



UDK: 577.352.45

Mashhura ABDURAXMANOVA,

Andijon davlat pedagogika instituti dotsenti, PhD

E-mail: mashxuraparpiyeva@gmail.com

Ma'murjon POZILOV,

O'zbekiston Milliy universiteti professori, biologiya fanlari doktori

Parida MIRXAMIDOVA

O'zbekiston Milliy pedagogika universiteti professori, biologiya fanlari doktori

Sabir NISHANBAEV,

O'zR FA O'simlik moddalari kimyosi instituti professori, kimyo fanlari doktori

Baxodir OXUNDEDAEV,

O'zR FA O'simlik moddalari kimyosi instituti kichik ilmiy xodimi, PhD

Dilnoza AXMEDOVA,

O'zR FA O'simlik moddalari kimyosi instituti tayanch doktoranti

Toshkent davlat texnika universiteti professori v.b., biologiya fanlari doktori G.Abdullayeva taqrizi asosida

INDOKSAKARB BILAN INTOKSIKATSIYALANGAN HOMILADOR KALAMUSHLARNING QON PLAZMASIDAGI TRANSFERAZA FERMENTLARI VA BILIRUBIN MIQDORIGA AYRIM FLAVONOIDLARNING TA'SIRI

Annotatsiya

Ushbu ishda indoksakarb pestitsidi bilan intoksikatsiyalangan homilador kalamushlarning qon plazmasidagi transferaza fermentlari va bilirubin miqdoriga soforoflavonozid (SFL) va narsissin flavonoidlarining ta'siri o'rganilgan. Homiladorlikning 3- va 13-kunlarida kalamushlarni indoksakarb pestitsidining 1/10 LD₅₀ dozasi bilan bir martalik zaharlantirilgan hamda shu kundan boshlab 7 kun davomida 10 mg/kg dozadan nartsissin va SFL flavonoidlari peroral usulda yuborilgan. Tajriba kalamushlari IV guruhga ajratib o'rganilgan. Flavonoid birikmalar indoksakarb bilan zaharganlagan homilador kalamushlarning alaninaminotransferaza (ALT), aspartataminotransferaza (AST) va umumiy bilirubin miqdorini kamaytirganligi aniqlangan.

Kalit so'zlar: jigar, indoksakarb, ALT, AST, bilirubin, soforoflavonozid (SFL), narsissin.

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ФЛАВОНОИДОВ НА ФЕРМЕНТЫ ТРАНСФЕРАЗЫ И СОДЕРЖАНИЕ БИЛИРУБИНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ БЕРЕМЕННЫХ КРЫС, ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ИНДОКСАКАРБОМ

Аннотация

В данном исследовании изучалось влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на уровни ферментов трансферазы и билирубина в плазме крови беременных крыс, отравленных пестицидом индоксакарбом. На 3-й и 13-й дни беременности крысам однократно вводили дозу 1/10 LD₅₀ пестицида индоксакарба, и с этого дня им вводили нарциссин и флавоноиды SFL перорально в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней. Подопытные крысы были разделены на IV группу. Было обнаружено, что флавоноидные соединения снижают уровень АЛТ, АСТ и общего билирубина у беременных крыс, отравленных индоксакарбом.

Ключевые слова: печень, индоксакарб, АЛТ, АСТ, билирубин, софорофлавонозид (СФЛ), нарциссин.

EFFECT OF SOME FLAVONOIDS ON TRANSFERASE ENZYMES AND BILIRUBIN CONTENT IN BLOOD PLASMA OF PREGNANT RATS INTOXICATED WITH INDOXACARB

Annotation

In this study, the effect of sophoroflavonoside (SFL) and narcissin flavonoids on the level of transferase enzymes and bilirubin in the blood plasma of pregnant rats intoxicated with the pesticide indoxacarb was studied. On the 3rd and 13th days of pregnancy, rats were poisoned with a single dose of 1/10 LD₅₀ of the pesticide indoxacarb, and from that day on, narcissin and SFL flavonoids were administered orally at a dose of 10 mg/kg for 7 days. The experimental rats were divided into IV groups. It was found that flavonoid compounds reduced the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST) and total bilirubin in pregnant rats poisoned with indoxacarb.

Key words: liver, indoxacarb, ALT, AST, bilirubin, SFL, narcissin.

Kirish. Pestitsidlar zararkunandalarga qarshi kurashda ishlatiladigan moddalardir. Ularga gerbitsidlar, insektitsidlar, nematsidlar, fungitsidlar va boshqalar kiradi. Ulardan eng keng tarqalgani gerbitsidlar bo'lib, ular butun dunyo bo'ylab barcha pestitsidlardan foydalanishning taxminan 50% ni tashkil qiladi. Aksariyat pestitsidlar o'simliklarni himoya qilish vositalari sifatida ishlatiladi, ular umuman o'simliklarni begona o'tlar, zamburug'lar yoki hasharotlardan himoya qiladi [1]. Statistik ma'lumotlarga ko'ra, har yili qishloq xo'jaligida qiymati 5,6 milliard dollardan ortiq pestitsidlar qo'llaniladi va bu qishloq xo'jaligi mahsuldorligiga katta foyda keltiradi [2]. Biroq, ushbu kimyoviy moddalardan intensiv foydalanish xususan, ularning ekotizimlardagi qoldiqlari, jumladan, havo, tuproq va suv manbalari atrof-muhitga sezilarli ta'sir ko'rsatadi [3]. Pestitsidlar bilan ifloslanish atrof-muhit ifloslanishining keng tarqalgan shakli sifatida paydo bo'lib, odam va hayvon salomatligiga jiddiy tahdid

soladi. So'nggi yillarda pestitsidlar bilan ifloslanish bilan bog'liq bo'lgan salomatlik xavfi katta e'tiborni tortdi. Hisobotlar shuni ko'rsatadiki, dunyo bo'ylab 3 milliondan ortiq odam har yili turli omillar tufayli pestitsidlar bilan zaharlanishdan aziyat chekadi [4]. Jigar fermentlari va asab tizimining fermentlari pestitsidlar keltirib chiqaradigan gepatotoksiklik va neyrotoksiklikni aniqlash uchun dinamik biomarkerlar sifatida o'rganiladi. Pestitsidlarga ta'sir qilish ko'rsatkichlari sifatida to'rtta ferment, shu jumladan uchta jigar fermenti, xususan, ALT, AST, ishqoriy fosfataza (IF) va asab tizimining fermenti, plazma xolinesteraza qo'llaniladi. ALT, AST va IF dagi o'zgarishlar jigar fiziologiyasining buzilishlarini ko'rsatadi. Pestitsidlarni qoldiq sifatida jigar hujayralarida to'planishi va toksik ta'sirini biofaol moddalar ta'sirida neytrallash eng dolzarb vazifalardan hisoblanadi.

Ishning maqsadi. Indoksakarb bilan intoksikatsiyalangan homilador kalamushlarning qon plazmasidagi ALT, AST fermentlari va bilirubin miqdorining o'zgarishlariga SFL va narsissin ta'sirini aniqlashdan iborat.

Tadqiqot usullari. Tadqiqotlar uchun dastlab urg'ochi kalamushlar tanlab olinadi va urug'lantiriladi. Homiladorlikning 3- va 13-kunlarida kalamushlarni indoksakarb pestitsidining 1/10 LD₅₀ dozasi bilan bir martalik zaharlantirildi hamda shu kundan boshlab 7 kun davomida 10 mg/kg dozadan narsissin va SFL flavonoidlari peroral usulda yuborildi. Tajriba kalamushlari quyidagicha guruhlariga ajratiladi:

Homiladorlikning 3-kuni	Homiladorlikning 13-kuni
I-guruh–Sog'lom (nazorat)	I-guruh–Sog'lom (nazorat)
II-guruh– Indoksakarb	II-guruh– Indoksakarb
III-guruh– Indoksakarb + narsissin	III-guruh– Indoksakarb +narsissin
IV-guruh– Indoksakarb + SFL	IV-guruh– Indoksakarb +SFL

Homiladorlikning 3-kunida ona kalamush organizmida turli gormonal o'zgarishlar xisobiga biokimyoviy va fiziologik o'zgarishlar yuzaga keladi. Shu bilan birga homilada asosiy gistologik jarayonlar boshlanadi. Shuning uchun mana shu kunda kalamushlar pestitsid bilan zaharlantirilganda embrion tushish xavfi ortadi. Saqlanib qolgan embrionlarda esa pestitsidlar ta'sirida gitologik-morfologik, fiziologik, biokimyoviy va genetik buzilishlar kuzatiladi. Homiladorlikning 13-kunida embrion organlarida jadal biologik rivojlanish jarayonlari amalga oshadi. Pestitsidlar ta'sirida esa ushbu jarayonlar jiddiy o'zgarishlarga uchraydi. Natijada kelgusida nuqsonli organizmlarning vujudga kelishiga sabab bo'ladi.

Indoksakarb pestitsidi bilan zaharlantirilgan kalamushlarning qon plazmasi va jigar to'qimasidagi ALT, AST fermentlar faolligi va umumiy bilirubin miqdori SFL va narsissin flavonoidlari yuborilgandan keyin homiladorlikning 20-kunida o'rganildi. Tajriba hayvonlari qon zardobi tarkibida ALT va AST faolligi umumqabul qilingan uslub yordamida amalga oshirildi. Bu fermentlar faolligini aniqlash usulining printsipli ketoglutarat, aspargin va glutamin kislotalarining zanjirli reaksiyalari natijasida pirouzum va oksalatsetat kislotalar hosil bo'lishiga asoslangan.

Aminotransferazalar aminoguruhlari aminokislotadan ketokislotaga o'tishini ta'minlovchi fermentlar ta'sirida aminoguruhlarning o'tish reaksiyasi hisobiga pirouzum kislotasi hosil bo'ladi. Ushbu aralashmaga 2,4-dinitilfenilgidrozin (2,4-DNFG) qo'shilganda ishqoriy muhitda rang beruvchi pirouzum kislotasi gidrozoni hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan rang pirouzum kislotasi miqdoriga to'g'ri proporsional hisoblanadi.

ALT alanindan 2-oksoglutarat orqali piruvat va glutamatga aminoguruhlarni otishini katalizlaydi. ALT faolligi NADH (nikotinamiddinukleotid) ning pasayish tezligi bilan belgilanadi [5; 6].



Zotsiz erkak kalamushlarda ALT normada 70 ± 1 E/l va urg'ochi kalamushlarda 56 ± 1 E/l atrofida bo'ladi.

AST aspartatdan 2-oksoglutarat aminoguruhlari orqali oksalatsetat va glutamat hosil bo'lishini katalizlaydi. AST faolligi NADH ning pasayish tezligi bilan belgilanadi. Rangning intensivligi optik zichlik orqali spektrofotometr qurilmasi yordamida 340 nm to'liq uzunligida aniqlandi [7].



AST normada zotsiz erkak kalamushlarda 58 ± 3 E/l va urg'ochi kalamushlarda 40 ± 2 E/l atrofida bo'ladi.

Biokimyoviy tadqiqotlar uchun kalamushlardan olingan qon 3000 aylanish tezligida 15 minut davomida sentrifuga qilindi. Kalamushlar qonidagi ALT, AST va umumiy bilirubin miqdori spektrofotometr yordamida aniqlandi. *In vivo* tajribalarda olingan qiymatlar o'rtasidagi farq t-test bo'yicha hisoblab chiqildi. Bunda $*p < 0,05$ va $**p < 0,01$ qiymatlar statistik ishonchlikni ifodalaydi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Kalamushlarda pestitsid ta'sirida intoksikatsiya rivojlanishiga ishonch hosil qilish uchun ularning qonidagi fermentlar va ba'zi oqsil turlari o'garishlarini aniqlash lozim. Jigar va yurak to'qimalarini zararlanishi natijasida qonga ajralib chiqadigan fermentlar ALT va AST moddalar almashinuvida faol ishtirok etishadi. Ushbu ferment ko'rsatkichlarining pestitsid ta'sirida o'zgarishi hujayralarda nekroz jarayoni boshlanganligini, jigar gepatotsidlariga zarar yetkazilayotganligi haqida signal beradi. Shu sabab aminotrasferazalar miqdorini qon zardobi tarkibida aniqlash bir qator og'ir kasalliklarda, jumladan virusli hepatitda, jigar sirrozida va boshqa ksenobiotiklar ta'sirida bo'ladigan zararlanishlarni aniqlashda muhim diagnostik test hisoblanadi.

Shu sababli dastlab tajribalarmizda homiladorlikning 3-kunida indoksakarb bilan intoksikatsiya qilingan homilador kalamushlarni homiladorlikning 20- kuniga borgan qon plazmasidagi ALT, AST fermentlari va bilirubin miqdori o'zgarishlariga flavonoid birikmalarni ta'siri aniqlandi. Olingan natijalarga ko'ra, nazorat sifatida olingan I guruh sog'lom kalamushlarning qonidagi ALT miqdori 54.5 E/l, AST miqdori 38.4 E/l va umumiy bilirubin miqdori 3.0 mg/dl ni tashkil etdi (1-jadval). Indoksakarb yuborilgan II guruh homilador kalamushlarning qon plazmasidagi ALT miqdori 187.3 E/l, AST miqdori 70.5 E/l va umumiy bilirubin miqdori 11.7 mg/dl ni tashkil etib, nazorat ko'rsatkichlariga nisbatan mos ravishda ALTda 3.4 marta, ASTda 1.8 marta va umumiy bilirubin 3.9 marta ortganligi aniqlandi. Indoksakarb ta'sirida ALT va AST miqdorining ortishi jigar hujayralarining zararlanish darajasini belgilab beradi. AST miqdorining ortishi ALT ga nisbatan biroz past bo'lishi, ularni jigarda nisbatan kam bo'lishi bilan izohlanadi. Bilirubin jigar va taloqning retikuloendotelial tizimida gemoglobin, mioglobin va sitoxromlarning parchalanishi paytida hosil bo'lgan pigmentdir. Umumiy bilirubin darajasining oshishi sabablari

indoksokarb tahsiri qizil qon tanachalari parchalanishining kuchayishi (gemoliz), jigarning toksik shikastlanishi hisoblanadi.

1-jadval

Indoksokarb bilan intoksikatsiyalangan homilador kalamushlarning 3-kunidan boshlab 7 kun davomida SFL va nartsissinning yuborilishi natijasida qon plazmasidagi ALT, AST fermentlari va bilirubin miqdorining o'zgarishlari

Tajriba guruhlari	ALT E/l	AST E/l	Umumiy bilirubin mg/dl
I guruh nazorat (sog'lom)	54.5±3.5	38.4±3.1	3.0±0.28
II guruh indoksokarb	187.3±10.6**	70.5±5.3**	11.7±1.5**
III guruh indoksokarb + SFL	104.1±8.4*	53.5±3.3*	6.8±0.54*
IV guruh indoksokarb+narsissin	95.6±7.5**	48.7±3.1*	4.2±0.37**

Izoh: (*P<0,05; **P<0,01; n=5).

Navbatdagi tajribalarimizda homiladorlikning 3-kunida indoksokarb pestitsidi yuborilgan kalamushlarga shu kundan boshlab 7 kun davomida III guruhga SFL flavonoidi, IV guruhga esa narsissin flavonoidi yuborildi. Shundan so'ng homiladorlikning 20-kunida tajriba kalamushlarini qon plazmasidagi ALT, AST va umumiy bilirubin miqdori aniqlandi. Olingan natijalarga ko'ra, SFL flavonoidi yuborilgan indoksokarb bilan zaharlangan homilador kalamushlarning qon plazmasidagi ALT miqdori 104.1 E/l, AST miqdori 53.5 E/l va umumiy bilirubin miqdori 6.8 mg/dl ni tashkil etib, II guruh intoksikatsiyalangan homilador ko'rsatkichlariga nisbatan mos ravishda, ALTda 1.8 marta, ASTda 1.3 marta va umumiy bilirubin 1.7 marta kamayganligi aniqlandi. Narsissin flavonoidi yuborilgan indoksokarb bilan zaharlangan homilador kalamushlarning qon plazmasidagi ALT miqdori 95.6 E/l, AST miqdori 48.7 E/l va umumiy bilirubin miqdori 4.2 mg/dl ni tashkil etib, II guruh intoksikatsiyalangan homilador kalamushlar ko'rsatkichlariga nisbatan mos ravishda, ALTda 1.9 marta, ASTda 1.4 marta va umumiy bilirubin 2.8 marta kamayganligi aniqlandi (1-jadval). Demak, flavonoid birikmalar indoksokarb bilan zaharlangan homilador kalamushlarning ALT, AST va umumiy bilirubin miqdorini kamaytirdi.

Navbatdagi tajribamizda homiladorlikning 13-kunida indoksokarb bilan intoksikatsiya qilingan homilador kalamushlarni 20-kuniga borganda qon plazmasidagi ALT, AST fermentlari va bilirubin miqdori o'zgarishlariga flavonoid birikmalarni ta'siri aniqlandi. Olingan natijalarga ko'ra, nazorat sifatida olingan I guruh sog'lom kalamushlarning qonidagi ALT miqdori 57.4 E/l, AST miqdori 43.1 E/l va umumiy bilirubin miqdori 3.3 mg/dl ni tashkil etdi (1-jadval). Indoksokarb yuborilgan II guruh homilador kalamushlarning qon plazmasidagi ALT miqdori 195.6 E/l, AST miqdori 77.8 E/l va umumiy bilirubin miqdori 13.5 mg/dl ni tashkil etib, I guruh nazorat ko'rsatkichlariga nisbatan mos ravishda ALTda 3.4 marta, ASTda 1.8 marta va umumiy bilirubin 4.1 marta ortganligi aniqlandi (2-jadval). Tajriba hayvonlarida pestitsid ta'sirida intoksikatsiyalanishi jigar to'qimasining zararlanishi natijasida ularning qon plazmasidagi ALT, AST va bilirubin miqdorini keskin ortishiga olib keldi.

2-jadval

Indoksokarb bilan intoksikatsiyalangan homilador kalamushlarning 13-kunidan boshlab 7 kun davomida SFL va nartsissinning yuborilishi natijasida qon plazmasidagi ALT, AST fermentlari va bilirubin miqdorining o'zgarishlari

Tajriba guruhlari	ALT E/l	AST E/l	Umumiy bilirubin mg/dl
I guruh nazorat (sog'lom)	57.4±4.1	43.1±3.5	3.3±0.31
II guruh indoksokarb	195.6±11.8**	77.8±4.7*	13.5±1.4**
III guruh indoksokarb + SFL	97.5±7.3**	57.6±3.6*	7.5±0.48*
IV guruh indoksokarb+narsissin	84.8±6.7**	50.1±4.0*	6.1±0.53**

Izoh: (*P<0,05; **P<0,01; n=5).

Homiladorlikning 13-kunida indoksokarb bilan intoksikatsiyalangan III guruh kalamushlarga shu kundan boshlab SFL flavonoididan 7 kun davomida 10 mg/kg dozada yuborilishi natijasida ularning qon plazmasidagi ALT miqdori 97.5 E/l, AST miqdori 57.6 E/l ni va umumiy bilirubin miqdori 7.5 mg/dl ni tashkil etdi. Bu esa ALT, AST va umumiy bilirubin miqdorini II guruhga nisbatan mos ravishda 2.0; 1.3; va 1.8 marta kamayganligi aniqlandi (2-jadval).

Homiladorlikning 13-kunida indoksokarb bilan intoksikatsiyalangan IV guruh kalamushlarni homiladorlikning 13 kuni shu kundan boshlab narsissin bilan 7 kun davolaganda ularning qon plazmasidagi ALT (84.8 E/l), AST (50.1 E/l) va bilirubin (6.1 mg/dl) miqdorlari II guruhga nisbatan mos ravishda 2.0; 1.5; va 2.2 marta kamayganligi aniqlandi (2-jadval). Demak, o'simliklardan ajratib olingan tabiiy birikmalar SFL va narsissin flavonoidlari intoksikatsiyalangan homilador kalamushlar qonidagi ALT, AST fermentlari va umumiy bilirubin miqdorini kamaytirib, farmakologik korreksiyalovchi hossalarni namoyon etdi. Narsissin flavonoidining pestitsid bilan intoksikatsiyalangan sharoitda homilador kalamushlarning qonidagi ALT, AST fermentlari va bilirubin miqdoriga ta'siri SFLga nisbatan faol ekanligi isbotlandi. Aminotrasferazalar aminogruhlarni aminokislotalardan ketokislotalarga tashilishidagi molekulararo reaksiyalarni katalizlaydi. Transaminazalar kofermenti sifatida vitamin B₆ ni (piridoksin) faol holati bo'lgan piridoksal fosfat va piridoksamin fosfat qatnashadi. Pestitsid ta'sirida ikkita ALT va AST fermentlari faolligini aniqlash muhim ahamiyatga ega, chunki bu fermentlar turli a'zo va to'qimalarda har xil faolligi bilan farqlanadi. Masalan, jigardagi ALT faolligi yurak to'qimalariga nisbatan birmuncha ortiq, AST esa, aksincha, yurak mushaklarida yuqori faollikka ega. Qon plazmasida aminotransferazalar faolligi juda ham past darajada, turli patologik holatlarda jigar hujayralari yoki kardiomiotsit membranalari shikastlanib, butunligi buzilganda ular miqdori sezilarli darajada ko'payadi. Olib borilgan tajribada ham ALT va AST fermentlarini pestitsid ta'siri ortishi yuqoridagi fikrlarni tasdiqlaydi.

Hulosalar: SFL va nartsissin flavonoidlari indoksokarb pestitsidi bilan zaharlantirilgan homilador kalamushlarning qon plazmasi va jigar to'qimasidagi ALT va AST fermentlar miqdorini kamaytirdi. Umumiy bilirubin miqdorining pestitsid ta'sirida ortishini SFL va narsissin samarali kamaytirdi. Narsissinning ALT va AST ferment miqdoriga va umumiy bilirubin miqdoriga ta'siri SFLga nisbatan samarali ekanligi aniqlandi.

ADABIYOTLAR

1. Ebel A.V., Lutt G., Poole J.A. et al. Association of agricultural, occupational, and military inhalants with autoantibodies and disease features in US veterans with rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheumatol.* – 2021 – V.73: – P. 392-400.

2. Brown J.B., Langley S.A., Snijders A.M. et al., An integrated host-microbiome response to atrazine exposure mediates toxicity in *Drosophila* // *Commun. Biol.* – 2021 – V.4. – P. 1324.
3. Megharaj M., Ramakrishnan B., Venkateswarlu K., Sethunathan N., Naidu R. Bioremediation approaches for organic pollutants: a critical perspective // *Environ. Int.* – 2011 – V.37. – P. 1362-1375.
4. Dwivedi N., Flora G., Kushwaha P., Flora S.J. Alpha-lipoic acid protects oxidative stress, changes in cholinergic system and tissue histopathology during co-exposure to arsenic-dichlorvos in rats // *Environ. Toxicol. Pharmacol.* – 2014 – V.37. – P. 7-23.
5. Española de Química S., Científico C., Enzimas C. Método recomendado para la determinación en rutina de la concentración catalítica de la alanina aminotransferasa en suero sanguíneo humano // *Quim Clin.* – 1987. – V.6. – P. 241-244.
6. Approved Recommendation (1985) on IFCC Methods for the Measurement of Catalytic Concentration of Enzymes. Part 3: IFCC Method for Alanine Aminotransferase (EC 2.6.1.2) // *J. Clin Chem Clin Biochem.* -1986. –V.24. –P.
7. Gella F.J., Olivella T., Cruz Pastor M., Arenas J., Moreno R., Durban R., Gómez J.A. A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with pyridoxal phosphate // *Clin Chim Acta.* – 1985. – V.153. – P. 241-247.