

## ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА КОСТНОГО КОЛЛАГЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ АЛЛОКСАН-ИНДУЦИРОВАННЫХ КРЫС



Мирзаев Азиз Каххорович<sup>1</sup>, Гилева Ольга Георгиевна<sup>2</sup>, Юсупов Шухрат Абдурасулович<sup>1</sup>,  
Бутолин Евгений Германович<sup>2</sup>, Халиков Каххор Мирзаевич<sup>1</sup>

1 - Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд;

2 - Ижевская медицинская академия, Российская федерация, г. Ижевск

## АЛЛОКСАН - ИНДУЦИРЛАНГАН КАЛАМУШЛАР ҚОН ЗАРДОБИДА СУЯК КОЛЛАГЕНИ АЛМАШИНУВИНИНГ КЎРСАТКИЧЛАРИ

Мирзаев Азиз Каххорович<sup>1</sup>, Гилева Ольга Георгиевна<sup>2</sup>, Юсупов Шухрат Абдурасулович<sup>1</sup>,  
Бутолин Евгений Германович<sup>2</sup>, Халиков Каххор Мирзаевич<sup>1</sup>

1 - Самарканд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарканд ш.;

2 - Ижевск Тиббиёт Академияси, Россия Федерацияси, Ижевск ш.

## INDICATORS OF BONE COLLAGEN METABOLISM IN THE BLOOD SERUM OF ALLOXAN-INDUCED RATS

Mirzaev Aziz Kakhhorovich<sup>1</sup>, Gileva Olga Georgievna<sup>2</sup>, Yusupov Shukhrat Abdurasulovich<sup>1</sup>,  
Butolin Evgeniy Germanovich<sup>2</sup>, Khalikov Kakhhor Mirzaevich<sup>1</sup>

1 - Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand;

2 - Ijevsk Medical Academy, Russian Federation, Ijevsk

e-mail: [a49920901@gmail.com](mailto:a49920901@gmail.com)

**Резюме.** Халқаро диабет федерацияси (ХДФ) маълумотларига кўра, 2045 йилга бориб дунёда қандли диабет билан касалланганлар сонининг кескин ўсиши (ҳозиргига нисбатан 46%) кутилмоқда. Ишнинг мақсади экспериментал аллоксан диабетини бўлган каламушларнинг қон зардобидаги коллаген алмашинуви маҳсулотларининг таркибини ўрганиши эди. Тадқиқотимизда каламушларда аллоксан диабетининг пайдо бўлиши суяк тўқимасида синтетик жараёнларнинг ўзгариши ва унинг парчаланиши жараёнларининг фаоллашиши билан бирга кечди, бу ҳайвонларнинг қон зардобидаги тегишли метаболитлар таркибидаги ўзгаришларида намоён бўлди.

**Калим сўзлар.** Қандли диабет, каламуш, коллаген, аллоксан.

**Abstract.** According to the International Diabetes Federation (IDF), by 2045 a sharp increase (46% relative to the present) in the number of patients with diabetes in the world is expected. The purpose of the work was to study the content of collagen metabolic products in the blood serum of rats with experimental alloxan diabetes. The formation of alloxan diabetes in rats in our experiment was accompanied by inhibition of synthetic processes in bone tissue and activation of its breakdown processes, which was reflected in changes in the content of the corresponding metabolites in the blood serum of animals.

**Key words.** Diabetes, rat, collagen, alloxan.

**Актуальность.** Сахарный диабет (СД) на сегодняшний день является одной из главных проблем практического здравоохранения в связи с неуклонным увеличением числа заболеваний, приводящих к инвалидизации и смертности населения от сердечно-сосудистых заболеваний. По данным Международной Федерации Диабета (International Diabetes Federation, IDF), к 2045 году

ожидается резкий рост (на 46% относительно настоящего) количества пациентов с СД в мире [3].

Активация патологических процессов при СД приводит к изменению функционирования как отдельных органов и систем, так и организма в целом [5]. К настоящему времени известно, что причиной развития ряда метаболических нарушений могут послужить следующие факторы: повышенное содержание глюкозы в крови [4;11],

недостаточность инсулина [7], активация реакций окислительного и карбонильного стресса с накоплением продуктов обмена [8].

По данным литературы, к наибольшему числу хронических осложнений СД относят различные типы диабетической остеопатии, которые увеличивают риск инвалидизации больных СД [6]. В нормальных условиях здорового организма костная ткань подвергается процессу ремоделирования на протяжении всего функционирования. Воздействие патологических факторов может привести к разобщению синтетических и деструктивных процессов в костной ткани и вместе с тем усилить адаптационные механизмы, одним из основных участников которых является коллаген [10]. По данным литературы, содержание коллагена в костной ткани составляет порядка 90% от всех содержащихся в ней белков [9]. Основная его функция заключается в формировании каркаса и поддержании структуры костной ткани [1].

**Цель работы:** изучить содержание продуктов обмена коллагена в сыворотке крови крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом.

**Материал и методы.** Эксперимент проводили на 40 белых крысах-самцах массой 200-250г., содержащихся в стандартных условиях вивария с беспрепятственным доступом к воде и еде. Работу выполняли в соответствии с требованиями гуманного обращения с животными.

Моделирование экспериментального СД осуществляли путем введения экспериментальным животным аллоксана тетрагидрата (ООО «Sigma-Aldrich», США) подкожно, выбранная доза введения составляла 170 мг / 1 кг массы тела крысы [5]. Контрольной группе крыс вводили аналогичный объем физиологического раствора. Изучение интересующих нас показателей проводили на 7-й, 14-й, 21-й и 28-й день эксперимента.

В указанные дни экспериментальных животных выводили из опыта путем декапитации под кратковременным эфирным наркозом натошак [2]. Сыворотку крови получали после центрифугирования пробирок с цельной кровью при скорости 3000 оборотов в минуту. В сыворотке крови изучали следующие показатели:

- концентрацию глюкозы в сыворотке крови, определяли на биохимическом автоматическом анализаторе Merilyzer AutoQuant 100i (Индия) реактивами компании Human (Германия), выражали в миллимолях на 1 литр плазмы (ммоль/л);

- уровень гликозилированного гемоглобина (HbA1c) (гликогемоглобина) в цельной крови крыс («Nycocard-HbA1c») выражали в процентах от общего гемоглобина;

- уровень С-концевых телопептидов ( $\beta$ -CrossLaps, ИФА, ELISA Kit for Beta-Crosslaps), выражали в пикограммах на миллилитр (пг/мл);

- уровень аминотерминальных пропептидов проколлагена I типа (PINP, ИФА, ELISA Kit for Procollagen I N-Terminal Propeptide), выражали в нанogramмах на миллилитр сыворотки крови (нг/мл).

Статистическую обработку результатов проводили в программе Statistica 10.0 с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, поскольку результаты не соответствовали нормальному распределению Гаусса. Результаты представляли в виде медианы (Me) и квартиля. Уровень статистической значимости был выбран менее 0,05.

**Результаты и обсуждение.** Согласно результатам эксперимента, наблюдалось увеличение уровня глюкозы и гликогемоглобина, что может свидетельствовать о формировании СД у крыс в изучаемых условиях эксперимента (табл. 1).

**Таблица 1.** Биохимические показатели в сыворотке крови аллоксан-индуцированных крыс

Показатель	Контроль (n=8)	День эксперимента			
		7-й (n=8)	14-й (n=8)	21-й (n=8)	28-й (n=8)
Глюкоза, ммоль/л	6,25 [5,23;6,59]	8,3* [7,45;9,31]	8,94* [8,11;9,58]	7,92 [7,09;8,94]	9,95* [8,84;10,85]
HbA1c, %	4,12 [3,83;4,58]	4,82 [4,44;5,9]	6,16* [5,35;6,52]	6,33* [5,81;6,76]	5,91* [5,42;6,13]

*Примечание:* \* -  $p < 0,05$  относительно контроля; n-количество крыс.

**Таблица 2.** Показатели обмена коллагена в сыворотке крови аллоксан-индуцированных крыс

Показатель	Контроль (n=8)	День эксперимента			
		7-й (n=8)	14-й (n=8)	21-й (n=8)	28-й (n=8)
$\beta$ -CrossLaps, пг/мл	57,7 [50,05;63,2]	63,5 [60,45;66,33]	79,8* [74,5;81,8]	88,8* [79,5;95,45]	106,2* [100,5;109,7]
PINP, нг/мл	28,2 [26,98;28,7]	25,1 [22,75;27,5]	21,7 [18,28;27,65]	19,9* [16,4;25,02]	16,9* [14,15;20,3]

*Примечание:* \* -  $p < 0,05$  относительно контроля; n-количество крыс.

В ранее проведенных исследованиях было показано, что процесс реструктурирования и ремоделирования костной ткани может быть оценен с помощью соответствующих маркеров резорбции и синтеза коллагена [8]. На сегодняшний день в практической и научно-исследовательской деятельности изучают уровень концевых телопептидов коллагена I типа. Выделяют 2 типа телопептидов: аминотерминальные (N-концевые, PINP) и карбокситерминальные (C-концевые,  $\beta$ -Crosslaps) телопептиды. В соответствии с литературными данными, в составе C-концевого телопептида присутствует альфа-форма аминокислоты аспарат, которая по истечении времени преобразуется в бета-форму ( $\beta$ -Crosslaps). При активации резорбции и деструкции костной ткани содержание  $\beta$ -Crosslaps в крови возрастает, что может послужить маркером катаболических процессов коллагена I типа. Наоборот, на усиление процессов синтеза коллагена остеобластами, в том числе в костной ткани, может указать повышение в крови уровня специфического маркера данного процесса - PINP [13].

Показатели обмена коллагена в сыворотке крови в нашем эксперименте продемонстрировали однонаправленность процесса общего метаболизма коллагена. Так, наблюдалось возрастание уровня  $\beta$ -CrossLaps на 38,3%, 53,9% и 84,1% относительно контроля, начиная с 14-го дня, далее на 21-й день и к окончанию эксперимента соответственно ( $p < 0,05$ ). Наблюдаемая динамика может свидетельствовать об усилении распада коллагена в ходе эксперимента при формировании экспериментального СД (табл. 2).

Согласно обозначенным в таблице данным, уровень PINP снижался, начиная с 21-го дня на 41,7% ( $p < 0,05$ ) и на 66,9% ( $p < 0,05$ ) на 28-й день по сравнению с контрольной группой крыс, что может указывать на ослабление синтетической активности клеток соединительной ткани в образовании коллагеновых волокон.

Таким образом, полученные в ходе эксперимента данные показывают на преобладание процессов резорбции в костной ткани, что может быть обусловлено формированием гипергликемии в созданных нами экспериментальных условиях моделирования СД. Известно, что повышенное содержание глюкозы в крови негативно влияет на активность остеобластов, понижая тем самым синтез коллагеновых волокон [12]. Помимо этого, гипергликемия может явиться причиной увеличения скорости процессов неферментативного гликозилирования с последующим накоплением продуктов гликирования, в частности, белковых молекул, что послужит фактором стимуляции остеокластогенеза и спровоцирует катаболизм костной ткани с высвобождением продуктов ее распада.

**Заключение.** Формирование аллоксанового диабета у крыс в нашем эксперименте сопровождалось угнетением синтетических процессов в костной ткани и активацией процессов ее распада, что отразилось в изменении содержания соответствующих метаболитов в сыворотке крови животных. Наблюдаемые изменения, вероятно, явились следствием деструктивных процессов в костной ткани, что в последующем может способствовать снижению уровня коллагена – основного белка костной ткани - и привести к нарушению ее структурной и функциональной целостности.

#### Литература:

1. Борзых О.Б., Шнайдер Н.А., Карпова Е.И., Петрова М.М., Демина О.М., Насырова Р.Ф. Синтез коллагена в коже, его функциональные и структурные особенности // Медицинский вестник Северного Кавказа. 2021. №4.
2. Гилева О.Г. Биохимические маркеры повреждения печени при фруктозоиндуцированной диете у крыс // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, 2020, Т.23, №9.
3. Динамика клинко-эпидемиологических показателей сахарного диабета в Российской Федерации в 2018-2022 гг / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, О. К. Викулова [и др.] // Персонализированная медицина и практическое здравоохранение : сборник тезисов X (XXIX) Национального конгресса эндокринологов с международным участием, Москва, 23–26 мая 2023 года. – Москва: 2023. – С. 20-21.
4. Оценка показателей углеводного и липидного обмена у крыс в зависимости от вида высококалорийного питания / О. Г. Гилева, Е. Г. Бутолин, М. В. Терещенко, В. Г. Иванов // Ожирение и метаболизм. – 2022. – Т. 19, № 1. – С. 47-52.
5. Савинова Н.В., Данилова О.В., Бутолин Е.Г., Вяткин В.А. Обмен коллагена и содержание минеральных веществ в костной ткани животных с экспериментальным диабетом // Молекулярная медицина, 2020, Т.18, №2. – С.27-32.
6. Сахарный диабет: многообразие клинических форм / под ред. И.И. Дедова, М.В. Шестаковой – М.: МИА, 2016-224с.
7. Титов В.Н., Рожкова Т.А., Амелюшкина В.А. Клиническая биохимия гиперлипидемии и гипергликемии. Инсулин и метаболизм жирных кислот. Гипогликемическое действие гиполлипидемических препаратов // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. №3.
8. Чугунова Е. В. Параметры окислительного, карбонильного стрессов и их взаимосвязь с ранними маркерами повреждения почек у мужчин с сахарным диабетом 1 типа : специальность 14.03.03 "Патологическая физиология" :

диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Чугунова Елена Владимировна. – Иркутск, 2022. – 125 с.

9. Яременко О.Б., Анохина Г.А., Бурьянов А.А. Сустав. Хрящ. Коллаген // Травма. 2020. №4.

10.LLabre JE, Sroga GE, Tice MJL, Vashishth D. Induction and rescue of skeletal fragility in a high-fat diet mouse model of type 2 diabetes: An in vivo and in vitro approach. Bone. 2022 Mar; 156:116302.

11.Sh N. G. et al. The specifics of neuroanographic changes in the diagnosis of posthypoxic complications in children born in asphyxia //Colloquium-journal. – Голопристанський міськрайонний центр зайнятості, 2020. – №. 19 (71). – С. 6-7.

12.Shahen VA, Schindeler A, Rybchyn MS, Girgis CM et al. Rescue of high glucose impairment of cultured human osteoblasts using cinacalcet and parathyroid hormone. Calcif Tissue Int. 2023 Apr; 112(4):452-462.

13.Tanios M, Brickman B, Cage E, Abbas K, Smith C, Atallah M, Baroi S, Lecka-Czernik B. Diabetes and impaired fracture healing: a narrative review of recent literature. Curr Osteoporos Rep. 2022 Oct; 20(5):229-239.

14.Wang GX, Li JT, Cai FY et al. The correlation of two bone turnover markers with bone mineral density: a population-based cross-sectional study. // BMC Musculoskelet Disord. 2023 Aug 24; 24(1):675.

#### **ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА КОСТНОГО КОЛЛАГЕНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ АЛЛОКСАН- ИНДУЦИРОВАННЫХ КРЫС**

*Мирзаев А.К., Гилева О.Г., Юсупов Ш.А., Бутолин Е.Г., Халиков К.М.*

**Резюме.** По данным Международной Федерации Диабета (International Diabetes Federation, IDF), к 2045 году ожидается резкий рост (на 46% относительно настоящего) количества пациентов с СД в мире. Цель работы изучить содержание продуктов обмена коллагена в сыворотке крови крыс с экспериментальным аллоксановым диабетом. Формирование аллоксанового диабета у крыс в нашем эксперименте сопровождалось угнетением синтетических процессов в костной ткани и активацией процессов ее распада, что отразилось в изменении содержания соответствующих метаболитов в сыворотке крови животных.

**Ключевые слова.** Сахарный диабет, крыс, коллаген, аллоксан.