



**IN VIVO SHAROITIDA KV-BA-1 KON‘YUGATINI KALAMUSH JIGAR
MITOXONDRIYASI ATFGA BOG‘LIQ KALIY KANAL FAOLLIGIGA TA‘SIRI**

<https://doi.org/10.70728/qdpi.v08.i01.008>

Saidqulova Zarnigor Akmaljon qizi

Qo‘qon davlat universiteti 2-kurs magistranti

Ernazarov Zafarjon Mamurovich

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

Toshmatova Shoiraxon Ruziyevna

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

Annotatsiya. Mazkur tadqiqotda $PbCl_2$ yordamida chaqirilgan oksidativ stress sharoitida *in vivo* tajribalar orqali kalamush jigar mitoxondriyasida ATFga bog‘liq kaliy kanalining ($mitoK_{ATF}$) funksional faolligi hamda uni kversetin va uning asosida sintez qilingan KV-BA-1 kon‘yugati yordamida korreksiyalash imkoniyatlari o‘rganildi. Oksidativ stress ta‘sirida $mitoK_{ATF}$ -kanali o‘tkazuvchanligining sezilarli darajada ingibirlanishi aniqlandi. Kversetin bilan korreksiyalash $mitoK_{ATF}$ -kanali faolligini qisman tiklagan bo‘lsa, KV-BA-1 kon‘yugati ushbu kanal o‘tkazuvchanligini yanada samarali faollashtirib, mitoxondriya membrana barqarorligi va K^+ ionlari oqimini yaxshilashi kuzatildi. Olingan natijalar KV-BA-1 kon‘yugatining oksidativ stress sharoitida mitoxondriya sitoproteksiyasini ta‘minlovchi va bioenergetik barqarorlikni tiklovchi istiqbolli farmakologik modulyator ekanligini ko‘rsatadi.

Kalit so‘zlar: mitoxondriya, $mitoK_{ATF}$, oksidativ stress (OS), qo‘rg‘oshin xlorid ($PbCl_2$), kversetin, KV-BA-1 kon‘yugati, jigar mitoxondriyasi, *in vivo* tajribalar, sitoproteksiya.

Аннотация. В данном исследовании в условиях окислительного стресса, индуцированного $PbCl_2$, с использованием экспериментов *in vivo* была изучена функциональная активность АТФ-зависимого калиевого канала ($mitoK_{ATP}$) в митохондриях печени крыс, а также возможности её коррекции с помощью кверцетина и синтезированного на его основе конъюгата KV-BA-1. Под воздействием окислительного стресса было выявлено значительное ингибирование проницаемости канала $mitoK_{ATP}$. Коррекция кверцетином частично восстанавливала активность канала $mitoK_{ATP}$, тогда как конъюгат KV-BA-1 более эффективно активировал

проницаемость данного канала, при этом наблюдалось улучшение стабильности митохондриальной мембраны и потока ионов K^+ . Полученные результаты показывают, что конъюгат KV-BA-1 является перспективным фармакологическим модулятором, обеспечивающим цитопротекцию митохондрий и восстановление биоэнергетической стабильности в условиях окислительного стресса.

Ключевые слова: митохондрии, mitoK_{ATP}, окислительный стресс (OS), хлорид свинца ($PbCl_2$), кверцетин, конъюгат KV-BA-1, митохондрии печени, эксперименты in vivo, цитопротекция.

Annotation. In this study, under conditions of $PbCl_2$ -induced oxidative stress, the functional activity of the ATP-dependent potassium channel (mitoK_{ATP}) in rat liver mitochondria and the possibilities of its correction using quercetin and the KV-BA-1 conjugate synthesized on its basis were investigated through in vivo experiments. Under the influence of oxidative stress, a significant inhibition of mitoK_{ATP} channel permeability was identified. Correction with quercetin partially restored mitoK_{ATP} channel activity, whereas the KV-BA-1 conjugate more effectively activated the permeability of this channel, and an improvement in mitochondrial membrane stability and K^+ ion flux was observed. The obtained results indicate that the KV-BA-1 conjugate is a promising pharmacological modulator that provides mitochondrial cytoprotection and restores bioenergetic stability under conditions of oxidative stress.

Keywords: mitochondria, mitoK_{ATP}, oxidative stress (OS), lead chloride ($PbCl_2$), quercetin, KV-BA-1 conjugate, liver mitochondria, in vivo experiments, cytoprotection.

Kirish. Mitoxondriyalar hujayra energetikasining markaziy bo‘g‘ini bo‘lib, adenozin trifosfat (ATF) sintezi, oksidlanishli fosforlanish jarayonlari hamda mitoxondriya sitoproteksiya orqali asosiy metabolik jarayonlarni boshqaradi. Shu sababli, so‘nggi yillarda mitoxondriya funksional holatini ta‘minlovchi mexanizmlar, xususan mitoxondriya ion kanallari keng ilmiy qiziqish uyg‘otmoqda. Ayniqsa, mitoK_{ATF}-kanalining hujayra barqarorligini ta‘minlashdagi sitoprotektiv roli faol o‘rganilmoqda [9].

MitoK_{ATF}-kanali ichki mitoxondriya membranasida joylashgan bo‘lib, membrana potentsiali, mitoxondriya matriks hajmi hamda reaktiv kislorod turlari (ROS) hosil bo‘lishini modulyatsiya qiladi [7]. Ushbu kanalning faollashuvi mitoxondriya shishishini fiziologik chegaralarda ushlab turadi, Ca^{2+} ionlarining ortiqcha to‘planishini cheklaydi va shu orqali mitoxondriya orqali kechadigan apoptotik jarayonlarning oldini olishda muhim ahamiyat kasb etadi [13].

Jigar mitoxondriyalarida mitoK_{ATF}-kanali metabolik stress sharoitida, jumladan gipoksiya, oksidativ stress hamda toksik metall ionlari ta‘sirida adaptiv kompensator mexanizm sifatida faoliyat ko‘rsatadi [17]. Biroq, kuchli oksidativ stress sharoitida mitoxondriya membranalari lipid peroksidlanishiga uchrab, ion kanallari faoliyatining

buzilishi kuzatiladi [8]. ROS miqdorining keskin oshishi mitoxondriya megakanali (mPTP) ning patologik ochilishiga olib kelib, ATF sintezining pasayishi va hujayra o‘limi bilan yakunlanadi [1].

Mazkur holatlar mitoxondriya funksional yaxlitligini saqlab qolishda mitoK_{ATF}-kanalini farmakologik yo‘l bilan modulyatsiyalashni istiqbolli strategiya sifatida qarashga asos bo‘lmoqda [6]. Ushbu yondashuvning dolzarbligi, ayniqsa, og‘ir metall toksikantlari bilan bog‘liq patologik holatlarda yanada yaqqol namoyon bo‘ladi.

Og‘ir metallardan biri bo‘lgan qo‘rg‘oshin (Pb²⁺) biologik tizimlar uchun kuchli toksikant hisoblanadi. Organizmga tushgan Pb²⁺ ionlari hujayra ichida antioksidant himoya tizimlarini izdan chiqarib, oksidativ stress rivojlanishiga sabab bo‘ladi [4]. Xususan, Pb²⁺ ionlari superoksid dismutaza, katalaza va glutation peroksidaza kabi asosiy antioksidant fermentlar faolligini susaytirib, ROS ning haddan tashqari to‘planishiga olib keladi [14].

Oksidativ stress sharoitida mitoxondriya membranalarida lipidlarni pereksli oksidlanish jarayonlari kuchayadi va ichki mitoxondriya membranasining o‘tkazuvchanligi ortadi [3]. Natijada mitoxondriya membrana potentsiali pasayadi, ATF sintezi susayadi va hujayrada bioenergetik tanqislik yuzaga keladi [12].

Qo‘rg‘oshin ionlarining Ca²⁺ ionlariga strukturaviy o‘xshashligi ularning mitoxondriya ichiga oson kirib borishiga imkon yaratadi va kalsiyga bog‘liq signal yo‘llarining buzilishiga olib keladi [15]. PbCl₂ ta’sirida mitoxondriya megakanalining patologik ochilishi kuzatilib, sitoxrom c ning chiqishi va apoptotik mexanizmlarning faollashuvi bilan kechadi [1]. Shu bilan birga, Pb²⁺ ionlari mitoK_{ATF}-kanalining funksional faolligini susaytirishi yoki ularning regulyatsiyasini izdan chiqarishi mumkinligi qayd etilgan [17], bu esa mitoxondriyaning adaptiv imkoniyatlarini cheklab, oksidativ shikastlanishni yanada kuchaytiradi.

PbCl₂ yordamida oksidativ stress chaqirilgan *in vivo* modeli jigar mitoxondriyalarining toksik shikastlanishini o‘rganishda keng qo‘llaniladi. Jigar qo‘rg‘oshin ionlarining asosiy akkumulatsiya qiluvchi organi bo‘lib, mitoxondriya darajasida yuzaga keladigan disfunksiyalar umumiy metabolik buzilishlar bilan kechadi [5].

Shu nuqtai nazardan, PbCl₂ bilan chaqirilgan oksidativ stress sharoitida mitoK_{ATF}-kanalini farmakologik yo‘l bilan modulyatsiyalash, xususan biofaol moddalar yordamida mitoxondriya sitoproteksiyasi va bioenergetik barqarorlikni tiklash istiqbolli yo‘nalish sifatida qaralmoqda. Bunday yondashuv ROS hosil bo‘lishini cheklash, mPTP ochilishini oldini olish va hujayra barqarorligini ta’minlashga xizmat qiladi [10].

Flavonoidlar, xususan kversetin va uning hosilalari, kuchli antioksidant xususiyatlarga ega bo‘lib, mitoxondriya membrana barqarorligini ta’minlaydi [2]. Tadqiqotlar flavonoidlarning mitoK_{ATF}-kanalining ochilish ehtimolini oshirishi orqali mitoxondriya himoya mexanizmlarini faollashtirishini ko‘rsatgan. Biroq, kversetinning benzilamin bilan reaksiyasi natijasida sintezlangan KV-BA-1 kon’yugatining (8-

[(Benzilamino)metil]-2-(3,4-digidroksifenil)-3,5,7-trigidroksi-4H-xromen-4-on) *in vivo* sharoitda kalamush jigar mitoK_{ATF}-kanalining funksional faolligiga ta’siri hozirga qadar yetarlicha o‘rganilmagan.

In vivo tajribalar mitoxondriya ion kanallarining murakkab regulyatsiyasini butun organizm darajasida baholash imkonini beradi. Kalamush jigar modeli detoksikatsiya jarayonlaridagi yetakchi roli va yuqori metabolik faolligi sababli farmakologik modulyatorlarni sinash uchun qulay hisoblanadi [11]. Shu bois, KV-BA-1 kon’yugatining mitoK_{ATF}-kanaliga ta’sirini *in vivo* sharoitda o‘rganish uning biologik samaradorligi va klinik istiqbolini baholashda muhim ilmiy ahamiyat kasb etadi.

Tadqiqot maqsadi. Oksidativ stress sharoitida *in vivo* tajribalarida kalamush jigar mitoK_{ATF}-kanali faolligiga kversetin va uning asosida sintez qilingan KV-BA-1 kon’yugat ta’sirini o‘rganishdan iborat.

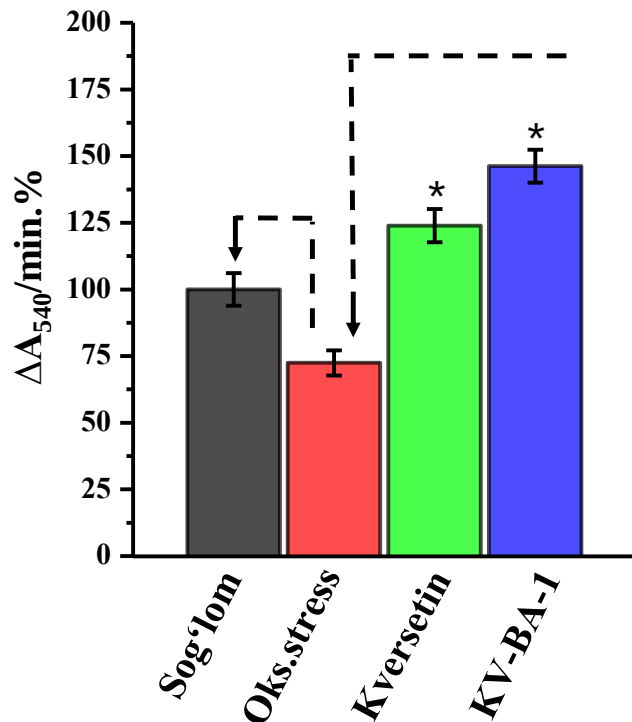
Tadqiqot materiallari va usullari. OS chaqirish maqsadida zotsiz oq erkak kalamushlarni (200-220 g) 4 ta guruhga ajratildi. OS chaqirish uchun 1 guruhdan tashqari barcha guruh kalamushlariga PbCl₂ ni sutkasiga 10 mg/kg miqdorida 7 kun davomida pereoral yo‘l bilan berib borildi. OS hosil bo‘lgandan so‘ng 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 20 mg/kg miqdorida pereoral yo‘l orqali ozuqasiga qo‘shib berib borildi.

Kalamush jigaridan mitoxondriyalar Schneiderning differensial sentrafugalash usuli yordamida ajratib olindi [16]. Kalamush jigaridan mitoxondriya ajratish uchun inkubatsiya muhiti (mM): Saxaroza-250, tris – xlorid-10, EDTA-1; (pH 7.4).

MitoK_{ATF}-kanali o‘tkazuvchanligini aniqlash uchun mitoxondriyaning bo‘kish (shishish) kinetikasini (0,3-0,4 mg/ml) uning suspenziyasining 26°S haroratda doimo aralashtirib turgan holda optik zichligini ΔA_{540} nm da o‘zgarishi bo‘yicha aniqlandi. Inkubatsiya muhiti: (mM) KCl - 125, MgSO₄ - 1, K₂HPO₄ - 2,5, KH₂PO₄ - 2,5, HEPES – 10, suksinat - 5, rotenon - 0,005 va oligomitsin - 0,001; (pH 7,4) [18].

Kalamush jigar mitoxondriyasidagi oqsil miqdori biuret reaksiyasi bo‘yicha aniqlandi. Olingan natijalarni statistik qayta ishlash va rasmlarni chizish OriginPro 8.5 (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. PbCl₂ orqali chaqirilgan OS modelida hayvonlarning jigar mitoK_{ATF}-kanali faolligini o‘zgarishi va ularga biofaol moddalarning ta’siri bo‘yicha keng miqyosda tadqiqotlar olib borilmagan. Mana shu nuqtai nazardan biz *in vivo* sharoitida tajribalar olib bordik.



1-rasm. OS modelida kalamush jigar mitoK_{ATF}-kanaliga kversetin va KV-BA-1 kon'yugatining ta'siri. (*P<0,05; n=6).

MitoK_{ATF}-kanali OS sharoitida va o'simliklardan ajratib olingan biofaol moddalar ta'sirida mitoxondriya suspenziyasini optik zichligi o'zgaradi, bu esa matriks bo'kishi asosida yuz beradi.

Olingan natijalarga ko'ra I nazorat guruhi IM da ATF mavjud sharoitda jigar mitoK_{ATF}-kanal o'tkazuvchanligi nazorat sifatida 100% deb olindi. OS (PbCl₂) chaqirilgan II guruh kalamushlarni jigar mitoK_{ATF}-kanal o'tkazuvchanligi, IM da ATF mavjud sharoitda nazorat guruhiga nisbatan mitoK_{ATF}-kanal faolligini 27,6% ingibirlashi aniqlandi. OS chaqirilgan III guruh kalamushlarga kversetin yuborilishi natijasida, IM da ATF mavjud sharoitda jigar mitoK_{ATF}-kanal o'tkazuvchanligi II guruh natijasiga nisbatan 51,5% faollashtirganligi aniqlandi. IV guruh kalamushlarga korreksiyalash uchun KV-BA-1 kon'yugatini yuborilishi mitoK_{ATF}-kanal o'tkazuvchanligini II guruh ko'rsatkichiga nisbatan 73,8% ga faollashganligi aniqlandi (1-rasm). Demak, OS sharoitida kalamush jigar mitoxondriyasining K⁺ ionlarini ATFga bog'liq o'tkazuvchanlik qiymati kamayib, ingibirlanishi aniqlandi. MitoK_{ATF}-kanalining o'tkazuvchanligi ingibirlanishi matriksga K⁺ ionlari kirishi cheklanishiga olib keladi. Bu esa mitoxondriya matriksini hajm boshqarilishi va potensial qiymatini o'zgarishiga sabab bo'lishi mumkin. Tanlab olingan biofaol birikmalar OS sharoitida mitoxondriyaning K⁺ ionlari uchun o'tkazuvchanligini oshirishi va membrana barqarorligini ta'minlashi antistress sifatida baholash imkonini beradi.

Xulosa. Oksidativ stress fonida kversetin bilan korreksiyalash mitoK_{ATF}-kanal faolligini qisman tiklab, mitoxondriya ion o'tkazuvchanligini va funksional barqarorligini oshirishi aniqlandi. Biroq, kversetin asosida sintez qilingan KV-BA-1 kon'yugati mitoK_{ATF}-

kanal o‘tkazuvchanligini yanada kuchliroq faollashtirib, oksidativ stress sharoitida mitoxondriya K^+ -ionlariga bog‘liq adaptiv mexanizmlarni samaraliroq tiklashi kuzatildi. Bu holat KV-BA-1 kon'yugatining antioksidant va mitoxondriya-sitoprotektiv ta'siri kversetinga nisbatan yuqoriroq ekanligini ko'rsatadi.

Umuman olganda, olingan natijalar KV-BA-1 kon'yugatining oksidativ stress sharoitida kalamush jigar mitoxondriyasida K_{ATP} -kanalini farmakologik modulyatsiyalash orqali mitoxondriya funksional yaxlitligini saqlash, bioenergetik barqarorlikni tiklash va hujayrani stressga chidamliligini oshirishda istiqbolli biofaol birikma ekanini tasdiqlaydi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Bernardi, P., Rasola, A., Forte, M., & Lippe, G. (2015). The mitochondrial permeability transition pore: Channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology. *Physiological Reviews*, 95(4), 1111–1155.
2. Boots, A. W., Haenen, G. R., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585(2–3), 325–337.
3. Ercal, N., Gurer-Orhan, H., & Aykin-Burns, N. (2001). Toxic metals and oxidative stress part I: Mechanisms involved in metal-induced oxidative damage. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 1(6), 529–539.
4. Flora, G., Gupta, D., & Tiwari, A. (2012). Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, 5(2), 47–58.
5. Flora, S. J. S., Mittal, M., & Mehta, A. (2008). Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal of Medical Research*, 128(4), 501–523.
6. Garlid, K. D., & Halestrap, A. P. (2012). The mitochondrial K_{ATP} channel—Fact or fiction? *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 52(3), 578–583.
7. Garlid, K. D., Dos Santos, P., Xie, Z. J., Costa, A. D., & Paucek, P. (2003). Mitochondrial potassium transport: The role of the mitochondrial ATP-sensitive K^+ channel in cardiac function and cardioprotection. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1606(1–3), 1–21.
8. Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
9. Inoue, I., Nagase, H., Kishi, K., & Higuti, T. (1991). ATP-sensitive K^+ channel in the mitochondrial inner membrane. *Nature*, 352(6332), 244–247.
10. Ivanov, A. V., Petrov, D. S., & Smirnov, L. P. (2020). Mitochondrial potassium channels as targets for novel flavonoid conjugates. *Biochemistry (Moscow)*, 85(9), 1054–1063.
11. Klingenberg, M. (2008). The ADP and ATP transport in mitochondria and its carrier. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1778(10), 1978–2021.

12. Liu, C. M., Zheng, Y. L., Lu, J., Zhang, Z. F., Fan, S. H., Wu, D. M., & Ma, J. Q. (2009). Quercetin protects rat liver against lead-induced oxidative stress and apoptosis. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 27(3), 423–429.
13. O’Rourke, B. (2004). Evidence for mitochondrial K⁺ channels and their role in cardioprotection. *Circulation Research*, 94(4), 420–432.
14. Patrick, L. (2006). Lead toxicity, a review of the literature. Part I: Exposure, evaluation, and treatment. *Alternative Medicine Review*, 11(1), 2–22.
15. Sanders, T., Liu, Y., Buchner, V., & Tchounwou, P. B. (2009). Neurotoxic effects and biomarkers of lead exposure: A review. *Reviews on Environmental Health*, 24(1), 15–45.
16. 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.
17. Szewczyk, A., Jarmuszkiewicz, W., Kunz, W. S., & Wojtczak, L. (2009). Mitochondrial potassium channels. *IUBMB Life*, 61(2), 134–143.
18. Вадзюк О.Б., Костерин С.А. Индуцированное диазоксидом набухание митохондрий миокарда крыс как свидетельство активации АТР-чувствительного К⁺-канала // *Укр. биохим. журн.* – 2008. – Т. 80(5). – С. 45-51.