

УДК 615.32:582.736.3:001.891.5

Р. Ф. ЄРЬОМЕНКО

Національний фармацевтичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ БЕЗПЕЧНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ЕКСТРАКТУ З ТРАВИ ЛЮЦЕРНИ ПОСІВНОЇ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ ТА ЛІКУВАННЯ БЛОК-ДЕФІЦИТНИХ СТАНІВ У ЧОЛОВІКІВ

Наведені результати дослідження на щурах, які дозволили встановити, що екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП) в дозі 25 мг/кг та препарат порівняння «Клімадинон» у дозі 30 мг/кг достовірно відносно групи інтактного контролю знижують коефіцієнт маси пухирцевої залози та епідидимусу на 25 %, а клімадинон тенденційно відносно групи ІК знижує на 17 % концентрацію сперматозоїдів. Такі зміни в показниках функції репродуктивних органів щурів самців можна пояснити тим, що ЕТЛП та клімадинон, що містять фітоестрогени, а саме ізофлавоноїди геністеїн, даїдзеїн, куместрол, можуть змінювати рівень чоловічих статевих гормонів і таким чином втручатися в процес функціонування репродуктивних органів самців. Отже, за отриманими показниками ЕТЛП має середній рівень безпеки для чоловічої репродуктивної системи і може застосовуватись лише для лікування захворювань у чоловіків, що супроводжуються блоком-дефіцитними станами.

Ключові слова: екстракт люцерни посівної; безпечність застосування у чоловіків; блок-дефіцитні стани; вплив на функцію репродуктивної системи у самців

ВСТУП

Об'єктом наших досліджень є новий коректор білкового обміну рослинного походження екстракт з трави люцерни посівної (ЕТЛП) (*Medicago sativa*) з роду бобових (Fabaceae), який є джерелом білків, 17 амінокислот, у тому числі 8 незамінних, 8 ферментів, що розщепляють білки та сприяють їх засвоєнню, зокрема бетаїну, які можуть безпосередньо впливати на білоксинтетичні процеси в печінці та інші біологічно активні речовини з антиоксидантними, мембраностабілізуювальними, органопротекторними, проти-запальними та іншими властивостями, як-от: дубильні речовини, сапоніни, кумарини, фітоестрогени, вітаміни А, Д, В₁, В₁₂, С, Е, К; мікро- та макроелементи Са, Mg, Mn, Fe, Zn, Cu, K, Si, Na, F; хлорофіл; ізофлавоноїди геністеїн, даїдзеїн, куместрол; флавоноїди апігенін, лютеолін, кверцетин, рутин та інші; органічні кислоти (кофейна, галова, ферулова, метоксикумарова, уронова); алкалоїди; аспарагін; антоціани; карбогідрати; моноцукри та полісахариди; пігменти; крохмаль, що можуть опосередковано коригувати рівень гормонів та білковий обмін [1-3, 5-9]. Нашими попередніми дослідженнями встановлено, що ЕТЛП на відміну від референсного препарату калію

оротату, який підвищує рівень білка в організмі за рахунок активації його синтезу з власних резервів та виснажує їх, відновлює вміст білка в організмі при різних патологічних станах, не виснажуючи його резерви, т. я. ЕТЛП є донором молекул білка та амінокислот [5-9].

Зважаючи на те, що ЕТЛП пропонується для профілактики та лікування захворювань, що супроводжуються дефіцитом білка в організмі, та містить фітоестрогени, а саме ізофлавоноїди геністеїн, даїдзеїн, куместрол, які можуть впливати на стан репродуктивної системи, змінюючи рівень статевих гормонів, було доцільним експериментально обґрунтувати безпечність застосування ЕТЛП у хворих чоловічої статі за результатами дослідження впливу ЕТЛП на стан репродуктивної системи самців щурів.

Мета роботи – експериментально обґрунтувати безпечність застосування ЕТЛП у хворих чоловічої статі за результатами дослідження впливу ЕТЛП та препарату порівняння клімадинону на стан репродуктивної системи самців щурів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проведено з використанням 24 білих безпородних щурів самців з початковою масою 180-200 г з дотриманням вимог комісії з біоетики

© Єрьоменко Р. Ф., 2014

Таблиця 1

**МАКРОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ЩУРІВ,
ЩО ОТРИМУВАЛИ ЕКСТРАКТ ЛЮЦЕРНИ У ДОЗІ 25 мг/кг ТА ПРЕПАРАТ «КЛІМАДИНОН»
У ДОЗІ 30 мг/кг ПРОТЯГОМ 2 МІСЯЦІВ $M \pm m$ (n=8)**

Показники		Інтактний контроль	Тест-зразок	Клімадинон
КМ сім'яників, г/100 г	правий	0,68 ± 0,02	0,52 ± 0,07	0,62 ± 0,04
	лівий	0,68 ± 0,02	0,56 ± 0,06	0,63 ± 0,03
КМ передміхурової залози, г/100 г		0,31 ± 0,03	0,30 ± 0,03	0,24 ± 0,02
КМ пухирцевої залози, г/100 г		0,51 ± 0,04	0,37 ± 0,05*	0,39 ± 0,05*
КМ епідидимусу, г/100 г		0,20 ± 0,01	0,18 ± 0,02	0,16 ± 0,01*

Примітки: * – відмінності статистично значущі відносно групи негативного контролю (за критерієм Манна-Уїтні на рівні значущості $p < 0,05$).

Таблиця 2

**ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ СПЕРМАТОЗОЇДІВ У ЩУРІВ,
ЩО ОТРИМУВАЛИ ЕКСТРАКТ ЛЮЦЕРНИ У ДОЗІ 25 мг/кг ТА ПРЕПАРАТ «КЛІМАДИНОН»
У ДОЗІ 30 мг/кг ПРОТЯГОМ 2 МІСЯЦІВ $M \pm m$ (n=8)**

Показники	Інтактний контроль	ЕТЛП	Клімадинон
Концентрація, млн/мл, $M \pm m$	38,0 ± 3,8	41,4 ± 7,9	31,8 ± 4,5
Тривалість руху, хв, $M \pm m$	384 ± 10	375 ± 13	390 ± 16
Відносна кількість нерухомих, %, $Me (LQ;UQ)$	60 (55; 67)	57 (49; 67)	58 (54; 66)
Відносна кількість патологічних форм, %, $Me (LQ;UQ)$	12 (12; 15)	16 (12; 17)	10 (9; 13)

НФаУ та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Київ, 2001), що узгоджуються з положеннями «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) [4]. Тварини були поділені на групи по 8 особин таким чином: 1 – інтактний контроль (ІК); 2 дослідна – щури, яким вводили ЕТЛП в дозі 25 мг/кг; 4 дослідна – щури, яким вводили клімадинон у дозі 30 мг/кг. Після рандомізації тваринам дослідних груп вводили препарати в вищезазначених дозах, групі ІК – розчинник протягом 60 діб (48 діб період сперматогенезу у щурів + 7-14 діб – період дозрівання сперматозоїдів у придатках сім'яників). По закінченні введення досліджуваних речовин тварин зважували та знеживлювали шляхом декапітації під легким ефірним наркозом, визначали їх морфологічні показники сім'яників: масу, довжину, розраховували масові коефіцієнти (МК). Паралельно досліджували показник функціонального стану сперматозоїдів, використовуючи їх суспензію. Цю суспензію отримували з хвостового придатка сім'яника, який вимивали у фізіологічному розчині. Показниками функції сперматозоїдів були їх кількість, відносна кількість нерухомих та патологічних форм сперматозоїдів [4]. Для отримання статистичних висновків при вивченні гонадотоксичної дії у самців при порівнянні вибірок відносних перемінних (довжини сім'яників, концентрації сперматозоїдів, часу рухливості сперматозоїдів, кількості нормальних сперматогоній) застосовували однофакторний дисперсійний аналіз та критерій Ньюмена-Кейл-

са. Непараметричні методи Крускала-Уоліса (аналог дисперсійного аналізу) та Манна-Уїтні з поправкою Бонфероні застосовували для інших параметрів гонадотоксичної дії у самців [4]. Результати наведені в табл. 1 та 2.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані результати дослідження, наведені в табл. 1 та 2, свідчать про те, що ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарат порівняння «Клімадинон», що теж містить фітоестрогени, в дозі 30 мг/кг, не впливаючи на мікрометричні показники сім'яників та передміхурової залози, достовірно відносно групи ІК знижують КМ пухирцевої залози та епідидимусу на 25 % (табл. 1). Клімадинон тенденційно відносно групи ІК знижує на 17 % концентрацію сперматозоїдів (табл. 2). На решту показників функціонального стану сперматозоїдів клімадинон не впливає (табл. 2). За результатами, наведеними в табл. 2, ЕТЛП на відміну від препарату порівняння зовсім не впливає на функціональний стан сперматозоїдів: концентрацію, тривалість руху, відносну кількість нерухомих та патологічних форм.

Описані вище зміни в макрометричних показниках репродуктивних органів щурів самців можна пояснити тим, що ЕТЛП та клімадинон, які містять фітоестрогени, а саме ізофлавоноїди геністеїн, даїдзеїн, куместрол, можуть змінювати рівень чоловічих статевих гормонів і таким чином втручатися в процес функціонування репродуктивних органів самців. Але описані зміни потребують більш ретельних до-

казів, що стане завданням наших подальших досліджень.

ВИСНОВКИ

Таким чином, на підставі отриманих результатів встановлено, що ЕТЛП в дозі 25 мг/кг та препарат порівняння «Клімадинон» в дозі 30 мг/кг достовірно відносно групи ІК знижують КМ пухирцевої залози та епідидимусу на 25 %, а клімадинон тенденційно відносно групи ІК знижує на 17% концентрацію сперматозоїдів. Такі зміни в показниках функції репродуктивних органів щурів самців можна пояснити тим, що ЕТЛП та клімадинон, які містять фітоестрогени, а саме ізофлавоноїди геністеїн, дайдзеїн, куместрол, можуть змінювати рівень чоловічих статевих гормонів і таким чином втручатися в процес функціонування репродуктивних органів самців. Отже, за отриманими показниками ЕТЛП має середній рівень безпеки для чоловічої репродуктивної системи і може застосовуватись лише для лікування захворювань у чоловіків, які супроводжуються білок-дефіцитними станами.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Андрушкевич В. В. Биохимические показатели крови, их референсные значения, причины изменения уровня в сыворотке крови. – Новосибирск, 2006. – С. http://www.labdiagnostic.ru/docs/specialists/bioxim_poka-zat.shtml
2. Гринштейн С. В., Кост О. А. Структурно-функциональные особенности мембранных белков // Успехи биологической химии. – 2001. – Т. 41. – С. 77-104.
3. Губский Ю. И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях: [обзор литературы] / [Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев, Е. Л. Левицкий и др.] // Сучасні проблеми токсикол. – 2005. – № 3. – С. 20-26.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів: [метод. рекомендації] / За ред. чл.-кор. НАМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
5. Єрьоменко Р. Ф. Дослідження впливу екстракту з трави люцерни посівної на стан мембранних білків та мембран в умовах гемолізу еритроцитів / Р. Ф. Єрьоменко // УБФЖ. – 2011. – № 6 (17). – С. 22-26.
6. Єрьоменко Р. Ф. Визначення впливу екстракту з трави люцерни посівної на білковий обмін у системі крові за умов доксорубіцинової гіпопротеїнемії / Р. Ф. Єрьоменко // Мед. хімія. – 2012. – Т. 14, № 1 (50). – С. 100-103.
7. Єрьоменко Р. Ф. Вивчення впливу екстракту з люцерни на білковий обмін в умовах гострого тетрахлометанового ураження гепатоцитів / Р. Ф. Єрьоменко // Вісник проблем біол. і медицини. – 2012. – Т. 1 (96), вип. № 4. – С. 111-115.
8. Ковальов С. В. Дослідження фенольного комплексу з трави люцерни посівної / [С. В. Ковальов, А. М. Ковальова, Р. Ф. Єрьоменко та ін.] // Фармац. часопис. – 2008. – № 2 (6). – С. 27-30.
9. Малоштан Л. М. Вплив екстракту сої на концентрацію білків плазми крові на фоні доксорубіцинової кардіоміопатії (ДКМП) / Л. М. Малоштан, О. М. Шаталова, Н. П. Субота // УБФЖ. – 2009. – Т. 1, № 3. – С. 29-34.

УДК 615.32:582.736.3:001.891.5**Р. Ф. Еременко****ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ЭКСТРАКТА ИЗ ТРАВЫ ЛЮЦЕРНЫ ПОСЕВНОЙ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ БЕЛОК-ДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ У МУЖЧИН**

Приведены результаты исследования, которые позволили установить, что экстракт травы люцерны посевной (ЭТЛП) в дозе 25 мг/кг и препарат сравнения «Климадинон» в дозе 30 мг/кг достоверно относительно группы интактного контроля снижают коэффициент массы пузырьков желез и эпидидимуса на 25 %, а Климадинон в виде тенденции относительно группы ИК снижает на 17 % концентрацию сперматозоидов. Такие изменения показателей функции репродуктивных органов крыс-самцов можно объяснить тем, что ЭТЛП и Климадинон, содержащие фитоэстрогены, а именно изофлавоноиды генистеин, даидзеин, даидзин, куместрол, могут изменять уровень мужских половых гормонов и таким образом вмешиваться в процесс функционирования репродуктивных органов самцов. Итак, по полученным показателям ЭТЛП имеет средний уровень безопасности для мужской репродуктивной системы и может применяться только для лечения заболеваний у мужчин, сопровождающиеся белок-дефицитными состояниями.

Ключевые слова: экстракт люцерны посевной; безопасность применения у мужчин; белок-дефицитные состояния; влияние на функцию репродуктивной системы у самцов

UDC 615.32:582.736.3:001.891.5**R. F. Yeriomenko****EXPERIMENTAL BASIS OF MEDICAGO SATIVA HERBA EXTRACT SAFETY FOR THE USAGE IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF THE PROTEIN-DEFICIENCY STATES IN MEN**

This research presents the results of a study that revealed that Medicago sativa herba extract (MSHE) at a dose of 25 mg/kg and the reference drug «Klimadinon» at a dose of 30 mg/g significantly in relation to the intact control group reduces mass ratio of vesicular glands and epididymis by 25 %, and «Klimadinon» tendentially relatively to the group IC reduces the concentration of sperm by 17 %. Such changes in indicators of male rats reproductive organs function can be explained by the fact that MSHE and «Klimadinon» contain phytoestrogens, isoflavones namely genistein, daidzein, daidzin, kumestrol that can change the level of male sex hormones and thus interfere with the functioning of the male reproductive organs. So, according to obtained indices MSHE has a medium level of safety for the male reproductive system and can only be used to treat diseases of men, accompanied with protein deficient conditions.

Key words: extract of medicago sativa herba; safety of use by men; protein deficient conditions; influence on reproductive function of males

Адреса для листування:

61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 16.06.2014 р.