

ВИЗНАЧЕННЯ ВПЛИВУ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ НА БІЛКОВИЙ ОБМІН У СИСТЕМІ КРОВІ ЗА УМОВ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ ГІПОПРОТЕЇНЕМІЇ

Наведено результати дослідження з визначення впливу екстракту з трави люцерни посівної (ЕТЛП) на білковий обмін у системі крові за умов доксорубіцинової гіпопротеїнемії. Установлено, що ЕТЛП у дозі 25 мг/кг підвищує відносно контрольної патології на 24 % вміст загального білка в сироватці крові, на 21 % – кількість альбумінів, на 18 % – кількість глобулінів, на 55 % – кількість високомолекулярних білків та знижує на 70 % кількість низькомолекулярних білків у плазмі крові. Ці дані свідчать про те, що ЕТЛП за рахунок вмісту в своєму складі білка та амінокислот здатний не тільки відновлювати, але й стимулювати білковий обмін у системі крові та відновлювати життєзабезпечувальні функції крові.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: білковий обмін, білки крові, екстракт з трави люцерни посівної, доксорубіцинова гіпопротеїнемія, корекція білкового обміну, індукція синтезу білка.

ВСТУП. Кров є рідкою тканиною організму людини і тварин, яка забезпечує зв'язок та інтеграцію обміну речовин, у тому числі й білкового обміну, різних органів і тканин. Основну масу розчинних речовин крові утворюють білки. Плазма крові містить складну суміш декількох сотень різних білків, що мають різноманітні фізико-хімічні властивості, молекулярну масу та функціональні властивості: транспортні білки, ферменти, проферменти, інгібітори ферментів, гормони, антитіла, антитоксини, фактори коагуляції та антикоагулянти тощо. Загальна концентрація білків плазми крові в нормі складає 60–85 г/л. Із них на альбуміни припадає 40–50 г/л, на глобуліни – 20–30 г/л. Альбуміни та глобуліни належать до глобулярних білків і відрізняються між собою за молекулярною масою, розчинністю та функціями. Молекулярна маса альбумінів складає 15–70 кДа, глобулінів – перевищує 150 кДа. Альбуміни на 80 % забезпечують колоїдно-осмотичний тиск крові та є транспортною системою багатьох гідрофобних речовин – вони можуть приєднувати і транспортувати жирні кислоти, холестерин, жовчні пігменти, вітаміни, гормони, деякі амінокислоти, фенол та інші токсичні й лікарські сполуки. Глобуліни – гетерогенна фракція білків крові, яка містить α_1 -глобуліни: здійснюють транспорт ліпідів, тироксину, кортикостероїдних гормонів;

α_2 -глобуліни: здійснюють транспорт ліпідів, іонів міді, заліза; β -глобуліни: здійснюють транспорт ліпідів, вільного та гемового заліза, беруть участь в імунних реакціях як антитоксини; γ -глобуліни: фракція імуноглобулінів IgA, IgG, IgE, IgM, що виконують функцію антитіл, основних ефекторів гуморального імунітету. Також плазма містить фракції білків, які забезпечують гемостаз: фібриноген, протромбін [7].

Отже, вищевикладене свідчить про життєво важливу роль білкового обміну крові для підтримки гомеостазу та життя взагалі. Але під час різноманітних станів організму можливі зміни вмісту загального білка в крові та складу його фракцій у бік зменшення, тобто розвиток гіпопротеїнемії. Гіпопротеїнемія може виникати внаслідок активації процесів старіння, пригнічення білкового синтезу та активації розпаду тканинних білків: голодування, виснажливих інфекційних захворювань, захворювань печінки, нирок, міокарда тощо.

Для фармакокорекції таких станів у комплексі необхідно використовувати лікарські засоби-коректори білкового обміну, що сприятимуть відновленню рівня білка в організмі, зокрема в системі крові. Таким засобом може стати препарат, створений на основі екстракту з трави люцерни посівної (ЕТЛП) (*Medicago sativa*) з роду бобових (*Fabaceae*), який містить білки, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розщеплюють білки та

© Р. Ф. Єрмоєнко, 2012.

сприяють їх засвоєнню, зокрема бетайн; дубильні речовини, сапоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни А, D, B₁, B₁₂, С, Е, К; мікро- та макроелементи Са, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, K, Si, Na, F; хлорофіл; ізофлавоноїди генистеїн, дайдзеїн, куместрол; флавоноїди апігенін, лютеолін, кверцетин, рутин та ін.; органічні кислоти (кофейну, галову, ферулову, метоксикумарову, уронову); алкалоїди; аспарагін; антоціани; карбогідрати; моноцукри та полісахариди; пігменти; крохмаль [2].

Наявність у складі ЕТЛП великої кількості білка, амінокислот, у тому числі незамінних, забезпечує його здатність індукувати синтез білка в організмі здорових тварин [3], що, разом з органопротекторними властивостями, зможе сприяти відновленню нормальної концентрації білків та функцій крові, які ці білки забезпечують, загальній стабілізації білкового обміну в системі крові за умов експериментальної гіпопротеїнемії.

Метою даного дослідження було експериментальне визначення впливу екстракту з трави люцерни посівної на білковий обмін у системі крові за умов доксорубіцинової гіпопротеїнемії.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Відома здатність доксорубіцину порушувати пластичні процеси в організмі, що призводить до пригнічення синтетичних процесів, зокрема білка, порушення білкового обміну, що супроводжується утворенням токсичних продуктів розпаду білка та гіпопротеїнемією, яка загрожує життю [1]. Однією з перших на це повинна реагувати кров – рідка тканина організму людини і тварин, що забезпечує зв'язок та інтеграцію обміну речовин різних органів і тканин. Для перевірки цього ми в щурів груп контрольної патології (КП) та дослідної (ЕТЛП, 25 мг/кг) моделювали гіпопротеїнемію шляхом внутрішньочеревного введення доксорубіцину в дозі 4 мг/кг один раз на добу за такою схемою: 1, 2, 4 та 6 доби досліді. Тваринам дослідної групи у превентивно-лікувальному режимі щоденно протягом 2-х тижнів до та одного тижня після маніфестації гіпопротеїнемії вводили внутрішньошлунково ЕТЛП у дозі 25 мг/кг. Після

закінчення експерименту проводили евтаназію щурів трьох груп по 8 тварин у групі: інтактного контролю (ІК) (1), контрольної патології (2) та дослідної, яка отримувала ЕТЛП (3) відповідно до норм та правил біоетики. Щурів декапітували під ефірним наркозом та забірали кров для отримання сироватки і плазми крові. В сироватці крові визначали рівень загального білка в організмі тварин усіх груп, а плазму використовували для хроматографічного дослідження з метою визначення білкового складу для оцінки білкового обміну в системі крові.

Взагалі експеримент виконували відповідно до вимог комісії з біоетики НФаУ та Загальних етичних принципів експериментів на тваринах (Київ, 2001), які узгоджуються з положеннями Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [1].

Концентрацію білкових фракцій з молекулярною масою від 5 до 750 кДа в плазмі крові щурів визначали на базі лабораторії клінічної біохімії Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків) методом гель-хроматографії з використанням хроматографічної колонки 1x27 см із сефадексом G-200 та спектрофотометра "Pye Unicam SP8000" (Англія) [5, 6, 8].

Отримані експериментальні дані статистично обробляли методом варіаційної статистики. Для проведення математичних розрахунків застосовували стандартний пакет статистичних програм "Statistica 6,0" [4].

Результати експерименту наведено в таблицях 1 та 2.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що доксорубіцин викликав розвиток вираженої гіпопротеїнемії в групі тварин КП, на що вказують достовірне відносно групи ІК зниження на 31,2 % рівня загального білка в сироватці крові (табл. 1) та суттєві зміни білкових фракцій, а саме зменшення відносно ІК на 22 % кількості білків альбумінової фракції, на 14 % – кількості білків глобулінової фракції, на 41 % –

Таблиця 1 – Вплив екстракту з трави люцерни посівної на рівень загального білка в сироватці крові щурів з доксорубіциновою гіпопротеїнемією

Показник	Умови досліді		
	інтактний контроль	контрольна патологія	КП+ЕТЛП, 25 мг/кг
Загальний білок, г/л	83,11±4,77	57,21±2,10*	74,91±1,87**

Примітка. * – відхилення показника достовірне щодо інтактного контролю, p≤0,05; ** – відхилення показника достовірне щодо контрольної патології, p≤0,05.

Таблиця 2 – Вплив екстракту з трави люцерни посівної на білковий обмін у системі крові за умов доксорубіцинової гіпопротеїнемії

Вид білкової фракції	Розмір білків, кДа	Концентрація білків, %		
		інтактний контроль	контрольна патологія	КП+ЕТЛП, 25 мг/кг
Низькомолекулярні білки	5	1,11	2,57	0,7
	12	3,33	5,37	1,7
Альбумінова фракція	30	11,06	8,72	9,26
	65	12,51	9,69	14,08
Глобулінова фракція	230	7,97	6,89	8,44
Високомолекулярна фракція	500	5,08	3,31	6,24
	750	3,25	1,59	4,64

кількості білків високомолекулярної фракції, що свідчить про деструктивні процеси в організмі та розпад білкових молекул з утворенням низькомолекулярних фрагментів, що проявилось зростанням відносно ІК на 44 % кількості білків низькомолекулярної фракції (табл. 2).

Застосування при доксорубіцинової гіпопротеїнемії в превентивно-лікувальному режимі ЕТЛП у дозі 25 мг/кг за рахунок стимуляції білоксинтетичних процесів привело до нормалізації білкового обміну в системі крові, про що свідчать достовірне відносно групи КП зростання на 24 % вмісту загального білка в сироватці крові (табл. 1) та, відповідно, зміни в концентрації фракційних білків у плазмі крові (табл. 2). Так, під впливом ЕТЛП у дозі 25 мг/кг зростала на 21 % відносно групи КП кількість білків альбумінової фракції, а кількість білків глобулінової фракції збільшувалась, порівняно з групою КП, на 18 %, порівняно з групою ІК – на 6 % (табл. 2). Найбільше зростала кількість білків високомолекулярної фракції: порівняно з групою КП – на 55 %, порівняно з групою ІК – на 23 % (табл. 2). Кількість білків низькомолекулярної фракції значно зменшувалась:

відносно групи КП – на 70 %, групи ІК – на 46 % (табл. 2). Ці дані свідчать про те, що ЕТЛП за рахунок вмісту в своєму складі білка та амінокислот здатний не тільки відновлювати, але й стимулювати білковий обмін у системі крові та відновлювати такі функції крові, як транспортна, детоксикувальна та осмотична, які забезпечують альбуміни, захисна, яку забезпечують різні види глобулінів, та згортальна, яку забезпечують білки високомолекулярної фракції.

ВИСНОВОК. ЕТЛП у дозі 25 мг/кг при превентивно-лікувальному введенні за умов доксорубіцинової гіпопротеїнемії сприяє не тільки відновленню кількості білків, але й стимулюванню білоксинтетичних процесів, та здатний коректувати порушення білкового обміну в системі крові та відновлювати життєзабезпечувальні функції крові.

Перспективи подальших досліджень. Отримані експериментальні дані обґрунтовують доцільність подальших досліджень ЕТЛП з метою його впровадження у широку медичну практику як коректора порушень білкового обміну.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Дослідження фенольного комплексу із трави люцерни посівної / С. В. Ковальов, А. М. Ковальова, Р. Ф. Єрьоменко [та ін.] // Фармац. часопис. – 2008. – № 2(6). – С. 27–30.
3. Єрьоменко Р. Ф. Вивчення впливу екстрактів з трави люцерни посівної та сої щитиністої на білковий обмін в організмі здорових щурів / Р. Ф. Єрьоменко // Запорозж. мед. журн. – 2011. – 13, № 4. – С. 20–22.
4. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – 2001. – 320 с.
5. Остерман Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот / Л. А. Остерман. – М. : Наука, 1985. – 536 с.
6. Спиринов А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот / А. С. Спиринов // Биохимия. – 1958. – 23, вып. 5. – С. 657–661.
7. Шугалей И. В. Химия белка : учебное пособие /

И. В. Шугалей, А. В. Гарабаджиу, И. В. Целинский. – СПб. : Проспект Науки, 2010. – 200 с.

8. Harris D. A. Spectrophotometric assays in: spectrophotometry & spectrofluorimetry / D. A. Harris. – Washington : IRL Press, 1987. – P. 49–90.

Р. Ф. Еременко

НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА С ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ НА БЕЛКОВЫЙ ОБМЕН В СИСТЕМЕ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ ГИПОПРОТЕИНЕМИИ

Резюме

Приведены результаты исследования по определению влияния экстракта с травы люцерны посевной (ЭТЛП) на белковый обмен в системе крови в условиях доксорубициновой гипопропротеинемии. Установлено, что ЭТЛП в дозе 25 мг/кг повышает относительно контрольной патологии на 24 % содержание общего белка в сыворотке крови, на 21 % – количество альбуминов, на 18 % – количество глобулинов, на 55 % – количество высокомолекулярных белков в плазме крови. Эти данные свидетельствуют о том, что ЭТЛП за счет содержания в своем составе белка и аминокислот способен не только восстанавливать, но и стимулировать белковый обмен в системе крови и восстанавливать жизнеобеспечивающие функции крови.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: белковый обмен, белки крови, экстракт с травы люцерны посевной, доксорубициновая гипопропротеинемия, коррекция белкового обмена, индукция синтеза белка.

R. F. Yeriomenko

NATIONAL PHARMACEUTICAL UNIVERSITY, KHARKIV

RESEARCH OF EXTRACT MEDICAGO SATIVA SOWING GRASS INFLUENCE ON PROTEIN METABOLISM IN BLOOD SYSTEM UNDER EXPERIMENTAL DOXORUBICIN OF HIPOPROTEINEMIA

Summary

Results of extract *Medicago sativa* sowing grass (EGMS) influence on protein metabolism in blood system under experimental doxorubicin of hipoproteinemia was described in this article. It was shown that administration of EGMS in dose 25 mg per kg leads to increasing of general proteins (24 %), albumins (21 %), globulins (18 %) and higher molecular proteins (55 %), decreasing of low-molecular proteins (70 %) in blood serum. It is an evidence that EGMS capable of restoration and promotion of protein metabolism in blood system and restoration vital function of blood due to presence of protein and amino acids in its composition.

KEY WORDS: protein metabolism, proteins of blood, extract *Medicago sativa* sowing grass, correction of protein metabolism, induction of synthesis of protein.

Отримано 26.01.12

Адреса для листування: Р. Ф. Ерьоменко, Національний фармацевтичний університет, вул. Мельникова, 12, Харків, 61002, Україна.