

УДК 591.133+591.14

ВЛИЯНИЕ КУРКУМЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ ВСАСЫВАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ КРЫС С АЛЛОКСАНОВОЙ МОДЕЛЬЮ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Козлова А.П., Корощенко Г.А., Недовесова С.А., Айзман Р.И.

ФБГОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет», Новосибирск, Россия (630126, Новосибирск, ул. Вилуйская, 28), e-mail:anna-gajdarova@yandex.ru

В экспериментах на взрослых самцах крыс линии Wistar с аллоксан-индуцированной моделью сахарного диабета 1 типа изучено влияние порошка корневища куркумы (*Curcuma longa*) на всасывание глюкозы в тонком кишечнике. Показано, что приём куркумы способствовал снижению интенсивности всасывания глюкозы в кишечнике крыс как в норме, так и при СД. Действие блокатора Na⁺-глюкозного котранспортера - канаглифлозина также приводило к снижению всасывания глюкозы в кишечнике животных с аллоксановым диабетом, при этом применение канаглифлозина с порошком корневища *Curcuma longa* потенцировало данный эффект. Таким образом, делается заключение, что фитопрепарат куркума обладает умеренным ингибирующим влиянием на транспортные механизмы в кишечнике крыс при различных физиологических и патофизиологических состояниях.

Ключевые слова: сахарный диабет, аллоксан, крыса, всасывание, Na⁺-глюкозный котранспортер, канаглифлозин, куркума.

EFFECT OF TURMERIC ON THE GLUCOSE ABSORPTION INTENSITY IN THE SMALL INTESTINE OF RATS WITH ALLOXAN MODEL OF DIABETES

Kozlova A.P., Koroschenko G.A., Nedovesova S.A., Aizman R.I.

Novosibirsk State Pedagogical University, Novosibirsk, Russia (630126, Novosibirsk, st. Viluiskaya, 28), e-mail: anna-gajdarova@yandex.ru

In experiments on adult male Wistar rats with alloxan-induced model of type 1 diabetes the effect of the rhizome of turmeric powder (*Curcuma longa*) on the absorption of glucose in the small intestine was studied. It has been shown that intake of turmeric caused the decrease of the intensity of glucose absorption in the gut both in normal and diabetic rats. Using of Na⁺- glucose cotransporter blocker - kanagliflozin also resulted in decreased absorption of glucose in the intestine of animals with alloxan-induced diabetes, but using of kanagliflozin together with *Curcuma longa* rhizome powder potentiated this effect. Thus, it is concluded that phytodrug turmeric has a moderate inhibitory effect on the transport mechanisms in the gut of rats under various physiological and pathophysiological conditions.

Keywords: diabetes mellitus, alloxan, rat, absorption, Na⁺-glucose cotransporter, kanagliflozin, turmeric.

Исследование механизмов всасывания различных веществ, поступающих с пищей или образующихся в результате гидролиза питательных веществ, из тонкого кишечника во внутреннюю среду организма является одной из актуальных проблем физиологии [6].

Имеется ряд работ, посвященных исследованию абсорбции глюкозы из полости тонкого кишечника в норме и патологии [1; 2; 3], в том числе, при сахарном диабете (СД) и его коррекции лекарственными растениями. Так, известно, что вытяжка из алоэ уменьшает всасывание глюкозы при СД, что позволяет снизить уровень сахара в крови экспериментальных животных [8]; экстракт подорожника также способствует снижению гипергликемии при диабете путем ингибирования всасывания глюкозы в кишечнике [9]. Однако какой механизм лежит в основе такого подавления всасывания углевода под влиянием разных фитопрепаратов остается открытым.

Полученные нами ранее данные о гипогликемическом эффекте порошка корневища куркумы (*Curcuma longa*) [3; 5] позволили высказать предположение, что одним из таких механизмов может явиться ингибирование фитопрепаратом куркумой Na^+ -глюкозного котранспортера, благодаря чему происходит снижение интенсивности всасывания глюкозы в ЖКТ.

Учитывая вышесказанное, **целью работы** явилось выяснение особенностей всасывания глюкозы у крыс с аллоксановой моделью СД на фоне приема порошка корневища куркумы и блокады Na^+ -глюкозного переносчика.

Материал и методы исследования. Для достижения поставленной цели были выполнены эксперименты на взрослых самцах крыс линии Wistar: первую серию составляли здоровые животные, находящиеся на стандартном питании (n=25), вторую серию – животные с аллоксан-индуцированным СД (n=31) (рис. 1). В каждой серии были выделены по 2 группы животных: находящиеся на стандартном корме (1 и 3 группы) и получавшие дополнительно порошок корневища куркумы из расчета 2% от массы корма (2 и 4 группы).

Для моделирования аллоксан-индуцированного сахарного диабета животным вводили в межлопаточную область 10% раствор аллоксана из расчета 0,1 мл/100 г массы тела, в то время как здоровым крысам вводили физиологический раствор из того же расчета. Все группы животных находились в стандартных условиях вивария без ограничения потребления воды и пищи.

В течение послеинъекционного периода у всех крыс на 1, 3 и 6 сутки для определения содержания сахара брали пробы крови объемом 0,2 мл путем надсечки хвоста. Концентрацию глюкозы в крови определяли пикриновым методом на спектрофотометре Spekol (Германия) при длине волны 560 нм.

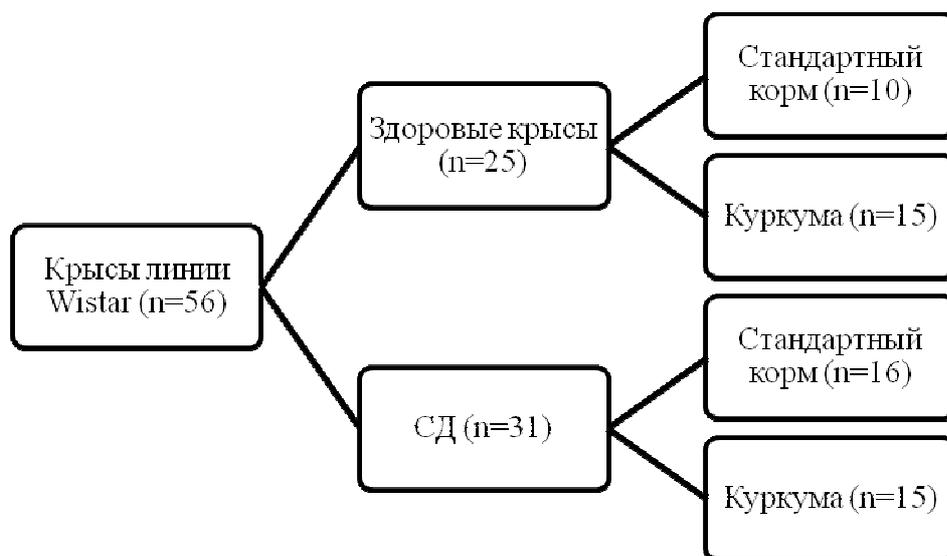


Рис.1. Распределение экспериментальных животных по группам

Исследование интенсивности всасывания глюкозы в кишечнике проводили *in vivo* путем заполнения 2 мл 30% раствора глюкозы иммобилизованного отрезка тонкой кишки длиной ~ 20 см, при сохранности его иннервации и кровоснабжения. Животные находились под наркозом барбиталом натрия из расчета 0,1 мл/100 г массы тела внутримышечно. Через час после введения раствора глюкозы из тонкой кишки извлекали оставшийся перфузат, в котором определяли концентрацию глюкозы, рассчитывали количество всосавшегося моносахарида, а также % его всасывания (табл.1).

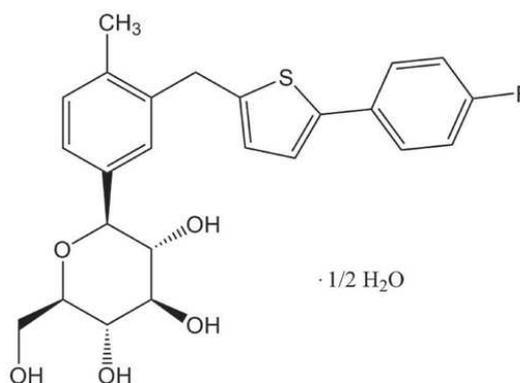
Таблица 1

Формулы для расчета интенсивности всасывания глюкозы

Показатель	Обозначения	Формула расчета	Единицы измерения
Концентрация глюкозы	C	-	мкмоль/мл
Объем раствора глюкозы	V	-	мл
Количество введенной глюкозы	C*V _{введ.}	C*V _{введ.}	мкмоль
Количество глюкозы в оставшемся перфузате	C*V _{ост.}	C*V _{ост.}	мкмоль
Количество всосавшейся глюкозы	ΔC*V	C*V _{введ.} - C*V _{ост.}	мкмоль
% всасывания глюкозы	% абсорбции	(ΔC*V / C*V _{введ.})*100	%

Для оценки роли Na⁺-глюкозного котранспортера крысам 2-ой, 3-ей и 4-ой группам за час до опыта вводили *per os* блокатор «Канаглифлозин» из расчета 0,1 мл/100 г массы тела.

Канаглифлозин (Canagliflozin) – активный ингредиент препарата ИНВОКАНА – имеет химическое название (1S)-1,5-ангидро-1-[3-[[5-(4-фторфенил)-2-тиенил]метил]-4-метилфенил]-D-глюцитола гемигидрат, его молекулярная формула – C₂₄H₂₅FO₅S•1/2 H₂O, а молекулярная масса составляет 453,53. Канаглифлозин имеет следующую структурную формулу:



Данный блокатор является ингибитором Na⁺-глюкозного котранспортера 2 типа (SGLT2) и таким образом уменьшает абсорбцию глюкозы в кишечнике и нефроне, повышая ее экскрецию с мочой и калом [7].

Статистический анализ результатов исследования проводили на основе определения средних арифметических (M) и их ошибок ($\pm m$). Различия показателей оценивали методами вариационной статистики по непараметрическому критерию Вилкоксона-Манна-Уитни для независимых выборок и считали достоверными при $p \leq 0,05$. Расчеты производили по общепринятым формулам с использованием стандартных программ пакета Statistica 7.0.

Все эксперименты выполняли в соответствии с Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных, принятыми Международным советом научных обществ (CIOMS) в 1985 г., со ст. XI Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г.) и правилами лабораторной практики в РФ (Приказ МЗ РФ от 19.06. 2003, № 267).

Результаты исследования и их обсуждение. Как и в ранее выполненных исследованиях [3; 5], после инъекции аллоксана содержание глюкозы в крови животных уже на 1-е сутки наблюдения было достоверно выше, чем в контроле, что свидетельствовало о развитии сахарного диабета (табл. 2). Однако в течение всего периода наблюдения уровень глюкозы в крови животных 4-ой группы был достоверно ниже по сравнению с аналогичными показателями крыс 3-ей группы, употреблявших стандартный корм, хотя и превышал показатели контрольных животных. Необходимо отметить, что на фоне приема порошка корневища *Curcuma longa* у интактных животных 2-ой группы уровень сахара в крови на 3 и 6 сутки эксперимента оказался также достоверно ниже аналогичных показателей животных 1-ой группы.

Следовательно, в условиях приема порошка корневища *Curcuma longa* у контрольных крыс наблюдалось снижение концентрации глюкозы в крови, а у животных с моделью сахарного диабета происходило менее значительное повышение и более быстрая ее нормализация.

Таблица 2

Концентрация глюкозы в крови крыс (ммоль/л) (M \pm m)

Группы животных	Фоновая проба	1 сутки	3 сутки	6 сутки
Контроль	4,4 \pm 0,34	3,6 \pm 0,07	4,0 \pm 0,20	4,4 \pm 0,07
Контроль+куркума	4,0 \pm 0,34	3,5 \pm 0,42	2,8 \pm 0,25*	2,2 \pm 0,15*
Аллоксан	5,0 \pm 0,12	18,3 \pm 0,18*	21,0 \pm 0,10*	16,1 \pm 0,30*
Аллоксан+куркума	4,2 \pm 0,30	12,2 \pm 0,05* Δ	6,9 \pm 0,17* Δ	5,3 \pm 0,15* Δ

Примечание: в данной и последующих таблицах:

* – достоверные отличия от контрольных крыс (1 группа);

Δ – достоверные отличия между экспериментальными группами.

Одной из причин уменьшения гликемии после приема порошка корневища растения куркумы могло стать снижение интенсивности всасывания углеводов в пищеварительном тракте за счет угнетения Na⁺-глюкозного котранспортера. Для проверки данной гипотезы была проведена серия экспериментов с перфузией 30% раствором глюкозы мобилизованного отдела тонкой кишки.

Из таблицы 3 видно, что у контрольных крыс процент всасывания глюкозы составил 40,2%, при этом на фоне приема куркумы данный показатель снижался и статистически значимо отличался от 1-ой группы. На фоне СД интенсивность всасывания глюкозы была достоверно выше показателей остальных экспериментальных групп, что может быть обусловлено активацией Na⁺-глюкозного котранспортера [10]. Необходимо отметить, что в условиях приёма куркумы у крыс 4-ой группы наблюдалось менее значительное всасывание глюкозы. Вероятно, что куркума, также как у здоровых крыс, частично ингибирует активность Na⁺-глюкозного котранспортера, однако в условиях сахарного диабета у крыс этот эффект проявляется гораздо хуже.

Для проверки выдвинутого предположения об ингибирующем действии куркумы на Na⁺-глюкозный котранспортер, была проведена серия экспериментов по всасыванию глюкозы в кишечнике крыс на фоне приёма его блокатора – канаглифлозина.

Таблица 3

Всасывание глюкозы в кишке крыс (M±m)

Группы животных	Количество глюкозы во вводимом растворе, мкмоль	Количество всосавшейся глюкозы, мкмоль	% всасывания глюкозы
Контроль	62,5 ± 0,97	25,1 ± 2,9	40,2 ± 8,8
Контроль+куркума		16,0 ± 1,7*	25,6 ± 7,1*
Аллоксан		57,8 ± 1,7*	92,5 ± 2,4*
Аллоксан+куркума		53,9 ± 2,4*	86,2 ± 4,1*

Примечание: см. табл. 1

Из данных таблицы 4 видно, что после действия блокатора у здоровых животных всасывание глюкозы в кишечнике практически не изменилось (с 40,2±8,8 до 39,2±3,5 %), тогда как на фоне СД данный показатель после действия канаглифлозина существенно снизился – на 60,2%. При сочетанном действии блокатора и порошка растения куркумы процент всасывания глюкозы снизился еще сильнее – на 81,8 %.

Таблица 4

Всасывание глюкозы в кишке крыс на фоне приёма канаглифлозина (M±m)

Группы животных	Количество глюкозы во вводимом растворе, мкмоль	Количество всосавшейся глюкозы, мкмоль	% всасывания глюкозы
Контроль + блокатор	53,3	20,9 ± 1,9	39,2 ± 3,5
Аллоксан + блокатор		17,2 ± 3,7 ^Δ	32,3 ± 7,0 ^Δ
Аллоксан+ куркума +блокатор		5,7 ± 0,7 ^{*Δ}	10,7 ± 1,3 ^{*Δ}

Примечание: см. табл. 1

Заключение. Таким образом, приём куркумы способствовал снижению процента всасывания глюкозы в кишечнике крыс как в норме, так и при СД. Вероятно, это обусловлено блокадой Na⁺-глюкозного котранспортера, поскольку при использовании «Канаглифлозина», блокатора Na⁺-глюкозного котранспортера, происходило аналогичное, но более выраженное ингибирование абсорбции глюкозы, а при сочетанном действии блокатора и куркумы отмечался аддитивный синергичный эффект. Таким образом, это является убедительным свидетельством того, что фитопрепарат обладает умеренным ингибирующим влиянием на транспортные механизмы в кишечнике крыс при различных физиологических и патофизиологических состояниях.

Работа выполнена в рамках государственного задания на оказание услуг (код проекта 3111).

Список литературы

1. Громова Л.В., Груздков А.А. Относительная роль различных механизмов всасывания глюкозы в тонкой кишке при физиологических условиях // Физиологический журнал им. Сеченова. – 1993. – №6. – С.65-72.
2. Громова Л.В., Груздков Ал.А., Груздков А.А. Кинетические параметры гидролиза мальтозы и всасывания глюкозы в тонкой кишке крыс в хронических опытах // Физиологический журнал им. Сеченова. – 2002. – №4. – С.510-518.
3. Корощенко Г.А., Суботялов М.А., Герасёв А.Д., Айзман Р.И. Влияние корневища растения *Curcuma Longa* на углеводный обмен крыс в эксперименте // Бюллетень СО РАМН.- 2011.- № 31(3). – С. 92-96.
4. Мембранный гидролиз и транспорт. Новые данные и гипотезы / Под ред. А.М. Уголева. – Л.: Наука, 1986. – С.73-85, 139-159.
5. Сазонова О.В., Трофимович Е.М., Айзман Р.И., Корощенко Г.А., Агеева Т.А., Суботялов М.А., Селиванова С.В. Профилактика токсического воздействия формальдегида

при сахарном диабете // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. -2011.-№ 9(4).-С. 38-42.

6. Сусликова М.И., Мирошниченко И.А., Корытов Л.И., Губина М.И.. Закономерности изменения скорости всасывания глюкозы в тонком кишечнике при иммобилизационном стрессе (экспериментальное исследование) //Сибирский медицинский журнал.- 2010.-№ 1.-С. 36-38.

7. Шварц В.Я. Новый принцип лечения сахарного диабета 2-го типа путем стимуляции глюкозурии// Проблемы эндокринологии.- 2012.-№ 4.- С. 54-57.

8. Akpan UP, Nna VU, Ofem, OE, Antai AB, Osim EE Suppression of gut glucose absorption and enhancement of gut fluid absorption in alloxan - induced diabetic rats treated with crude Aloe vera gel // 2014.- Vol. 5, Issue 3.- P. 647-655.

9. Hannan J.M, Ali L., Khaleque J., Akhter M., Flatt P.R., Abdel-Wahab Y.H. Aqueous extracts of husks of *Plantago ovata* reduce hyperglycaemia in type 1 and type 2 diabetes by inhibition of intestinal glucose absorption// Br J. Nutr. – 2006.- Vol. 96(1) . – P.131-137.

10. Vallon V., Rose M., Gerasimova M., Satriano J., Platt K.A., Koepsell H., Cunard R., Sharma K., Thomson S.C., Rieg T. Knockout of Na-glucose transporter SGLT2 attenuates hyperglycemia and glomerular hyperfiltration but not kidney growth or injury in diabetes mellitus// Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi.- 2013.- Vol. 117(4).- P. 954-8.

Рецензенты:

Сахаров А.В., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой зоологии и методики обучения биологии ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет», г. Новосибирск;

Быструшкин С.К., д.б.н., профессор кафедры анатомии, физиологии и безопасности жизнедеятельности ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный педагогический университет», г. Новосибирск.