



Мирзаев Азиз Кахорович, Юсупов Шухрат Абдурасулович, Халиков Кахор Мирзаевич
Самарқанд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарқанд ш.

ОБМЕН КОЛЛАГЕНА В КОСТНОЙ ТКАНИ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

Мирзаев Азиз Кахорович, Юсупов Шухрат Абдурасулович, Халиков Кахор Мирзаевич
Самарқандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарқанд

COLLAGEN METABOLISM IN BONE TISSUE IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

Mirzaev Aziz Kakhovich, Yusupov Shukhrat Abdurasulovich, Khalikov Kakhor Mirzaevich
Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: info@sammu.uz

Резюме. Қандли диабет (ҚД) - гипергликемия билан тавсифланган инсулин секрецияси, инсулин таъсиридаги нуқсон ёки ушбу иккала омил натижаси бўлган метаболик (моддалар алмашинуви) касалликлар гуруҳидир. ҚД даги сурункали гипергликемия турли органлардаги шикастланиш, дисфункция ва етишмовчиликлар ривожланиши билан биргаликда кечади. Турли орган ва тўқималарда 1-типдаги ҚДда кузатиладиган патогенетик феноменларни ўрганиш учун ушбу патологик ҳолатнинг турли хил моделлари таклиф этилган. 1-турдаги ҚДни моделлаштириш усулларида бири аллоксанни парентерал юборишидир. Ушбу мақолада диабетик остеопатия ривожланишининг патофизиологик жиҳатлари, ҚД кечишини мураккаблаштирувчи суяк тўқимасидаги патологик ўзгаришларнинг табиати кўриб чиқилади. Ишнинг мақсади суяк коллагени алмашинувидаги ўзгаришларни диабетик остеопатия ривожланишидаги патогенетик жиҳат сифатида ўрганишидир.

Калим сўзлар. Аллоксанли диабет, каламушлар, коллаген, компакт ва говак суяк тўқимаси, PINP, beta-CrossLaps, коллагенолитик ферментлар, гликирланган гемоглобин, гипергликемия.

Abstract. Diabetes mellitus (DM) is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia, which is the result of a defect in insulin secretion, the action of insulin, or both of these factors. Chronic hyperglycemia in diabetes is combined with damage, dysfunction and the development of insufficiency of various organs. To study the pathogenetic phenomena observed in type 1 diabetes in various organs and tissues, various models of this pathological condition have been proposed. One of the ways to model type 1 diabetes is parenteral administration of alloxan. This article examines the pathophysiological aspects of the development of diabetic osteopathy, the nature of pathological changes in bone tissue that complicate the course of diabetes. The purpose of the work is to study changes in bone collagen metabolism as a pathogenetic aspect in the development of diabetic

Keywords. Alloxan diabetes, rats, collagen, compact and spongy bone tissue, PINP, beta-CrossLaps, collagenolytic enzymes, glycated hemoglobin, hyperglycemia.

Долзарблиги. Қандли диабетнинг сурункали асоратларидан бири диабетик остеопатия бўлиб, у сезиларсиз даражадаги остеопороз билан бирга найчали суякларнинг ўз-ўзидан спонтан тарзда синишигача қадар намоён бўладиган патологиядир (13). Қандли диабет билан оғриган беморларда диабетик остеопатиянинг ривожланиш механизмлари етарли даражада ўрганилмаган (3). Шу билан бирга, остеопатия ривожланишининг патогенезида кўйидагилар аниқланди: а) инсулин етишмовчилиги оқибатида остеобластлар томонидан суякнинг органик ва ноорганик матрицасини ҳосил қилиш учун зарур бўлган коллаген ва ишқорий фосфатаза ишлаб чиқарилишининг пасайиши; б) билвосита, инсулинга ўхшаш ўсиш омиллари орқали, остеобластлар

стимуляциясининг пасайиши; с) гликирланиш маҳсулотларининг тўпланиши натижасида остеокластлар томонидан суяк тўқималари резорбциясининг ошиши (1).

Қандли диабет билан оғриган беморларда суяк метаболизмини акс этувчи биокимёвий маркерлар фаоллиги сезиларли даражада ўзгаради. Масалан, 1 – типдаги суяк коллагенининг синтези сезиларли даражада пасаяди, коллаген кўндаланг толаларининг ҳосилалари, суяк ва тоғай тўқимаси учун специфик бўлган - пиридинолин ва дезоксипиридинолин, шунингдек фақат коллаген оксилларида учрайдиган гидроксипролин аминокислотаси сийдик билан интенсив равишда чиқарилади (9). Экспериментал диабет тадқиқотларида ҳам худди шундай натижалар

кайд этилган (8). Бироқ, гидроксипролин нафақат суяк коллагенининг, балки бошқа тўқималарда локализация қилинган коллагеннинг парчаланиши пайтида ҳам ҳосил бўлишини ҳисобга олиш керак. Шундай қилиб, гидроксипролин миқдорининг ўзгаришини суяклардаги метаболик силжишлар ривожланишининг билвосита белгиси сифатида қаралиши керак.

Суяк - доимий равишда янгилиниб турадиган тўқима бўлиб, унда узлуксиз равишда иккита асосий метаболик жараён мавжуд - суякнинг шаклланиши ва резорбцияси. Ушбу икки жараён билан боғлиқ бўлган моддалар суяк коллагенининг маркерлари сифатида қаралади (2, 4). Юқорида санаб ўтилган маркерлардан ташқари бундай маркерларга 1 - типдаги проколлагеннинг аминок ва карбокситерминал пропептидлари - суяк шаклланишининг маркерлари PINP ва P1CP ини ўз ичига олади. β -CrossLaps – суяк резорбцияси маркерлари: ўзаро кўндаланг боғлар билан боғланган 1-типдаги коллагеннинг аминок ва карбокситерминал телопептидлари (11, 14). Қандли диабет суяк тўқимасида асоратларининг тузалиши жуда кам учрайдиган ҳолатларнинг ривожланишига олиб келиши мумкин; остеопатиянинг патогенетик механизмларини, шу жумладан экспериментал моделларини ўрганишни келгусида янада кенгрок ўрганишиш талаб этилади

Лаборатория ҳайвонларида экспериментал диабетнинг моделлари хилма-хил бўлиб уларнинг ичида аллоксан модели тадқиқотларда кенг қўлланилади. Қўплаб тадқиқотлар шуни кўрсатдики, каламушларда аллоксанни қўллаш инсулинга боғлиқ қандли диабетга ўхшаш ҳолатни келтириб чиқаради: доимий гипергликемия ва гипоинсулинемия (15, 1).

Тадқиқотнинг мақсади. Суяк коллагени алмашинувидаги ўзгаришларни диабетик остеопатия ривожланишидаги патогенетик жиҳат сифатида ўрганишдир.

Тадқиқот материал ва усуллари. Тажрибалар Хелсинки декларациясида (2000) белгиланган ҳайвонларга инсоний муносабатда бўлиш тамойилларига риоя қилган ҳолда оғирлиги 180-220 грамм бўлган 48 та оқ зотсиз эркак каламушларда ўтказилди. Ҳайвонлар сувдан эркин фойдаланиш имкониятига эга бўлган виварийнинг стандарт рационидида сакланди.

Тажриба гуруҳи каламушларида (38 та ҳайвон) қандли диабет тана вазиига 170 мг/кг дозада аллоксан тетрагидратни (Sigma-Aldrich, АҚШ) тери остига бир маротаба юбориш йўли орқали чақирилди (5). Каламушлар қандли диабет касаллигига чалинганлиги кўйидаги кўрсаткичлар бўйича назорат қилинди: глюкозооксидаза усули билан қон плазмасидаги гликемия миқдори ва қондаги гликирланган гемоглобин миқдори (Nycocard Reader 11 рефлектотридаги Nycocard-HbA1c, АҚШ). Тадқиқотнинг 14 ва 28 кунлари ҳайвонлар қисқа муддатли эфир наркози остида экспериментдан чиқарилди. Тажриба давомида ҳайвонларнинг нобуд бўлиш даражаси 36% ни ташкил этди.

Компакт суяк (сон суяги диафизи) ва ғовак суяк (2-бел умуртқасининг танаси) тўқималари гомогенатларида кўйидагилар аниқланди: умумий коллаген миқдори (14), PINP (IFA, ELISA; Cloud-Clone Corp., АҚШ), бета-CrossLaps (IFA, ELISA; IDS SERUM

CrossLaps, Буюк Британия), E. Schalinatus модификациясидаги коллагенолитик ферментларнинг фаоллиги (КФ) (12). Умумий коллаген миқдорини 1 кг курук тўқима массасидаги гидроксипролиннинг миллимол (ммол/кг)даги концентрацияси, PINP ва beta-CrossLaps – 1 мл гомогенат усти суякклигига нисбатан пикограммда (пг/мл), КФ – соатига 1 г оксилда гидроксипролин микромолда (мкмол/г*с) ифодаланди. Олинган маълумотлар статистик таҳлилинини Stat Soft фирмасининг Statistica дастури тўплами ёрдамида амалга оширилди. Статистик таҳлил гуруҳларида медиана (Me) ва кватил оралиғи (25%; 75%) аниқланди. Гуруҳлар ўртасидаги фарқларнинг статистик аҳамияти Uilkokson-Mann – Uitni U -критерийси бўйича 0,05 критик даража билан баҳоланди.

Тадқиқот натижалари ва уларни муҳокамаси.

Аллоксанни ҳайвонларга юбориш гипергликемия ривожланиши ва гликирланган гемоглобин миқдорининг ошишига олиб келди. Хусусан, экспериментнинг 14-кунига келиб глюкоза ва гликирланган гемоглобин миқдори мос равишда 89,7% ($p=0,0004$) ва ва 25,3% ($p=0,0006$) га ошди; тадқиқотнинг 28-кунига келиб, ўрганилаётган кўрсаткичлар мос равишда 152,1% ($p=0,0001$) ва 148,8% ($p=0,001$) ни ташкил этди, ва юқоридаги кўрсаткичлар экспериментал ҳайвонларда диабет ривожланганлиги ҳақида далил бўлиб хизмат қилди. Коллаген метаболизмининг ҳолати маълум бир оксилнинг тўпланиши ва ушу оксил парчаланиши жараёнлари билан белгиланади. Суяк тўқималарида коллаген оксидада синтез жараёнларининг устунлигини умумий коллаген миқдори ва PINP даражасининг ошиши билан изохлаш мумкин (6, 11). Бириктирувчи тоқима асосий оксилнинг парчаланиш интенсивлигини b-CrossLaps контцентрацияси, коллагенолитик фаоллигининг ошиши (11, 14), ва умумий коллаген миқдорининг пасайиши (8) билан тавсифланади. Тадқиқотнинг 14-кунига келиб, сон суяги диафизи ва 2-бел умуртқаси танасида b-CrossLaps суяк коллагенининг резорбция маркери миқдори назорат гуруҳи билан солиштириганда мос равишда 0 дан 23,2 пг/мл гача ($p=0,0001$) ва 0 дан 62,25 пг/мл гача ($p=0,008$) кўтарилди. Тажрибанинг 28-кунига ўрганилаётган маркерларнинг миқдори пасайиб, мос равишда 17,5 пг/мл ($p=0,00004$) ва 32,5 пг/мл ($p=0,00002$) ни ташкил этди. Умумий коллаген кўрсаткичининг назоратга нисбатан сезиларли статистик ишончли фарқлари сон суяги диафизида ҳам, 2-бел умуртқасининг танасида ҳам қайд этилмади (1-жадвал).

PINP миқдоридидаги ўзгаришлар динамикаси аниқ бир йўналишда намоён бўлмаганлиги билан характерланди. Экспириментал диабетнинг 14-кунига ўрганилаётган кўрсаткичининг компакт суякда 0 дан 405,2 пг/мл гача ($p=0,0003$) ва трабекуляр суякда 30,5 дан 265,6 пг /мл гача ($p=0,0004$) сезиларли ўсиши қайд этилди. Умумий коллаген миқдори суяк тўқималарининг турига қараб мос равишда 9,6% ($p=0,04$) ва 16,8% ($p=0,03$) га ошиб, кейинчалик экспериментнинг 28-кунига келиб бошланғич концентрация кўрсаткичларига қайтди. Тажрибанинг 28-кунига назорат гуруҳига нисбатан 2-бел умуртқасининг танасида суяк коллагени ҳосил бўлиш маркери бўлиши PINP нинг 47,6% ($p=0,01$) га камайиши қайд этилди.

Жадвал 1. Аллоксан диабетли каламушларда коллаген алмашинуви кўрсаткичлари, Меридиан [25%; 75%]

Кўрсаткич	Суюк тўқимаси тури	Назорат, (n=10)	Аллоксанли диабет, 14-кун, (n=8)	Аллоксанли диабет, 28-кун, (n=11)
β-CrossLaps (пг/мл)	Компакт	0 [0; 0]	23,2 [10,35; 29,6] p***=0,0001	17,5 [13,8; 20,5] p***=0,00004
	Ғовак	0 [0; 0]	62,25 [2,6; 134,3] p**=0,008	32,5 [26,4; 42] p***=0,00002
P1NP (пг/мл)	компакт	0 [0; 29,7]	405,2 [266,3; 531,7] p***=0,0003	23,5 [20,4; 50]
	Ғовак	30,5 [20,5; 41]	265,6 [151,6; 408,2] p***=0,0004	15,98 [3; 27,4] p*=0,01
Умумий коллаген (ммоль/кг)	компакт	118,99 [102,54; 122,6]	130,43 [122,2; 163,86] p*=0,04	123,57 [105,26; 139,8]
	Ғовак	102,54 [91,53; 121,5]	119,78 [115,21; 137,3] p*=0,03	101,65 [91,53; 114,41]
Колагенолитик фаоллик (мкмоль/г*соат)	компакт	0 [0; 0,15]	0 [0; 0,1216]	0,5508 [0,2358; 0,6356] p***=0,0004
	Ғовак	0 [0; 0,12]	0 [0; 0,1258]	0,1695 [0,1356; 0,4238] p**=0,005

Изох: комп. - компакт суюк тўқимаси; ғовак – ғовак суюк тўқимаси; n-назорат гуруҳига нисбатан фарқларнинг статистик кўрсаткичи.

Шу билан бирга, диабетда назорат гуруҳига нисбатан компакт суюкдаги P1NP миқдори бўйича сезиларли фарқлар аниқланмади (1-жадвал), бу трабекуляр суюкда суюк метаболизми фаолроқ амалга ошиши билан изохланади (2).

Суюк коллагени метаболизмида кузатиладиган ўзгаришларни кўйидагича изохлаш мумкин. Қандли диабетда суюк тўқималари шикастланиши патогенезида суюк резорбциясини кучайтирадиган глюкокортикоид гормонларининг кўплиги муҳим рол ўйнайди (10), бу эса суюк массасининг камайишига олиб келади. Бу β-CrossLaps миқдорини тажрибанинг 14 ва 28 кунларида кўпайиши асосий сабабчиси сифатида тушунтирилиши мумкин. Бошқа томондан, адабиётларга кўра, глюкокортикоидлар ичакдаги кальцийнинг сўрилишини камайтиради (7). Д витамини етишмовчилиги каламушларда остеобластлар сонининг кўпайишига ва шу сабабли суюк коллагени синтезининг тезлашишига олиб келади(4). Бу эса диабетнинг 14-кунда умумий коллаген миқдорини ўсишини тасдиқловчи эҳтимолий сабабдир.

Тажрибанинг 28-кунига келиб, суюк шаклланиши белгиси P1NP даражасининг пасайиши билан кечадиган анаболик жараёнларининг ингибирланишини аллоксан диабетда кузатиладиган гипоинсулинемия эҳтимолий сабабли инсулинга ўхшаш ўсиш омили 1 (13) нинг камайиши билан изохлашиши мумкин (15, 16).

Хулоса. Шундай қилиб, аллоксан-индуцирланган диабет суюк метаболизми кучайишини чақиради ва кўйидаги ўзгаришларга олиб келади: 1) экспериментнинг 14 ва 28 кузатув кунлари компакт ва ғовак суюк тўқимасида 1-турдаги коллагеннинг парчаланиш жараёнлари фаоллашади; 2) экспериментал диабетнинг 14-кунда трабекуляр ва компакт суюкдаги синтез жараёнларини тезлашиши, сўнгра тажрибанинг 28 - кунда ғовак суюк тўқимасида анаболизмни ингибирланиши билан алмашиши; 3) тажрибанинг 14-кунда суюк коллагенининг ҳам компакт, ҳам трабеку-

ляр суюкларда анаболик жараёнларнинг парчаланиш жараёнларидан устунлиги.

Адабиётлар:

1. Жолдошбеков Е.Ж., Жолдошев Б.Н., Мадумаров М.Г. Костно-суставные изменения при сахарном диабете // Вестник Кыргызско-Российского Славянского университета. – 2010. – Т. 10. №7. – С.133-136.
2. Камиллов Ф.Х., Фаршатов Е.Р., Меньшикова И.А., и др. Остеопороз: влияние химических факторов производственной среды на метаболизм костной ткани. – Уфа: Издательство «Мир печати». – 2015. – 311 с.
3. Мануленко В., Шишкин А.Н., Мазуренко С.О. Клинические особенности развития остеопатии у больных сахарным диабетом 2-го типа // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. «Медицина». – 2009. - №2. – С.7-13.
4. Л.М. Обухова, Е.И. Ерлыкина. Биохимия. Метаболические аспекты биохимии детского возраста: учебник. – Санкт-Петербург: СпецЛит, 2023 г. – С.353-373.
5. Пальчикова Н.А., Селятицкая В.Г., Шорин Ю.П. Количественная оценка чувствительности экспериментальных животных к диабетогенному действию аллоксана // Проблемы эндокринологии. — 1987. - №4. – С.65-68.
6. Побел Е.А., Бенгус Л.М., Дедух Н.В. Маркёры костного метаболизма при сращении переломов длинных костей // Остеопороз и остеопатии. – 2012. - №2. – С.25-32.
7. Порозовнюк В.В., Мазур И.П. Костная система и заболевания пародонта. – Киев, 2004. – 446 с.
8. 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

9. Слуцкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически изменённой соединительной ткани. – Ленинград: Медицина, 1969. – 376 с.
10. Ткач С.Н., Щербак А.В. Поражение костно-суставной системы при сахарном диабете // Клиническая медицина. – 1986. - №5. – С.21-26.
11. Торопцова Н.В., Никитинская О.А. Прогноз эффективности терапии с помощью биохимических маркёров костного метаболизма // Украинский ревматологический журнал. – 2011. – Т. 3. №45. – С.35-38.
12. Шараев П.Н., и др. Методы лабораторных исследований биополимеров соединительной ткани: учебное пособие. – Ижевск, 2009. – 44 с.
13. Шишкин А.Н., Мануленко В.Н. Диабетическая остеопатия // Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. «Медицина». – 2008. - №3. – С.70-79.
14. Gerdhem P., et al. Biochemical markers of bone metabolism and prediction of fracture in elderly women // J. Bone Miner Res. – 2004. – Vol.19. №3. – P.386-393. doi: 10.1359/JBMR.0301244
15. Rizaev J. A., Rizaev E. A., Akhmadaliev N. N. Current View of the Problem: A New Approach to Covid-19 Treatment // Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology. – 2020. – Т. 14. – №. 4.
16. Rizaev J. A. et al. Oncoepidemiological assessment of the incidence and mortality of prostate cancer for the period 2015-2020 in the cross section of the Republic of Uzbekistan and individual regions // Open Access Repository. – 2023. – Т. 4. – №. 3. – С. 1108-1113.

ОБМЕН КОЛЛАГЕНА В КОСТНОЙ ТКАНИ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИАБЕТОМ

Мирзаев А.К., Юсупов Ш.А., Халиков К.М.

Резюме. Сахарный диабет (СД) – группа метаболических (обменных) заболеваний, характеризующихся гипергликемией, которая является результатом дефекта секреции инсулина, действия инсулина или обоих этих факторов. Хроническая гипергликемия при диабете сочетается с повреждением, дисфункцией и развитием недостаточности различных органов. Для изучения патогенетических феноменов, наблюдающихся при СД I типа в различных органах и тканях, предложены разнообразные модели этого патологического состояния. Одним из способов моделирования СД I типа является парентеральное введение аллоксана. В настоящей статье рассматривается патофизиологические аспекты развития диабетической остеопатии, природа патологических изменений в костной ткани, осложняющих течение СД. Целью работы является изучение изменений в обмене костного коллагена, как патогенетического аспекта в развитии диабетической остеопатии

Ключевые слова. Аллоксановый диабет, крысы, коллаген, компактная и губчатая костная ткань, PINP, бета-CrossLaps, коллагенолитические ферменты, гликированный гемоглобин, гипергликемия.