

UDK: 616.379-008.64:611.013.85:611-018

EKSPERIMENTAL QANDLI DIABETDA KALAMUSHLAR YO'LDOSHINING STRUKTURAVIY VA MOLEKULYAR O'ZGARISHLARI: MORFOMETRIK VA IMMUNOGISTOKIMYOVIY TAHLIL

Ospanova Sarbinaz Muratovna - Urganch davlat tibbiyot instituti patomorfologiya kafedrasida mustaqil izlanuvchisi, Urganch, O'zbekiston

E-mail: liylya5@mail.ru ORCID: 0009-0008-8575-8596

Adilbekova Dilorom Baxtiyarovna - Toshkent davlat tibbiyot universiteti odam anatomiyasi va OXTA kafedrasida professori, DSc

E-mail: dilorom.adilbekova65@gmail.com ORCID: 0009-0001-6555-9222

Toshpulatov Sardorjon Sarvar o'g'li - Toshkent davlat tibbiyot universiteti davolash fakulteti talabasi, Toshkent, O'zbekiston

E-mail: sardorjontoshpulatov935@gmail.com ORCID: 0009-0001-6909-3693

Annotatsiya. Ushbu tadqiqotda alloksan-induktsiyalangan qandli diabet sharoitida urg'ochi kalamushlar yo'ldoshining morfologik, morfometrik va immunogistokimyoviy o'zgarishlari o'rganildi. Tajribada 60 ta laborator oq kalamushlarda eksperimental diabet modeli yaratilib, yo'ldosh to'qimalarida fibroz jarayonlar, stromal shish, tomir o'zgarishlari hamda gipoksiya, angiogenez va apoptoz markerlarining ifodasi baholandi. Natijalarga ko'ra, diabet sharoitida yo'ldoshda interstitsial va perivaskulyar fibrozning kuchayishi, trofoblast bazal membranasining qalinlashuvi, kapillyar zichligining kamayishi, shuningdek TGF- β 1, HIF-1 α , VEGF va apoptotik markerlarning sezilarli darajada ortishi aniqlandi. Ushbu o'zgarishlar yo'ldosh funksiyasining buzilishiga va fetoplatsentara yetishmovchilik rivojlanishiga olib kelishi mumkin.

Kalit so'zlar: qandli diabet, yo'ldosh, alloksan modeli, morfometriya, fibroz, TGF- β 1, HIF-1 α , VEGF, apoptoz, trofoblast.

Аннотация. В данном исследовании изучены морфологические, морфометрические и иммуногистохимические изменения плаценты самок крыс в условиях аллоксан-индуцированного сахарного диабета. В эксперименте на 60 лабораторных белых крысах была создана модель диабета, после чего в тканях плаценты оценивались фиброзные процессы, стромальный отёк, сосудистые изменения, а также экспрессия маркеров гипоксии, ангиогенеза и апоптоза.

Согласно полученным результатам, в условиях диабета в плаценте выявлены усиление интерстициального и периваскулярного фиброза, утолщение базальной мембраны трофобласта, снижение плотности капилляров, а также значительное повышение экспрессии TGF- β 1, HIF-1 α , VEGF и апоптотических маркеров. Указанные изменения могут приводить к нарушению функции плаценты и развитию фетоплацентарной недостаточности.

Ключевые слова: сахарный диабет, плацента, аллоксановая модель, морфометрия, фиброз, TGF- β 1, HIF-1 α , VEGF, апоптоз, трофобласт.

Abstract. This study investigated morphological, morphometric, and immunohistochemical changes in the placenta of female rats under conditions of alloxan-induced diabetes mellitus. An experimental diabetes model was established in 60 white laboratory rats, and placental tissues were evaluated for fibrotic processes, stromal edema, vascular alterations, as well as the expression of markers of hypoxia, angiogenesis, and apoptosis.

The results demonstrated that, under diabetic conditions, there was an increase in interstitial and perivascular fibrosis in the placenta, thickening of the trophoblast basement

membrane, a decrease in capillary density, and a significant elevation in the expression of TGF- β 1, HIF-1 α , VEGF, and apoptotic markers. These changes may lead to impaired placental function and the development of fetoplacental insufficiency.

Keywords: diabetes mellitus, placenta, alloxan model, morphometry, fibrosis, TGF- β 1, HIF-1 α , VEGF, apoptosis, trophoblast.

Mavzuning dolzarbligi. Qandli diabet global miqyosda keng tarqalgan metabolik kasallik bo'lib, homiladorlik davrida uning uchrashi perinatal asoratlarni xavfini sezilarli darajada oshiradi [1,3]. Diabetik holatlarda yo'ldosh tuzilmasi va funksiyasida chuqur o'zgarishlar yuzaga kelishi, fetoplatsentalar tizimining yetishmovchiligiga olib kelishi mumkin [2,4].

Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, giperglikemiya sharoitida oksidlovchi stress kuchayib, yo'ldosh to'qimalarida fibroz va yallig'lanish jarayonlari rivojlanadi [5]. Ayniqsa, TGF- β 1 signal yo'li faollashuvi kollagen sintezini oshirib, stromal fibrozni kuchaytiradi [6]. Yo'ldoshda gipoksiya rivojlanishi HIF-1 α ekspressiyasining oshishiga olib keladi, bu esa kompensator angiogenezni rag'batlantiradi, biroq bu jarayon ko'pincha yetarli samaradorlikka ega emas [7]. VEGF darajasining ortishi tomir hosil bo'lishini kuchaytiradi, ammo diabet sharoitida yangi kapillyarlarning funksional yetukligi past bo'ladi [8]. Bundan tashqari, diabet sharoitida apoptoz jarayonlari faollashadi, bu esa trofoblast va endotelial hujayralarning kamayishiga olib keladi [9]. Bax/Bcl-2 nisbatining oshishi mitoxondrial apoptotik yo'lining faollashganini ko'rsatadi [10]. Eksperimental modellar, xususan alloksan yordamida yaratilgan diabet modeli, ushbu patologik jarayonlarni chuqur o'rganish imkonini beradi [11]. Bu model β -hujayralarning destruktivasi orqali insulin yetishmovchiligini yuzaga keltirib, insondagi diabetik o'zgarishlarga yaqin sharoit yaratadi [12].

Shu sababli, diabet sharoitida yo'ldoshning morfologik va molekulyar o'zgarishlarini o'rganish dolzarb ilmiy muammo hisoblanadi.

Tadqiqot maqsadi. Tajribaviy qandli diabet sharoitida urg'ochi kalamushlar yo'ldoshining morfologik va morfometrik holatini o'rganish va baholash.

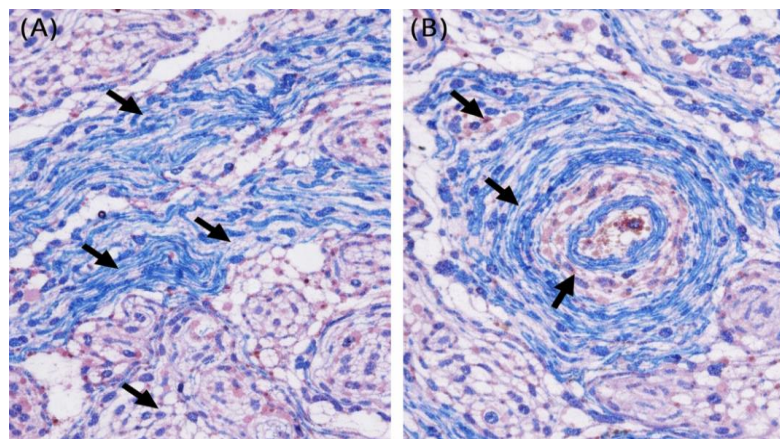
Material va metodlar. Tadqiqot obyekti sifatida Toshkent davlat tibbiyot universiteti Hayvonlar bilan ishlash etika komissiyasining №152/2024 sonli (2024 yil 20 aprel) protokoliga muvofiq, "Spirogali" yordamchi kasalxonasining eksperimental biologiya laboratoriyasidan olingan 60 ta laborator oq kalamushlari ishlatildi. Hayvonlarning yoshi 3-4 oy, urg'ochi kalamushlarning o'rtacha og'irligi 200-220 gramm, ular standart laboratoriya sharoitida parvarish qilindi. Hayvonlar uchun harorat $22 \pm 2^\circ\text{S}$, nisbiy namlik 50-60 foiz, 12 soat yorug'lik va 12 soat qorong'ilik rejimi ta'minlandi. Hayvonlar standart granulalangan ozuqa va suv bilan cheklovsiz ta'minlandi. Modellashtirish jarayonida hayvonlarga bir martalik 45 mg/kg dozada alloksan sitrat buferi qorin bo'shlig'iga inyeksiya qilindi. Alloksan tayyorlangan 0.1 M sitrat bufer ichida (pH 4.5) eritildi. Alloksanning 45 mg/kg dozasi 2-tur qandli diabet modellashtirish uchun past doza hisoblanib, β -hujayralarning destruktivasi olib keladi va nisbiy insulin yetishmovchiligini keltirib chiqaradi. Tadqiqotlar shuni ko'rsatganki, 25-45 mg/kg dozadagi 2-tur diabetning optimal modelini yaratadi. Alloksan eritmasi bevosita ishlatishdan oldin tayyorlandi va yorug'likdan himoyalangan holda saqlandi.

Diabetni tasdiqlash maqsadida alloksan inyeksiyasidan 72 soat o'tgach, hayvonlarning quyruq venasidan olingan qondagi bazal glyukoza darajasi Accu-Chek Active (Roche, Shveysariya) glyukometr yordamida o'lchandi. Qondagi glyukoza miqdori 12 mmol/l yoki undan yuqori bo'lgan individuumlar diabetik model sifatida qabul qilindi. Tadqiqotda oldimizga qo'ygan maqsad va vazifalarga erishish uchun morfologik, morfometrik, immunogistokimyoviy va statistik usullardan foydalanildi.

Tadqiqot natijalari. Qandli diabet sharoitida yo'ldosh stromasida fibroz jarayonlarining jadal rivojlanganligi aniqlandi. Fibroz biriktiruvchi to'qima elementlarining, ayniqsa kollagen

tolalarining ortiqcha to'planishi bilan xarakterlanib, bu vorsinkalarning funktsional faolligini pasaytiradi va gaz almashinuvini qiyinlashtiradi.

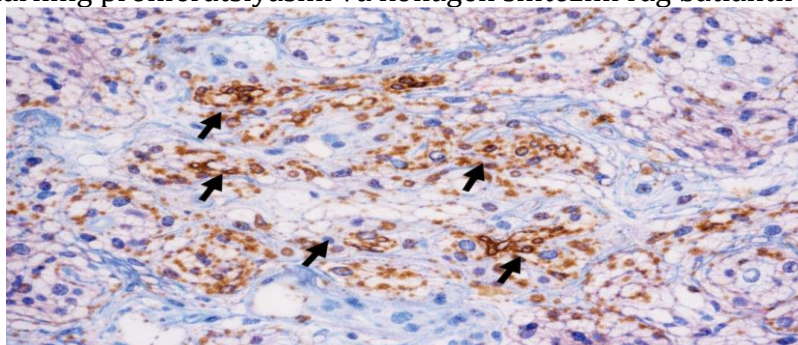
Interstitsial fibroz vorsinkalar stromasida keng tarqalgan. Masson trixrom bo'yog'i bilan bo'yalgan preparatlarda vorsinkalar stromasida va perivaskulyar sohalarida kollagen tolalarining ko'p miqdorda to'planganligi kuzatildi. Kollagen tolalari dag'al, yirik to'plamlar hosil qilib, vorsinkalar stromasining katta qismini egallagan. Kollagen to'plamlari turli yo'nalishda joylashgan, ba'zi sohalarida ular to'rsimon tuzilma hosil qilgan. Fibroz indeksi (kollagen maydonining umumiy stroma maydoniga nisbati) nazorat guruhidagi $4,2 \pm 0,6$ foizdan $16,8 \pm 1,8$ foizgacha oshdi ($\uparrow 300\%$, $p < 0,001$). Bu stromaning uchdan bir qismini kollagen egallaganini ko'rsatadi.



1-rasm. Diabet guruhi yo'ldoshidagi fibroz o'zgarishlar. Diabet guruhidagi vorsinkalar stromasida (A) va tomirlar atrofidagi (B) kollagen tolalarning (ko'k rang) ko'p miqdorda to'planganligi ko'rsatilgan. (Masson trixrom, $\times 200$).

Perivaskulyar fibroz tomirlar atrofidagi kollagen tolalarining qalin qatlam hosil qilganligi bilan namoyon bo'ldi. Tomirlar atrofidagi kollagen tolalari kontsentrik halqalar hosil qilib, tomir devori bilan chambarchas bog'langan. Perivaskulyar fibroz qalinligi nazoratda $3,5 \pm 0,5$ mkm, diabet guruhida $12,4 \pm 1,5$ mkm ni tashkil etdi ($\uparrow 254\%$, $p < 0,001$). Perivaskulyar fibroz tomirlar devorining qalinlashuvi bilan birgalikda tomirlar lyumenining torayishiga va qon oqimining sekinlashuviga olib kelgan. Stromada shish ham aniqlandi. Shish natijasida stromaning matriksi bo'shashgan, hujayralar orasida bo'shliqlar paydo bo'lgan. Ba'zi sohalarida stromaning miksomatoz o'zgarishlari kuzatildi. Shish bilan birga stromada glikozaminoglikanlar va proteoglikanlarning to'planishi ham kuzatildi.

TGF- $\beta 1$ (transformatsiyalovchi o'sish omili beta 1) fibrogenezning asosiy stimulyatori bo'lib, uning ifodasi diabet guruhida nazoratga nisbatan 3,8 marta oshdi (optik zichlik $0,72 \pm 0,09$ ga qarshi $0,19 \pm 0,04$, $p < 0,001$). TGF- $\beta 1$ asosan vorsinkalar stromasidagi fibroblastlarda, shuningdek tomir devorlarida va trofoblast hujayralarida ifodalangan. TGF- $\beta 1$ ifodasining oshishi fibroblastlarning proliferatsiyasini va kollagen sintezini rag'batlantiradi.

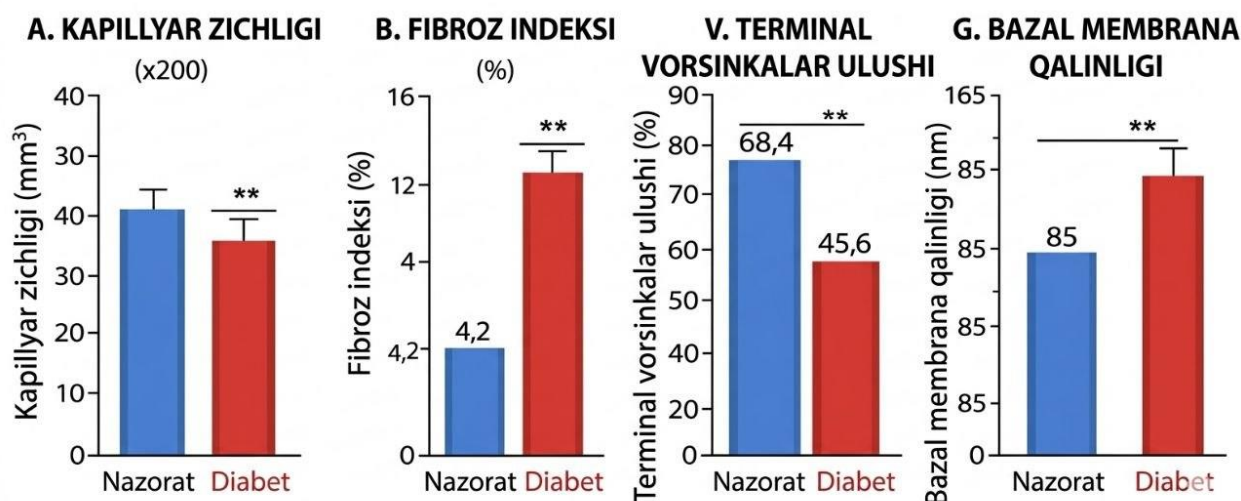


2-rasm. Diabet guruhida TGF- β 1 ifodasining oshishi. Diabet guruhida TGF- β 1 ifodasining nazoratga nisbatan kuchli oshgani (jigarrang rang) ko'rsatilgan. TGF- β 1 asosan stroma fibroblastlarida ifodalangan.

Qandli diabet bilan xastalangan onalar yo'ldoshida aniqlangan morfologik o'zgarishlarni miqdoriy baholash maqsadida morfometrik tahlil o'tkazildi. Morfometrik tahlil ImageJ dasturida amalga oshirilib, har bir parametr uchun kamida 50 ta o'lchov olindi. Quyida keltirilgan barcha parametrlar nazorat guruhi ko'rsatkichlaridan statistik jihatdan ishonchli farq qildi.

Yo'ldoshning umumiy parametrlari tahlili diabet guruhida yo'ldosh vazni 27,6 foizga, platsentar-fetal koefitsient 9,4 foizga oshganini ko'rsatdi. Bu platsentar gipertrofiya va kompensator reaksiyalardan dalolat beradi. Yo'ldosh maydoni 18,6 foizga, qalinligi 18,8 foizga oshdi. Bu o'zgarishlar yo'ldoshning hajmiy parametrlarining oshganini ko'rsatadi.

Vorsinkali xorion parametrlari tahlilida vorsinkalar maydonining 20,9 foizga kamayishi, terminal vorsinkalar ulushining 33,3 foizga pasayishi vorsinkali xorionning funktsional faolligining pasayganini ko'rsatadi. Vorsinkalar qalinligining 15,8 foizga oshishi shish va gipertrofiya bilan bog'liq. Stroma maydonining 43,5 foizga oshishi fibroz va shish hisobiga yuz bergan. Trofoblast bazal membranasining 94,1 foizga qalinlashuvi transport jarayonlarini qiyinlashtiradi.



3-rasm. Nazorat va diabet guruhlarida asosiy morfometrik ko'rsatkichlarning qiyosiy gistogrammalari.

Immunogistoximik tekshiruvlar diabet guruhida gipoksiya, angiogenez, apoptoz va fibrogenez markerlarining ifodasida jiddiy o'zgarishlar borligini ko'rsatdi. Ushbu markerlarning ifodasi patologik jarayonlarning molekulyar mexanizmlarini tushunishga yordam beradi.

HIF-1 α (gipoksiyaga javob beruvchi omil-1 α) ifodasi diabet guruhida nazoratga nisbatan 2,6 marta oshdi (optik zichlik $0,58 \pm 0,07$ ga qarshi $0,22 \pm 0,04$, $p < 0,001$). HIF-1 α asosan trofoblast hujayralari va tomir endoteliysi yadrolarida ifodalangan. Ushbu o'zgarish yo'ldosh to'qimasida gipoksiya mavjudligidan dalolat beradi. HIF-1 α ifodasining oshishi gipoksiyaga javoban yuzaga keladigan adaptiv reaksiyalarning faollashganini, biroq ularning yetarli emasligini ko'rsatadi.

VEGF (endotelial o'sish omili) ifodasi diabet guruhida nazoratga nisbatan 8,8 marta oshdi ($18,5 \pm 2,4$ foizga qarshi $2,1 \pm 1,0$ foiz, $p < 0,001$). VEGF asosan trofoblast va tomir endoteliysi sitoplazmasida ifodalangan. VEGF ifodasining keskin oshishi HIF-1 α ning faollashuvi bilan bog'liq bo'lib, kompensator angiogenezning faollashganini ko'rsatadi. Biroq, VEGF ning yuqori darajada ifodalanishiga qaramay, kapillyar zichligi pasaygan, bu angiogenez jarayonlarining samarasizligidan dalolat beradi.

Cleaved Caspase-3 (kaspaza-3 ning faol formasi) ifodasi diabet guruhida nazoratga nisbatan 14 marta oshdi ($8,4 \pm 1,2$ foizga qarshi $0,6 \pm 0,2$ foiz, $p < 0,001$). Caspase-3-musbat

hujayralar asosan trofoblast va endoteliy hujayralarida aniqlangan. Bu apoptoz jarayonlarining keskin kuchayganini ko'rsatadi. Apoptozning kuchayishi trofoblast va endoteliy hujayralari sonining kamayishiga, natijada platsentaning kompensator imkoniyatlarining chegaralanishiga olib keladi.

Bax (apoptozni stimullovchi oqsil) ifodasi diabet guruhida nazoratga nisbatan 8,5 marta oshdi ($10,2 \pm 1,4$ foizga qarshi $1,2 \pm 0,3$ foiz, $p < 0,001$). Bcl-2 (apoptozni ingibitorlovchi oqsil) ifodasi esa 2,8 marta pasaydi ($1,8 \pm 0,4$ foizga qarshi $5,1 \pm 0,7$ foiz, $p < 0,01$). Bax/Bcl-2 nisbati nazoratda 0,24, diabet guruhida 5,67 ni tashkil etib, 23,6 marta oshdi. Bu mitoxondrial apoptoz yo'lining keskin faollashganidan dalolat beradi. Bax/Bcl-2 nisbatining oshishi apoptozga moyillikning keskin kuchayishini ko'rsatadi.

Xulosa. Alloksan-induksiyalangan qandli diabet sharoitida kalamushlar yo'ldoshida chuqur morfologik va molekulyar o'zgarishlar yuzaga keladi. Ushbu o'zgarishlar fibroz jarayonlarning kuchayishi, stromal shish, tomir devorlarining qalinlashuvi va kapillyar tarmog'ining kamayishi bilan xarakterlanadi. Immunogistokimyoviy tahlillar natijasida gipoksiya (HIF-1 α), angiogenez (VEGF), fibrogenez (TGF- β 1) va apoptoz (Caspase-3, Bax/Bcl-2) markerlarining sezilarli darajada oshishi aniqlanib, bu yo'ldosh funksional yetishmovchiligining molekulyar asoslarini ko'rsatadi. Olingan natijalar diabetik homiladorlikda fetoplatsentar tizim buzilishining patogenezi chuqurroq tushunishga xizmat qiladi va kelgusida profilaktika hamda davolash strategiyalarini ishlab chiqishda muhim ahamiyatga ega.

ADABIYOTLAR

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2023;46(Suppl 1):S19–S40.
2. Adilbekova D.B., Ospanova S.M., Ahrorov A.A., Toshpo'latov S.S. Alloksan-induksiyali eksperimental qandli diabet modelida kalamush yo'ldoshining morfometrik, gistoarxitektonik va angiogen omillar ekspressiyasining tahlili. Integratsiyalashgan ta'lim va tadqiqot jurnali. ISSN: 2181-3558 Volume 4, Issue 4. 2025. 208-213 b.
3. Abdaliyeva M.P., Adilbekova D.B., Ahrorov A.A., Toshpo'latov S.S. Morphological state of the structural components of the gastric wall of experimental white mice in the dynamics of postnatal ontogenesis. *O'zbekiston tibbiyot jurnali* ISSN: 0025-830X №1. 2025. 287-292 b.
4. Burton G.J., Fowden A.L. The placenta: a multifaceted, transient organ. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2015;370(1663):20140066.
5. Coughlan M.T., Vervaaert P.P., Permezel M., Georgiou H.M., Rice G.E. Altered placental oxidative stress status in gestational diabetes mellitus. *Placenta*. 2004;25(1):78–84.
6. Desmoulière A., Darby I.A., Gabbiani G. Normal and pathological soft tissue remodeling: role of myofibroblasts. *Lab Invest*. 2003;83(12):1689–1707.
7. Giaccia A.J., Simon M.C., Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. *Genes Dev*. 2004;18(18):2183–2194.
8. Mayhew T.M. Enhanced fetoplacental angiogenesis in pregestational diabetes mellitus. *Placenta*. 2002;23(1):17–25.
9. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol*. 2006;572(Pt 1):25–30.
10. Reed J.C. Mechanisms of apoptosis. *Am J Pathol*. 2000;157(5):1415–1430.
11. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β -cells of the rat pancreas. *Physiol Res*. 2001;50(6):537–546.
12. Zhang C., Rawal S., Chong Y.S. Risk factors for gestational diabetes: is prevention possible? *Diabetologia*. 2016;59(7):1385–1390