

SALIX NIGRA(QORATOL) O‘SIMLIGI PO‘SLOG‘I EKSTRAKTINI TOKSIK FERMENTLAR FAOLLIGIGA TA’SIRI

M.Abdullayev G‘. Siddiqov. G‘. Doliyev G‘. Mamajanov

Namagan davlat universiteti

Annotatsiya: *Salix nigra(Qoratol) o‘simligi po‘slog‘i ekstraktini Toksik gepatitda kalamush qon plazmasidagi ALT, AST va IF fermentlari faolligiga ta’siri o‘rganilgan. Etilasetatli ekstrakti yuborilgan toksik gepatitli III guruh kalamushlarning qon plazmasidagi ALT, AST faolliklari $120,5 \pm 7,5$ va $134,7 \pm 6,7$ Ye/l tashkil etib, TG li (II guruh) hayvonlar ko‘rsatkichlariga nisbatan, mos ravishda 2,13 va 1,52 marta kamayganligi aniqlandi. Qoratol poyasining butanolli ekstrakti yuborilgan toksik gepatitli IV guruh kalamushlarning qon plazmasidagi ALT, AST faolliklari $101,6 \pm 5,7$ va $105,6 \pm 5,8$ Ye/l tashkil etib, TG li II guruh ko‘rsatkichlariga nisbatan, mos ravishda 2,52 va 1,93 marta kamayganligi aniqlandi.*

Kalit so‘zlar: *Salix nigra, gepatit, ALT, AST va IF fermentlari, CCl₄, kalamush jigar mitoxondriyasi, etilasetat va butanol.*

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА КОРЫ РАСТЕНИЯ SALIX NIGRA (ЧЕРНАЯ) НА ТОКСИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

М.Абдуллаев Г. Сиддигов. Г. Долиев Г. Мамаджанов

Намаганский государственный университет

Аннотация: *Изучено влияние экстракта коры Salix nigra на активность ферментов АЛТ, АСТ и ИФ в плазме крови крыс при токсическом гепатите. Активности АЛТ, АСТ в плазме крови крыс III группы с токсическим гепатитом, которым вводили этилацетатный экстракт, составили $120,5 \pm 7,5$ и $134,7 \pm 6,7$ МЕ/л, по сравнению с показателями животных с ТГ (II группа) соответственно 2,13 и 1,52. раз уменьшилось. Активность АЛТ, АСТ в плазме крови крыс IV группы с бутаноловым экстрактом стеблей розжового дерева составила $101,6 \pm 5,7$ и $105,6 \pm 5,8$ МЕ/л, по сравнению со II группой с ТГ соответственно 2. Установлено, что она снизилась на 52 и $105,6 \pm 5,8$ МЕ/л соответственно. 1,93 раза.*

Ключевые слова: *Salix nigra, гепатит, ферменты АЛТ, АСТ и ИФ, CCl₄, митохондрии печени крысы, этилацетат и бутанол.*

EFFECT OF SALIX NIGRA (BLACK) PLANT BARK EXTRACT ON TOXIC ENZYME ACTIVITY

M.Abdullayev G. Siddikov. G. Doliyev G. Mamajanov

Namagan State University

Abstract: *The influence of Salix nigra bark extract on the activity of ALT, AST and IF enzymes in rat blood plasma was studied in toxic hepatitis. ALT, AST activities in blood plasma of group III rats with toxic hepatitis injected with ethylacetate extract were 120.5 ± 7.5 and 134.7 ± 6.7 IU/l, compared to the parameters of animals with TG (group II), respectively, 2, 13 and 1.52 times decreased. ALT, AST activities in the blood plasma of IV group rats with butanol extract of carob stem were 101.6 ± 5.7 and 105.6 ± 5.8 IU/l, compared to II group with TG, respectively, 2, It was found that it decreased by 52 and 1.93 times.*

Key words: *Salix nigra, hepatitis, ALT, AST and IF enzymes, CCl₄, rat liver mitochondria, ethyl acetate and butanol.*

KIRISH. Bugungi kunda o'simliklardan olingan yangi moddalarni tirik xayvon mitoxondiyasita ta'sir darajasini o'rganish bo'yicha bir qator ilmiy ishlar olib borilmoqda [1] Xususan Tajriba hayvonlari ustida ilmiy tadqiqotlar o'tkazish xalqaro Xelsinki Deklaratsiyasi, Xalqaro tibbiy ilmiy jamiyatlar kengashi (CIOMS; the council for international organizations of medical sciences) tomonidan ishlab chiqilgan (1985 y.) Ilmiy tadqiqot ishlarida laboratoriya hayvonlaridan foydalanish tartibi to'g'risidagi bioetika nizomi qoidalari asosida amalga oshirilib kelinmoqda.

TADQIQOT USULLARI

Tajriba hayvonlarida eksperimental toksik gepatit modeli CCl₄ bilan chaqirildi. Har bir tajriba guruhi 4-5 ta hayvonlardan iborat bo'ldi. Toksik gepatit modeli guruhlarida kalamushlarni nobud bo'lish holatlari ham kuzatildi. Tajribalar 4-5 martadan takrorlandi. Tajriba hayvonlari V guruhga ajratildi. I guruh (nazorat); II guruh, CCl₄ tajriba; III guruh, CCl₄ + etilasetatli ekstrakt; VI guruh, CCl₄ + butanolli ekstrakt va V guruh, CCl₄ spirtli ekstrakt[3].

Kalamush jigari mitoxondriyalari differensial sentrifugalash W.C.Schneider [2] usuli yordamida ajratib olindi. Mitoxondriyani ajratish muhiti tarkibi: 250 mM saxaroza, 10 mM tris-xlorid, 1 mM EDTA, $p^H = 7,4$. Gomogenatdan mitoxondriyani ajratish uchun SLR-1 sentrifugadan foydalanildi. Sentrifugadagi muhit 0-2°C ni tashkil etdi va sentrifugalash jarayoni 2 bosqichda amalga oshirildi. Birinchi bosqichda sentrifugalashda minutiga 1500 aylanish tezligida 7-8 minut davomida sentrifugalandi. Bunda hujayraning og'ir agregatlari cho'ktirildi.

Choʻkma supernatanti, yaʼni ustki qismi boshqa toza probirkaga olindi va sentrifuga rotoriga joylashtirildi. Ikkinchi bosqichda sentrifugalash esa minutiga 6000 aylanish tezligida 15 minutda amalga oshirildi. Soʻngra probirkalar rotordan olinib, pastki qismiga choʻkkan mitoxondriyalar suyuq qismidan ajratildi, yaʼni ustki qismi olib tashlanadi. Ajratish muhitidan tozalangan mitoxondriyalarni avtopipetka yordamida maxsus boshqa idishga solindi.

Nazorat va tajriba guruhi kalamushlarining qon zardobidagi alaninaminotransfera, aspartataminottransferaza faolliklarini va ishqoriy fosfataza miqdorini [4] usuli boʻyicha aniqlandi.

Kalamush jigar mitoxondriyasi membranasida LPO aniqlash uchun Fe^{2+} /askorbatga bogʻliq mitoxondriya boʻkishi tizimidan foydalanildi. Ushbu hajm oʻzgarishi fotometrik usulda aniqlandi. Inkubatsiya muhiti: KCl - 125 mM, tris-HCl - 10mM, p^{H} 7,4; Konsentratsiyalar: FeSO_4 - 10 mkM, askorbat - 600 mkM; mitoxondriya miqdori 0,5 mg/ml;

Katalaza organizmni toʻqimalaridagi biologik oksidlanish natijasida hosil boʻladigan vodorod peroksidining zaharli taʼsiridan himoya qiladi. Jigar mitoxondriyalarida katalaza fermenti juda yuqori katalitik faollikka ega. Rang intensivligi spektrofotometrda H_2O_2 oʻrniga 2 ml H_2O tutgan namunaga nisbatan 410 nm toʻlqin uzunligida oʻlchandi. Jigar mitoxondriyasida katalaza faolligi mKat/mg oqsilda ifodalanadi [5-6].

TADQIQOTDAN OLINGAN NATIJALAR

Bizga maʼlumki jigar, organizmning normal fiziologik holatda ishlashi uchun zaruriy fermentlarni sintez qiladi. Fermentlar yoki enzimlar inson organizmida biokatalizatorlar vazifasini bajaradigan oʻziga xos oqsillardir. Boshqacha qilib aytganda, fermentlar kimyoviy oʻzaro taʼsirga kirmasdan tanamizning barcha biokimyoviy reaksiyalarini tezlashtirish xossasiga ega boʻlgan universal faol moddalardir. Sogʻlom odamda qon zardobining fermentativ tarkibi nisbatan doimiy boʻladi, kasallik holatida fermentlar darajasi sezilarli darajada oshadi, chunki hujayra devori shikastlanadi va tizimli qon oqimiga chiqariladi. Qonning fermentativ tarkibini oʻrganish tibbiy amaliyotda har xil turdagi muammolarni hal qilish uchun ishlatiladi.

Dastlab tajribalarimizda, sogʻlom va CCl_4 bilan chaqirilgan TG kalamushlarning qon plazmasidagi ALT va AST faolligi oʻzgarishi aniqlandi. Tajribalar davomida toksik gepatit chaqirilgan (II, III va IV guruh) laboratoriya hayvonlarining qonidagi ALT va AST faolliklari har 3 kunda aniqlab borildi. Tajribaning soʻnggi 14-kunida fermentlar faolligi aniqlanganda, nazorat guruhida ALT $78,2 \pm 5,4$ Ye/l va AST $90,5 \pm 5,8$ Ye/l ni tashkil etdi. Toksik gepatit chaqirilgan tajriba (II) guruhi kalamushlarining qon plazmasidagi ALT va AST fermentlarining miqdori mos ravishda $256,5 \pm 9,8$ Ye/l va $205,2 \pm 12,4$ Ye/l ni tashkil etib, nazorat guruhiga nisbatan, mos ravishda 3,3 va 2,27 marta ortishi kuzatildi.

TG chaqirilgan III guruh laboratoriya hayvonlariga 2 xaftadan soʻng 15-kundan boshlab *Salix nigra* oʻsimligi poʻstlogʻining etilasetatli ekstrakti, IV guruhga butanolli ekstrakti va V guruhga esa spirtli poʻstlogʻi ekstrakstlaridan sutkasiga bir marta 10 kun davomida ogʻiz orqali peroral yuborildi.

Etilasetatli ekstrakti yuborilgan toksik gepatitli III guruh kalamushlarning qon plazmasidagi ALT, AST faolliklari $120,5 \pm 7,5$ va $134,7 \pm 6,7$ Ye/l tashkil etib, TG li (II guruh) hayvonlar koʻrsatkichlariga nisbatan, mos ravishda 2,13 va 1,52 marta kamayganligi aniqlandi (1-jadval). Qoratol poyasining butanolli ekstrakti yuborilgan toksik gepatitli IV guruh kalamushlarning qon plazmasidagi ALT, AST faolliklari $101,6 \pm 5,7$ va $105,6 \pm 5,8$ Ye/l tashkil etib, TG li II guruh koʻrsatkichlariga nisbatan, mos ravishda 2,52 va 1,93 marta kamayganligi aniqlandi (1-jadval).

Qoratol poʻstlogʻi spirtli ekstrakti yuborilgan toksik gepatitli V guruh kalamushlarning qon plazmasidagi ALT, AST faolliklari $89,4 \pm 4,5$ va $97,6 \pm 6,4$ Ye/l tashkil etib, TG li II guruh koʻrsatkichlariga nisbatan, mos ravishda 2,86 va 2,10 marta kamayganligi aniqlandi (1-jadval).

1-jadval

Toksik gepatitda kalamush qon plazmasidagi ALT, AST va IF fermentlari faolligiga *Salix nigra* oʻsimligi poʻstlogʻi ekstraktlarini taʼsiri
($M \pm m$)

Tajriba guruhlari	ALT Yed/l	AST Yed/l	IF Yed/l
I guruh (nazorat)	78,2±5,4	90,5±5,8	745,0±25,4
II guruh, CCl ₄ tajriba	256,5±9,8**	205,2±12,4**	1524,0±47,6**
III guruh, CCl ₄ + <i>etilasetatli ekstrakt</i>	120,5±7,5*	134,7±6,7*	1015,4±18,5**
VI guruh, CCl ₄ + <i>butanolli ekstrakt</i>	101,6±5,7**	105,6±5,8**	885,6±14,5**
V guruh, CCl ₄ <i>spirtli ekstrakt</i>	89,4±4,5**	97,6±6,4**	765,2±22,5*

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

Toksik hepatit sharoitida transferaza fermentlar miqdorini o'zgarishi bilan bir qatorda ishqoriy fosfataza miqdori ham ortishi kuzatiladi. Qoratal o'simligi po'stlog'i ekstraktlarini toksik hepatit sharoitida kalamush qon plazmasidagi ALT va AST fermentlariga samarali ta'siri mavjudligi ularning ishqoriy fosfatazaga ta'sir etishi mumkin degan taxminni keltirib chiqaradi. Ushbu taxminni aniqlash maqsadida navbatdagi tajribada toksik hepatitli kalamushlar modelida ularning qon plazmasidagi ishqoriy fosfataza miqdoriga qoratal ekstraktlarini ta'siri aniqlandi.

Olingan natijalarga ko'ra, TG li II guruh kalamushlarning qondagi ishqoriy fosfataza faolligi, nazorat guruhga nisbatan, 104,5% ga ortishi aniqlandi. Kalamushlarda CCl₄ ta'sirida ushbu fermentlar miqdorining ortishi ularda TG modeli hosil bo'lganligidan dalolat beradi. Qoratal po'stlog'ining etilasetatli va butanolli ekstraktleri yuborilgan TG li III va IV guruh kalamushlarning qondagi ishqoriy fosfataza miqdori II guruh ko'rsatkichlariga nisbatan mos ravishda 33,4% va 41,8% ga kamayishi qayd etildi (1-jadval). TG li V guruh kalamushlarga qoratal po'stlog'ining spirtli ekstrakti yuborildi va ularning qon plazmasidagi ishqoriy fosfataza miqdori o'lchanganda patologik II guruhga nisbatan 50,4% ga kamayganligi aniqlandi (1-jadval). Demak, qoratal po'stlog'idan olingan ekstraktlar CCl₄-bilan zaxarlangan kalamushlarda faolligi oshgan IF ni keskin kamaytirdi.

Toksik hepatitda kalamush jigar mitoxondriyasi disfuksiyasini *Salix nigra* o'simligi ekstraktleri bilan korreksiyalash

Jigar funksiyasining buzilishi bilan bog'liq kasalliklarda qondagi marker fermentlar o'zgarishiga qarab, TG haqida xulosa qilinadi. Qondagi ALT, AST va IF faolligi darajasi, asosan, jigar funksiyasiga bog'liq bo'lib, protein sintezida organizm uchun zarur bo'lgan biokimyoviy moddalar ishlab chiqarishda va detoksifikatsiyada asosiy rol o'ynaydi. Qondagi ALT, AST va IF ferment faolliklarining ortishi jigar to'qimalariga zararli ta'sir etib membrana LPO intensivligini ortishiga sabab bo'ladi [Polunina T.Ye., 2011].

CCl_4 tomonidan chaqirilgan gepatit modelida hujayra shikastlanishi kuzatiladi. Reaktiv oraliq mahsulotlarning hujayra komponentlari bilan kovalent bog'lanishi yoki erkin radikallarning kislorod bilan o'zaro ta'siri natijasida kelib chiqqan lipid peroksidasiyasining kuchayishiga olib keladi. Bu esa o'z navbatida to'yinmagan yog' kislotalarga hujum qiladi. Bu lipidlarning, ayniqsa to'yinmagan fosfolipidlarning gidroliziga olib keladi va hujayra strukturasining shikastlanishiga sabab bo'ladi [Boll M., et al., 2001]. Shuningdek, toksik gepatitda mitoxondriya nafas zanjiridan kislorodning faol shakllari hosil bo'lishi kuchayadi. Hujayra va mitoxondriya membranasining o'tkazuvchanligi o'zgaradi. Natijada hujayraning energetik manbai bo'lgan mitoxondriyalarda lipidlarning peroksidlanishi natijasida lipidlarning birlamchi va ikkilamchi mahsulotlari hosil bo'ladi.

Jigar shikastlanishining oldini olish uchun toksik xususiyati kam bo'lgan havfsiz va samarali dorivor vositalar yaratish farmakologiya va zamonaviy tibbiyotning asosiy muammolaridan biri bo'lib kelmoqda. CCl_4 ta'sirida shikastlangan jigar mitoxondriyasini, antioksidantlik xususiyatiga ega bo'lgan moddalar, ekstraktlar orqali faoliyatini tiklash mumkin.

Navbatdagi tajribamizda, *in vivo* tajribalarda TG modelida jigar mitoxondriyasi membranasining lipidlarning peroksidlanish intensivligini kamaytirish maqsadida *Salix nigra* o'simligi po'stlog'idan olingan ekstraktlar bilan korreksiyalash o'rganildi. Ushbu sharoitda, mitoxondriya funksional parametrlarining o'zgarishini, patologiyaning rivojlanish dinamikasiga mos ravishda, kompleks tarzda o'rganildi. Bunda, TG sharoitida mitoxondriya membranalari Fe^{2+} /askorbat yordamida LPO, malon dialdegid miqdori,

antioksidant himoya tizim fermentlari faolligi va *PTP* holati o'zgarishlari e'tiborga olindi.

XULOSA *Salix nigra* Qoratol o'simligini sog'lom va CCl_4 bilan chaqirilgan TG kalamushlarning qon plazmasidagi ALT va AST faolligi o'zgarishi aniqlandi. Toksik gepatit chaqirilgan tajriba (II) guruhi kalamushlarining qon plazmasidagi ALT va AST fermentlarining miqdori mos ravishda $256,5 \pm 9,8$ Ye/l va $205,2 \pm 12,4$ Ye/l ni tashkil etib, nazorat guruhiga nisbatan, mos ravishda 3,3 va 2,27 marta ortishi kuzatildi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Boll M., Lutz W.D., Becker E., Stampfl A. Mechanism of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. hepatocellular damage by reactive carbon tetrachloride metabolites // *Z Naturforsch C J Biosci* – 2001. – V. 56 (7-8): 649-659.
2. Neuman M.G., Radu-Ionita F., Pyrsopoulos N.T., Jinga M., Tintoiu I.C., Sun Z., Bontas E. Hepatotoxicity: Mechanisms of liver injury. In: editors. // *Liver Diseases* – 2020 – Springer International Publishing; Cham, Switzerland: – P. 75–84.
3. Tarantino G., Di Minno M.N.D., Capone D. Drug-induced liver injury: is it somehow foreseeable? // *World J. Gastroenterol.* – 2009. – V.15: P. 2817–2833.
4. Lee W.M., Senior J.R. Recognizing drug-induced liver injury: current problems, possible solutions // *Toxicol. Pathol.* – 2005. – V.33: – P. 155–164.
5. Trefts E., Gannon M., Wasserman D.H. The liver // *Curr. Biol.* – 2017. – V.27: P. 1147–1151.
6. Пушкина Т.А., Токаев Э.С., Попова Т.С., Бородина Е.Н. Супероксиддисмутаза в составе антиоксидантной терапии: состояние вопроса и перспективы (Обзор литературы) // *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. – 2016. – Т.4: – С. 42-47.
7. Schneider W.S., Hageboom D.H, Pallade G.E. Cytochemical studies of mammalian Tissues: the isolation of Cell Components by Differential Centrifugation // *Cancer.res.*-1951.-P.1-22.