$PbCl_2$ TA'SIRIDA KELIB CHIQQAN OKSIDATIV STRESSDA KALAMUSH JIGAR MITOXONDRIYASI LIPIDLARNI PEREKSLI OKSIDLANISHIGA KV-BA-1 KON'YUGAT TA'SIRI

Ernazarov Zafarjon Mamurovich
Qo'qon davlat universiteti Biologiya kafedrasi v.b. dotsenti b.f.f.d. (PhD)
Toshmatova Shoiraxon Ruziyevna
Qo'qon davlat universiteti Biologiya kafedrasi dotsenti b.f.n.
Saidqulova Zarnigor Akmaljon qizi
Qo'qon davlat universiteti 2-kurs magistranti

Annotatsiya: Mazkur tadqiqot qo'rg'oshin xlorid ($PbCl_2$) yordamida chaqirilgan oksidativ stress (OS) sharoitida kalamush jigar mitoxondriya membranalarida lipidlarning pereksli oksidlanish (LPO) jarayoniga kversetin hamda kversetinning benzilamin bilan reaksiyasi natijasida sintezlangan KV-BA-1 kon'yugatining ta'sirini o'rganishga bag'ishlangan. Tajriba zotsiz oq erkak kalamushlarda *in vivo* sharoitda o'tkazilib, OS modeli $PbCl_2$ ni 10 mg/kg dozada 7 kun davomida pereoral yuborish orqali hosil qilindi. OS chaqirilgandan so'ng hayvonlarga 7 kun davomida kversetin va KV-BA-1 kon'yugatini 20 mg/kg miqdorida berildi. Kalamush jigar mitoxondriyalari differensial sentrifugalash usuli bilan ajratib olinib, Fe^{2+}/sitrat tizimi yordamida LPO jarayonining jadalligi baholandi. Tadqiqot natijalari $PbCl_2$ ta'sirida jigar mitoxondriyalarida LPO jarayoni sezilarli darajada faollashishini ko'rsatdi. Kversetin va KV-BA-1 kon'yugati bilan korreksiyalash ushbu jarayonni ishonchli darajada ingibirlab, KV-BA-1 kon'yugati kversetinga nisbatan yuqoriroq antioksidant samaradorlik namoyon etdi.

Kalit so'zlar: qo'rg'oshin (Pb^{2+}), OS, jigar mitoxondriyasi, LPO, kversetin, KV-BA-1 kon'yugati, flavonoidlar, antioksidant ta'sir.

KIRISH. Atrof-muhitda og'ir metallarning me'yoridan ko'p to'planishi organizm faoliyatiga jiddiy zarar yetkazishi, turli tizimlarda, jumladan, ovqat hazm qilish a'zolarida ham, umumiy salomatlikda ham muammolar keltirib chiqarishi mumkin. Shular jumlasiga mansub bo'lgan Pb^{2+} esa eng ko'p uchraydigan va biologik tizimlar uchun xavf tug'diruvchi moddalardan biri hisoblanadi. Pb^{2+} sanoat ishlab chiqarish jarayonlari, maishiy iste'mol buyumlari, qishloq xo'jaligi vositalari hamda zamonaviy texnologik mahsulotlarda keng qo'llanilishi tufayli global ekologik muammolardan biriga aylangan [10]. Pb^{2+} inson tanasiga asosan nafas yo'llari orqali yoki oziq-ovqat bilan birga hazm tizimi orqali kiradi [6]. Qonga tushgan Pb^{2+} avval jigar tomonidan biotransformatsiya qilinadi, so'ngra buyraklarga tashiladi; uning ma'lum qismi siydik orqali chiqarib yuborilsa-da, sezilarli miqdori to'qimalarda to'planib boradi [2]. Ushbu metalning organizmda yig'ilishi molekulyar, hujayra va hujayralararo darajadagi ko'plab biologik jarayonlarni izdan

ISSN 3030-3907

chiqarib, morfologik shikastlanishlar hamda patologik holatlarning rivojlanishiga sabab bo‘ladi [7, 4].

Toksikologik tadqiqotlar natijalariga ko‘ra, inson organizmiga tushgan Pb^{2+} ionlarining sezilarli ulushi jigar to‘qimalarida akkumulyatsiyalanadi va ushbu a’zo og‘ir metallarning asosiy nishon organlaridan biri hisoblanadi. Tajribaviy hayvon modellarida olib borilgan izlanishlar Pb^{2+} ning jigar hujayralariga salbiy ta’siri metabolik jarayonlarning keng spektrini qamrab olishini ko‘rsatgan. Xususan, ushbu metal ionlari ksenobiotiklarning biotransformatsiyasi, lipidlar almashinuvi va gepatotsitlarning proliferativ faolligi bilan bog‘liq bo‘lgan ferment tizimlari faoliyatini izdan chiqaradi [2].

Pb^{2+} ning biologik zararli ta’siri, avvalo, oksidlanish-qaytarilish muvozanatining buzilishi bilan tavsiflanadi. Metall ionlarining fermentlar va oqsillar tarkibidagi muhim metall kationlarini siqib chiqarishi ularning konformatsion barqarorligini buzib, katalitik xususiyatlarining pasayishiga sabab bo‘ladi [6]. Natijada hujayrada erkin radikal jarayonlar kuchayib, oksidlovchi stress holati yuzaga keladi.

Mitoxondriyalar ushbu jarayonda markaziy o‘rin egallaydi. Patologik sharoitlarda mitoxondrial elektron transport zanjiri komponentlarining funksional faolligi susayishi reaktiv kislorod shakllarining ortiqcha hosil bo‘lishiga olib keladi. Zamonaviy tadqiqotlar Pb^{2+} ning aynan mitoxondriyalarda ROS generatsiyasini kuchaytirishi hujayra ichki muhitida OS ni yuzaga keltiruvchi muhim mexanizmlardan biri ekanligini ko‘rsatmoqda [7]. Ma’lumki, fiziologik holatda mitoxondriyalar hujayrada hosil bo‘ladigan vodorod peroksidning asosiy qismini ishlab chiqaradi, biroq elektron tashish zanjiri komplekslarining ingibirlanishi bu jarayonni keskin faollashtirib, hujayra uchun toksik darajaga olib chiqishi mumkin [4]. Shu sababli Pb^{2+} bilan bog‘liq ROS hosil bo‘lishi uning umumiy toksik ta’sirini amalga oshiruvchi yetakchi omillardan biri sifatida qaraladi [9].

So‘nggi yillarda o‘simlik xomashyolaridan ajratib olinadigan tabiiy biofaol moddalarni og‘ir metall ionlari bilan bog‘lanishi, antioksidant himoya tizimini faollashtirish orqali OS ga qarshi vosita sifatida ko’rilishi tobora ko‘proq e’tiborni tortmoqda [5]. Ilmiy manbalarda flavonoidlar mitoxondriya membranalarida lipidlarlarni perekisli oksidlanish jarayonini susaytirishi hamda membrana yaxlitligini saqlash orqali hujayra energetik funksiyasini barqarorlashtirishi qayd etilgan [3]. Ushbu guruhga mansub bo‘lgan kversetin boshqa polifenollarga nisbatan yuqori biologik samaradorligi bilan ajralib turadi. Klinik oldi hamda klinik sinovlar natijalari kversetinni kuchli tabiiy antioksidant xususiyatlarga ega ekanligi tasdiqlangan [11].

ISSN 3030-3907

Biroq, hozirga qadar kversetinni benzilamin bilan reaksiyasi natijasida sintezlangan KV-BA-1 (8-[(Benzilamino)metil]-2-(3,4-digidroksifenil)-3,5,7-trigidroksi-4H-xromen-4-OH) OS modelida kalamush jigar mitoxondriyasi LPO jarayoniga ta'siri o'rganilmagan.

Tadqiqot maqsadi. $PbCl_2$ yordamida chaqirilgan OS modelida kalamush jigar mitoxondriya membrana LPO ga kversetin va benzilamin bilan reaksiyasi natijasida olingan KV-BA-1 konyugati ta'sirini *in vivo* tajriba sharoitida aniqlashdan iborat.

Tadqiqot materiallari va usullari. $PbCl_2$ yordamida OS chaqirish maqsadida zotsiz oq erkak kalamushlarni (180-200 g) 4 ta guruhga ajratildi. OS chaqirish uchun 1 guruhdan tashqari barcha guruh kalamushlariga $PbCl_2$ ni sutkasiga 10 mg/kg miqdorida 7 kun davomida pereoral yo'l bilan berib borildi. OS hosil bo'lgandan so'ng qo'yidagi tartibda biofaol moddalar berib borildi. Bunda 1 guruh nazorat, 2 guruh OS chaqirilgan, 3 guruh OS ga uchragan hayvonlarga kversetin, 4 guruh OS ga uchragan hayvonlarga KV-BA-1 konyugati 7 kun davomida pereoral yo'l orqali 20 mg/kg miqdorida ozuqasiga qo'shib berib borildi.

Kalamush jigaridan mitoxondriyalar Schneiderning differensial sentrafugalash usuli yordamida ajratib olindi [8]. Kalamush jigaridan mitoxondriya ajratish uchun inkubatsiya muhiti (mM): Saxaroza-250, tris – xlorid-10, EDTA-1; (pH 7.4).

Mitoxondriya membranasida LPO jarayonini o'rganish uchun Fe^{2+}/sitrat tizimidan foydalanildi. Ushbu tizim ta'sirida mitoxondriyalar membranasi funksional holatini yo'qotdi va membrana LPO natijasida organella hajmi oshib, mitoxondriyalar bo'kdi. Ushbu hajm o'zgarishi fotometrik usulda quyidagi IM bilan doimiy aralashtirish orqali 25°C da aniqlandi. IM (mM): saxaroza – 125, KCl –65, HEPES –10, pH 7,2; Mitoxondriya miqdori 0,5 mg/ml; Mitoxondriyaga 50 mkM Fe^{2+} qo'shilishdan avval 2 mM sitrat mavjud muhitda 2 minut davomida inkubatsiya qilingan [1].

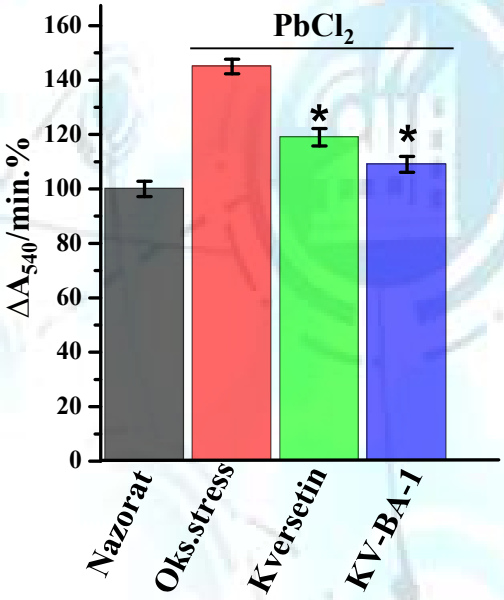
Kalamush jigar mitoxondriyasidagi oqsil miqdori biuret reaksiyasi orqali aniqlandi. Olingan natijalarni statistik qayta ishlash va rasmlarni chizish OriginPro 8.6 (Microsoft, USA) kompyuter dasturi yordamida amalga oshirildi. Nazorat va tajribadan olingan qiymatlar o'rtasidagi farq *t-test* bo'yicha hisoblab chiqildi. Bunda $P<0,05$ qiymat statistik ishonchlilikni ifodalaydi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Tadqiqot natijalariga ko'ra, I nazorat guruhida Fe^{2+}/sitrat bilan chaqirilgan LPO jarayonini 100% deb olindi. Kalamushlarda $PbCl_2$ orqali chaqirilgan OS sharoitida (II guruh) kalamush jigar mitoxondriyasi membranasining LPO jarayoni nazorat guruhiga nisbatan 45,3% oshganligi aniqlandi. Demak, kalamushlarga $PbCl_2$ yuborilishi oqibatida ularning

ISSN 3030-3907

jigar mitoxondriyalarida LPO mahsulotlari hisoblangan lipid pereoksid, aldegidlar, ketonlar va MDA miqdori ortishi kuzatiladi. O‘simliklardan olingan flavonoidlar mitoxondriya membranasi LPO jarayoniga tormozlovchi ta’sir etishi mumkin.

Buni aniqlash uchun OS chaqirilgan III guruh kalamushlarga kversetinni, IV guruhga KV-BA-1 kon’yugati 20 mg/kg miqdorida 7 kun davomida berib borildi. OS chaqirilgan III, IV guruh laboratoriya hayvonlariga kversetin va KV-BA-1 kon’yugat bilan farmakoterapiya qilinishi natijasida jigar mitoxondriya membranalarida LPO jarayonini OS li (II OS guruhi) hayvonlar guruhi ko‘rsatkichlariga nisbatan, mos ravishda III guruhda 26,3%, IV guruh 35,4%, ingibirlaganligi aniqlandi (1 – rasm).



1-rasm. OS modelida kalamush jigar mitoxondriyasida Fe^{2+}/sitrat bilan chaqirilgan LPO jarayoniga kversetin va KV-BA-1 kon’yugatining ta’siri. (*P<0,05; n=5).

Olingan natijalardan ma’lum bo‘ldiki, kversetin va KV-BA-1 kon’yugati OS sharoitida jigar mitoxondriya membranasi LPO jadalligiga tormozlovchi ta’sir etdi. Bunda, KV-BA-1 kon’yugati kversetinga nisbatan faolroq ingibirlovchi ta’sirini namoyon etdi.

Xulosa. Pb^{2+} organizm uchun zarur bo‘lgan biologik element hisoblanmaydi va tanaga tushganidan so‘ng turli darajadagi og‘ir hamda ko‘pincha qaytarilmas patologik holatlarni yuzaga keltiradi. Pb^{2+} toksik ta’siri organizmning deyarli barcha asosiy tizimlarini, jumladan gematopoetik, buyrak, markaziy va periferik asab tizimi hamda yurak-qon tomir tizimini zararlaydi. Pb^{2+}ning toksikologik ta’sirini izohlash maqsadida bir qator molekulyar va hujayraviy mexanizmlar taklif etilgan bo‘lib, ular

ISSN 3030-3907

orasida ion homeostazining buzilishi, oksidlovchi stressning kuchayishi hamda apoptoz jarayonlarining faollashuvi muhim o‘rin tutadi.

Pb^{2+} ning mitoxondrial tuzilma va funksiyalarga bevosita ta’siri natijasida reaktiv kislorod shakllari (ROS) hosil bo‘lishi ortadi, bu esa hujayrada OS rivojlanishiga sabab bo‘ladi. Olib borilgan tadqiqotlarimiz natijalari shuni ko‘rsatdiki, $PbCl_2$ ning kalamush organizmiga yuborilishi jigar to‘qimasida mitoxondrial disfunktsiya bilan kechuvchi OS holatini yuzaga keltirdi. Ushbu jarayon jigar mitoxondriyalarida LPO reaksiyalarining sezilarli darajada faollashuvi bilan namoyon bo‘ldi.

Eksperimental hayvonlarda yuzaga kelgan OS ni korreksiyalash maqsadida kversetin va KV-BA-1 kon’yugati qo‘llanildi. Olingan natijalarga ko‘ra, ushbu biofaol birikmalar bilan korreksiyalash jigar mitoxondriyalarida LPO jarayonining OS guruhi ko‘rsatkichlariga nisbatan ishonchli darajada pasayishiga olib keldi. Taqqoshlash natijalari shuni ko‘rsatdiki, kversetin va KV-BA-1 kon’yugati OS ni susaytirishda yanada yuqori samaradorlik namoyon etdi.

Mazkur holat KV-BA-1 kon’yugatining molekulyar tuzilishida gidroksil guruhlar sonining nisbatan ko‘pligi bilan izohlanishi mumkin. Bu esa Pb^{2+} ionlarini xelatlash orqali ularning ta’sir kuchini pasaytirishga va natijada OS rivojlanishiga tormozlovchi ta’sir ko‘rsatishga imkon yaratgan bo‘lishi mumkin.

Adabiyotlar ro‘yxati

1. Almeida A.M., Bertoncini C.R., Borecky J., Souza-Pinto N.C., Vercesi A.Ye. Mitochondrial DNA damage associated with lipid peroxidation of the mitochondrial membrane induced by Fe^{2+}-citrat // An. Acad. Bras. Cienc. – 2006. – V. 78(3). – P. 505-514.
2. **Gidlow D.A.** Lead toxicity // *Occupational Medicine*. – 2015. – Vol. 65, No. 5. – P. 348–356.
3. **Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J.** Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure–activity relationships // *Journal of Nutritional Biochemistry*. – 2002. – Vol. 13, No. 10. – P. 572–584.
4. **Jomova K., Valko M.** Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // *Toxicology*. – 2011. – Vol. 283, No. 2–3. – P. 65–87.
5. **Panche A.N., Diwan A.D., Chandra S.R.** Flavonoids: an overview // *Journal of Nutritional Science*. – 2016. – Vol. 5. – P. e47.
6. **Patrick L.** Lead toxicity, a review of the literature // *Alternative Medicine Review*. – 2006. – Vol. 11, No. 1. – P. 2–22.
7. **Sanders T., Liu Y., Buchner V., Tchounwou P.B.** Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure // *Reviews on Environmental Health*. – 2009. – Vol. 24, No. 1. – P. 15–45.

ISSN 3030-3907

8. Schneider W.C., Hogeboom G.H. Cytochemical studies of mammalion tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation // Cancer. Res. – 1951. – 11. – P. 1-22.

9. **Valko M., Jomova K., Rhodes C.J., Kuča K., Musílek K.** Metal-induced oxidative stress and human disease // *Archives of Toxicology*. – 2016. – Vol. 90, No. 1. – P. 1–37.

10. **World Health Organization (WHO).** Lead poisoning and health // *WHO Report*. – 2021.

11. Mirza MA, Mahmood S, Hilles AR, Ali A, Khan MZ, Zaidi SAA, Iqbal Z, Ge Y. Quercetin as a Therapeutic Product: Evaluation of Its Pharmacological Action and Clinical Applications—A Review. Pharmaceuticals. 2023; 16(11):1631. https://doi.org/10.3390/ph16111631

ISSN 3030-3907