

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.92>

ОЦЕНКА ПРИМЕНЕНИЯ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА ACACIA NILOTICA НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В СЕРДЦЕ И ПРОКСИМАЛЬНОЙ ЧАСТИ АОРТЫ У КРЫС С АЛЛОКСАНОВЫМ ДИАБЕТОМ

Научная статья

Вечканова Н.А.¹, Чеснокова В.Д.²*, Белова Л.А.³, Мельникова Н.А.⁴, Батыркина В.А.⁵, Воронин Н.Н.⁶, Курицын А.Е.⁷, Киселева А.Е.⁸, Калинина Л.П.⁹, Мартынова О.В.¹⁰, Малькина Т.В.¹¹, Фролова А.Э.¹²

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12} Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева, Саранск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (ivanchiki1234[at]yandex.ru)

Аннотация

Данные как научных, так и лабораторных исследований показывают, что травы, содержащие антиоксидантные соединения, могут нивелировать последствия окислительного стресса. ACACIA NILOTICA (AN), как известно, обладают различными активными соединениями, такими как алкалоиды, амиды, флавоноиды, фенилпропаноиды. Цель исследования – оценка применения водного экстракта AN на морфологические изменения в сердце и проксимальной части аорты у крыс с аллоксановым диабетом. Применение экстракта AN оказало выраженный терапевтический эффект при аллоксан-индуцированном сахарном диабете у крыс в эксперименте. На фоне применения экстракта AN сохраняется морфологическая целостность сердечной ткани, а также уменьшаются дегенеративные изменения в миокарде, и в аорте.

Ключевые слова: ACACIA NILOTICA, диабет, сердце, аорта.

EVALUATION OF ACACIA NILOTICA WATER EXTRACT APPLICATION ON MORPHOLOGICAL CHANGES IN HEART AND PROXIMAL AORTA IN ALLOXAN DIABETIC RATS

Research article

Vechkanova N.A.¹, Chesnokova V.D.²*, Belova L.A.³, Melnikova N.A.⁴, Batyarkina V.A.⁵, Voronin N.N.⁶, Kuritsin A.Y.⁷, Kiseleva A.Y.⁸, Kalinina L.P.⁹, Martinova O.V.¹⁰, Malkina T.V.¹¹, Frolova A.E.¹²

^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12} National Research Mordovia State University, Saransk, Russian Federation

* Corresponding author (ivanchiki1234[at]yandex.ru)

Abstract

Evidence from both scientific and laboratory studies shows that herbs containing antioxidant compounds can mitigate the effects of oxidative stress. ACACIA NILOTICA (AN) is known to possess various active compounds such as alkaloids, amides, flavonoids, phenylpropanoids. The aim of the research was to evaluate the application of aqueous extract of AN on morphological changes in heart and proximal aorta in alloxan diabetic rats. Application of AN extract had a pronounced therapeutic effect in alloxan-induced diabetes mellitus in rats in an experiment. Against the background of AN extract application, morphological integrity of cardiac tissue was preserved, and degenerative changes in myocardium and aorta were reduced.

Keywords: ACACIA NILOTICA, diabetes, heart, aorta.

Введение

Сахарный диабет (СД) — это нарушение обмена веществ, которое продолжает оставаться глобальной проблемой здравоохранения как в развитых, так и в развивающихся странах. Эпидемиологические исследования показали, что диабет напрямую взаимосвязан с сердечной недостаточностью или, косвенно, с атеросклерозом. Эндомиокардиальный фиброз, токсическое воздействие гипергликемии на кардиомиоциты, эндотелиальная дисфункция и окисление липопротеинов низкой плотности могут играть решающую роль в диабете как 1 типа, так и 2 типа. Связь между окислительным стрессом и СД хорошо определена. Окислительный стресс при СД приводит к увеличению образования свободных радикалов и снижению антиоксидантного потенциала. Данные как научных, так и лабораторных исследований показывают, что травы, содержащие антиоксидантные соединения, могут нивелировать последствия окислительного стресса. ACACIA NILOTICA (AN), как известно, обладают различными активными соединениями, такими как алкалоиды, амиды, флавоноиды, фенилпропаноиды [1], [2], [6]. Лабораторные исследования показали, что AN обладает высокой антиоксидантной активностью [3], [4] достоверно известно, что применение антиоксидантных соединений может нивелировать СД и его осложнения [4]. Цель исследования – оценка применения водного экстракта AN на морфологические изменения в сердце и проксимальной части аорты у крыс с аллоксановым диабетом.

Методы и принципы исследования

Приготовление экстракта AN: Листья AN 1 кг высушивали в духовке при 50 °С и измельчали для получения порошка AN, затем его смешивали с 1 л кипящей воды в течение 1 часа. Полученную смесь фильтровали, и готовили порошок. Сухой экстракт хранили при температуре 4 °С до использования. Сухой экстракт AN растворяли в физиологическом растворе натрия хлорида и вводили перорально в дозе 0,125 г/кг веса тела.

В эксперименте приняли участие 30 беспородных крыс обоего пола, весом 240-250 г. Животные были случайно разделены на две основные группы: контрольную группу (n=15) и экспериментальную группу (n=15). Экспериментальная группа получила однократную дозу подкожного (п/к) введения раствора аллоксана-тетрагидрата (АЛТТ) из расчета 30 мг/ на 100 г массы тела. Кровь забиралась из хвостовой вены (на 1-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е сутки с момента начала эксперимента), анализ уровня гликемии проводился на анализаторе HUMASTAR 600 (Германия). Группы крыс поделены на подгруппы:

- 1А (нормогликемические крысы + NaCl) – контрольная группа, которой вводили физиологический раствор натрия хлорида 0,9%-5 мл (n=7);
- 1Б (нормогликемические крысы + AN) – контрольная группа, которой вводили 0,125 г/кг экстракта AN (n=8);
- 2А (диабет + NaCl) группа, которой вводили физиологический раствор натрия хлорида 0,9%-5 мл (n=7);
- 2Б (диабет + AN) группа, которой вводили 0,125 г/кг экстракта AN (n=8). Лечение во всех группах продолжалось в течение 28 дней.

После 28 дней животные выводились из эксперимента путем эвтаназии, и подвергались гистологическому исследованию. Для гистологического исследования сердечная ткань была рассечена продольно, а ткань аорты была рассечена поперечно. Гистологическое исследование проводилось с помощью светового микроскопа образцы фиксировали в 10% формальдегиде, подвергали процессу дегидратации в спиртовой серии, заливали в парафин. Образцы сердечной ткани окрашивали стандартными красителями, такими как гематоксилин и эозин. Для статистической обработки был применен t-критерия Стьюдента и критерий Манна-Уитни. Результаты продемонстрированы следующим образом: $M \pm m$ (M – среднее, m – ошибка среднего). Данные принимались за значимые при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Динамика уровня глюкозы крови при аллоксан-индуцированном диабете у крыс отражена в таб. 1. Применение экстракта AN несколько снижало уровень гликемии у крыс в подгруппе 1Б, но статистически значимых различий между подгруппой 1А и 1Б, не было выявлено.

Таблица 1 - Динамика уровня глюкозы крови при аллоксан-индуцированном диабете у крыс

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.92.1>

Подгруппы животных	Уровень глюкозы крови крыс, ммоль/л, ($M \pm m$)				
	Дни эксперимента:				
	1-й	7-й	14-й	21-й	28-й
1А (нормогликемические крысы + NaCl 0,9%-5 мл внутрь), (n=7).	3,9 ± 0,2	4,04 ± 0,4	3,8 ± 0,3	3,7 ± 0,4	3,7 ± 0,3
1Б (нормогликемические крысы + AN), (n=8).	3,7 ± 0,4	4,2 ± 0,5	3,8 ± 0,3	4,7 ± 0,9	3,5 ± 0,4
2А (диабет + NaCl 0,9%-5 мл внутрь), (n=7)	15,4 ± 0,5*#	9,2 ± 0,3*#	10,4 ± 0,4*#	8,7 ± 0,5*#	9,4 ± 0,5*#
2Б (диабет + AN), (n=8)	11,4 ± 0,6*#@	7,9 ± 0,6*#	7,4 ± 0,3 *#@	7,1 ± 0,4*#@	7,4 ± 0,5*#@

Примечание: * – различия статистически значимы по отношению к подгруппе 1А, ($p < 0,05$);

– различия статистически значимы по отношению к подгруппе 1Б, ($p < 0,05$);

@ – различия статистически значимы по отношению к подгруппе 2А, ($p < 0,05$);

& – различия статистически значимы по отношению к подгруппе 2Б, ($p < 0,05$)

Применение экстракта AN, статистически значимо снижало уровень гликемии в подгруппе 2Б в сравнении с подгруппой 2А, $p < 0,05$ (таб. 1.). При окраске гематоксилином и эозином у животных в подгруппе 2А ядра кардиомиоцитов одиночные, овальные и центрально расположенные с миофибриллами (рис. 1а).

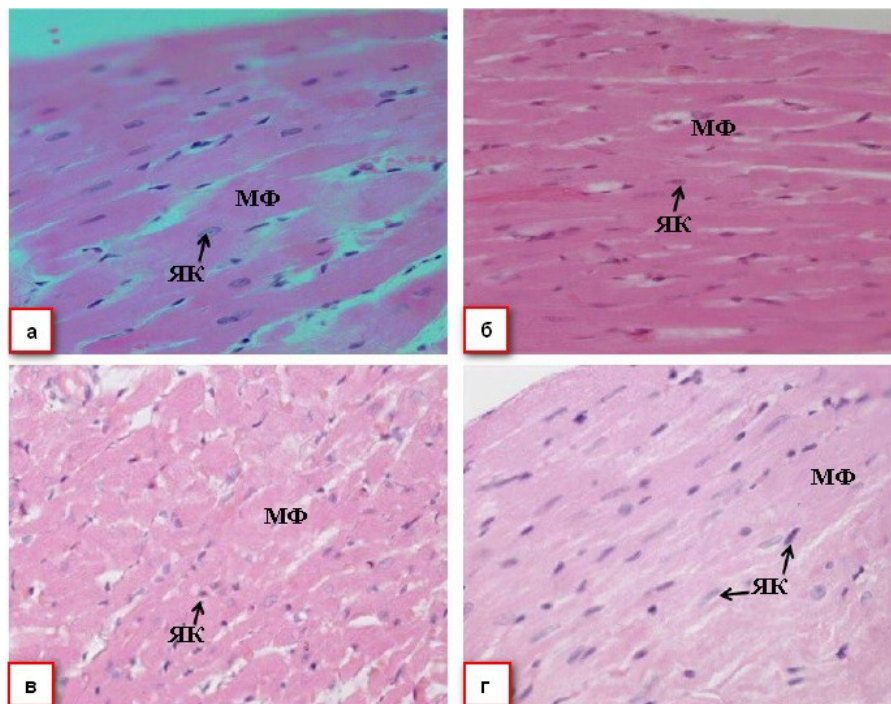


Рисунок 1 - Микрофотография, продольный срез сердечной ткани в исследуемых подгруппах:
 (а) подгруппа 1А, которой вводили физиологический раствор натрия хлорида; (б) подгруппа 1Б, которой вводили 0,125 г/кг экстракта АН; (в) подгруппа 2А, аллоксан-индуцированный диабет+физиологический раствор натрия хлорида; (г) подгруппа 2Б, аллоксан-индуцированный диабет+ 0,125 г/кг экстракта АН
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.92.2>

Примечание: окр. гематоксилином и эозином, увеличение X400; обозначения на рисунке: ЯК – ядра кардиомиоцитов, МФ – миофибриллы

В подгруппе 2Б, ядра кардиомиоцитов были деформированными, различной формы и размеров, но степень деформации была более выражена у животных в подгруппе 2А, вероятно это было обусловлено дегенерацией белка в митохондриях цитоплазмы, которая произошла при деградации белка, обусловленной СД. В подгруппе 2Б количество морфологических изменений было статистически значимо меньше в сравнении с подгруппой 2А. Участки интерстициального фиброза в виде отложений соединительной ткани в подгруппе 2Б по сравнению с подгруппой 2А были менее выражены. Аналогичная тенденция прослеживалась и при анализе аорты. Увеличение толщины слоев внутренней оболочки и средней оболочки более всего было выражено в подгруппе 2А (толщина средней оболочки более выражена, чем толщина внутренней оболочки), вероятнее всего, это было связано с пролиферацией гладкомышечных клеток в стенке аорты, однако в подгруппе 2Б подобных изменений не отмечено (рис. 2).

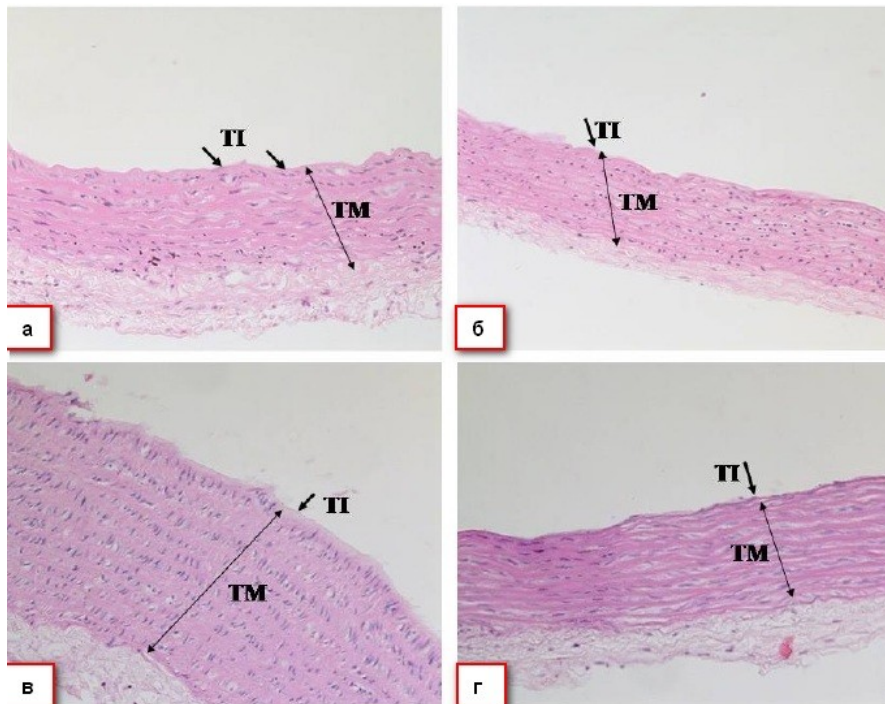


Рисунок 2 - Микрофотография, показывающая участок ткани аорты в исследуемых подгруппах:
 (а) подгруппа 1А, которой вводили физиологический раствор натрия хлорида; (б) подгруппа 1Б, которой вводили 0,125 г/кг экстракта АН; (в) подгруппа 2А, аллоксан-индуцированный диабет+физиологический раствор натрия хлорида; (г) подгруппа 2Б, аллоксан-индуцированный диабет+ 0,125 г/кг экстракта АН
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.149.92.3>

Примечание: окр. гематоксилином и эозином, увеличение X200; обозначения на рисунке: ТI – внутренняя оболочка (t. intima); ТМ – средняя оболочка (t. media); черные стрелки – эндотелиальные клетки

В подгруппе 1А, ядра в кардиомиоцитах были одиночными, овальными, и центрально расположены. В препаратах аорты было выявлено наличие эндотелиальных клеток в слое интимы и гладкомышечных клеток во внутреннем слое. Анализ гистологических препаратов показал, что структурная организация сердечной ткани была нарушена у крыс с диабетом, вызванным АЛТТ (подгруппа 2А). Воспалительные гистологические изменения в сердечной ткани указывали на повреждение миокарда.

В нашем исследовании изменения формы и размеров ядер кардиомиоцитов с беспорядочными сердечными миофибриллами отмечены в подгруппах у крыс с диабетом 1 типа при окрашивании гематоксилином и эозином. Клеточный механизм изменений в сердце и сосудах при диабете 1 типа по-прежнему до конца не изучен [4], [5]. При дефиците инсулина наблюдается снижение синтеза белка, увеличение деградации белка протеасомами, десинхронизация функций митохондрий, кроме того, гиперосмолярность при гипергликемии, замещение кардиомиоцитов соединительной тканью, увеличение коллагеновых пучков при СД 1 типа могут приводить к необратимым изменениям размера и формы ядер кардиомиоцитов. Антиоксидантная активность экстракта АН, которая проявляется в ингибировании свободных радикалов, собственно и предотвратила окислительное повреждение миокарда у крыс с диабетом, вызванным АЛТТ. Кроме того, антиоксидантная активность кверцетина, содержащегося в экстракте АН, может быть применима для поглощения/нейтрализации митохондриально-ассоциированных активных форм кислорода, связанных с гипергликемией [7], [8].

Результаты исследования показали, что применение экстракта АН уменьшило повреждение сердца у крыс с диабетом, вызванным АЛТТ. Длительная гипергликемия сама по себе может вызывать развитие атеросклеротических изменений [4], [8]. По имеющимся данным, значительное увеличение толщины tunica media (вероятно, обусловлено пролиферацией гладкомышечных клеток в интиме и слое tunica media восходящей аорты) наблюдалось у крыс с диабетом, вызванным АЛТТ. Окислительный стресс приводит к увеличению продукции свободных радикалов, что ведет к инициации окисления липопротеинов низкой плотности, опосредованное атомарными формами кислорода. Анализ препаратов стенки аорты показал, что наблюдается увеличение толщины средней оболочки в проксимальной части аорты в подгруппе 2А, в подгруппе 2Б данные изменения были менее выражены. Вероятно, что такой протективный эффект экстракта АН, обусловлен действием нарингина, который имеет антиатерогенный эффект [9], [10]. В перспективе применение фитохимических соединений могут снизить риск развития ишемической болезни сердца путем снижения окисления липопротеидов.

Заключение

Применение экстракта АН оказало выраженный терапевтический эффект при аллоксан-индуцированном сахарном диабете у крыс в эксперименте. На фоне применения экстракта АН сохраняется морфологическая целостность

сердечной ткани, а также уменьшаются дегенеративные изменения в миокарде и в аорте. По предварительным данным, применение экстракта AN при аллоксан-индуцированном сахарном диабете у крыс является весьма перспективным, но требуется дальнейшее проведение исследований в данной области для более детального анализа антиоксидантного статуса.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Al-Nour M.Y. Acid, Kaempferol, and Quercetin from *Acacia nilotica*: Promising Combined Drug With Multiple Mechanisms of Action / M.Y. Al-Nour, M.M. Ibrahim, T. Elsaman // *Curr Pharmacol Rep.* — 2019. — Vol. 5. — № 4. — P. 255–280.
2. Kaur P. Isolation, characterization and biological activities of betulin from *Acacia nilotica* bark / P. Kaur, S. Arora, R. Singh // *Sci Rep.* — 2022. — Vol. 12. — № 1. — P. 9370.
3. Saha M.R. *Acacia nilotica* leaf improves insulin resistance and hyperglycemia associated acute hepatic injury and nephrotoxicity by improving systemic antioxidant status in diabetic mice / M.R. Saha, P. Dey, I. Sarkar // *J Ethnopharmacol.* — 2018. — Vol. 210. — P. 275–286.
4. Massey S. A structural study of *Acacia nilotica* and *Acacia modesta* gums / S. Massey, W. MacNaughtan, H.E. Williams // *Carbohydr Polym.* — 2017. — Vol. 1. — № 175. — P. 207–215.
5. Roozbeh N. Hypoglycemic effects of *Acacia nilotica* in type II diabetes: a research proposal / N. Roozbeh, L. Darvish, F. Abdi // *BMC Res Notes.* — 2017. — Vol. 10. — № 1. — P. 331.
6. Inchina V.I. Pharmacological effects of *Trigonella foenum-graecum*, *Cyperus rotundus*, *Ammi visnaga*, *Acacia nilotica* in experimental psoriasis / V.I. Inchina, M. Hussein, D.M. Korobkov // *Modern Problems of Science and Education.* — 2019. — № 1. — P. 14.
7. Inchina V.I. Study of the effect of aqueous extracts of herbs *Cymbopogon proximus*, *Cyperus rotundus*, *Acacia nilotica*, *Trigonella foenum-graecum* on the regeneration processes of infected skin wounds in white rats with steroid hyperglycemia / V.I. Inchina, M.A. Hussein, D.M. Korobkov // *Modern Problems of Science and Education.* — 2019. — № 3. — P. 166.
8. Al-Mustafa Z.H. A study on the toxicology of *Acacia nilotica* / Z.H. Al-Mustafa, A.A. Dafallah // *Am J Chin Med.* — 2000. — Vol. 28. — № 1. — P. 123–129.
9. Alli L.A. Toxicological studies of aqueous extract of *Acacia nilotica* root / L.A. Alli, A.A. Adesokan, O.A. Salawu, M.A. Akanji // *Interdiscip Toxicol.* — 2015. — Vol. 8. — № 1. — P. 48–54.
10. Kannan N. Protective Effect of *Acacia nilotica* (L.) against Acetaminophen-Induced Hepatocellular Damage in Wistar Rats / N. Kannan, K.M. Sakthivel, C. Guruvayoorappan // *Adv Pharmacol Sci.* — 2013. — P. 987692.