

ГИПОТИРЕОЗ МОДЕЛИДА КАЛАМУШ ЖИГАРИ АНТИОКСИДАНТ ТИЗИМИГА АЙРИМ ПОЛИФЕНОЛЛАРНИНГ ТАЪСИРИ

Муҳаммаджон Абдувалиевич Мустафакулов

Ўзбекистон Миллий унверситети, Биофизика ва биокимё институти
mmustafakulov@bk.ru

Жасурбек Соибжон ўғли Мирзакулов

Хусен Қувондиқ ўғли Баҳодиров

Жаҳонгир Исмоилжон ўғли Туйчибойев

Моҳимбону Абдуманнон қизи Равшанова

Гулшода Озат қизи Қаландарова

Ўзбекистон Миллий унверситети

АННОТАЦИЯ

Тиббиётда қўлланилиб келинаётган доривор моддалар орасида ўсимликлардан ажратилган биологик фаол бирикмаларининг аҳамияти катта бўлиб, булар юқори физиологик фаоллиги, фармакологик таъсири билан тавсифланади. Сўнги пайтларда тўқима ва ҳужайралардаги гипотиреоз ривожланишида энергия, кислороднинг фаол шаклини ҳосил бўлиши билан борадиган патологик жараёнларни коррекциялаш муаммоларига катта эътибор қаратилмоқда

Калит сўзлар: дигидрокверцетин, кверцетин, флавоноид, гипотиреоз, қалқонсимон без.

ABSTRACT

Biologically active compounds isolated from plants are of great importance among medicinal substances used in medicine, which are characterized by high physiological activity and pharmacological effects. Recently, much attention has been paid to the problems of correcting the pathological processes that go with the formation of the active form of energy and oxygen in the development of hypothyroidism in tissues and cells.

Keywords: dihydroquercetin, quercetin, flavonoid, hypothyroidism, thyroid glandю

КИРИШ

Организмда кечадиган ҳар қандай касаллик оқибатида эркин радикалларнинг ҳосил бўлиши кучайиб кетади. Тиббиётда қўлланилиб келинаётган доривор моддалар орасида ўсимликлардан ажратилган биологик фаол бирикмаларининг аҳамияти катта бўлиб, булар юқори физиологик фаоллиги, фармакологик таъсири билан тавсифланади. Сўнгги пайтларда тўқима ва ҳужайралардаги гипотиреоз ривожланишида энергия, кислороднинг фаол шаклини ҳосил бўлиши билан борадиган патологик жараёнларни коррекциялаш муаммоларига катта эътибор қаратилмоқда [1, 2].

Ҳозирги кунда мамлакатимизда қалқонсимон без етишмовчилиги билан боғлиқ касалликларни даволаш учун ижобий таъсирга эга дори воситаларини яратишга ва амалиётга жорий қилишга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Республикамиз мустақилликка эришгандан буён гипотиреозга гипертиреоз хасталиги ва унинг оқибатларида келиб чиқадиган патофизиологик ўзгаришларни даволаш мақсадида маҳаллий ўсимликлардан олинган самарали дори воситаларини яратиш борасида кенг қамровли чора-тадбирлар амалга оширилиб, муайян натижаларга эришилмоқда [3].

АДАБИЁТЛАР ТАҲЛИЛИ ВА МЕТОДОЛОГИЯ

Тадқиқотлардан кўзланган асосий мақсаддиги дигидрокверцетин ва кверцетин флавоноидларнинг антиоксидантлик хусусиятлари ва уларни гипотиреоз моделида эркак оқ каламушлар органлари (қалқонсимон без, жигар, буйраклар, меъдаости беzi, юрак, жинсий органлар, ичак)даги оксидланишли стресс жараёни таъсиридаги бузилишларни коррекциялашдан иборат. ЎЗР ФА Биоорганик кимё институти ва Биофизика ва биокимё институти лабораториясида оқ каламушларда олиб борилди. Тажрибаларда 200±20 г каламушлардан фойдаланилди. Фойдаланилган каламушлар тоза, табиий ёруғлик режимидаги хоналарда алоҳида катакларда сақланди. Каламушлар озиқ-овқатни ва сувни чегараланмаган ҳолда истеъмол қилишди. Ҳайвонларнинг озукаси буғдой, писта, сут ва сут маҳсулотлари, гўшт маҳсулотлари, буғдой нони, кўкатлар, сабзавотлар, ош тузи ва емлардан иборат эди. Улар хона ҳарорати 22-24⁰С, намлиги 40-60% бўлган шароитда сақланди. Тажрибаларда қуйидаги фармакологик препаратлар ва реактивлардан фойдаланилди: ТБК (тиобарбитурат кислота), Н₂О₂, 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ), МДА, мерказалил, кверцетин, дигидрокверцетин, Рингер эритмаси (рН -7,4), фосфат тампони, дистилланган сув ва б. Фойдаланилган барча

реактивлар тажриба учун кимёвий тозалик квалификациясига эга [1, 2, 3].

Тажрибалар зотсиз вазни 100-120 гр бўлган оқ эркак каламушларда ўтказилди. Лаборатория ҳайвонларини озиклантириш виварий шароитда стандарт рационал шароитда олиб борилди. Тажрибалар *in vitro* ва *in vivo* шароитида қуйидагича босқичларда амалга оширилди: ДФПГ усули. Кверцетин ва дигидроқверцетин флавоноидларининг антиоксидант ва антирадикал хусусиятларини ДФПГ (радикал) эркин радикалининг оптик зичлиги ўзгаришини қайд этиш орқали амалга оширилди. Ушбу ишда АРА ни аниқлаш учун биз барқарор радикал 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) молекулаларининг антиоксидантлар билан қайтарилиш кинетикасини спектрофотометрик ўлчов техникасидан фойдаландик. Синов аралашмалари сувда 1 мг/мл концентрациясида эритилди. H_2O_2 усули. Водород пероксидга нисбатан бирикмаларнинг антирадикаллик фаоллигини аниқлаш учун Руч услубига асосланган усул ишлатилган. 2 мл 20 М фосфат тампони, 1 мл 43 М водород пероксид эритмаси ва 1 мл дистилланган сувни ўз ичига олган ҳар бир найчага намуналар алоҳида қўшилди. Назорат сифатида фосфат тампони эритмаси ва фосфат тампонсиз водород пероксид эритмасини қабул қилиш ишлатилган. Хона ҳароратида 10 дақиқа инкубациядан сўнг, намуналарнинг оптик зичлиги фосфат тампонининг назорат эритмасига нисбатан 230 нм да ўлчанди. Водород пероксидни қабул қилиш фоизи қуйидаги формуладан фойдаланиб ҳисоблаб чиқилган:

$$H_2O_2\% = [(A_c - A_e) / A_c \times 100]$$

бу ерда A_c - водород пероксид эритмасининг фосфат тампонсиз оптик зичлиги ва A_e - намуналарнинг оптик зичлиги [4, 5].

Тадқиқот ҳайвонларида гипотиреоз чақириш учун мерказолилдан фойдаланилди. Тажриба учун ажратилган каламушлар гуруҳларга ажратилди: I гуруҳ – назорат ($n=8$), II гуруҳ – тажриба (гипотиреоз, $n=8$), III гуруҳ - тажриба (гипотиреоз+кверцетин, $n=8$), IV гуруҳ- тажриба (гипотиреоз+дигидроқверцетин, $n=8$), II, III ва IV гуруҳлардаги каламушларда гипотиреоз касаллиги чақириш учун бир кунлик очликдан сўнг бир марта мерказолил 50 мг/кг оғиз бўшлиғи орқали перорал юборилди. III гуруҳдаги каламушларга 14 кун мобайнида бир хил вақтда, бир марта мерказолил (50 мг/кг) ва кверцетин (10 мг/кг), IV гуруҳдагиларга мерказолил ва дигидроқверцетин (10 мг/кг) оғиз бўшлиғи орқали перорал юборилди. ЛПО маҳсулотларини ажратиб олиш тиобарбитурат кислотаси (ТБК) иштирокида олиб борилди. Реакция ИМ га 0,220 мл 70 % учхлор сирка кислотаси қўшиш билан тўхтатилди. Ушбу

босқичдан сўнг митохондрия суспензияси 15 дақиқа давомида 4000 айлана минут тезликда центрифуга қилинди. Сўнгра 2 мл чўкма усти суюқлиги олинди ва 1 мл 75% ли тиобарбитурат кислота (ТБК) қуйилди. Назорат пробиркасига 2 мл H₂O ва 1 мл ТБК қўшилди. Аралашма сув ҳаммомида 30 дақиқа давомида инкубация қилинди. Совутилгандан сўнг, 540 нм тўлқин узунлигида оптик зичликнинг ўзгариши аниқланди. Шунингдек, митохондрия мембранасида ЛПО жараёнини ўрганиш учун Fe²⁺/аскорбат тизимидан фойдаланилди. Ушбу тизим таъсирида митохондриялар мембранаси барьерлик функциясини йўқотди, натижада органелла ҳажми ошиб митохондрия бўқди. Ушбу ҳажм ўзгариши фотометрик усулда аниқланди. ИМ: KCl - 125 мМ, трис-HCl - 10мМ, рН 7,4; Концентрациялар: FeSO₄ - 10 мкМ, аскорбат - 600 мкМ; митохондрия миқдори 0,5 мг/мл. [6, 7, 8]. Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш ва расмларни чизиш OriginPro 7.5 (Microsoft, USA) компьютер дастури ёрдамида амалга оширилди. Қолган қийматлар Стьюдент-Фишер жадвали иштирокида топилди. Бунда P<0,05 дан кичик бўлганда олинган тажриба натижалари статистик ишонарли деб ифодалайди.

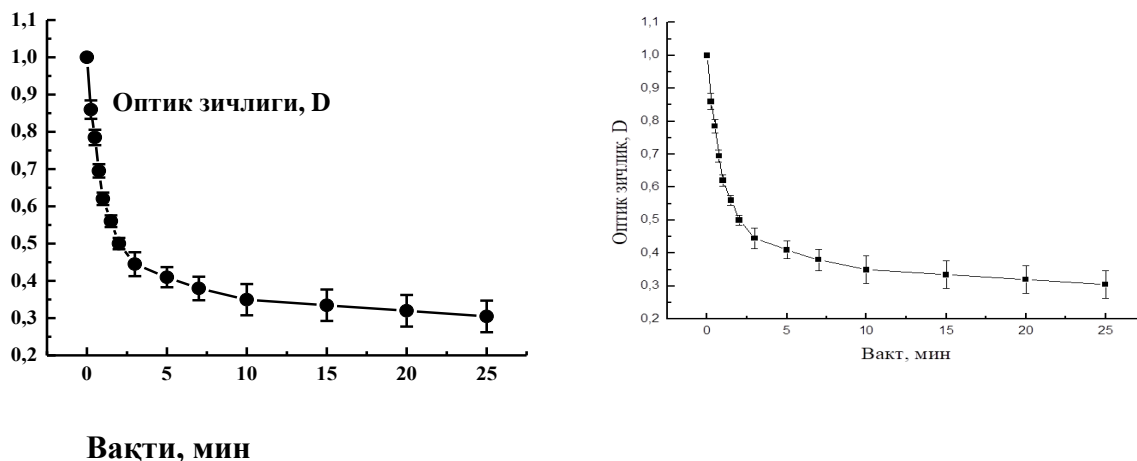
МУҲОКАМА ВА НАТИЖАЛАР

Сўнгги пайтларда реактив кислород турларининг (ROS) турли хил асалликларнинг патогенезидаги ролини ўрганишга қизиқиш ортди. Бир томондан, ROS табиий физиологик жараёнлар давомида ҳосил бўлади ва организмнинг иммунитет тизимини сақлаш, сигналларни узатиш ва гормонларни синтез қилиш учун зарурдир. Бошқа томондан, прооксидантларнинг юқори концентрациясидан келиб чиқадиган оксидланишли стресс оқсилларга, ҳужайра мембраналарига ва нуклеин кислоталарга зарар етказиши мумкин. олдини олиш ёки секинлаштириши мумкинлиги кўрсатилди [9].

Антиоксидантлар турли хил таъсир механизмларига эга бўлиши мумкинлиги сабабли, уларнинг фаолиятини турли усуллар ёрдамида ўрганиш мақсадга мувофиқдир. Ушбу ишда АРА бирикмалари икки усул билан баҳоланди: 1) ДФПГ эркин радикалига нисбатан ва 2) водород пероксидга нисбатан. ДФПГ нинг спиртли эритмасига синов аралашмалари қўшилса, эркин радикал молекулалар радикал бўлмаган шаклга айланади, ДФПГ нинг қизғиш бинафша эритмаси рангсизланади.

1-расмда ўрганилаётган намуналарни қўшганда ДФПГ эритмасининг оптик зичлиги ўзгариши кинетикаси кўрсатилган. Текширилаётган намуналарнинг АРА-ни

таққослаш учун ҳар бир бирикма учун концентрация 1 мМ модданинг концентрацияси билан тайёрланган эритмадан мос равишда 5, 10, 25, 50 ва 100 мл ни танлади.



1-расм. 50 мкл кверцетин ва дигидрокверцетин қўшилган ДФПГ спиртли эритмасининг оптик зичлиги кинетикаси (ДФПГ нисбати: полифенол 2: 1 га тўғри келади).

Олинган натижаларни таҳлил қилиб, хулосага келиш мумкинки, ўрганилган полифенолларни ДФПГ спиртли эритмасига қўшганда, ДФПГ эритмасининг оптик зичлиги кескин пасайиши кузатилади, бу текширилган кверцетин ва дигидрокверцетин бирикмаларининг антирадикаллик қобилиятини кўрсатади. Экспериментал маълумотлардан келиб чиқилиб, ўрганилаётган бирикмалар ДФПГ эркин радикалини қайтариш қобилиятига эга. Антирадикал фаолликни аниқлаш учун биз барқарор 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил (ДФПГ) радикалидан, шунингдек t_{50} параметридан, ўрганилаётган моддалар учун радикалнинг бошланғич концентрациясини 50% га камайтириш учун зарур бўлган вақтдан фойдаландик. Бундан ташқари, кверцетин ва дигидрокверцетиннинг водород пероксидга нисбатан антирадикал фаоллиги ўрганилди. Олинган натижалар ROSнинг ушбу шаклига нисбатан ингибитор таъсир мавжудлигини кўрсатди. Кверцетин ва дигидрокверцетиннинг водород пероксидга нисбатан антирадикалфаоллиги навбати билан 76 ± 4.3 ва 64 ± 2.6 ни ташкил этди, синов намуналари инкубация муҳитига олдиндан тайёрланган 1 мМ эритмадан 150 мкл ҳажмда қўшилган. Ушбу хатти-ҳаракат, эҳтимол, ўрганилаётган бирикмалар молекулаларида ҳаракатланувчи водородли бир нечта гидроксил гуруҳлари мавжудлигининг натижасидир [47].

1-жадвал.

Реакция тезлиги константалари, 50% ингибитор концентрацияси (IC_{50}) ва ДФПГ концентрациясини ўрганилаётган полифеноллар билан реакцияга киришганда 50% (t_{50}) га камайтириш учун зарур бўлган вақт

K 10-3, c-1		IC 50, mcl		T 50, sec	
DQ	Q	DQ	Q	DQ	Q
1,2	5,3	14,3	7,2	105	9,6

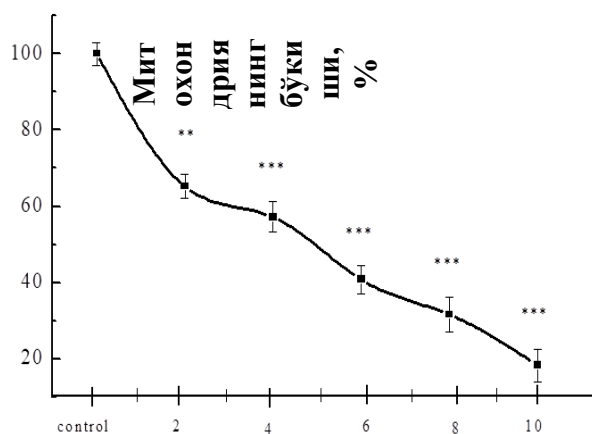
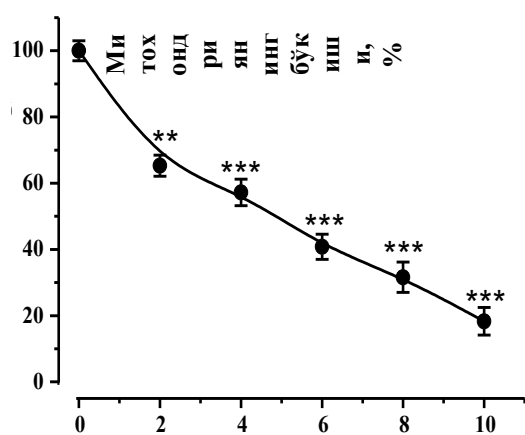
Кверцетин ва дигидрокверцетинни ўрганишда олинган тажриба натижаларини таҳлил қилиш шуни кўрсатдики, кверцетин флавоноиди дигидрокверцетинга нисбатан АРА юқори бўлиб эркин радикалларни (ДФПГ ва H_2O_2) қайтариш хусусияти нисбатан юқори, булар учун ДФПГ билан реакция доимийси энг юқори, қиймати эса бирикманинг антирадикал самарадорлиги сифатида хизмат қилиши мумкин. Эркин радикаллар ва реактив кислород турларининг зарарли таъсирига антиоксидант муҳофаа тизими қарши туради, унинг асосий фаол звеноси антиоксидантлар - эркин радикал оксидланишини (ЕРО) ингибир қилиши, камайтириши, КП ни водород атоми билан алмаштириши мумкин бўлган бирикмалар. (аксарият ҳолларда) аксептор эркин радикал (кислород, азот) учун. Антиоксидантлар табиий (биоантиоксидантлар) ва синтетик келиб чиқиши мумкин. Ушбу гуруҳ моддалари ҳаракатланувчи водород атомига эга ва шунинг учун эркин радикаллар, шунингдек эркин радикал оксидланиш катализаторлари билан реакцияга киришади. Олинган натижалар шуни кўрсатадики, ўрганилаётган бирикмалар молекулаларида антирадикаллик фаолликни намойиш этувчи ҳаракатланувчи водород атомлари мавжуд. Шу муносабат билан, кверцетин ва дигидрокверцетиннинг антирадикаллик фаоллиги юқори эканлигини ҳисобга олиб, гипотиреоз билан оғриган беморларда юзага келадиган бузилишларни тузатиш имкониятларини ўрганиш ва уларни истиқболли антиоксидант ва антигипотиреоз дори сифатида кўриб чиқиш муҳимдир. Шу асосда, биз кейинги тадқиқотларимизда иккита полифенол бирикманинг гипотиреоз моделида каламушларнинг турли органларининг оксидланишли стрессига таъсирини ўрганиб чиқдик.

Шунинг учун ЛПО жараёнларини ўрганишда темир ионларидан фойдаланилади. Бу турли биологик фаол моддаларнинг антиоксидантлик хоссаларини ўрганишда



асосий тест тизимлардан бири ҳисобланади. Бундан ташқари ЛПО жараёнларининг кальций ионларисиз индукцияси митохондриялар мембранасида жойлашган барча фосфолипазаларнинг фаоллашувига олиб келиши ҳам кўрсатилган. Адабиётлардан маълумки, хужайраларнинг нормал фаолиятида субстратларнинг кислород иштирокида оксидланишидан 98% ҳолатда АТФ ва 2% ҳолатда кислороднинг фаол шакллари ҳосил бўлади. Патологик ҳолатларда эса бу мувозанат эркин радикалларнинг кўпайиши ҳисобига бузилади [32].

Олинган натижалардан кўриниб турибдики, *in vitro* тажрибаларда кверцетинфлавоноидининг турли концентрациялари таъсирида Fe^{2+} /аскорбат билан чақирилган митохондриялар бўкишига ингибирловчи таъсири келтирилган (3.13-расм). Инкубация муҳитига Fe^{2+} /аскорбат кўшиш митохондрияларда липидларнинг перекисли оксидланиши жараёнини кескин ортишига сабаб бўлади. Маълумки, Fe^{2+} /аскорбат тизими таъсирида митохондриялар бўкади ва уларнинг ҳажми ортади. Ушбу ҳолатда митохондриялар мембранасининг лабиллиги ортиб, митохондрия мембрана потенциали пасаяди [31]. Fe^{2+} /аскорбат тизими чақирган ЛПО жараёнига кемпферолнинг турли концентрацияларини таъсир эттириш орқали унинг мембранафаол хоссага эга эканлиги аниқланди.



Кверцетиннинг концентрацияси (микромолда)

2-расм. Кверцетиннинг ва дигидрокверцетин концентрацияси (микромолда) Fe^{2+} /аскорбат билан чақирилган митохондриялардаги липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнига таъсири. Изоҳ: Ордината ўқида - Fe^{2+} /аскорбат таъсирида митохондриялар бўкиши кўрсатилган, абсциссаа ўқида - кверцетиннинг қўлланилган концентрациялари ифодаланган. Инкубация муҳити - 125 мМ KCl, 10 мМ трис-HCl, pH 7,4. (** P<0,01, *** P<0,001; n=4).

Митохондрияларда эркин радикаллар ҳосил бўлиши ва липидларнинг перекисли оксидланиши муҳим биологик жараёнлардан бири ҳисобланади. Кислород эркин радикаллари инициацияси ҳамда липидларнинг перекисли ва гидроперекисли ҳосилаларини ҳосил бўлиши оксидатив стресснинг кўриниши ҳисобланади. Эркин радикаллар липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнини кучайтиради, натижада биологик мембрана структураси ва хоссалари ўзгаради ва ҳужайра фаолияти издан чиқади [55]. Ҳозирги вақтда оксидланишли стресс натижасида келиб чиққан липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнини ингибирлаш, мембранавий бузилишларни коррекция қилиш мақсадида ўсимликлардан ажратиб олинган флавоноидларнинг таъсир механизмлари ва антиоксидантлик хоссалари ўрганилмоқда. Ҳозирги кунда флавоноидларнинг антибактериал, мембранафаол, вирусга қарши, иммуномодуляторлик, антиканцероген ва бошқа хоссалари борлиги кўрсатилган [9,11].

ХУЛОСАЛАР

Ўрганилган биологик фаол бирикмалар *in vitro* моделида ДФПГ ва H_2O_2 эркин радикаллариға нисбатан юқори антирадикал фаолликни намоён қилади. Шу билан бирға эркин радикаллар ва реактив кислород турларини қайтариш даражаси кверцетин флаваноидида дигидрокверцетин флаваноидиға нисбатан юқорироқ фаолликка эға эканлиги аниқланди. Дигидрокверцетин ва кверцетин турли орган тўқималарининг гомогенатида дозаға боғлиқ ҳолда ЛПО жараёнларини ингибирлаш хусусиятини намоён этиши ва шунинг билан бирға ушбу моддаларни антиоксидант фаолликға эға эканлиги аниқланди.

REFERENCES

1. Мамадалиева Н. И., Мустафакулов М. А., Саатов Т. С. Влияние фактора нервного роста на показатели антиоксидантной системы в тканях мозга крысы //Environmental Science. – 2021. – Т. 723. – С. 022021.
2. Ishankhodjaev T. et al. Study on Effects of Liposomal Quercetin on Biochemical Parameters of the Nigrostriatal System of Rats with Experimentally Induced Neurodegenerative Disease //Annals of the Romanian Society for Cell Biology. – 2021. – С. 6128-6143.
3. Мустафакулов М. А. и др. Изучение антиоксидантной и антирадикальной активности листьев *isatis tinctoria* L //Universum: химия и биология. – 2022. – №. 7-1 (97). – С. 40-44.

4. Мустафакулов М. А. и др. Исследование влияния липосомальной формы кверцетина на отдельные биохимические параметры ткани мозга животных с экспериментальной моделью нейродегенеративного состояния //Главный редактор. – 2023. – С. 33.
5. Saatov T. et al. Study on hypoglycemic effect of polyphenolic compounds isolated from the Euphorbia L. plants growing in uzbekistan //Endocrine Abstracts. – Bioscientifica, 2020. – Т. 70.
6. Irgasheva S. et al. TNF- α Gene G308A Polymorphism: Frequency in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus //Int J Cur Res Rev| Vol. – 2020. – Т. 12. – №. 23. – С. 161.
7. Tuychiboyev J. I. et al. Gipotireoz modelida kalamush antioksidant tizimiga e vitamin va kurkuminning korreksiyalovchi tasiri //Educational Research in Universal Sciences. – 2022. – Т. 1. – №. 6. – С. 234-236.
8. Saatov T. et al. Assessment of hypoglycemic properties of extracts from some medicinal plants in the experimental diabetes model //Endocrine Abstracts. – Bioscientifica, 2022. – Т. 81.
9. Saatov T. et al. Neurodegeneration type and severity have linkage with plasma insulin in DM patients //Endocrine Abstracts. – Bioscientifica, 2022. – Т. 81.
10. Saatov T. et al. Correction of oxidative stress in experimental diabetes mellitus by means of natural antioxidants //Endocrine Abstracts. – Bioscientifica, 2021. – Т. 73.
11. Saatov T. et al. Antioxidant and hypoglycemic effects of gossitan //Endocrine Abstracts. – Bioscientifica, 2019. – Т. 63.
12. Мустафакулов М. А., Ибрагимов А. А., Ашуров А. А. Роль аптомеров в медицине, фармацевтике и биологии //Academic research in educational sciences. – 2022. – Т. 3. – №. 11. – С. 252-258.

