

**EKSPERIMENTAL DIABETDA NEYROTROFINLAR
YETISHMOVCHILIGINI - PROLIN O'Z ICHIGA OLGAN MODDALAR BILAN
TUZATISH**

Sherov Sherzod Abdurasulovich

Buxoro davlat tibbiyot instituti

Biokimyo kafedrasasi assistenti

sherov.1990@bk.ru

Annotatsiya: *Xalqaro qandli diabet federatsiyasi (IDF) ma'lumotlariga ko'ra, hozir dunyoda ushbu kasallikka chalinganlar soni 400 milliondan oshadi va 2035 yilga borib ularning soni 592 millionga ko'tariladi. QD-2 ning asosiy patogenetik omillari orasida insulin retseptorlari sezgirligining pasayishi neyrotrofik omillar NGF va BDNF yetishmovchiligi bilan birga keladi, bu esa oshqozon osti bezi insulin ishlab chiqaradigan β - hujayralarning proliferatsiyasining pasayishiga va apoptozning kuchayishiga olib keladi. NGF trofik omil bo'lib, nafaqat neyronlarning, balki endokrin tizim hujayralarining rivojlanishi va omon qolishida muhim rol o'ynaydi.*

Kalit so'zlar: *shqozon osti bezi β -hujayralari NGFni sintez qiladi va ajratadi, bu mavjud β -hujayralar va ularning neogenezini nafaqat homila va neonatal davrlarda, balki kattalar tanasida ham qo'llab-quvvatlaydi.*

BDNF oshqozon osti bezi hujayralarining rivojlanishi va omon qolishini nazorat qilishda muhim rol o'ynaydigan yana bir neyrotrofik omildir. Ushbu neyrotrofinlarning oshqozon osti bezi β - hujayralariga ta'siri yuqori yaqinlikdagi TRK retseptorlari orqali amalga oshiriladi. Retseptorlar bilan bog'lanish, NGF va BDNF mos ravishda TRKA va TRKB retseptorlaridagi tirozin qoldiqlarining fosforillanishini keltirib chiqaradi, bunda β - hujayralarning omon qolishini qo'llab-quvvatlovchi transduksiya kaskadi va transkripsiya omillari CREB va CBP ishtirok etadi.

β -hujayralar va neyronlarning funktsiyalarini tartibga soluvchi mexanizmlarning o'xshashligi ma'lum. Bu xususiyatlar insulin ishlab chiqaradigan hujayralarning neyronga o'xshash differentsiatsiyasi va ularning elektr qo'zg'aluvchanligi, retseptorlari yoki shunga o'xshash transmitterlarning mavjudligi, xususan GAMK, serotonin va glutamat kabi xususiyatlarni o'z ichiga oladi. , bir xil signal molekulalari va transkripsiya omillari, xususan GSK-3 va HIF. Shu bilan birga, ushbu tizimlarning funktsiyalarini tartibga soluvchi mexanizmlarning o'xshashligining eng muhim namoyon bo'lishi neyron va β -hujayralarning o'sishi va farqlanishida o'xshash neyrotrofik omillar, NGF va BDNF ishtirokidir. Shuni ta'kidlash kerakki, diabetda ham, neyrodegenerativ kasalliklarda ham ushbu omillarning yetishmasligi oksidlovchi va nitrozativ stress bilan chambarchas bog'liq. Ushbu ikkala patologiya turiga xos bo'lgan peroksinitritning to'planishi proteolitik ferment matritsasi metalloproteinaza-7 faolligini pasaytiradi, bu pro-NGF va pro-BDNF ni ushbu neyrotrofinlarning tegishli yetuk shakllariga aylantirish vositachiligini amalga oshiradi, bu esa ortiqcha miqdorga olib keladi. ularning yetuk shakllaridan farqli o'laroq, proapoptotik

ta'sirga ega bo'lgan prekursorlari. Proneyrotrofinlarning zararli ta'siri ikkala neyron va oshqozon osti bezi β -hujayralari bilan bog'liq holda ko'rsatildi. Umuman olganda, bu omillar neyrotrofik jarayonlarning intensivligini va oksidlovchi stressning zo'ravonligini oshiradigan neyroprotektiv moddalarning diabetga qarshi faolligini o'rganish zarurligi haqida birinchi ko'rsatma berishga imkon berdi.

Ushbu tadqiqotlar prolin o'z ichiga olgan dipeptid noopeptni (N-fenilasetil-L-prolilglitsinning etil efiri) - tibbiyotda keng qo'llanilgan asl dori bo'yicha tadqiqotlar bilan boshlandi. kranioserebral travma, surunkali miya qon tomirlari yetishmovchiligi, insultdan keyingi holatlar va Altsgeymerdan oldingi yengil kognitiv buzilishlarning oqibatlarini tashkil etuvchi xotira, diqqat va boshqa kognitiv funktsiyalarning buzilishlarini tuzatish uchun .

–Nootropik xususiyatlardan tashqari, noopept in vivo va in vivo tajribalarida sezilarli neyroprotektiv ta'sirga ega ekanligi ko'rsatilgan–. Noopeptning miya tuzilmalarida neyrotrofinlar ifodasini kuchaytirish qobiliyati bu ta'sirlarni vositachilik qilishda muhim rol o'ynaydi va noopeptning neyrotrofik omillarning ifodalanishiga mintaqaga xos ta'siri borligi aniqlandi . Bu o'sish kognitiv jarayonlarni tartibga solishda muhim rol o'ynashi ma'lum bo'lgan gippokampda, shuningdek, glyukoza va insulinga sezgir hujayralarni o'z ichiga olgan gipotalamusda eng katta ekanligi aniqlandi. Barcha miya shakllanishlari ichida gipotalamus yadrolari uglevod almashinuvini tartibga solishda eng muhim rol o'ynaydi. Ham in vivo, ham in vitro tajribalari noopeptning pro- va tioksidant tizimlar nisbatini ikkinchisining ustunligiga qarab o'zgartirish qobiliyatini aniqladi. Ushbu umumiy ma'lumotlarga asoslanib, biz noopeptning diabetning streptozototsin (STZ) modeliga ta'sirini o'rgandik. Noopept ushbu diabetogen toksin tomonidan qo'zg'atilgan giperglikemiya va gipoinsulinemiya [7] darajasini susaytirishi, diabetga xos bo'lgan oksidlovchi va nitrozativ stress belgilarini yo'qotishi [9] va sitoprotektiv ta'sirga ega bo'lib, –uning uyquchanligini to'liq tiklaydi. oshqozon osti bezi β - hujayralari va ularning insulin ishlab chiqarish funktsiyasi [7].

Ushbu tadqiqotning bir qismi bo'lgan ushbu ishning maqsadi noopeptning oshqozon osti bezidagi NGF va BDNF tarkibiga ta'sirini o'rganish edi. Ushbu ikkala neyrotrofik omillar va ularga mos keladigan retseptorlari ham jigarda mavjud bo'lganligi sababli [17] va diabetning kechishi sezilarli darajada –ushbu organdagi metabolizm holatiga bog'liq [40], NGF va BDNF tarkibi ham taxmin qilingan. jigar to'qimalarida.

Usullari. Hayvonlar. Tajribalar Federal Tibbiyot Biologiya Agentligi Stolbovayadan olingan boshlang'ich vazni 350-380 g bo'lgan 28 ta erkak Wistar kalamushlarida o'tkazildi . Hayvonlar hayvonlarning uy sharoitida oziq-ovqat va suvdan erkin foydalanish imkoniyatiga ega bo'lgan (12 ot kuchiga ega bo'lgan STZ ma'muriyatidan tashqari, hayvonlar oziq- ovqatdan mahrum bo'lgan, suvdan doimiy foydalanish bilan) saqlangan. Kalamushlar bo'yicha tadqiqotlar Evropa hamjamiyatining (86/609/EEC) direktivalarida bayon qilingan hayvonlarga insonparvar munosabatda bo'lishning axloqiy qoidalariga muvofiq amalga oshirildi.

Moddalar. Streptozotsinning diabetogen toksini (STZ) 40 mg / kg dozada berilgan, bu avvalgi ma'lumotlarga ko'ra, 2-toifa diabet [7]. Noopept iv 0,5 mg/kg dozada berildi, bunda bu preparat oldingi tajribalarda ham neyroprotektiv [32], ham diabetga qarshi [7] faollik nuqtai nazaridan faollik ko'rsatdi.

Ekspirimental dizayn. Tajribalar ikki bosqichda o'tkazildi. Birinchi bosqichda tajribalar har birida ettita kalamushdan iborat to'rtta kalamush guruhida o'tkazildi. 1-rasmda ko'rsatilgan sxemadan kelib chiqqan holda, 1-guruhning kalamushlari (1-tajriba guruhi) 0,9% natriy xlorid eritmasi (fiziologik sho'r suv, PS) oldi va keyingi 14 kun davomida 0,5 mg / kg ip dozasida noopept; 2-guruhning kalamushlari (passiv nazorat) 15 kun davomida PS oldi; 3 (faol nazorat) va 4 (eksperimental guruh 2) guruh kalamushlari 1-tajriba kunida 40 mg/kg dozada IP STZ ni oldilar. Keyin faol nazorat guruhidagi kalamushlar 14 kun davomida PS qabul qildilar, eksperimental guruhlar esa 1 va 2 xuddi shu davr uchun 0,5 mg / kg ip dozasida noopept oldi. Noopeptning glikemiyaga "keyin ta'siri" borligini ko'rsatadigan oldingi ma'lumotlarimizni [7] inobatga olgan holda, bu erda o'rganilgan biokimyoviy choralarga preparatning mumkin bo'lgan keyingi ta'sirini aniqlash uchun noopeptni qabul qilish tugaganidan 14 kun o'tgach hayvonlarni qurbon qilish kerak edi (1-guruhlar). va 4) yoki PS ma'muriyati (2 va 3-guruhlar). Sichqonlarning quyruq venasi qonida glyukoza miqdorini tahlil qilish tajriba boshlanganidan 3, 14 va 28 kun o'tgach, One Touch Ultra (AQSh) glyukometr yordamida amalga oshirildi.

Tadqiqotning ikkinchi bosqichi oxirgi qon to'planganidan keyin (28-kun) boshlandi va uchta kalamush guruhini (2, 3 va 4-guruhlarni) o'z ichiga oldi, chunki birinchi bosqich sog'lom hayvonlarga berilgan noopept qon shakarini yoki qon shakarini o'zgartirmasligini ko'rsatdi. vazn o'zgarishi dinamikasi. Sichqonlarda BDNF va NGF darajalari oshqozon osti bezi va jigarni dekapitatsiya qilish va yig'ib olishdan keyin aniqlandi.

Oshqozon osti bezi va jigarda NGF va BDNF tarkibini tahlil qilish usuli. Noopeptning oshqozon osti bezi va jigardagi BDNF va NGF tarkibiga ta'siri BDNF va NGF (Santa Kruz Biotexnologiyasi) ga birlamchi monoklonal antikorlar yordamida bir kechada +4°C da 1:1000 nisbatda suyultirilgan western blotting [44] orqali baholandi. 0,5% (w/v) yog'sizlangan sutni o'z ichiga olgan TBS-T buferi (1% Tween-20 bilan to'ldirilgan) bilan yuvilgandan so'ng, membranalar xren bilan konjugatsiyalangan ikkilamchi echki quyonga qarshi IgG antikorlari (Santa Cruz Biotechnology) ishtirokida inkubatsiya qilindi. peroksidaza (1:1000 nisbatda suyultirilgan) 1 soat. Ikkilamchi antikorlarni olib tashlash uchun 0,5% (w/v) yog'sizlangan sutni o'z ichiga olgan TBS-T buferida yuvilgandan so'ng, oqsil Uvitec (Buyuk Britaniya) jel hujjatlari tizimidan foydalangan holda ECL reagentlari (Santa Cruz Biotechnology) bilan reaksiya orqali aniqlandi. Olingan tasvirlarning densitometriyasi GIMP2 dasturi yordamida amalga oshirildi.

Statistik ishlov berish. Ekspirimental natijalar Biostat 2009 da qayta ishlandi. Guruhlar orasidagi sezilarli farqlar parametrik bo'lmagan Mann-Whitney U testidan foydalangan holda barcha qiymatlar uchun aniqlandi. Ma'lumotlar o'rtacha qiymatlar va o'rtacha standart xatolar (o'rtacha ± SEM) sifatida taqdim etiladi.

Guruhlardagi glikemiya dinamikasi antihiperглиsemik faollik koeffitsientini hisoblash orqali o'rganildi:

$$Ah = [gl.STZ - gl.(STZ + Noopept)] / (gl.STZ - gl.PS) - 100\%$$

Bu erda gl.STZ - faol nazorat guruhidagi qon glyukozasi, gl.(STZ + Noopept) - tajriba guruhidagi qon glyukozasi, gl.PS - passiv nazorat guruhidagi qon glyukozasi.

Natijalar. Noopeptning qon shakar darajasiga ta'siri. 2-rasmda keltirilgan ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, noopeptni buzilmagan kalamushlarga qo'llash qon glyukozasida hech qanday o'zgarishga olib kelmadi. STZ qabul qilinganidan keyin to'rt kun o'tgach, faol nazorat guruhi qon shakarining sezilarli o'sishini ko'rsatdi. Giperglikemiya darajasi STZ qo'llanganidan keyin dastlabki 14 kun ichida o'sishda davom etdi, keyingi 14 kun ichida esa passiv nazorat guruhiga qaraganda yuqoriroq bo'lsa-da, biroz pasayish kuzatildi. Oldingi ma'lumotlarga to'liq mos ravishda $\bar{\neg}$, hozirgi tajribalar shuni ko'rsatdiki, diabetik kalamushlarga uch kunlik qabul qilinganidan so'ng noopept giperglikemiyaning og'irligini kamaytirdi. Noopeptning antihiperglisemik ta'siri preparatni qo'llashdan 14 kun o'tgach bir xil darajada saqlanib qoldi (hisoblangan Ah koeffitsienti tajribaning 4-kunida 66,4% va 14-kunida 63,2% edi). Shuni ta'kidlash kerakki, noopeptning antihiperglisemik ta'siri nafaqat qabul qilish to'xtatilganidan so'ng davom etdi, balki hatto ortdi (preparatni qo'llash to'xtatilganidan keyin 14 kun o'tgach Ah koeffitsienti 85,5% ni tashkil etdi). Shuni ta'kidlash kerakki, noopept faqat giperglikemiya mavjud bo'lganda qon glyukoza darajasini pasaytiradi, sog'lom hayvonlarda hech qanday o'zgarish bo'lmaydi.

NGF va BDNF tarkibini eksperimental guruhda noopept yoki faol nazorat guruhida fiziologik sho'r suv qo'llash tugagandan keyin ikki hafta o'tgach, oshqozon osti bezi va jigarda western blot tahlili bilan aniqlash quyidagi o'zgarishlarni aniqladi. STZni qo'llash oshqozon osti bezi va jigarda neyrotrofik omillarning tarkibini sezilarli darajada pasayishiga olib keldi. Oshqozon osti bezi va jigarda NGF darajasi nazorat bilan solishtirganda mos ravishda 59% va 33% ga kamaydi. Jigar va oshqozon osti bezidagi BDNF tarkibi diabetogen toksinni -qabul qilgandan keyin passiv nazorat darajasidan mos ravishda 40% va 30% ga kamaydi. Noopept me'da osti bezidagi NGFning kamayish darajasini sezilarli darajada kamaytirdi, fiziologik sho'rlangan qandli kalamushlar darajasiga nisbatan uni 48% ga oshirdi (3-rasm, A), jigarda esa uning miqdori passiv bilan solishtirganda hatto oshdi. nazorat guruhi, 19% ga (3-rasm, B).

BDNFga kelsak, noopept bilan davolash oshqozon osti bezidagi ushbu trofik omilning tarkibini normallashtirdi (4-rasm, A), ammo diabetik kalamushlarning jigarida BDNF tanqisligini zaiflashtirmadi (4-rasm, B).

Munozara. Eng ko'p ishlatiladigan diabetogen toksinlar streptozotsin (STZ) va alloksandir. STZ ni diabetogen toksin sifatida tanlashimiz uning diabetogen ta'sirining yaxshi takrorlanishiga va uning terapevtik kengligining kattaligiga asoslangan edi [42]. STZ ni 60-

70 mg/kg dozada qo'llash $\bar{\neg}$ 1-toifa diabetga xos bo'lgan insulin darajasining chuqur va qaytarilmas pasayishiga olib kelishi ma'lum. Bizning tajribalarimga ko'ra, STZ 40 mg / kg dozada berilgan, Wistar kalamushlarida o'tkazilgan oldingi tajribalar insulin darajasining 48% ga kamayganini ko'rsatdi, bu 2-toifa diabetning ko'payishini tasdiqladi [7]. STZni qo'llash diabetning translyatsion modelini yaratish sifatida qayta ko'rib chiqilishi mumkin, chunki bu toksin nafaqat qand miqdorining oshishiga va qonda sulin miqdorining pasayishiga olib keladi, balki diabetga xos bo'lgan oksidlovchi va nitrozativ stressni ham keltirib chiqaradi [10]. Ushbu tadqiqotda va bir qator boshqa hisobotlarda [41] tasvirlangan maqsadli organlarda - oshqozon osti bezi va jigarda NGF va BDNF tarkibining kamayishi bu fikrga qo'shimcha dalildir, chunki adabiyotlardan ma'lumki, 2-toifa qandli diabet. NGF [46, 48] va

BDNF [27, 49] hosil bo'lishi va qonga chiqarilishining kamayishi tufayli proliferatsiyaning sekinlashishi va / yoki apoptozning kuchayishi.

Ushbu tadqiqot nafaqat oldingi tadqiqotlarimizda tasvirlangan noopeptning gipoglikemik ta'sirini takrorladi, balki noopept diabetga xos bo'lgan oshqozon osti bezida NGF va BDNF ning pasayishi darajasini sezilarli darajada zaiflashtiradigan birinchi namoyishni ham taqdim etdi. Jigarga kelsak, noopept nafaqat NGF tarkibini tiklamaydi, balki uni nazorat darajasidan ham oshiradi. Jigarda NGF ning noopept tufayli ko'payishi ushbu dipeptidning mumkin bo'lgan gepatoprotektiv ta'sirini keyingi tadqiqotlar uchun qiziqish uyg'otadi. Bizning oldingi ma'lumotlarimiz [9] noopeptning jigarda induksiyalangan NO sintaza faolligining STZ bilan bog'liq o'sishini bartaraf etish qobiliyatiga oid noopeptning ushbu xususiyatini o'rganishga qiziqishning qo'shimcha omili bo'lishi mumkin.

Nashr qilingan ma'lumotlardan ma'lumki, ekzogen tarzda berilgan NGF [48] va BDNF [45] p -hujayralarning morfogenezigiga va ularning insulin ishlab chiqarish funksiyasiga ijobiy ta'sir ko'rsatadi. NGF [19] va BDNF [29] ham ekzogen tarzda berilganda insulinotrop ta'sirga ega. BDNF va insulinga o'xshash o'sish omilining sinergik ta'siri gen transkripsiyasining kuchayishiga olib keladi, p -hujayralarning omon qolishiga yordam beradi va hujayra o'lim tizimining faolligini zaiflashtiradi [28]. BDNF ning sitoprotektiv ta'sirining to'g'ridan-to'g'ri dalillari in vitro tajribalarida olingan bo'lib, STZ insulin va RIN5F hujayralarining omon qolishini kamaytiradi, shu bilan birga muhitga 10-100 ng/ml konsentratsiyaga qo'shilgan BDNF diabetogen toksin ta'sirida p -ning pasayishini tiklaydi. -hujayralarning omon qolishi va ularning insulin ishlab chiqarish funksiyasi, shuningdek antioksidant tizimning faoliyati [15]. Umuman olganda, ushbu ma'lumotlar noopeptning antihiperглиsemik va sitoprotektiv ta'sirini ishlab chiqarish va buning natijasida STZ diabet modelida qondagi insulin darajasining normallashtirishi [7] ushbu dipeptidning ijobiy ta'sirida NGF va BDNF ni o'z ichiga olganligini ko'rsatishi mumkin. hozirgi tadqiqot. Ushbu taklif noopeptning diabetga qarshi ta'siri preparatni qo'llash to'xtatilgandan keyin kuchayishda davom etishini ko'rsatuvchi ma'lumotlarimizga zid emas, chunki oldingi tadqiqotlar NGF [37] va BDNF

[43] ning ta'siri bekor qilinganidan keyin ham davom etishini yoki hatto kuchayishini ko'rsatdi. bu moddalar.

Ushbu neyrotrofik omillarning etishmasligi sharoitida noopeptning NGF va BDNF-ning ijobiy ta'sirining mexanizmlariga kelsak, biz quyidagi taklifni berishimiz mumkin. Ma'lumki,

[21] diabetda HIF transkripsiya faktorining etishmasligi turli xil metabolik buzilishlarga javoban adaptiv jarayonlarni qo'zg'atadi, shu jumladan neyrotrofin sintezining faollashuvi va antioksidant tizimlarning faolligi darajasida tiklanishi tufayli. mitoxondrial apparat [22]. Giperglikemiya diabetdagi ushbu transkripsiya omilining barqarorligini buzishning muhim sababidir [18]. Qandli diabetda HIF tanqisligi glyukoza tashuvchilarning, xususan, glyukoza 80% gacha metabolizatsiya qiluvchi skelet mushaklari tomonidan glyukoza so'rilishini qo'llab-quvvatlaydigan Glut4 tarkibining pasayishiga olib keladi, shuning uchun Glut4 tanqisligi insulin qarshiligi darajasini oshiradi [38]. Ilgari aniqlangan [2] noopeptning HIF ifodasida selektiv o'sishini qo'zg'atish qobiliyati shuni ko'rsatadiki, bu o'sish noopeptning ko'p omilli diabetga qarshi ta'siri, shu jumladan oshqozon osti bezi va jigarda neyrotrofik jarayonlarning faollashuvi uchun tetik mexanizmlardan biri hisoblanadi .-

Biz ilgari ko'rsatgan edik [6], γ -noopeptning uzoq muddat qo'llanilishi gipotalamusdagi BDNF mRNK darajasining oshishiga olib keladi, BDNF va NGF oqsil mahsulotlarining kamroq o'sishiga olib keladi. Neyron va p -hujayra funktsiyalarini tartibga solish mexanizmlarining o'xshashligi haqidagi zamonaviy qarashlarga asoslanib, biz noopeptning oshqozon osti bezi va jigarda neyrotrofik omillar darajasining pasayishini bartaraf etish qobiliyatini taklif qilishimiz mumkin. Hozirgi tadqiqot va diabetga xos bo'lgan bu organlarda neyrotrofinlarning ko'payishi bilan bog'liq. Noopeptning bu erda kuzatilgan va qandli diabetga xos bo'lgan neyrotrofik omillar etishmovchiligini bartaraf etish qobiliyati ushbu dipeptidning birlamchi HIF-musbat ta'siri yoki ularning ekspressiyasiga bevosita ta'siri bilan bog'liqmi degan savol keyingi o'rganishni talab qiladi.

Umuman olganda, noopeptning Altsgey mer kasalligi (AD) ning hujayra modelida sitoprotektiv ta'sir ko'rsatish qobiliyati haqidagi oldingi ma'lumotlarimiz [31] va AD ning in vivo modelida neyrotrofik omillarning etishmasligini bartaraf etish [5] bir tomondan va Noopeptning p -hujayralarga nisbatan sitoprotektiv ta'siri to'g'risidagi ma'lumotlar [7] bu erda olingan ma'lumotlar bilan birgalikda oshqozon osti bezidagi neyrotrofik omil etishmovchiligidan noopept tomonidan tiklanishi to'g'risidagi ma'lumotlar tizimlardagi o'xshashlik uchun qo'shimcha dalil sifatida regaRDUD bo'lishi mumkin. neyron va oshqozon osti bezi funktsiyalarini tartibga solish. Neyronlar va oshqozon osti bezi P -hujayralarini sitoprotektiv himoya qilishning muhim umumiy mexanizmi AD va diabetga xos bo'lgan NGF va BDNF tanqisligini bartaraf etishdir.