±0,12	0,94±0,09	0,6±0,07
Eicosatetraenoic	25,93±2,6	23,09 ±2,1	10,8±1,1	11,2± 1,2
Methyl Eicosenoate	14,1±1,5	13,94 ±1,39	6,11± 0,62*	5,9±0,62*
Docosahexaenoic	13,11±1,31	15,16 ±1,52	14,1±1,41	13,1±1,35
Methyl Erucate	12,66±1,27	9,14±0,91	10,78±1,1*	10,01±1,06*
Methyl Nervonate	0,11±0,01	0,7± 0,07	15,1±1,5	13,1±1,31

* – $p \geq 0.005$.

Влияние фуллеренов C_{60-80} в СМД-1 и СМД-2 на концентрации жирных кислот в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов показано в таблице. Как и в мембранах, фуллерены C_{60-80} в СМД-2 повышают концентрацию Миристолеиновой, Пальмитолеиновой кислот. Кроме того, происходит еще и повышение Петроселиниковой, Арахидоновой кислот, Уровни Элаидиновой, Олеиновой, Докозагексаеновой и Нервоновой кислот по отношению к СМД-1. Концентрации Линолеадиновой, Эйкозановой и Эруковой кислот изменяются статистически недостоверно ($p \geq 0,005$). Интересен тот факт, что недостоверное различие Эйкозановой кислоты наблюдалось как в мембранах, так и в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов. Уровни Линоленовой, Линолевой, Элаидиновой и цис-Вакцениковой кислот были в следовых концентрациях. При этом, интересен факт, что Элаидиновая кислота в мембранах была в следовых концентрациях, а в межклеточном веществе и цитоплазме – достоверно не различались между СМД-1 и СМД-2. Это можно трактовать, что данная кислота является транс-изомером Олеиновой кислоты. Такая же ситуация складывается с Линолеадиновой кислотой, которая является трансизомером Линолевой кислоты. А транс-изомеры не активны в биохимических процессах.

Таким образом, можно констатировать, что сверхмалые дозы фуллеренов C_{60-80} паритетно повышают и понижают уровни ЖК в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов.

При сравнении воздействия фуллеренов на уровень жирных кислот в мембранах и в межклеточном веществе и цитоплазме (см. рис. 1, 2) также обращает на себя дозозависимый эффект. Фуллерены C_{60-80} в СМД $2,3 \cdot 10^{-13}$ М значительно активируют синтез и транспорт Линолеадиновой, Петроселиниковой, Нервоновой кислот в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов по сравнению с мембранами. То же зарегистрировано при действии данного препарата в СМД-2. Однако, концентрация Миристолеиновой, Пальмитолеиновой, Линоленовой, Олеиновой, Докозагексаеновой и, особенно, Арахидоновой кислот снижались как в мембранах, так и в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов. Кроме того, некоторые ЖК были в следовых концентрациях (см. табл., рис. 1, 2).

Таким образом, результаты исследования показывают, что фуллерены C_{60-80} в сверхмалых дозах эффективно влияют на включение жирных кислот как в фосфолипиды мембран, так и в межклеточное вещество и цитоплазму кардиомиоцитов при экспериментальном ми-

окардите. Если возможно говорить о логике включения ЖК в фосфолипиды и в межклеточное вещество, это довольно неблагодарное дело – например, концентрация Линолеадиновой кислоты, являясь транс-изомером Олеиновой кислоты, выше была в межклеточном веществе и цитоплазме, чем в мембране кардиомиоцитов при воздействии как фуллеренов СМД-1, так и СМД-2, а сама Олеиновая кислота при тех же условиях, выше в мембранах. Но точно известно, что ЖК не синтезируются в мембранах. Другой пример: Арахидоновая кислота, менеджер воспалительных процессов, активнее включается в фосфолипиды мембран кардиомиоцитов, чем в межклеточное вещество и цитоплазму под действием фуллеренов как в СМД-1, так и в СМД-2. А Линолевая кислота, её предшественник, как в мембранах, так и в межклеточном веществе, обнаруживалась в следовых концентрациях при воздействии фуллеренов в СМД-1. В СМД-2 Линолевая кислота появляется в фосфолипидах мембран, но в межклеточном веществе и цитоплазме все также обнаруживалась в следовых концентрациях. Другой предшественник Арахидоновой кислоты – Линоленовая кислота под действием фуллеренов C_{60-80} как в СМД-1, так и в СМД-2 в мембранах обнаруживались, практически, в одинаковых концентрациях (2,98 и 3,01%, соответственно), а в межклеточном веществе и цитоплазме – в следовых концентрациях как в СМД-1, так и в СМД-2.

Однако основным результатом данного исследования, на наш взгляд, является констатация факта, что фуллерены C_{60-80} в сверхмалых дозах влияют на тонкие механизмы регуляции синтезом и транспортом жирных кислот в мембраны и межклеточное вещество. А если сравнить их активность с влиянием лекарственных препаратов, например, с действием диклофенака (5), можно сделать вывод, что механизм действия ксенобиотиков в сверхмалых дозах един. Следовательно, воздействие веществ в сверхмалых дозах является общебиологическим и фундаментальным.

Выводы

Фуллерены C_{60-80} в сверхмалых дозах $2,3 \cdot 10^{-13}$ и $2,3 \cdot 10^{-16}$ М влияют на механизмы регуляции синтезом и транспортом жирных кислот в мембраны и межклеточное вещество и цитоплазму клеток

Фуллерены C_{60-80} в СМД, равных $2,3 \cdot 10^{-16}$ М эффективнее контролирует включение ЖК в фосфолипиды мембран кардиомиоцитов.

Сверхмалые дозы фуллеренов C_{60-80} паритетно повышают и понижают уровни ЖК в межклеточном веществе и цитоплазме кардиомиоцитов.

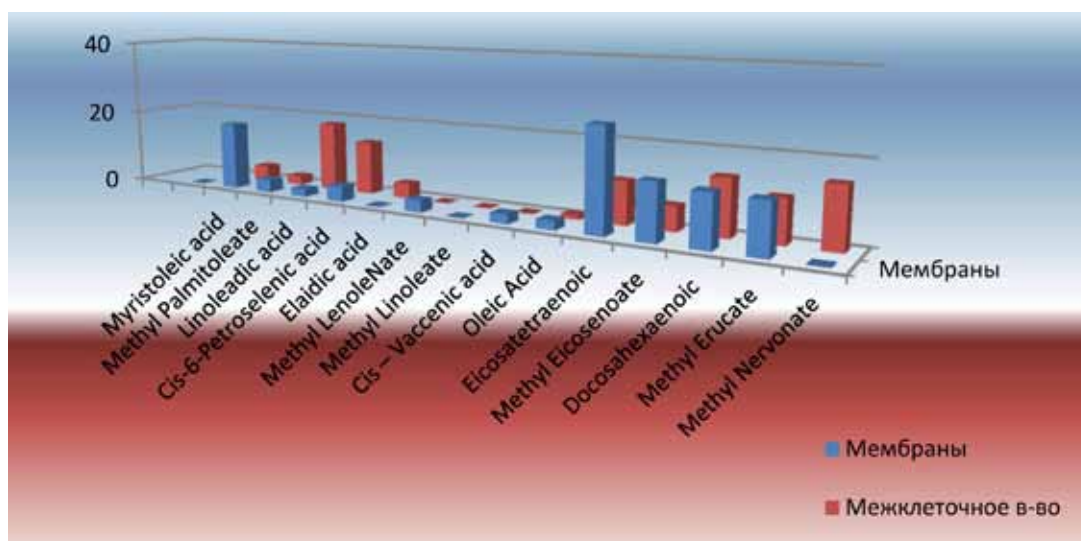


Рис. 1. Изменение концентрации жирных кислот под действием фуллеренов C_{60-80} в сверхмалой дозе $2,3 \cdot 10^{-13} M$

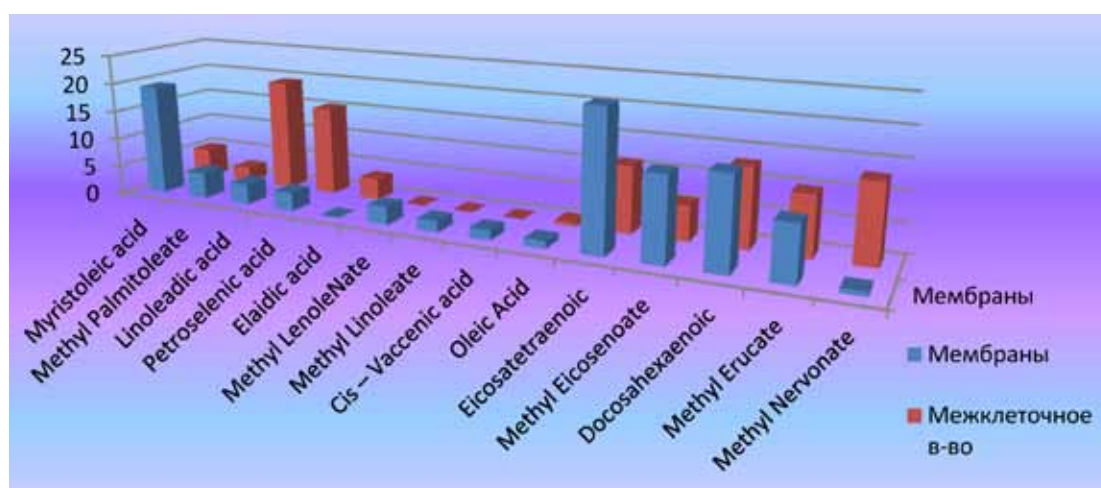


Рис. 2. Изменение концентрации жирных кислот под действием фуллеренов C_{60-80} в сверхмалой дозе $2,3 \cdot 10^{-16} M$

Список литературы

1. www.http.medline.com.
2. Денисов Ю.Д. Влияние диклофенака в разных сверхмалых концентрациях на количественный состав жирных кислот фосфолипидов мембран при экспериментальном миокардите у крыс // Материалы 6-го Международного конгресса «Слабые и сверхслабые поля и излучения в биологии и медицине». – СПб., 2012. – С. 72.
3. Денисов Ю.Д. Сравнительный анализ действия липримара и диклофенака в сверхмалых дозах на уровень жирных кислот цитоплазмы и межклеточного вещества кардиомиоцитов при экспериментальном миокардите // Тезисы III съезда терапевтов, V конгресса кардиологов РК. Алматы, 2013: Терапевтический вестник. – № 02(38). – 2013. – С. 80.
4. Денисов Ю.Д., Северова Е.А., Поминова Н.М. Сравнительный анализ влияния цитокинов и нестероидных противовоспалительных препаратов в сверхмалых дозах на уровень жирных кислот фосфолипидов мембран клеток крыс при экспериментальном миокардите // Материалы 6-го Международного конгресса «Слабые и сверхмалые поля и излучения в биологии и медицине». – СПб., 2012. – С. 72.
5. Денисов Ю.Д. Сравнительный анализ влияния фуллеренов C_{60-80} и нестероидных противовоспалительных препаратов в сверхмалых дозах на уровень жирных кислот мембран органов при экспериментальном миокардите // Материалы 7-го Международного конгресса Слабые и сверхмалые поля и излучения в биологии и медицине. – СПб., 2015. – С. 143.