

Научная статья
УДК 619: 612.12
doi: 10.34655/bgsha. 2024.76.3.007

Оценка влияния соединений фуллерена C₆₀ на некоторые биохимические показатели крови телят

К.Ф. Лекомцева¹, Н.А. Пудовкин², С.Д. Клюкин³, Н.И. Захаркина⁴, И.И. Калюжный⁵
^{1,2,3,5} Саратовский государственный университет генетики, биотехнологии и инженерии имени Н.И. Вавилова, Саратов, Россия
^{2,4} Астраханский государственный университет им. В.Н. Татищева, Астрахань, Россия
Автор, ответственный за переписку: Николай Александрович Пудовкин, niko-pudovkin@yandex.ru

Аннотация. В статье изложены результаты исследований по влиянию соединений фуллерена C₆₀ на биохимические показатели крови телят. Для проведения исследований было сформировано четыре группы животных по 6 телят черно-пестрой породы в каждой, согласно принципу аналогов. Первая группа животных служила контролем. Второй группе животных был введен гепатопротекторный и антиоксидантный препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀, ресвератрола и бетаина гидрохлорида, третьей группе телят вводили соединение на основе водного раствора фуллерена C₆₀, цинка, витаминов D₃, С и кверцетина для животных, четвертой группе – соединение на основе водного раствора фуллерена C₆₀, L-карнозина, янтарной кислоты и фукоксантина. Определение биохимических показателей проводили на автоматическом анализаторе MNCHIP Pointcare V5. Установлено, что после введения изучаемых соединений уровень мочевины у животных 2-й и 3-й групп повысился на 33,0 и 27,3% соответственно относительно контроля. Уровень холестерина у животных второй группы повысился на 45,8%, третьей – на 32,3% относительно контроля. Содержание триглицеридов в сыворотке крови второй и третьей группы понизилось в 2 раза, у животных третьей группы – на 26,5% относительно контроля. Концентрация фосфора в сыворотке крови телят повысилась на 42,5% (2-я группа), 26,8% (3-я группа) и 19,1% (4-я группа). Уровень лактата в сыворотке крови понизился у животных первой группы на 22,6%, второй – на 13,2% и третьей – на 22,6% относительно контроля. Концентрация пирувата повысилась на 26,3% (2-я и 3-я группа) и 33,4% (1-я группа) относительно контроля. Таким образом, соединения на основе фуллерена оказывают положительное влияние на организм животных, вызывая повышение уровня некоторых биохимических показателей. Все изучаемые соединения оказывают положительный эффект на организм животных.

Ключевые слова: фуллерен C₆₀, телята, сыворотка крови, наноматериалы, биохимические показатели крови.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 22-26-00019 «Разработка антиоксидантных и противоопухолевых ветеринарных препаратов на основе нанофуллеренов».

Original article

Assessment of the influence of fullerene C₆₀ compounds on some biochemical indicators of blood of calves

Kira F. Lekomtseva¹, Nikolay A. Pudovkin², Sergey D. Klyukin³, Natalya I. Zakharkina⁴, Ivan I. Kalyuzhny⁵

^{1,2,3,5} Saratov State University of Genetics, Biotechnology and Engineering named after N.I. Vavilov, Saratov, Russia

^{2,4} Astrakhan State University named after V.N. Tatishcheva, Astrakhan, Russia

Corresponding author: Nikolai A. Pudovkin, niko-pudovkin@yandex.ru

Abstract. The article presents the results of studies on the effect of C₆₀ fullerene compounds on the biochemical parameters of calves' blood. To conduct the research, four groups of animals were formed according to the principle of analogues with 6 black-and-white calves in each. The first group of animals served as a control one. The second group of animals was injected with a hepatoprotective and antioxidant drug based on an aqueous solution of C₆₀ fullerene, resveratrol and betaine hydrochloride, the third group of calves was subcutaneously injected with a compounds based on an aqueous solution of C₆₀ fullerene, zinc, vitamins D₃, C and quercetin for animals, the fourth group was given a compound based on an aqueous solution of C₆₀ fullerene, L-carnosine, succinic acid and fucoxanthin. Biochemical parameters were determined using an MNCHIP Pointcare V5 automatic analyzer. It was found out that after the administration of the studied compounds, the level of urea in animals of groups 2 and 3 increased by 33.0% and 27.3%, respectively, compared with the control. The cholesterol level in animals of the second group increased by 45.8%, in the third - by 32.3%, regarding to the control. The amount of triglycerides in the blood serum of the second and third groups decreased by 2 times, in animals of the third group - by 26.5%, in comparison with the control. The concentration of phosphorus in the blood serum of calves increased by 42.5% (group 2), 26.8% (group 3) and 19.1% (group 4). The level of lactate in the blood serum decreased in animals of the first group by 22.6%, the second - by 13.2% and the third - by 22.6%, relative to the control. The concentration of pyruvate increased by 26.3% (groups 2 and 3) and 33.4% (group 1) regarding to the control. Thus, fullerene-based compounds have a positive effect on an animal body by causing an increase in the level of certain biochemical parameters. All studied compounds have a positive effect on an animal body.

Keywords: fullerene C₆₀, calves, blood serum, nanomaterials, biochemical blood parameters

Acknowledgments: The work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 22-26-00019 "Development of antioxidant and antitumor veterinary drugs based on nanofullerenes".

Введение. Структурные и электронные особенности молекулы фуллерена C₆₀ позволяют ей претерпевать различные типы химических превращений. В результате получают водорастворимые фуллерены с широким спектром биологической активности [1].

Фуллерены C₆₀ обладают сильной антиоксидантной активностью [2], способны расщеплять двухцепочечную ДНК, обладают гепатопротекторным, антиапоптотическим, радиозащитным, антибактериальным и вирулицидным действием, а также они могут вызывать рост и ингибирование в нескольких клеточных линиях и

ингибирование различных ферментов [3].

Исследования *in vitro* и *in vivo* подтверждают, что фуллерены могут удерживаться клетками и накапливаться в тканях [4].

Таким образом, фуллерены являются перспективными соединениями в ветеринарной фармакологии и в целом могут использоваться в качестве компонентов при разработке лекарственных веществ или в качестве средств доставки лекарств. Однако, использование этих соединений в ветеринарной медицине все еще ограничено.

Целью работы явилось изучение влияния

яния соединений фуллерена C₆₀ на биохимические показатели крови телят.

Методика исследований. Для проведения исследований телята были сформированы в четыре группы, по 6 животных черно-пестрой породы в каждой, согласно принципу аналогов.

Первая группа животных служила контролем.

Второй группе животных был введен гепатопротекторный и антиоксидантный препарат на основе водного раствора фуллерена C₆₀, ресвератрола и бетаина гидрохлорида при следующем соотношении компонентов: водный раствор фуллерена C₆₀, стабилизированный плуронином F-127 – 1 мл (1 мг по ДВ), ресвератрол – 25 мг, бетаина гидрохлорид – 10 мг.

Третьей группе телят подкожно вводили композицию на основе водного раствора фуллерена C₆₀, цинка, витаминов D₃, С и кверцетина для животных, включающего водный раствор фуллерена C₆₀ –

1 мл, 1 мг действующего вещества, цинк – 12 мг, витамин D₃ – 500 МЕ, витамин С – 90 мг, кверцетин – 10 мг.

Четвертой группе – соединение на основе водного раствора фуллерена C₆₀ – 1 мл, 1 мг действующего вещества, L-карнозин – 50 мг, янтарная кислота – 10 мг, фукоксантин – 15 мг.

Общий объем раствора, вводимого животным, составил 5 мл.

Определение биохимических показателей проводили на автоматическом анализаторе MNCHIP Pointcare V5 (Китай).

Цифровые данные проходили статистическую обработку с вычислением критерия Стьюдента на персональном компьютере, используя стандартную программу вариационной статистики Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследований по влиянию соединений фуллерена представлены в таблице.

Таблица – Биохимические показатели крови телят под влиянием соединений фуллерена C₆₀, (n=6)

Показатель, ед. изм.	Контроль	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Общий белок, г/л	76,72±2,87	78,79±3,03	81,91±2,12	76,95±1,99
Альбумины, г/л	38,98±1,66	38,91±2,06	40,00±3,92	38,01±1,98
α-глобулины, г/л	12,96±0,32	13,92±0,28	13,94±1,63	12,84±0,54
β-глобулины, г/л	11,87±1,03	12,96±0,32	13,00±0,77	13,02±0,34
γ-глобулины, г/л	13,08±1,14	14,00±1,03	14,98±0,74*	13,08±0,43
ЩФ, Е/л	156,98±7,09	160,04±6,93	159,02±9,00	161,00±7,03
АСТ, Е/л	109,84±6,06	110,84±4,92	112,04±7,03	110,86±4,75
АЛТ, Е/л	22,98±0,82	21,07±0,51	23,00±1,00	21,74±0,42
γ-ГТ, Е/л	15,95±0,51	16,09±0,59	16,93±0,73	15,98±0,52
Мочевина, ммоль/л	4,03±0,87	3,96±0,13	5,36±0,51*	5,13±0,41*
Креатинин, мкмоль/л	128,65±3,96	118,04±8,73	120,84±9,62	119,73±2,95
Билирубин, мкмоль/л	3,83±0,14	3,54±0,56	3,21±0,31	3,77±0,41
Глюкоза, ммоль/л	3,87±0,32	4,11±0,05	4,87±0,16*	4,91±0,32*
Лактат, ммоль/л	1,03±0,15	0,84±0,06*	0,91±0,27*	0,84±0,02*
Пируват, мкмоль/л	56,98±3,92	76,01±5,92*	71,94±5,02*	72,01±6,82*
Общие липиды, г/л	2,96±0,18	3,01±0,01	3,33±0,21*	3,19±0,21
Триглицериды, ммоль/л	0,43±0,02	0,21±0,04*	0,21±0,12*	0,34±0,09*
Холестерин, ммоль/л	2,01±0,13	2,93±0,09*	2,66±0,03*	2,09±0,04
Общий кальций, ммоль/л	2,74±0,51	2,80±0,11	2,64±0,17	2,59±0,06
Фосфор неорг., ммоль/л	2,09±0,02	2,98±0,16*	2,65±0,15*	2,49±0,04*

* $p \leq 0,05$ – достоверность различий относительно контроля

Установлено, что уровень α-глобулинов у второй группы животных повысился на 14,5% относительно контроля (табл.).

Исходная концентрация мочевины в сыворотке крови составила 4,03±0,87 ммоль/л. После введения изучаемых со-

единений уровень мочевины у животных 2-й и 3-й групп повысился на 33,0 и 27,3% соответственно относительно контроля. Мочевина является основным азотистым продуктом метаболизма и приводит к образованию белка. Концентрация мочевины в сыворотке отражает баланс между выработкой мочевины в печени и выделением мочевины почками с мочой. Повышение уровня мочевины в сыворотке крови может быть вызвано с усилением её выработки и снижением выведения или комбинацией этих двух факторов [5].

После введения изучаемых соединений концентрация глюкозы у первой группы животных достоверно не изменилась. У животных второй и третьей группы концентрация глюкозы повысилась на 25,8 и 26,9 соответственно относительно контроля.

Уровень лактата в сыворотке крови понизился у животных первой группы на 22,6%, второй – на 13,2% и третьей – на 22,6% относительно контроля.

Концентрация пирувата повысилась на 26,3% (2-я и 3-я группа) и 33,4% (1-я группа) относительно контроля.

Лактат вырабатывается большинством тканей организма, хотя основным местом его образования являются мышцы. Он производится из пирувата, который является конечным продуктом гликолиза. В аэробных условиях пируват входит в цикл Кребса, минуя выработку лактата. Тем не менее, в анаэробных условиях ЛДГ превращает его в лактат в цитоплазме. Лактат используется для производства клеточной энергии с помощью различных механизмов. Во-первых, при его производстве образуется НАД⁺, который используется для гликолиза; во-вторых, он является субстратом глюконеогенеза посредством цикла Кори в печени и, наконец, он служит важным энергетическим субстратом в мозге посредством челнока от клетки к клетке [6].

Уровень общих липидов в сыворотке крови у контрольных животных составил $2,96 \pm 0,18$ г/л. После введения соединений на основе фуллерена C₆₀ у животных первой и третьей группы достоверных

изменений не установлено, у животных второй группы концентрация общих липидов в сыворотке крови повысилась на 12,5% относительно контроля.

Уровень холестерина у животных второй группы повысился на 45,8%, третьей – на 32,3% относительно контроля.

Некоторое повышение уровня общих липидов и холестерина в сыворотке крови является неблагоприятным признаком. Поскольку синтез общих липидов начинается с производства и высвобождения липопротеинов низкой плотности, причем триглицериды являются наиболее распространенными липидами в этих липопротеинах. Основным липидным компонентом липопротеинов низкой плотности является холестерин, метаболизм которого происходит в печени. Липопротеины, которые синтезируются печенью и кишечником, транспортирует холестерин из периферических тканей в печень. Повышение уровня этого липопротеина может привести к атеросклерозу [7].

Содержание триглицеридов в сыворотке крови второй и третьей группы понизился в 2 раза, у животных третьей группы – на 26,5% относительно контроля. Понижение уровня триглицеридов в сыворотке крови является благоприятным признаком, поскольку считается, что снижение триглицеридов в сыворотке крови увеличивает окисление жирных кислот, что подавляет липогенез в печени и последующую выработку свободных радикалов [8].

Концентрация фосфора в сыворотке крови телят повысилась на 42,5% (2 группа), 26,8% (3-я группа) и 19,1% (4-я группа) относительно контрольного значения. Первоначально уровень фосфора считался индикатором минеральных заболеваний костей и предиктором переломов позвонков. Однако некоторые недавние небольшие исследования показали, что фосфор не коррелирует с минеральной плотностью костной ткани. Фосфор является жизненно важным питательным веществом, но нарушения гомеостаза фосфора играют центральную роль в развитии хронических заболеваний почек и минеральных нарушений в организме [9, 10].

В остальных изучаемых показателях достоверных различий у животных опытных групп с контрольной группой не установлено (табл.).

Заключение. Таким образом, установлено, что соединения на основе фул-

лерена оказывают положительное влияние на организм животных, вызывая повышение уровня некоторых биохимических показателей. Все изучаемые соединения оказывают положительный эффект на организм животных.

Список источников

1. Миронов Г.И., Соколов М.В. Физико-химические свойства золотых фуллеренов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Физико-математические науки. 2019. № 2 (50). С. 60-74. EDN: AQIHJS. doi: 10.21685/2072-3040-2019-2-6.
2. Фуллерены в ветеринарии / Н.А. Пудовкин, С.Д. Ключкин, В.В. Салаутин [и др.]. Саратов : Общество с ограниченной ответственностью "Амирит", 2023. 196 с. EDN: OEEXZB.
3. Жаровин В.В., Захаров Р.Р. Гидроксильированные фуллерены как перспективные вещества в ВИЧ-терапии // Forcipe. 2020. Т. 3. № S1. С. 435. EDN: GUFXLX.
4. Биомедицинское использование наноконъюгатов на основе оксида графена и фуллеренов с цитостатическими препаратами / А. Протас, Е.А. Попова, О.В. Миколайчук [и др.] // Трансляционная медицина. 2023. Т. 10. № 5. С. 402-411. EDN: IHXHOQ. doi: 10.18705/2311-4495-2023-10-5-402-411.
5. Состояние глюконеогенной функции печени белых крыс под влиянием наноконструктивного водного раствора фуллерена C₆₀ / А.А. Алексеев, Н.А. Пудовкин, В.В. Салаутин, С.Д. Ключкин // Международный вестник ветеринарии. 2022. № 2. С. 58-64. EDN: AQDFJW. doi: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.58.
6. Ибрагимов И.Б., Таалайбекова М.Т. Динамика уровня лактата в сыворотке крови экспериментальных животных при долгосрочной адаптации к условиям высокогорья на фоне применения милдроната // Актуальные научные исследования в современном мире. 2021. № 10-11(78). С. 7-10. EDN: PXNARU.
7. Еременко В.И., Сидоров А.Е. Динамика общих липидов и холестерина в крови нетелей разных пород // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2022. № 1. С. 56-60. EDN: FHWGK.
8. Исследование процессов липогенеза и воспаления при неалкогольной жировой болезни печени на модели стеатоза с использованием клеток HEPG2 / Е.С. Щербакова, Т.С. Салль, А.М. Ищенко [и др.] // Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета). 2019. № 50 (76). С. 92-96. EDN: MODTFA.
9. Ключкин С.Д., Пудовкин Н.А. Воздействие водного соединения на основе водного раствора фуллерена C₆₀ на минеральный состав крови кошек // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2024. Т. 257. № 1. С. 110-114. EDN: YJEQJI. doi: 10.31588/2413_4201_1883_1_257_101.
10. Serum Phosphorus and Calcium as Biomarkers of Disease Status in Acromegaly / N. Sawicka-Gutaj, A. Derwich-Rudowicz, A. Biczysko [et. al.] // Biomedicines. 2023. № 11. P. 3278. doi: 10.3390/biomedicines11123278

References

1. Mironov G.I., Sokolov M.V. Physical and chemical properties of gold fullerenes. *University proceedings. Volga region. Physical and mathematical sciences*. 2019;2(50):60-74 (In Russ.) doi: 10.21685/2072-3040-2019-2-6.
2. Pudovkin N. A., Klyukin S. D., Salautin V. V. [et al.]. Fullerenes in veterinary medicine. Saratov: Limited Liability Company "Amirit", 2023; 196 p. (In Russ.)
3. Zharov V.V., Zakharov R.R. Hydroxylated fullerenes as promising substances in HIV therapy. *Forcipe*. 2020;3:435 (In Russ.)
4. Protas A.V., Popova E.A., Mikolaichuk O.V. [et al.]Biomedical use of nanoconjugates based on graphene oxide and fullerenes with cytostatic drugs. *Translational medicine*. 2023;10(5):402-411 (In Russ.). doi: 10.18705/2311-4495-2023-10-5-402-411.
5. Alekseev A.A., Pudovkin N.A., Salautin V.V., Klyukin S.D. The state of gluconeogenic function of the liver of white rats under the influence of a nanocomposite aqueous solution of fullerene C₆₀. *International Bulletin of Veterinary Medicine*. 2022;2:58-64 (In Russ.) doi: 10.52419/issn2072-2419.2022.2.58.
6. Ibragimov I.B., Taalaibekova M.T. Dynamics of lactate level in the blood serum of experimental animals during long-term adaptation to high-altitude conditions against the background of the use of mildronate. *Current scientific research in the modern world*. 2021;10-11(78):7-10 (In Russ.)
7. Eremenko V.I., Sidorov A.E. Dynamics of total lipids and cholesterol in the blood of heifers of different breeds. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*. 2022;1:56-60 (In Russ.)

8. Shcherbakova E.S., Sall T.S., Ishchenko A. [et al.] Study of the processes of lipogenesis and inflammation in non-alcoholic fatty liver disease on a model of steatosis using HEPG2 cells. *News of the St. Petersburg State Technological Institute (technical university)*. 2019;50(76):92-96 (In Russ.)
9. Klyukin S.D. Pudovkin N.A. Impact of an aqueous compound based on an aqueous solution of fullerene C₆₀ on the mineral composition of the blood of cats. *Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman*. 2024;257(1):110-114 (In Russ.) doi: 10.31588/2413_4201_1883_1_257_101.
10. Sawicka-Gutaj N., Derwich-Rudowicz A., Biczysko A. [et. al.] Serum Phosphorus and Calcium as Biomarkers of Disease Status in Acromegaly. *Biomedicines*. 2023;11:3278. doi: 10.3390/biomedicines11123278

Информация об авторах

Кира Федоровна Лекомцева – аспирант кафедры «Морфология, патология животных и биология», lekomcevakf@mail.ru;

Николай Александрович Пудовкин – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Морфология, патология животных и биология»; профессор кафедры «Ветеринарная медицина», niko-pudovkin@yandex.ru;

Сергей Дмитриевич Ключин – кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры «Морфология, патология животных и биология», klyukin15@mail.ru;

Наталья Ивановна Захаркина – кандидат биологических наук, доцент, доцент кафедры «Ветеринарная медицина», veterinaria-2011@mail.ru;

Иван Исаевич Калужный – доктор ветеринарных наук, профессор, профессор кафедры «Болезни животных и ВСЭ», kalugnivan@mail.ru

Information about the authors

Kira F. Lekomtseva – postgraduate student, Chair of Morphology, Animal Pathology and Biology, lekomcevakf@mail.ru;

Nikolay A. Pudovkin – Doctor of Science (Biology), Professor, Head of the Chair of Morphology, Animal Pathology and Biology; Professor, Chair of Veterinary Medicine, niko-pudovkin@yandex.ru;

Sergey D. Klyukin – Candidate of Science (Veterinary), Associate Professor, Chair of Morphology, Animal Pathology and Biology, klyukin15@mail.ru;

Natalya I. Zakharkina – Candidate of Science (Biology), Associate Professor, Associate Professor, Chair of Veterinary Medicine, veterinaria-2011@mail.ru;

Ivan I. Kalyuzhny – Doctor of Sciences (Veterinary), Professor, Professor, Chair of Animal Diseases and VSE, kalugnivan@mail.ru.

Статья поступила в редакцию 19.04.2024; одобрена после рецензирования 22.05.2024; принята к публикации 28.05.2024.

The article was submitted 19.04.2024; approved after reviewing 22.05.2024; accepted for publication 28.05.2024.