

УДК:577. 352.24; 577.352.26

Физико – химические изменения искусственных мембран под действием нестероидных противовоспалительных препаратов

Ю.Д. Денисов*

SUMMARY

Physico-chemical changes in artificial membranes under the influence of non-steroidal anti-inflammatory drugs

Diclofenac is a moderately effective non-steroidal anti-inflammatory drug used for inflammatory diseases of the connective tissue (rheumatoid arthritis, infectious-allergic, rheumatoid arthritis). It also has analgesic properties.

To date, many pharmacological properties of the drug have been well studied, but the effect of Diclofenac on the physicochemical properties of membranes has not been studied.

One of the most important and interesting physicochemical properties of biological membranes is the lateral migration of lipids in the water layers of the membrane. Its speed reaches $7.5 \mu\text{m}/\text{sec}^{-1}$. This characteristic affects the pharmacological properties of the drug.

The article discusses the effect of this drug, in different concentrations, on changes in the lateral migration of lipids in artificial membranes. In addition, the article discusses the impact of toxic doses (86% of LD50), as well as the effect of LD50 on the lateral migration of lipids.

It is known that artificial membranes (AM) have the physical and chemical properties of biological membranes. These properties of IM are used to study the impact of various physical and chemical factors (medicines, chemicals, various physical factors) on the efficiency of functioning of biological cell membranes.

The results of the study showed that Diclofenac accelerates the rate of lateral migration of lipids (LMS). The issue of the effect of toxic doses of the drug on SML was considered.

Key words: *artificial membranes, lipid migration rate, effect of Diclofenac on artificial membranes*

РЕЗЮМЕ

Диклофенак – средне-эффективный нестероидный противовоспалительный препарат, используемый при воспалительных заболеваниях соединительной ткани (ревматоидный артрит, инфекционно - аллергический, ревматический артрит). Он также обладает и анальгетическими свойствами.

К настоящему времени многие фармакологические свойства препарата хорошо изучены, однако влияние Диклофенака на физико – химические свойства мембран не исследованы.

Одним из наиболее важных и интересным физико – химическим свойством биологических мембран является латеральная миграция липидов водном из слоев мембраны. Его скорость достигает $7,5 \text{ мкм}/\text{сек}^{-1}$. Данная характеристика влияет на фармакологические свойства препарата.

В статье рассматривается вопрос о влиянии данного препарата, в разных концентрациях, на изменение латеральной миграции липидов в искусственных мембранах. Кроме того, в статье рассматривается воздействие токсических доз (86% от LD₅₀), а также и влияние LD₅₀ на латеральную миграцию липидов ИМ.

Известно, что искусственные мембраны (ИМ) обладают физико – химическими свойствами биологических мембран. Эти свойства ИМ используются в изучении воздействия разных физико - химических факторов (лекарственных препаратов, химических веществ, различных физических факторов) на эффективность функционирования биологических мембран клеток.

Результаты исследования показали, что Диклофенак ускоряет скорость миграции липидов (СМЛ). Рассматривался вопрос о влиянии токсических доз препарата на СМЛ.

Ключевые слова: *искусственные мембраны, скорость миграции липидов, действие Диклофенака на искусственные мембраны*

*- Казахстанско – Российский медицинский университет, г. Алматы, Республика Казахстан, проспект Абылай хана 51/53;
yuriagnostic@yandex.ru

В предыдущей статье мы, используя математическое моделирование (взаимодействие множества Мандельброта и множество Жюлиа), выяснили, что воздействие Диклофенака в разных концентрациях может менять физико – химические свойства (ФХС) мембран в зависимости от дозы и, в частности, его применения.

Однако, ответ на очень важный вопрос – может ли препарат, даже в разных итерациях (применение препарата в данной дозе – в нашем случае, второй и третий раз применения) изменять структуру мембраны (жидко – кристаллическое на гелеподобное и наоборот)? Даже фармакологический эффект за один день (как известно [3], стандартное использование Диклофенака – 3 раза в день (т.е. итерация 1,2,3) не меняет состояние течения воспаления.

Как известно, воспалительные процессы протекают на всех уровнях организма: от тканевых до клеточных. При этом, и защитные процессы организма, а вместе с этим и терапия воспаления также происходят на всех уровнях. Но при этом, начальное и основное действие противовоспалительных препаратов начинается с клеточных мембран соединительной ткани. т.к. именно на мембранах находится фермент, синтезирующий наиболее важных провоспалительных агентов – простагландинов. Этот фермент – циклооксигеназа имеет две формы ЦОГ-1 и ЦОГ-2. Последняя форма синтезируется в ответ на воздействие воспалительных агентов. Кроме того, на мембранах много и других рецепторов, реагирующих на воспаление, активирующих как про – или противовоспалительных реакций организма (например, цитокины) .

Однако изучение реакций самих мембран на воспаление, а тем более, на действие нестероидных противовоспалительных лекарственных препаратов (НПВП) довольно редкие и несистемные.

Основными формами молекулярного движения в биологических мембранах (БМ) является латеральная миграция (перемещение молекул в плоскости

мембран, т.е. в пределах одной стороны биомолекулярного слоя) и вращение вокруг собственной оси (перпендикулярной плоскости мембраны). Скорости обоих процессов примерно такие же, как скорость свободной диффузии в вязкой среде [4, 5].

Большой свободой движения обладают липиды, среднее пребывание фосфолипидной молекулы в данном пункте мембраны не более 10^{-7} секунды. Следовательно, мембранные липиды за счет латеральной миграции беспрестанно меняются местами, причем, каждая молекула меняет соседей миллион раз в секунду, передвигаясь со скоростью $5 - 10 \text{ мкм} \cdot \text{сек}^{-1}$. В жидкокристаллической структуре молекулярные перемещения совершаются скачками.

Кроме того, передвижение молекул из одного слоя в другой (флип - флоп передвижение) совершаются значительно реже, чем латеральная миграция. Разница в вероятности этих видов молекулярного передвижения в клеточных мембранах обеспечивают постоянное поддержание их асимметрии, которая состоит в неодинаковом липидном и белковом составе их внутренней и наружной сторон. В результате таких воздействий может измениться кривизна клеточной мембраны. Еще более выражена асимметрия в распределении мембранных протеинов и углеводов

Биологическим мембранам присущи свойства, такие как значительная прочность на разрыв (эластичность), поверхностное натяжение, вязкость, электрострикция и флексоэлектрический эффект (способность генерации электрических потенциалов на мембранах при их деформации). Эти характеристики говорят о наличии поверхностного заряда на биологические мембраны (БМ) [1,4]. Сомнительно, что за одну итерацию такие изменения крайне нереальны. Однако тенденция все – таки есть. И встает вопрос: какие физико – химические изменения могут провоцировать изменения в структуре мембраны? Мы предполагаем, что это латеральная миграция фосфолипидов внутри слоёв мембраны.

Наиболее удобной моделью изучения физико – химических свойств мембран является использование искусственных бислойных мембран (ИМ) [5,6]. Известно, что ИМ обладают всеми свойствами биологических мембран, поэтому, влияя фармакологическими препаратами на ИМ можно понять, как препараты меняют физико-химические свойства ИМ.

Цель работы. Используя численный эксперимент, проверить возможность влияния Диклофенака, в разных концентрациях, влиять на скорость миграции липидов искусственных мембран.

Для проведения численного эксперимента мы выбрали семь разных концентраций препаратов от самых минимальных (25 мг) до максимально приближенных к летальной концентрации (LD_{50}), равной 500 мг, а также 86% от LD_{50} (430 мг), а также используя модель стандартного приема Диклофенака (3 раза в день, названного в нашем эксперименте итерациями 1,2,3) и формулу, отражающую константную скорость миграции липидов мембран к плотности самой мембраны, получать величину изменения скорости миграции липидов мембран (СМЛ). Результаты расчетов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние скорости ламинарной миграции липидов мембраны под действием Диклофенака в действительных величинах

N	Вид дозирования	Численные соответствия	Итерация 1	Итерация 2	Итерация 3
1	Без Препарата	(7,5 мкм/сек)* 0,01**	(7,5 мкм/сек.) 0,01	(7,5 мкм/сек.) 0,01	(7,5 мкм/сек.) 0,01
2	СТД – 1	0,025 (25 мг)	0,025	0,029	0,034
3	СТД – 2	0,04 (40 мг)	0,04	0,05	0,06
4	СТД – 3	0,05 (50 мг)	0,05	0,058	0,07
5	СТД - 4	0,07 (70 мг)	0,07	0,082	0,1
6	СТД – 5	0,1 (100 мг)	0,1	0,12	0,14
7	Токсическая доза 86% от LD ₅₀	0,43 (430 мг)	0,43	0,5	0,6
8	LD ₅₀	0,5 (500 мг)	0,5	0,6	0,7

*- константная скорость миграции липидов

** - величина изменения СМЛ после проведения константной СМЛ

Обсуждение полученных результатов.

Как видно из таблицы 1, введение Диклофенака во всех итерациях вызывает изменение скорости миграции липидов искусственных мембран. При этом, при итерации 1 наблюдается прямо-пропорциональная зависимость: чем выше концентрация препарата, тем больше изменение СМЛ. При этом, данная закономерность касается и групп «86% LD₅₀ и группы LD₅₀, но изменение СМЛ значительно выше, чем изменение СМЛ предыдущих групп. И эта тенденция распространяется на все три итерации.

Обращает на себя тот факт, что при концентрации Диклофенака «СТД-4» происходит скачок в изменении СМЛ. Таким образом, можно сделать два предварительных вывода: первый – что Диклофенак, кроме основного фармакологического эффекта, влияет на скорость миграции липидов мембран, а второй вывод, что в концентрации «70 мг» происходит скачкообразное увеличение СМЛ, что подтверждает ранние исследования, показавшие, что миграция липидов в одном слое мембран происходит скачкообразно.

Но более интересными получились результаты в группах 7,8. Во всех трех итерациях изменение СМЛ, по отношению к 1- 6 группам, был выше на 1 – 1,5 порядка. То есть, токсическая доза и LD₅₀ значительно увеличивают изменение скорости миграции липидов. Встает вопрос: «а какой

фармакологический и физиологический смысл несет такое значительное увеличение миграции липидов?»

В физиологических условиях СМЛ увеличивает активность мембран, диффузию электролитов и молекул воды в оба направления мембран. С этих позиций такое резкое увеличение СМЛ должно пропорционально увеличить активность, но СМЛ настолько увеличивается, что СМЛ переходит в хаотическое передвижение липидных молекул, в том числе и фосфолипиды, связанные с ферментами и рецепторами. Это может привести к перфорации мембраны и, как следствие, к цитолизу.

Возможно, при развитии такой ситуации, клетка отвечает единственным вариантом защиты – переводом мембраны из жидко - кристаллической структуры мембраны в твердо – кристаллическое состояние.

Безусловно, результаты численного эксперимента требуют проведения экспериментального подтверждения.

Заключение

Численный эксперимент показал, что Диклофенак влияет на изменение скорости миграции липидов в искусственной мембране и при этом, влияет дозозависимо. Но наиболее интересным является изменение СМЛ при воздействии токсической и LD₅₀ на изменение СМЛ. Перевод таких доз в хаотичную миграцию липидов мембраны, по нашим расчетам, может приводить к цитолизу клетки, что в доступной литературе не описывалось.

Численный эксперимент приводит к главному выводу – полученные результаты требуют экспериментального подтверждения (или отрицания полученных выводов).

Список используемой литературы

- 1.** Tien H.T. – Bilayer Lipid membranes (BLM). – Theory and Practice. – New York – Marcel Dekker Inc. – 1974. – 655 P.
- 2.** Глик Джеймс. – Хаос. Создание новой науки. - 2004. – 720 С.
- 3.** Бертрам Г. Катцунг. – Базисная и клиническая фармакология.-Санкт – Петербург. – Бином.-т.1, 2.
- 4.** Шевченко У.В., Смирнова Е,Ю., Антонов В.Ф. Бислойные липидные мембраны как сенсоры температуры, двухвалентных ионов и электрического поля.- Сенсорные системы. – 1992. – Т.6. - №4. – С.103- 106.
- 5.** Антонов В.Ф. Биофизика мембран. – Соросовский образовательный журнал. – 1996. – N. 6. – 12.
- 6.** Алексеева О.М., Кременцова А.В.,Кривандин А.В., Шаталова Ю.А. Модельные биомембраны как тест – объекты для определения концентрационного диапазона химических веществ, не вызывающего деструкцию в биологических объектах. – Токсикологический вестник.- 2019.- N 6. – С. 10 – 30.