

УДК: 612.33:591.5:591.1

Влияние куркумина на активность панкреатической α -амилазы у морских свинок подвергшихся стрессу в экспериментальных условиях

Кучкарова Л.С., Ганижонов П.Х., Хомидчонов Ш.Х

Ферганский медицинский институт общественного здоровья, Фергана, e-mail: ganizhonov94@mail.ru

Национальный Университет имени Мирзо Улугбека, Узбекистан, Ташкент

Аннотация: В исследовании изучено влияние куркумина на ферментативную активность альфа-амилазы у лабораторных животных в условиях воздействия иммобилизационного и химического стрессов. Иммобилизацию проводили на специальной иммобилизационной доске путем растягивания и фиксации конечностей животных в течение 3 часов на протяжении четырнадцати дней. Химический стресс моделировали интрагастральным введением 0,5% раствора уксусной кислоты, имитируя воздействие агрессивных химических веществ на желудочно-кишечный тракт. Оба типа стресса вызывали значительные изменения в метаболизме животных, включая активность различных ферментов, таких как альфа-амилаза, участвующая в расщеплении углеводов и чувствительная к стрессовым воздействиям. Результаты эксперимента показали, что как химический, так и иммобилизационный стресс приводят к значительному увеличению активности альфа-амилазы в поджелудочной железе. Это подтверждает, что стрессовые воздействия независимо от их природы активируют ферментные системы организма, что является важным звеном адаптационных реакций. Изучение таких стрессоров необходимо для лучшего понимания их влияния на физиологические и биохимические процессы. Выявленные изменения в активности альфа-амилазы могут служить индикатором общего состояния организма при стрессе. Эти данные важны для разработки методов профилактики и лечения заболеваний, связанных с нарушением активности ферментов в ответ на стрессовые воздействия.

Ключевые слова: поджелудочная железа, иммобилизационный и химический стресс, биохимические изменения.

The effect of curcumin on pancreatic α -amylase activity in stressed guinea pigs under experimental conditions.

Ganizhonov P.Kh., Kuchkarova L.S., Homidchonova Sh.H

Ferghana Medical Institute of Public Health, Ferghana, e-mail: ganizhonov94@mail.ru

Mirzo Ulugbek National University, Tashkent, Uzbekistan

Abstract: The study examines the effects of curcumin on the enzymatic activity of alpha-amylase in laboratory animals under immobilization and chemical stress conditions. Immobilization stress was modeled by fixing the animals in a supine position, causing physiological tension and restricting their movement, disrupting normal behavior, and creating a stressful situation. Chemical stress was induced by intragastric administration of a 0.5% acetic acid solution, simulating the effects of aggressive chemicals on the gastrointestinal tract. Both types of stress caused significant changes in the animals' metabolism, including alterations in the activity of various enzymes, such as alpha-amylase, which is involved in carbohydrate breakdown and is sensitive to different stressors. The experimental results showed that both chemical and immobilization stress lead to a significant increase in alpha-amylase activity in the pancreas. This confirms that stressors, regardless of their nature, activate the body's enzymatic systems, which plays an important role in the adaptive responses to external factors. Thus, the study of stressors is necessary for a better understanding of their impact on physiological and biochemical processes. The observed changes in alpha-amylase activity could serve as an indicator of the overall state of the organism under stress. These findings may be useful for developing methods for the prevention and treatment of diseases associated with enzyme activity disruptions in response to stress.

Keywords: pancreas, immobilization and chemical stress, biochemical changes.

Введение в последнее время всё больше внимания уделяется исследованию зависимости течения стресс-реакции от различных факторов, таких как возрастные изменения, половые различия, а также индивидуальные особенности организма. Эти параметры играют важную роль в формировании ответа на стресс и степени его выраженности, что подчеркивает

необходимость комплексного подхода к изучению механизмов адаптации организма к стрессовым воздействиям [1,с.104-112]. Первым этапом координированного ответа нервной системы на воздействие различных стрессоров является активация ВНС, которая реализует стресс-эффекты через нейротрансмиттеры на органах-мишенях. Химические стрессоры включают вещества, способные воздействовать на организм через различные химические пути. Эти вещества могут быть как естественными (например, гормоны стресса, цитокины), так и искусственными (например, фармацевтические препараты, токсины, вредные химические вещества). Химические стрессоры могут вызывать непосредственные физиологические изменения в организме, такие как изменение уровня гормонов или нарушение работы органов и систем. Имобилизационные стрессоры связаны с ограничением движений или свободы передвижения организма. Это может включать физическую иммобилизацию (например, фиксация в специальных устройствах) или психологическую (например, социальная изоляция) [2, 3]. Интересно отметить, что заметные функциональные сдвиги имеют место не только при хроническом, но и при кратковременном химическом стрессе. Сообщается, что куркумин обладает достаточно сильным противовоспалительным действием. Один из механизмов его противовоспалительного эффекта связывают с его способностью блокировать синтез провоспалительной арахидоновой кислоты [4, с. 14-22]. Особый интерес представляют метаболиты куркуминоидов. При поступлении куркуминоидов через желудочно-кишечный тракт они метаболизируются с образованием конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами. В то же время, при введении куркуминоидов внутривенно или внутривентально, их метаболизм происходит по пути восстановления с образованием тетрагидрокуркумина, гексагидрокуркумина и гексагидрокуркумина. При этом тетрагидрокуркумин проявляет биологическую активность, иногда превосходящую сам куркумин, например, по антиоксидантному действию [5, с.1279].

Аскарьянц В. и соавторы провели исследование ферментативной активности тонкой кишки у крыс в условиях стресса с применением феназепама — препарата из группы бензодиазепинов. Установлено, что у крыс из агрессивных групп наблюдаются значительные отличия в функциональной активности тонкой кишки по сравнению с другими группами. Исследование показало, что ферментативная активность у потомства зависит от поведенческих особенностей родителей, а также от возраста животных. Применение феназепама оказало более выраженное корректирующее влияние на агрессивных взрослых крыс, в то время как у молодых крыс эффект был минимальным, особенно в возрасте 21 дня. Эти данные подчеркивают важность учета поведенческих факторов и возрастных особенностей при оценке фармакологических воздействий на функциональное состояние органов животных. [**Ошибка! Источник ссылки не найден.**,с.109-112].

Цель исследования заключается в изучении воздействия различных стрессоров на ферментативную активность поджелудочной железы в экспериментальных условиях.

Материал и методы исследования: Опыты проводились на 20 беспородных самцах морских свинок массой 300-350 г. Животных разделили на 5 групп:

- 1) Первая группа- контрольная (здоровые животные);
- 2) Вторая группа- животные подвергшиеся химическому стрессу;
- 3) Третья группа - животные подвергшиеся иммобилизационному стрессу;
- 4) Четвёртая группа- животные подвергшиеся химическому стрессу и получавшие в качестве лечения куркумин;
- 5) Пятая группа - животные подвергшихся иммобилизационному стрессу и получавшие в качестве лечения куркумин.

В третьей группе у морских свинок вызывали иммобилизацию на специальной иммобилизационной доске путем растягивания и фиксации конечностей животных в течение 3 часов на протяжении 14 дней. Во второй группе у животных вызывался химический стресс путем интрагастрального введения 0,5%-ого раствора уксусной кислоты в объеме 2 мл ежедневно в течение 3 дней. В четвертой и пятой группах, подвергающихся стрессу животных, сопровождали интрагастральным введением куркумина в дозе, соответствующей требованиям исследования. Контрольная группа оставалась интактной. После декапитации животных вскрывали брюшную полость, извлекали поджелудочную железу, отделяли её от прилегающих тканей и промывали 5 мл. раствора Рингера. Полученный смыв центрифугировали в течение 10 минут при скорости 3000 об/мин. После этого гомогенизировали в течение короткого времени с использованием тefлонового пестика при скорости 400 об/мин. Полученный гомогенат оставляли в центрифужных пробирках и подвергали центрифугированию при 1500 об/мин в течение 15 минут. После этого супернатант отбирали для последующего определения активности α -амилазы. Для гистологического анализа выделяли поджелудочную железу и промывали её 30-40 мл холодного физиологического раствора. Для микроскопического исследования кусочки поджелудочной железы из медиальной части длиной 10 см. фиксировали в 10% растворе формалина на 72 часа, затем промывали в проточной воде, пропускали через спиртовые растворы с градиентным повышением концентрации для обезвоживания ткани, и обезвоженную, высушенную поджелудочную железу заливали парафином. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 5-8 мкм., окрашивали гематоксилин-эозином. Срезы изучали с помощью светового

микроскопа Leica Microsystems GmbH (Германия) с компьютерной приставкой, а также получали фотографии с увеличением в 300 раз.

Результаты исследования и их обсуждение:

Таблица 1

Изменения массы тела и антропометрические показатели внутренних органов у морских свинок после воздействия стрессоров ($M \pm m$, $n=10$)

Орган	Контроль		Химический стресс		Иммобилизационный стресс	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Масса тела	202,1 \pm 10,9	100	179,6 \pm 8,3 ***	11,1	184,6 \pm 18,5*	8,6
Масса поджелудочной железы (мг)	486,1 \pm 5,04	100	479 \pm 6,8 *	1,4	380,3 \pm 4,39**	21,7

Примечание: Уровень статистической значимости *** $p < 0,001$, ** $p < 0,02$ * $p < 0,05$

В таблице 1 представлены показатели массы тела и поджелудочной железы морских свинок в контрольной группе и при воздействии различных стрессовых факторов. Под влиянием химического стресса масса тела животных снизилась до 11,1% от уровня контрольной группы, а при иммобилизационном стрессе — до 8,6%. Аналогичные изменения наблюдаются и в массе поджелудочной железы, которая значительно снизилась. При химическом стрессе масса поджелудочной железы составила 1,4% от контрольного уровня, в то время как при иммобилизационном стрессе — лишь 21,7%. Полученные данные свидетельствуют о выраженном катаболическом эффекте стрессоров, который сопровождается значительным уменьшением массы тела и морфометрических параметров органов, включая поджелудочную железу.

Таблица 2

Изменения массы тела и антропометрические показатели внутренних органов у морских свинок после воздействия стрессоров ($M \pm m$, $n=10$)

	Контроль		Химический стресс+куркумин		Иммобилизационный стресс+куркумин	
	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%	$M \pm m$	%
Масса тела	202,1±10,9	100	180,7±14,9***	10,5	182,9±12,1*	9,5
Масса поджелудочной железы (мг)	486,1±5,04	100	479,4±3,86**	1,3	481±4,71**	1

Примечание: Уровень статистической значимости *** $p < 0,001$, ** $p < 0,02$, * $p < 0,05$

Как видно из таблицы 2, применение куркумина после воздействия стрессоров способствовало уменьшению негативных изменений морфометрических параметров у морских свинок. Под влиянием химического стресса масса тела снизилась до 10,5% от контрольного значения, а при иммобилизационном стрессе — до 9,5%, что свидетельствует о частичном восстановлении показателей. Масса поджелудочной железы в группе с химическим стрессом составила 1,3% от контроля, а при иммобилизационном стрессе — 1%. Полученные данные указывают на выраженный катаболический эффект стрессоров, который был частично компенсирован благодаря введению куркумина. Это подтверждает потенциал куркумина как средства, снижающего морфологические последствия воздействия стрессов.

Изменение активности панкреатической альфа-амилазы при воздействии стрессовых факторов

Таблица 3

Условие эксперимента	Активность α -амилазы (ед./л)	Изменение активности (%)
Контроль	24,87 \pm 2,7	100%
Химический стресс (0,5 % уксусная кислота)	95,91 \pm 3,7***	286,6%
Имобилизационный стресс	63,29 \pm 14,02***	154,8%

Примечание: уровень статистической значимости *** P <0,001

В таблице 3 показаны результаты экспериментов, в которых было установлено, что при химическом стрессе, вызванном интрагастральным введением уксусной кислоты, в морских свинок активность α -амилазы в поджелудочной железе увеличилась на 286,6%, достигнув 95,91 \pm 3,7 ед/ л, по сравнению с 24,87 \pm 2,7 ед/л в контрольной группе. Аналогично, при иммобилизационном стрессе уровень фермента составил 63,29 \pm 14,02 ед/л, что на 154,8% больше, чем активность фермента у животных контрольной группы. Таким образом, можно исключить, что стрессовые воздействия, независимо от их природы, приводят к значительному увеличению активности альфа-амилазы в тканях.

Таблица 4

Влияние куркумина на активность панкреатической α -амилазы у трассированных морских свинок

Условие эксперимента	Активность α -амилазы (ед./л)	Изменение активности (%)
Контроль	24,87 \pm 2,78	100%
Химический стресс + куркумин	65,7 \pm 23,5 ***	164,9%
Им мобилизационный стресс + куркумин	33,42 \pm 13,3	34,6%

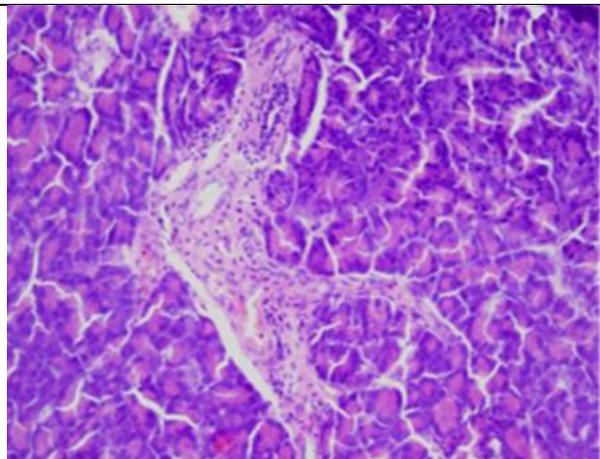
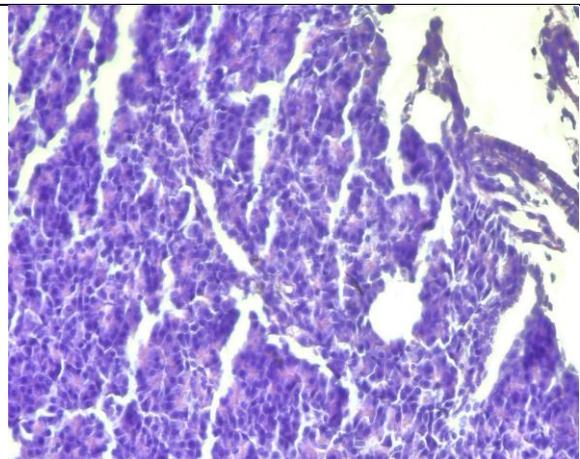
Примечание: уровень статистической значимости (M \pm m); *** P <0,001

В таблице 4 представлены результаты следующих серий экспериментов, в которых было установлено, что при интрагастральном введении куркумина в условиях химического

стресса наблюдается значительное снижение активности α -амилазы в поджелудочной железе, что свидетельствует об улучшении показателей. Средний уровень фермента составил $65,7 \pm 23,5$ ед/л, что на 164,9% ниже по сравнению с группой химического стресса без лечения. В контрольной группе средний уровень активности α -амилазы составил $24,87 \pm 2,78$ ед/л, что на 164,9% выше, чем в группе с химическим стрессом после введения куркумина. Аналогично, при иммобилизационном стрессе применение куркумина привело к снижению активности α -амилазы до $33,42 \pm 13,3$ ед/л, что на 34,6% ниже по сравнению с группой стресса.

Следовательно, применение куркумина при стрессе способствует снижению активности α -амилазы в ткани поджелудочной железы, что свидетельствует о его положительном воздействии и улучшении состояния организма.

Гистологическая картина ткани поджелудочной железы при химическом стрессе

	
Рис.1. Анализ микроскопии поджелудочной железы интактных морских свинок. Окраса гематоксилин-эозин. Увел. X 300	Рис.2. Анализ микроскопии поджелудочной железы морских свинок после воздействия химического стресса. Увел. X300

На рис. 1 представлена нормальная структура поджелудочной железы у интактных морских свинок. Видно чёткое строение ацинарных клеток, равномерное кровенаполнение сосудов и отсутствие признаков воспалительных или дегенеративных изменений, что подтверждает нормальное состояние органа.

Как видно из рис.2, при гистологическом исследовании поджелудочной железы после отравления 0,5% уксусной кислотой в течение 3 дней наблюдаются следующие изменения: кровеносные сосуды демонстрируют признаки ишемии, выражающиеся в снижении кровенаполнения. При этом структура островков Лангерганса сохраняется, без видимых нарушений их морфологии. Ацинозные клетки поджелудочной железы остаются целыми, не выявлено признаков дегенеративных изменений. Вместе с тем отмечается наличие

межклеточного отёка, что может свидетельствовать о развитии воспалительного или токсического процесса, вызванного воздействием уксусной кислоты.

Заключение: Таким образом, проведённые исследования показывают, что стрессовые воздействия приводят к выраженной активации α -амилазы, что можно интерпретировать как проявление адаптационно-защитных механизмов организма в условиях стресса. Следует отметить, что морфометрический анализ выявил значительное снижение массы тела и массы поджелудочной железы у морских свинок под влиянием химического и иммобилизационного стресса, что отражает катаболическую направленность метаболических процессов.

В то же время, применение куркумина продемонстрировало свою эффективность в частичном восстановлении массы тела и поджелудочной железы, а также в снижении активности α -амилазы. Важно подчеркнуть, что снижение активности данного фермента при использовании куркумина свидетельствует о его способности нивелировать чрезмерные адаптационные изменения, вызванные стрессом, и способствовать стабилизации функционального состояния поджелудочной железы.

Следовательно полученные результаты подтверждают, что куркумин обладает потенциалом как средство для профилактики и коррекции патологических изменений, вызванных воздействием стрессоров.

При анализе гистологических препаратов поджелудочной железы были выявлены ишемические изменения в кровеносных сосудах, а также межклеточный отёк. В то же время структура островков Лангерганса и ацинозных клеток осталась неизменной, что свидетельствует о частичной устойчивости ткани поджелудочной железы к токсическому воздействию.

Список литературы

1. Шкляев А. Е., Галиханова Ю. И., Толмачев Д. А. Влияние уровня депрессии и стресса на функциональное состояние желудочно-кишечного тракта //Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2023. – №. 3 (67). – С. 104-112. doi: 10.21685/2072-3032-2023-3-11
2. И.Д. Воронина., А.О. КАРЕТИНА., М.В. ШАБАЛОВСКАЯ., А.Л. УЛЬЯНИЧ., С.Б. МАЛЫХ., Ю.В. КОВАС. Связь веса ребенка при рождении с физической активностью и стрессовыми событиями в жизни матери до и во время беременности //Теоретическая и экспериментальная психология. – 2016. – Т. 9. – №. 4. – С. 77-86.
3. Гребенкина Е. П., Исаева В. Л. Вегетативные эффекты введения β -эндорфина в структуры мозга в сочетании с хроническим иммобилизационным стрессом //ТРУДЫ ИЖЕВСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ АКАДЕМИИ. – 2017. – С. 9-10.
4. Балакина А.С., Аксенов И.В., Трусов Н.В., Гусева Г.В., Авреньева Л.И., Кравченко Л.В., Тутельян В.А.Влияние куркумина и кверцетина на показатели защитного потенциала крыс при их раздельном и совместном действии //Вопросы питания. – 2017. – Т. 86. – №. 2. – С. 14-22.
5. Куркина А. В., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – 3-е изд., перераб. и доп. / В.А. Куркин - Самара: ООО «Офорт»; ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России, 2016. - 1279 с
6. Аскарьянц В., Абдумажидов А.А.,Курбанова М.Б.,Нигманов Б.Б. Влияние феназепамы на топографию и активность энтеральных ферментов у растущих крыс в условиях иммобилизационного стресса //Журнал проблемы биологии и медицины. – 2016 – №. 4, 1 (81). – С. 109-112.