

ЎЗБЕКИСТОН RESPUBLIKASI FANLAR АКАДЕМИЯСИ  
АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

**ЎЗБЕКИСТОН  
БИОЛОГИЯ  
ЖУРНАЛИ**

**1**

---

**2026**

**УЗБЕКСКИЙ  
БИОЛОГИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ**

*Издается с января 1957 г. по 6 номеров в год*

ТАШКЕНТ – 2026

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ УЗБЕКСКОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ЖУРНАЛА

<b>Главный редактор</b>	акад. Сабилов Р.З.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз
<b>Зам. гл. редактора</b>	проф. Асраров М.И.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз
<b>Отв. редактор</b>	д. ф-м.н. Атабеков И.У.	Нац. Ком. МАБ ЮНЕСКО при АН РУз
<b>Отв. секретарь</b>	к.б.н. Самарходжаева Н.Р.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз

### Редакционный совет

акад. Абдукаримов А.А.	Центр геномики и биоинформатики АН РУз
акад. Азимов Ж.А.	Ин-т зоологии АН РУз
акад. Арипов Т.Ф.	Ин-т биоорганической химии АН РУз
акад. Арипова Т.У.	Ин-т иммунологии и геномики человека АН РУз
акад. Мавлоний М.Э.	Ин-т микробиологии АН РУз
акад. Саатов Т.С.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз
акад. Саттаров Дж.С.	Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека

### Секционные редакторы

<i>Ботаника</i>	акад. Тожибоев К.Ш.	Ин-т ботаники АН РУз
<i>Зоология</i>	проф. Холматов Б.Р.	Ин-т зоологии АН РУз
<i>Физиология человека и животных</i>	проф. Кучкарова Л.С.	Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека
<i>Биофизика и биохимия</i>	д.б.н. Мерзляк П.Г.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз
<i>Микробиология</i>	проф. Миралимова Ш.М.	Ин-т микробиологии АН РУз
<i>Биотехнология</i>	д.б.н. Ташпулатов Ж.Ж.	Академия наук РУз
<i>Генетика, молекулярная и клеточная биология</i>	проф. Усманов Р.М.	Ин-т генетики и эксп. биологии растений АН РУз
<i>Почвоведение и агрохимия</i>	проф. Гафурова Л.А.	Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека

### Члены редколлегии

проф. Абрамов А.Ю.	Институт неврологии при Университетском колледже Лондона, Великобритания
к.б.н. Азимов Р.Р.	Калифорнийский университет в ЛосАнджелесе, США
проф. Азимова Ш.С.	Ин-т химии раст. веществ АН РУз
проф. Бердиев Б.К.	Ун-тет медицины и здоровья им. Мохамеда бин Рашида, ОАЭ
проф. Буриев З.Т.	Центр геномики и биоинформ. АН РУз
акад. Давранов К.Д.	Ин-т микробиологии АН РУз
проф. Далимова С.Н.	Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека
проф. Замараева М.В.	Белостокский университет, Польша
проф. Курбанназарова Р.Ш.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз
Ph.D. Курганов Э.Ш.	Институт Броуда Массачусетского технологического института и Гарварда, США
проф. Мирходжаев У.З.	Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека
проф. Насиров К.Э.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз
проф. Печеницын В.П.	Ин-т ботаники АН РУз
проф. Тилиябаев З.Т.	Ин-т биоорганической химии АН РУз
проф. Турдикулова Ш.У.	Академия наук РУз
проф. Усманов П.Б.	Ин-т биофизики и биохимии НУУз

## БИОХИМИЯ И БИОФИЗИКА

СУБСТРАТ-ЗАВИСИМЫЕ РАЗЛИЧИЯ БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ  
МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ

Ф.Р. РУСТАМОВА, А.Ю. БАЕВ

<sup>1</sup>Центр передовых технологий

Автор для переписки: baev.a.yu@gmail.com

Работа митохондрий зависит от того, какие субстраты используются в дыхательной цепи. От выбора субстрата меняется соотношение между скоростью дыхания, эффективностью сопряжения окисления с фосфорилированием и устойчивостью митохондрий к кальциевой перегрузке. В экспериментах с митохондриями печени крысы сравнивали влияние глутамат-малата, сукцината и сукцината с ротеноном. При окислении сукцината скорость дыхания была выше, чем при глутамат-малатном, но показатели дыхательного контроля и коэффициент АДФ/О снижались. Мембранный потенциал во всех средах оставался стабильным. Кальциевая буферная ёмкость в сукцинатной среде уменьшалась, а добавление циклоспорина А увеличивало этот показатель, сохраняя различия между субстратами. Результаты отражают субстрат-зависимые особенности энергетического обмена и чувствительности митохондрий печени к  $Ca^{2+}$ -индуцированному проницаемостному переходу.

**Ключевые слова:** окислительное фосфорилирование; мембранный потенциал; кальциевая буферная ёмкость; сукцинат; глутамат-малат; циклоспорин А; mPTP.

Митохондрии играют ключевую роль в энергетическом обмене клетки, обеспечивая образование аденозинтрифосфата (АТФ) в процессе окислительного фосфорилирования. Эффективность этого процесса определяется состоянием дыхательной цепи, работой АТФ-синтазы и сохранением мембранного потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ), который является движущей силой для большинства митохондриальных транспортных процессов. Сохранение стабильного  $\Delta\Psi_m$  необходимо для поддержания кальциевого гомеостаза, синтеза АТФ и устойчивости митохондрий к проницаемостному переходу (mPTP).

Характер используемого энергетического субстрата оказывает значительное влияние на параметры дыхания и сопряжение процессов окисления с фосфорилированием. Глутамат и малат, являясь  $NAD^+$ -зависимыми субстратами, активируют комплекс I дыхательной цепи, в то время как сукцинат, связанный с FAD-зависимым окислением, задействует комплекс II. Ряд исследований показал, что митохондрии, функционирующие в сукцинат-зависимом режиме, демонстрируют более высокие скорости потребления кислорода, однако характеризуются меньшей эффективностью сопряжения и повышенной склонностью к генерации активных форм кислорода [1].

Мембранный потенциал и чувствительность к  $Ca^{2+}$  тесно связаны с типом субстрата. Известно, что митохондрии, окисляющие NAD-зависимые субстраты (глутамат-малат), обладают большей кальциевой буферной ёмкостью ( $Ca^{2+}$  retention capacity, CRC), чем митохондрии, использующие FAD-зависимые субстраты (сукцинат). При этом добавление ротенона, ингибитора комплекса I, частично нормализует CRC, что указывает на участие обратного потока электронов в механизмах активации mPTP [2, 3]. Похожие результаты были получены в работе Дюшена и соавторов, где показано, что изменение субстратного профиля дыхания влияет на порог кальциевой перегрузки и устойчивость митохондрий к проницаемостному переходу [4].

Таким образом, выбор субстрата напрямую определяет биоэнергетическое состояние митохондрий. Исследование этих различий имеет значение для понимания механизмов митохондриальной дисфункции, сопровождающих патологические состояния печени, сердечной и нервной ткани.

**Материалы и методы**

Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования по Шнайдеру из печени белых беспородных крыс (150-250 г), используя в качестве среды выделения 0,25 М сахарозу,

1 mM ЭДТА, 10 mM трис-HCl, pH 7,4. Выделенная печень была продавлена через механический пресс и гомогенизирована в 7-кратном объеме среды выделения в тefлоновом гомогенизаторе. Для удаления фрагментов ткани, неразрушенных клеток и ядер получившийся гомогенат центрифугировали при 800×g в течении 10 минут на центрифуге Sigma 3-18 KS (Sigma Zentrifugen, Германия). Супернатант отбирался в чистую пробирку и центрифугировался 18 минут при 6000×g. Осадок (митохондрии) ресуспендировался в 500 μл среды выделения без ЭДТА и помещался на лед для дальнейшего использования. Все процедуры проводились на льду для поддержания температуры не выше, чем +4° C.

Все эксперименты проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных или других научных целях (Страсбург, 1986), в соответствии с руководящими принципами ARRIVE (<https://arriveguidelines.org/>) и были одобрены Комитетом по биоэтике Центра передовых технологий (протокол №1 от 3 января 2023 г.), Ташкент, Узбекистан.

Измерение параметров окислительного фосфорилирования и скорости дыхания митохондрий производили при помощи системы микрореспирометра Mitocell S200 (Strathkelvin Instruments, North Lanarkshire, Scotland). Измерения проводились в среде инкубации следующего состава:

- 120 mM KCl, 5 mM *глутамата*, 5 mM *малата*, 10 mM трис-HCl, 1 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1 mM ЭГТА, pH 7,1.

- 120 mM KCl, 5 mM *сукцината*, 10 mM трис-HCl, 1 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1 mM ЭГТА, pH 7,1.

- 120 mM KCl, 5 mM *сукцината*, 10 mM трис-HCl, 1 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 1 mM ЭГТА, 1 μM *ротенона* pH 7,1.

Все измерения проводились при комнатной температуре (24°C), при непрерывном перемешивании.

Для измерения митохондриального мембранного потенциала ( $\Psi_m$ ) изолированные митохондрии загружали 5 μM родамина 123 (Invitrogen) на льду в темноте в течение 20 минут. Измерения проводились на флуоресцентном спектрофотометре Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). Возбуждали при 505 нм, а эмиссию регистрировали при 534 нм. Все эксперименты проводили при 25°C, в кварцевых кюветах объемом 3 мл, при постоянном перемешивании в 3 видах сред для инкубации. Митохондрии добавляли в кювету в концентрации 0,5 мг/мл в пересчете на белок.

Для SRC митохондрий использовали флуоресцентный зонд Calcium Green-5N (Invitrogen, США), не проникающий через внутреннюю митохондриальную мембрану. Регистрацию изменений концентрации  $\text{Ca}^{2+}$  во внутримитохондриальном пространстве проводили на спектрофлуориметре Cary Eclipse (Agilent Technologies, США) при 25°C в кварцевых кюветах объемом 3 мл, при постоянном перемешивании.

Возбуждение флуоресценции осуществляли при 506 нм, эмиссию регистрировали при 532 нм. Конечная концентрация зонда в кювете составляла 1 мкМ. Митохондрии добавляли в концентрации 0,5 мг белка/мл. Измерения проводили в трёх типах инкубационных сред.

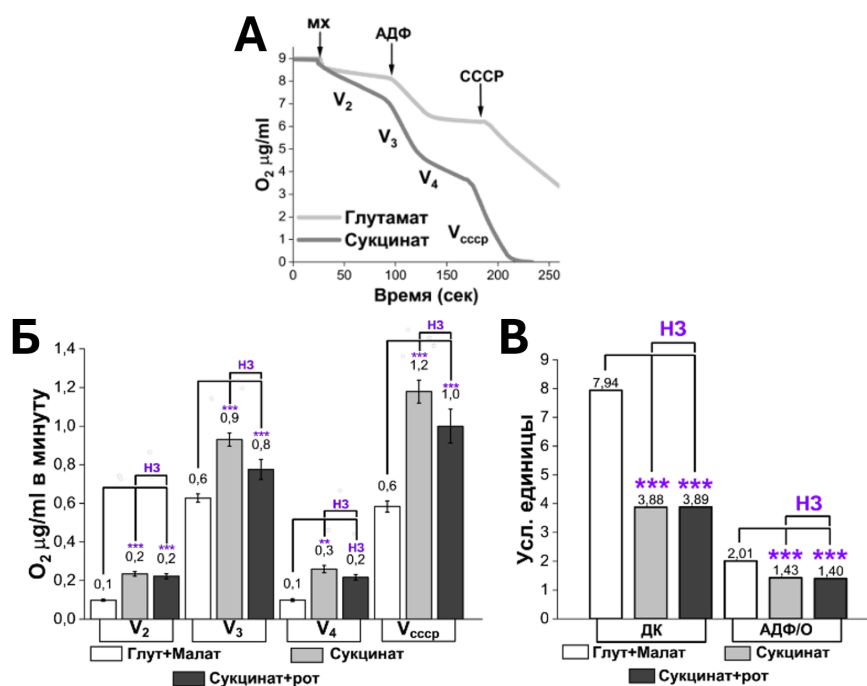
**Статистический анализ** проводили с использованием программы Origin 2024 (Microcal Software Inc., Нортгемптон, Массачусетс, США). Экспериментальные данные представлены в виде *среднее ± стандартная ошибка среднего (SE)*. Для анализа различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с тестом Тьюки. Различия между группами считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

#### **Результаты и их обсуждение**

Для оценки влияния типа метаболического субстрата на функциональные характеристики митохондрий печени использовали NAD-зависимые (глутамат/малат) и FAD-зависимые (сукцинат) доноры электронов. Измеряли скорость потребления кислорода, мембранный потенциал и кальциевую буферную ёмкость в различных функциональных состояниях митохондрий.

Скорость дыхания значительно варьировала в зависимости от используемого субстрата (рис. 1А). В состоянии  $V_2$  при окислении сукцината потребление кислорода было примерно в 2 раза выше по сравнению с глутамат-малатной средой. После добавления АДФ, соответствующего состоянию  $V_3$ , скорость дыхания на сукцинате превышала глутамат-малатный уровень примерно в 1.5 раза. Ингибирование комплекса I ротеноном (rot) в сукцинатной среде не приводило к существенным изменениям: скорость оставалась близкой к значениям без ингибитора, лишь немного снижаясь,

и в состоянии  $V_4$ , после полного потребления АДФ, дыхание при окислении сукцината скорость была примерно в 3 выше, чем при использовании глутамата и малата. В условиях разобщения дыхания и фосфорилирования, при добавлении CCCP (состояние  $V_{CCCP}$ ), скорость дыхания на сукцинате была выше примерно в 2 раза по сравнению с NAD-зависимыми субстратами (рис. 1Б). Несмотря на более высокую скорость потребления кислорода при окислении FAD-зависимого субстрата, эффективность сопряжения дыхания с фосфорилированием снижалась. Коэффициент дыхательного контроля при глутамат-малатном дыхании составлял 7,9, тогда как при окислении сукцината – 3,9. Фосфорилирующий коэффициент АДФ/О при глутамат-малатном дыхании равнялся 2, а при окислении сукцината и сукцината с ротеиноном – 1,4 (рис. 1В). В следствии переход от NAD-зависимого к FAD-зависимому типу дыхания сопровождался увеличением скорости потребления кислорода во всех функциональных состояниях и одновременным снижением эффективности энергетического сопряжения митохондрий печени.

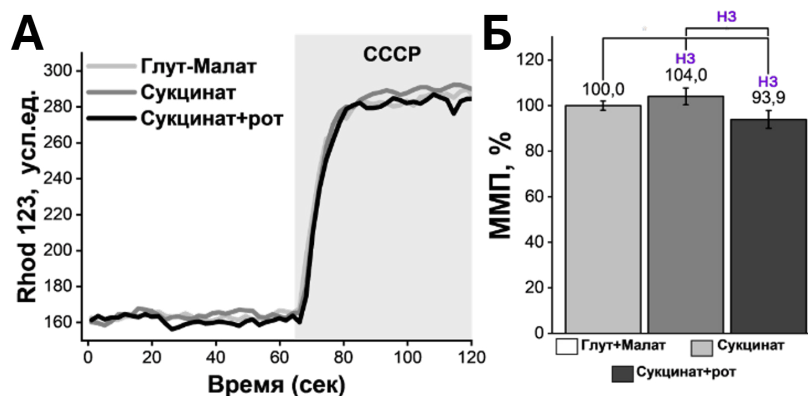


**Рис. 1.** Субстрат-специфические различия скорости дыхания и эффективности сопряжения в митохондриях печени крысы. **А.** Репрезентативная пропись дыхания изолированных митохондрий печени, зарегистрированные в присутствии глутамат-малата и сукцината. **Б.** Средние значения скоростей дыхания на стадиях  $V_2$ ,  $V_3$  и  $V_4$  при различных субстратах. Митохондрии, окисляющие сукцинат, демонстрируют более высокие скорости дыхания по сравнению с глутамат-малатной средой. **В.** Анализ коэффициента дыхательного контроля ( $V_3/V_4$ ) и индекса АДФ/О при окислении субстратов. В сукцинатной и сукцинат + ротеиновой средах значения этих параметров ниже, чем при окислении глутамат-малата. \* $p \leq 0.05$ ; \*\* $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ .

Для оценки влияния типа метаболического субстрата на формирование трансмембранного потенциала митохондрий печени использовали метод флуоресцентной спектрофотометрии с применением потенциал-зависимого зонда Rhodamine 123. Накопление зонда в матриксе митохондрий происходило за счёт  $\Delta\psi_m$ , а изменение уровня флуоресценции служило индикатором степени поляризации внутренней мембраны. В качестве стандартного инструмента для нормализации сигнала использовали разобщитель дыхательной цепи CCCP, который вызывал полную деполяризацию и позволял зафиксировать максимальный уровень флуоресценции (рис. 2А).

Во всех исследуемых условиях – при окислении глутамата и малата, сукцината и сукцината в присутствии ротеинона – наблюдался стабильный уровень флуоресценции Rhodamine 123 до введения CCCP, что соответствовало сформированному потенциалу мембраны. Разница между исходным сигналом и значением после деполяризации использовалась для расчёта относительной величины

$\Delta\Psi_m$ . Для сопоставления данных значения в сукцинат содержащих средах нормировали относительно глутамат-малатного контроля, принятого за 100 %. При использовании сукцината уровень потенциала составлял 104 % от контрольного, а при добавлении ротенона 93,9 %. Полученные различия между группами не достигали статистической значимости, что указывает на отсутствие влияния типа субстрата на степень поляризации внутренней мембраны митохондрий в исследуемых условиях (рис. 2Б).

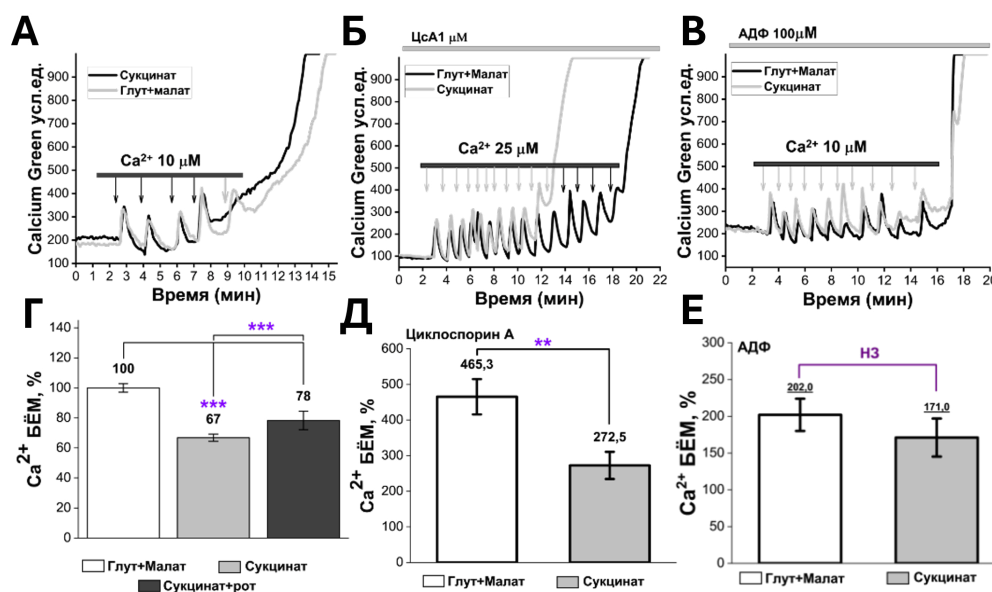


**Рис. 2.** Мембранный потенциал митохондрий печени крысы при окислении различных субстратов. **А.** Изменения мембранного потенциала ( $\Delta\Psi_m$ ) изолированных митохондрий печени, зарегистрированные с использованием флуоресцентного зонда Rhodamine 123. В качестве энергетических субстратов использовались глутамат-малат, сукцинат и сукцинат + ротенон. **Б.** Количественный анализ показал, что уровень мембранного потенциала митохондрий при окислении глутамат-малата, сукцината и сукцината + ротенона статистически не различается.

Способность митохондрий печени аккумулировать кальций оценивали по величине CRC при использовании различных дыхательных субстратов. На репрезентативных прописях при последовательных добавлениях  $\text{Ca}^{2+}$  (рис. 3А–В) резкое повышение сигнала флуоресценции отражало момент  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированного открытия mPTP. При окислении глутамат–малата митохондрии демонстрировали высокую устойчивость к кальциевой нагрузке (рис. 3А). В качестве контроля использовали митохондрии, окисляющие глутамат–малат; их CRC была нормирована к 100 %. Относительно этого контрольного уровня CRC снижалась до 67 % при окислении сукцината и до 78 % при сукцинате в присутствии ротенона (рис. 3Г). Различия между всеми исследуемыми группами были статистически достоверными ( $p < 0,05$ ). Добавление циклоспорина А (ингибитора РТР поры) вызывало выраженное увеличение CRC во всех исследованных субстратных условиях (рис. 3Б, Д). В присутствии CsA CRC увеличивалась до 465,3 % при окислении глутамат–малата и до 272,5 % при окислении сукцината (относительно контрольного уровня). Несмотря на значительное увеличение CRC в присутствии CsA, в митохондриях сохранялась субстратная специфичность: митохондрии, окисляющие NAD-зависимые субстраты, характеризовались более высокой кальциевой ёмкостью по сравнению с FAD-зависимым дыханием.

Введение АДФ также приводило к значительному повышению CRC (рис. 3В, Е). При окислении глутамат–малата CRC возрастала до 202 %, а при сукцинатном дыхании – до 171 % от контрольных значений. Однако, в отличие от действия CsA, присутствие АДФ нивелировало различия при NAD- и FAD-зависимом дыхании (рис. 3Е).

Таким образом, митохондрии, функционирующие на NAD-зависимом дыхании, демонстрируют большую устойчивость к кальциевой перегрузке и более высокую буферную ёмкость по сравнению с условиями FAD-зависимого окисления. Добавление ротенона частично восстанавливает CRC, а CsA значительно повышает сопротивляемость митохондрий к  $\text{Ca}^{2+}$ -индуцированному открытию mPTP во всех исследуемых условиях сохраняя при этом субстратную специфичность. В присутствии АДФ CRC также увеличивается, однако в этих условиях различия между NAD- и FAD-зависимым дыханием становятся статистически незначимыми.



**Рис. 3.** Кальциевая буферная ёмкость митохондрий при окислении различных субстратов и в присутствии CsA и АДФ.

Репрезентативная пропись CRC изолированных митохондрий при последовательных добавлениях

Ca<sup>2+</sup> при окислении сукцината и глутамат-малата; резкое увеличение флуоресценции соответствует Ca<sup>2+</sup>-индуцированному открытию mPTP. **А.** контрольная пропись **Б.** в присутствии циклоспорина А (CsA), **В.** в присутствии АДФ. **Г.** При окислении глутамат-малата, сукцината и сукцината + ротенона наиболее высокая кальциевая ёмкость наблюдается при глутамат-малатном дыхании, тогда как при окислении сукцината она снижена **Д.** В присутствии Циклоспорина А CRC существенно увеличивается, при этом сохраняется субстратная специфичность **Е.** В присутствии АДФ CRC также возрастает, при этом увеличение статистически не значимо при окислении как глутамат-малата, так и сукцината. \* $p \leq 0.05$ ; \*\*  $p \leq 0.01$ , \*\*\* $p \leq 0.001$ .

**Заключение.** Функциональные характеристики митохондрий печени существенно зависят от природы дыхательного субстрата. При FAD-зависимом окислении сукцината наблюдаются более высокая скорость потребления кислорода, снижение эффективности энергетического сопряжения и уменьшенная кальциевая буферная ёмкость по сравнению с NAD-зависимым дыханием. Подобные различия могут быть обусловлены не только более низким протонным выходом комплекса II, но и активацией обратного транспорта электронов через комплекс I, сопровождающейся усилением прооксидантных процессов и повышенной чувствительностью митохондрий к Ca<sup>2+</sup>. [5]. Функциональные характеристики митохондрий печени существенно зависят от природы дыхательного субстрата. При FAD-зависимом окислении сукцината наблюдаются более высокая скорость потребления кислорода, снижение эффективности энергетического сопряжения и уменьшенная кальциевая буферная ёмкость по сравнению с NAD-зависимым дыханием. Подобные различия могут быть обусловлены не только более низким протонным выходом комплекса II, но и активацией обратного транспорта электронов через комплекс I, сопровождающейся усилением прооксидантных процессов и повышенной чувствительностью митохондрий к Ca<sup>2+</sup>.

Сравнение эффектов CsA и АДФ указывает на различие механизмов регуляции CRC. CsA, связывающийся с циклофилином D и блокирующий его участие в формировании mPTP, увеличивает CRC при всех субстратных условиях, однако различия между NAD- и FAD-зависимым дыханием при этом сохраняются. АДФ, стабилизирующий сопряжённую работу АТФ-синтазы и предотвращающий её переход в гидролизный режим, повышает CRC одинаково в обеих группах, что возможно приводит к исчезновению различий между ними.

**Благодарности.** Данное исследование было выполнено при поддержке конкурса научных идей «Будущий ученый».

**Конкретный вклад авторов.** Р.Ф.Р. - проведение экспериментов, анализ данных, подготовка рисунков к публикации; Б.А.Ю – концептуализация и дизайн экспериментов, написание и редактирование рукописи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Samartsev, V.N., et al., *Comparative study of free respiration in liver mitochondria during oxidation of various electron donors and under conditions of shutdown of complex III of the respiratory chain.* Biochem Biophys Res Commun, 2022. **606**: p. 163-167.
2. Ikromova, F., et al., *Acute CCl4-induced intoxication reduces complex I, but not complex II-based mitochondrial bioenergetics – protective role of succinate.* Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2024. **57**: p. 11-26.
3. Fontaine, E., et al., *Regulation of the permeability transition pore in skeletal muscle mitochondria. Modulation By electron flow through the respiratory chain complex i.* J Biol Chem, 1998. **273**(20): p. 12662-8.
4. Briston, T., et al., *Mitochondrial permeability transition pore: sensitivity to opening and mechanistic dependence on substrate availability.* Scientific Reports, 2017. **7**(1): p. 10492.
5. Spinelli, J.B., et al., *Fumarate is a terminal electron acceptor in the mammalian electron transport chain.* Science, 2021. **374**(6572): p. 1227-1237.

## KALAMUSH JIGARI MITOXONDRIYALARI BIOENERGETIK PARAMETRLARINING SUBSTRATGA BOG'LIQ BO'LGAN FARQLARI

F.R. Rustamova, A.Y. Baev

Mitoxondriyalarning ishlashi nafas olish zanjirida qanday substratlar ishlatilishiga bog'liq. Substratni tanlashga qarab, nafas olish tezligi, oksidlanishning fosforillanish bilan bog'lanish samaradorligi va mitoxondriyalarning kalsiy ortiqcha yuklanishiga chidamliligi o'rtasidagi nisbat o'zgaradi. Kalamush jigar mitoxondriyalari bilan o'tkazilgan tajribalarda glutamat-malat, suksinat va suksinatning ta'siri rotenon bilan taqqoslandi. Suksinatning oksidlanishida nafas olish tezligi glutamat-malatga qaraganda yuqori bo'ldi, ammo nafas nazorati ko'rsatkichlari va ADF/O koeffitsiyenti pasaydi. Membrana potentsiali barcha muhitlarda barqaror bo'lib qoldi. Suksinatli muhitda kalsiy bufer sig'imi kamaydi, siklosporin A qo'shilishi esa substratlar orasidagi farqlarni saqlagan holda bu ko'rsatkichni oshirdi. Natijalar energiya almashinuvining substratga bog'liq xususiyatlarini va jigar mitoxondriyasining Ca<sup>2+</sup>-indutsirlangan PTP sezgirlikini aks ettiradi.

**Kalit so'zlar:** oksidlanish fosforlanish; membrana potentsiali; kalsiy bufer sig'imi; suksinat; glutamat-malat; siklosporin A; mPTP.

## SUBSTRATE DEPENDENT DIFFERENCES IN BIOENERGETICAL PARAMETERS OF RAT LIVER MITOCHONDRIA

F.R. Rustamova, A.Y. Baev

Mitochondrial function depends on the substrates utilized by the respiratory chain. Substrate selection alters the balance between respiratory rate, the efficiency of coupling between oxidation and phosphorylation, and mitochondrial resistance to calcium overload. In experiments with rat liver mitochondria, the effects of glutamate-malate, succinate, and succinate with rotenone were compared. During succinate oxidation, the respiratory rate was higher than with glutamate-malate; however, the respiratory control ratio and the ADP/O ratio were reduced. The membrane potential remained stable in all incubation media. Calcium retention capacity decreased in the succinate-supported medium, whereas the addition of cyclosporin A increased this parameter while preserving substrate-dependent differences. These results demonstrate substrate-dependent characteristics of energy metabolism and the sensitivity of rat liver mitochondria to Ca<sup>2+</sup>-induced permeability transition.

**Keywords:** oxidative phosphorylation; membrane potential; calcium retention capacity; succinate; glutamate-malate; cyclosporin A; mPTP.

## СОСТОЯНИЕ ОКСИДАНТНОЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМ ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ И ПУТИ КОРРЕКЦИИ

М.Х. ШУКУРЛАЕВА<sup>1</sup>, Р.А. САБИРОВА<sup>1</sup>, М.А. МУСТАФАКУЛОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Ташкентский государственный медицинский университет

<sup>2</sup>Институт биофизики и биохимии

Автор для переписки: shukurlayevam@gmail.com

В статье изучено состояние оксидантной и антиоксидантной систем в ткани почек при экспериментально индуцированном метаболическом синдроме. Эксперименты проведены на кроликах породы шиншилла, у которых метаболический синдром моделировали путем введения холестерина, раствора сахарозы и инсулина. Оценивали интенсивность перекисного окисления липидов по уровню малонового диальдегида, а также активность антиоксидантных ферментов – каталазы и супероксиддисмутазы. Установлено, что метаболический синдром сопровождается выраженным усилением окислительного стресса и снижением активности антиоксидантной защиты в почечной ткани.

**Ключевые слова:** Метаболический синдром, окислительный стресс, почки, кетогенная диета, антиоксидантные ферменты, эзетимиб, метформин.

**Введение.** Стремительный рост метаболического синдрома (МС) сделал его серьезной проблемой мирового здравоохранения. Результаты исследований показывают большую частоту патологий почек у пациентов данной группы. Абдоминальное ожирение, артериальная гипертензия, дислипидемия и инсулинорезистентность связаны с влиянием на почки через системное высвобождение множества провоспалительных цитокинов, генерализованный окислительный стресс и развитие хронического воспаления [1].

Окислительный стресс – это процесс повреждения активными формами кислорода различных органов и тканей на клеточном уровне, возникающий в результате дисбаланса функциональной активности прооксидантной и антиоксидантной систем, т.е. систем, поддерживающих и препятствующих окислению. Данный процесс может быть результатом как недостатка антиоксидантной защиты, вызванного нарушением продукции эндогенных антиоксидантов, так и чрезмерного избытка образующихся свободных радикалов [2, 3, 4].

Значительные изменения структурно-функционального состояния почечных мембран продемонстрированы в экспериментах на животных при моделировании гломерулярных поражений почек, обусловленных интенсификацией перекисного окисления липидов (ПОЛ) [5]. В экспериментальной работе Т. L. Pallone [6] показано, что окислительный стресс может быть стимулирован в корковом и мозговом веществе почек как отдельно, так и одновременно, причем супероксиданион запускает данный механизм во всех отделах почек, а перекись водорода только в мозговом веществе.

**Цель исследования.** Изучить состояние оксидантной-антиоксидантной систем при метаболическом синдроме и коррекция кетогенной диетой.

**Материал и методы исследования.** Исследования проведены на 60 кроликах породы Шиншилла весом 2,2-2,4 кг. У экспериментальных животных метаболический синдром вызвали по методу Саидова С.А. [7] путем ежедневного введения натошак 250 мг/кг массы тела холестерина, 5% раствора сахарозы вместо воды в течение 2 месяцев. Каждые 2 дня один раз подкожно в область поясницы вводили инсулин в дозе 0,1 ед/100 гр массы тела.

Лечение МС стандартной кетогенной диетой проводили по методу [8], в его состав входили жиры-белки-углеводы в соотношении 70-20-10. В состав модифицированной кетогенной диеты входили жиры-белки-углеводы в соотношении 60-30-10.

Кроликов с МС в течение 30 дней лечили эзетимибом, метформином и их сочетанием. Для коррекции эзетимиб *per os* вводили в дозе 14 мг на 1 кг массы тела, метформин – в дозе 25 мг на 1 кг массы тела.

Кролики распределены по группам следующим образом: I группа. Интактные кролики - с которыми не проводились манипуляции; II группа. Контрольная – кролики с МС получали 2 мл очи-

щенной воды. III группа. Опытные – кролики МС, получавшие стандартную кетогенную диету; IV группа. Опытные – кролики МС, получавшие модифицированную кетогенную диету; V группа. Опытные – кролики МС получали *per os* эзетимиб в дозе 14 мг на 1 кг массы тела; VI группа. Опытные – кролики МС получали *per os* метформин в дозе 25 мг на 1 кг массы тела; VII группа. Опытные – кролики МС получали комбинированное лечение эзетимиб + метформин. В ткани почек содержание малонового диальдегида (МДА) определяли спектрофотометрическим методом с тиобарбитуровой кислотой по Ohkawa et al. (1979) [9], активность каталазы по методу Aebi (1984) [10], основанному на скорости разложения  $H_2O_2$ , а активность супероксиддисмутазы по методу Misra and Fridovich (1972) [11], основанному на ингибировании автоокисления адреналина. Все исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей» (Страсбург, 1986).

Полученные данные обрабатывали с помощью программы «STATISTICA». Данные представлены в виде средних арифметических значений (M) и стандартных отклонений (m). Для сравнения выборок применяли t-критерий Стьюдента. Достоверным считали результаты, удовлетворяющие  $P < 0,05$ . [12].

**Результаты исследования и их обсуждение.** Результаты исследования состояния оксидантной и антиоксидантной систем в почках у кроликов с метаболическим синдромом (контрольная группа) представлено в таблице №1. Как видно из данных таблицы у кроликов контрольной группы содержание МДА по сравнению с интактной группой достоверно повышено на 74,12%. Активность антиоксидантных ферментов – каталазы и супероксиддисмутазы в почечной ткани достоверно снижена на 17,94 и 17,6% соответственно по сравнению с интактной группой.

Таблица 1

**Состояние оксидантной и антиоксидантной систем в ткани почек у кроликов с метаболическим синдромом**

Показатели	Интактная группа	Контрольная группа
МДА, мкмоль/г ткани	8,5 ± 0,6	14,8 ± 1,2*
Каталаза, ммоль $H_2O_2$ /мин/г ткани	360,2 ± 12,4	295,6 ± 10,1*
Супероксиддисмутаза, Е/мг белка	82,4 ± 4,1	56,3 ± 3,8*
Белок, мг/дл	10,9 ± 0,8	13,7 ± 0,9*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с интактной группой.

Эти данные указывают на усиление процессов перекисного окисления в почечной ткани у кроликов с метаболическим синдромом и снижение активности ферментов антиоксидантной системы. Изучение влияния стандартной и модифицированной кетогенной диеты показало достоверное снижение содержания МДА в почечной ткани по сравнению с контрольной группой на 24,3 и 35,1% соответственно (табл.№2).

Таблица 2

**Влияние кетогенной диеты на состояние оксидантной и антиоксидантной систем при метаболическом синдроме**

Показатели	Контрольная группа	Стандартная кетогенная диета	Модифицированная кетогенная диета
МДА, мкмоль/г ткани	14,8 ± 1,2	11,2 ± 0,9*	9,6 ± 0,7*
Каталаза, ммоль $H_2O_2$ /мин/г ткани	295,6 ± 10,1	325,4 ± 9,2*	345,8 ± 11,0*
Супероксиддисмутаза, Е/мг белка	56,3 ± 3,8	68,9 ± 4,1*	76,5 ± 3,6*
Белок, мг/дл	13,7 ± 0,9	12,4 ± 0,8*	11,5 ± 0,7*

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

Активность каталазы в почечной ткани повышается под влиянием стандартной и модифицированной кетогенной диеты на 11 и 16,9% соответственно по сравнению с контрольной группой. Нами установлено более выраженное повышение активности супероксиддисмутазы в почечной ткани при стандартной и модифицированной кетогенной диеты на 22,4 и 35,9% соответственно по сравнению

с контрольной группой. Изучение влияния эзетимиба, метформина и их сочетания на состояние оксидантной и антиоксидантной систем у кроликов с метаболическим синдромом представлено в таблице №3.

Таблица 3

**Влияние эзетимиба и метформина на состояние оксидантной и антиоксидантной систем у кроликов с метаболическим синдромом**

Показатели	Контрольная группа	Лечение		
		Эзетимиб	Метформин+Эзетимиб	Метформин
МДА, мкмоль/г ткани	14,8 ± 1,2	11,9 ± 0,8*	9,8 ± 0,7*	10,9 ± 0,9*
Каталаза, ммоль H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г ткани	295,6 ± 10,1	320,4 ± 9,5*	350,7 ± 10,8*	335,2 ± 11,3*
Супероксиддисмутаза, Е/мг белка	56,3 ± 3,8	67,5 ± 4,2*	78,9 ± 3,9*	72,1 ± 4,5*
Белок, мг/дл	13,7 ± 0,9	12,6 ± 0,8*	11,3 ± 0,7*	11,9 ± 0,8*

*Примечание:* \* –  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой.

Установлено снижение содержания МДА в почечной ткани при лечении эзетимибом, метформином и сочетании на 19,6; 26,4 и 33,8% соответственно по сравнению с кроликами метаболическим синдромом, что указывает на снижение окислительных процессов в почечной после лечения использованными препаратами. Лечение изученными препаратами вызвало повышение активности каталазы в почечной ткани по сравнению с животными контрольной группы на 8,4; 13,4 и 18,6% соответственно. Активность супероксиддисмутаза также повышается под влиянием эзетимиба, метформина и их сочетания в почечной ткани на 19,9; 28,1 и 40,1% соответственно по сравнению с контрольной группой.

Полученные данные могут быть обусловлены сочетанным воздействием гиперинсулинемии, дислипидемии и хронического воспаления, что приводит к повреждению мембранных структур нефрона и нарушению клеточного метаболизма. Изучение влияния стандартной и модифицированной кетогенной диеты показало их выраженный корригирующий эффект на показатели оксидантно-антиоксидантной системы.

**Заключение.** Результаты проведенного экспериментального исследования показали, что метаболический синдром сопровождается выраженными нарушениями оксидантно-антиоксидантного баланса в ткани почек. У животных с моделированным метаболическим синдромом установлено достоверное усиление процессов перекисного окисления липидов, проявляющееся повышением содержания малонового диальдегида, а также снижение активности ключевых ферментов антиоксидантной системы – каталазы и супероксиддисмутаза, что свидетельствует о развитии окислительного стресса и истощении антиоксидантной защиты почечной ткани. Применение стандартной и модифицированной кетогенной диеты приводит к снижению интенсивности окислительных процессов и восстановлению активности антиоксидантных ферментов. При этом более выраженный корригирующий эффект выявлен при использовании модифицированной кетогенной диеты, что указывает на её преимущество в нормализации метаболических и антиоксидантных процессов в почечной ткани при метаболическом синдроме. Фармакологическая коррекция с использованием эзетимиба и метформина сопровождается достоверным улучшением показателей оксидантно-антиоксидантной системы, снижением уровня малонового диальдегида и повышением активности каталазы и супероксиддисмутаза. Наиболее выраженное восстановление оксидантно-антиоксидантного равновесия отмечено при сочетанном применении эзетимиба и метформина, что обусловлено взаимодополняющими механизмами их действия на липидный и углеводный обмен. Представленные данные могут служить экспериментальным обоснованием для дальнейших исследований, направленных на разработку эффективных методов профилактики и коррекции почечных нарушений при метаболическом синдроме.

**Конкретный вклад авторов.** Сабирова Р.А. - разработка концепции статьи. Шукурлаева М.Х. – создание экспериментального модели метаболического синдрома, получение и анализ фактических данных. Мустафакулов М.А. - написание и редактирование текста статьи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Воротылов А.А., Михайлова З.Д. (2023) Клиническая нефрология. - №2. - с. 74-78 DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/nephrology.2023.2.74-78>; //Vorotylov A.A., Mikhaylova Z.D. (2023) Klinicheskaya nefrologiya.-№2.-s.74-78 DOI: <https://dx.doi.org/10.18565/nefrologiya.2023.2.74-78>;
2. Massy Z. A. (2009) The role of oxidative stress in chronic kidney disease / Z. A. Massy, P. Stenvinkel, T. B. Drueke // Seminars in Dialysis. – Vol. 22(4). – P. 405-408.;
3. Zalesskiy V.N., Velikaya N.V. (2003) Mechanisms of cytotoxic effects of active oxygen molecules and the development of apoptosis // Modern problems of toxicology. 1: 11-17.
4. Zenkov N.K., Lankin V.Z., Menshchikova E.B. (2001) Oxidative stress: Biochemical and pathophysiological aspects. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика», – 343 с.
5. Gwinner W. (2000) Role of reactive oxygen species in glomerulonephritis / W. Gwinner, H. Y. Grone // Nephrol Dial Transplant. – Vol. 15(8). – P. 1127-1132;
6. Pallone T. L. (2006) Is oxidative stress differentially regulated in the renal cortex and medulla? / T. L. Pallone // Nature Clinical Practice Nephrology. – Vol. 2(3). – P.118-119;
7. Саидов С.А. (2006) Моделирование метаболического синдрома у кроликов // Врач. Дело.-2006.- №3.- С.58-61.// Saidov S.A. (2006) Modelirovanie metabolicheskogo sindroma u krolikov//Vrach. Delo.-№3.-s.58-61.
8. Joshi Shilpa, Viswanathan Mohan, (2018) Indian J Med Res 148, September , pp 251-253 DOI: 10.4103/ijmr.IJMR.-1666-18.
9. Hiroshi Ohkawa, Nobuko Ohishi, Kunio Yagi (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical biochemistry 95, 351-358.
10. Hugo Aebi (1984) Catalase in Vitro. Vol.105, ISBN 0-12-182005-X.
11. Hara P. Misra and Irwin Fridovich (1972) The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and simple assay for superoxide dismutase. Vol.247, №10, issue may 25, 3170-3175.
12. Стефанов А.В. (2002) Доклинические исследования лекарственных средств., Киев.с.91. // Stefano A.V. (2002) Doklinicheskie issledovaniya lekarstvennykh sredstv., Kiyev.s.91.

METABOLIK SINDROM SHAROITIDA OKSIDANT-ANTIOKSIDANT TIZIMLAR HOLATI  
VA TUZATISH USULLARI

M.X. Shukurlayeva, R.A. Sabirova, M.A. Mustafakulov

Mazkur tadqiqotda tajriba yo‘li bilan chaqirilgan metabolik sindrom sharoitida buyrak to‘qimasida oksidant va antioksidant tizimlarning holati o‘rganildi. Tajribalar shinshilla zotli quyonlarda o‘tkazilib, metabolik sindrom xolesterin, saxaroza eritmasi va insulin yuborish orqali modellashtirildi. Lipidlarning peroksidlanish darajasi malon dialdegid miqdori orqali, antioksidant tizim faoliyati esa katalaza va superoksiddismutaza fermentlari faolligi orqali baholandi. Tadqiqot natijalari metabolik sindrom buyrak to‘qimasida oksidlovchi stressning kuchayishi va antioksidant himoya fermentlari faolligining pasayishi bilan kechishini ko‘rsatdi.

**Kalit so‘zlar:** Metabolik sindrom, oksidlovchi stress, buyraklar, ketogen parhez, antioksidant fermentlar, ezetimib, metformin.

STATUS OF OXIDATIVE AND ANTIOXIDANT SYSTEMS IN METABOLIC SYNDROME AND  
CORRECTION STRATEGIES

M.X. Shukurlayeva, R.A. Sabirova, M.A. Mustafakulov

The study investigates the state of oxidant and antioxidant systems in renal tissue under conditions of experimentally induced metabolic syndrome. Experiments were conducted on chinchilla rabbits in which metabolic syndrome was modeled by administration of cholesterol, sucrose solution, and insulin. Lipid peroxidation intensity was assessed by measuring malondialdehyde levels, while antioxidant defense was evaluated through the activity of catalase and superoxide dismutase. The results demonstrated that metabolic syndrome is associated with a significant increase in oxidative stress and a decrease in antioxidant enzyme activity in renal tissue.

**Keywords:** Metabolic syndrome, oxidative stress, kidneys, ketogenic diet, antioxidant enzymes, ezetimibe, metformin.

**ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА ШАЛФЕЯ (*SALVIA OFFICINALIS*) НА РЕГУЛЯЦИЮ ОБЪЁМА И АКТИВНОСТЬ ОБЪЁМ-ЗАВИСИМОГО АНИОННОГО КАНАЛА В КЛЕТКАХ U937**

М.М. МАНСУРОВ<sup>1</sup>, О.Ж. ХАМИДОВА<sup>1</sup>, Д.Д. ФАЙЗИЕВ<sup>1,2</sup>, С.А. ХОЖИБОЕВ<sup>1</sup>,  
Г.В. МАКСИМЧЕВА<sup>1,3</sup>, Р.Ш. КУРБАННАЗАРОВА<sup>1,2</sup>, П.Г. МЕРЗЛЯК<sup>1</sup>, Р.З. САБИРОВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и биохимии при НУУз;

<sup>2</sup>Кафедра биофизики, Факультет биологии и экологии НУУз;

<sup>3</sup>Центр передовых технологий

Автор для переписки: mansurovmuxriddin060@gmail.com

В данной работе показано, что водно-этанольный экстракт *Salvia officinalis* оказывает выраженное модулирующее действие на систему регуляции клеточного объёма и активность объём-зависимого анионного канала (ОЗАК) в клетках гистиоцитарной лимфомы человека линии U937. При концентрациях до 200 мкг/мл экстракт дозозависимо ингибировал восстановление клеточного объёма после гипосмотического стресса, с полумаксимальной ингибирующей концентрацией ( $C_{50} = 34,3 \pm 6,1$  мкг/мл) и коэффициентом Хилла  $1,1 \pm 0,2$ . Установлено, что активность ОЗАК, блокируется потенциал-независимо в том же диапазоне концентраций. Полученные результаты показывают, что экстракт содержит биологически активные соединения, способные подавлять процессы регуляции клеточного объёма и селективно снижать объём-зависимую анионную проводимость в клетках U937.

**Ключевые слова:** регуляция клеточного объёма, объём-зависимый анионный канал, *Salvia officinalis*, экстракт, U937.

**Введение.** Объём-зависимый анионный канал (ОЗАК) играет ключевую роль в регуляции клеточного объёма, а также в процессах клеточного выживания и апоптоза, при этом его основным структурным компонентом в клетках человека является белок LRRC8A в комплексе с паралогами 8B, 8C, 8D и 8E [1–3]. Установлено, что канал ОЗАК принимает участие в патогенезе онкологических заболеваний, ишемического отёка головного мозга, ангиогенеза, а также в процессе выброса эксайтотоксического глутамата из патологически набухшей глии [2–3]. Канал ОЗАК служит в качестве транспортного пути для вхождения противоопухолевых средств, включая цисплатин, в клетки [3]. Ранее нами впервые было показано, что клетки гистиоцитарной лимфомы человека U937 практически полностью восстанавливают свой объём в течение 15 мин, что может регистрироваться по светопропусканию суспензии клеток [4]. В экспериментах методом пэтч-кламп были подтверждены характеристики ОЗАК в клетках U937, а также установлена его чувствительность к ингибитору ОЗАК – DCPiV [5], который также эффективно ингибировал регуляцию объёма этих клеток [4].

Шалфей лекарственный (*Salvia officinalis*) – представитель семейства *Lamiaceae*, традиционно применяемый в народной медицине для терапии эпилепсии, подагры, ревматизма, диареи, а также для облегчения симптомов головокружения [6]. Изготовленный из него спиртовой экстракт, как было установлено, устраняет воспаление и повреждения, вызванные каррагенином у белых крыс [7]. Целью данного исследования являлось изучение влияния водно-этанольного экстракта *Salvia officinalis* на систему регуляции клеточного объёма и на активность объём-зависимого анионного канала в клеточной линии U937.

**Материалы и методы.** В качестве объекта исследования использовалась надземная часть растения *Salvia officinalis*, собранная в осенний период на территории Камашинского района Кашкадарьинской области (производитель: ЧФ «JABBOR NORQOBILOVICH», Кашкадарьинская область, Узбекистан). Экстракт получали с использованием ранее описанного метода [8,9] с некоторыми модификациями. Вкратце, 0,5 г сухого измельченного растительного сырья заливали 10 мл 80% этанола, встряхивали 1 мин в круглодонной колбе объемом 50 мл и затем помещали в ультразвуковую баню на 30 мин. Полученную суспензию фильтровали через бумажный фильтр. Определение массы сухого остатка в экстракте проводили согласно ОФС.1.4.1.0021.15 Фармакопеи РФ. Для этого 3 мл жидкого экстракта помещали в стеклянный сосуд с плоским дном и сушили в термостате при

температуре  $102,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$  в течение 3 часов. Всушенный экстракт охлаждали до комнатной температуры при плотно закрытой крышке и взвешивали, процедуру повторяли до получения постоянного веса. Массу сухого остатка выражали в мг на 1 мл экстракта.

Стандартный раствор Рингера содержал (мМ): 135 NaCl, 5 KCl, 2 CaCl<sub>2</sub>, 1 MgCl<sub>2</sub>, 11 HEPES, 5 глюкозы (pH 7,4, 290 мОсм/кг-H<sub>2</sub>O). H-буфер содержал (мМ): 5 KCl, 10 HEPES, 2 CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, 5 глюкоза, (pH 7,4; 40 мОсм/кг-H<sub>2</sub>O). Гипотонический раствор был приготовлен из смеси нормального раствора Рингера и H-буфера в соотношении 3:4. Пипеточный раствор для *whole-cell* конфигурации содержал (мМ): 125 CsCl, 2 CaCl<sub>2</sub>, 1 MgCl<sub>2</sub>, 3 Na<sub>2</sub>ATP, 5 HEPES, 10 EGTA, 50 маннитола (pCa 7,65, 320 мОсм/кг-H<sub>2</sub>O, pH 7,4 доведенный CsOH). Все реактивы имели квалификацию «х.ч.» или «ч.д.а.».

Клетки U937 культивировались в среде DMEM (Sigma-Aldrich) с добавлением 10% эмбриональной сыворотки теленка, NaHCO<sub>3</sub>, антибиотиков и глутамина. Клетки инкубировались при температуре 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub>. Для проведения электрофизиологических экспериментов клетки поддерживались в суспензионной культуре с осторожным перемешиванием и использовались в течение 3–5 часов.

В работе использовали метод регистрации клеточного объема по величине светопропускания. Регуляторное уменьшение объема клеток U937 (*Regulatory volume decrease – RVD*) измеряли путем регистрации светопропускания суспензии клеток на микроколориметре (МКМФ-1, Россия) с использованием светофильтра 610 нм. Выходной сигнал, усиленный усилителем U5-11 (Россия), был оцифрован с помощью аналого-цифрового преобразователя GO! LINK USB Data Acquisition Interface (Vernier, Beaverton, OR, USA) и записан с помощью программы Logger Lite (Vernier, Beaverton, OR, USA). В ходе эксперимента, 900 мкл нормального раствора Рингера, гипотонического раствора или гипотонического раствора, содержащего экстракт, помещали в стеклянную кювету объемом 1,5 мл, подключенную к термостату LT Ecocool 100 (Grant Instruments, Cambridge, Великобритания) и добавляли 100 мкл клеточной суспензии до конечной концентрации  $10 \times 10^6$  клеток/мл. Регуляторное уменьшение объема (параметр *RVD*) рассчитывалось по следующей формуле:

$$RVD = (T_{max} - T_{15}) / (T_{max} - T_0) \times 100\% \quad (1)$$

Здесь:  $T_0$  и  $T_{max}$  – начальный и максимальный показатель светопропускания, а  $T_{15}$  – светопропускание, измеренное через 15 минут после начала гипотонического стресса.

Концентрационные зависимости влияния экстракта на регуляцию объема клеток аппроксимировали с помощью уравнения Хилла следующего вида:

$$RVD = RVD_{min} + (RVD_{max} - RVD_{min}) / [1 + (C/C_{50})^h] \quad (2)$$

Здесь:  $RVD_{min}$  и  $RVD_{max}$  – минимальная и максимальная величины регуляторного уменьшения объема клеток (%),  $C$  – концентрация экстракта (мкг/мл),  $C_{50}$  – концентрация экстракта, оказывающая полумаксимальный эффект (мкг/мл),  $h$  – коэффициент Хилла.

Электрофизиологические эксперименты проводили, как описано ранее [10,11]. Пэтч-кламп электроды были изготовлены из боросиликатного стекла с использованием механической кузницы PP-830 (Narishige, Япония) и имели, после заполнения пипеточным раствором, сопротивление кончика 2–5 МΩ. Быстрые и медленные емкостные отбросы регулярно компенсировались. При записи тока целых клеток сопротивление доступа не превышало 10 МΩ и компенсировалось на 70–80%. Мембранные токи измерялись с помощью системы EPC-9 (HeKa-Electronics, Lambrecht/Pfalz, Германия). Мембранный потенциал контролировался путем смещения потенциала пипетки и считался положительным для конфигурации *whole-cell*. Токи фильтровались при частоте 1 кГц и оцифровывались при частоте 5–10 кГц. Запись и анализ данных проводились с помощью программного обеспечения Pulse+PulseFit (HeKa-Electronics, Германия). Потенциалы жидкостного контакта рассчитывались с использованием программы pCLAMP 8.1 (Axon Instruments, Foster, CA, США). Непрерывная запись кинетики активации и блокировки тока осуществлялась с помощью аналого-цифрового преобразователя GO!Link USB Data Acquisition Interface и программы Logger Lite 1.3.2 (Vernier, Beaverton, OR, США). Препараты вводили с помощью системы гравитационной перфузии. Экспериментальная ячейка (~0,5 мл) перфузировалась с постоянной скоростью ~2 мл/мин. Все эксперименты проводились при комнатной температуре (23–25 °C).

Данные доза-ответ были аппроксимированы с помощью уравнения Хилла следующего вида:

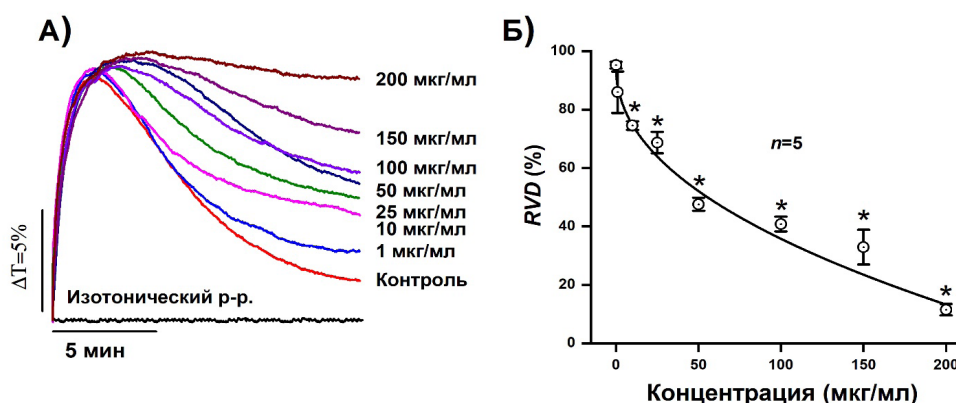
$$I = I_{min} + (I_{max} - I_{min}) / (1 + (C/C_{50})^h) \quad (3)$$

Здесь:  $I$  – относительный ток в (%);  $I_{\min}$  и  $I_{\max}$  – минимальное и максимальное значения  $I$ , соответственно;  $C$  – концентрация вещества (мкг/мл);  $C_{50}$  – концентрация вещества, оказывающая полумаксимальный ингибирующий эффект (мкг/мл);  $h$  – коэффициент Хилла.

Потенциалы реверсии рассчитывались путем аппроксимации вольт-амперных характеристик полиномом второго порядка как описано ранее [12]. Анализ данных проводили с помощью программы Origin 8 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA). Данные представлены как среднее  $\pm$  SE из  $n$  наблюдений. Множественные сравнения проводили методом ANOVA, тест Тьюки. Различия считались статистически значимыми при  $P < 0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** На начальном этапе исследования было определено содержание сухого остатка в водно-этанольном экстракте, которое составило  $11,0 \pm 1,0$  мг/мл ( $n=5$ ). В дальнейших экспериментах концентрации жидких экстрактов рассчитывались, исходя из данного показателя.

В изотонической среде (нормальный раствор Рингера) объем U937 оставался на постоянном уровне в течение 20 минут. При попадании в гипоосмотическую среду U937 сначала быстро набухали, а затем в течение 15–20 минут возвращали свой объем к исходному уровню. При 15-минутной инкубации клеток в гипоосмотической среде регуляторное восстановление объема клеток в среднем было равно  $RVD = 95,2 \pm 1,1\%$  ( $n=5$ ). Экстракт *Salvia officinalis* уже в концентрации 1 мкг/мл оказывал заметное ингибирующее действие на регуляцию объема клеток U937 (рис. 1А,Б). С увеличением концентрации экстракта наблюдалось дозозависимое снижение способности клеток к восстановлению объема, и при дозе 200 мкг/мл этот процесс практически полностью останавливался с  $RVD=11,5 \pm 1,9\%$  (рис. 1А,Б). Концентрация, при которой наблюдалось полумаксимальное ингибирование, была равна  $C_{50} = 34,3 \pm 6,1$  мкг/мл с коэффициентом Хилла  $1,1 \pm 0,2$ .

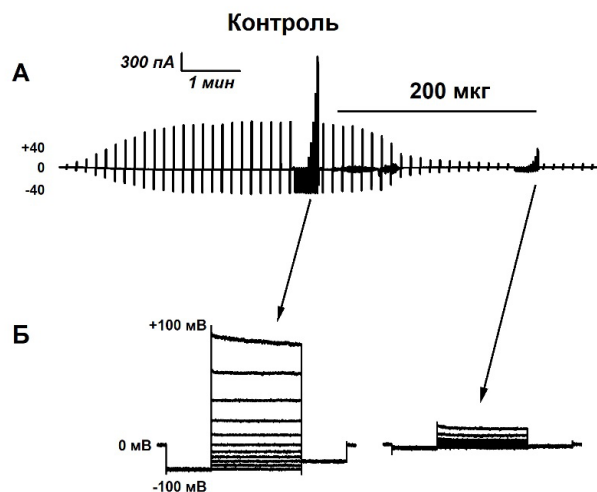


**Рис. 1.** Влияние водно-этанольного экстракта *Salvia officinalis* на регуляцию объема клеточной линии U937 в гипоосмотической среде. (А) – представлены оригиналы записи регистрации изменения светопропускания клеточной суспензии с течением времени. (Б) - показана зависимость средних значений параметра  $RVD$ , определенных по формуле (1), от концентрации экстрактов.

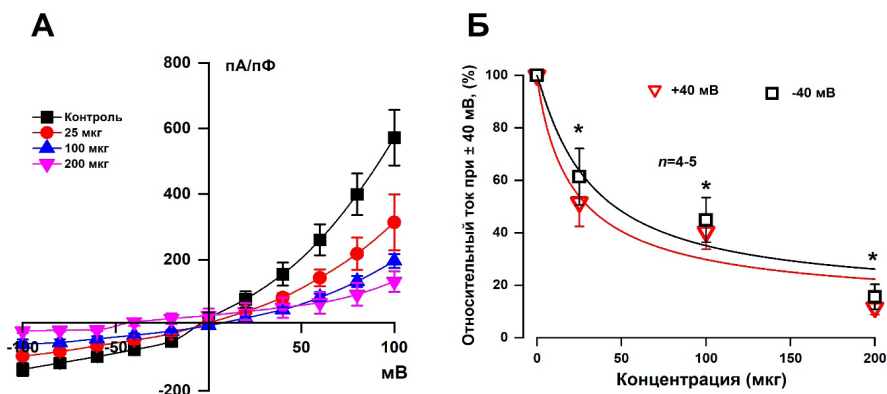
Символом \* обозначена статистически значимое отличие от контроля при  $P < 0,05$  ( $n$  – число повторов).

В последующих экспериментах для регистрации активности ОЗАК, пэтч-пипетки заполняли внутривнутрипипеточным раствором с несколько повышенным осмотическим давлением ( $320$  мОсм/кг- $H_2O$ ) по отношению к раствору в ячейке. Применение данного раствора, как было описано ранее, позволяет индуцировать набухание клеток в конфигурации *whole-cell*, обеспечивая воспроизводимые условия для регистрации токов объем-зависимого анионного канала [13,14]. После установления конфигурации *whole-cell* наблюдалось постепенное увеличение объема клеток, что фиксировалось визуально при помощи фазово-контрастной микроскопии. Увеличение клеточного объема сопровождалось активацией макроскопических токов (рис. 2А). В начальный момент времени при подаче потенциала  $\pm 40$  мВ существенного повышения базовой проводимости не отмечалось. Однако по мере набухания клеток регистрировалось постепенное возрастание тока, который в эксперименте, показанном на рис. 2А достиг  $747$  пА при  $+40$  мВ и  $-435$  пА при  $-40$  мВ (соответственно, плотность

тока при +40 мВ составила 110 пА/пФ и при -40 мВ -70 пА/пФ). После достижения проводимостью стационарного уровня клетки подвергали стимуляции серией тестовых импульсов в диапазоне от -100 мВ до +100 мВ с шагом 20 мВ. Такая стимуляция выявила умеренную инактивацию при больших деполяризирующих потенциалах и отчётливое наружное выпрямление, при котором амплитуда выходящего тока значительно превышала входящий ионный поток (рис. 2Б; рис. 3, контроль). Потенциал реверсии вольт-амперных характеристик был около 0 мВ, что близко к равновесному потенциалу ионов хлора в данных экспериментальных условиях.



**Рис. 2** – Действие водно-этанольного экстракта *Salvia officinalis* на объём-зависимый анионный ток, активируемый в клетках линии U937 в ответ на их осмотическое набухание. **(А)** Регистрация изменений макроскопического тока в конфигурации *whole-cell* в ответ на тестовый импульс ±40 мВ от 0 мВ (каждые 10 с). **(Б)** Кинетика инактивации ОЗАК в зависимости от мембранного потенциала. Моменты приложения тестовых импульсов обозначены стрелками.



**Рис. 3.** **(А)** Вольт-амперные характеристики макроскопического тока до (контроль) и после добавки экстракта *Salvia officinalis* в указанных концентрациях. **(Б)** Зависимость степени ингибирования ОЗАК от концентрации экстракта.  
 $n$  – число повторов, \*  $P < 0,05$  по сравнению с контролем.

Охарактеризованные биофизические свойства зарегистрированной объём-активируемой проводимости позволяют сделать вывод, что она по своим параметрам соответствует типичным характеристикам ОЗАК, ранее описанным в литературе [15,16].

Исследование действия экстракта в концентрации 200 мкг/мл на объём-зависимый макроскопический ток продемонстрировало практически полное его ингибирование. Отмеченный эффект носил обратимый характер. Следует отметить, что регистрируемый остаточный ток сохранял типичное наружное выпрямление (рис. 2Б, рис. 3). Подавление ионного тока наблюдалось при обоих

значениях мембранного потенциала (рис. 3А), что свидетельствует о потенциал-независимом механизме действия экстракта.

На рис. 3А представлены вольт-амперные характеристики объём-активируемого тока, зарегистрированные при различных концентрациях экстракта. Аппроксимация концентрационных зависимостей, представленных на рис. 3Б показала, что при +40 мВ концентрация, вызывающая полумаксимальный ингибирующий эффект, составляет  $C_{50} = 23 \pm 13$  мкг/мл при коэффициенте Хилла  $h = 0,9 \pm 0,5$ , а при -40 мВ это значение составило  $C_{50} = 33 \pm 13$  мкг/мл с коэффициентом Хилла  $h = 1,1 \pm 0,5$  (Рис. 3Б). Эти величины близки к таковым для влияния экстракта на параметр  $RVD$ , что свидетельствует о том, что в основе ингибирования экстрактом *Salvia officinalis* регуляции объёма клеток U937 лежит его блокирование активности каналов ОЗАК.

**Вывод:** Экстракт *Salvia officinalis* эффективно ингибирует регуляцию клеточного объёма и активность объём-зависимого анионного канала в клетках гистиоцитарной лимфомы человека линии U937. Этот эффект, вероятно, обусловлен присутствием в экстракте биологически активных соединений, которые в дальнейшем могут быть использованы как селективные блокаторы данных каналов и противораковые средства.

**Благодарности.** Работа выполнена при поддержке Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан (грант № ФЗ-202009216/Ф-ОТ-2021-157 и АЛ-9524115061).

**Конкретный вклад авторов:** Мансуров М.М., Хамидова О.Ж. провели эксперименты, Хожибоев С.А. анализировал данные, Мансуров М.М., Файзиев Д.Д. написали статью, Хамидова О.Ж., Максимчева Г.В., Курбанназарова Р.Ш. и Мерзляк П.Г. принимали участие в дизайне экспериментов, анализе данных и подготовке статьи, Р.З. Сабилов руководил экспериментами, анализировал данные, редактировал статью.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Okada T., Islam R.M., Tsiferova N.A., Okada Y., Sabirov R.Z. (2017) Specific and essential but not sufficient roles of LRRC8A in the activity of volume-sensitive outwardly rectifying anion channel (VSOR). *Channels (Austin)*. 11(2):109–120. doi: 10.1080/19336950.2016.1247133.
2. Pedersen S.F., Okada Y., Nilius B. (2016) Biophysics and Physiology of the Volume-Regulated Anion Channel (VRAC) / Volume-Sensitive Outwardly Rectifying Anion Channel (VSOR). *Pflügers Arch.* 468(3): 371–383. doi: 10.1007/s00424-015-1781-6.
3. Okada Y., Numata T., Sato-Numata K., Sabirov R.Z., Liu H., Mori Sh., Morishima Sh. (2019) Roles of volume-regulatory anion channels, VSOR and Maxi-Cl, in apoptosis, cisplatin resistance, necrosis, ischemic cell death, stroke and myocardial infarction. *Curr Top Membr.* 83: 205–283. doi: 10.1016/bs.ctm.2019.03.001.
4. Рустамова С.И., Тоштемирова Г.А., Циферова Н.А., Максимчева Г.В., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Сабилов Р.З. (2022) Влияние некоторых блокаторов катионных и анионных каналов на регуляции объёма клеток гистиоцитарной лимфомы человека U937. *Узб. Биол. Ж.* (5): 3-8. // Rustamova S.I., Toshtemirova G.A., Tsiferova N.A., Maksimcheva G.V., Khamidova O.Zh., Kurbannazarova R.Sh., Merzlyak P.G., Sabirov R.Z. (2022) Vliyanie nekoto-rykh blokatorov kationnykh i anionnykh kanalov na regulyatsii ob"ema kletok gistiotsitarnoj limfomy cheloveka U937. *Uzb. Biol. Zh.* (5): 3-8.
5. Файзиев Д.Д., Максимчева Г.В., Циферова Н.А., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Сабилов Р.З. (2025) Биофизический профиль объём-зависимого анионного канала в клетках гистоцитарной лимфомы человека U937. *Узб. Биол. Ж.* (1): 68–72. // Fajzиеv D.D., Maksimcheva G.V., Tsiferova N.A., Kurbannazarova R.Sh., Merzlyak P.G., Sabirov R.Z. (2025) Biofizicheskij profil' ob"em-zavisi-mogo anionnogo kanala v kletkakh gistotsitarnoj limfomy cheloveka U937. *Uzb. Biol. Zh.* (1): 68–72.
6. Ghorbani A., Esmailizadeh M. (2017) Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med.* 7(4): 433–440. doi:10.1016/j.jtcme.2016.12.014.
7. Boufadi M.Y., Keddari S., Moulai-Hacene F., Chaa S. (2021) Chemical Composition, Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Salvia Officinalis* Extract from Algeria. *Pharmacogn J.* 13(2): 506–515. doi: 10.5530/pj.2021.13.64

8. Marinova D., Ribarova F., Atanassova M. (2005) Total Phenolics and Total Flavonoids in Bulgarian Fruits and Vegetables. *J. Univ. Chem. Tech. Metall.* 40(3): 255–260.
9. Иногамов У.К., Циферова Н.А., Рустамова С.И., Хамидова О.Ж., Файзиев Д.Д., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Сабиров Р.З. (2020) Влияние экстрактов общих флавоноидов из плодов и семян каперсов *sarraris spinosa* на активность объем-зависимого анионного канала *Узб. Биол. Ж.* (6): 3–7. // Inogamov U.K., Tsiferova N.A., Rustamova S.I., Hamidova O.Zh., Fayziev D.D., Kurbannazarova R.Sh., Merzlyak P.G., Sabirov R.Z. (2020) Vliyanie ekstraktov obshchih flavonoidov iz plodov i semyan kapersov *sarraris spinosa* na aktivnost' ob'em-zavisimogo anionnogo kanala. *Uzb. Biol. J.* (6): 3–7.
10. Tsiferova N.A., Khamidova O.J., Amonov A.U., Rakhimova M.B., Rustamova S.I., Kurbannazarova R.S., Merzlyak P.G., Abdulladjanova N.G., Sabirov R.Z. (2019) Tannins, novel inhibitors of the volume regulation and the volume-sensitive anion channel. *Eur. Pharm. J.* 66(2): 37–44. doi: 10.2478/afpus-2019-0016
11. Rustamova S.I., Tsiferova N.A., Khamidova O.J., Kurbannazarova R.S., Merzlyak P.G., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Botirov E.K., Eshbakova K.A., Sabirov R.Z. (2019) Effect of plant flavonoids on the volume regulation of rat thymocytes under hypoosmotic stress. *Pharmacol Rep* 71(6): 1079–1087. doi: 10.1016/j.pharep.2019.05.023
12. Sabirov R.Z., Okada Y. (2004) Wide nanoscopic pore of maxi-anion channel suits its function as an ATP-conductive pathway. *Biophys. J.* 87(3): 1672–1685.
13. Sabirov R.Z., Rustamova S.I., Toshtemirova G.A., Tsiferova N.A., Khojiboev S.A., Fayziev D.D., Inogamov U.K., Kurbannazarova R.S., Syrov V.N., Merzlyak P.G. (2025) *Ferula* sesquiterpenes, ferutin, galbanic acid and karatavic acid, suppress thymocyte volume regulation and proliferation by blocking the volume-sensitive anion channel. *Biomed Pharmacother.* 184:117875. doi: 10.1016/j.biopha.2025.117875.
14. Salimova F.A., Rustamova S.I., Khojiboev S.A., Khamidova O.J., Merzlyak P.G., Fayziev D.D., Syrov V.N., Egamova F.R., Kurbannazarova R.S., Sabirov R.Z. (2025) Bidirectional effect of ecdysterone on thymocyte volume regulation and proliferation. *Steroids.* 19: 109653. doi: 10.1016/j.steroids.2025.109653.
15. Okada Y. (1997) Volume expansion-sensing outward-rectifier Cl<sup>-</sup> channel: fresh start to the molecular identity and volume sensor. *Am J. Physiol.* 273: 755–789. doi: 10.1152/ajpcell.1997.273.3.C755
16. Okada Y., Sabirov R.Z., Merzlyak P.G., Numata T., Sato-Numata K. (2021) Properties, Structures, and Physiological Roles of Three Types of Anion Channels Molecularly Identified in the 2010's. *Front Physiol.* 12:805148. doi: 10.3389/fphys.2021.8051483.

MAVRAK (*SALVIA OFFICINALIS*) EKSTRAKTINING U937 HUYAYRALARIDA HUYAYRA HAJM BOSHQARILISHI VA HAJMGA BOG'LIQ ANION KANALLARI FAOLLIGIGA TA'SIRI

M.M. Mansurov, D.D. Fayziyev, S.A. Xojiboyev, O.J. Xamidova, G.V. Maksimcheva, R.Sh. Kurbannazarova, P.G. Merzlyak, R.Z. Sabirov

Ushbu tadqiqotda *Salvia officinalis*ning suv–etanolli ekstraktini inson gistiotsitar limfomasi U937 hujayra liniyasida hujayra hajm boshqarilish tizimiga hamda hajmga bog'liq anion kanali (HBAK) faolligiga sezilarli modulyatsion ta'sir ko'rsatishi aniqlangan. Ekstrakt 200 mkg/ml gacha bo'lgan konsentratsiyalarda gipoosmotik stress sharoitida hujayra hajm boshqarish jarayonini dozaga bog'liq tarzda ingibirlagan, bunda yarim maksimal ingibirlovchi konsentratsiya  $C_{50} = 34,3 \pm 6,1$  mkg/ml, Hill koeffitsienti esa  $1,1 \pm 0,2$  ni tashkil etgan. Shuningdek, HBAK faolligi aynan shu konsentratsiyalar diapazonida membrana potensialiga bog'liq bo'lmagan mexanizm orqali samarali tarzda bloklanishi aniqlangan. Olingan natijalar *Salvia officinalis* ekstrakti tarkibida U937 hujayralarida hujayra hajm boshqarilish jarayonlariga ta'sir ko'rsatuvchi hamda hajmga bog'liq anion o'tkazuvchanligini selektiv ravishda kamaytiruvchi biologik faol komponentlar mavjudligidan dalolat beradi.

**Kalit so'zlar:** hujayra hajm boshqarilishi, hajmga bog'liq anion kanali, *Salvia officinalis*, suv–etanolli ekstrakt, U937.

EFFECT OF SAGE (*SALVIA OFFICINALIS*) EXTRACT ON CELL VOLUME REGULATION AND THE ACTIVITY OF VOLUME-REGULATED ANION CHANNEL

M.M. Mansurov, D.D. Fayziyev, S.A. Xojiboyev, O.J. Xamidova, G.V. Maksimcheva, R.Sh. Kurbannazarova, P.G. Merzlyak, R.Z. Sabirov

In this study, it is demonstrated that a water–ethanolic extract of *Salvia officinalis* exerts a pronounced modulatory effect on the cell volume regulatory system and on the activity of the volume-sensitive outwardly rectifying anion channel (VSOR) in human histiocytic lymphoma U937 cells. At concentrations of up to 200 µg/mL, the extract dose-dependently inhibited the recovery of cell volume regulation hypoosmotic stress, with a half-maximal inhibitory concentration ( $C_{50} = 34.3 \pm 6.1$  µg/mL) and a Hill coefficient of  $1.1 \pm 0.2$ . It was established that VSOR channel activity is inhibited in a membrane potential–independent manner within the same concentration range, indicating that the inhibitory effect is not voltage dependent. The obtained results indicate that the extract contains biologically active compounds capable of suppressing cell volume regulation processes and selectively reducing volume-dependent anion conductance in U937 cells.

**Keywords:** cell volume regulation, volume-sensitive outwardly rectifying anion channel, *Salvia officinalis*, water–ethanolic extract, U937.

## АДРЕНЕРГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ СОКРАТИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ИЗОЛИРОВАННОГО ПЕРФУЗИРУЕМОГО СЕРДЦА

Н.Д. ОЛЖАЕВ<sup>1</sup>, П.Г. МЕРЗЛЯК<sup>1</sup>, Р.Ш. КУРБАННАЗАРОВА<sup>1,2</sup>, М.З. МАКСУДОВ<sup>1</sup>,  
И.Ф. АБДУЛЛАЕВ<sup>1,3</sup>, Р.З. САБИРОВ<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Институт биофизики и биохимии при НУУз;

<sup>2</sup>Кафедра биофизики, биологический факультет НУУз;

<sup>3</sup>Ташкентский государственный медицинский университет, Институт медицинских научных инноваций

Автор для переписки: navruzoljayev0@gmail.com

Адренергические рецепторы (АР) играют важную роль в регулировании деятельности сердца и опосредуют эффекты катехоламинов, высвобождаемых симпатической нервной системой. Несмотря на широкое применение модели изолированного перфузируемого сердца по Лангендорфу, адренергическая регуляция сократительной активности ретроградно-перфузируемого сердца остается мало охарактеризованной, что и явилось предметом данного исследования. В работе установлено, что активация сердечных АР с помощью изопроterenола приводит к положительному инотропному и положительному хронотропному эффектам, тогда как селективное подавление активности кардиоселективным антагонистом АР бисопрололом вызывает диаметрально противоположный эффект. При совместном введении в перфузируемый раствор, бисопролол предотвращал инотропное, но не хронотропное действие агониста АР изопроterenола.

**Ключевые слова:** изолированное перфузируемое сердце, метод лангендорфа, **адренорецепторы**, изопроterenол, бисопролол.

**Введение.** Адренергические рецепторы (АР) относятся к суперсемейству рецепторов, сопряжённых с G-белками (GPCR – G-protein-coupled receptors) и опосредуют биологические эффекты катехоламинов – адреналина (эпинефрина) и норадреналина (норэпинефрина) [1]. АР подразделяются на три основных семейства:  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  и  $\beta$ . Каждое семейство включает по три подтипа:  $\alpha_1A$ ,  $\alpha_1B$ ,  $\alpha_1D$ ;  $\alpha_2A$ ,  $\alpha_2B$ ,  $\alpha_2C$ ; и  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_3$ , и все три семейства связываются с эпинефрином и норэпинефрином с одинаковой аффинностью. Однако, связываясь с различными гетеротримерными и мономерными G-белками, а также с эффекторными белками, АР регулируют различные физиологические процессы. Сигнальная передача через АР сопровождается отрицательной обратной связью, которая снижает чувствительность рецептора и регулирует интенсивность передачи сигнала посредством фосфорилирования специфических остатков аминокислот рецептора GPCR-киназами [2,3].  $\alpha_1$ -адренергические рецепторы в основном экспрессируются в гладкомышечных клетках сосудов, миокарде, печени и центральной нервной системе. В сосудах  $\alpha_1$ -АР обеспечивают вазоконстрикцию, а в сердце они участвуют в модуляции сократимости миокарда и ремоделировании сердца в патологических условиях [1,2].  $\alpha_2$ -адренергические рецепторы локализованы преимущественно на пресинаптических нервных окончаниях, обеспечивая тормозной механизм отрицательной обратной связи на высвобождение норадреналина. Кроме того,  $\alpha_2$ -АР обнаружены в ЦНС, тромбоцитах и некоторых периферических тканях, оказывая косвенное влияние на работу сердца [3].

В сердечной ткани доминируют  $\beta$ -адренергические рецепторы.  $\beta_1$ -АР высоко экспрессированы в синоатриальном и атриовентрикулярном узлах, а также в клетках миокарда, контролируя частоту сердечных сокращений, проводимость и сократимость.  $\beta_2$ -АР широко распространены в гладкой мускулатуре бронхов, сосудах и скелетных мышцах, но встречаются в сердце в меньшем количестве по сравнению с  $\beta_1$ -АР. В сердце  $\beta_2$ -АР участвуют в тонкой модуляции сократимости и активации цитопротективных сигнальных путей.  $\beta_3$ -АР преимущественно экспрессируются в жировой ткани, а также в эндотелиальных клетках сердца и в незначительных количествах в кардиомиоцитах. В сердце  $\beta_3$ -АР оказывают отрицательное инотропное действие через механизмы, связанные с NO-синтазой [4,5,7,9].

Основная функция  $\beta$ -АР в сердце – регулирование частоты сердечных сокращений и сократимости в ответ на адреналин и норадреналин, выделяемые симпатической нервной системой.

Сигнальный путь протеин-киназы А обеспечивает положительный инотропный и хронотропный ответ через фосфорилирование ключевых регуляторных белков, участвующих в сопряжении возбуждения и сокращения, таких как Са-каналы L-типа, рианодиновые рецепторы, фосфоламбан и тропонин I [6–9].

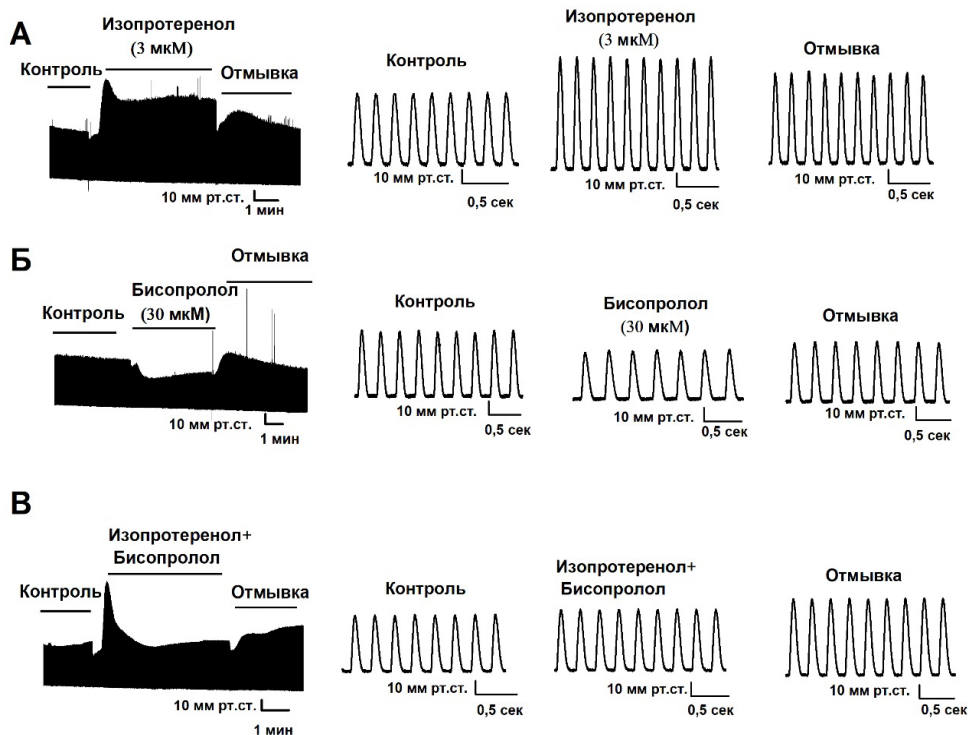
Несмотря на широкое применение модели изолированного перфузируемого сердца по Лангендорфу, адренергическая регуляция сократительной активности ретроградно-перфузируемого сердца остается мало охарактеризованной, что и явилось предметом данного исследования.

**Материалы и методы.** Все эксперименты на лабораторных животных проводились в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.), в строгом соответствии с рекомендациями ARRIVE (<https://arriveguidelines.org/>) и были заранее одобрены комитетом по биоэтике Института биофизики и биохимии (разрешение № ВЕС/ИБВ-НУУ/2025/16-1). Эксперименты проводились на белых самцах крыс возрастом 15–18 недель с массой тела  $218 \pm 5$  г. Животные были анестезированы барбиталом натрия (45 мг/кг, внутривенно), гепаринизированы (1250 МЕ/кг), после чего сердце извлекали через двустороннюю трансабдоминальную торакотомию. Сердце помещали в холодный (4°C) раствор Тирода, содержащий (в мМ) 140 NaCl, 5,4 KCl, 1,8 CaCl<sub>2</sub>, 0,5 MgCl<sub>2</sub>, 0,56 мМ Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5 мМ HEPES, 5,5 мМ глюкозы [10]. После прекращения спонтанных сокращений восходящую часть аорты канюлировали и немедленно перфузировали раствором Тирода, обогащенным кислородом и подогретым до 38°C. Для регистрации сокращений сердечной мышцы в левый желудочек вводился катетер с заполненным водой силиконовым баллончиком, в котором создавалось конечное диастолическое давление 20–25 мм рт. ст. Параметры сердечной сократимости регистрировали с помощью системы ретроградной перфузии сердца по Лангендорфу (ADInstruments). Сигнал усиливали и оцифровывали с помощью системы PowerLab Data acquisition system 8/30 (ADInstruments) с последующей обработкой в программе LabChart Lightning (ADInstruments). Исходные растворы изопротеренола (Merk Cat No I5627-5g) и биспролола фумарата (Merk Cat No 1075757) готовили в диметилсульфоксиде (ДМСО) в концентрации 100 мМ и разводили в растворе Тирода до указанных конечных концентраций непосредственно перед экспериментом. Конечная концентрация ДМСО не превышала 0,1%, и растворитель в этой концентрации не влиял на измеряемые величины.

Статистический анализ полученных данных проводили в программе Origin 8 (OriginLab). Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки ( $M \pm SEM$ ) для  $n$  экспериментов. Различия между группами оценивали с помощью дисперсионного анализа (ANOVA). Статистически значимыми считали при  $p < 0,05$ .

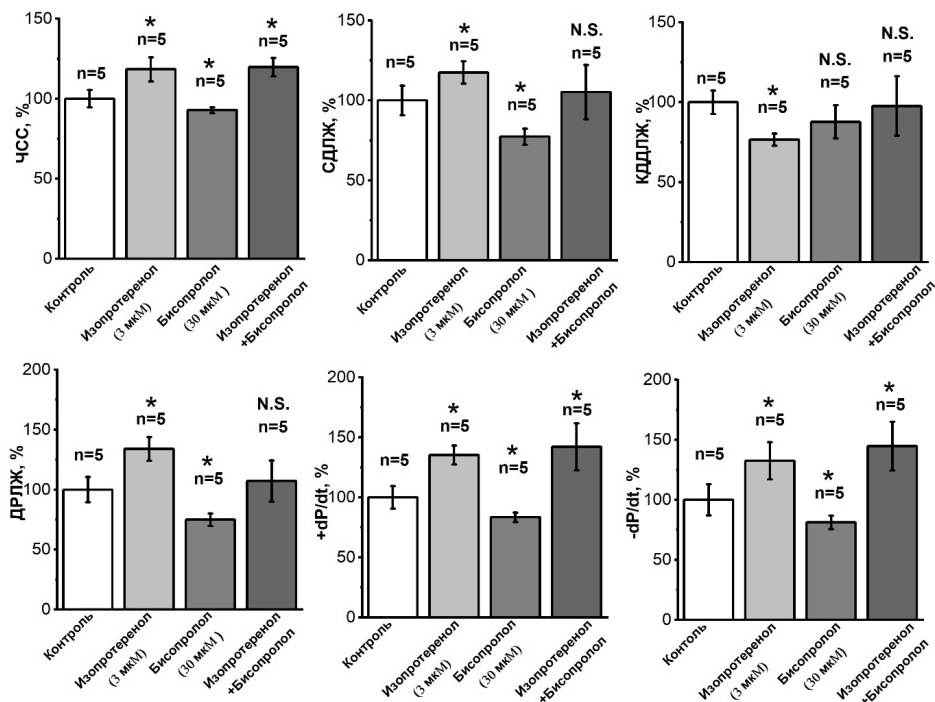
**Полученные результаты.** В наших экспериментах, в качестве агониста AP мы использовали изопротеренол (1-(3, 4-диоксифенил)-2-изопропиламиноэтанола гидрохлорид), который относится к классу катехоламинов и является синтетическим неселективным  $\beta$ -адреностимулятором. В наших экспериментах, в концентрации 3 мкМ это вещество проявляло ярко выраженный положительный хронотропный эффект, что проявлялось в увеличении частоты сердечных сокращений (ЧСС) с  $297 \pm 16$  ударов минуту в контроле до  $350 \pm 22$  ударов в минуту после 5-минутной перфузии сердца раствором Тирода, содержащим агонист (рис. 1А и 2А, табл.). Эффект был обратим, и частота сокращений восстанавливалась (хотя не полностью) после 5-минутной отмывки чистым раствором Тирода (рис. 1А и 2А). Параллельно наблюдался также выраженный положительный инотропный эффект, проявляющийся в увеличении амплитуды сокращений, видной как на оригиналах записи сократительной активности сердца (рис. 1А), так и в повышенном значении давления, развиваемого левым желудочком (ДРЛЖ) (рис. 2Б). Инотропный эффект препарата также был обратим, но не полностью. Количественный анализ параметров сердечной активности в присутствии изопротеренола показал, что систолическое давление в левом желудочке (СДЛЖ) было повышено, тогда как конечное диастолическое давление в левом желудочке (КДДЛЖ), наоборот, понизилось (рис. 2В,Г). введение препарата привело к росту скорости развития давления в левом желудочке ( $+dP/dt$ ) и скорости релаксации сердца ( $-dP/dt$ ) (рис. 2Д,Е).

Как и ожидалось, биспролол, который является кардиоселективным антагонистом  $\beta_1$ -АР, вызывал эффекты, обратные изопротеренолу. Так, частота и амплитуда сердечных сокращений уменьшились под действием 30 мкМ препарата (рис. 1Б, рис. 2Б, табл. 1). Эффекты препарата на СДЛЖ, КДДЛЖ,  $+dP/dt$  и  $-dP/dt$  были также противоположными изопротеренолу.



**Рис. 1.** Оригиналы записи сократительной активности изолированного сердца крысы, ретроградно перфузируемого по методу Лангендорфа, в контроле, а также при раздельном присутствии изопротеренола (А) и бисопролола (Б), а также при их совместном действии (В) в указанных концентрациях. Справа показаны соответствующие участки записей в увеличенном масштабе.

Изопротеренол, добавленный в присутствии бисопролола (рис. 1В), уже не был способен проявлять положительный инотропный эффект, повышать СДЛЖ и понижать КДЛЖ (рис. 2Б,В,Г). В то же время, влияние агониста на ЧСС, +dP/dt и -dP/dt сохранялось и на фоне бисопролола.



**Рис. 2.** Параметры сократительной активности (в процентах от контроля) перфузируемого изолированного сердца при раздельном и совместном присутствии 3 мкМ изопротеренола и 30 мкМ бисопролола.

Параметры сократительной активности перфузируемого изолированного сердца при раздельном и совместном присутствии 3 мкМ изопроterenолола и 30 мкМ биспролола

Параметр сократительной активности	Изопроterenолол (ИП)			Биспролол (БП)			Изопроterenолол+ Биспролол		
	Контроль	ИП	Отмыв	Контроль	БП	Отмыв	Контроль	ИП+БП	Отмыв
ЧСС (ударов в минуту)	297±16	350±22*	339±20*	226±11	209±79*	213±85	261±21	311±23*	303±21*
СДЛЖ, (мм рт.ст.)	71,6±3	84,4±7,4*	77,8±5*	72,7±2,7	56,2±4,4*	69,9±2,2	77,9±16,3	77,8±13	88,9±15*
КДЛЖ, (мм рт.ст.)	20±1,3	15,3±1,6*	13,3±1,4*	16,3±1,1	14,1±1,1	10,3±0,9*	16,1±3,6	14,7±2,9	11,5±3,7*
ДРЛЖ, (мм рт.ст.)	52±2,8	69,1±5,9*	64,4±4,2*	56,4±3,6	42,18±3,9*	59,6±2,7	61,8±12,8	63±10,4	77,4±12*
+dP/dt, (мм рт.ст./сек)	2781±302	3675±231*	3472±290*	2408±181	2027±228*	2471±230	2034±204	2991±573*	3184±661*
-dP/dt, (мм рт.ст./сек)	-2121±316	-2638±178*	-2503±217*	-1686±189	-1399±223*	-1660±186	-1824±435	-2517±520*	-2494±530*

Обозначения: ЧСС – частота сердечных сокращений; СДЛЖ – систолическое давление в левом желудочке; КДЛЖ – конечное диастолическое давление в левом желудочке; ДРЛЖ – давление, развиваемое левым желудочком; +dP/dt – скорость увеличения давления в левом желудочке; -dP/dt – скорость уменьшения давления в левом желудочке.

Таким образом, в наших экспериментах установлено, что активация сердечных АР приводит к положительному инотропному и положительному хронотропному эффектам, тогда как селективное подавление активности АР вызывает диаметрально противоположный эффект. Кардиоселективный антагонист АР биспролол предотвращал инотропное, но не хронотропное действие агониста. Аналогичные данные были получены нами ранее в экспериментах с первичной культурой неонатальных кардиомиоцитов [11].

**Благодарности.** Данное исследование было выполнено при поддержке грантов Ф-ОТ-2021-157 и АЛ-9524115061, Министерства высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

**Конкретный вклад авторов:** Н.Д. Олжаев провел эксперименты, анализировал данные, П.Г. Мерзляк, Р.Ш. Курбанназарова, М.З. Максудов и И.Ф. Абдуллаев принимали участие в дизайне экспериментов, анализе данных и подготовке статьи, Р.З. Сабиров руководил экспериментами и редактировал статью.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Perez D.M., Doze V.A. (2011) Cardiac and neuroprotection regulated by alpha(1)-adrenergic receptor subtypes. *J Recept Signal Transduct Res* 31(2): 98-110. DOI: 10.3109/10799893.2010.550008
2. Stadel J.M., Nambi P., Shorr R.G., Sawyer D.F., Caron M.G., Lefkowitz R.J. (1983) Catecholamine-induced desensitization of turkey erythrocyte adenylate cyclase is associated with phosphorylation of the beta-adrenergic receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 80(11): 3173-3177. DOI: 10.1073/pnas.80.11.3173
3. Hausdorff W.P., Caron M.G., Lefkowitz R.J. (1990) Turning off the signal: desensitization of beta-adrenergic receptor function. *FASEB J* 4(11): 2881-2889.
4. Bristow M.R., Ginsburg R., Umans V., Fowler M., Minobe W., Rasmussen R., Zera P., Menlove R., Shah P., Jamieson S., et al. (1986) Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 59(3): 297-309. DOI: 10.1161/01.res.59.3.297
5. Brodde O.E. (1991) Beta 1- and beta 2-adrenoceptors in the human heart: properties, function, and alterations in chronic heart failure. *Pharmacol Rev* 43(2): 203-242.
6. Sulakhe P.V., Vo X.T. (1995) Regulation of phospholamban and troponin-I phosphorylation in the intact rat cardiomyocytes by adrenergic and cholinergic stimuli: roles of cyclic nucleotides, calcium, protein kinases and phosphatases and depolarization. *Mol Cell Biochem* 149-150: 103-126. DOI: 10.1007/BF01076569
7. Xiang Y., Kobilka B.K. (2003) Myocyte adrenoceptor signaling pathways. *Science* 300(5625): 1530-1532. DOI: 10.1126/science.1079206
8. Xiao R.P., Zhu W., Zheng M., Cao C., Zhang Y., Lakatta E.G., Han Q. (2006) Subtype-specific alpha1- and beta-adrenoceptor signaling in the heart. *Trends Pharmacol Sci* 27(6): 330-337. DOI: 10.1016/j.tips.2006.04.009
9. Bers D.M. (2008) Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes. *Annu Rev Physiol* 70: 23-49. DOI: 10.1146/annurev.physiol.70.113006.100455
10. Matsuura H., Kojima A., Fukushima Y., Xie Y., Mi X., Sabirov R.Z., Okada Y. (2021) Positive Inotropic Effects of ATP Released via the Maxi-Anion Channel in Langendorff-Perfused Mouse Hearts Subjected to Ischemia-Reperfusion. *Front Cell Dev Biol* 9: 597997. DOI: 10.3389/fcell.2021.597997
11. Максимчева Г.В., Циферова Н.А., Атабеков И.У., Мерзляк П.Г., Сабиров Р.З. Адренергическая регуляция сократительной активности неонатальных кардиомиоцитов крыс в культуре. *Узб. Биол. Ж.* 2021, № 4, С.14-17 // Maksimcheva G.V., Ciferova N.A., Atabekov I.U., Merzlyak P.G., Sabirov R.Z. Adrenergicheskaya regulyaciya sokratitel'noj aktivnosti neonatal'nyh kardiomiocitov krysv kul'ture. *Uzb. Biol. Zh.* 2021, № 4, S.14-17

## AJRATIB OLINGAN YURAK QISQARISH FAOLLIGINING ADRENERGIK BOSHQARILISHI

N.D. Oljayev, P.G. Merzlyak, R.Sh. Kurbannazarova, M.Z. Maksudov, I.F. Abdullayev, R.Z. Sabirov

Adrenergik retseptorlar (AR) yurak faoliyatini boshqarilishida muhim rol o'ynaydi va simpatik nerv tizimi tomonidan ajratib chiqariladigan katexolaminlar ta'sirini vositachilik qiladi. Langendorff usulida izolyatsiya qilingan perfuziyalangan yurak modeli keng qo'llanilishiga qaramay, retrograd perfuziya qilinadigan yurakning adrenergik boshqarilishi va qisqarish faolligi yetarlicha tavsiflanmagan bo'lib, mazkur tadqiqot aynan shu masalaga bag'ishlandi. Tadqiqot natijalariga ko'ra, yurak adrenergik retseptorlarini izoproterenol yordamida faollashtirish musbat inotrop va musbat xronotrop ta'sirlarni keltirib chiqardi. Aksincha, kardioselektiv adrenergik retseptorlar antagonisti bisoprolol bilan ularning faolligini selektiv bostirish mutlaqo qarama-qarshi ta'sirga olib keldi. Perfuziya eritmasiga birgalikda kiritilganda, bisoprolol adrenergik retseptorlar agonisti izoproterenolning inotrop ta'sirini yo'qotdi, biroq uning xronotrop ta'sirini to'liq bartaraf eta olmadi.

**Kalit so'zlar:** izolyatsiya qilingan perfuziyalangan yurak, Langendorff usuli, adrenoretseptorlar, izoproterenol, bisoprolol.

## ADRENERGIC CONTROL OF CONTRACTILE ACTIVITY OF ISOLATED PERFUSED HEART

N.D. Oljaev, P.G. Merzlyak, R.Sh. Kurbannazarova, M.Z. Maksudov, I.F. Abdullaev, R.Z. Sabirov

Adrenergic receptors (AR) play an important role in the regulation of cardiac function and mediate the effects of catecholamines released by the sympathetic nervous system. Despite the widespread use of the isolated perfused heart model according to the Langendorff method, the adrenergic regulation of contractile activity in the retrogradely perfused heart remains insufficiently characterized, which constituted the focus of the present study. The results obtained demonstrated that activation of cardiac ARs by isoproterenol results in positive inotropic and positive chronotropic effects, whereas selective inhibition of AR activity by the cardioselective AR antagonist, bisoprolol, produces diametrically opposite effects. When co-administered, bisoprolol prevented the inotropic, but not the chronotropic, action of the AR agonist isoproterenol.

**Keywords:** isolated perfused heart, Langendorff method, adrenoceptors, isoproterenol, bisoprolol.

## ВЛИЯНИЕ КОРМОВ, ОБОГАЩЕННЫХ МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКОЙ, НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КУР-БРОЙЛЕРОВ

М.С. КУЗИЕВ, Д.У. ЭРГАШЕВ, М. М. САЪДУЛЛАЕВА

Самаркандский государственный университет имени Шарофа Рашидова, Институт биохимии

Автор для переписки: mkuziev.4326@gmail.com

В данной статье представлены научные результаты по улучшению количества эритроцитов (RBC), гемоглобина (HGB), гематокрита (HCT), лейкоцитов (WBC), тромбоцитов (PLT), эритроцитарных показателей (MCV, MCH, MCHC), тромбоцитарных показателей (MPV, PDW), лейкоцитарных показателей (Neut, Lym, Mon, Eos, Bas) в крови бройлеров породы Ross 308 с целью повышения таких показателей, как питательные свойства и характеристики, энергетическая ценность, питательная ценность, переваримость питательных веществ кормового рациона бройлеров.

**Ключевые слова:** бройлерная курица, Ross 308, молочная сыворотка, RBC, HGB, HCT, WBC, PLT, MCV, MCH, MCHC, MPV, PDW, Neut, Lym, Mon, Eos, Bas.

**Введение.** В современной отрасли птицеводства важно уделять внимание кормлению интенсивно растущих бройлерных птиц, оптимизировать физиологическое состояние животных путем обогащения их корма биологически активными, легкоусвояемыми и иммуностимулирующими компонентами. Молочная сыворотка является широкомасштабным отходом, на ее переработку в России приходится 2,5% от общего количества молочных отходов, что значительно меньше, чем в США, Франции и Германии: 24,9%, 10,9% и 10,4% соответственно. Использование сыворотки молока, выделяемой в качестве вторичного продукта на предприятиях по переработке молока в качестве пищевой добавки, имеет важное научное и практическое значение, поскольку оно предотвращает загрязнение окружающей среды наряду с обогащением корма и обеспечивает производство безотходных молочных продуктов [1, 2, 3].

Молочная сыворотка является ценным побочным продуктом, который выделяется в виде отходов после производства молочных продуктов, таких как сыр, творог или казеин. Он составляет 90% объема молока и 50% сухого вещества молока, а сыворотка отличается высокой концентрацией воды, лактозы и натрия [4, 5, 6, 7]. Удаление сыворотки молока, выделяющейся при производстве сыра, творога и казеина на молокоперерабатывающих предприятиях, проблематично из-за высокого содержания органических веществ. Молочная сыворотка, выделяющаяся на крупных предприятиях по переработке молока, обычно перерабатывается для использования в пищевой или пищевой промышленности, однако малые предприятия по переработке молока испытывают трудности с переработкой сыворотки из-за низкого количества выработанной сыворотки или высокой стоимости предприятий по переработке сыворотки. Таким образом, количество сыворотки, выбрасываемой в окружающую среду, такую как реки и водные ресурсы, может привести к загрязнению окружающей среды и потерям питательных веществ [1, 8, 9].

Молочная сыворотка уже используется в качестве кормовой добавки с целью повышения питательной ценности кормов животных, таким образом, использование сыворотки в качестве кормовой добавки является решением ее проблемного устранения, что приносит дополнительную экономическую выгоду для таких отраслей, как животноводство и птицеводство. Молочная сыворотка содержит белки с высокой биологической ценностью ( $\beta$ -лактоглобулин,  $\alpha$ -лактальбумин), ферменты, витамины, минеральные вещества и иммуномодуляторы [10, 11, 12].

Результаты отечественных и международных исследований [5, 7, 13, 14] показывают, что проблема рационального использования сыворотки крови до конца не решена. Примерно 50% сухого вещества молока выводится с сывороткой. Вещества, содержащиеся в сыворотке молока, оказывают положительное влияние на общее физиологическое состояние путем активации обмена веществ в организме животного, стабилизации кишечной микрофлоры, усиления системы антиоксидантной защиты, ускорения регенерации клеток и стимуляции процессов кроветворения.

Согласно изученным литературным данным, многие авторы использовали порошок сыворотки молока в качестве натуральной кормовой добавки при кормлении кур-бройлеров, в основном для обогащения кормов, повышая питательность кормов, питательные свойства, уровень переваримости, обеспечивая оптимальность физиологических процессов, происходящих в организме животного, что привело к улучшению их роста, развития и продуктивности [1, 5, 10, 15]. В изученной литературе недостаточно сведений об использовании сыворотки молока в жидком виде в качестве натуральной пищевой добавки и ее влиянии на показатели крови, поэтому обосновано практическое значение влияния сыворотки молока, выделяемой при производстве сыра, на показатели крови кур-бройлеров.

**Целью исследования** является определение влияния кормов, обогащенных молочной сывороткой, выделяемой при производстве сыра, на морфофизиологические показатели крови кур породы Росс 308.

**Задачи исследования.** Организовать контрольную и экспериментальную группы бройлеров породы Росс 308, сформировать для них сбалансированный кормовой рацион, обогатить кормовой рацион экспериментальной группы добавлением молочной сыворотки, выделяющейся при производстве сыра в количестве 13% от кормовой массы, взять образцы крови у подопытных животных перед утренним кормлением и определить морфофизиологические показатели крови в составе полученных образцов крови; статистическая обработка и научный анализ полученных результатов.

**Материалы и методы исследования.** Наши экспериментальные испытания проводились в научной лаборатории «Виварий» при Самаркандском государственном университете имени Шарафа Рашидова. Объектом исследования были выбраны 2-дневные цыплята породы «Росс 308» бройлерного направления, аналогичные по всем морфофизиологическим показателям, из которых были сформированы контрольная и экспериментальная группы. Контрольную группу кормили хозяйственным рационом, сформированным для периодов «Старт», «Рост» и «Финш», различающихся по особенностям роста и развития, а экспериментальную группу кормили добавлением в хозяйственный рацион 13% сыворотки по отношению к кормовой массе. Кормление и водоснабжение осуществлялось в соответствии с зоотехническими правилами.

В ходе наших исследований в последние сутки периодов «Старт», «Рост» и «Финиш», отличающихся по росту и развитию бройлерных кур, из венозных сосудов под крылом бройлерных кур породы Росс 308 утром, перед ежедневным первым кормлением, была взята кровь для анализа, подготовлена и проанализирована. Морфофизиологический состав крови определяли на автоматическом гематологическом анализаторе модели MINDRAY BC-5000. В данном анализаторе были определены показатели эритроцитов - RBC, HGB, HCT, MCV, MCHC, RDW-CV, и RDW-SD; тромбоцитарные показатели - PLT, MPV, PDW и PCT, а также лейкоцитарные показатели - WBC, Neu, Lym, Mon, Eos, Neu, Lym и Eos. Полученные данные обработаны в программе Microsoft Excel 2019 с использованием встроенной функции t-теста для независимых выборок. Различия считались достоверными при  $P < 0,05$ .

**Этические аспекты исследования.** Все процедуры по содержанию, кормлению и взятию крови у птицы проводились в соответствии с действующими ветеринарными и зоотехническими нормами Республики Узбекистан. При проведении эксперимента соблюдались принципы гуманного обращения с животными.

**Результаты и их анализ.** В наших исследованиях с целью повышения питательности, энергетической ценности, усвояемости и питательности кормового рациона в рационе животных опытной группы обоснованы изменения основных морфофизиологических показателей крови экспериментальных животных, которых кормили кормовым рационом, обогащенным добавлением жидкой молочной сыворотки в количестве 13,0% от общей кормовой массы в качестве натуральной кормовой добавки. По результатам выявлены достоверные различия между контрольной и экспериментальной группами по показателям RBC, HGB, HCT, WBC, PLT, а также по эритроцитам (MCV, MCH, MCHC), тромбоцитам (MPV, PDW) и лейкоцитам (Neut, Lym, Mon, Eos, Bas). Показатели RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC имеют важное значение при оценке физиологического состояния, толерантности и обмена веществ организма животного, а также при выявлении анемии и гематологических нарушений. Их нормальное состояние определяет общее здоровье, продуктивность и устойчивость к стрессовым факторам. Поэтому у бройлерных кур Росс 308 в конце периодов «Старт», «Рост» и

«Финиш» брали кровь и определяли показатели RBC, а также HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC в полученной крови (таблица 1).

Таблица 1

**Влияние сыворотки на эритроцитарные показатели крови бройлеров (n = 25)**

Показатели	Старт (14)		Правда (28)		Финиш (42)	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
RBC, ( $10^{12}/л$ ).	1,96±0,09	2,08±0,14	2,15±0,11	2,25±0,17	2,98±0,23	3,11±0,17
HGB, (г/л).	107,85±4,61	112,46±7,21*	130,68±5,90	135,41±8,12*	137,49±5,13	142,26±7,33*
HCT, (%)	24,14±2,53	25,67±1,88*	25,71±3,71	26,84±5,47*	30,13±6,81	31,38±2,25*
MCV, (fL).	124,23±7,04	126,41±6,27*	127,56±7,08	129,64±4,47*	134,26±6,52	136,21±8,11*
MCH, (pg).	31,36±3,39	32,09±2,03*	32,61±1,79	33,27±0,92*	32,42±1,46	32,86±2,32*
MCHC, (г/л).	475,12±31,40	481,52±19,61*	479,07±23,03	484,54±37,87*	482,21±29,21	487,52±44,74*

\* -  $P > 0.05$ ;

*Примечание:* составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

По данным таблицы, показатели RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC в крови экспериментальных животных имели тенденцию к повышению по сравнению с контрольной группой, однако различия статистически недостоверны ( $P > 0,05$ ), чем в контрольной группе. На стартовом этапе в экспериментальной группе было обнаружено увеличение RBC на 6,12%, HGB на 4,43%, HCT на 6,33%, MCV на 1,75%, MCH на 2,99% и MCHC на 1,34%. Это указывает на то, что обогащенный рацион питательных веществ улучшает эритропоэз, синтез гемоглобина и обеспечение питательными веществами. На истинном этапе также сохранялось преимущество, в экспериментальной группе RBC был выше на 4,65%, HGB на 3,62%, HCT на 4,39%, MCV на 1,63%, MCH на 2,02% и MCHC на 1,14%. Такая же разница наблюдалась и в финишном периоде, где RBC был выше на 4,36%, HGB на 3,47%, HCT на 4,15%, MCV на 1,45%, MCH на 1,35% и MCHC на 1,10% соответственно. В целом, на этапах Старт-Рост-Финиш гематологические показатели отражали возрастную физиологическую адаптацию, при этом самые высокие значения наблюдались в стартовом периоде и относительное снижение на последующих этапах. Эти изменения связаны с интенсивностью роста, составом рациона и созреванием системы гемопоэза. Питательный рацион, обогащенный молочной сывороткой, усиливает обеспечение белками, жирами, углеводами, аминокислотами, витаминами и минералами, активизирует гемопоэз и достоверно повышает количественные и функциональные показатели эритроцитов.

За счет питательных и биологически активных веществ, содержащихся в сыворотке молока, были обогащены корма, изучено их влияние на показатели эритроцитов, а также на количество тромбоцитов и тромбоцитарный индекс. На основании образцов крови, взятых у подопытных животных в конце периодов Старт, Рост и Финиш, определяли показатели PLT (количество тромбоцитов), MPV (средний объем) и PDW (объемная ширина). Эти показатели важны при оценке процессов гемостаза, гемопоэза и физиологической устойчивости организма. Полученные результаты позволяют повысить биодоступность, безопасность и функциональную эффективность использования сыворотки молока в качестве пищевой добавки (см. таблицу 2).

Таблица 2

**Влияние сыворотки тромбоцитные показатели крови бройлеров (n = 25)**

Показатели	Старт (14)		Правда (28)		Финиш (42)	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
PLT, ( $10^9/л$ ).	7,82±0,28	8,14±0,40*	8,34±0,42	8,72±0,28*	9,41±0,30	9,73±0,30*
MPV, (fL).	7,91±0,15	8,16±0,28*	8,09±0,40	8,41±0,19*	8,42±0,31	8,61±0,33*
PDW, (%)	17,23±0,21	17,78±0,17*	17,82±0,27	18,24±0,20*	18,16±0,21	18,54±0,31*

\* -  $P > 0.05$ ;

*Примечание:* составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

В приведенной ниже таблице 2 представлены данные о влиянии кормов, обогащенных молочной сывороткой, на показатели PLT, MPV и PDW крови кур-бройлеров Росс 308, согласно анализу образцов крови животных, взятых в конце стартового этапа, т.е. на 14-й день, было установлено, что в экспериментальной группе PLT был выше на 4,09%, MPV - на 3,16% и PDW - на 3,19% по сравнению с контролем. У опытных животных, получавших корм, обогащенный молочной сывороткой, наблюдалась значительная разница в показателях PLT, MPV и PDW по сравнению с контрольной группой, и наблюдались различия, PLT - на 4,55%, MPV - на 3,95% и PDW - на 2,35%. В период финиширования у животных опытной группы было выявлено повышение ПЛТ - на 3,40%, МПВ - на 2,26% и ПДВ - на 2,09% по сравнению с контрольной группой, обосновано положительное влияние обогащенных сывороткой кормов на показатели ПЛТ, МПВ и ПДВ.

При сравнении результатов в реальном периоде с стартовым периодом было выявлено, что результаты, полученные в реальном периоде, были относительно высокими, что можно объяснить ростом и развитием, интенсивностью метаболических процессов, относительно повышенной продукцией тромбоцитов. Снижение показателей PLT, MPV и PDW в финишном периоде по сравнению со стартовым и контрольным периодами можно объяснить замедлением роста и развития, стабилизацией физиологических и гематологических систем, в целом тромбоцитарные показатели у экспериментальных животных находятся на оптимальном уровне, и в этом случае иммунные процессы и механизмы свертывания крови, специфичные для тромбоцитов, проявляются максимально.

Молочная сыворотка, являющаяся побочным продуктом процесса производства сыра, используемая в качестве натуральной пищевой добавки, не только повышает питательную ценность и питательные свойства кормов, но и оказывает положительное (или безвредное) влияние на количество лейкоцитов, оказывает стимулирующее действие на иммунные функции, улучшает общее состояние иммунной системы, повышает активность лейкоцитов за счет воздействия на микробиоту пищеварительной системы, поддерживает общую иммунную функцию и стимулирует иммунную систему [11, 12]. Учитывая эти особенности молочной сыворотки, используемой в качестве пищевой добавки, также было определено ее влияние на показатели лейкоцитов в крови цыплят-бройлеров (см. таблицу 3).

Таблица 3

**Влияние сыворотки лейкоциты ные показатели крови бройлеров (n = 25)**

Показатели	Старт (14)		Правда (28)		Финиш (42)	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
WBC (109/L)	25,76±1,36	25,41±1,12*	25,22±0,86	24,78±1,14*	26,39±2,21	26,03±1,54*
Неут, (109/L).	7,26±0,37	7,11±0,61*	7,81±0,46	7,63±1,13*	6,27±0,23	6,15±0,31*
Lym, (109/L).	18,61±0,66	18,37±0,83*	19,21±0,45	18,94±0,69*	17,91±0,19	17,55±0,39*
Eos, (109/L).	0,80±0,03	0,78±0,05*	1,11±0,02	1,09±0,04*	1,12±0,03	1,09±0,04*
Ной, (%)	22,32±1,15	21,87±1,15*	26,23±1,70	25,79±1,70*	25,56±1,28	24,98±1,28*
Лим, (%)	72,31±2,48	71,03±3,06*	75,29±3,11	74,64±4,65*	77,23±3,44	75,69±1,09*
Эос, (%)	0,81±0,05	0,79±0,05*	0,81±0,03	0,79±0,03*	0,84±0,02	0,82±0,02*

\* - P&gt;0.05;

*Примечание:* составлена авторами на основе полученных данных в ходе исследования.

В приведенной таблице представлены данные о влиянии кормов, обогащенных молочной сывороткой, на соотношение общих лейкоцитов и видов лейкоцитов в крови кур-бройлеров Росса 308, эти изученные показатели имеют важное диагностическое значение при оценке иммунологического статуса и естественной резистентности организма животного.

На стартовом этапе развития кур-бройлеров общее количество лейкоцитов в опытной группе по сравнению с контролем было меньше на 1,36%, Neut - на 2,06%, Lym - на 1,28%, Eos - на 2,5%, Eos (%) - на 2,02%, Lym (%) - на 1,77% и Eos, (%) - на 2,47% соответственно. В истинном периоде также выявлено снижение на 1,74%, Neut - на 2,30%, Lym - на 1,40%, Eos - на 1,80%, Eos (%) - на 1,67%, Lym (%) - на 0,77% и Eos, (%) - на 1,23%. Результаты исследования в период финиша, как и на этапах старта и роста, не показали нестабильности в экспериментальной группе по сравнению с

контрольной группой, что указывает на активацию иммунной системы у животных экспериментальной группы и улучшение пищеварения в кишечнике за счет улучшения микрофлоры и стабильного обеспечения организма животного питательными веществами. Такие показатели доказывают иммуностимулирующее действие рациона с добавлением сыворотки молока, и в то же время следует отметить, что различия по показателю общего количества лейкоцитов в цифрах, представленных в таблице 3, можно оценить в пределах нормативных показателей.

Анализ полученных результатов по нейтрофилам, лимфоцитам и эозинофилам в сравнении с результатами контрольной группы показывает, что биологически активные вещества и иммуноглобулины в сыворотке молока стимулируют лимфоидные ткани по всем изучаемым показателям. С другой стороны, снижение количества нейтрофилов по сравнению с контрольными группами свидетельствует об улучшении общего состояния организма. Это связано с тем, что сыворотка молока богата противовоспалительными веществами в организме. Снижение показателей эозинофилов и базофилов в опытных группах свидетельствует о положительном влиянии сыворотки молока на иммунобиологическую активность. Появление базофилов указывает на широкий спектр иммунной активности. Динамика этих показателей указывает на улучшение иммунологических показателей, активацию иммунитета и повышение физиологической устойчивости организма в целом в результате добавления сыворотки молока в рацион кур-бройлеров Росс 308.

**Заключение.** За счет обогащения рациона молочной сыворотки бройлерных кур сырым протеином, сырым жиром, углеводами, аминокислотами, витаминами и минеральными веществами, а также иммуностимулирующих свойств молочной сыворотки, она активизирует процессы гемопоэза в организме бройлерных кур Росс 308, оказывает положительное влияние на морфологические и иммунологические показатели крови, положительно влияет на их здоровье и темпы роста. Это открывает возможности использования сыворотки молока в качестве эффективной натуральной кормовой добавки для создания прочной кормовой базы в птицеводстве.

**Конкретный вклад авторов:** Кузиев М.С. разработал идею научного исследования и оформил текст статьи. Эргашев Д.У. провел эксперименты. Саъдуллаева М.М. провела статистическую обработку полученных данных.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Голушко В.М., Линкевич С.А. (2006) Молочная сыворотка в кормлении сельскохозяйственных животных // Молочная промышленность. - С. 98-100. [Golushko V.M., Linkevich S.A. (2006) Ferma hayvonlarini boqishda sut zardobi // Молочная промышленность. - С. 98-100.]
2. Филатов Ю.Н., Гунст Т.М. (2006) Использование творожной сыворотки // Молочная промышленность. No 6. - С. 97. [Filatov Yu.N., Gunst T.M. (2006) Tvorog zardobidan foydalanish // Молочная промышленность. No 6. - С. 97.]
3. Astaneh IY, Chamani M, Mousavi SN, Sadeghi AA, Afshar MA: (2018) Effects of stocking density on performance and immunity in Ross 308 broiler chickens. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 24 (4): 483-489, 2018. DOI: 10.9775/kvfd.2017.18869
4. Гурсиева М.С. (2020) Морфологический и биохимический состав крови цыплят-бройлеров // Вестник научных трудов молодых ученых, аспирантов и магистрантов ФГБОУ ВО Горский ГАУ. - Ташкент, - С. 36-39. [Gursieva M.S. (2020) Broyler sincaplari qonining morfologik va biokimyoviy tarkibi // Gorskiy nomidagi Federal davlat byudjetli oliy ta'lim muassasasi yosh olimlar, aspirantlar va magistrantlarning ilmiy ishlari byulleteni. - Ташкент, - С. 36-39.. ]
5. Damien Legroux, Laura Kersten et ell. (2025) Evaluation of blood erythroid parameters in male broiler chickens (Ross 308) with the Sysmex XT- 2000iV and Sysmex XN- 1000V analyzers and determination of hematological reference intervals obtained with manual and instrumental methods. *Veterinary Clinical Pathology*. 2025;54: 106–119. DOI: 10.1111/vcp.70009
6. Shariatmadari, F.; Forbes, J. (2005) The effectiveness of feeding whey in feed and/or drinking water to broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 2005 , 46 , 498–505.
7. Bai, K., Huang, Q., Zhang, J., et al. (2021). *Dietary whey protein enhances immune response and intestinal development in broiler chickens*. *Poultry Science*, 100(5), 101063. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101063>

8. Das, B., Desai, M., Bhagora, N.J. *et al.* (2025) Influence of fermented whey protein fractions on the growth performance, haematological traits, serum biochemistry, faecal and caeca microbiota of broiler chickens. *Sci Rep* **15**, 23678 <https://doi.org/10.1038/s41598-025-09289-0>.
9. Nawab, A., Ibtisham, F., Khan, R. U., *et al.* (2020). *Effect of milk by-products on performance and immunity of broilers*. World's Poultry Science Journal, 76(2), 223–233. <https://doi.org/10.1017/S0043933920000243>
10. Patel, I. (2015) New trends in the nutraceutical application of whey protein and its derivatives. *J. Food Sci. Technol.* 2015, 52, 6847–6858
11. Ratriyanto, A., & Mosenthin, R. (2022). *Feeding value and health-promoting effects of whey proteins in poultry*. Animal Feed Science and Technology, 285, 115253. <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds-ci.2022.115253>
12. Sylvie F. Gauthier, Yves Pouliot, Diane Saint-Sauveur. (2006) Immunomodulatory peptides obtained by the enzymatic hydrolysis of whey proteins. International Dairy Journal. Volume 16, Issue 11, November 2006, Pages 1315-1323. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2006.06.014>.
13. Vasileios Tsiouris, Michael G. Kontominas, Giorgos Filioussis, Sofia Chalvatzi, Ilias Giannenas, Georgios Papadopoulos, Konstantinos Koutoulis, Paschalis Fortomaris and Ioanna Georgopoulou. (2020) The Effect of Whey on Performance, Gut Health and Bone Morphology Parameters in Broiler Chicks. *Foods* 2020, 9(5), 588; <https://doi.org/10.3390/foods9050588>
14. Каплунова В.Н. (2020) Морфологические и функциональные показатели почек и крови гусей в постнатальном онтогенезе: дис...канд. биол. наук. // - Ташкент, - 136 с. [Kaplunova V.N. (2020) Postnatal ontogenezdagi g'ozlarning buyraklari va qonining morfologik va funktsional parametrlari": diss... biologiya fanlari nomzodi. // - Toshkent, - 136 b.]
15. Черкасова В.В., Зеленский К.С. (2009) Гематологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров в онтогенезе // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - No 4. - С. 60-63. [Cherkassova V.V., Zelenskiy K.S. (2009) Broiler tuyoqlari qonining ontogenezdagi gematologik va biokimyoviy parametrlari // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - No 4. - С. 60-63.]

#### BROYLER TOVUQLARI QONINING MORFOLOGIK KO'RSATGICHLARIGA SUT ZARDOBI BILAN BOYITILGAN OZUQALAR TASIRI

M.S. Kuziev, D.U. Ergashev, M.M. Sa'dullayeva

Mazkur maqolada broyler tovuqlari ozuqa ratsionining ozuqaviylik xossa va xususiyatlari, energetik qiymati, yedrimliliği, to'yimli moddalar hazmlanishi kabi ko'rsatgichlarni oshirish maqsadida sut zardobi bilan boyitilgan ozuqalarning Ross 308 zotiga mansub broyler tovuqlari qonidagi eritrotsitlar (RBC), gemoglobin (HGB), gematokrit (HCT), leykotsitlar (WBC), trombositlar (PLT) miqdori, eritrotsit ko'rsatgichlari (MCV, MCH, MCHC), trombosit ko'rsatgichlari (MPV, PDW), leykosit ko'rsatgichlari (Neut, Lym, Mon, Eos, Bas) ni yaxshilanishi bo'yicha ilmiy natijalar keltirilgan bo'lib, ushbu natijalar Ross 308 broyler tovuqlari uchun optimal oziqlantirish strategiyasini ishlab chiqishda muhim ilmiy-amaliy asos bo'lib xizmat qiladi.

**Kalit so'zlar:** broyler tovuq, Ross 308, sut zardobi, RBC, HGB, HCT, WBC, PLT, MCV, MCH, MCHC, MPV, PDW, Neut, Lym, Mon, Eos, Bas.

#### INFLUENCE OF FEED ENRICHED WITH MILK SERUM ON THE MORPHOLOGICAL INDICATORS OF BLOOD OF BROILER CHICKENS

M.S. Kuziev, D.U. Ergashev, M.M. Sa'dullayeva

This article presents scientific results on improving the content of erythrocytes (RBC), hemoglobin (HGB), hematocrit (HCT), leukocytes (WBC), platelets (PLT), erythrocyte indicators (MCV, MCH, MCHC), platelet indicators (MPV, PDW), leukocyte indicators (Neut, Lym, Mon, Eos, Bas) in the blood of broiler chickens of the Ross 308 breed, which serve as an important scientific and practical basis for developing an optimal feeding strategy for broiler chickens of the Ross 308 breed.

**Keywords:** broiler chicken, Ross 308, milk serum, RBC, HGB, HCT, WBC, PLT, MCV, MCH, MCHC, MPV, PDW, Neut, Lym, Mon, Eos, Bas.

## ФИЗИОЛОГИЯ

ВЗАИМОСВЯЗИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ И ПРОДУКТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ  
ГИССАРСКИХ ОВЕЦ С ЭКОЛОГИЧЕСКИМИ ФАКТОРАМИ

Х.Б. ЮНУСОВ, Д.Д. АЛИЕВ, Б.С. ОЧИЛОВ

Самаркандский государственный университет ветеринарной медицины, животноводства  
и биотехнологий

Автор для переписки: obehzod6@gmail.com

В статье изучены физиологическое состояние и показатели продуктивности овец породы гиссар под влиянием природно-климатических условий и факторов окружающей среды. В ходе исследования анализировались такие факторы, как температура, влажность, экологическое состояние кормовой базы, биогеохимическая среда, изменения качества пастбищ, а также активность сердечно-сосудистой системы, температура тела, частота дыхания и биохимические показатели крови. Результаты показали, что овцы породы гиссар обладают высокой экологической адаптивностью, однако некоторые климатические факторы, такие как жара, стрессовые воздействия и низкое качество пастбищ, а также содержание минеральных веществ и коэффициенты роста ягнят, анализировались с учетом экологической среды.

**Ключевые слова:** Гиссар, агробιοценоз, сперма, аргинин, простатин, охота, верблюжья колючка.

**Введение.** Гиссарские овцы являются одной из самых древних, высокопродуктивных и в высокой степени адаптированных к климатическим условиям пород Центральной Азии. Они широко разводятся в Сурхандарьинской, Кашкадарьинской, Самаркандской и Джизакской областях Узбекистана. Экологическая адаптивность, высокая мясная продуктивность, выносливость и эффективное воспроизводство гиссарских овец в различных агробιοценозах свидетельствуют об их важном значении для животноводства [1;2]. Предгорные и пустынные территории существенно различаются по экологическим условиям, что оказывает влияние на продуктивность, рост и половую активность гиссарских маток. Несмотря на высокую экологическую приспособляемость гиссарских овец, их воспроизводство во многом зависит от стабильности климатических условий, качества кормовых ресурсов, водообеспеченности, состояния пастбищ и сезонной динамики фито массы. Поскольку указанные факторы в пустынных и предгорных зонах различаются, показатели воспроизводства гиссарских овец также существенно отличаются [3]. Разнообразие и обилие кормов способствуют более раннему наступлению репродуктивного периода у гиссарских овец, устойчивому развитию плода и повышению выживаемости ягнят при окоте. Достаточная водообеспеченность обеспечивает оптимальный уровень лактации, интенсивный рост ягнят и стабильное течение беременности. Экологические условия пустынных и предгорных зон оказывают различное влияние на процессы воспроизводства гиссарских овец. Экстремальный климат пустынных территорий, дефицит кормов и недостаток воды ограничивают репродуктивные процессы [4]. В то же время умеренный климат предгорных зон, богатая кормовая база и достаточная водообеспеченность создают оптимальные условия для воспроизводства и роста гиссарских овец. Гиссарские овцы относятся к местным породам, хорошо приспособленным к климатическим условиям Узбекистана; при этом эффективность их племенного использования во многом зависит от интенсивности проявления половой охоты у маток [5]. К биологически активным веществам относятся ферменты, гормоны, витамины, антибиотики, стимуляторы роста (ауксины, гиббереллины, кинины), гербициды, инсектициды, биогенные стимуляторы (содержащие некоторые дикарбоновые и гуминовые кислоты, аргинин, аммиак, простагландины, микроэлементы), пирогены и другие вещества [6]. Развитие современного животноводства невозможно представить без биоиндустриальных технологий, а также без использования сбалансированных рационов кормления сельскохозяйственных животных с применением биохимических добавок, особенно природного происхождения. Эти добавки рассматриваются как активные

компоненты биологического обогащения кормов, способствуют балансированию рационов, повышают экологическую устойчивость животных и уровень их продуктивности, а также за счёт своего воздействия продлевают срок хозяйственного использования [7].

В пустынных районах высокая температура воздуха замедляет половой цикл у маток, снижает процент оплодотворяемости, ухудшает качество спермы у баранов и повышает риск падежа в период охота. Недостаток питательных веществ приводит к снижению живой массы гиссарских овец, уменьшению показателей оплодотворяемости у самок, снижению массы ягнят при рождении и задержке наступления репродуктивного периода. Низкий уровень водообеспеченности вызывает ослабление лактации, замедление роста ягнят и ухудшение развития плода. Предгорные зоны характеризуются наиболее благоприятным микроклиматом для гиссарских овец. В таких условиях половой цикл протекает регулярно, показатели оплодотворяемости у маток выше, а у баранов отмечаются более высокая половая активность и лучшее качество спермы [8]. Наиболее широко используемыми пробиотиками в животноводстве являются молочнокислые бактерии и штаммы *Bifidobacterium*. Кроме того, инфекции желудочно-кишечного тракта относятся к числу основных глобальных проблем в животноводстве и оказывают значительное негативное экономическое воздействие на хозяйства. В связи с этим в последние 30 лет большое внимание уделяется применению кормовых добавок для оздоровления животных путём модуляции кишечной микробиоты. В животноводстве для профилактики и лечения инфекционных заболеваний широко применяются антибиотики; однако их неконтролируемое использование приводит к развитию антибиотикорезистентности, что оказывает долгосрочное негативное влияние на организм человека, а также способствует нарушению кишечной микрофлоры [9].

**Материалы и методы.** Для проведения исследований были отобраны гиссарские овцы со средней живой массой, разводимые в различных экологических зонах, на основе которых были сформированы контрольные и опытные группы. Количественные показатели биологически активных веществ в крови определяли общепринятыми биологическими методами. Полученные результаты подвергались биометрическому анализу по методике Н. А. Плохинского.

**Результаты и обсуждение.** Индивидуальное развитие подопытных животных на различных этапах исследования изучалось путём анализа первичных физиологических показателей, отражающих состояние функциональных систем организма и его морфофизиологические особенности, таких как живая масса, частота сердечных сокращений, частота дыхания и температура тела. Современные технологии содержания и выращивания продуктивных животных, а также сохранение основных физиологических характеристик организма в различных экологических условиях непосредственно связаны с изменениями физиологических процессов.

Физиологические показатели организма – живая масса, частота сердечных сокращений, дыхание и температура тела – при анализе у подопытных животных показали, что при кормлении на естественных пастбищах, при кормлении с дополнительным введением янтака (верблюжьей колючки), а также при кормлении с дополнительным введением пробиотиков существенных различий по большинству физиологических показателей не выявлено. Установлено, что все показатели находились практически на одном уровне. Это свидетельствует о том, что использование сельскохозяйственных животных с учётом физиологических стадий организма, а также их применение для получения продукции и проведения экспериментальных работ полностью оправдано и даёт положительный эффект.

Согласно данным таблицы, увеличение интенсивности проявления половой охоты у опытных овец является одним из важных биологических процессов и имеет значение для сохранения породных качеств и повышения продуктивности животных. Физиологический процесс размножения животных осуществляется только при достижении половой зрелости и полном развитии половых органов.

Анализируя наступление половой охоты у опытных овец, установлено, что животные, получавшие кормление на естественных пастбищах с добавлением пробиотиков, в одном цикле на 100 % вошли в состояние охоты и были осеменены.

Это свидетельствует о нормальном морфологическом, физиологическом и этиологическом состоянии опытных животных. При кормлении естественными кормами с добавлением янтака (корма «янтак») установлено, что 88 % опытных овец вошли в охоту в одном цикле, а 12 % – во втором цикле.

**Нормативные физиологические показатели подопытных маток  
(матки среднего возраста 2–3 года)**

Экспериментальные группы		Количество голов (n)	Физиологические показатели организма подопытных животных			
			Живая масса	Частота сердечных сокращений	Частота дыхания	Температура тела
Контрольная группа	Кормление в условиях естественных пастбищ	12	67,3±1,45	75,2±0,45	23,8±2,58	36,5±1,47
Опытная группа	Кормление на естественных пастбищах с дополнительным скармливанием янтака	12	68,6±0,78	74,8±1,47	24,5±0,84	36,7±2,36
	Кормление на естественных пастбищах с дополнительным скармливанием пробиотика	12	67,2±0,84	75,2±1,87	23,8±0,08	36,4±0,57
<b>Итого</b>			67,7±1,02	75,0±1,26	24,0±1,16	36,5±1,46

Время наступления половой охоты у опытных животных варьировало и зависело от их питания, условий содержания и климатических факторов. Как отмечается в литературе, современное животноводство невозможно представить без биоиндустриальных технологий и сбалансированных рационов, включая использование биологически активных кормовых добавок. Применение таких добавок способствует более полной реализации продуктивного потенциала животных.

Разница между овцами, получавшими кормление с добавлением пробиотиков, и овцами, получавшими кормление с добавлением янтака, составила в среднем 12 -15 %. Янтак относится к семейству бобовых, является многолетней сорной травой. Все виды янтака представляют собой качественный корм для жвачных и используются для силоса и кормовой муки. Поскольку янтак богат белком и минералами, различия между овцами, получавшими его, и овцами, получавшими пробиотики, практически отсутствуют.

При кормлении на естественных пастбищах интенсивность половой охоты у опытных животных составила: в первом цикле – 66,0 %, во втором – 16,0 %, в третьем – 16,0 %. Анализ показал, что при пастбищном содержании организм животных испытывает дефицит энергетических веществ.

**Заключение.** Результаты исследований показывают, что физиологическая устойчивость и продуктивность овец зависят от экологических условий. Для повышения продуктивности при уходе за животными необходимо учитывать экологические факторы, рационально использовать пастбища и обогащать корма пробиотическими добавками. Это позволяет разработать практические рекомендации, направленные на повышение продуктивности.

**Вклад авторов:** Ю.Х.Б. – руководитель исследования, проанализировал данные и подготовил черновой вариант рукописи; А.Д.Д. – проанализировал данные и подготовил черновой вариант рукописи; О.Б.С. – провел экспериментальные исследования. Все авторы внесли вклад в доработку рукописи и утвердили представленную версию.

Таблица 2

**еФизиологические показатели интенсивности прихода в охоту подопытных самок,  
выращиваемых в предгорных экологических зонах**

Экспериментальные группы	Количе- ство голов (n)	Интенсивность прихода в охоту											
		01/X - 07/X		08/X - 15/X		16/X - 23/X		24/X - 31/X		1/XI и выше			
		p	%	p	%	p	%	p	%	p	%		
Контрольная группа	12	2	16,7	3	25	3	25	2	16,7	2	16,7	0	0
		4	33,3	4	33,3	3	25	1	8,3	-	0	0	0
Опытные группы	12	4	33,3	6	50	2	16,7	-	0	-	0	-	0
		4	33,3	6	50	2	16,7	-	0	-	0	-	0

Таблица 3

**Физиологические показатели интенсивности прихода в охоту подопытных самок,  
выращиваемых в степных экологических зонах**

Экспериментальные группы	Количе- ство голов (n)	Интенсивность прихода в охоту											
		01/X - 07/X		08/X - 15/X		16/X - 23/X		24/X - 31/X		1/XI и выше			
		p	%	p	%	p	%	p	%	p	%		
Контрольная группа	12	1	8,3	3	25	3	25	2	16,7	3	25	0	0
		3	25	3	25	4	33,3	1	8,3	1	8,3	0	0
Опытные группы	12	3	25	5	41,7	2	16,7	2	16,7	1	8,3	1	8,3
		3	25	5	41,7	2	16,7	2	16,7	1	8,3	1	8,3

## ЛИТЕРАТУРА

1. У.Х. Арипов. Научно обоснованные испытания типов и повышение эффективности селекции каракульских овец. Автореф. дисс. докт. с.-х. наук. Дубровцы, Московская область, 1990 г. // U.X. Aripov Nauchno obosnovannye ispitaniya tipov i povisheniye effektivnosti seleksi karakulskix oves. Dok. diss. s.-x. nauk. Dubrovtsy, Moskovskaya oblast, 1990 y.
2. Д.Д. Алиев. Физиологические аспекты повышения продуктивности каракульских овец сурхандарьинского сура. Автореф. дисс. докт. биол. наук. Ташкент, 2021. // D.D. Aliyev. Fiziologicheski aspekti povisheniya produktivnosti karakulskix oves surxandarinskogo sura. Avtoref. Diss. Dokr. Biol. nauk. Toshkent, 2021.
3. А. Эргашев, Т. Эргашев. Основы экологии // Ташкент, Вып. 2. 2008. С.78-84. // A. Ergashev, T. Ergashev. Osnovy ekologii. – Tashkent, vyp. 2, 2008. S. 78–84.
4. Л.И. Светкова, М.И. Алексеев, Б.П. Усанов и др. «Экология». Москва: издательство АСВ, СПб: Химиздат, 1999. Учебник для ВТУЗов.
5. З. Иззатуллаев, Х. Ботиров, Б. Файзуллаев. «Основы экологии» // Ташкент, Вып. 1. 2000. С.245-251. Z. Izatullayev, X. Botirov, B. Fayzullayev «Osnove ekologii» Tashkent, Vyp. 1. 2000. S.245-251.
6. М.С. Ашуров, Ю.С. Шакирова. Экологические проблемы и стратегические направления экологического менеджмента при их решении. Монография. Под редакцией д.ф.н., профессора М.А. Икрамов. Фергана: Al-Ferganus, 2021. – 160 – 168 с. M.S. Ashurova, Yu.S. Shakirova. Ekologicheskie problemi i strotigicheskaya napravleniya ekologicheskogo menedjmenta pri ix pesheni. Monografiya. Pod redasey d.f.n., professora M.A. Ikramov. Fergana: Al-Ferganus, 2021. – 160 – 168 s.
7. М.Б. Абраматов, Х.К. Зокиров. Экология и охрана природы // Ташкент, Вып. 2. 2004. С.210 - 215. // M.B. Abramatomov, X.K. Zokirov. Ekologiya i okhrana prirody. – Tashkent, vyp. 2, 2004. S. 210–215.
8. Ж.Л. Чапман, М.Ж. Рейсс, Ecology: Principles and Applications // 1998. – Vol.245. – P. 264–278.
9. К.Л. Пандиан. Проблемы окружающей среды, экологические риски и глобальные изменения. ALP Books, 2009. // K.L. Pandian. Problemi okrujayushey sredi, ekologicheskie riski i globalhie izmeneniya. ALP Books, 2009.

## XISORI QO‘YLARNING FIZIOLOGIK VA MAHSULDORLIK KO‘RSATKICHLARINI EKOLOGIK OMILLAR BILAN BOG‘LIQLIGI

Kh.B. Yunusov, D.D. Aliyev, B.S. O‘chilov

Maqolada tabiiy-iqlim sharoiti hamda ekologik omillarning taʼsiri xisori qoʻy zotining fiziologik holati va mahsuldorlik koʻrsatkichlari oʻrganilgan. Tadqiqot davomida harorat, namlik, yem-xashak bazasining ekologik holati, biogeoximik muhit, yaylov sifatining oʻzgarishi kabi omillar qoʻylarning yurak-qon tizimi faolligi, tana harorati, nafas olish, qonning biokimyoviy koʻrsatkichlari tahlil qilindi. Natijalar xisori qoʻylarining yuqori ekologik moslashuvchanlikka ega ekanini, ammo ayrim iqlim sharoitlari issiqliq, stress omillar, past sifatli yaylov, mineral moddalar, qoʻzilarni oʻsish koeffitsientlari ekologik muhitlar boʻyicha tahlil qilingan.

**Kalit soʻzlar:** hisor, agrobiotsenoz, sperma, arginin, prostatin, ov, yantoq.

## INTERDEPENDENCE BETWEEN THE PHYSIOLOGICAL AND PRODUCTIVE PARAMETERS OF HISSAR SHEEP AND ENVIRONMENTAL FACTORS

Kh. B. Yunusov, D.D. Aliyev, B.S. Ochilov

The physiological state and productivity indicators of the Hissar sheep breed under the influence of natural and climatic conditions and environmental factors were studied. During the study, factors such as temperature, humidity, ecological state of the forage base, biogeochemical environment, and changes in pasture quality were analyzed, as well as the activity of the cardiovascular system, body temperature, respiration, and biochemical indicators of blood. The results showed that Hissar sheep have high ecological adaptability, but some climatic conditions, such as heat, stress factors, low-quality pasture, mineral substances, and lamb growth coefficients were analyzed according to ecological environments.

**Keywords:** hissar, agrobiocenosis, sperm, arginine, prostatin, hunting, camel thorn.

## МИКРОБИОЛОГИЯ

АНТИМИКРОБНАЯ И ПРЕБИОТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПОЛИСАХАРИДОВ,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КОЖУРЫ ДЫНИ *MELO MILL*С.Д. БАЛТАБАЕВА<sup>1</sup>, Н.Р. МУХАМЕДОВ<sup>2</sup>, А.Ш. ЯШИНОВ<sup>2</sup>, Д.А. АМИРСАИДОВА<sup>3</sup>,  
Г.А. БЕКМУРАДОВА<sup>4</sup>, А.М. АСРОРОВ<sup>2</sup>, Г.Е. БЕРДИМБЕТОВА<sup>1</sup> Ш.Я. МИРЗААХМЕДОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Каракалпакский научно-исследовательский институт естественных наук Каракалпакского отделения Академии наук Республики Узбекистан;

<sup>2</sup>Институт Биоорганической химии АН РУз;

<sup>3</sup>Институт микробиологии АН РУз

Автор для переписки: baltabaeva.sarbinaz@mail.ru

В данном исследовании изучены антимикробные и пребиотические свойства полисахаридов, выделенных из кожуры дыни сорта *Melo Mill* побочного продукта сельскохозяйственного производства, который часто утилизируется при переработке фруктов.

Водорастворимые полисахариды были экстрагированы, очищены и охарактеризованы с точки зрения их биологической активности. Полисахариды не проявили антимикробной активности против девяти тест-штаммов, однако продемонстрировали выраженный пребиотический потенциал. Почти во всех исследованных штаммах 1%-ная концентрация полисахаридов показала более высокую пребиотическую активность, чем коммерческий инулин, в то время как увеличение концентрации до 2% не усилило эффект. Среди изученных молочнокислых бактерий три штамма – *L. brevis* shor, *L. rhamnosus* 925 и *L. paracasei* G/S 4.2 – показали эффективное сбраживание исследуемых полисахаридов со скоростью, сопоставимой с традиционными стимуляторами, с эффективностью 114%, 113% и 120% соответственно.

Полученные результаты подтверждают, что полисахариды кожуры дыни являются перспективным пребиотическим субстратом, способным усиливать активность пробиотических бактерий и способствовать здоровью кишечника. Исследование подчеркивает потенциал кожуры дыни как ценного и устойчивого сырья для разработки функциональных пищевых продуктов.

**Ключевые слова:** *Melo Mill*, кожура дыни, водорастворимые полисахариды, пребиотическая активность, моносахариды, антимикробная активность.

**Введение.** При переработке фруктов и овощей образуется значительное количество отходов, составляющих до 25–30% от общей массы сырья [1]. В этом контексте особый интерес представляют полисахариды, выделенные из кожуры фруктов – источника низкомолекулярных биологически активных соединений [2]. Установлено, что кожура и семена дыни содержат широкий спектр биоактивных веществ, включая флавоноиды, фенольные кислоты [3], каротиноиды ( $\alpha$ - и  $\beta$ -каротин,  $\beta$ -криптоксантин), жирные кислоты (олеиновую, линолевую, пальмитиновую), а также другие компоненты, обладающие потенциальной пользой для здоровья человека [4]. Полисахариды, выделенные из кожуры дыни, проявляют разнообразные биологические свойства, включая антиоксидантное, противовоспалительное, противоопухолевое, противоязвенное, противовирусное и иммуномодулирующее действие [5]. Кроме того, кожура дыни является одним из основных видов твёрдых пищевых отходов, выбрасываемых в окружающую среду [6].

Полисахариды способствуют поддержанию микробиологических процессов ферментации в организме человека, особенно с участием пробиотических бактерий кишечника, стимулируя при этом выработку полезных метаболитов, таких как органические кислоты. Наличие питательных и биологически активных веществ в кожуре дыни позволяет рассматривать её как перспективный источник пребиотических соединений [7]. Установлено, что кожура дыни эффективно ферментируется пробиотическими микроорганизмами, такими как *Lactobacillus brevis*, *L. paracasei* и *L. rhamnosus*, в качестве углеводного субстрата. Процесс ферментации сопровождается образованием коротко-

цепочечных жирных кислот, указывающих на высокую пребиотическую ценность кожуры дыни. Использование кожуры в качестве источника углеводов приводит к активному росту лактобактерий рода *Lactobacillus*, что служит дополнительным подтверждением её пребиотического потенциала [8].

Целью данной работы является изучение антимикробных свойств и пребиотического потенциала полисахаридов, выделенных из кожуры дыни *Melo Mill.*

#### Материалы и методы исследования.

В качестве сырья для выделения полисахаридов использовали кожуру дыни сорта *Melo Mill.* собранную в августе 2024 года на территории Ходжейлийского района Республики Каракалпакстан. Сырьё предварительно очищали от загрязнений, после чего высушивали на открытом воздухе

Для предварительного обезжиривания кожуры дыни (100 г) проводили экстракцию хлороформом на водяной бане при температуре 61,5 °С с использованием обратного холодильника. Процедуру повторяли трижды при соотношении сырья к растворителю 1:5 и 1:3. Обезжиренную кожуру высушивали на воздухе при комнатной температуре. Для удаления низкомолекулярных амфифильных примесей обезжиренное сырьё (95,261 г) дополнительно экстрагировали 82%-ным этанолом (1:5). Высушивание проводили при комнатной температуре до полного исчезновения запаха растворителя [9].

Из обезжиренного сырья экстрагировали водорастворимые полисахариды на водяной бане при 95 °С с обратным холодильником в течение трёх циклов. Соотношение сырья к воде составляло последовательно 1:20, 1:15 и 1:15. Продолжительность каждого цикла – 2 часа. Полученные экстракты объединяли и концентрировали на роторном испарителе при 50 °С до одной пятой исходного объёма. Концентрированный раствор четырежды осаждали 96%-ным этилацетатом, затем фильтровали. Образовавшийся осадок промывали этанолом и сушили при комнатной температуре до постоянной массы [10].

Удаление белков из водорастворимой фракции полисахаридов осуществляли методом Севага, согласно описанию, *Tang* и соавт. [9]. Для этого готовили пятикратный объём смеси хлороформа и *n*-бутанола (CHCl<sub>3</sub>-*n*BuOH) в массовом соотношении 4:1, которую добавляли к раствору полисахаридов. Полученную смесь перемешивали в течение 1 часа, после чего центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 10 минут для осаждения белковых компонентов. Процедуру повторяли дважды. Затем супернатант подвергали диализу (MwCO 3500 D, диализатор MD44 мм) в течение нескольких суток, после чего образец лиофилизировали до получения сухого полисахаридного порошка.

Антимикробную активность водорастворимой фракции полисахаридов оценивали методом диффузии в агар. В качестве тест-объектов использовали следующие штаммы микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* и гриб *Candida albicans*. Кроме того, применялись стандартные штаммы из Американской коллекции типовых культур (ATCC): *E. coli* ATCC 8739, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *S. aureus* ATCC 25923 и *C. albicans* ATCC 10231. Все штаммы были предоставлены коллекцией Института микробиологии Академии наук Республики Узбекистан. Условия культивирования микроорганизмов приведены в таблице 1.

Таблица 1

#### Условия культивирования тест-микроорганизмов для приготовления посевного материала

Микроорганизмы	Питательная среда	Температура инкубации	Время инкубации посевов
<i>Escherichia coli</i>	Питательный агар (Himedia), Mueller Hinton agar (Himedia)	37±2 °С	18-24 часов
<i>Escherichia coli</i> ATCC8739			
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027			
<i>Bacillus subtilis</i>	Питательный агар (Himedia), Сабуро-агар (Himedia)	28±2 °С	24-36 часов
<i>Candida albicans</i>			
<i>Candida albicans</i> ATCC10231			

Стимулирующее действие полисахарида, исследованного в данной работе, на рост и развитие молочнокислых бактерий определяли по методу, описанному М. Раныа и соавт. [11]. В работе использовали следующие бактерии: *Lactobacillus brevis* 29, *L. brevis shor*, *L. brevis achic*, *L. paracasei* Г/С 4.2, *L. paracasei* ИС 3-II, *L. paracasei* Г/С5, *L. rhamnosus* 925, *L. rhamnosus* 32p, *L. rhamnosus* LGG. Для исследования указанные штаммы дважды пересеивали на питательную среду MRS и выдерживали при температуре 37°C в течение 18–20 часов. Далее бактерии отделяли центрифугированием при 4500 об/мин в течение 20 минут. Полученный осадок дважды промывали холодной дистиллированной водой. Затем готовили бактериальную суспензию по стандарту Макфарланда № 1.0 ( $3 \times 10^8$  КОЕ/мл). 200 мкл суспензии клеток центрифугировали при 4500 об/мин в течение 10 минут, затем добавляли среду MRS без глюкозы и 1% или 2% растворы исследуемого полисахарида. В качестве контроля использовали среду MRS с глюкозой в концентрации 1% и 2%. В качестве эталонного вещества использовали коммерческий инулин. Чашки инкубировали при 37°C в течение 48 часов. Рост бактерий оценивали через 48 часов инкубации, измеряя мутность при 620 нм с помощью микропланшетного ридера. Процент роста каждого штамма сравнивали с результатами, полученными в среде MRS с добавлением глюкозы, и рост в этой среде принимали за 100% (уравнение 1).

**Пребиотическая активность = ОП 620 нм MRS без глюкозы × 100% / ОП 620 нм MRS с глюкозой**

### Результаты исследования и их обсуждение.

Наши результаты по химическому составу различных типов полисахаридов, выделенных из кожуры дыни, указывают на различное содержание моносахаридных единиц в их составе. Глюкоза, арабиноза и галактоза были обнаружены в схожих массовых соотношениях в водорастворимой фракции полисахаридов; рамноза и манноза в этой фракции не были обнаружены. Tang и соавторы [9] обнаружили, что полисахариды, выделенные из семян тыквы, портулака, сафлора, кориандра и рапса, проявляют антимикробную активность. Они продемонстрировали антимикробную активность против *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis* и метициллин-резистентных штаммов *S. aureus* в различных концентрациях, что было определено методом диффузии в агар. Однако изученный в данной работе полисахаридный образец не проявил антимикробной активности ни в одном из девяти протестированных образцов. Контрольное соединение, цефазолин, проявило резистентность во всех случаях (таблица 2).

Таблица 2

### Антимикробная активность полисахарида

№	Исследуемые тест штаммы	Зона подавления тест штамма, мм <sup>1</sup>			
		Концентрация полисахарида			Антибиотик цефазолин
		0,5 %	1 %	2 %	
1	<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	24
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	-
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	
4	<i>Candida albicans</i>	-	-	-	28
5	<i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	29
6	<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	-	-	-	25 (б)
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC9027	-	-	-	-
8	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	-	-	-	26
9	<i>Candida albicans</i> ATCC10231	-	-	-	-

Примечание: <sup>1</sup>Значения являются средним показателем из трех измерений.

б – бактериостатическая активность

Таким образом, мы установили, что водорастворимые полисахариды из кожуры дыни не обладают антимикробной активностью.

Полученные в данной работе полисахариды показали высокий пребиотический потенциал со всеми использованными штаммами бактерий. Эти результаты согласуются с данными для полисахаридов, полученных из *Lepista sordida* [10]. Высокий пребиотический потенциал полисахаридов из кожуры дыни был связан с образованием большого количества уксусной и масляной кислот после её ферментации пробиотическими бактериями. Было обнаружено, что полисахариды из кожуры дыни и арбуза обладают высоким пребиотическим потенциалом [7]. Однако в другой работе молотая мука из кожуры дыни не проявила пребиотической активности [12]. Основываясь на этих результатах, мы полагаем, что водорастворимые полисахариды являются наиболее потенциальными пребиотиками среди биополимеров, содержащихся в кожуре дыни.

Таблица 3

### Стимуляция роста молочнокислых бактерий полисахаридом

Молочнокислые бактерии	% стимуляции роста			
	Полисахарид 1% (дыня)	Inulin 1%	Полисахарид 2% (дыня)	Inulin 2%
<i>L. brevis 29</i>	96	95	62	85
<i>L. brevis shor</i>	114	103	71	98
<i>L. brevis achic</i>	95	93	62	102
<i>L. rhamnosus 925</i>	113	93	95	87
<i>L. rhamnosus 32p</i>	92	91	98	89
<i>L. rhamnosus LGG</i>	93	86	88	89
<i>L. paracasei ИС 3-11</i>	77	89	77	91
<i>L. paracasei Г/С5</i>	97	91	69	80
<i>L. paracasei Г/С 4.2</i>	120	96	52	98

Полученные результаты подтверждают, что кожура дыни обладает пребиотическим потенциалом, так как стимулирует активность пробиотических микроорганизмов и способствует выработке короткоцепочечных жирных кислот, благоприятных для здоровья человека. Установлено, что 1%-ный раствор полисахаридов продемонстрировал высокую пребиотическую активность. В то же время 2%-ный раствор показал менее выраженный эффект, что, вероятно, связано с повышенной вязкостью раствора, затрудняющей подвижность бактерий. 1% раствор полисахарида из кожуры дыни продемонстрировал более высокую пребиотическую активность по сравнению с инулином в той же дозировке. Практически во всех случаях 1% раствор полисахарида из кожуры дыни продемонстрировал незначительно или значительно более высокую пребиотическую активность. Исключение составил рост штамма *L. paracasei ИС 3-11*.

У трёх штаммов бактерий, включая *L. brevis shor*; *L. rhamnosus 925* и *L. paracasei Г/С 4.2*, полисахарид из кожуры проявил более высокую активность, чем глюкоза; скорость их роста составила 114, 113 и 120% соответственно. Пребиотики – это соединения, которые не всасываются и не гидролизуются в пищеварительной системе человека, обычно богатые пищевыми волокнами, которые достигают толстого кишечника и служат селективным субстратом для полезных бактерий [13]. Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые расщепляют эти сложные углеводы, включая пребиотики, и считаются полезными для организма человека. Одно из положительных эффектов пребиотиков на здоровье человека связано с уменьшением количества патогенных бактерий в толстом кишечнике и формированием кислой среды, в которой образуются короткоцепочечные жирные кислоты, включая уксусную, пропионовую и масляную кислоты [14]. Короткоцепочечные жирные кислоты участвуют в росте клеток кишечника, поддержании эпителия кишечника и образовании слоя слизи, защищающего клетки толстой кишки. Кроме того, они снижают рН, тем самым ограничивая рост патогенных микроорганизмов и улучшая усвоение различных питательных веществ [15].

#### Заключение.

Водорастворимая фракция полисахаридов не проявила антимикробной активности в отношении девяти исследованных штаммов микроорганизмов. В то же время установлено, что её пребиотическая активность превышает аналогичный показатель у коммерческого инулина, демонстрируя более высокие уровни накопления глюкозы. Для более полного понимания механизма действия и потенци-

ального применения полученных веществ необходимы дальнейшие исследования.

**Конкретный вклад авторов.** Балтабаева С., Мухамедов Н. выделили и очистили полисахариды из кожуры дыни. Амирсаидова Д., Бекмуродова Г. определили антимикробную и пребиотическую активность. Балтабаева С., Асроров А. М. подготовили и отредактировали черновик. Бердимбетова Г., Яшинов А. спланировали работу. Руководил работой Мирзаахмедов Ш.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках проектов AL-8624042434-R2 и Ф-ФА-359-2021 Министерства высшего образования науки и инновации РУз.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. N. A. Sagar, S. Pareek, S. Sharma, E. M. Yahia, M.G. Lobo. Fruit and vegetable waste: Bioactive compounds, their extraction, and possible utilization // *Compr Rev Food Sci Food Saf.*, 17, 512–531 (2018); <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12330>
2. S. Ben-Othman, I. Jödu, R. Bhat. Bioactives from agri-food wastes: Present insights and future challenges // *Molecules*, 25, 510 (2020); <https://doi.org/10.3390/molecules25030510>
3. P. M. Rolim, G. P. Fidelis, C. E. Padilha, E. S. Santos, H. A. Rocha, G. R. Macedo, J. Braz. Phenolic profile and antioxidant activity from peels and seeds of melon (*Cucumis melo* L. var. *reticulatus*) and their antiproliferative effect in cancer cells // *Med Biol Res.*, 51, 6069 (2018, a); <https://doi.org/10.1590/1414-431X20176069>
4. A. Zeb. Phenolic profile and antioxidant activity of melon (*Cucumis melo* L.) seeds from Pakistan // *Foods*, 5, 67 (2016); <https://doi.org/10.3390/foods5040067>
5. F. Golbargi, S. M. T. Gharibzahedi, A. Zoghi, M. Mohammadi, R. Hashemifesharaki. Microwave-assisted extraction of arabinan-rich pectic polysaccharides from melon peels: Optimization, purification, bioactivity, and techno-functionality // *Carbohydr Polym.*, 256, 117522 (2021) <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117522>
6. P. M. Rolim, L. M. Jucá Seabra, G. R. de Macedo. Melon by-products: Biopotential in human health and food processing // *Food Rev Int.*, 36, 1: 1-24 (2019); <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1613662>
7. C. M. Pérez-Juárez, J. D. García Ortiz, A. C. Flores-Gallegos, S. M. Herrera-Gonzalez, M. Cruz-Requena, A. Sáenz-Galindo, R. Rodríguez-Herrera, *Bioact Carbohydr Diet Fibre.*, 32, Article 100428 (2024); <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2024.100428>
8. Astudillo, O. Rubilar, G. Briceno, H. Schalchli. Advances in agroindustrial waste as a substrate for obtaining eco-friendly microbial products // *Sustainability*. 15, 3467 (2023); <https://doi.org/10.3390/su15043467>
9. W. Tang, D. Liu, J.Y. Yin, S. P. Nie. Consecutive and progressive purification of food-derived natural polysaccharide: Based on material, extraction process and crude polysaccharide // *Trends Food Sci Technol.*, 99, 76–87 (2020) <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.015>
10. Z. Liu, F. Pi, X. Guo, S. Yu. Characterization of the structural and emulsifying properties of sugar beet pectins obtained by sequential extraction // *Food Hydrocoll.*, 88, 31–42 (2019); <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.09.036>
11. M. Panya, C. Kaewraemruaen, P. Saenwang, P. Pimboon. Evaluation of Prebiotic Potential of Crude Polysaccharides Extracted from Wild *Lentinus polychrous* and *Lentinus squarrosulus* and Their Application for a Formulation of a Novel Lyophilized Synbiotic // *Foods*. 13, Article 287 (2024). <https://doi.org/10.3390/foods13020287>
12. P. Rolim, G. Macedo, E. Santos, *J Food Nutr Res.*, 58, (4):315–327 (2018, b); <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>
13. H. D. Holscher Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota // *Gut Microbes.*, 8, 172–184 (2017); <https://doi.org/10.1080/19490976.2017.1290756>
14. V. T. Pham, N. Seifert, N. Richard, D. Raederstorff, R. E. Steinert, K. Prudence, M. H. Mohajeri, The effects of fermentation products of prebiotic fibres on gut barrier and immune functions in vitro // *PeerJ.*, 6, Article e5288 (2018); <https://doi.org/10.7717/peerj.5288>
15. K. Venema, P van den Abbeele. Experimental models of the gut microbiome // *Best Pract Res Clin Gastroenterol.*, 27, 115–126 (2013) <https://doi.org/10.1016/j.bpg.2013.03.002>

MELO MILL ҚОВУН ПЎЧОҒИДАН АЖРАТИЛГАН ПОЛИСАХАРИДЛАРНИНГ АНТИМИКРОБ  
ВА ПРЕБИОТИК ФАОЛЛИГИ

С.Д. Балтабаева, Н.Р. Мухамедов, А.Ш. Яшинов, Д.А. Амирсaidова, Г.А. Бекмурaдoвa, А.М. Асрoрoв,  
Г.Е. Бердимбетoвa, Ш.Я. Мирзaахмедoв

Ушбу тадқиқотда қовуннинг *Melo Mill* навиға мансуб пўчоғидан ажратилган полисахаридларнинг антимикроб ва пребиотик хусусиятлари ўрганилди. Бу манба қишлоқ хўжалигидаги чиқинди маҳсулот бўлиб, мева қайта ишлаш жараёнида кўпинча ташлаб юборилади.

Тадқиқот жараёнида сувда эрувчи полисахаридлар ажратиб олинди, тозаланди ва уларнинг биологик фаоллиги таҳлил қилинди. Полисахаридлар тўққизта тест-штаммга нисбатан антимикроб фаоллик намоён этади, аммо кучли пребиотик потенциал кўрсатди. Деярли барча текширилган штаммларда 1% полисахарид концентрацияси тижоратдаги инулинга нисбатан юқори пребиотик фаоллик намоён қилди. Аммо концентрацияни 2% гача ошириш таъсирни кучайтормади. Тадқиқ этилган сут кислота бактериялари ичида учта штамм – *L. brevis shor*, *L. rhamnosus 925* ва *L. paracasei G/S 4.2* – синовдан ўтказилган полисахаридларни самарали ферментация қилди, уларнинг самарадорлиги мос равишда 114%, 113% ва 120% ни ташкил қилди, бу эса анъанавий стимуляторлар билан таққосланади.

Олинган натижалар қовун пўчоғидан ажратилган полисахаридларнинг пребиотик бактериялар фаоллигини ошириш ва ичак саломатлигига ҳисса қўшишга қодир истиқболли пребиотик субстрат эканлигини тасдиқлайди. Шунингдек, ушбу тадқиқот қовун пўчоғининг функционал озиқ-овқат маҳсулотлар ишлаб чиқариш учун қимматли ва барқарор манба сифатидаги имкониятини намоён этади.

**Калим сўзлар:** *Melo Mill*, қовун пўчоғи, сувда эрувчан полисахаридлар, пребиотик фаоллик, моносахаридлар, антимикроб фаоллик.

ANTIMICROBIAL AND PREBIOTIC ACTIVITIES OF POLYSACCHARIDES ISOLATED FROM  
MELO MILL MELON PEEL

S.D. Baltabaeva, N.R. Mukhamedov, A.SH. Yashinov, D.A. Amirsaidova, G.A. Bekmuradova, A.M. Asrorov,  
G.E. Berdimbetova, Sh.Ya. Mirzaahmedov

This study investigates the antimicrobial and prebiotic properties of polysaccharides extracted from *Melo mill* melon peel, an agricultural by-product that is often discarded during fruit processing. We extracted water-soluble polysaccharides from this source, purified them, and studied their biological activity. Polysaccharides did not exhibit antimicrobial activity against nine test strains, but they demonstrated a strong prebiotic potential. In almost all tested strains, a 1% polysaccharide concentration showed greater prebiotic activity than commercial inulin. However, increasing the concentration to 2% did not enhance the effect. Among all the lactic acid bacteria studied, three strains, including *L. brevis shor*, *L. rhamnosus 925*, and *L. paracasei G/S 4.2*, showed efficient fermentation of the tested polysaccharides at rates comparable to those of conventional stimulants, with efficacies of 114, 113, and 120%, respectively. These results confirm that melon peel polysaccharides are a promising prebiotic substrate that can enhance the activity of probiotic bacteria and contribute to gut health. This study highlights the potential of melon peel as a valuable and sustainable source for developing functional food products.

**Keywords:** *Melo mill*, melon peel, water-soluble polysaccharides, prebiotic activity, monosaccharides, antimicrobial activity.

## МУНДАРИЖА

Kalamush jigari mitoxondriyalari bioenergetik parametrlarining substratga bog‘liq bo‘lgan farqlari.....	3
F.R. Rustamova, A.Y. Baev	
Metabolik sindrom sharoitida oksidant-antioksidant tizimlar holati va tuzatish usullari .....	9
M.X. Shukurlayeva, R.A. Sabirova, M.A. Mustafakulov	
Mavrak ( <i>Salvia officinalis</i> ) ekstraktining U937 hujayralarida hujayra hajm boshqarilishi va hajmga bog‘liq anion kanallari faolligiga ta’siri.....	13
M.M. Mansurov, D.D. Fayziyev, S.A. Xojiboyev, O.J. Xamidova, G.V. Maksimcheva, R.Sh. Kurbannazarova, P.G. Merzlyak, R.Z. Sabirov	
Ajratib olingan yurak qisqarish faolligining adrenergik boshqarilishi .....	20
N.D. Oljayev, P.G. Merzlyak, R.Sh. Kurbannazarova, M.Z. Maksudov, I.F Abdullayev, R.Z. Sabirov	
Broyler tovuqlari qonining morfologik ko‘rsatkichlariga sut zardobi bilan boyitilgan ozuqalar tasiri .....	26
M.S. Kuziev, D.U. Ergashev, M.M. Sa’dullayeva	
Xisori qo‘ylarning fiziologik va mahsuldorlik ko‘rsatkichlarini ekologik omillar bilan bog‘liqligi.....	32
Kh.B. Yunusov, D.D. Aliyev, B.S. O‘chilov	
<i>Melo Mill</i> қовун пўчоғидан ажратилган полисахаридларнинг антимиқроб ва пребиотик фаоллиги	37
С.Д. Балтабаева, Н.Р. Мухамедов, А.Ш. Яшинов, Д.А. Амирсаидова, Г.А. Бекмурадова, А.М. Асроров, Г.Е. Бердимбетова, Ш.Я. Мирзаахмедов	

## СОДЕРЖАНИЕ

Субстрат-зависимые различия биоэнергетических параметров митохондрий печени крысы.....	3
Ф.Р. Рустамова, А.Ю. Баев	
Состояние оксидантной и антиоксидантной систем при метаболическом синдроме и пути коррекции.....	9
М.Х. Шукурлаева, Р.А. Сабирова, М.А. Мустафакулов	
Влияния экстракта шалфея ( <i>Salvia officinalis</i> ) на регуляцию объёма и активность объём-зависимого анионного канала в клетках U937.....	13
М.М. Мансуров, О.Ж. Хамидова, Д.Д. Файзиев, С.А. Хожибоев, Г.В. Максимчева, Р.Ш. Курбанназарова, П.Г. Мерзляк, Р.З. Сабиров	
Адренергический контроль сократительной активности изолированного перфузируемого сердца	20
Н.Д. Олжаев, П.Г. Мерзляк, Р.Ш. Курбанназарова, М.З. Максудов, И.Ф. Абдуллаев, Р.З. Сабиров	
Влияние кормов, обогащенных молочной сывороткой, на морфологические показатели крови кур-бройлеров .....	26
М.С. Кузиев, Д.У. Эргашев, М. М. Саъдуллаева	
Взаимосвязи физиологических и продуктивных показателей гиссарских овец с экологическими факторами.....	32
Х.Б. Юнусов, Д.Д. Алиев, Б.С. Очиллов	
Антимикробная и пребиотическая активность полисахаридов, выделенных из кожуры дыни <i>Melo Mill</i> .....	37
С.Д. Балтабаева, Н.Р. Мухамедов, А.Ш. Яшинов, Д.А. Амирсаидова, Г.А. Бекмурадова, А.М. Асроров, Г.Е. Бердимбетова, Ш.Я. Мирзаахмедов	

## CONTENTS

Substrate dependent differences in bioenergetical parameters of rat liver mitochondria .....	3
F.R. Rustamova, A.Y. Baev	
Status of oxidative and antioxidant systems in metabolic syndrome and correction strategies .....	9
M.X. Shukurlayeva, R.A. Sabirova, M.A. Mustafakulov	
Effect of sage ( <i>Salvia officinalis</i> ) extract on cell volume regulation and the activity of volume-regulated anion channel .....	13
M.M. Mansurov, D.D. Fayziyev, S.A. Xojiboyev, O.J. Xamidova, G.V. Maksimcheva, R.Sh. Kurbannazarova, P.G. Merzlyak, R.Z. Sabirov	
Adrenergic control of contractile activity of isolated perfused heart .....	20
N.D. Oljaev, P.G. Merzlyak, R.Sh. Kurbannazarova, M.Z. Maksudov, I.F. Abdullaev, R.Z. Sabirov	
Influence of feed enriched with milk serum on the morphological indicators of blood of broiler chickens.....	26
M.S. Kuziev, D.U. Ergashev, M.M. Sa'dullayeva	
Interdependence between the physiological and productive parameters of Hissar sheep and environmental factors.....	32
Kh. B. Yunusov, D.D. Aliyev, B.S. Ochilov	
Antimicrobial and prebiotic activities of polysaccharides isolated from <i>Melo Mill</i> melon peel .....	37
S.D. Baltabaeva, N.R. Mukhamedov, A.SH. Yashinov, D.A. Amirsaidova, G.A. Bekmuradova, A.M. Asrorov, G.E. Berdimbetova, Sh.Ya. Mirzaahmedov	

Правилами оформления статей для Узбекского биологического журнала  
и статьями вышедших номеров можно ознакомиться на сайте: <http://www.ubj.academy.uz>

Журнал зарегистрирован Агентством по печати и информации  
Республики Узбекистан 22.12.2006  
Регистрационный номер 0052.

Телефон редакции журнала (+998) 90 915 13 73.

Адрес редакции:  
100047, Ташкент, ул. Я. Гулямова, 70.

На обложке:

КЎНДАЛАНГ ЙЎЛЛИ БЎРИТИШ ИЛОН  
Поперечнополосатый волкозуб  
Northern (Barred) Wolf Snake  
*Lycodon striatus* (Schaw, 1802)  
*ssp. bicolor* (Nikolsky, 1903)

Формат 60×84 1/8. Гарнитура Times. Бумага «Бизнес». Тираж 68.  
Усл. печ. л. 2,9. Уч. изд.л. 3,5.

Минитипография АН РУз  
100047. Ташкент, ул. Я. Гулямова, 70.