

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.B.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

АНДИЖОН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

ПАРПИЕВА МАШҲУРА ЖАВДАТОВНА

**КАЛАМУШ ЖИГАРИ МИТОХОНДРИЯСИНИНГ ФУНКЦИОНАЛ
ФАОЛЛИГИНИ ГАЛОКСИФОП-Р-МЕТИЛ ВА ИНДОКСАКАРБ
ПЕСТИЦИДЛАРИ ТАЪСИРИДА БУЗИЛИШИ ВА УЛАРНИ
ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ БИЛАН КОРРЕКЦИЯЛАШ**

03.00.01 – Биокимё

03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2022

УДК: 576.311.347: 577.352.465:

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси
Оглавление автореферата доктора философии (PhD)
Contents of Dissertation Abstract of the doctor of Philosophy (PhD)

Парпиева Машхура Жавдатовна

Каламуш жигари митохондриясининг функционал фаоллигини галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари таъсирида бузилиши ва уларни ўсимлик моддалари билан коррекциялаш.....3

Парпиева Машхура Жавдатовна

Нарушение функциональной активности митохондрий печени крыс под действием пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб и их коррекция растительными веществами.....21

Parpiyeva Mashhura Javdatovna

Disruption of the functional activity of rat liver mitochondria under the influence of pesticides haloxyfop-P-methyl and indoxacarb and their correction with plant substances.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

АНДИЖОН ДАВЛАТ УНИВЕРСИТЕТИ

ПАРПИЕВА МАШҲУРА ЖАВДАТОВНА

**КАЛАМУШ ЖИГАРИ МИТОХОНДРИЯСИНИНГ ФУНКЦИОНАЛ
ФАОЛЛИГИНИ ГАЛОКСИФОП-Р-МЕТИЛ ВА ИНДОКСАКАРБ
ПЕСТИЦИДЛАРИ ТАЪСИРИДА БУЗИЛИШИ ВА УЛАРНИ
ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ БИЛАН КОРРЕКЦИЯЛАШ**

**03.00.01 – Биокимё
03.00.08 – Одам ва ҳайвонлар физиологияси**

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2022

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида B2021.2.PhD/B386 рақами билан рўйхатга олинган.

Диссертация иши Андижон давлат университетида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус, инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида www.ibb-nuu.uz ва «Ziynet» Ахборот таълим порталида (www.ziynet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбарлар:



Мирхамидова Парида
биология фанлари доктори, профессор
Позилов Маъмуржон Комилжонович
биология фанлари доктори

Расмий оппонентлар:

Далимова Сурайё Нугмановна
биология фанлари доктори, профессор

Гайибов Улугбек Гаппаржанович
биология фанлари бўйича фалсафа доктори

Етакчи ташкилот:

Наманган давлат университети

Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2022 йил « _____ » _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96.

Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№ _____ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru.

Диссертация автореферати 2022 йил « _____ » _____ кунни тарқатилди
(2022 йил « _____ » _____ даги _____ рақамли реестр баённомаси).



Сабиров Равшан Заирович
Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Курбанназарова Раънохон Шараповна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби в.в.б., б.ф.д.

Кадирова Дилбар Абдуллаевна
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги
илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертация аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Жаҳоннинг турли мамлакатларида ҳозирда 1000 га яқин турли хил пестицидлар ишлатилмоқда. Ушбу пестицидларнинг маълум бир қисми қишлоқ хўжалигида қўллаш учун тавсия этилмоқда. Лекин, қишлоқ хўжалигида қўлланиладиган пестицидлар атроф-муҳитга зарарли таъсир кўрсатмоқда. Турли хил йўллар билан организмга тушган пестицидлар, сезиларли ўзгаришларга олиб келади. Жуда кўп ксенобиотикларнинг метаболизми жигар хужайраларида амалга оширилади. Шу муносабат билан жигар митохондриясини пестицидларнинг токсик таъсиридан ҳимоялаш ва фармакологик коррекциялашнинг самарали усуллари ишлаб чиқиш замонавий токсикология ва биокимёнинг муҳим долзарб муаммоларидан бири ҳисобланади.

Сўнгги йилларда, дунёнинг кўплаб илмий марказларида пестицидларнинг янги турларини яратишга қаратилган кенг қўламли тадқиқотлар олиб борилмоқда. Шу билан бирга пестицидларнинг жигар интоксикацияси билан боғлиқ митохондрия дисфункциясини ўсимлик бирикмалари ёрдамида коррекциялашнинг янгича ёндашувларини ишлаб чиқишга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Бу борада ечимини кутаётган вазифалардан бири яъни пестицидларнинг токсик таъсири натижасида жигар митохондрияларнинг функционал бузилишларини аниқлаш ва уларни флавоноид бирикмалари ёрдамида коррекция қилишга алоҳида эътибор қаратилмоқда. Шу асосида флавоноидларнинг антитоксик самарасини баҳолаш ва доривор воситаларнинг янги турларини яратишни тақозо этади.

Республикамизда атроф-муҳитни ифлослантирувчи воситалар пестицидлар ва бошқа кимёвий моддаларнинг физиологик таъсир механизмлари ҳамда токсикологик хоссаларини аниқлаш ва уларнинг захарли таъсирини бартараф қилиш бўйича маълум даражада ютуқларга эришиб келинмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясида «... илмий – тадқиқот ва инновацион фаолиятни рағбатлантириш, илмий ва инновацион ютуқларни амалиётга жорий этишнинг самарали механизмларини яратиш»¹ вазифалари белгилаб берилган. Ушбу вазифалардан келиб чиққан ҳолда ўсимлик бирикмалари орасидан антитоксик хоссаларга эга бўлган доривор воситаларни аниқлаш, уларнинг жигар хужайралари ва мембранасининг функцияларига таъсирини баҳолаш ва даволаш амалиётига тадбиқ этиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2018 йил 14 февралдаги ПҚ-3532-сон «Фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш бўйича қўшимча чора-тадбирлар тўғрисидаги» ва Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сон «Тиббий-фармацевтика таълими ва илм-фан тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги Қарорлари ва бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида» ги ПФ-4947-сонли фармони

оширишда ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилиши мумкин.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг V «Қишлоқ хўжалиги, биотехнология, экология ва атроф-муҳит муҳофазаси» ҳамда VI «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишларига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Дунёнинг етакчи илмий марказларида организмларнинг пестицидлар таъсирида зарарланиши, хужайралар ва митохондрияларнинг дисфункциялари ва уларни ўсимлик бирикмалари ёрдамида коррекцияловчи механизмларига оид тадқиқотлар олиб борилмоқда. Озиқ-овқат маҳсулоти бўлган қорамол гўштини истеъмол қилиш орқали қабул қилинган қолдиқ пестицидларнинг канцероген таъсир кўрсатиши ўрганилган. Олиб борилган тадқиқотларда 22 хил хлорорганик пестицидларнинг қолдиқ миқдори қорамолларнинг жигарида 152 нг/г, буйракда 266 нг/г, тилда 488 нг/г миқдорда аниқланган (Mahmoud A.F.A., et al., 2016). Хлорорганик бирикмалардан эндосульфан нормал диета билан боқилган сичқонларда тана вазнининг камайишига, жигардаги метаболик жараёнларнинг энергия, аминокислоталар, липидлар метаболизи ва ичак микрофлораси ўзгаришига олиб келиши аниқланган (Zhang et al., 2017).

МДХ мамлакатларида З.М. Омарова (2010) ва Б.М. Штабский (2013) ўз тадқиқотларида пестицидларнинг жигар, буйрак, мия ва ёғ тўқималарида қолдиқ сифатида тўпланишини кўрсатиб берганлар. В.А. Королев (2017) томонидан айрим фунгицидлар эритроцит мембранасининг нейтрал липидлар миқдорининг ўзгаришига мексидолнинг самарали таъсирини аниқлаган.

Республикада профессор М.И. Асраров ва унинг шогирдлари томонидан фозалон, омайт ва маврик пестицидларини жигар митохондриясининг Ca^{2+} тўплаш сифимига ва ички мембрананинг пассив ион ўтказувчанлигига таъсири ўрганилган. Н.Т. Алимбабаева, Р.Д. Рустамов ва Д.С. Тўйчиевалар томонидан пестицидлар, бутилкаптакс, дропп ва каратэнинг жигар митохондриясининг ЛПО, антиоксидант ферментлар фаоллиги, нафас олиши ва оксидланишли фосфорланиш (ОФ) жараёнларига таъсирларини аниқлаган. Р.Д. Рустамов томонидан бутилкаптакс билан захарланган каламуш жигар микросомаси ва митохондрияси мембранасининг структуравий ва функционал бузилишларига антиоксидант Пегинол С-2000 таъсирини ўрганган. Шунингдек, Д.С. Тўйчиева томонидан бутилкаптакс ва дропп дефолиантларининг ҳомиладор каламуш ва уларнинг эмбрионлари жигари гепатоцитлари морфологияси ва функционал ҳолатига таъсири бўйича илмий тадқиқот ишлари олиб борган.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган олий таълим муассасининг илмий тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Андижон давлат университети Зоология ва биокимё кафедрасининг «Қишлоқ хўжалигида фойдаланиладиган пестицидларни

хайвон организмларига таъсирини тадқиқ қилиш» ва «Ўсимликларни ҳимоя қилиш» мавзусидаги илмий тадқиқот ишлари режасига мувофиқ бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларининг жигар тўқималарида қолдиқ сифатида тўпланиши, митохондрия дисфункциясига таъсири ҳамда уларни софорофлавонозид ва нарциссин флавоноидлари ёрдамида коррекциялашни 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларини каламушлар жигар тўқимасидаги қолдиқ миқдори кўрсаткичларини 5, 10, 20, 30 ва 40 кунларда динамикага боғлиқ ҳолда таҳлил қилиш;

софорофлавонозид (СФЛ) ва нарциссиннинг антирадикал фаоллигини аниқлаш;

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари интоксикациясида жигар митохондрияси липидлари перекисли оксидланиш (ЛПО) маҳсулоти малон диальдегид (МДА) миқдорига ва антиоксидант ферментлар фаоллигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсирини 10, 20, 30 ва 40 кунларда динамикага боғлиқ ҳолда баҳолаш;

in vivo тажриба шароитларида пестицидларни каламуш жигар митохондрияси РТР ўтказувчанлигига, АТФга боғлиқ калий канали (миток_{АТФ}-канал) фаоллигига ва пассив ион ўтказувчанлигига СФЛ ва нарциссиннинг коррекцияловчи таъсирини 10, 20, 30 ва 40 кунларда динамикага боғлиқ ҳолда аниқлаш;

пестицидлар билан захарланган каламушларни жигар митохондрияси нафас олиши ва ОФ жараёнларига СФЛ ва нарциссиннинг таъсирини 10, 20, 30 ва 40 кунларда динамикага боғлиқ ҳолда аниқлаш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида пестицидлар билан захарланган ва ўсимлик флавоноидлари билан коррекция қилинган каламушлар, уларнинг жигаридан ажратиб олинган митохондриялар, антиоксидант фаолликка эга ўсимлик флавоноидлари олинган.

Тадқиқотнинг предмети пестицидлар интоксикациясида каламуш жигари митохондриясининг дисфункцияси, СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг антиоксидант хоссалари ва уларнинг жигар митохондрияси мембраналарининг бузилишларига коррекцияловчи таъсирини аниқлашдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Тадқиқот бажарилишида замонавий биокимё ва физиологияда кенг қўлланиладиган центрифугалаш, фотометрия, спектрофотометрия, полярография каби усуллардан фойдаланилган. Олинган тадқиқот натижаларининг статистик таҳлили Origin 6.1 (Microsoft, USA) компьютер дастури ёрдамида амалга оширилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларининг жигар тўқимасидаги қолдиқ миқдори динамикага боғлиқ ҳолда (5, 10, 20, 30 ва 40 кунлик) аниқланган;

in vitro шароитида СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг антирадикал фаолликлари ҳамда галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари интоксикациясида уларнинг антиоксидант хоссалари аниқланган;

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари интоксикацияси шароитида СФЛ ва нарциссин флавоноидларини мРТРга ингибирловчи ва митоКАТФ-каналли фаоллигига самарали таъсир этиши динамикага боғлиқ ҳолда (10, 20, 30 ва 40 кунларда) исботланган;

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари интоксикацияси шароитида жигар митохондрияси пассив ион ўтказувчанлиги ўзгаришлари ва ОФ жараёнини СФЛ ва нарциссин флавоноидлари билан қайта тиклаши динамикага боғлиқ ҳолда (10, 20, 30 ва 40 кунларда) аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан захарлантирилган каламушларнинг жигар митохондриялари дисфункциясини флавоноид бирикмалар ёрдамида коррекциялашга асосланган;

антитоксик хоссага эга бўлган иккита мембранафаол моддалар аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги тадқиқотларда замонавий биофизик-биокимёвий, электрофизиологик тадқиқот усулларини қўллаш орқали олинганлиги, натижалар таҳлили замонавий компьютер дастури ёрдамида таҳлил қилинганлиги билан тасдиқланади. Олинган натижаларнинг исботи уларнинг республика ва халқаро анжуманлардаги муҳокамаси, натижалар рецензияланган илмий нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти пестицидлар таъсирида организмнинг захарланиши ва унинг натижасида юзага келадиган митохондрияларининг дисфункциясини флавоноид бирикмалар билан коррекциялаш механизмларига ойдинлик киритиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларнинг амалий аҳамияти шундан иборатки, фойдаланилган ёндашувлар, усуллар ҳамда аниқланган механизмлар антитоксик хоссасига эга бўлган янги биофаол бирикмаларни аниқлашга асос бўлади, шунингдек, моддаларнинг мембранафаол хоссалари митохондриянинг пестицидлар таъсирида юзага келадиган дисфункциясини коррекцияловчи восита сифатида қўллашга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан интоксикация қилинган каламушларнинг жигар митохондрияларининг дисфункциясини СФЛ ва нарциссин флавоноидлари билан коррекциялаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

галоксифоп-Р-метил пестициди амалда фойдаланилаётган (0.5-1.0 л/га) миқдорини 0.4-0.9 л/га камайтирган ҳолда 2019-2020 йилларда Андижон вилояти Пахтаобод ва Хўжаобод туманларидаги жами 179 гектар дала майдонларида бегона ўтларга қарши курашда қўлланилган (Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ хўжалиги вазирлигининг 2021 йил 23 июлдаги 02/032-

3064-сон маълумотномаси). Натижада, галоксифоп-Р-метилнинг 0.4-0.9 л/га миқдори ҳосилдорликка ҳамда тупроқ структурасига ножўя таъсир камайиши, шу билан бирга ҳар бир гектарига 32000 сўм (1000 гектарига пахта майдонида 32 млн сўм) иқтисодий самарадорликка эришиш имконини берган;

индоксакарб пестициди амалда фойдаланилаётган (0.40-0.45 л/га) миқдорини 0.3-0.35 л/га камайтирган ҳолда 2019-2020 йилларда Андижон вилояти Пахтаобод ва Хўжаобод туманларидаги жами 179 гектар дала майдонларида ғўза тунламига қарши курашда қўлланилган (Ўзбекистон Республикаси Қишлоқ хўжалиги вазирлигининг 2021 йил 23 июлдаги 02/032-3064-сон маълумотномаси). Натижада, индоксакарбнинг 0.3-0.35 л/га миқдори ҳосилдорликка ҳамда атроф-муҳитга ножўя таъсирининг камлиги, шу билан бирга ҳар бир гектарига 95100 сўм (1000 гектарига пахта майдонида 95.1 млн сўм) иқтисодий самарадорликка эришиш имконини берган;

галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларини жигар тўқималарига таъсир қилувчи дозаларини аниқлаш бўйича олинган натижалари асосида Андижон вилояти Хўжобод тумани «Қорабулоқ» фермер хўжалигини 63 гектар дала майдонларида бегона ўтларга қарши кимёвий курашда нисбатан кичик дозаларни қўллаш жорий қилинган (Ўзбекистон Республикаси Экология ва атроф-муҳитни муҳофаза қилиш давлат қўмитасининг 2021 йил 14 декабрдаги 03-02/8-1971-сон маълумотномаси). Натижада зараркунанда ҳашаротлар ва бегона ўтларга қарши курашда пестицидлардан белгиланган кўрсатмаларга мувофиқ, энг кам самарали даражада фойдаланиш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 7 та халқаро ва 6 та республика илмий анжуманларида муҳокамадан ўтказилган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 19 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг фалсафа доктори (PhD) диссертацияларининг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий нашрларда 6 та мақола, жумладан, 4 таси хорижий ва 2 таси республика журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, 4 та боб, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми 118 бетни ташкил этган.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Диссертациянинг **кириш** қисмида олиб борилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, илмий тадқиқотнинг мақсади ва вазибалари, объект ва предметлари тавсифланган, республика фан ва технологиялари ривожланишининг устивор йўналишларга мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён

килинган, олинган натижаларнинг илмий ва амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

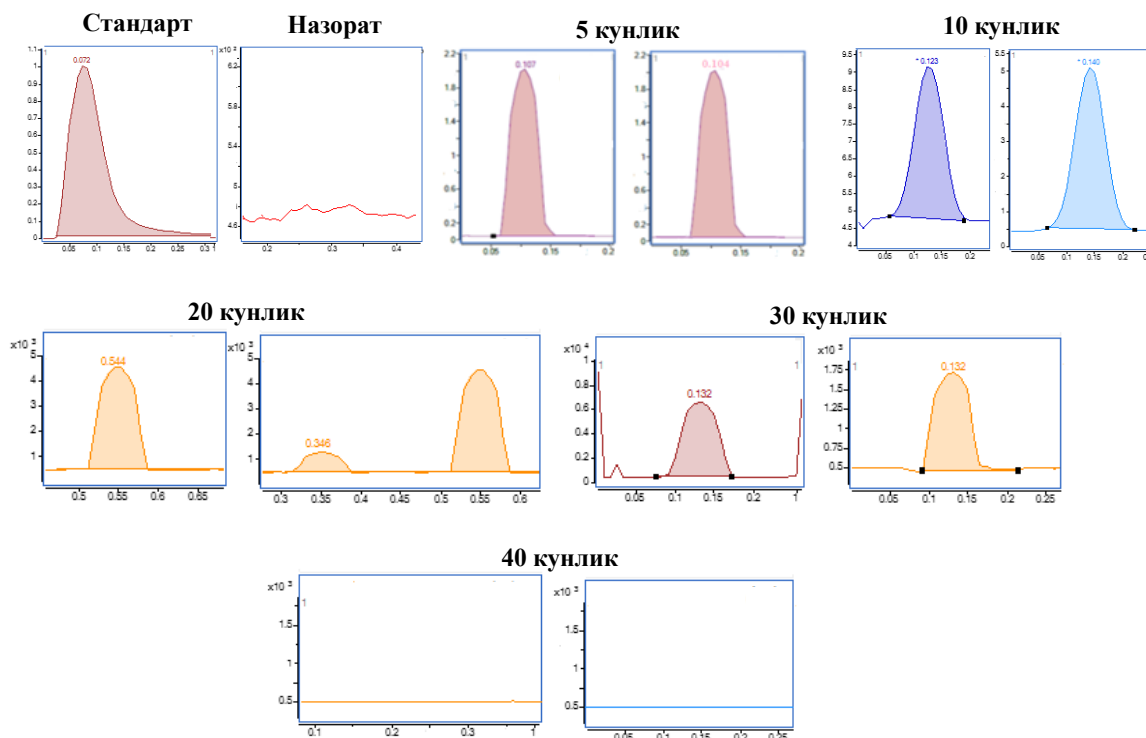
Диссертациянинг **«Пестицидларни хужайра мембранаси ва митохондрияси функциясига таъсири бўйича замонавий тадқиқотлар тавсифи»** деб номланган биринчи бобида қишлоқ хўжалигида қўлланиладиган пестицидларнинг замонавий классификацияси, айрим пестицидларни митохондриянинг функционал фаоллигига ва митохондрияда эркин радикаллар генерациясига таъсири ҳамда бунинг натижасида юзага келадиган патологик, биокимёвий, физиологик ўзгаришлар батафсил ўрганилди. Пестицидлар билан зарарланган хужайра мембраналарига айрим ўсимлик бирикмаларини фармакологик таъсир механизмлари ҳақида чет эл ва республикамиздаги илмий адабиётлардан олинган маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг **«Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларини жигар тўқимасидаги қолдиқ миқдорини аниқлаш, уларнинг митохондрияга таъсирини тадқиқ қилиш усуллари ва тадқиқот материаллари»** деб номланган иккинчи бобида тадқиқотларни олиб бориш тартиби, уларни бажарилишида фойдаланиладиган материаллар ва усуллар ёритилган. Хусусан каламушларни галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан интоксикацияланган ва жигар тўқимасида уларнинг 5, 10, 20, 30 ва 40 кунларидаги қолдиқ миқдори юқори самарали суяқлик хроматография масс-спектрометрия усули ёрдамида таҳлили қилинган. Жигардан митохондриялар дифференциал центрифугалаш усули ёрдамида ажратилган. Шунингдек, пестицидлар билан заҳарлантирилган каламушлар жигари митохондрияси мембранасининг ЛПО кўрсаткичлари, мембранага боғлиқ цитохром-с-оксидаза ва антиоксидант ҳимоя тизими ферментларининг фаоллигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири спектрофотометр услуби билан аниқланган. Бундан ташқари, митохондрия мембранасининг пассив ион ўтказувчанлиги, mPTP ўтказувчанлиги ва митоK_{ATP}-канал фаоллиги аниқланган. Митохондрияларнинг нафас олиш тезлиги ва ОФ ни аниқлашнинг полярография усуллари келтирилган.

Дастлаб, галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан интоксикациялаш учун танлаб олинган эркак каламушлар (180-200 г) гуруҳларга ажратилди: Тажрибанинг II, III ва IV гуруҳларидаги хайвонларга галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари махсус зонд орқали LD₅₀ 1/10 дозаси билан бир марталик заҳарлантирилди. Пестицидлар юборилгандан кейин, суткасига бир марта III гуруҳга СФЛ 10 мг/кг ва IV гуруҳ хайвонларга эса нарциссин флавоноидларидан 10 мг/кг дозада перорал усулда 10 кун давомида юборилди.

Диссертациянинг **«Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларини жигар тўқимасидаги қолдиқ миқдори кўрсаткичлари»** деб номланган учинчи бобида галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб

пестицидларини жигар тўқимасидаги қолдиқ миқдорини динамикага боғлиқ ҳолда (5, 10, 20, 30, 40 кунларда) хроматографик таҳлил натижалари келтирилган. Дастлаб галоксифоп-Р-метил ва назорат гуруҳи ҳайвонларининг (соғлом) жигари миқдорий хроматографик таҳлиллари амалга оширилди. Стандарт галоксифоп-Р-метилнинг 0.01 мг/мл эритмаси учун ҳосил бўлган ютилиш интенсивлигида унинг миқдори 0,0001 мкг эканлиги аниқланди (1-расм). Назорат учун олинган жигар намуналарида эса галоксифоп-Р-метил учун хос бўлган ютилиш интенсивлиги аниқланмади (1-расм).



1-расм. Стандарт галоксифоп-Р-метил 0.01 мг/мл эритмаси, назорат ва галоксифоп-Р-метил билан интоксикация қилинган 5, 10, 20, 30 ва 40 кунлик каламушлар жигар намунасининг хроматограммаси (Ушбу тадқиқотлар ЎзР ФА биоорганик кимё институти катта илмий ходими А.М.Мамадрахимов билан ҳамкорликда амалга оширилди).

Тажриба гуруҳи ҳайвонларининг жигар намуналари 5-, 10-, 20-, 30- ва 40-кунлардан сўнг олиниб, хроматографик таҳлиллар олиб борилди. Галоксифоп-Р-метил пестициди билан бир марталик LD_{50} 1/10 дозада захарлантирилган ҳайвонларнинг 5 кундан сўнг олинган жигар намуналарининг хроматограммалари келтирилган. Ютилиш интенсивлигининг юқори бўлиши бу намунада текширилаётган модданинг миқдорига боғлиқ. Олинган натижалар шуни кўрсатдики, 1-намунада 0,0174 мкг, 2-намунада эса 0,0163 мкг (1-расм) га тенг бўлган галоксифоп-Р-метил пестициди борлиги аниқланди. Тадқиқотлар давомида каламушлар жигаридан 10 кундан сўнг намуналар олиниб, хроматографик таҳлиллар ўтказилди. Ҳайвонларнинг жигар намуналарида галоксифоп-Р-метил миқдори юқоридагига нисбатан камайиб борди. Жумладан, 10 кунликнинг 1-намунасида 0,00168 мкг, 2-намунада эса 0,00184 мкг га тенг бўлган

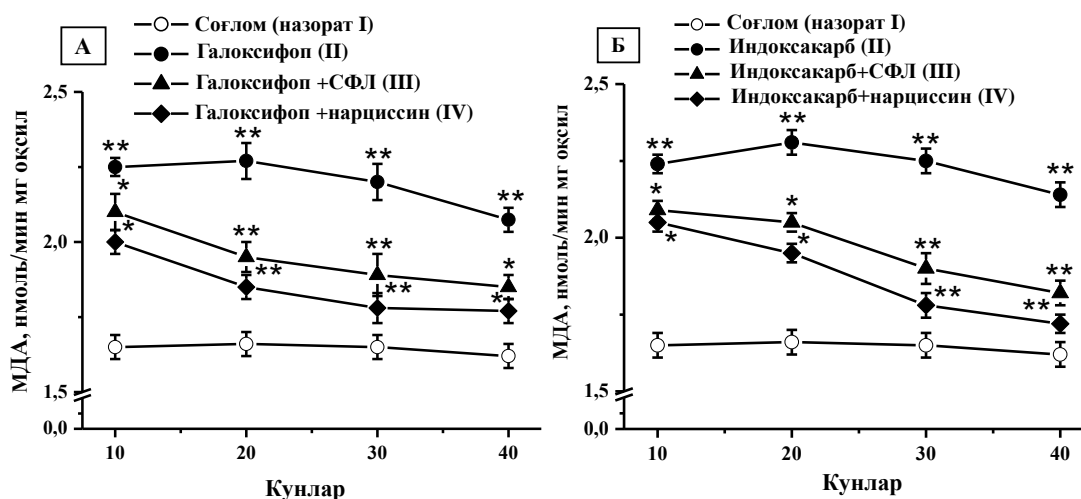
галоксифоп-Р-метил пестициди борлиги аниқланди (1-расм). Олинган натижалардан кўриниб турибдики, тадқиқотларнинг 5-кунига нисбатан 10-кунида ҳайвонларнинг жигари таркибида галоксифоп-Р-метилнинг камайиб бориши сезиларли кузатилган. Тадқиқотлар давомида 20-кундан сўнг ҳайвонларнинг жигар намуналарида галоксифоп-Р-метил учун хос бўлган ютилиш чўққилари ҳосил бўлди. Лекин, унинг қолдиқ миқдори 10-кунга нисбатан сезиларли камайиши аниқланди. Жумладан, 1-намунада (1 г намунага нисбатан олинган) 0,00023 мкг, 2-намунада 0,00014 мкг га тенг бўлган миқдорда галоксифоп-Р-метил борлиги аниқланди (1-расм).

Тадқиқотлар давомида ҳайвонлар жигаридан 30 кундан сўнг ҳам намуналар олиниб, қолдиқ пестицидлар миқдори аниқланди. Олинган натижалардан маълум бўлдики, тадқиқотларнинг 30-кунидан сўнг ҳайвонларнинг жигар намуналарида галоксифоп-Р-метил учун хос бўлган ютилиш чўққилари ҳосил бўлди. Ушбу спектрларда ютилиш интенсивлигининг камайиши галоксифоп-Р-метилнинг миқдори камайиши билан боғлиқ. Жумладан, 1-намунада 0,0000094 мкг, 2-намунада 0,000153 мкг га тенг бўлган миқдорда галоксифоп-Р-метил борлиги аниқланди (1-расм). Тадқиқотларнинг 40-кунидан сўнг каламушларнинг жигар намуналарида галоксифоп-Р-метил учун хос бўлган ютилиш чўққилари ҳосил бўлмади. Натижалар ҳайвонларнинг жигар намуналарида 40 кундан сўнг галоксифоп-Р-метилнинг қолдиқ миқдори йўқлигини кўрсатди. Олинган натижалар шуни кўрсатдики, каламушларнинг жигарида қолдиқ пестицидларнинг энг юқори миқдори заҳарлангандан кейин 5-, 10-кунларида аниқланди. Заҳарланишнинг 20-, 30-кунларида бу кўрсаткич камайганлиги кузатилди. Тадқиқотнинг 40-кунларига келиб, каламушлар жигарида қолдиқ пестицидларнинг тўпланиши кузатилмади (1-расм).

Индоксакарб пестицидининг ҳам жигар тўқимасидаги қолдиқ миқдори 10-40 кунлик динамикага боғлиқ хроматографик таҳлили амалга оширилиб, ушбу пестицидда ҳам галоксифоп-Р-метилда олинган натижаларга жуда яқин кўрсаткичлар олинди. Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб билан заҳарлантирилган каламушлар жигари тўқимасидаги юқори қолдиқ миқдори заҳарланишнинг 5-10-кунларида аниқланди. Заҳарланишнинг 20-, 30-кунларида бу кўрсаткич камайиб борганлиги кузатилди. Олиб борилган тадқиқот натижалари шуни кўрсатдики, каламушларга юборилган пестицидларнинг қолдиқ миқдори 40-кунларига келиб, жигар тўқимасида аниқланмади. Олинган натижалардан хулоса қилиб айтиш мумкинки, каламушлар жигаридаги қолдиқ пестицидлар миқдори жигар митохондрияларида биокимёвий ва физиологик кўрсаткичларига таъсир этиб, қатор ўзгаришларга олиб келиши мумкин.

Диссертациянинг «Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан заҳарланган каламушларнинг жигар митохондриялари дисфункциясини софорофлавонозид ва нарциссин билан коррекциялаш» деб номланган тўртинчи бобида флавоноидларининг антирадикал фаолликлари, пестицидлар билан заҳарланган каламушлар

жигари митохондриялари мембранасининг ЛПОга (МДА, Fe^{2+} /цитрат), цитохром-с-оксидаза ферменти ва антиоксидант (каталаза, СОД, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза) ферментлар фаоллигига СФЛ ва нарциссин бирикмаларининг таъсири 10, 20, 30 ва 40 кунларида динамикага боғлиқ ҳолда ўрганилган. Маълумки, турли прооксидант агентлар таъсирида, биологик мембраналарда ЛПО жараёни ўзгаради. Пестицидлар билан захарлантирилган каламуш жигар митохондриясининг ЛПО маҳсулоти МДА миқдори СФЛ ва нарциссиннинг таъсири 10-40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда ўрганилди. Олинган натижаларга кўра, галоксифоп-Р-метил пестициди билан захарланган II гуруҳ каламушларда 10, 20, 30 ва 40 кунликларда жигар митохондриясининг мембранасида ЛПО маҳсулоти МДА миқдори назоратга (I гуруҳ) нисбатан мос равишда $35,7 \pm 2,8\%$, $39,1 \pm 3,2\%$, $36,4 \pm 2,5\%$ ва $32,1 \pm 2,2\%$ га ортганлиги аниқланди. Бу эса галоксифоп-Р-метил пестициди таъсирида митохондрия мембранаси таркибидаги ЛПО жараёнининг жадаллашганлигидан далолат беради. СФЛ билан фармакотерапия қилинган III гуруҳ каламушларда жигар митохондрияси МДА миқдори II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10 кунликда $9 \pm 0,4\%$ га 20, 30 ва 40 кунларига келиб, мос равишда $15,6 \pm 1,2\%$, $21,3 \pm 1,5\%$ ва $19,8 \pm 1,6\%$ га камайганлиги аниқланди. Нарциссин юборилган IV гуруҳ каламушларда 10 ва 20 кунликларида МДА миқдори II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $11,5 \pm 0,9\%$ ва $21,6 \pm 1,6\%$ ва ишончли камайиши кузатилди. Аммо, 30 ҳамда 40 кунларда жигар митохондриясида МДА миқдори II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $28,6 \pm 2,1\%$ ва $26,0 \pm 2,2\%$ камайганлиги аниқланди (2-расм, А).



2-расм. Галоксифоп-Р-метил (А) ва индоксакарб (Б) пестицидлари билан захарланган каламушлар жигар митохондрияси МДА миқдори СФЛ ва нарциссиннинг 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ таъсири (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; $n = 5-6$).

Индоксакарб билан захарлантирилган каламушларни жигар митохондрияси МДА миқдори ўрганилганда II гуруҳ каламушларда 10, 20,

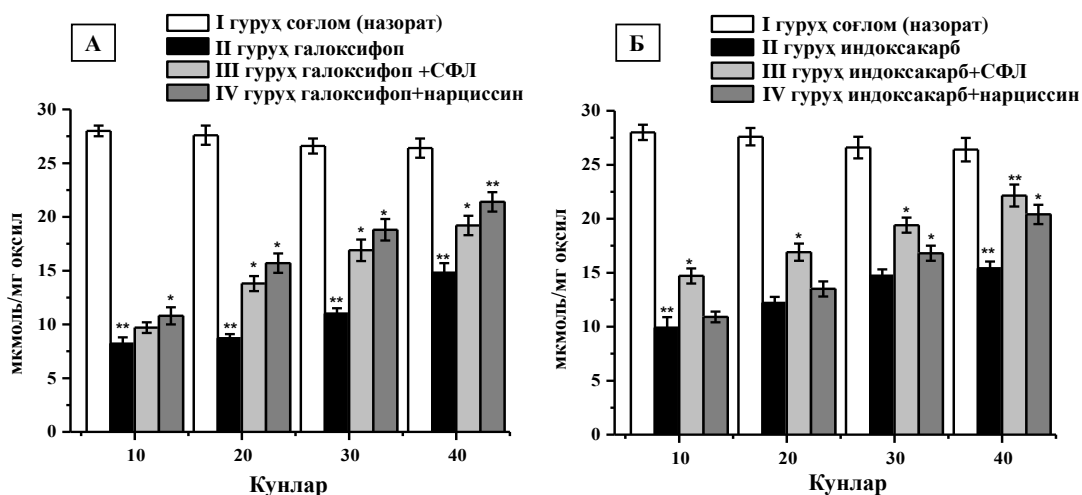
30 ва 40 кунларида жигар митохондриясида МДА миқдори назоратга нисбатан мос равишда $36,4 \pm 2,4\%$, $36,7 \pm 2,8\%$, $33,3 \pm 1,9\%$ ва $25,7 \pm 1,3\%$ га ортганлиги аниқланди. СФЛ билан фармакотерапия қилинган III гуруҳ каламушларда жигар митохондриясида МДА миқдори II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10, 20, 30 ва 40 кунларига келиб, мос равишда $9,1 \pm 0,8\%$, $16,4 \pm 1,2\%$, $18,8 \pm 2,1\%$ ва $11,5 \pm 1,2\%$ га камайганлиги аниқланди (2-расм, Б). Нарциссин юборилган IV гуруҳ каламушларда 10 ва 20 кунларида МДА миқдори II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $15,2 \pm 1,2\%$ ва $25,3 \pm 1,7\%$ камайиши кузатилди. Аммо, 30 ҳамда 40 кунларида жигар митохондриясида МДА миқдори II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $25,5 \pm 1,6\%$ ва $16,4 \pm 1,5\%$ камайганлиги аниқланди (2-расм, Б). Демак, СФЛ ва нарциссин флавоноидлари жигар митохондриясида ЛПО билан боғлиқ эркин радикаллар ҳосил бўлишининг олдини олиб, мембранага эркин радикаллар таъсирини нейтраллаши ва ЛПОни камайтириши мумкин.

Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан захарланган каламушларни жигар митохондриясининг Fe^{2+} /цитрат таъсирида чақирилган ЛПО жараёнига СФЛ ва нарциссин флавоноидларини 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ таъсири ҳам аниқланди. Инкубация муҳитида Fe^{2+} /цитрат мавжуд шароитда, индуцирларган ЛПО жараёни, яъни митохондрияларнинг бўкиши 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ равишда назорат гуруҳи кўрсаткичларига нисбатан кескин ортганлиги қайд этилган. Пестицидлар билан интоксикация қилинган каламушларни СФЛ ва нарциссин билан 10 кун давомида фармакотерапия қилганимизда уларнинг жигар митохондрия мембранаси Fe^{2+} /цитрат таъсирида чақирилган ЛПО II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ равишда маълум даражада қайта тикланиши аниқланди.

Баъзи инсектицидлар сутэмизувчи ҳайвонларда жигар митохондрияси бўкишини чақириши, нафас олиши ОФ жараёни ва Mg^{2+} га боғлиқ АТФаза, цитохром-с-оксидаза фаоллигини ўзгартириши ҳамда митохондрияларда дисфункция чақириши мумкинлиги келтирилган (Toualbia et al., 2017). Аммо, кўплаб пестицидлар жумладан галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб таъсирида каламуш жигар митохондрияси цитохром-с-оксидаза фаоллиги ўзгариши бўйича тадқиқотлар кам ўрганилган. Навбатдаги тажрибамизда, галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари таъсирида жигар митохондрияси цитохром-с-оксидаза фаоллигини ўзгариши ва уларга флавоноидларнинг таъсири ўрганилди.

Олинган натижаларга кўра, галоксифоп-Р-метил пестициди билан захарланган II гуруҳ каламушларда 10, 20, 30 ва 40 кунларида жигар митохондриясининг цитохром-с-оксидаза фаоллиги назоратга нисбатан мос равишда $71,7 \pm 4,2\%$, $68,5 \pm 3,4\%$, $58,7 \pm 4,7\%$ ва $43,9 \pm 3,4\%$ га кескин камайганлиги аниқланди. Бу эса пестицид таъсирида митохондрия нафас занжирида электронларни ташилиши кескин бузилганлигидан далолат беради. СФЛ билан фармакотерапия қилинган III гуруҳ каламушларда жигар

митохондриясининг цитохром-с-оксидаза фаоллиги II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10 кунликда таъсири сезилмади. Аммо 20-, 30- ва 40-кунларига келиб, II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $26,5 \pm 1,7\%$, $22,2 \pm 1,4\%$ ва $16,6 \pm 1,2\%$ га ортганлиги аниқланди (3-расм, А).



3-расм. Галоксифоп-Р-метил (А) ва индоксакарб (Б) пестицидлари билан захарланган каламушлар жигар митохондриясидаги цитохром с-оксидаза ферменти фаоллигига СФЛ ва нарциссиннинг 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ таъсири (*P<0,05; **P<0,01; n=5-6).

Нарциссин юборилган IV гуруҳ каламушларда 10 кунликда цитохром-с -оксидаза фаоллиги II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан кескин ўзгаришлар кузатилмади. Аммо, 20, 30 ҳамда 40 кунларида жигар митохондрияси цитохром-с-оксидаза фаоллиги II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $25,4 \pm 2,1\%$, $29,4 \pm 2,0\%$ ва $25 \pm 1,8\%$ тикланиши аниқланди (3-расм, А). Бунда СФЛга нисбатан нарциссин флавоноидининг коррекцияловчи таъсири самаралироқ эканлиги тажрибаларда исботланди.

Индоксакарб пестициди билан олиб борилган тажрибалар каламушлар жигар митохондриясида цитохром-с-оксидаза фаоллигига II гуруҳ каламушларда 10, 20, 30 ва 40 кунларида жигар митохондрияси цитохром-с-оксидаза фаоллиги назоратга нисбатан $62,6 \pm 4,2\%$, $55,8 \pm 4,4\%$, $44,8 \pm 3,0\%$ ва $41,7 \pm 2,7\%$ га кескин камайганлиги аниқланди. Фермент активлигини энг юқори ингибирланиши захарланишнинг 10 кунида кузатилди. СФЛ ва нарциссин билан фармакотерапия қилинган III ва IV гуруҳ каламушларда жигар митохондрияси цитохром-с-оксидаза фаоллиги II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10, 20, 30 ва 40 кунларига келиб ортганлиги аниқланди (3-расм, Б). СФЛнинг коррекцияловчи таъсири нарциссин флавоноидига нисбатан самаралироқ эканлиги исботланди. Шундай қилиб, ушбу пестицидлар таъсирида жигар митохондриясида цитохром-с-оксидаза фаоллигини кескин камайиши кузатилди. Чуқур ингибирланиш захарланишнинг 10-кунида кузатилди, бу эса ўз навбатида каламушлар жигари митохондриясида нафас олиш занжирида электронларнинг узатилишини ўзгаришига олиб келади.

Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан заҳарланган каламушлар жигари митохондриясининг антиоксидант ферментлар (каталаза, супероксиддисмутаза) фаоллигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири. Пестицидлар билан заҳарланган каламушларнинг жигар митохондриясидаги каталаза ферменти фаоллиги ўзгариши билан бир қаторда СОД фаоллиги ҳам ўзгарди. СОД хужайра ва тўқималарни салбий омиллар таъсирида оксидловчи зарарланишдан ҳимоя қилишда муҳим рол ўйнайди. Навбатдаги тажрибамизда галоксифоп-Р-метил пестициди билан заҳарланган каламушларнинг жигар митохондрияси антиоксидант ферменти СОД фаоллигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири ўрганилган. Олинган натижаларга кўра, галоксифоп-Р-метил билан заҳарланган II гуруҳ каламушларда 10-, 20-, 30- ва 40-кунларига келиб, СОД фаоллиги камайиб бориб, 40-кунда назоратга нисбатан $41,6 \pm 2,8\%$ пасайганлиги аниқланди (1-жадвал).

1-жадвал

Галоксифоп-Р-метил билан заҳарланган каламуш жигар митохондрияси СОД фаоллигига СФЛ ва нарциссиннинг таъсири (10, 20, 30 ва 40 кунлик динамика боғлиқ) (ед./мг оксил)

№	Тажриба гуруҳлари	n	Тажриба кунлари			
			10	20	30	40
I	Назорат	5	$3,30 \pm 0,06$	$3,28 \pm 0,06$	$3,26 \pm 0,05$	$3,34 \pm 0,06$
II	Галоксифоп	6	$2,57 \pm 0,06^*$	$2,40 \pm 0,05^*$	$2,23 \pm 0,05^*$	$1,95 \pm 0,04^{**}$
III	Галоксифоп+СФЛ	5	$2,36 \pm 0,05^*$	$2,24 \pm 0,04^*$	$2,30 \pm 0,09$	$2,44 \pm 0,05^*$
IV	Галоксифоп+Нарциссин	5	$2,29 \pm 0,10^*$	$2,20 \pm 0,06^{**}$	$2,56 \pm 0,02^{**}$	$2,71 \pm 0,03^{**}$

(*P<0,05; **P<0,01; n=5-6).

СФЛ флавоноиди билан фармакотерапия қилинган III гуруҳ ва нарциссин юборилган IV гуруҳ каламушларда 40-кунга келиб, жигар митохондриясидаги СОД ферменти фаоллиги галоксифоп-Р-метил пестициди билан заҳарланган II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда $16,4 \pm 1,1\%$ ва $22,7 \pm 1,5\%$ га ортганлиги тажрибаларимизда намоён бўлди (1-жадвал). Индоксакарб билан заҳарланган каламушлар жигар митохондрияси антиоксидант ферменти СОД фаоллиги назорат гуруҳида 10-, 20-, 30- ва 40-кунлар давомида сезиларли ўзгариш кузатилмади. Индоксакарб билан заҳарланган II гуруҳ каламушларда 10-, 20-, 30- ва 40-кунларига келиб СОД ферментининг фаоллиги камайганлиги ва 40-кунга келиб назоратга нисбатан $44 \pm 3,2\%$ гача фаоллиги пасайганлиги аниқланди. СФЛ билан фармакотерапия қилинган III гуруҳ каламушларда жигар митохондрияси СОД ферменти фаоллиги II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 40-кунга келиб, $51,8 \pm 3,9\%$ ортганлиги аниқланди. Нарциссин билан фармакотерапия қилинган IV гуруҳ индоксикарбли каламушларда 10-, 20-, 30- ҳамда 40-кунларида СОД ферментининг фаоллиги II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан бироз ўзгариб, 40-кунга келиб $53,9 \pm 4,2\%$ ортганлиги тажрибаларимизда ўз аксини топди (2-жадвал).

Индоксакарб билан заҳарланган каламушларнинг жигар митохондрияси СОД фаоллигига СФЛ ва нарциссиннинг таъсири (40 кунлик динамика боғлиқ) (ед./мг оксил)

№	Тажриба гуруҳлари	n	Тажриба кунлари			
			10	20	30	40
I	Назорат	5	3,30±0,06	3,28±0,10	3,26±0,05	3,34±0,06
II	Индоксакарб	6	2,31±0,12	2,11±0,04*	1,95±0,10*	1,89±0,07*
III	Индоксакарб + СФЛ	5	2,65±0,11	2,94±0,07**	3,10±0,09**	3,20±0,07*
IV	Индоксакарб+Нарциссин	5	2,75±0,08*	2,98±0,05*	3,16±0,09*	3,27±0,09*

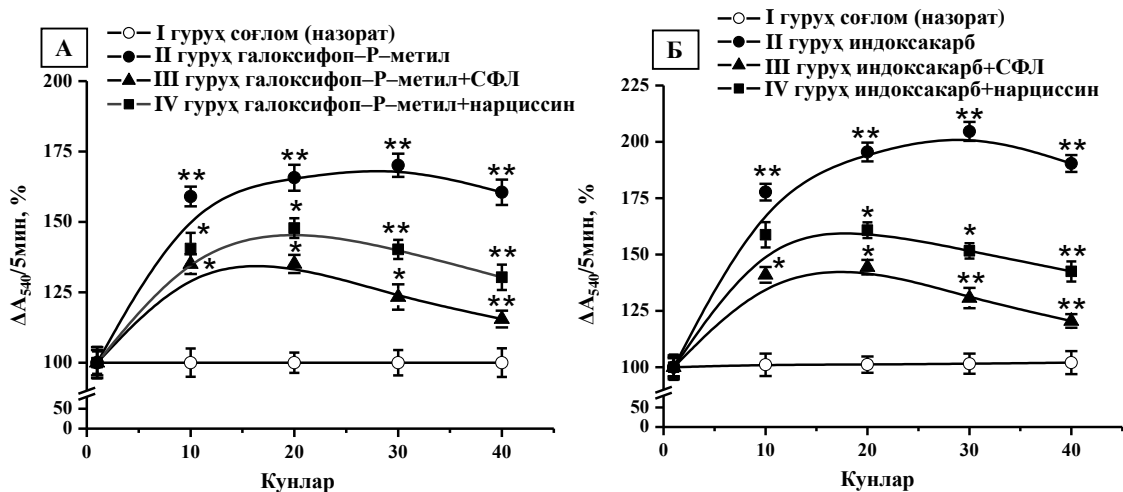
(*P<0,05; **P<0,01; n=5-6).

Олинган натижалар статистик таҳлил қилинганда, антиоксидант ҳимоя тизимига жавобгар бўлган каталаза ва СОД ферментларининг фаоллиги тажриба гуруҳи яъни пестицидлар билан заҳарланган ҳайвонларда пасайиши кузатилди. Ферментлар фаоллиги камайиши митохондрия нафас занжирида эркин радикаллар генерациясини ортишига сабаб бўлади. Бу эса ўз навбатида турли патологик жараёнлар ривожланишига олиб келиши мумкин.

Жигар митохондриясидаги глутатионпероксидаза ва глутатионредуктаза фаоллиги индоксакарб таъсирида динамикага боғлиқ бўлмаган ҳолатда камайди. Глутатионпероксидаза ва глутатионредуктаза фаоллигини СФЛ ва нарциссин бирикмалари 10, 20, 30 ва 40 кунларида динамикага боғлиқ равишда маълум даражада тикланганлиги аниқланди. Олиб борган тажрибаларимиз шуни кўрсатдики, пестицидлар таъсирида митохондрияда глутатионпероксидаза ва глутатионредуктаза фаоллиги сусаяди. СФЛ ва нарциссин бирикмалари глутатионпероксидаза ва глутатионредуктаза фаоллигини маълум даражада тиклаб, ўзининг антиоксидант хоссаларини намоён қилди. Шунингдек, ушбу бобда галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан заҳарланган каламушлар жигар митохондрияси РТР ўтказувчанлигига, митоK_{ATP}-каналли фаоллигига, пассив ион ўтказувчанлигига ва ОФ жараёнларига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири 10, 20, 30 ва 40 кунларда динамикага боғлиқ ҳолда ўрганилган.

Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан заҳарланган каламуш жигар митохондрияси РТР ўтказувчанлигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири. Ушбу тажрибамизда, галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб билан интоксикацияланган каламушларни жигар митохондриясини бўқишига СФЛ ва нарциссиннинг 10, 20, 30 ва 40 кунлар давомида коррекцияловчи таъсир динамикаси баҳоланди. Галоксифоп-Р-метил юборилган II гуруҳ ҳайвонларни жигар митохондрияси бўқиши назоратга нисбатан 10 кунликда 59,0±3,5% га, 20 кунликда эса 65,7±4,6% га 30 ва 40 кунларда мос равишда 70,1±4,1% ва 60,5±4,5% га ортиши аниқланди. Демак, галоксифоп-Р-метил пестицидини ҳайвонларга юборилгандан 20 кундан сўнг жигар митохондриясини бўқишида барқарор динамик ҳолат сақланди (4-расм, А). Аммо бу назорат кўрсаткичларидан юқори ҳолатда қолганлигини митохондрия мембранаси ЛПО интенсивлиги

ортганлиги ва ион транспорт тизимларининг функционал фаоллиги камайганлиги билан изохлаш мумкин. Галоксифоп–Р-метил пестициди юборилган III гуруҳ каламушларни СФЛ флавоноиди (10 мг/кг) билан 10 кун давомида фармакотерапия қилинганда III гуруҳ ҳайвонларини жигар митохондрияси бўкиши II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10 кунликда $24,0 \pm 2,1\%$ га, 20 кунликда эса $30,7 \pm 3,2\%$ га 30 ва 40 кунларида эса $46,8 \pm 4,5\%$ ва $45,0 \pm 3,0\%$ га инбирланганлиги қайд этилди (4-расм, А).



4-расм. Галоксифоп–Р-метил (А) ва индоксакарб (Б) пестицидлари билан интоксикацияланган каламушларнинг жигар митохондрияси РТР ўтказувчанлигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири (40 кунлик динамика боғлиқ) (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; $n = 5-6$).

Бунда, СФЛ нинг ингибирловчи таъсири 10- ва 20-кунларга нисбатан 30- ва 40- кунликда самарали бўлганлиги исботланди. Нарциссин флавоноидининг ҳам митохондрия mРТР ўтказувчанлигини 10 ва 20 кунларга нисбатан 30 ва 40 кунликда самарали ингибирлаши аниқланди.

Навбатдаги *in vivo* тажрибамизда, яна бир пестицид индоксакарб билан захарлантирилган каламушлар жигар митохондрияси юқори ўтказувчан порасига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири ўрганилди. Индоксакарб билан интоксикация қилинган II гуруҳ каламушларни жигар митохондрияси бўкиши назоратга нисбатан 10 кунликда $77,4 \pm 3,7\%$ га, 20 кунликда эса $95,5 \pm 4,2\%$ га 30 ва 40 кунлардан сўнг мос равишда $104,6 \pm 4,2\%$ ва $90,4 \pm 3,7\%$ га ортиши аниқланди. СФЛ юборилган каламушларни жигар митохондрияси бўкиши дастлаб 10 кунда патологик гуруҳга (II гуруҳ) нисбатан $36,7 \pm 3,5\%$, 20 кунликда $51,1 \pm 3,2\%$, 30 кунликда $73,9 \pm 4,5\%$ ва 40 кунликда эса $69,9 \pm 5,3\%$ ингибирланганлиги аниқланди. Нарциссин билан коррекцияланган IV гуруҳ каламушларни жигар митохондрияси юқори ўтказувчан пораси II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолатда мос равишда $18,9 \pm 5,6\%$; $34,7 \pm 3,5\%$; $53 \pm 3,45\%$ ва $47,9 \pm 4,5\%$ ингибирланганлиги аниқланди (4-расм, Б). Олинган натижалардан шундай хулосага келиш мумкинки, галоксифоп–Р-метил пестицидида кузатилган митохондрия мембранаси бузилиши индоксакарбда ҳам кузатилди. СФЛ ва нарциссин бирикмалари пестицидлар таъсирида

зарарланган жигар митохондриясининг юқори ўтказувчан порасини динамикага боғлиқ ингибирлаб, mPTP конформациясини қайта тиклаши мумкинлиги аниқланди.

Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари билан захарлантирилган каламуш жигар митохондрияси АТФга боғлиқ калий канали фаоллигига СФЛ ва нарциссин флавоноидларининг таъсири. Пестицидлар интоксикацияси билан боғлиқ жигар зарарланишида митоК_{АТФ}-каналининг функционал фаоллиги ўрганилмаган. Олиб борилган *in vivo* тажрибамизда галоксифоп-Р-метил юборилган II гуруҳ каламушларни жигар митоК_{АТФ}-каналининг ўтказувчанлиги динамикага боғлиқ равишда 10, 20, 30 ва 40 кунларда инкубация муҳитида 200 мкМ АТФ мавжуд шароитда назоратга (I гуруҳ) нисбатан мос равишда 19,6±1,1%; 33,2±2,2%; 42±3,2% ва 44±3,2% га ингибирланганлиги аниқланди. Галоксифоп-Р-метил юборилган III гуруҳ каламушларни СФЛ билан 10 кун давомида 10 мг/кг дозада перорал юборилганда уларнинг жигар митоК_{АТФ}-каналининг ўтказувчанлиги 10, 20, 30 ва 40 кунларда II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда 11,6±0,8%; 20,9±1,2%; 24±2,1% ва 24±1,3% га фаоллашганлиги аниқланди. Нарциссиннинг 10 мг/кг дозаси билан 10 кун давомида фармакотерапия қилинган IV гуруҳ каламушларни жигар митоК_{АТФ}-канални фаоллиги динамикага боғлиқ ҳолатда II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда 16±1,0%; 30±2,2%; 31±2,5% ва 31,1±2,2% га ортганлиги қайд этилди.

Индоксакарб билан олиб борилган тажрибаларда жигар митоК_{АТФ}-каналининг ўтказувчанлигига II гуруҳда 10, 20, 30 ва 40 кунларда динамикага боғлиқ равишда 200 мкМ АТФ мавжуд шароитда назоратга (I гуруҳ) нисбатан мос равишда 25,8±1,2%; 41,6±2,7%; 42,4±2,9% ва 43,2±3,4% га ингибирланганлиги аниқланди. Индоксакарб юборилган III гуруҳ каламушларни СФЛ ва IV гуруҳни эса нарциссин билан даволанганда уларнинг жигар митоК_{АТФ}-каналининг ўтказувчанлиги 10, 20, 30 ва 40 кунларда II гуруҳ кўрсаткичларига нисбатан мос равишда фаоллашганлиги аниқланди. Демак, галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлари таъсирида жигар митоК_{АТФ}-каналининг ўтказувчанлиги ингибирланиши мембранадан калий ионлари оқимини кескин камайтириши билан ифодаланади.

Пестицидлар билан интоксикация қилинган каламушларнинг жигар митохондрияси ички мембранасининг пассив ион ўтказувчанлиги бир валентли K⁺, Na⁺ ва H⁺ ионлари учун тегишли металлларнинг KNO₃, NaNO₃, HNO₃ тузларидан, икки валентли Ca²⁺ ва Mg²⁺ ионлар учун Ca(NO₃)₂ ва Mg(NO₃)₂ тайёрланган изоосмотик муҳитларда аниқланди. Пестицидлар таъсирида жигар митохондриясининг пассив ион ўтказувчанлиги 10, 20, 30 ва 40 кунликларда назоратга нисбатан ортганли аниқланди. СФЛ ва нарциссин флавоноидлари пестицидлар таъсирида ортган митохондрия пассив ион ўтказувчанлигини 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда нисбатан қайта тиклаганлиги аниқланди. *In vivo* тажрибаларда СФЛ ва нарциссин флавоноидлари пестицидлар билан захарланган шароитда жигар

митохондрияси дисфункциясини қайта тиклаб, нафас назорати ва АДФ/О қийматларига самарали таъсир этиши маълум бўлди. Бундан шундай хулоса қилиш мумкинки, СФЛ ва нарциссин ўсимлик бирикмалари жигар митохондрияси энергетик метаболизм жараёнларини пестицидлар таъсирида бузилишини коррекциялайди.

ХУЛОСАЛАР

1. Индоксакарб билан (LD_{50} 1/10) билан заҳарлантирилган каламушлар жигари тўқимасида қолдиқ пестицид миқдори галоксифоп-Р-метилга нисбатан юқори бўлиб, бу кўрсаткич заҳарланишнинг 5-10-кунларида аниқланди. 20 ва 30 кунларида пестициднинг қолдиқ миқдори камайиб борди ва 40-кунга келиб аниқланмади.

2. Софорофлавонозид ва нарциссин флавоноидлари антирадикал фаоллигини намоён қилиб, галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб билан интоксикацияланганда жигар митохондриясининг Fe^{2+} /цитрат билан чақирилган липидларнинг перекисли оксидланиши ва МДА миқдорини 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда камайтирди.

3. Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб таъсирида жигар митохондриясида цитохром-с-оксидаза фаоллиги кескин камайди, чуқур ингибирланиш заҳарланишнинг 10-кунида кузатилди, СФЛ (10 мг/кг) ва нарциссин (10 мг/кг) флавоноидлари жигар митохондриясидаги цитохром-с-оксидаза фаоллигини 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда тиклаши аниқланди.

4. Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлар билан заҳарланган каламушлар жигар митохондрияси антиоксидант ферментлари (каталаза, СОД, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза) фаоллигининг динамикага боғлиқ ҳолда пасайтирди, СФЛ ва нарциссин флавоноидлари уларнинг фаоллигини қайта тиклаб, антиоксидантлик хоссаларини намоён қилди. Олинган натижалар нарциссиннинг СФЛга нисбатан антиоксидант фаоллиги юқори эканлигини кўрсатди.

5. Пестицидлар интоксикациясида каламуш жигар митохондрияларида 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда РТР очик ҳолатга ўтади, мито K_{ATP} -канал ўтказувчанлиги ингибирланади, бир ва икки валентли катионлар учун пассив ўтказувчанлиги ортади. СФЛ ва нарциссин флавоноидлари жигар митохондрияси РТРни ва пассив ион ўтказувчанлигини ингибирлайди ҳамда мито K_{ATP} -канал ўтказувчанлигини фаоллаштирди.

6. Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидлар таъсирида 10, 20, 30 ва 40 кунлик динамикага боғлиқ ҳолда жигар митохондриясининг оксидланишли фосфорланиш жараёнининг ажралишини СФЛ ва нарциссин флавоноидлари қайта тиклайди, нафас назорати, АДФ/О коэффициентларини оширади ва энергетик метаболизм бузилишларини коррекция қилиб, хужайранинг энергетик танқислигини баратараф этади.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.B.01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И
БИОХИМИИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
УЗБЕКИСТАНА**

АНДИЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ПАРПИЕВА МАШУРА ЖАВДАТОВНА

**НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ
МИТОХОНДРИИ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПЕСТИЦИДОВ
ГАЛОКСИФОП-Р-МЕТИЛА И ИНДОКСАКАРБА И ИХ КОРРЕКЦИЯ
РАСТИТЕЛЬНЫМИ ВЕЩЕСТВАМИ**

03.00.01 – Биохимия

03.00.08 – Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD)
ПО БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент – 2022

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан под номером В2021.2.PhD/В386.

Диссертационная работа выполнена в Андижанском государственном университете. Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском и английском (резюме) размещен на веб-странице Научного совета (www.ibb-nuu.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель:

Мирхамидова Парида
доктор биологических наук, профессор
Позиллов Маъмуржон Комилжонович
доктор биологических наук

Официальные оппоненты:

Далимова Сурайё Нугмановна
доктор биологических наук, профессор
Гайилов Улугбек Гаппаржанович
доктор философии (PhD) по биологии

Ведущая организация:

**Наманганский Государственный
Университет**

Защита диссертации состоится « ____ » _____ 2022 г. в ____ часов на заседании Научного Совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии при Национального университета Узбекистана. (Адрес:100174, г.Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 71 246-68-96.

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биофизики и биохимии при Национального университета Узбекистана (зарегистрированной за № ____). Адрес:100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96.e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

Автореферат диссертации разослан: « ____ » _____ 2022 года.
(реестр протокола рассылки № « ____ » от _____ 2022 года).



Сабилов Равшан Заирович
Председатель Научного совета
по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

Курбанназарова Раънохон Шараповна
И.о., ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней д.б.н.

Кадирова Дилбар Абдуллаевна
Председателя Научного семинара при Научном совете
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время в разных странах мира используется около 1000 различных видов пестицидов. Некоторые из этих пестицидов рекомендованы для использования в сельском хозяйстве. Однако пестициды, используемые в сельском хозяйстве, оказывают вредное воздействие на окружающую среду. Пестициды, попадающие в организм разными путями, вызывают значительные изменения. Метаболизм многих ксенобиотиков происходит в клетках печени. В связи с этим разработка эффективных методов защиты митохондрий печени от токсического действия пестицидов и фармакологической коррекции является одной из актуальных проблем современной токсикологии и биохимии.

В последние годы во многих научных центрах мира были проведены обширные исследования по созданию новых видов пестицидов. При этом особое внимание уделяется разработке новых подходов к коррекции с растительными соединениями митохондриальной дисфункции, связанной с интоксикацией печени пестицидами. В связи с этим одной из нерешенных задач является выявление функциональных нарушений митохондрий печени в результате токсического действия пестицидов и их коррекция с помощью флавоноидных соединений. На этом основании необходимо проводить оценку антитоксического действия флавоноидов и создавать новые виды препаратов.

В Узбекистане в определенной степени достигнут прогресс в выявлении физиологических механизмов токсического действия пестицидов и других химических веществ, а также их токсикологических свойств и устранении их токсического действия. В стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определены задачи «... стимулирования научно-исследовательской и инновационной деятельности, создания эффективных механизмов внедрения научных и инновационных достижений»¹. Исходя из этих задач, имеет важное значение определение и выделение среди растительных соединений препаратов с антитоксическими свойствами, оценка их влияния на функции клеток печени и мембран, а также применение их в лечебной практике.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит для реализации задач, определенных в постановлениях Президента Республики Узбекистана №ПП-3532 от 14 февраля 2018 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли» и №ПП-4310 от 6 мая 2019 года «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки» и в других нормативно-правовых актах.

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. № УП-4947. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан».

Соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологии республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан: - V «Сельское хозяйство, биотехнология, экология и охрана окружающей среды» и VI «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Ведущие мировые исследовательские центры проводят исследования по направлению повреждений пестицидами, клеточных и митохондриальных дисфункций и механизмов их коррекции с помощью растительных соединений. Изучено канцерогенное действие остаточных пестицидов, полученных при употреблении в пищу говядины, являющейся продуктом питания. В исследованиях были обнаружены остаточные количества 22 различных хлорорганических пестицидов, в том числе в печени крупного рогатого скота на уровне 152 нг/г, в почках на уровне 266 нг/г и языке на уровне 488 нг/г (Mahmoud A.F.A., et al., 2016). Было обнаружено, что эндосульфат из хлорорганических соединений приводит к потере веса, а происходящие метаболические процессы в печени приводят к изменениям энергии, аминокислот, липидного обмена и микрофлоры кишечника (Zhang et al., 2017).

В странах СНГ З.М. Омарова (2010) и Б.М. Штабский (2013) в своих исследованиях показали, что пестициды накапливаются в виде остатков в печени, почках, головном мозге и жире. В.А. Королевым (2017) было показано, что некоторые фунгициды оказывают эффективное действие мексидола на изменение количества нейтральных липидов в мембране эритроцитов.

Профессор М.И.Асраров и его ученики изучили влияние пестицидов фосалон, омайт и маврик на способность митохондрий печени накапливать Ca^{2+} и пассивную ионную проницаемость внутренней мембраны. Н.Т. Алимбабаевой, Р.Д. Рустамовым и Д.С. Туйчиевой исследовано влияние пестицидов бутилкаптакса, дроппа и карате на активность ПОД, активность антиоксидантных ферментов, а также на процессы дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий печени. Р.Д. Рустамовым было исследовано влияние антиоксиданта Пегинола С-2000 на структурные и функциональные нарушения микросом печени и митохондриальной мембраны крыс, отравленных бутилкаптаксом. Также Д. Туйчиева провела исследования влияния дефолиантов бутилкаптакса и дроппа на морфологию и функциональное состояние гепатоцитов в печени беременных крыс и их эмбрионов.

Связь темы диссертации с планом научно-исследовательских работ учреждений, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательской работы кафедры Зоологии и биохимии Андижанского государственного университета по темам «Исследование влияния пестицидов, используемых в сельском хозяйстве на организмы животных» и «Защита растений».

Целью исследования является исследование накопления пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб в виде остатков в тканях печени крыс, их влияния на митохондриальную дисфункцию и коррекция с помощью флавоноидов софорофлавонозида и нарциссина в зависимости от динамики 10, 20, 30 и 40 дней.

Задачи исследования:

проведение анализа влияния пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб на показатели остаточного объема ткани печени крыс через 5, 10, 20, 30 и 40 дней в зависимости от динамики;

определение антирадикальной активности флавоноидов софорофлавонозида (СФЛ) и нарциссина;

оценка влияния флавоноидов СФЛ и нарциссина на количество малондиальдегид (МДА), продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ) митохондрий печени и на активность антиоксидантных ферментов при интоксикации пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб на 10, 20, 30 и 40 сутки в зависимости от динамики;

определение коррелирующего влияние пестицидов на проводимость РТР митохондрий печени крыс, на активность калиевого канала (миток_{АТФ}-канала), связанную с АТФ, и пассивную ионную проводимость флавоноидов СФЛ и нарциссина в динамике через 10, 20, 30 и 40 дней в экспериментальных условиях *in vivo*;

исследование влияния флавоноидов СФЛ и нарциссина на процессы дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрии печени крыс, отравленных пестицидами в динамике через 10, 20, 30 и 40 дней.

Объектом исследования служили митохондрии, выделенные из печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб и их коррекция растительными флавоноидами СФЛ и нарциссин, обладающих антиоксидантной активностью.

Предметом исследования являлись дисфункция митохондрий печени крыс при интоксикации пестицидами, определение антиоксидантных свойств флавоноидов СФЛ и нарциссина и их корректирующие действия на нарушения митохондриальных мембран печени.

Методы исследования. В исследованиях использовались методы дифференциального центрифугирования, спектрофотометрия, полярография, широко используемые в современной биохимии и физиологии. Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью компьютерной программы Origin 6.1 (Microsoft, США).

Научная новизна исследования состоит в следующем:

определены остаточные количества пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб в ткани печени крыс в зависимости от динамики (5, 10, 20, 30 и 40 дней);

определена антирадикальная активность флавоноидов СФЛ и нарциссин в условиях *in vitro* и их антиоксидантные свойства при интоксикации пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб;

установлено эффективное влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на активность mPTP и митоK_{ATP}-каналов в условиях интоксикации пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб в зависимости от динамики (на 10, 20, 30 и 40 сутки- дни);

выявлены изменения пассивной ионной проницаемости митохондрий печени крыс и восстановления процесса ОФ флавоноидами СФЛ и нарциссина в условиях интоксикации пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб в зависимости от динамики (на 10, 20, 30 и 40 сутки - дни).

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

обоснована коррекция митохондриальной дисфункции печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, с использованием флавоноидных соединений;

идентифицированы два мембраноактивных вещества с антитоксическими антиоксидантными свойствами.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что они получены с применением современных биохимических методов исследований, необходимой статистики проведения экспериментов, а анализы результатов были выполнены с использованием современных компьютерных программ. Достоверность результатов основывается на их обсуждении на республиканских и международных конференциях и публикации результатов исследований в рецензируемых научных журналах.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования объясняется выяснением механизмов коррекции клеточной, митохондриальной дисфункции флавоноидными соединениями, приводящей к интоксикации организма крыс под действием пестицидов.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что используемые подходы, методы и выявленные механизмы являются основой для выявления новых биоактивных соединений с антитоксическими свойствами, а мембраноактивные свойства веществ служат средством коррекции митохондриальной дисфункции, вызванной пестицидами.

Внедрение результатов исследования. На основании научных результатов, полученных по коррекции с флавоноидами СФЛ и нарциссина в дисфункции митохондрий печени у крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб;

пестицид галоксифоп-Р-метил был использован для борьбы с сорняками на площади 179 га пахотных земель в Пахтаабадском и Ходжаабадском районах Андижанской области в 2019-2020 годах, что позволило сократить количество применяемых пестицидов на практике (0,5-1,0 л/га) на 0,4-0,9 л/га (справка Минсельхоза Республики Узбекистан № 02/032-3064 от 23 июля 2021 года). В результате количество галоксифоп-Р-метил 0,4-0,9 л/га не повлияло отрицательно на урожайность и структуру почвы, при этом достигнута экономическая эффективность 32000 сумов/га (или 32 млн. сумов на 1000 га хлопка);

пестицид индоксакарб был использован для борьбы с хлопковым долгоносиком на площади 179 га пахотных земель в Пахтаабадском и Ходжаабадском районах Андижанской области в 2019-2020 годах, снизив количество применяемого пестицида на практике (0,40-0,45 л/га) до 0,3-0,35 л/га (справка Минсельхоза Республики Узбекистан № 02/032-3064 от 23 июля 2021 года). В результате количество внесенного индоксакарба 0,3-0,35 л/га не оказало отрицательного воздействия на урожайность и окружающую среду, при этом была достигнута экономическая эффективность 95100 сумов/га (или 95,1 млн. сумов на 1000 га хлопка);

по результатам определения доз пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, поражающих ткани печени, относительно небольшие дозы химических средств борьбы с сорняками были внедрены на 63 га поля в фермерском хозяйстве Карабулак Ходжаабадского района Андижанской области (Справка Госкомитета экологии и охраны окружающей среды Республики Узбекистан №03-02/8-1971 от 14 декабря 2021 года).

Апробация результатов исследования. Результаты исследования обсуждались на 7 международных и 6 республиканских научных конференциях.

Опубликованность результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 19 научных работ, в том числе 6 статей в научных журналах, из них 4 в зарубежных и 2 в отечественных научных журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации. Содержание диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 118 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении диссертации обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет исследований, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практическая значимость полученных результатов исследования, раскрывается научная и практическая значимость результатов, приведена информация о внедрении результатов исследования на практике, а также об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертации **«Описание современных исследований влияния пестицидов на клеточные мембраны и функцию митохондрий»** описывается современная классификация пестицидов, используемых в сельском хозяйстве, влияние некоторых пестицидов на функциональную активность митохондрий и образование свободных радикалов в митохондриях, а также связанные с этим патологические, биохимические и физиологические изменения. Проанализированы новейшие литературные

данные о механизмах фармакологического действия некоторых растительных соединений на клеточные мембраны, поврежденные пестицидами, опубликованные в зарубежных и отечественных научных изданиях.

Во второй главе диссертации **«Методы и материалы исследования для определения остаточных количеств пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб в ткани печени, их влияние на митохондрии»**, описаны порядок проведения исследований, материалы и методы, использованные при их реализации. В том числе было исследовано отравление крыс пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, определение остаточного количества пестицидов в тканях печени крыс через 5, 10, 20, 30 и 40 дней, с помощью масс-спектрометрии с высокоэффективной жидкостной хроматографией. Выделение митохондрий из тканей их печени методом дифференциального центрифугирования. Изучалось спектрофотометрическое определение влияния флавоноидов СФЛ и нарциссина на активности ПОЛ, мембран связанных цитохром-с-оксидазы и ферментов системы антиоксидантной защиты мембран митохондрий печени крыс, отравленных пестицидами. Также исследовалась пассивная ионная проницаемость, проницаемость mPTP и активность митоK_{ATP}-канала митохондриальной мембраны. Представлены полярографические методы определения дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий.

Первоначально самцы крыс (180–200 г), отобранные для интоксикации пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, были разделены на группы: В экспериментальных группах II, III и IV животных отравляли перорально (*per os*) разовой дозой LD₅₀ 1/10 через специальный зонд пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб. После отравления пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарба, вводили перорально один раз в день животным группы III флавоноид СФЛ в дозе 10 мг/кг и животным группы IV флавоноид нарциссин в дозе 10 мг/кг перорально в течение 10 дней.

В третьей главе диссертации **«Показатели остаточного количества галоксифоп-Р-метила и пестицидов индоксакарба в тканях печени»** приведены результаты хроматографического анализа остаточного количества пестицидов галоксифоп-Р-метила и индоксакарба в ткани печени крыс (на 5, 10, 20, 30, 40 сутки). Первоначально был проведен количественный хроматографический анализ печени животных контрольной (здоровой) группы и галоксифоп-Р-метил. Интенсивность абсорбции 0,01 мг/мл раствора стандартного галоксифоп-Р-метила составила 0,1 мг (рис. 1). В образцах печени крыс, взятых для контроля, специфическая для галоксифоп-Р-метила интенсивность поглощения не определялась (рис. 1).

Образцы печени животных экспериментальной группы были взяты через 5, 10, 20, 30 и 40 дней и выполнены хроматографические анализы. Приведены хроматограммы образцов печени крыс, полученных через 5 дней после отравления животных однократной дозой LD₅₀ 1/10 пестицидом галоксифоп-Р-метил. Высокая интенсивность поглощения зависит от количества испытуемого вещества в этом образце. Полученные результаты

показали, что пестицид галоксифоп-Р-метил присутствовал в образце 1, в количестве равном 0,0174 мкг, и в образце 2, - равном 0,0163 мкг (рис. 1).

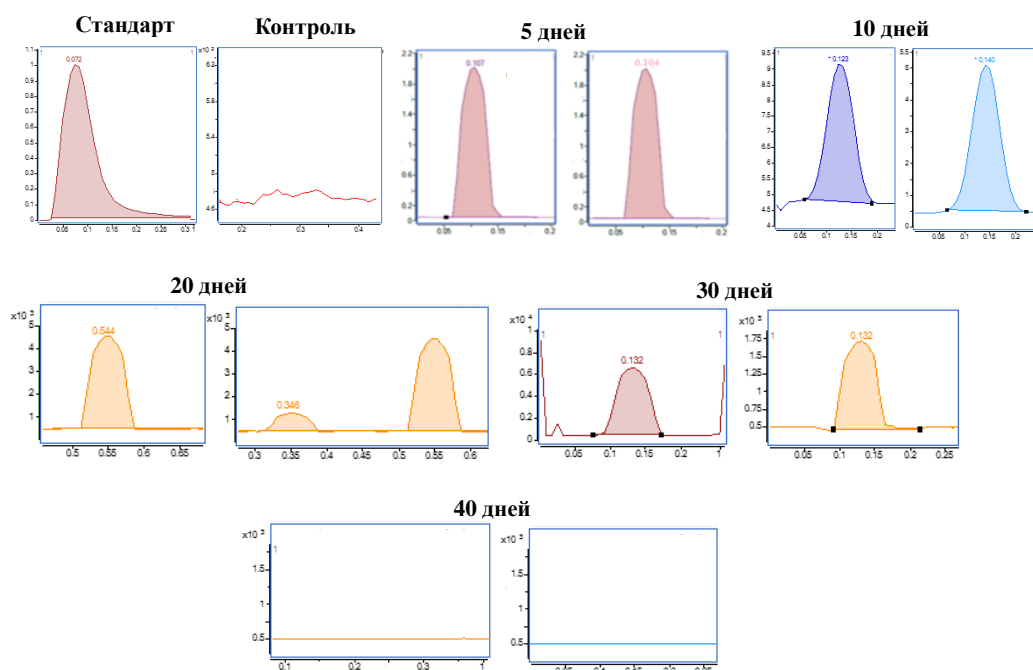


Рис. 1. Хроматограмма проб печени крысы, стандартного раствора галоксифоп-Р-метил 0,01 мг/мл, контроль и после отравления галоксифоп-Р-метилом на 5, 10, 20, 30, 40 дни (Эти исследования проводились совместно со старшим научным сотрудником Института биоорганической химии Академии наук Республики Узбекистан А.М.Мадрахимовым).

В ходе исследования через 10 дней были взяты образцы печени животных и проведен хроматографический анализ. Количество галоксифоп-Р-метила в образцах печени животных было снижено по сравнению с указанным выше. В частности, 10-дневный образец содержал 0,00168 мкг в 1-м образце и 0,00184 мкг во 2-м образце (рис. 1). Результаты показали, что значительное снижение содержания галоксифоп-Р-метила в печени животных наблюдалось на 10-й день по сравнению с 5-м днем исследования. Во время исследования пики абсорбции, характерные для галоксифоп-Р-метила, образовывались в образцах печени животных через 20 дней. Однако, было обнаружено, что его количество значительно уменьшилось по сравнению с 10-м днем. В частности, образец 1 (взятый относительно 1 г образца) содержал 0,00023 мкг, а образец 2 содержал галоксифоп-Р-метил в количестве, равном 0,00014 мкг (рис. 1).

В ходе исследования через 30 дней были взяты образцы печени животных. Результаты показали, что через 30 дней исследования в образцах печени животных образовались пики абсорбции, специфичные для галоксифоп-Р-метила. Уменьшение интенсивности поглощения в этих спектрах связано с уменьшением количества галоксифоп-Р-метила. В частности, в 1-ом образце содержание галоксифоп-Р-метила составляло 0,0000094 мкг, а в 2-ом образце наличие пестицида составляло 0,000153 мкг (рис. 1). После 40 дней исследования в образцах печени животных не были

обнаружены пики абсорбции, специфичные для галоксифоп-Р-метила. Результаты показали, что образцы печени животных не содержали остаточного количества галоксифоп-Р-метила через 40 дней. Результаты также показали, что максимальное количество остаточных пестицидов в печени крыс было обнаружено на 5- 10-е сутки после отравления. На 20-е и 30-е сутки отравления этот показатель снижался. К 40-му дню исследования накопления остаточных пестицидов в печени крыс не наблюдалось (рис. 1).

Хроматографический анализ остаточного количества пестицида индоксакарба в ткани печени крыс проводился в зависимости от динамики 10-40 дней. В отношении этого пестицида также были получены результаты очень близкие к результатам, полученным для галоксифоп-Р-метила. Высокие остаточные количества в ткани печени крыс, отравленных галоксифоп-Р-метилом и индоксакарбом, были обнаружены на 5– 10-е сутки после отравления. На 20-е и 30-е сутки после отравления этот показатель снижался. Результаты исследования показали, что остаточное количество введенных крысам пестицидов не обнаруживается в ткани печени к 40-м суткам. Из полученных результатов можно сделать вывод, что количество остаточных пестицидов в печени крыс может привести к ряду изменений биохимических и физиологических параметров митохондрий печени.

В четвертой главе диссертации **«Коррекция дисфункции митохондрий печени у крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб софорофлавонозидом и нарциссином»** были исследованы антирадикальная активность флавоноидов, влияние флавоноидов на активность ПОЛ митохондриальной мембраны (МДА, Fe^{2+} /цитрат), активности фермента цитохром-с-оксидазы и антиоксидантных ферментов (каталаза, СОД, глутатионредуктаза, глутатионпероксидаза) на 10, 20, 30 и 40 дни в зависимости от динамики после отравления крыс пестицидами. Известно, что под действием различных прооксидантных агентов процесс ПОЛ в биологических мембранах изменяется. Изучено влияние СФЛ и нарциссина на продукты ПОЛ, на уровни МДА в 10–40-дневной динамике митохондрий печени крыс, отравленных пестицидами. Результаты показали, что количество продукта ПОЛ МДА в мембране митохондрий печени через 10, 20, 30 и 40 дней у крыс группы II, отравленных пестицидом галоксифоп-Р-метил, увеличилась на $35,7 \pm 2,8\%$, $39,1 \pm 3,2\%$, $36,4 \pm 2,5\%$ и $32,1 \pm 2,2\%$, соответственно, по сравнению с контролем (I группа). Это свидетельствует об ускорении процесса ПОЛ в митохондриальной мембране под действием пестицида галоксифоп-Р-метил. В группе III крыс, получавших СФЛ, уровни митохондриального МДА в печени снизился, по сравнению с группой II, через 10 дней на $9 \pm 0,4\%$, через 20, 30 и 40 дней на $15,6 \pm 1,2\%$, $21,3 \pm 1,5\%$ и $19,8 \pm 1,6\%$, соответственно. У крыс IV группы, которым вводили нарциссин, на 10 и 20 сутки наблюдалось достоверное снижение уровня МДА на $11,5 \pm 0,9\%$ и $21,6 \pm 1,6\%$, соответственно, по сравнению с показателями группы II. Однако на 30-е и 40-е сутки наблюдалось снижение уровня МДА в

митохондриях печени на $28,6 \pm 2,1\%$ и $26,0 \pm 2,2\%$, соответственно, по сравнению с показателями группы II (рис. 2, А).

Изучение МДА в митохондриях печени у крыс, отравленных индоксикарбом, показало увеличение МДА на $36,4 \pm 2,4\%$, $36,7 \pm 2,8\%$, $33,3 \pm 1,9\%$ и $25,7 \pm 1,3\%$ в митохондриях печени у крыс группы II через 10, 20, 30 и 40 дней, соответственно. У крыс группы III, получавших СФЛ, уровни митохондриального МДА в печени составили $9,1 \pm 0,8\%$, $16,4 \pm 1,2\%$, $18,8 \pm 2,1\%$ и $11,5 \pm 1,2\%$, соответственно, через 10, 20, 30 и 40 дней по сравнению со значениями, полученными для группы II (рис. 2, Б). У крыс группы IV, которым вводили нарциссин, уровни МДА снизились на $15,2 \pm 1,2\%$ и $25,3 \pm 1,7\%$, соответственно, через 10 и 20 дней по сравнению со значениями для группы II. Однако на 30-й и 40-й дни уровни МДА в митохондриях печени были снижены на $25,5 \pm 1,6\%$ и $16,4 \pm 1,5\%$, соответственно, по сравнению со значениями группы II (рис. 2, Б). Таким образом, флавоноиды СФЛ и нарциссин могут нейтрализовать действие свободных радикалов на мембрану и подавлять ПОЛ, предотвращая образование свободных радикалов, связанных с ПОЛ, в митохондриях печени.

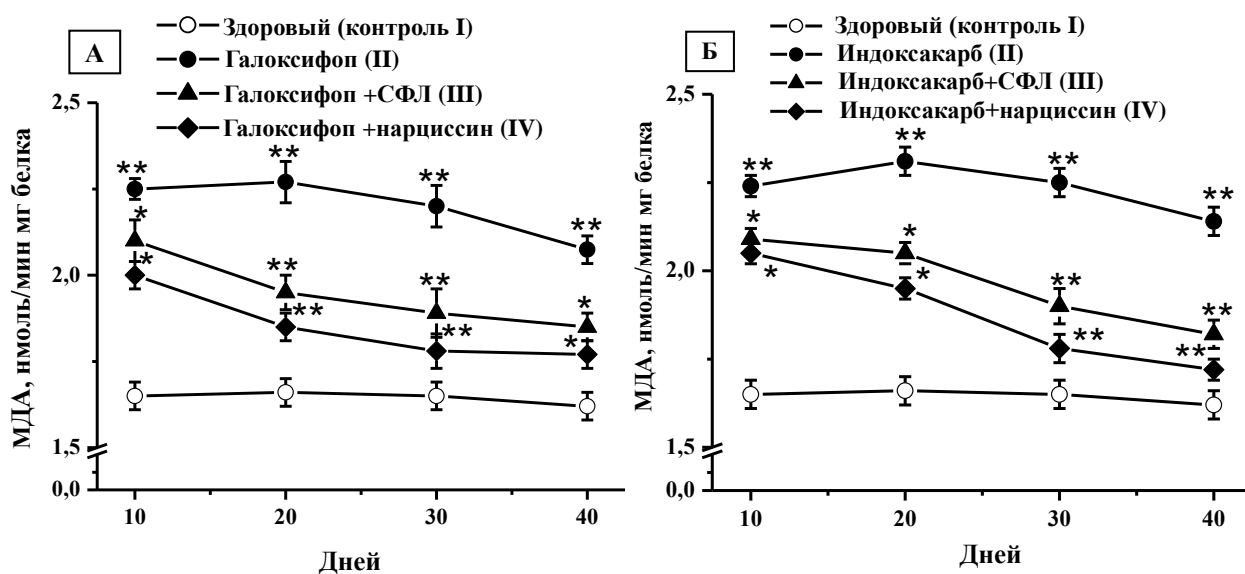


Рис. 2. Влияние СФЛ и нарциссина на 10, 20, 30 и 40-дневную динамику МДА митохондрий печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил (А) и индоксикарб (В) (*P < 0,05; ** P < 0,01; n = 5-6).

Также были определены 10-, 20-, 30- и 40-дневные динамические эффекты влияния флавоноидов СФЛ и нарциссина на процесс ПОЛ, вызванный воздействием Fe^{2+} /цитрата на митохондрии печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксикарб. В присутствии Fe^{2+} /цитрата в инкубационная среда было отмечено, что индуцированный процесс ПОЛ, т.е. митохондриальный отек, резко увеличивался по сравнению с параметрами у контрольной группы крыс в зависимости от 10, 20, 30 и 40-дневной динамики. При фармакотерапии крыс,

отравленных пестицидами, СФЛ и нарциссином в течение 10 дней, было обнаружено, что их митохондриальная мембрана печени в некоторой степени восстанавливалась в зависимости от 10, 20, 30 и 40-дневной динамики ПОЛ для крыс группы II, индуцированных воздействием Fe^{2+} /цитрата.

Было показано, что у млекопитающих некоторые инсектициды вызывают набухание митохондрий печени, изменяют активность АТФазы, цитохромоксидазы, активируемую процессом дыхания и окислительного фосфорилирования и Mg^{2+} , и вызывают митохондриальную дисфункцию (Toualbia et al., 2017). Однако, исследования изменений цитохром-оксидазной активности митохондрий печени крыс под действием многих пестицидов, включая галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, мало изучены. В следующем эксперименте было изучено изменение цитохром-оксидазной активности митохондрий печени под действием пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, а также влияние на них флавоноидов.

Результаты показали резкое снижение активности цитохром-с-оксидазы митохондрий печени через 10, 20, 30 и 40 дней у крыс группы II, отравленных пестицидом галоксифоп-Р-метил, оно составило $71,7 \pm 4,2\%$, $68,5 \pm 3,4\%$, $58,7 \pm 4,7\%$ и $43,9 \pm 3,4\%$, соответственно. Это указывает на то, что под действием пестицида транспорт электронов в дыхательной цепи митохондрий серьезно нарушается. У митохондриальных крыс III группы, получавших СФЛ, через 10 дней не наблюдалось влияния активности митохондриальной цитохром-с-оксидазы печени по сравнению с параметрами для крыс группы II. Однако к 20, 30 и 40 дням он увеличился на $26,5 \pm 1,7\%$, $22,2 \pm 1,4\%$ и $16,6 \pm 1,2\%$, соответственно, по сравнению с показателями для группы II (рис. 3, А).

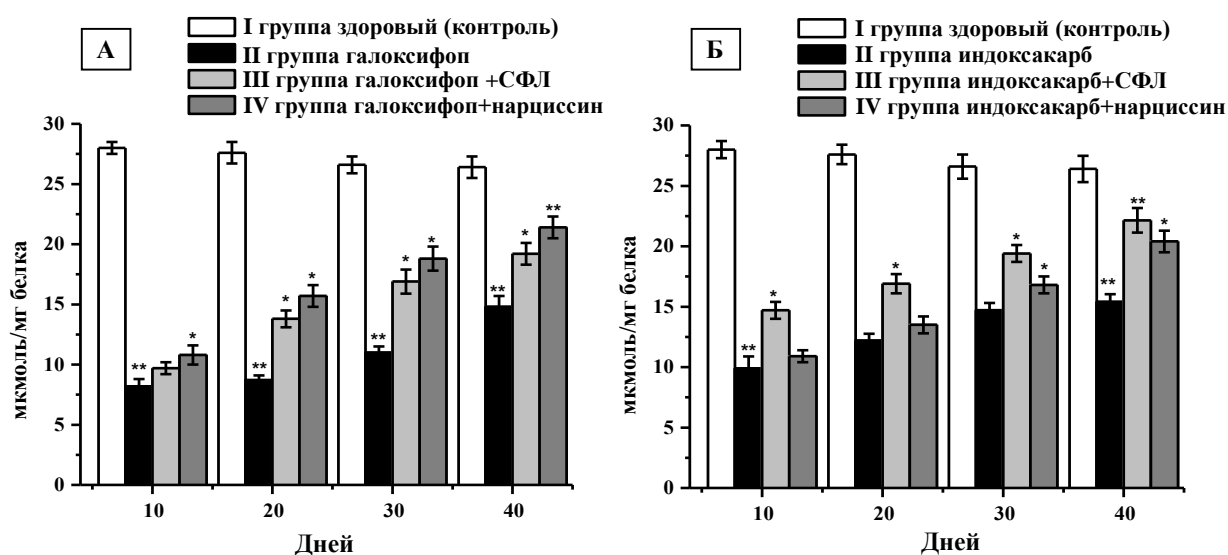


Рис. 3. Влияние СФЛ и нарциссина на активность фермента цитохром-с-оксидазы в митохондриях печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил (А) и индоксакарбом (В) в зависимости от динамики 10, 20, 30 и 40 дней (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; $n = 5-6$).

Никаких значительных изменений в активности цитохром-оксидазы не наблюдалось у крыс группы IV, которым вводили нарциссин в течение 10 дней, по сравнению с показателями для группы II. Однако, на 20, 30 и 40-е сутки активность митохондриальной цитохром-с-оксидазы печени крыс восстанавливалась на $25,4\pm 2,1\%$, $29,4\pm 2,0\%$ и $25\pm 1,8\%$, соответственно, по сравнению с показателями для группы II (рис. 3, А). В этом случае эксперименты показали, что корригирующее действие флавоноида нарциссина является более эффективным, чем СФЛ.

Эксперименты с пестицидом индоксакарб показали, что активность цитохром-оксидазы в митохондриях печени крыс группы II на 10, 20, 30 и 40 сутки была выше активности цитохром-с-оксидазы в митохондриях печени на $62,6\pm 4,2\%$, $55,8\pm 4,4\%$, $44,8\pm 3,0\%$, а также её резкое снижение - на $41,7\pm 2,7\%$ по сравнению с контролем. Наибольшее ингибирование активности фермента наблюдалось на 10-й день интоксикации. Было обнаружено, что митохондриальная цитохром-с-оксидазная активность печени повышается к 10, 20, 30 и 40 дням у крыс III и IV групп, получавших фармакотерапию СФЛ и нарциссином, через 10, 20, 30 и 40 дней, соответственно (рис. 3, Б). Корректирующий эффект СФЛ оказался более эффективным, чем эффект флавоноида нарциссин. Таким образом, под действием этих пестицидов наблюдалось резкое снижение активности цитохром-с-оксидазы в митохондриях печени крыс. На 10-е сутки интоксикации наблюдалось глубокое ингибирование, что, в свою очередь, приводило к изменению передачи электронов в дыхательной цепи в митохондриях печени крыс.

Влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на активность антиоксидантных ферментов (каталазы, супероксиддисмутазы) в митохондриях печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб. Помимо изменений активности фермента каталазы в митохондриях печени крыс, отравленных пестицидами, изменяется и активность СОД. Который играет важную роль в защите клеток и тканей от окислительного повреждения под воздействием неблагоприятных факторов. В следующем эксперименте было изучено влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на активность антиоксидантного фермента СОД митохондрий печени крыс, отравленных пестицидом галоксифоп-Р-метил (табл. 1).

Таблица 1

Влияние СФЛ и нарциссина на активность СОД в митохондриях печени крыс, отравленных галоксифоп-Р-метилом (в зависимости от 10, 20, 30 и 40 дневной динамики) (ед./мг белок)

№	Экспериментальные группы	n	Экспериментальные дни			
			10	20	30	40
I	Контроль	5	$3,30\pm 0,06$	$3,28\pm 0,06$	$3,26\pm 0,05$	$3,34\pm 0,06$
II	Галоксифоп	6	$2,57\pm 0,06^*$	$2,40\pm 0,05^*$	$2,23\pm 0,05^*$	$1,95\pm 0,04^{**}$
III	Галоксифоп+СФЛ	5	$2,36\pm 0,05^*$	$2,24\pm 0,04^*$	$2,30\pm 0,09$	$2,44\pm 0,05^*$
IV	Галоксифоп+Нарциссин	5	$2,29\pm 0,10^*$	$2,20\pm 0,06^{**}$	$2,56\pm 0,02^{**}$	$2,71\pm 0,03^{**}$

(*P<0,05; **P<0,01; n=5-6).

Результаты показали, что у крыс группы II, отравленных галоксифоп-Р-метилом, на 10, 20, 30 и 40 сутки активность СОД снижалась, причем на 40 сутки – она снизилась на $41,6 \pm 2,8\%$ по сравнению с контролем. Эксперименты показали, что у крыс группы III, получавших фармакотерапию флавоноидом СФЛ и крыс группы IV, индуцированных нарциссином, к 40 суткам активность фермента СОД в митохондриях печени была выше на $16,4 \pm 1,1\%$ и $22,7 \pm 1,5\%$, соответственно, по сравнению с крысами группы II, отравленными пестицидом галоксифоп-Р-метил (табл. 1).

Существенного изменения активности антиоксидантного фермента СОД в митохондриях печени крыс, отравленных индоксакарбом, в контрольной группе на 10-й, 20-й, 30-й и 40-й дни после отравления не наблюдалось. У крыс группы II, отравленных индоксакарбом, активность фермента СОД снижалась к 10, 20, 30 и 40 дням и к 40 дням снижалась на $44 \pm 3,2\%$ по сравнению с контролем. У крыс III группы, получавших СФЛ, активность фермента СОД митохондрий печени на 40-е сутки оказалась на $51,8 \pm 3,9\%$ выше, чем у крыс группы II. В экспериментах с фармакотерапией нарциссином у крыс с индоксакарбом IV группы на 10, 20, 30 и 40-е сутки активность фермента СОД незначительно отличалась от таковой для крыс группы II и увеличивалась на $53,9 \pm 4,2\%$ к 40-м суткам (табл. 2).

Таблица 2

Влияние СФЛ и нарциссина на активность СОД митохондрий печени крыс, отравленных индоксакарбом (в зависимости от 40-дневной динамики) (ед./мг белок)

№	Экспериментальные группы	n	Экспериментальные дни			
			10	20	30	40
I	Контроль	5	$3,30 \pm 0,06$	$3,28 \pm 0,10$	$3,26 \pm 0,05$	$3,34 \pm 0,06$
II	Индоксакарб	6	$2,31 \pm 0,12$	$2,11 \pm 0,04^*$	$1,95 \pm 0,10^*$	$1,89 \pm 0,07^*$
III	Индоксакарб + СФЛ	5	$2,65 \pm 0,11$	$2,94 \pm 0,07^{**}$	$3,10 \pm 0,09^{**}$	$3,20 \pm 0,07^*$
IV	Индоксакарб+Нарциссин	5	$2,75 \pm 0,08^*$	$2,98 \pm 0,05^*$	$3,16 \pm 0,09^*$	$3,27 \pm 0,09^*$

(*P<0,05; **P<0,01; n=5-6).

При статистическом анализе результатов было отмечено снижение активности ферментов каталазы и СОД, ответственных за систему антиоксидантной защиты в экспериментальной группе, то есть у животных, отравленных пестицидами. Снижение активности ферментов приводит к увеличению образования свободных радикалов в дыхательной цепи митохондрий. Это, в свою очередь, может привести к развитию различных патологических процессов.

Активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в митохондриях печени снижалась в случае под влиянием индоксакарба, независимо от динамики. Было обнаружено, что активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы несколько восстанавливается при введении соединений СФЛ и нарциссина в зависимости от динамики через 10, 20, 30 и 40 дней после отравления. Наши эксперименты показали, что активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в митохондриях снижается под действием пестицидов. Соединения СФЛ и нарциссин

проявили свои антиоксидантные свойства за счет восстановления в некоторой степени активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Также в этой главе было изучено влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на проницаемость РТР митохондрий печени, активность митоK_{ATФ}-каналов, пассивную ионную проницаемость и процессы ОФ у крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб на 10, 20, 30, и 40 дни, соответственно.

Влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на проницаемость РТР митохондрий печени крыс с пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб. В этом эксперименте оценивалась динамика корректирующего действия СФЛ и нарциссина на набухание митохондрий печени у крыс, отравленных галоксифоп-Р-метилом и индоксакарбом в течение 10, 20, 30 и 40 дней. Набухание митохондрий печени у животных группы II, подвергшихся воздействию галоксифоп-Р-метила, увеличилась на 59,0±3,5% через 10 дней, и на 65,7±4,6% через 20 дней, на 70,1±4% через 30 и 40 дней, соответственно. Таким образом, стабильное динамическое состояние набухания митохондрий печени поддерживалось через 20 дней после введения животным пестицида галоксифоп-Р-метил (рис. 4, А). Однако то, что этот показатель оставался выше контрольных параметров, можно объяснить увеличением интенсивности ПОЛ митохондриальной мембраны и снижением функциональной активности ионно-транспортных систем. Набухание митохондрий печени у животных группы III, получавших флавоноид СФЛ (10 мг/кг) в течение 10 дней, и у крыс группы III, получавших пестицид галоксифоп-Р-метил, через 10 дней увеличилась на 24,0±2,1%, причем через 20 дней по сравнению с крысами группы II, произошло увеличение на 30,7±3,2%, и на 30-е и 40-е сутки на 46,8±4,5% и 45,0±3,0%, соответственно (рис. 4, А). При этом было показано, что ингибирующий эффект СФЛ эффективен на 30 и 40 дни по сравнению с 10 и 20 днями, соответственно. Также было обнаружено, что флавоноид нарциссин эффективно ингибирует проницаемость митохондрий для mРТР через 30 и 40 дней по сравнению с 10 и 20 днями, соответственно.

В следующем нашем эксперименте *in vivo* изучалось влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на высокопроводящие поры митохондрий печени крыс, отравленных другим пестицидом индоксакарбом. Было установлено, что набухание митохондрий печени у крыс группы II, отравленных индоксакарбом, увеличилось на 77,4±3,7% через 10 дней и на 95,5±4,2% через 20 дней, а через 30 и 40 дней - на 104,6±4,2% и на 90,4±3,7%, соответственно. При набухании митохондрий печени у крыс, инфицированных СФЛ, обнаружено ингибирование, которое первоначально составляло 36,7±3,5% через 10 дней по сравнению с патологической группой (группа II), с ингибированием 51,1±3,2% через 20 дней, 73,9±4,5% через 30 дней и на 40 день 69,9±5,3%, соответственно. Обнаружено, что ингибирование с высокой проницаемостью пор митохондрий печени крыс группы IV с коррекцией нарциссина составило 18,9±5,6%; 34,7±3,5%;

53±3,45% и 47,9±4,5%, соответственно, в случае 10, 20, 30 и 40-дневной динамики относительно значений группы II (рис. 4, В).

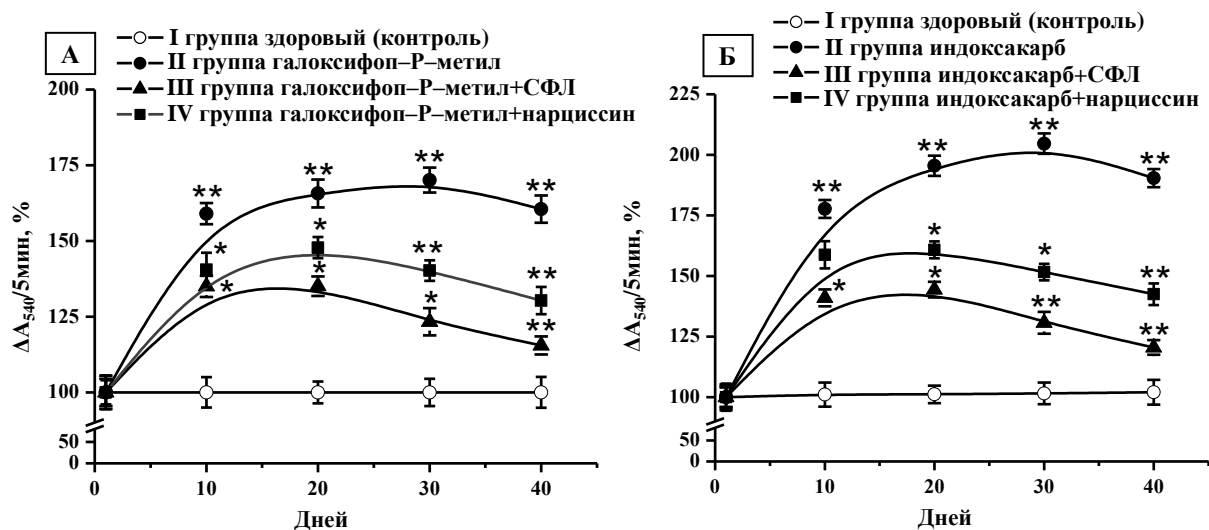


Рис. 4. Влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на проницаемость митохондрий печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил (А) и индоксакарб (В) (в зависимости от 40-дневной динамики) (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; $n = 5-6$).

На основе полученных результатов можно сделать вывод, что нарушение митохондриальной мембраны, наблюдаемое при воздействии пестицида галоксифоп-Р-метил, наблюдалось и при действии пестицида индоксакарб. Было обнаружено, что флавоноиды СФЛ и нарциссин способны восстанавливать конформацию mPTP, подавляя динамику высокопроводящих пор митохондрий печени, поврежденных пестицидами.

Влияние флавоноидов СФЛ и нарциссина на активность АТФ-зависимую калиевых каналов в митохондриях печени крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб. Функциональная активность мито K_{ATP} -канала при поражении печени, связанном с интоксикацией пестицидами не изучено. В экспериментах, проведенных *in vivo*, проницаемость мито K_{ATP} -канала печени у крыс группы II, которым вводили галоксифоп-Р-метил, на 10, 20, 30 и 40 дни, при наличии ИМ 200 мкМ АТФ в в/м было обнаружено, ингибирование по сравнению с контрольной (группа I) группой крыс, что составило 19,6±1,1%; 33,2±2,2%; 42±3,2% и 44±3,2%, соответственно. У крыс группы III, отравленных галоксифоп-Р-метилом, при пероральном введении СФЛ в дозе 10 мг/кг в течение 10 дней, было обнаружено активирование проницаемости мито K_{ATP} -каналов в печени через 10, 20, 30 и 40 дней, которое составило по сравнению с группой II со значениями 11,6±0,8%; 20,9±1,2%; 24±2,1% и 24±1,3%24%, соответственно. Активность мито K_{ATP} -канала печени у крыс группы IV, получавших фармакотерапию в дозе 10 мг/кг нарциссина в течение 10 дней, была увеличена на 16±1,0%; 30±2,2%; 31±2,5% и 31,1±2,2%, соответственно, выше, чем в группе II, в зависимости от динамики.

В опытах с индоксакарбом проницаемость митоK_{АТФ}-канала печени в группе II в присутствии 200 мкМ АТФ в зависимости от динамики на 10, 20, 30 и 40 сутки было обнаружено ингибирование, которое составило 25,8±1,2%; 41,6±2,7%; 42,4±2,9% и 43,2±3,4%, соответственно, относительно контроля (I группа). Когда крысам группы III, получавшей индоксакарб, вводили СФЛ, а группе IV - нарциссин, было обнаружено, что проницаемость их печеночных митоK_{АТФ}-каналов активировалась через 10, 20, 30 и 40 дней, соответственно, по сравнению с группой II. Таким образом, угнетение проницаемости митоK_{АТФ}-канала печени под действием пестицидов галоксифоп-Р-метила и индоксакарба характеризуется резким уменьшением потока ионов калия из мембраны.

Пассивная ионная проницаемость внутренней мембраны митохондрий печени крыс, отравленных пестицидами, определяется солями соответствующих металлов KNO₃, NaNO₃, HNO₃ для одновалентных ионов K⁺, Na⁺ и N⁺, а также Ca(NO₃)₂ и Mg(NO₃)₂ для двухвалентных ионов Ca²⁺ и Mg²⁺, обнаруженных в приготовленных изоосмотических средах. Обнаружено, что пассивная ионная проницаемость митохондрий печени под действием пестицидов увеличивается через 10, 20, 30 и 40 дней по сравнению с контролем. Было обнаружено, что флавоноиды СФЛ и нарциссин относительно восстанавливают пассивную ионную проницаемость митохондрий при воздействии пестицидов через 10, 20, 30 и 40 дней после отравления, соответственно. В экспериментах *in vivo* было показано, что флавоноиды СФЛ и нарциссина эффективны для контроля дыхания и значений АДФ/О за счет восстановления дисфункции митохондрий печени при отравлении крыс пестицидами. На основе этого можно сделать вывод, что соединения флавоноидов СФЛ и нарциссин корректируют нарушение процессов энергетического обмена в митохондриях печени под действием пестицидов.

ВЫВОДЫ

1. Количество остаточного пестицида в ткани печени крыс, отравленных индоксакарбом (1/10 LD₅₀), было выше, чем у галоксифоп-Р-метила, что было определено на 5-10-е сутки после отравления. Причем, остатки пестицида уменьшались на 20-е и 30-е сутки, и не были обнаружены к 40-м суткам.

2. Флавоноиды софорофлавонозид и нарциссин проявляют антирадикальную активность и снижают перекисное окисление липидов митохондрий печени крыс за счет Fe²⁺/цитрат-индуцированного перекисного окисления липидов и уровней МДА через 10, 20, 30 и 40 дней, соответственно, при их отравлении галоксифоп-Р-метилом и индоксакарбом.

3. Активность цитохром-с-оксидазы в митохондриях печени крыс резко снижалась под действием галоксифоп-Р-метила и индоксакарба, и на 10-е сутки отравления наблюдалось глубокое угнетение, причем флавоноиды софорофлавонозид (10 мг/кг) и нарциссин (10 мг/кг) восстанавливают

цитохрома-с-оксидазную активность в митохондриях печени крыс в зависимости от динамики на 10, 20, 30 и 40 дни.

4. У крыс, отравленных пестицидами галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, в зависимости от динамики снижалась активность митохондриальных антиоксидантных ферментов печени (каталазы, СОД, глутатионредуктазы, глутатионпероксидазы), а флавоноиды СФЛ и нарциссин проявляли антиоксидантные свойства. Это показало, что нарциссин обладает более высокой антиоксидантной активностью, чем СФЛ.

5. При отравлении пестицидами, в зависимости от 10, 20, 30 и 40-дневной динамики митохондрий печени крысы, mPTP переходит в открытое положение, проницаемость митоK_{ATФ}-каналов ингибируется, пассивная проницаемость для одновалентных и двухвалентных катионов увеличивается. Флавоноиды софорофлавонозид и нарциссин ингибируют печеночный митохондриальный РТР и пассивную ионную проницаемость, а также активируют проницаемость митоK_{ATФ}-каналов.

6. В зависимости от динамики 10, 20, 30 и 40 дней под воздействием пестицидов галоксифоп-Р-метил и индоксакарб, флавоноиды софорофлавонозид и нарциссин восстанавливают разобщение окислительного фосфорилирования митохондрий печени, усиливают дыхательный контроль, коэффициенты АДФ/О, а также исправляют нарушения энергетического обмена и устраняют дефицит энергии.

**SCIENTIFIC COUNCIL FOR AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc03/30.12.2019.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND
BIOCHEMISTRY OF THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN
INSTITUTE**

ANDIJAN STATE UNIVERSITY

PARPIYEVA MASHHURA JAVDATOVNA

**DISRUPTION OF THE FUNCTIONAL ACTIVITY OF RATS LIVER
MITOCHONDRIA UNDER THE INFLUENCE OF PESTICIDES
HALOXYFOP-P-METHYL AND INDOXACARB AND THEIR
CORRECTION WITH PLANT SUBSTANCES**

**03.00.01 – Biochemistry
03.00.08-Human and animal physiology**

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)
OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2022

The title of the dissertation of PhD has been registered with number B2021.2.PhD/B386 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Andijan state university.

The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian and English (Resume)) languages has been placed on the website of the Scientific Council (www.ibb-nuu.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor:

Mirxamidova Parida
doctor of biological sciences, professor
Pozilov Mamurjon Komiljonovich
doctor of biological sciences

Official opponents:

Dalimova Surayyo Nugmanovna
doctor of biological sciences, professor
Gayibov Ulugbek Gapparjanovich
doctor of philosophy (PhD) biological sciences

Leading organization:

Namangan State University

The dissertation will be defended on _____ 2022 year ____ at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 at the Institute of Biophysics and Biochemistry, at the National University of Uzbekistan at the following address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of Biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number № ____). Address: 100174, Tashkent city, Olmazor district, Student's town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru.

The abstract of the dissertation has been distributed on « ____ » _____ 2022.
(Protocol at the register № ____ dated « ____ » _____ 2022).



Sabirov Ravshan Zairovich
Chairman of the Scientific Council Awarding
Scientific Degrees, D.B.Sc., academician

Kurbannazarova Ranokhon Sharapovna
Acting Vice Scientific secretary of scientific degrees
awarding scientific council, D.B.Sc.

Kadirova Dilbar Abdullaevna
Chairman of the academic seminar under the
Scientific Council Awarding Scientific Degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (PhD thesis abstract)

The aim of the research work is a study of the accumulation of pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb as residues in the liver tissues of rats, their effect on mitochondrial dysfunction and correction with the help of flavonoids sophoroflavonoside and narcissin, depending on the dynamics of 10, 20, 30 and 40 days.

The object of the research work as outbred white male rats, weighing 180-200 g, mitochondria isolated from rat liver, poisoned with pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb and their correction with plant flavonoids SFL and narcissin, which have antioxidant activity.

The scientific novelty of the research is as follows:

the residual amounts of pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb were determined in the liver tissue of rats depending on the dynamics (5, 10, 20, 30 and 40 days);

the antiradical activity of flavonoids SFL and narcissin was determined under in vitro conditions and their antioxidant properties during intoxication with pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb;

the effective effect of SFL and narcissin flavonoids on the activity of mPTP and mitoK_{ATP} channels under conditions of intoxication with pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb depending on the dynamics (on days 10, 20, 30 and 40) was established;

Changes in the passive ion permeability of rat liver mitochondria and restoration of the OXPHOS process by flavonoids SFL and narcissin were revealed under conditions of intoxication with pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb, depending on the dynamics (on days 10, 20, 30 and 40).

Implementation of research results. Based on scientific results obtained on correction with flavonoids SFL and narcissin in liver mitochondrial dysfunction in rats poisoned with pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb:

pesticide haloxyfop- R -methyl was used to control weeds on 179 hectares of arable land in the Pakhtaabad and Khojaabad districts of the Andijan region in 2019-2020, which made it possible to reduce the amount of pesticides used in practice (0.5-1.0 l/ha) by 0.4-0.9 l/ha (certificate of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan № 02/032-3064 dated July 23, 2021). As a result, the amount of haloxyfop-R-methyl 0.4-0.9 l/ha did not negatively affect the yield and soil structure, while achieving economic efficiency of 32,000 soums per hectare (or 32 million soums per 1,000 ha of cotton);

pesticide indoxacarb was used to control cotton weevil on 179 hectares of arable land in the Pakhtaabad and Khodjaabad districts of the Andijan region in 2019-2020, reducing the amount of pesticide used in practice (0.40-0.45 l/ha) by 0.3- 0.35 l/ha (certificate of the Ministry of Agriculture of the Republic of Uzbekistan № 02/032-3064 dated July 23, 2021). As a result, the amount of indoxacarb 0.3-0.35 l/ha did not have a negative impact on yields and the environment, while economic efficiency was achieved at 95,100 soums per hectare (or 95.1 million soums per 1,000 ha of cotton);

based on the results of determining the doses of pesticides haloxyfop-R-methyl and indoxacarb, affecting liver tissue, relatively small doses of chemical weed control agents were introduced on 63 hectares of the field in the Karabulak farm of the Khojaabad district of the Andijan region (Certificate of the State Committee for Ecology and Environmental Protection of the Republic of Uzbekistan № 03- 02/8-1971 dated December 14, 2021).

The structure and volume of the thesis. The composition of the dissertation consists of an introduction, four chapters, conclusions, a list of used literature. The size of the dissertation was 118 pages.

**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
LIST OF PUBLISHED WORKS**

I часть (I бўлим; part I)

1. Parpiyeva M.J., Tuychieva D., Numonjonov M. Effects of haloxyfop-r-methyle and indoxacarb pesticides on the structure of the internal organs of rats// Norwegian Journal of development of the International Science. –2020.– V.2– P. 15-18. SJIF - 5.911.

2. Parpiyeva M., Mirkhamidova P., Tuychiyeva D. Determination of residual pesticide in the liver of rats poisoned with indoxacarb pesticide // European Journal of Molecular & Clinical Medicine – 2020.–V.7 –P. 4497-4505. (Scopus).

3. Парпиева М.Ж., Мирхамидова П., Позилов М.К., Туйчиева Д.С., Махмудова Ш.Р., Нишанбаев С.З. Галоксифоп–Р–метил билан захарланган каламуш жигар митохондриясининг антиоксидант ферментларига флавоноидларнинг таъсири // Назарий ва клиник тиббиёт журнали, –2021. – №.4. –Б. 25-28. (03.00.00. №4).

4. Parpiyeva M.J., Mirkhamidova P., Pozilov M.K., Tuychieva D.S., Mustafakulov M. Effects of some flavonoid compounds on the activity of antioxidant enzymes of rat liver mitochondria poisoned by galaxyfop-R-methyl and indoxacarb // Eflatounia-Multidisciplinary Journal.–2021.–V.5– №.2. – P. 2564-2569. Web of Science.

5. Парпиева М.Ж., Мирхамидова П., Позилов М.К., Туйчиева Д.С., Мустафакулов М.А. Захарлантирилган каламуш жигари митохондриясининг айрим ферментларига антиоксидантларнинг таъсири // Инфекция, иммунитет и фармакология.– 2021. – №6. – С.136-141. (03.00.00. №7).

6. Mirkhamidova P., Parpiyeva M., Tuychieva D. Residual pesticide in the liver of rats after poisoning with galaxifop-R-methyl pesticide check // International Journal of Modern Agriculture –2021. – V.10 –P. 2457-2465. (Index Copernicus).

II часть (II бўлим; part II)

7. Парпиева М., Нўмонжонов М. Пестицидларнинг тирик организмлар жигар хужайрасига таъсири // “Одам физиологияси, валеологияси ва ҳаёт фаолияти хавфсизлигининг долзарб муоммолари.” Республика илмий ва илмий-техник анжуман материаллари. –Андижон, 2019. – Б.179-182.

8. Парпиева М.Ж., Туйчиева Д.С. Галоксифоп-Р-метил ва индоксакарб пестицидларини каламуш ички органлари тузилишига таъсири//Science and education scientific journal (Илм-фан ва таълимнинг ривожланиш истиқболлари биринчи конференцияси тўплами.) – Тошкент, 2020. –№.1 –Б. 279.

9. Парпиева М., Мирхамидова П., Туйчиева Д., Хусанова А. Қишлоқ хўжалигида қўлланиладиган пестицид галоксифоб-Р-метил билан захарлантирилган каламушларнинг жигаридаги қолдиқ пестицидларни

аниқлаш//“Генетика, геномика ва биотехнологиянинг замонавий муаммолари.” Республика илмий анжуманининг тезислар тўплами –Тошкент, 2021. –Б.123-125.

10. Парпиева М.Ж., Позилов М.К., Махмудова Ш.Р., Нишанбаев С. Индоксакарб пестициди билан заҳарлантирилган каламуш жигар митохондрияси малон диальдегид миқдорига баъзи флавоноид бирикмаларнинг таъсири//«Бутун жаҳон атроф-муҳит муҳофазаси куни»га бағишланган «Жанубий оролбўйи табиий ресурсларидан оқилона фойдаланиш» IX Республика илмий-амалий конференцияси материаллари – Нукус, 2021. –Б.195-196.

11. Парпиева М.Ж., Позилов М.К. Индоксакарб пестициди билан заҳарлантирилган каламушлар жигаридаги қолдиқ пестицид миқдорини аниқлаш//“Биофизика ва биокимё муаммолари” Республика илмий конференция материаллари –Тошкент, 2021. –Б.92.

12. Парпиева М.Ж., Позилов М.К., Махмудова Ш.Р., Нишанбаев С.З. Галоксифоп–Р–метил пестициди билан заҳарланган каламуш жигар митохондрияси малон диальдегид миқдорига баъзи флавоноид бирикмаларнинг таъсири//“Ўзбекистонда табиий бирикмалар кимёсининг ривож ва келажаги” Республика илмий-амалий конференцияси материаллари тўплами) –Тошкент, 2021. –Б.253-254.

13. Parpiyeva M.J., Pozilov M.K., Makhmudova Sh.R., Nishanbaev S.Z. Effect of soforaflavonoside on highpermeability pores of rat liver mitochondria poisoned by haloxyphop-r-methyl //Acad. S.Yu.Yunusov Institute of the Chemistry of Plant Substances AS RUz. 14th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Devoted to 30-year anniversary of the independence of the Republic of Uzbekistan October 7-8, Tashkent, 2021. – P.150.

14. Парпиева М.Ж., Мирхамидова П., Нишанбаев С.З., Позилов М.К. Индоксакарб пестициди билан заҳарлантирилган каламушлар жигар митохондрияси АТФга боғлиқ калий каналига софорофлавонозид ва нарциссин гликозид флавоноидларининг таъсири//“Фармацевтика соҳасининг бугунги ҳолати: муаммолар ва истиқболлар” (Халқаро илмий-амалий анжумани материаллари). – Тошкент, 2021 йил 29 октябр. –Б. 389-391.

15. Parpiyeva M.J., Pozilov M.K., Mirxamidova P., Nishanbaev S.Z. Influence of flavonoids on peroxidation of Fe²⁺- citrate induced lipids in rat liver mitochondria, intoxication with indoxacarb pesticides//Innovation in the modern education system.–Washington, 2021. – Part 12. USA 25th November. – P.88.

16. Парпиева М. Ж., Позилов М.К., Мирхамидова П., Нишанбаев С.З., Туйчиева Д.С. Влияние софорофлавонозида на активность фермента цитохрос-с-оксидазы митохондрии печени крыс при интоксикации пестицидом галоксифоп -р-метил //«Modern scientific challenges and trends» Collection of Scientific Works Warsaw, Poland Wydawnictwo Naukowe "IScience" 7-9 December 2021, – V.11(45). – P. 29-30.

17. Парпиева М.Ж., Мирхамидова П., Позилов М.К. Индоксакарб пестициди билан захарлантирилган каламуш жигар митохондрияси РТР ҳолатига софорофлавонозид ва нарциссин флавоноидларининг таъсири // Сборник международного научно-практического семинара с участием зарубежных высших образовательных учреждений и специалистов на тему: «Современная биотехнология: актуальные вопросы, инновации и достижения». –Тошкент, Узбекистан, 2021, 6 декабрь. – С. 30.

18. Парпиева М.Ж., Мирхамидова П., Позилов М.К., Нишанбаев С.З. Индоксакарб билан захарланган каламуш жигари митохондрияси мембранаси липидларни перекисли оксидланиш маҳсулоти малон диальдегид микдорига софорофлавонозид ва нарциссин бирикмаларининг таъсири// Сборник международного научно-практического семинара с участием зарубежных высших образовательных учреждений и специалистов на тему: «Современная биотехнология: актуальные вопросы, инновации и достижения». –Тошкент, Узбекистан, 2021, 6 декабрь. – С. 31-32.

19. Parpieva M., Ruziboev H., Pozilov M., Nishanbaev S. Influence of sophoroflavonoside on the activity of the cytochros-c-oxidase enzyme in rat liver mitochondria under intoxication with haloxifop-R-methyl pesticide // Actual environmental problems, Proceedings of the XI International Scientific Conference of young scientists, graduates, master and PhD students December 2-3, 2021 Minsk, Republic of Belarus, – P. 97-98.

Автореферат «ЎзМУ хабарлари» журналі таҳририятида
таҳрирдан ўтказилди (12.02.2022 й.)