



**OKSIDATIV STRESS SHAROITIDA KALAMUSH JIGAR
MITOXONDRIYA MEGAKANALINI (MPTP) KVERSETIN VA KV-BA-1
KON‘YUGATI BILAN QIYOSIY MODULYATSIYASI**

<https://doi.org/10.70728/qdpi.v08.i01.007>

Ernazarov Zafarjon Mamurovich

Qo‘qon davlat universiteti Biologiya kafedrası v.b.dotsenti b.f.f.d. (PhD)

Saidqulova Zarnigor Akmaljon qizi

Qo‘qon davlat universiteti 2-kurs magistranti

Toshmatova Shoiraxon Ruziyevna

Qo‘qon davlat universiteti Biologiya kafedrası dotsenti b.f.n.

Annotatsiya. Ushbu tadqiqotda $PbCl_2$ orqali chaqirilgan oksidativ stress (OS) modeli yordamida kalamush jigar mitoxondriyalariga kversetin va kversetinning benzilamin bilan reaksiyasi natijasida sintezlangan KV-BA-1 kon‘yugatining ta‘siri o‘rganildi. Tadqiqot natijalari shuni ko‘rsatdiki, Pb^{2+} organizmga kirgandan so‘ng mitoxondriya funksiyasini buzib, reaktiv kislorod turlarining (ROS) ortiqcha hosil bo‘lishi va lipid peroksidlanish jarayonini faollashtiradi, natijada jigar mPTP ochiq konformatsion holatga o‘tadi. Kversetin mPTP ochilishini 27,8 % ga ingibirlash orqali mitoxondriya barqarorligini saqladi, KV-BA-1 kon‘yugati esa 37,3 % ga kamaytirib, kversetinga nisbatan samaraliroq ta‘sir ko‘rsatdi. Ushbu natijalar KV-BA-1 kon‘yugatining oksidativ stress sharoitida mitoxondriya membrana faolligini va hujayra energetik barqarorligini saqlashdagi yuqori potensialini tasdiqlaydi. Tadqiqot natijalari jigar patologiyalarining molekulyar mexanizmlarini chuqurroq tushunishga va yangi farmakologik gipotoprotektiv yondashuvlarni ishlab chiqishda ilmiy asos yaratadi.

Kalit so‘zlar: Pb^{2+} , oksidativ stress, mitoxondriya, mPTP, kversetin, KV-BA-1 kon‘yugati, jigar, ROS, lipid peroksidlanish, biofaol moddalar

Аннотация. В данном исследовании с использованием модели окислительного стресса (OS), индуцированного $PbCl_2$, было изучено влияние кверцетина и конъюгата KV-BA-1, синтезированного в результате реакции кверцетина с бензиламином, на митохондрии печени крыс. Результаты исследования показали, что после попадания Pb^{2+} в организм нарушается функция митохондрий, усиливается образование реактивных форм кислорода (ROS) и активируется процесс перекисного окисления липидов, в результате чего печёночный mPTP переходит в открытую

конформационную форму. Кверцетин, ингибируя открытие mPTP на 27,8 %, сохранял стабильность митохондрий, тогда как конъюгат KV-BA-1 снижал данный показатель на 37,3 % и проявлял более выраженный эффект по сравнению с кверцетином. Полученные результаты подтверждают высокий потенциал конъюгата KV-BA-1 в сохранении активности митохондриальной мембраны и энергетической стабильности клетки в условиях окислительного стресса. Результаты исследования создают научную основу для более глубокого понимания молекулярных механизмов патологий печени и разработки новых фармакологических гепатопротекторных подходов.

Ключевые слова: Pb^{2+} , окислительный стресс, митохондрии, mPTP, кверцетин, конъюгат KV-BA-1, печень, ROS, перекисное окисление липидов, биоактивные вещества.

Annotation. In this study, the effects of quercetin and the KV-BA-1 conjugate, synthesized as a result of the reaction of quercetin with benzylamine, on rat liver mitochondria were investigated using a $PbCl_2$ -induced oxidative stress (OS) model. The results of the study showed that after Pb^{2+} enters the organism, mitochondrial function is impaired, the excessive formation of reactive oxygen species (ROS) increases, and the process of lipid peroxidation is activated, as a result of which the liver mPTP shifts to an open conformational state. Quercetin preserved mitochondrial stability by inhibiting mPTP opening by 27.8%, while the KV-BA-1 conjugate reduced this indicator by 37.3% and demonstrated a more effective action compared with quercetin. These results confirm the high potential of the KV-BA-1 conjugate in maintaining mitochondrial membrane activity and cellular energy stability under conditions of oxidative stress. The findings provide a scientific basis for a deeper understanding of the molecular mechanisms of liver pathologies and for the development of new pharmacological hepatoprotective approaches.

Keywords: Pb^{2+} , oxidative stress, mitochondria, mPTP, quercetin, KV-BA-1 conjugate, liver, ROS, lipid peroxidation, bioactive substances.

Kirish. OS hujayralarda reaktiv kislorod turlari (ROS) hosil bo‘lishi va antioksidant himoya tizimlari o‘rtasidagi muvozanatning buzilishi natijasida yuzaga keladigan patologik holat bo‘lib, u lipidlar, oqsillar va nuklein kislotalarning oksidlanish shikastlanishi bilan namoyon bo‘ladi. OS ko‘plab kasalliklarning, jumladan, jigar patologiyalarining rivojlanishida yetakchi patogenetik omillardan biri hisoblanadi [11]. Detoksifikatsiya jarayonlarining markaziy organi bo‘lgan jigar ksenobiotiklar va og‘ir metallarning neytrallanishida faol ishtirok etgani sababli oksidlovchi stress omillariga ayniqsa sezgir hisoblanadi.

Atrof-muhit toksinlari orasida qo‘rg‘oshin (Pb^{2+}) yuqori toksikligi, bioakkumulyatsiya xususiyati va keng tarqalganligi bilan ajralib turadi. Pb^{2+} sanoat, qishloq xo‘jaligi, maishiy va texnologik jarayonlarda keng qo‘llanilishi natijasida ekologik muhitda to‘planib, inson organizmiga asosan nafas olish va oshqozon-ichak tizimi orqali kirib boradi

[3]. Organizmga so‘rilgan Pb^{2+} jigar to‘qimalarida qisman kon'yugatsiyalanadi va buyraklarga transport qilinadi, biroq uning muayyan qismi jigar hujayralarida va boshqa a'zolarida to'planib, molekulyar va hujayraviiy darajada chuqur metabolik buzilishlarni keltirib chiqaradi [8].

Pb^{2+} ning gepatotoksik ta'siri, asosan, ROS hosil bo'lishini kuchaytirishi va mitoxondriya funksiyasining izdan chiqishi bilan bog'liq. Mitoxondriya hujayraning energetik gomeostazini ta'minlovchi asosiy organella bo'lib, uning strukturaviy va funksional yaxlitligi hujayra tirikligi uchun hal qiluvchi ahamiyatga ega. Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, Pb^{2+} mitoxondriya ichki membranasining o'tkazuvchanligini oshiradi va mitoxondriya megakanal (mPTP) ning ochilishiga sabab bo'ladi [1]. MPTP.ning ochilishi mitoxondriya membrana potensialining pasayishi, matriksning osmotik shishi va tashqi membrananing yorilishi bilan kechadi. Ushbu jarayon natijasida sitoxrom c sitoplazmaga ajralib chiqib, kaspaza kaskadining faollashuvi orqali hujayra apoptozini rivojlantiradi [5]. Shuningdek, Pb^{2+} mitoxondriya ichki membrana oqsillarining konformatsion holatini o'zgartirib, membrana suyuqligining pasayishiga olib keladi, bu esa mPTP ochilishi uchun qulay sharoit yaratadi [6].

Oxirgi yillarda o'simliklardan ajratib olingan tabiiy biofaol moddalarning oksidativ stress sharoitida hujayra va mitoxondriya darajasida himoya ta'sirini o'rganishga katta e'tibor qaratilmoqda. Xususan, flavonoidlar kuchli antioksidant xususiyatlarga ega bo'lib, ular erkin radikallarni neytrallashtirish, lipid peroksidlanishini susaytirish va mitoxondriya membranalarning barqarorligini saqlashda muhim rol o'ynaydi [7].

Flavonoidlar orasida kversetin yuqori biologik faolligi bilan ajralib turadi. Kversetin polifenolik tuzilishga ega bo'lib, uning molekulasida kon'yugatsiyalangan π -elektron tizimining mavjudligi antioksidant faolligini sezilarli darajada kuchaytiradi. Tadqiqotlar kversetinning ROS ni tutib qolish, metall ionlarini xelatlash va antioksidant fermentlar faolligini oshirishini ko'rsatadi [2]. Bundan tashqari, kversetin mPTP ochilishini ingibirlab, mitoxondriya membrana potensialini saqlab qolishga va apoptoz jarayonlarini susaytirishga yordam beradi [9].

Shunday qilib, Pb^{2+} bilan induktsiyalangan oksidativ stress sharoitida jigar mitoxondriya PTP ni modulyatsiyalashda kversetinning himoya mexanizmlarini o'rganish jigar patologiyalarining molekulyar mexanizmlarini chuqurroq anglash hamda yangi farmakologik yondashuvlarni ishlab chiqish uchun muhim ilmiy va amaliy ahamiyatga ega hisoblanadi.

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

Tadqiqot maqsadi. $PbCl_2$ yordamida chaqirilgan OS modelida kalamush jigar mPTP ga kversetin va kversetinni benzilamin bilan reaksiyasi natijasida sintezlangan KV-BA-1

kon'yugati (8-[(Benzilamino)metil]-2-(3,4-digidroksifenil)-3,5,7-trigidroksi-4H-xromen-4-OH) ta'sirini *in vivo* tajriba sharoitida aniqlashdan iborat.

Tadqiqot materiallari va usullari. PbCl₂ yordamida OS chaqirish maqsadida zotsiz oq erkak kalamushlarni (200-220 g) 4 ta guruhga ajratildi. OS chaqirish uchun 1 guruhdan tashqari barcha guruh kalamushlariga PbCl₂ 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 kon'yugati 7 kun davomida pereoral yo‘l orqali ozuqasiga qo‘shib berib borildi.

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

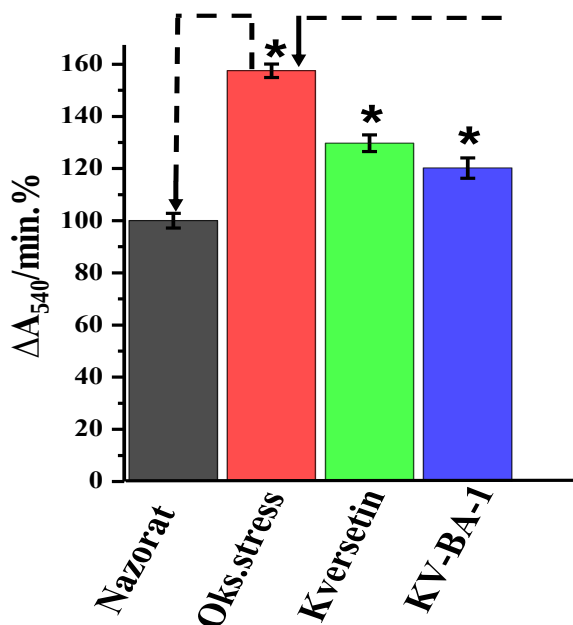
Kalamush jigar mitoxondriyasining bo‘kish kinetikasini (0,3-0,4 mg/ml) mitoxondriya suspenziyasining 26°C haroratda doimo aralashtirib turgan holda optik zichligini 540 nm. da ochiq yacheykada (hajmi 3 ml) o‘zgarishi bo‘yicha aniqlandi. Kalamush jigar mPTP aniqlashda quyidagi inkubatsiya muhitidan (IM) foydalanildi: 200 mM saxaroza, 5 mM suksinat, 20 mkM EGTA, 2 mkM rotenon, 1 mkg/ml oligomitsin, 20 mM Tris, 1 mM KH₂PO₄ va 20 mM HEPES, pH 7,2 [4].

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. OS sharoitida mitoxondriya ichki va tashqi membranalarida joylashgan mPTP o‘tkazuvchanligini ortishi kuzatiladi. Ushbu holat mitoxondriya membranalarining funksional yaxlitligi buzilishiga olib kelishi mumkin. Oksidativ stress ta'siri ostida yuqori o‘tkazuvchan konformatsion holatga o‘tgan mPTP ga biofaol moddalarning ta'sirini baholash maqsadida ushbu tajribalar o‘tkazildi. Xususan, Ca²⁺ ionlari yordamida induktsiyalangan jigar mitoxondriyasining PTP o‘tkazuvchanligiga biofaol birikmalarning modulyatsion ta'siri aniqlandi.

Ushbu tadqiqotda jigar mitoxondriyalarining bo‘kishini chaqirish uchun induktor sifatida CaCl₂ ning 50 mkM konsentratsiyasidan foydalanildi. Sog‘lom kalamushlardan (1-guruh) ajratilgan jigar mitoxondriyalarining CaCl₂ ta'sirida yuzaga kelgan bo‘kish nazorat sifatida 100 % deb belgilandi. Oksidativ stress (OS) modeli bilan induktsiyalangan 2-guruh kalamushlarning jigar mitoxondriyalarida mPTP bo‘kish nazorat guruhiga nisbatan 57,5 % ga oshgani aniqlanib, PbCl₂ ta'sirining mitoxondriya funksiyasiga sezilarli darajada salbiy ta'sir ko‘rsatishini ko‘rsatdi. Ushbu natija OS modelining samarali va reproduktiv ekanligini tasdiqlaydi.

Stress sharoitida biofaol moddalar ta'sirini baholash maqsadida 3-guruh kalamushlarga kversetin yuborildi. Kversetin qabul qilgan kalamushlarning jigar mitoxondriyalarida bo'kish darajasi patologik guruh (2-guruh) ko'rsatkichiga nisbatan 27,8 % ga kamaygani aniqlandi. Ushbu natija kversetinning mPTP o'tkazuvchanligini ingibirlash va mitoxondriya barqarorligini saqlashdagi samarali ta'sirini tasdiqlaydi.



1-rasm. OS modelida kalamush jigar mitoxondriyasi bo'kishiga kversetin va KV-BA-1 kon'yugatining ta'siri. (*P<0,05; n=5).

Shu bilan birga, 4-guruh kalamushlarga KV-BA-1 kon'yugati yuborilganda ularning jigar mitoxondriyalaridagi bo'kish 2-guruhga nisbatan 37,3 % ga kamaygani kuzatildi (1-rasm). Qiyosiy tahlil shuni ko'rsatadiki, PbCl₂ orqali chaqirilgan OS sharoitida KV-BA-1 kon'yugati jigar mitoxondriyalaridagi bo'kishni kversetining nisbatan samaraliroq modulyatsiya qilgan.

Xulosa. Pb²⁺ ning tanada biologik funksiyasi mavjud emas va u tanaga kirgandan so'ng, sog'liq uchun qaytarilmas jiddiy oqibatlarga olib kelishi ma'lum. Bu organizmning deyarli barcha asosiy organ tizimlariga, masalan, gematopoetik, buyrak, asab va yurak-qon tomir tizimlariga ta'sir qiladi. Pb²⁺ning toksikologiyasini tushuntirish uchun turli xil molekular, hujayrali va hujayra ichidagi mexanizmlar taklif qilingan, ular oksidlovchi stress, ion mexanizm va apoptoz hosil bo'lishini o'z ichiga oladi. Pb²⁺ mitoxondriyaga ta'siri natijasida ROS ishlab chiqarishi oshadi, bu esa oksidativ stressga olib keladi. Olib borgan tadqiqotimizdan shu narsa ma'lum bo'ldiki, PbCl₂ kalamush organizmiga kiritilishi oksidativ stressga olib keldi. Kalamush jigar mitoxondriyalarida oksidativ stress natijasida LPO jarayoni faollashdi hamda jigar mPTP ochiq konformatsion holatga o'tdi.

Tajriba sharoitida kversetin va kversetinining benzilamin bilan reaksiyasi natijasida sintezlangan KV-BA-1 kon'yugati ta'siri baholandi. Kversetin mPTP ochilishini 27,8 % ga

ingibirlash orqali mitoxondriya faoliyatini barqarorlashtirdi. Shu bilan birga, KV-BA-1 kon'yugati jigar mitoxondriyalaridagi bo'kishni 37,3 % ga kamaytirib, kversetinga nisbatan samaraliroq ta'sir ko'rsatdi. Ushbu natijalar KV-BA-1 kon'yugatining oksidativ stress sharoitida mitoxondriya membrana faolligini va hujayra energetik barqarorligini saqlashdagi yuqori potensialini tasdiqlaydi.

Shu tariqa, PbCl₂ bilan induktsiyalangan OS modelida jigar mitoxondriya bo'kishini baholash va biofaol moddalar orqali modulyatsiya qilish natijalari, bir tomondan, jigar patologiyalarining molekulyar mexanizmlarini chuqurroq tushunishga, ikkinchi tomondan esa yangi farmakologik yondashuvlar va gipotoprotektiv preparatlarni ishlab chiqishda amaliy asos yaratadi. KV-BA-1 kon'yugati, xususan, Pb²⁺ ning toksik ta'sirini kamaytirishda va mitoxondriya funksiyasini saqlashda samarali biofaol birikma sifatida tavsiflanadi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati

1. Bernardi, P., & Di Lisa, F. (2015). The mitochondrial permeability transition pore: Molecular nature and role as a target in cardioprotection. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 78, 100–106.
2. Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2–3), 325–337.
3. Flora, S. J. S. (2012). Lead exposure: Health effects, prevention and treatment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(1), 1–14.
4. He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278(19). – P. 16755-16760.
5. Lemasters, J. J., Theruvath, T. P., Zhong, Z., & Nieminen, A. L. (2009). Mitochondrial calcium and the permeability transition in cell death. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*, 1787(11), 1395–1401.
6. Ott, M., Gogvadze, V., Orrenius, S., & Zhivotovsky, B. (2007). Mitochondria, oxidative stress and cell death. *Apoptosis*, 12(5), 913–922.
7. Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
8. Patrick, L. (2006). Lead toxicity, a review of the literature. Part I: Exposure, evaluation, and treatment. *Alternative Medicine Review*, 11(1), 2–22.
9. Santos, A. C., Uyemura, S. A., Lopes, J. L. C., Bazon, J. N., Mingatto, F. E., & Curti, C. (2018). Effect of quercetin on mitochondrial permeability transition pore and oxidative stress. *Toxicology in Vitro*, 50, 1–9.
10. Schneider W.C., Hogeboom G.H. Cytochemical studies of mammalian tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation // *Cancer. Res.* – 1951. – 11. – P. 1-22.

11. Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.