

УДК: 582.739: 577.122: 612.391.4: 612.051

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ СОЇ НА КОНЦЕНТРАЦІЮ БІЛКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ НА ФОНІ ДОКСОРУБІЦИНОВОЇ КАРДІОМІОПАТІЇ (ДКМП)

Л. М. МАЛОШТАН, Р. Ф. ЄРЬОМЕНКО, О. М. ШАТАЛОВА, *Н. П. СУБОТА

*Національний фармацевтичний університет, м. Харків***Харківський національний педагогічний університет*

Ключові слова: екстракт трави сої, білки сироватки крові, доксорубіцинова кардіоміопатія

Проведені дослідження з метою виявлення впливу гідрофільного екстракту сої (ГЕТС) на кількісний та якісний склад білків плазми крові у тварин в умовах модельної патології (доксорубіцинової кардіоміопатії) та під час профілактичного введення екстракту.

В результаті проведених досліджень екстракт сої, введений щурам в дозі 100 мг/кг на фоні ДКМП, значно підвищував загальний і відносний вміст білка у діапазоні від 230 до 300 кДа. Використання ГЕТС сприяє встановленню нормального рівня сироваточного альбуміну при збереженні відносно високого вмісту білків з молекулярною вагою вище 230 кДа та зниженню білків і пептидів з молекулярною вагою 5–12 кДа.

Аналіз даних показав, що ГЕТС здійснює регуляторний вплив на білковий склад сироватки крові, сприяє сповільненню катаболічних процесів, викликаних впливом доксорубіцину, знижуючи активність протеолізу. Зниження кількості продуктів білкової деградації — низькомолекулярних білків та пептидів на фоні моделювання ДКМП — при використанні ГЕТС може бути розцінено як протекторний вплив, що проявляється шляхом зниження швидкості розпаду білків, викликаного дією доксорубіцину.

ВСТУП

Порушення білкового обміну ведуть до значних патологічних змін метаболізму і розвитку важких захворювань [3, 7].

За різними підрахунками, в організмі людини міститься біля 300 різних білків. Білки сироватки крові забезпечують суттєву частину буферної ємності і, крім того, можуть служити поживним матеріалом, особливо під час голодування. Вміст білків піддається значним коливанням на різних етапах життя і, крім того, залежить від фізіологічного стану організму. Ряд білків, присутніх у сироватці крові, може надхо-

дити з клітин, що руйнуються, і це є важливим показником патологічного стану органів.

Нормальний рівень загального білка у сироватці крові головним чином залежить від рівноваги між синтезом та розміщенням основних білкових фракцій альбуміну та імуноглобулінів.

Гіпопротеїнемія в більшості випадків проявляється зменшенням вмісту альбуміну. Лише в окремих випадках гіпопротеїнемія може бути зумовлена гострим дефіцитом імуноглобулінів. Гіпопротеїнурія може виникати внаслідок: 1) гальмування синтезу білків плазми в печінці; 2) ниркових синдромів втрати білка, діабету, кишкових синдромів втрати білка тощо [7].

Отже, білки плазми крові відіграють важливу роль у пластичному обміні, і їх корекція є дуже важливою та актуальною проблемою.

В якості коректорів пластичного обміну звертають на себе увагу рослини сімейства бобові, особливо соя [1, 12, 15, 16, 17].

За даними фітохімічних досліджень, проведених на базі кафедри хімії природних сполук НФаУ під керівництвом проф. В. С. Кісліченко,

гідрофільний екстракт трави сої (ГЕТС) в своєму складі містить такі діючі речовини: фенольні сполуки, в тому числі флавоноїди, ізофлавоноїди, та дубильні речовини, органічні кислоти, оксикоричні кислоти, полісахариди, пектини, вільні та зв'язані амінокислоти, які впливають на регуляцію білкового обміну [4].

Тому метою наших досліджень було вивчення впливу ГЕТС на кількісний та якісний склад білків плазми крові у тварин з модельною патологією та під час профілактичного введення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводилися на моделі доксорубіциніндукованого катаболізму на 30 білих нелінійних щурах обох статей масою 190–220 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. В період експериментів тварини знаходилися у віварії при $t^{\circ} = 19\text{--}24^{\circ}\text{C}$, вологості повітря не більш ніж 50%, природному світловому режимі «день-ніч», у пластикових клітках, на стандартному харчовому раціоні [2].

Підставою для обрання даної моделі стали дані літератури про те, що доксорубіцин у великих дозах здатний взаємодіяти з молекулою ДНК, змінюючи її молекулярну структуру, порушуючи процеси реплікації і транскрипції, пригнічуючи синтез нуклеїнових кислот та уповільнюючи розпад білків [10, 11, 13, 18]. Модельну патологію викликали шляхом одноразового введення у хвостову вену щурів доксорубіцину в дозі 20 мг/кг виробництва «Київмедпрепарат» [5], Україна. ГЕТС вводили внутрішньошлунково один раз на добу протягом тижня до моделювання патології та 4 дні на фоні патології [3, 9].

Група тварин інтактного контролю одержувала еквівалентний об'єм води (1 мл на 100,0 г маси тіла), який вводили внутрішньошлунково за допомогою канюлі. Виведення щурів з експерименту здійснювали шляхом евтаназії з застосуванням ефірного наркозу, потім проводили біохімічні дослідження міокарду та сироватки крові.

Статистична обробка результатів проведених досліджень здійснена з використанням коефіцієнта Ст'юдента (t).

Вивчення білкового спектру сироватки крові щурів на моделі ДКМП проводили на базі лабораторії клінічної біохімії Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України (м. Харків) методом гель-хроматографії з використанням хроматографічної колонки 1x27 см з сефадексом G-200 [6, 8, 14]. Елюювання здійснювали фізіологічним розчином. Спектри поглинання записували на спектрофотометрі «Pye Unicam SP8000», Англія. У сироватці крові щурів дослідних груп

(1 група — інтактний контроль, 2 група — контрольна патологія, 3 група — патологія, на фоні якої внутрішньошлунково вводили ГЕТС в дозі 100 мг/кг) визначались фракції білків, серед яких найважливішими є фракції з молекулярною масою (ММ) 750 кДа, 500 кДа, 230 кДа, 65 кДа, 30 кДа, 12 кДа та 5 кДа.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Загальний склад білка у контрольній групі склав 83,1 мг/мл у сироватці крові. Загальна кількість білка складала 30 фракцій. Натомість найбільша кількість білка реєструвалась у фракціях, які відповідають білку з ММ 65 кДа та діапазону параметрів сироваточного альбуміну у плазмі. Під час модельної патології, викликаній доксорубіцином, в плазмі крові тварин зафіксовано значне зменшення загальної концентрації білку, яке склало у середньому 65,6 мг/мл, що на 17,5 мг/мл менше ніж (78,8%) у контрольних тварин, що може бути інтерпретовано, як гіпопротеїнемія. При цьому змінюється не тільки загальна кількість білка, але й розподіл його по фракціях.

Слід відзначити, що в умовах гіпопротеїнемії найбільші кількісні зміни були відмічені серед білків з ММ від 230 до 12 кДа.

На фоні розвитку патології склад білків змінювався наступним чином: 65 кДа — зменшилось на 35%, 30 кДа — зменшилось на 33%, 12 кДа — збільшилось на 14%.

Білки високою молекулярною масою у плазмі крові також змінились: 100 кДа — зменшився у 1,4 рази, 148 кДа — зменшився у 1,3 рази, 230 кДа не змінювався за даних умов.

Таким чином, на фоні ДКМП спостерігається підвищення відносного вмісту низькомолекулярних білків 12 кДа та менше, а також високомолекулярних білків 500–759 кДа. Відносний вміст білків з молекулярною масою 148–65 кДа також зменшився (табл. 1).

Після лікування кардіоміопатії екстрактом сої змінився загальний вміст білка, дорівнюючи 68,9 мг/мл, і був вищий ніж у контрольній патології на 14,2 мг/мл. Також змінився фракційний склад білків плазми крові. Так, підвищився рівень білків фракцій, що відповідає білкам з ММ 750 та 500 кДа, рівень білка з ММ 230 кДа не змінився. Підвищився рівень низькомолекулярного білку 65 кДа майже до рівня вхідних даних та зменшився рівень низькомолекулярних білків від 30 до 12 кДа в порівнянні з контрольною патологією (табл. 1).

Таким чином, введення екстракту сої компенсувало гіпоальбумінемію, яка спостерігалась у тварин з кардіоміопатією, а також підвищило

Таблиця 1

ВПЛИВ ЕКСТРАКТУ СОЇ НА ВМІСТ БІЛКІВ В СИРОВАТКИ КРОВІ

Умови досліджу	Концентрація білка, %						
	750кДа	500кДа	230кДа	65кДа	30кДа	12кДа	5кДа
Контроль	1,5	3,5	7,0	12,5	11	4,2	1
Контрольна патологія	(+1,7)	(+1,5)	(+1)	(- 2,7)	(- 2,5)	(+1,1)	(+1,7)
Лікування патології екстрактом сої	(+3,5)	(+2,5)	(+2)	(+1,5)	(- 1,7)	(- 2,2)	1 = 1

кількість білків з ММ 65 кДа, що відповідає діапазону концентрацій сироваточного альбуміну.

Диспротеїнемію, яку ми спостерігали в умовах кардіоміопатії, можна класифікувати як гіпопротеїнемію. Таким чином, на піку розвитку ДКМП спостерігається зниження як абсолютної, так і відносної кількості білків плазми. Цю зміну можна назвати гіпоальбумінемією, оскільки найбільше було змінено вміст білків з молекулярною масою 65 кДа, що відповідає альбумінам.

Моделювання ДКМП в умовах дослідження супроводжувалось зниженням абсолютної кількості білків з ММ 65–30 кДа, до яких мали відношення і білки з ММ 54–44 кДа. Застосування екстракту сої не нормалізувало ці показники до початкового рівня.

До фракції білків, що має ММ 100 кДа, також має відношення білок поліморфної природи гантоглобін. Основною фракцією цих білків є зв'язування Нb, який виходить в плазму з еритроцитів. Комплекс гантоглобін-гемоглобін, який не проходить крізь нирковий фільтр, що попереджує втрату заліза організмом, характеризується пероксидазною активністю та інактивує бактерії і токсини [10]. Слід відзначити, що введення екстракту сої піддослідним тваринам з ДКМП значно підвищило як загальний, так і відносний вміст білку в цьому діапазоні ММ 100 кДа. Фібриноген — ММ 340 кДа при інфекційних процесах його концентрація (норма 2,0–4,0 г/л) може підвищуватись у декілька разів. Фібриногену, крім його основної функції, відводять роль у загоєнні ран. Застосування екстракту сої дозволило нормалізувати кількість білків цієї ММ 90 кДа. Введення ГЕТС значно підвищує кількість білків цієї молекулярної маси, яка зменшується під час доксорубіцинової кардіоміопатії.

ВИСНОВКИ

Дослідний екстракт сої, введений щурам в дозі 100 мг/кг на фоні ДКМП, значно підвищував загальний і відносний вміст білка у діапазоні від 230 до 300 кДа.

В діапазоні фракцій, що відповідає високомолекулярним білкам з молекулярною масою 770–500 кДа, дослідний екстракт сої підвищував вміст глобулінових фракцій на фоні ДКМП.

Під дією ГЕТС спостерігалось зменшення білків з молекулярною масою від 30 до 12 кДа, що свідчить про анаболічну реакцію екстракту сої.

Таким чином, використання ГЕТС, у першу чергу, сприяє встановленню нормального рівня сироваточного альбуміну при збереженні відносно високого вмісту білків з молекулярною вагою вище 230 кДа та зниженню білків і пептидів з молекулярною вагою 5–12 кДа.

Отримані дані дають змогу припустити, що ГЕТС здійснює регуляторний вплив на білковий склад сироватки крові, сприяє сповільненню катаболічних процесів, викликаних впливом доксорубіцину, знижуючи активність протеолізу. Зниження кількості продуктів білкової деградації — низькомолекулярних білків та пептидів на фоні моделювання ДКМП, при використанні ГЕТС може бути розцінено як протекторний вплив, що проявляється шляхом зниження швидкості розпаду білків, викликаного дією доксорубіцину.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Бабич А. О. Соя для здоров'я та життя на планеті Земля/А. О. Бабич. — К.: Аграрна наука, 1998. — 271 с.
2. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Методичні рекомендації/За ред. чл. — кор. АМН України О. В. Стефанова. — К.: Авіцена, 2001. — 528 с.
3. Експериментальне вивчення нових анаболічних засобів: метод. рек./Л. В. Яковлева, С. М. Марчишин, Ю. Б. Лар'яновська та ін. — Київ, 2007. — 32 с.
4. Кисличенко В. С., Карпюк У. В. Амінокислотний склад трави сої щетинистої//Фітотерапія. Часопис. — 2008. — № 2 - С. 62–64.
5. Машковский М. Д. Лекарственные средства/М. Д. Машковский. — 15-е изд., перераб. испр. и доп. — М.: ООО «Издательство «Новая волна», 2007. — 1200 с.
6. Остерман Л. А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот/Л. А. Остерман. — М.: Наука, 1985. — 536 с.
7. Патологическая физиология: в 3-х т.: учеб. для студ. высш. учеб. заведений/под ред. А. И. Воло-

- жина, Г.В. Порядина. — М.: Издательский центр «Академия», 2006. — Т. 2. — 256 с.
8. Спирин А.С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот/А.С. Спирин//Биохимия. — 1958. — Т. 23, вып. 5. — С. 657–661.
 9. Шаталова О.М. Використання моделі доксорубіциніндукованого катаболізму для оптимізації лікарських засобів з анаболічною дією: інформ. лист/О.М. Шаталова, Л.Н. Малоштан. — К.: Центр «Укрмедпатентінформ» МОЗ України, 2008. — № 14. — 2008. — 3 с.
 10. Acute and prolonged action of Adriamycin on the contractile function and antioxidant status of the myocardium/V.L. Lakomkin, G.G. Konovalova, V.G. Tsyplenkova et al.//Exp. Clin. Cardiology. — 2006. — Vol.1, № 4. — P.35–42.
 11. Clark W.R. Middle molecules and small-molecular-weight proteins in ESRD: Properties and strategies for their removal/W.R. Clark, J.F. Winchester//Adv. Ren. Replace Ther. — 2003. — Vol. 3, № 10. — P.270–278.
 12. Di Carlo G Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs/G Di Carlo, N Mascolo, A Izzo//Life Sci. — 1999. — Vol.65, № 4. — P. 337–353.
 13. Dudnakova T.V. Alterations in myocardial cytoskeleton and regulatory protein expression following a single doxorubicin injection/T.V. Dudnakova, V.L. Lakomkin, V.G.Tsyplenkova//JCardiovasc.Pharmacol. — 2003. — Vol. 41, № 5. — P. 789–794.
 14. Harris D.A. Spectrophotometric assays in: spectrophotometry & spectrofluorimetry/D.A. Harris. — Washington: IRL Press, 1987. — P. 49–90.
 15. Muraro M.A. Soy and other protein sources/M. A. Muraro Prdiatr. — Allergy Immunol. — 2001. — Vol. 12 (suppl. 14) — P. 85–90.
 16. Reynolds K A meta-analysis of the effect of soy protein supplementation on serum lipids/K Reynolds, A Chin//Am. J Cardiol. — 2006. — Vol. 98, № 5. — P. 633–640.
 17. Reinwald S Soy isoflavones and bone health: a double-edged sword?/S Reinwald, C.M. Weaver//J Nat. Prod. — 2006. — Vol. 69, № 3. — P. 450–459.
 18. Wallace K.B. Doxorubicin-induced cardiac mitochondrionopathy/K.B.Wallace//Pharmacol. Toxicol. — 2003. — Vol. 93, № 3. — P. 105–115.

УДК: 582.739: 577.122: 612.391.4: 612.051

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА СОИ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ НА ФОНЕ ДОКСОРУБИЦИНОВОЙ КАРДИОМИОПАТИИ (ДКМП)

Л.М. Малоштан, Р.Ф. Еременко, О.М. Шаталова, * Н.П. Суббота

Ключевые слова: экстракт травы сои, белки сыворотки крови, доксорубициновая кардиомиопатия

Проведены исследования с целью определения влияния гидрофильного экстракта сои (ГЭТС) на количественный и качественный состав белков плазмы крови у животных в условиях модельной патологии ДКМП и во время профилактического введения экстракта.

В результате проведенных исследований, ГЭТС, введенный животным в дозе 100 мг/кг на фоне ДКМП, значительно повышал общее и относительное содержание белка в диапазоне от 230 до 300 кДа. Использование ГЭТС способствует установлению нормального уровня сывороточного альбумина при сохранении относительно высокого содержания белков с молекулярной массой выше 230 кДа и снижению белков с молекулярной массой 5–12 кДа.

Анализ данных показал, что ГЭТС осуществляет регуляторное влияние на белковый состав сыворотки крови, способствует замедлению катаболических процессов, вызванных влиянием доксорубицина. Снижение количества низкомолекулярных белков и пептидов на фоне моделирования ДКМП при использовании ГЭТС может быть расценено как протекторное действие, проявляющееся снижением скорости распада белков, вызванного действием доксорубицина.

УДК: 582.739: 577.122: 612.391.4: 612.051

INFLUENCE OF EXTRACT OF SOY ON THE CONCENTRATION OF ALBUMENS OF PLASMA OF BLOOD ON A BACKGROUND DOXORUBICIN-INDUCED CARDIOMYOPATHY (DICM)

L. N. Maloshtan, R. F. Eremenko, O. M. Shatalova, N. P. Subota

Key words: extract of grass of soy, squirrel of whey of blood, doxorubicin-induced cardiomyopathy

Conducted research with the purpose of exposure of influence of hydrophilic soy grass extract (SGHE) on quantitative and high-quality composition of albumens of plasma of blood at animals in the conditions of model pathology under increased catabolism conditions and during prophylactic introduction of extract.

As a result of the conducted researches, SGHE entered an animal in a dose 100 mgs/kg on a background DICM considerably promoted general and relative maintenance of albumen in a range from 230 to 300 кDa. The use of SGHE is instrumental in establishment of normal level of albumen at a maintainance in relation to high maintenance of albumens with molecular weight higher 230 кDa and decline of albumens with molecular weight of 5–12 кDa.

The analysis of data rotined that SGHE carried out regulator influence on albuminous composition of whey of blood, instrumental in deceleration of catastatic processes, caused influence of doxorubicin. Decline of amount of low-molecular albumens and peptids on a background the design of doxorubicin-induced cardiomyopathy, at the use of SGHE it can be considered as a protector action, showing up the decline of speed of disintegration of albumens, caused the action of doxorubicin.

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Мельнікова, 12,
Кафедра нормальної фізіології НФаУ,
Тел.: 8(057)706-30-73