



Мамажонова Ойгул Сирожитдиновна

Андижанский государственный медицинский институт, Республика Узбекистан, г. Андижан

САХАРОЗАНИНГ СЎЛАКНИНГ АМИЛОЛИТИК ФАОЛЛИГИНИ ЎЗГАРИШИГА ТАЪСИРИ

Мамажонова Ойгул Сирожитдиновна

Андижон давлат тиббиёт институти, Ўзбекистон Республикаси, Андижон ш.

INFLUENCE OF SUCCAROSE ON CHANGES IN AMYLOLYTIC ACTIVITY OF SALIVA

Mamajonova Oygul Sirojiddinovna

Andijan State Medical Institute, Republic of Uzbekistan, Andijan

e-mail: oygul@gmx.com

Резюме. Сахарозанинг сўлак амилазасининг фаоллиги ва меъда ширасининг протеолитик фаоллиги ўзгаришига таъсири ўрганилди. Тадқиқот тупурик, меъда шираси, крахмал, казеин, альбумин ва гемоглобин эритмаларидан фойдаланган ҳолда *in vitro* усулида ўтказилди. Сахарозанинг юқори концентратсиясида сахароза билан крахмалли субстратдан фойдаланганда сўлак амилазасининг фаоллиги пасайиши мумкин деган хулосага келди. Бундан ташқари, юқори концентратсияларда сахароза барча рН қийматларида сўлак амилазасининг фаоллигини сезиларли даражада ва ишончли тарзда камайитириши мумкинлиги аниқланди.

Калим сўзлар: *in vitro*, рН, тупурик, α -амилаза, крахмал

Abstract. The effect of sucrose on changes in the activity of salivary amylase and proteolytic activity of gastric juice was studied. The study was carried out *in vitro*, using saliva, gastric juice, solutions of starch, casein, albumin and hemoglobin. It was concluded that when using a starch substrate with sucrose at high concentrations of sucrose, the activity of salivary amylase may decrease. It was also found that sucrose at high concentrations can significantly and reliably reduce the activity of salivary amylase at all pH values.

Key words: *in vitro*, pH, saliva, α -amylase, starch.

Помимо полисахаридов было обнаружено, что сахароза из группы олигосахаридов, имеющая большое значение в питании человека, может влиять на активность различных растворимых ферментов, которое проявляется в обратимом снижении активности, линейно связанном с концентрацией сахарозы [4].

Установлено, что активность α -химотрипсина увеличивалась с повышением низкой концентрации сахарозы, а затем при большем повышении сахарозы возвращалась к исходной активности. При этом связывание сахарозы с ферментом вызывает локальные изменения микроокружения триптофана остатки, которые находятся в непосредственной близости. Молекулярно-динамическое моделирование демонстрирует, что сахароза действует как стабилизатор. Исследования также указывают на то, что сахароза абсорбируется на поверхности фермента. Обнаружено, что водородная связь и ван-дер-ваальсовы взаимодействия преобладают над электростатическим взаимодействием. Было найдено влияние сахарозы на повышение стабильности α -химотрипсина и способность сахарозы защищать

его нативную структурную конформацию. Показано, что водородные связи играют важную роль в стабилизации комплекса за счет более высокого образования Н-связи и более низкой гидрофобности поверхности после модификации сахарозой [3].

Цель исследования: изучить влияние сахарозы на изменение активности слюнной амилазы и протеолитической активности желудочного сока.

Материал и методы. В работе *in vitro* изучалось влияние сахарозы на гидролиз крахмала слюнной амилазой и белков казеина, яичного альбумина (альбумина) и гемоглобина желудочным соком. Исследовалась активность амилазы слюны [1] с использованием в качестве субстрата крахмала совместно с сахарозой после предварительно 30 минутной их совместной инкубации. Применялось различное соотношение крахмала и сахарозы: только крахмала без сахарозы, 1 часть крахмала и 1 часть сахарозы, 1 часть крахмала и 5 частей сахарозы, 1 часть крахмала и 10 частей сахарозы. Амилолитическая активность исследовалась после 30 минутного воздействия слюны на смесь

крахмала и сахарозы при различных значениях рН от 2 до 7. При этом проводили исследование изменения активности амилазы в абсолютных показателях Ед/мл при рН 7, а также в процентах при рН от 2 до 7, путем выявления количества крахмала, расщепляемого амилазой, по изменению интенсивности синего окрашивания крахмала в присутствии йода. При этом рассчитывался в процентах показатель гидролизованного крахмала по разнице результата интенсивности окрашивания крахмала без присутствия слюнной амилазы и показателя интенсивности окрашивания крахмала в присутствия слюнной амилазы по отношению к результату интенсивности окрашивания крахмала без присутствия слюнной амилазы.

Статистическая обработка была проведена методом вариационной статистики с вычислением средних величин и их средних ошибок, определением коэффициента достоверности разности Стьюдента-Фишера (t). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$ и менее.

Результаты исследования. В результате проведенных исследований влияния смеси крахмала и сахарозы на амилаолитическую активность слюны. Было выявлено, что при использовании в качестве субстрата только крахмала активность слюнной амилазы составляла $23 \pm 1,7$ Ед/мл $\times 100$. При этом с применением в качестве субстрата крахмала и сахарозы в соотношении 1:1 существенных изменений амилаолитической активности по отношению к использованию только крахмала не отмечалось и она была равна $24 \pm 1,6$ Ед/мл $\times 100$. Применение же аналогичного субстрата в

соотношении 1:5 вызывало не достоверное снижение показателя активности амилазы до $19 \pm 1,3$ Ед/мл $\times 100$, а применение такого же субстрата в соотношении 1:10 вызывало достоверное уменьшение амилаолитической активности до $11 \pm 0,7$ Ед/мл $\times 100$ (Рис.1).

Так же результаты этих исследований показали, что с применением только крахмала наибольшее проявление активности слюнной амилазы по отношению к максимальному показателю 100 % при рН равному 6,5, отмечалось при значении рН 7 ($92 \pm 7,8$ %), а так же рН 6 ($95 \pm 8,3$ %). В тоже время при значении рН 5,5 ($84 \pm 7,2$ %) и 5 ($77 \pm 6,4$ %) отмечалось выраженное, но не достоверное уменьшение активности амилазы по отношению к максимальному её значению. При этом, когда значения рН были равны 4,5 ($62 \pm 5,3$ %) и 4 ($39 \pm 2,8$ %) наблюдалось дальнейшее достоверное снижение активности амилазы по отношению к максимальному её значению. При рН 3,5 ($21 \pm 1,6$ %) сохранялась амилаолитическая активность достоверно на низком уровне, а при рН ($5 \pm 0,3$ %) была не существенно выражена, при рН 2,5 и 2 полностью отсутствовала (рис.2).

По результатам использования в качестве субстрата совместно крахмала и сахарозы в соотношении 1:1 была выявлена аналогичная динамика изменения показателей активности слюнной амилазы при различных значениях рН от 2 до 7. В тоже время все эти результаты активности амилазы при различных значениях рН существенно не отличались от аналогичных показателей с применением в качестве субстрата только крахмала (рис. 2).

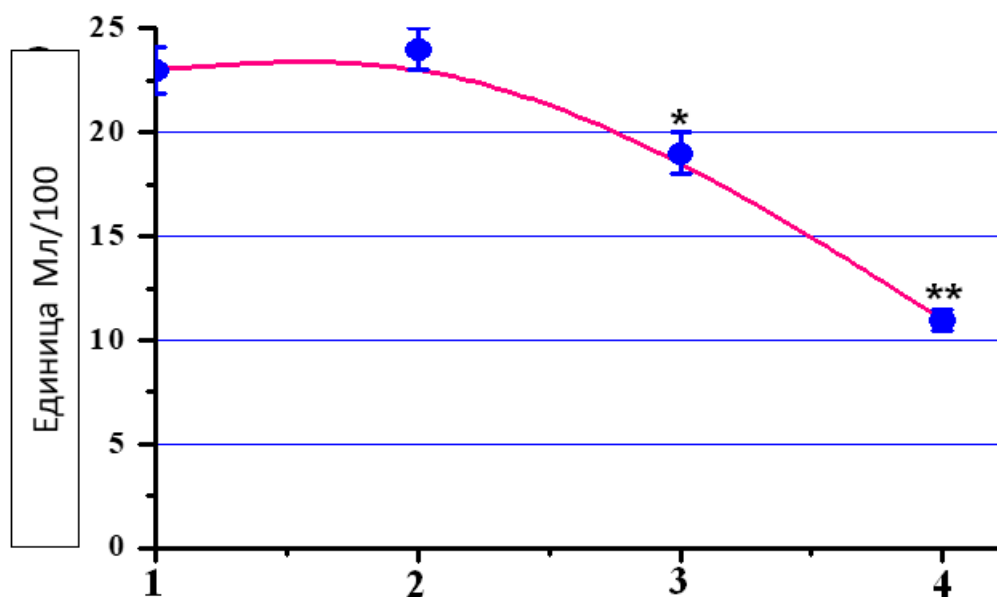


Рис. 1. Исследование изменения активности амилазы слюны при использовании в качестве субстрата крахмала - 1, а также крахмала и сахарозы в соотношениях 1:1 - 2, 1:5 - 3, 1:10 - 4. * - достоверно отличающиеся величины по отношению к использованию в качестве субстрата только крахмала

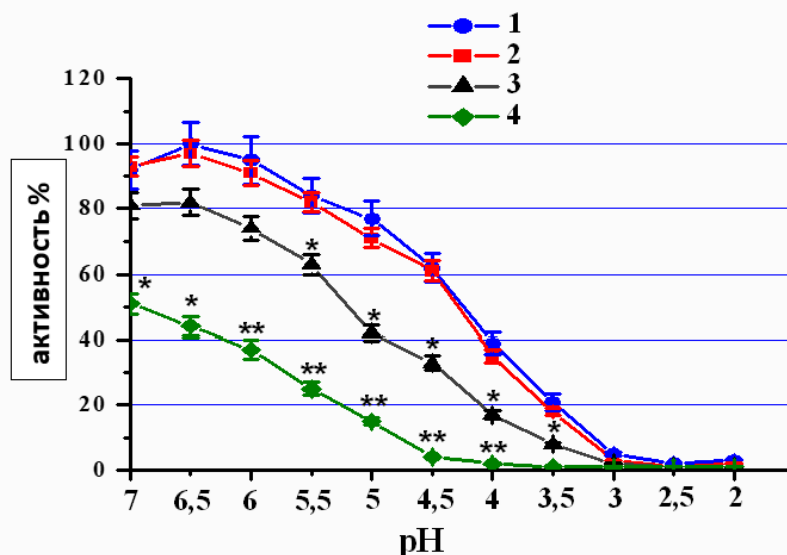


Рис. 2. Исследование изменения активности амилазы слюны при использовании в качестве субстрата крахмала - 1, а также крахмала и сахарозы в соотношении 1:1 - 2, 1:5 - 3, 1:10 - 4, при различных значениях рН от 2 до 7. * - достоверно отличающиеся величины по отношению к аналогичным показателям с использованием в качестве субстрата только крахмала

Тем не менее с применением в качестве субстрата совместно крахмала и сахарозы в соотношении 1:5 отмечалась близкая динамика изменения активности слюнной амилазы при различных значениях рН, однако все показатели были ниже подобных результатов изменения динамики активности амилазы при различных значениях рН с использованием в качестве субстрата только крахмала. При этом наибольшее проявление активности слюнной амилазы по отношению к максимальному показателю 100 % с использованием в качестве субстрата только крахмала, отмечалось при значении рН 7 ($81 \pm 7,2$ %), а при рН 6 ($74 \pm 6,1$ %) отмечалось не достоверное снижение активности амилазы по отношению к таковому с применением только крахмала.

В тоже время при значении рН 5,5 ($63 \pm 5,4$ %) и 5 ($42 \pm 6,4$ %) отмечалось выраженное и достоверное уменьшение активности амилазы по отношению к таковому с применением только крахмала. При этом, при значения рН 4,5 ($33 \pm 2,5$ %), а также и 4 ($17 \pm 1,5$ %) и 3,5 ($8 \pm 0,5$ %) наблюдалось дальнейшее достоверное снижение активности амилазы по отношению к аналогичному с применением только крахмала. А при рН 3, 2,5, 2 отсутствовала какая либо активность слюнной амилазы (Рис.2).

С применением в качестве субстрата совместно крахмала и сахарозы в соотношении 1:10 отмечались значительно ниже показатели активности амилазы по отношению к подобным результатам с использованием только крахмала. При этом динамика падения показателей активности амилазы была более выражена. Отмечалось значительное и достоверное

снижение показателя активности амилазы при рН 7 ($51 \pm 4,3$ %) по отношению к таковому же результату с использованием в качестве субстрата только крахмала. Этот результат был максимальным при использовании субстрата крахмала и сахарозы в соотношении 1:10. В дальнейшем с уменьшением рН до 4 отмечалось постепенное достоверное снижение активности слюнной амилазы по отношению к сходным результатам с использованием только крахмала. А при снижении рН с 4 до 2 амилолитическая активность отсутствовала (Рис.2).

Обсуждение результатов. Из полученных результатов исследований было установлено, что активность слюнной амилазы зависит от взаимодействия крахмала с сахарозой. Подтверждением тому являются полученные нами данные, где было установлено, что при использовании в качестве субстрата крахмала и сахарозы в соотношении 1:1 по отношению применения только крахмала существенных изменений амилолитической активности не отмечалось. Использование же аналогичного субстрата в соотношении 1:5 вызывало не достоверное снижение показателя активности амилазы, а применение такого же субстрата в соотношении 1:10 по отношению использования только крахмала вызывало достоверное уменьшение амилолитической активности. На основании этих данных можно утверждать, что сахароза при высоких её концентрациях может снижать активность слюнной амилазы с применением крахмала в качестве субстрата.

Кроме того проведенные исследования показали, что с применением в качестве субстрата только крахмала наибольшее проявление активности слюнной амилазы наблюдалось при

значении рН 7, а так же 6,5 и 6. В тоже время при значении рН 5,5 и 5 отмечалось выраженное, но не достоверное уменьшение активности амилазы по отношению к максимальному её значению. При этом, когда значения рН были раны 4,5 и 4 наблюдалось дальнейшее достоверное снижение активности амилазы по отношению к максимальному её значению. При рН 3,5 сохранялась амилолитическая активность достоверно на низком уровне, а при рН 3 была не существенно выражена, при рН 2,5 и 2 полностью отсутствовала. Все это указывает на то, что амилолитическая активность в желудке может сохраняться в диапазоне рН от 7 до 3.

С использованием в качестве субстрата крахмала и сахарозы в соотношении 1:1 наблюдалась похожая направленность изменения активности амилазы при различных значениях рН от 2 до 7. Так же все эти результаты активности амилазы при различных значениях рН значимо не отличались от таких же результатов с применением в качестве субстрата только крахмала. Что показывает на отсутствие влияния сахарозы при соотношении 1:1 крахмала и сахарозы на изменение активности амилазы слюны при различных значениях рН.

По результатам применения в качестве субстрата совместно крахмала и сахарозы в соотношении 1:5 отмечалась близкая динамика изменения активности слюнной амилазы при различных значениях рН. Однако все показатели были ниже подобных результатов изменения динамики активности амилазы при различных значениях рН с использованием в качестве субстрата только крахмала. В тоже время при значениях рН от 7 до 6 отмечалось не достоверное снижение активности амилазы по отношению к таковому с применением только крахмала. Тем не менее, при значениях рН 5,5 и 5,0 наблюдалось значительное и достоверное снижение активности амилазы по отношению к подобному результату с применением только крахмала. Аналогичное и достоверное снижение активности амилазы по отношению к подобному с применением только крахмала отмечалось при значениях рН от 4,5 до 3,5, а рН 3, 2,5, 2 отсутствовала какая либо активность слюнной амилазы. Эти результаты демонстрируют, что при соотношении крахмала и сахарозы 1:5, достоверное уменьшение активности слюнной амилазой под влиянием сахарозы отмечается при более низких значениях рН от 5 до 3,5.

Использование в качестве субстрата совместно крахмала и сахарозы в соотношении 1:10 вызывало существенно меньше результаты активности амилазы по отношению к похожим результатам с использованием только крахмала. В тоже время уровень снижения показателей

активности амилазы при различных значениях рН был значительно больше чем в соотношении 1:5. Наблюдалось существенное и достоверное снижение активности амилазы при рН 7 до 4 по отношению к подобным результатам с использованием только крахмала. А при снижении рН с 4 до 2 активность слюнной амилазы отсутствовала. Данный результат показывает, что сахароза в высоких концентрациях снижает активность амилазы при всех значениях рН.

Выводы: При использовании субстрата крахмала с сахарозой показано, что сахароза при высоких её концентрациях может снижать активность слюнной амилазы. Так же установлено, что сахароза при высоких концентрациях может значительно и достоверно уменьшать активность слюнной амилазы при всех значениях рН.

Литература:

1. Смелышева, Л. Н. Секреторная функция желудка и поджелудочной железы при действии эмоционального стресса // Дисс... докт. биол. наук., Тюмень, 2007, 278 с.
2. Чубин, А. Н. Морфофункциональная характеристика слизистой оболочки желудка собак в зависимости от способов лечения язвенной болезни в эксперименте // Дисс... докт. вет. наук, Благовещенск, 2008, 301 с.
3. Farhadian, S., Shareghi, B., Momeni, L., Abou-Zied, O. K., Sirotkin, V. A., Tachiya, M., & Saboury, A. A. Insights into the molecular interaction between sucrose and α -chymotrypsin // International journal of biological macromolecules. – 2018. – Т. 114. – С. 950-960.
4. Hinton R. H., Burge M. L. E., Hartman G. C. Sucrose interference in the assay of enzymes and protein // Analytical Biochemistry. – 1969. – Т. 29. – № 2. – С. 248-256.

ВЛИЯНИЕ САХАРОЗЫ НА ИЗМЕНЕНИЕ АМИЛОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СЛЮНЫ

Мамажонова О.С.

Резюме. Изучали влияние сахарозы на изменение активность слюнной амилазы и протеолитической активности желудочного сока. Исследование проводили *in vitro*, в работе использовали слюну, желудочный сок, растворы крахмала, казеина, альбумина и гемоглобина. Сделано заключение, что при использовании субстрата крахмала с сахарозой при высоких концентрациях сахарозы может снижаться активность слюнной амилазы. Так же установлено, что сахароза при высоких концентрациях может значительно и достоверно уменьшать активность слюнной амилазы при всех значениях рН.

Ключевые слова: *in vitro*, рН, слюна, α -амилаза, крахмал.