

РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И БИОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОСТРОЙ СИСТЕМНОЙ ГИПОКСИИ

*Авезов А.У¹., Айтимова Г.Ю¹.,
Олимова М.М¹., Тангриберганова Н.Р¹.*

Ургенчский филиал Ташкентской медицинской академии¹

Аннотация. Проведенные исследования направлены на изучение изменений в эндокринной системе, особенно в тканях поджелудочной железы, связанных с острой системной гипоксией, и исследования базируются преимущественно на макроскопических, микроскопических, биохимических и молекулярно-биологических исследованиях. Из полученных результатов известно, что в случаях смерти от асфиксии наблюдалось большее количество субкап-сулярных или интерстициальных кровотечений, чем при других причинах смерти. Гистологические исследования показали, что случаи асфиксии сопровождаются серьезными морфологическими изменениями. Хотя уровни инсулина были выше при асфиксии по сравнению с другими причинами смерти, различий в уровнях глюкагона и амилазы в зависимости от причины смерти не отмечалось. Повышение уровня инсулина в крови не было связано с макро- и микро морфологическими изменениями и не имело корреляции с количеством глюкозы или кортизола. Клеточный гипоксический эксперимент показал, что экспрессия мРНК инсулина и уровни белка инсулина достигают максимума через 10 минут после воздействия гипоксии. Однако не было никаких изменений в уровнях мРНК амилазы или белков. Уровни кортикостерона достигли пика через 120 минут после воздействия гипоксии. В целом острая системная гипоксия может напрямую влиять на механизмы, связанные с секрецией инсулина поджелудочной железой.

Ключевые слова: гипоксия, уровень инсулина в крови, глюкоза в крови, определение кортизола, клеточная структура.

O'TKIR TIZIMLI GIPOKSIYA BILAN BOG'LIQ BOLGAN OSHQOZON OSTI BEZIDAGI MORFOLOGIK VA BIOKIMYOVIY TEKSHIRISH NATIJALARI

Annotatsiya. Olib borilgan tadqiqot o'tkir tizimli gipoksiya bilan bog'liq endokrin tizimdagi, ayniqsa oshqozon osti bezi to'qimalaridagi o'zgarishlarni o'rganishga qaratilgan bo'lib, tadqiqot asosan makroskopik, mikroskopik, biokimyoviy va molekulyar biologik tadqiqotlarga asoslangan. Olingan natijalardan ma'lumki, asfiksiya tufayli o'lim holatlari boshqa o'lim sabablariga nisbatan ko'proq subkapsulyar

yoki interstitsial qon ketishini ko'rsatdi. O'tkazilgan gistologik tekshirishlar asfiksiya holatlari jiddiy morfologik o'zgarishlar bilan bog'liq ekanligini ko'rsatdi. Asfiksiyada aniqlangan insulin miqdori boshqa o'lim sabablari bilan solishtirganda uning miqdori yuqori bo'lsa-da, o'lim sababi bo'yicha glyukagon va amilaza miqdorida farqlar qayd etilmagan. Qondagi insulin darajasining oshishi makro va mikromorfologik o'zgarishlar bilan bog'liq emas va glyukoza yoki kortizol miqdori bilan hech qanday bog'liqlikni ko'rsatmadi. Hujayralar darajasidagi gipoksik sharoitda o'tkazilgan tajriba shuni ko'rsatdiki, insulin mRNK ifodasi va insulin oqsili darajasi gipoksiya ta'siridan keyin 10 minutda eng yuqori darajaga yetdi. Biroq, amilaza mRNK yoki oqsil darajasida hech qanday o'zgarishlar bo'lmadi. Kortikosteron darajasi gipoksiyaga duchor bo'lganidan 120 daqiqadan keyin eng yuqori darajaga yetdi. Umuman olganda, o'tkir tizimli gipoksiya holatlari pankreatik insulin sekretsiyasi bilan bog'liq mexanizmlarga bevosita ta'sir qilishi mumkin.

Kalit so'zlar: gipoksiya, qondagi insulin miqdori, qondagi glyukoza, kortizolni aniqlash, hujayra tuzilishi

RESULTS OF MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL EXAMINATION OF PANCREAS ASSOCIATED WITH ACUTE SYSTEMIC HYPOXIA

Annotation. The conducted research is aimed at studying the changes in the endocrine system, especially in the tissues of the pancreas, related to acute systemic hypoxia, and the research is mainly based on macroscopic, microscopic, biochemical and molecular biological studies. From the obtained results, it is known that cases of death due to asphyxia showed more subcapsular or interstitial bleeding than other causes of death. Histological examinations showed that cases of asphyxia are associated with serious morphological changes. Although insulin levels were higher in asphyxia compared to other causes of death, differences in glucagon and amylase levels by cause of death were not noted. The increase in the level of insulin in the blood was not associated with macro and micromorphological changes and did not show any correlation with the amount of glucose or cortisol. A cellular hypoxic experiment showed that insulin mRNA expression and insulin protein levels peaked 10 min after exposure to hypoxia. However, there were no changes in amylase mRNA or protein levels. Corticosterone levels peaked 120 minutes after exposure to hypoxia. In general, acute systemic hypoxia may directly affect mechanisms related to pancreatic insulin secretion.

Key words: hypoxia, blood insulin level, blood glucose, cortisol determination, cellular structure.

Актуальность. Острая системная гипоксия, которое развивается в организме человека, обусловленная асфиксией и острой недостаточностью кровообращения вследствие сердечных заболеваний, существенно поражает различных органов. Эндокринные органы имеющие обширную сосудистую сеть, делает их чувствительным к системную гипоксию [1,2,3]. Гипоксическое состояние могут оказать морфологическите и функциональное воздействие на железы внутренних секреции и продукцию гормонов [4,5]. В то время как исследования оценивали патологию, вызванных острых системных гипоксией, мало исследований изучали влияние гипоксии на эндокринную систему [6,7]. В результате мы провели несколько исследований, направленным на изучение нарушений эндокринной системы, возникающие вследствие системной гипоксии [8,9,10]. В более раннем отчете мы обнаружили, что в крови и спинномозговом жидкости повышены уровни трийодтиронина и тироксина. Секреция щитовидной железы была высокой во время острых гипоксических состояний, независимо от каких-либо механических раздражителей, таких как сдавление шейки матки[8]. Также обнаружено увеличение транспорта пролактина гипофизом из крови в спинномозговую жидкость. Эта информация позволила нам сделать вывод, что гипофиз получает нервную стимуляцию в условиях гипоксии [9]. Изучив эти результаты, мы исследовали экзокринную и эндокринную функции поджелудочной железы после лечения острой гипоксии и нашли очень мало литературы. Наша группа продолжила изучение того, как поджелудочная железа реагирует на системную гипоксию. В этом случае наблюдали, что происходит интерстициальное кровоизлияние, а уровни амилазы в сыворотке имеют тенденцию превышать клинический референтный диапазон; который не отличался от уровней, наблюдаемых при других причинах смерти [10]. В этом исследовании изучались изменения в поджелудочной железе, вызванные острой системной гипоксией, с особым акцентом на влияние на эндокринные клетки поджелудочной железы человека. Мы использовали клетки, полученные при вскрытии человека случаи, когда в организме причиной смерти была острая системная гипоксия. Мы также использовали культивированные клетки для проведения экспериментов в условиях гипоксии для дальнейшего изучения результатов вскрытия.

Материалы и методы. Мы исследовали в общей сложности 64 случая серийных судебно-медицинских аутопсий (46 мужчин и 18 женщин: средний возраст смерти составил 61 года) в течение 72 часов после смерти. Критериями включения были случаи, когда свидетели представили четко установленные косвенные доказательства, подтверждающие причину смерти, и когда время смерти было четко определено[11]. Полное вскрытие, включавшее макроскопическое, микроскопическое исследования, выявило следующие

причины смерти: асфиксия вследствие системной гипоксической расстройств, острая геморрагическая шок, травма головы и черепно-мозговая травма, ожог и отравление угарным газом, при утопление повреждено альвеол и острая сердечная недостаточность. Из исследования были исключены пациенты с сахарным диабетом и циррозом печени, а также пациенты с гипертермией, синдромом раздавливания и интоксикацией из-за возможного влияния гемолиза на концентрацию инсулина [1,2,3,4].

Макроскопические данные. На вскрытие определяли частоту интерстициальных кровоизлияний поджелудочной железы в зависимости от причины смерти. Макроскопически интерстициальное кровоизлияние поджелудочной железы оценивали в зависимости от диапазона и степени кровотечения следующим образом: 0-кровотечения нет; 1-местное кровоизлияние; 2-умеренное кровоизлияние; 3- диффузный кровотечение.

Микроскопические анализы. Серийные образцы поджелудочной железы использовали окраски гематоксилин-эозином. Оценка микроскопических изменений рисунка ткани поджелудочной железы в пяти случайных тканях поджелудочной железы была основана на трех степенях тяжести, которые включали: отсутствие легкой степени тяжести, рассеянный тип и диффузный тип. Образцы геморрагической ткани поджелудочной железы, возникшие в результате острой травмы инструментом, собирали и хранили при комнатной температуре и затем сравнивали с последующими посмертными морфологическими изменениями.

Гистологические данные были подтверждены для каждой точки наблюдения соответственно. Для каждого образца под увеличением 200× подсчитывали общее количество клеток в островках Лангерганса, а также количество инсулин и глюкагон-положительных клеток по сравнению с общим количеством клеток Лангерганса при комнатной температуре [1,5,19,20,21,22]. Общее количество клеток в островках Лангерганса подсчитывали для каждого препарата при увеличении 200×.

Биохимические анализы. Измерение концентрации инсулина, глюкагона и амилазы в крови. Концентрацию инсулина в сыворотке измеряли с помощью хемилюминесцентного иммуноферментного анализа [7,8,9,10,11,12,13,14, 15,16] с использованием полностью автоматизированной системы измерения хемилюминесцентного ферментного иммунитета. После асептического сбора образцов крови из правых камер сердца все образцы немедленно центрифугировали для отделения сыворотки. Во всех измерениях использовался клинический референсный диапазон инсулина сыворотки 1,84–12,2 мкМЕ/мл[20]. Концентрации глюкагона в сыворотке измерялись радиоиммунным анализом[1,2] с использованием гамма-счетчика и глюкагон РИА

«SML», набор для измерения глюкогона в плазме. Этот набор основан на принципе радиоиммунного анализа, в котором используется метод двойных антител для определения разделения связанных или свободных антител. Для этого измерения мы использовали клинический референсный диапазон глюкогона в сыворотке 70–174 пг/мл [11]. В некоторых случаях концентрации амилазы в сыворотке измерялись спектрофотометрически [12,13,14,15]. Для этого измерения использовался клинический референтный диапазон амилазы сыворотки 37–125 Ед/л.

Культура клеток в условиях гипоксиию. В этом исследовании использовалась линия клеток BRIN-BD11, линия гибридных клеток, секретирующих инсулин, полученная путем электрослияния первичной культуры островков поджелудочной железы крысы NEDH и RINm5F (линия клеток, полученная из инсулиномы крысы NEDH). Было показано, что BRIN BD11 является онкогенным при трансплантации мышам-хозяевам SCID. Более того, эту клеточную линию можно использовать для изучения функции бета-клеток поджелудочной железы [13,16,17,18,22,23]. Культуральная среда состояла из RPMI1640 с добавлением 10% фетальной бычьей сыворотки. Клетки культивировали во влажной атмосфере, содержащей 4,7% CO₂ и 5% O₂, при 37°C. Количество клеток измеряли с использованием модели счетчика клеток R1 -после тест на исключение трипанового синего, а затем довели до $1,4 \times 10^6$ клеток/мл до 75 минут культивирования. Уровни инсулина в культуральной жидкости впоследствии измеряли с помощью иммуноферментного анализа с использованием набора для измерения инсулина у крыс. Мы также измеряли уровни мРНК с помощью полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией после гипоксического воздействия. Мы добавили актиномицин D (2 мкг/мл) к BRIN-BD11. клетки, чтобы блокировать размножение и транскрипцию ДНК. Затем мы измерили инсулин, HIF1 α и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) с актиномицином D и без него. Клетки AR42J получены из аденокарциномы внешней секреции поджелудочной железы крысы [15]. Мы культивировали клетки AR42J во влажной атмосфере, содержащей 4,7% CO₂ и 5% O₂, при 37 °C. Подсчет клеток проводился с использованием модели счетчика клеток R1, при этом клетки были доведены до $1,0 \times 10^6$ клеток/мл до 24 часов культивирования. Уровни амилазы в культуральной жидкости также измеряли с помощью колориметрического анализа [16,24].

Полученные результаты. Макроскопическое соотношение интерстициальных кровоизлияний поджелудочной железы и гистологические изменения структуры ткани поджелудочной железы, связанные с причиной смерти. Макроскопические данные показали, что имелись интерстициальные кровоизлияния поджелудочной железы без каких-либо наблюдаемых

повреждений. Гистологические данные показали, что существует три типа повреждения ткани поджелудочной железы, включая экзоринные и эндокринные железы. Напротив, когда оценивали изменения в ткани поджелудочной железы на основе посмертного периода, через 12 часов различий не наблюдалось. Микроскопические изменения проявились заметно через 2 дня патологоанатомического периода с диффузным выпадением клеток поджелудочной железы. Через два дня после смерти гистологическая форма больше не сохранялась. У лиц, умерших от асфиксии (76,3%), наблюдалась более высокая частота макроскопических панкреатических интерстициальных кровоизлияний по сравнению с лицами, умершими от других причин (13,1–52,4%, в среднем 28,1%), за исключением утопления (73,1%). У тех, кто умер от асфиксии, макроскопическая оценка /интерстициальных кровоизлияний поджелудочной железы классифицировалась как тяжелая. Не было обнаружено связи между макроскопической оценкой интерстициальных кровоизлияний поджелудочной железы и посмертным периодом.

Вывод. Статистическая оценка показала, что случаи умеренного и тяжелого кровотечения были выше при асфиксии по сравнению с острой инструментальной травмой и летальностью ($p < 0,05$, $p < 0,001$). Гисто-логические анализы показали, что диффузный тип поражения ткани поджелудочной железы, включающий ацинарные и островковые клетки, чаще встречался при асфиксии (91,2%) по сравнению с умершими от других причин (46,5–61,0%, в среднем 54,4%), исключая острую сердечную смерть. Достоверных различий между микроморфологическими изменениями ткани поджелудочной железы и посмертным периодом не отмечено.

Литературы.

1. Avezov A. Kattahodjaeva M, Boltoeva F., Yuldasheva S., Study of the development level of risk factors in dangerous tumors causing lonely arterial thromboembolia //International Journal of Advanced Science and Technology. – 2020. – Т. 29. – №. 5. – С. 1751-1760.
2. Fink G, Pfaf DW, Levine JE, editors. Handbook of Neuroendocrinology. 1st ed. Cambridge (MA): Academic Press; 2011.
3. Fisher DA. Endocrinology of fatal development. In: Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, editors. William's textbook of endocrinology, 11th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2007. p. 755–82.
4. Inoyatova F. K. et al. CATACIN AND GERANYL, COMPARATIVE EVALUATION OF THEIR HEPATOPROTECTIVE EFFECT ON THE MODEL OF ACUTE TOXIC DAMAGE OF RAT LIVER //INTERNATIONAL

SCIENTIFIC REVIEW OF THE PROBLEMS OF NATURAL SCIENCES AND MEDICINE. – 2019. – С. 5-12.

5. Jumaniyazov K.Y., Bakhtiyarova A.M., Kurbanova N.N. Deaths and injuries as a result of road accidents and the role of cardiovascular diseases in them//International Scientific and Practical Conference.Polcha. P.34-37.
6. Jumaniyazov K.Y., Bakhtiyarova A.M., Kurbanova N.N. Peculiarities of Distribution of Traffic Accidents in Khorezm Region by Population and Age American Journal of Medicine and Medical Sciences 2023, 13(7): 1020-1025 DOI: 10.5923/j.ajmms.20231307.37
7. Khurbanova, N., Omonova, G., Alimova, M., & Komiljanova, S. (2017). The state of antioxidant system of mitochondrial fraction of the hepatocyte in early terms of ischemic stroke in white rats. *Интернаука*, (12-2), 51-53.
8. Kimura H, Ota H, Kimura Y, Takasawa S. Effects of intermittent hypoxia on pulmonary vascular and systemic diseases. *Int J Environ Res Public Health*. 2019;16:3101.
9. Kurbanova N. N. et al. Effect of new herbal preparations on some indicators of apoptosis in rats with acute toxic hepatitis //International Journal of Psychosocial Rehabilitation. – 2020. – Т. 24. – №. 08. – С. 6999-7005.
10. Kurbanova N.N. et al. The effect of new plant hepatoprotectors on the level of proinflammatory cytokines in acute toxic liver damage. //International Journal of Psychosocial Rehabilitation. – Vol. 24, Issue 08, 2020. – Page. 8910-8920.
11. Navruzovna K. N. et al. Biochemical changes in hepatocyte subcellular fractions in experimental ischemic stroke //Вестник науки и образования. – 2019. – №. 7-2 (61). – С. 57-59. ООО «ОЛИМП».
12. Navruzovna K. N. et al. Generation of reactive oxygen species in the mitochondrial fraction of hepatocytes in the early stages of experimental ischemic stroke //Вестник науки и образования. – 2019. – №. 7-2 (61). – С. 60-62. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/generation-of-reactive-oxygen-species-in-the-mitochondrial-fraction-of-hepatocytes>.
13. Prisby RD. Mechanical, hormonal and metabolic influences on blood vessels, blood flow and bone. *J Endocrinol*. 2017;235: R77–100.
14. Rozxadjaeva G.A., Ikramova Z., Avezov A.U., Aytimova G.Yu. Ankle-brachial index in the study of the prevalence of peripheral artery disease in the Uzbek population.. *Annals of medical & Surgical Case Reports*. 7th January Australiya. 2020,
15. Xing J, Ying Y, Mao C, et al. Hypoxia induces senescence of bone marrow mesenchymal stem cells via altered gut microbiota. *Nat Commun*. 2018; 9:2020.
16. Yuldashevich J. K., Maksudbekovna B. A., Navruzovna K. N. PECULIARITIES OF DISTRIBUTION OF TRAFFIC ACCIDENTS IN KHOREZM REGION BY

POPULATION AND AGE //The Role of Sciences in the Formation of Unusual Thinking Skills in Young Students: International Scientific-Practical Conference (Czech). – 2023. – С. 13-15.

17. Авезов А.У. Хавфли ўсма касаллик ларида ўпка артерия лари тромбоземболияси риволанишида кузатиладиган хавф омиллар ининг тарқалиш даражасини ўрганиш. “Биомедицина ва амалиёт” журнали Ташкент, 2020 № 4 сон, 5 жилд, 132-138- б.
18. Авезов А.У. Онкопатология билан касалланган беморларда веноз тромбоземболияни замонавий инновацион усуллар билан текшириш. «Актуальные проблемы детской радиологии» международная научно-практический журнал 2019. стр 10.
19. Авезов А.У. Современные инновационные исследования венозной тромбоземболии у пациентов с онкопатологией. Педиатрия. Ташкент. 2019, С.10-15.
20. Айтимова Г. Ю., Авезов А. У., Урунбаева Н. А. Изучение заболеваний периферических артерий среди населения хорезмской области //«Yosh olimlar tibbiyot jurnali» Tashkent medical academy «Medical journal of young scientists» Ташкентская медицинская академия. 2022. №3– С. 7-15
21. Алимова М. М. и др. Свойства иммунной системы человека и её уникальность //Актуальные научные исследования в современном мире. – 2017. – №. 5-3. – С. 106-108.
22. Куурбанова Н. Н., Бахтиерова А. М., Тажибаева М. Биохимические основы повреждений малого кровообращения при сахарном диабете //Development and innovations in science. – 2023. – Т. 2. – №. 10. – С. 50-51.
23. Нишанов Д.А., Авезов А.У. Хавфли ўсма касалликларидида ўпка артерияси тромбоземболиясини аниқлаш усули. Ташкент. 2020.
24. Розыходжаева Г, Айтимова Г, Икрамова З, Авезов А.У., Розыходжаева Ф (2020) Лодыжечно-плечевой индекс в изучении распространенности заболеваний периферических артерий среди населения Узбекистана. Представитель Ann Med & Surg: AMSCR-100040, 2020