

ЎЗБЕКИСТОН RESPUBLIKASI FANLAR АКАДЕМИЯСИ
АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

**ЎЗБЕКИСТОН
БИОЛОГИЯ
ЖУРНАЛИ**

4

2025

**УЗБЕКСКИЙ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ**

Издается с января 1957 г. по 6 номеров в год

ТАШКЕНТ – 2025

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ УЗБЕКСКОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ЖУРНАЛА

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

**ВЛИЯНИЕ ДИАЗОИМИННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ГОССИПОЛА
ПОЛИФЕНОЛОВ YаN-1 И YаN-2 НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ
И СОДЕРЖАНИЕ МАЛОНДИАЛЬДЕГИДА В МИТОХОНДРИЯХ СЕРДЦА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МИОКАРДИТЕ**А.Д. РАХИМОВ¹, М.К. ПОЗИЛОВ², Н.Х. ЯКУБОВА³, М.Б. ГАФУРОВ³, М.С. ДЖУМАЕВА¹¹Институт биофизики и биохимии при НУУз, Ташкент, Узбекистан;²Национальный университет Узбекистана, Ташкент, Узбекистан;³Институт Биоорганической химии АН РУз, Ташкент, Узбекистан

Автор для переписки: rahimovakmaljon243@gmail.com

В данной статье изучено влияние диазоиминопроизводных госсипола YаN-1 и YаN-2 на перекисное окисление липидов (ПОЛ) и содержание малонового диальдегида (МДА) в митохондриях сердца крыс, индуцированное Fe²⁺/цитратом при экспериментальном миокардите вызванным адреналином. Взятые для эксперимента самцы белых беспородных крыс были разделены на V групп. Крысам III группы с экспериментальным миокардитом вводили полифенол YаN-1 (20 мг/кг/сут), а IV группе животных – YаN-2 (10 мг/кг/сут) и V группе – кверцетин флавонол (20 мг/кг/сут) перорально в течение 10 дней. Полифенолы YаN-1, YаN-2 и флавонол кверцетин оказывали эффективное ингибирующее действие на процесс ПОЛ и содержание МДА в митохондриях сердца в условиях адреналин-индуцированного миокардита.

Ключевые слова: сердце, митохондрия, ПОЛ, МДА, YаN-1, YаN-2.

Введение. Известно, что в развитии и патогенезе различных патологических состояний важное место занимает усиление процесса пероксидного окисления липидов (ПОЛ), при котором нарушается структура клеточных мембран. ПОЛ – это процесс окислительной деградации липидов, вызываемый главным образом свободными радикалами, в результате которого образуются высокореактивные молекулы полиненасыщенных жирных кислот. В состав мембран митохондрий входят два основных фосфолипида (фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин) полиненасыщенных жирных кислот, которые составляют около 80% общего количества фосфолипидов [1]. Липиды в митохондриях необходимы для обеспечения целостности и функциональной активности мембраны [2; 3]. Митохондрии, являясь «энергетическим центром» клетки, являются основным клеточным источником активных форм кислорода (АФК). Окислительный стресс возникает при снижении активности ферментативной и неферментативной антиоксидантной системы из-за избыточной продукции АФК дыхательной цепи. Полиненасыщенные жирные кислоты в митохондриальной мембране являются основной мишенью атаки АФК, которая может привести к пероксидному окислению липидов (ПОЛ). ПОЛ в митохондриальной мембране может нарушать целостность и функцию митохондрий, что в конечном итоге приводит к ее дисфункции. Многие распространенные онкологические, сердечно-сосудистые, диабетические и нейродегенеративные заболевания связаны с повышенной интенсивностью процесса ПОЛ митохондриальной мембраны [4].

В результате ПОЛ митохондриальные мембраны теряют барьерные свойства мембраны, увеличивается проницаемость для Ca²⁺ и других ионов, что приводит к отрыву процесса окислительного фосфорилирования (ОФ), т. е. нарушению синтеза АТФ. В конечном итоге клетки испытывают «энергетический дефицит», то есть недостаток АТФ. В результате ПОЛ в мембране митохондрий наблюдается снижение её потенциала, увеличение проницаемости мегапоры и усиление образования свободных радикалов в дыхательной цепи [5]. Свободные радикалы усиливают процесс ПОЛ, что сопровождается развитием оксидативного стресса, нарушением функции клетки, а также структуры и свойств биологических мембран [6; 7].

Установлено, что 95-98% кислорода, потребляемого организмом, используется для выработки энергии и окислительного катаболизма субстратов, то есть для реакций окислительного фосфорилирования. Лишь 5% от общего объема потребляемого кислорода идет на образование свободных радикалов: супероксидного анион-радикала, перекиси водорода и гидроксильного радикала. В физиологических условиях установлено, что АФК необходимы для синтеза ряда жизненно важных ферментов, функционирования иммунной системы и активации факторов транскрипции, участвующих в экспрессии генов. Важной характеристикой свободных радикалов является их способность инициировать процесс ПОЛ. ПОЛ представляет собой физиологический процесс, который постоянно возникает в клеточных мембранах и имеет цепной, свободнорадикальный механизм. Увеличение количества свободных радикалов в клетках связано с дисфункцией дыхательной цепи митохондрий. Процессы ПОЛ в мембранах могут изменять функциональное состояние ионных транспортных систем, расположенных на внутренней и внешней мембранах митохондрий. На мембранах митохондрий существуют модуляторы, которые способны тормозить процессы ПОЛ или нейтрализовать свободные радикалы [8]. Особенно сильной антиоксидантной активностью обладают полифенольные соединения, которые, как установлено, ингибируют процесс ПОЛ в мембранах. Однако до настоящего времени влияние полифенольных соединений, производных диазоимино-госсиопола YaN-1 и YaN-2, на процессы ПОЛ в мембранах митохондрий, вызванные Fe²⁺/цитратом, и на уровень малонового диальдегида (МДА) в условиях *in vivo* не изучалось.

Цель работы. Сравнительное изучение влияния диазоимино-производных госсипола YaN-1 и YaN-2, являющихся полифенолами, на процессы ПОЛ и содержание МДА в митохондриях сердца крыс при экспериментальном миокардите, вызванном адреналином, в условиях *in vivo*, с использованием флавонола кверцетина.

Методы исследования. Содержание животных: В экспериментах на белых крысах-самцах массой 200-220 г использовались Международная Хельсинкская декларация, Совет международных организаций медицинских наук (CIOMS; 1985) и Институт биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана имени Мирзо Улугбека «В научных исследованиях в соответствии с положением о биоэтике использования лабораторных животных» (отчет от 22.02.2019). Крыс обезвреживают под легким эфирным наркозом и декапотируют в стандартных лабораторных условиях (20-24°C; естественный солнечный свет; влажность 65%, наличие пищи и воды). Митохондрии сердца крыс были выделены методом дифференциального центрифугирования. Состав раствора среды выделения был следующим: 250 мМ сахараза, 10 мМ трис-хлорид, 1 мМ ЭДТА, pH 7,4. Для изучения процесса ПОЛ в мембранах митохондрий использовалась система Fe²⁺/цитрат. Под действием этой системы мембрана митохондрий теряет барьерную функцию, в результате чего происходит процесс ПОЛ. Состав инкубационной среды для изучения ПОЛ в мембране митохондрий был следующим: сахараза – 125 мМ, KCl – 65 мМ, трис-HCl – 10 мМ, pH 7,2; концентрации: FeSO₄ – 50 мкМ, цитрат – 2 мМ; содержание белка в митохондриях составило 0,3-0,4 мг/мл.

Продукты ПОЛ были выделены с участием тиобарбитуратной кислоты (ТБК). Реакция была остановлена добавлением 0,220 мл 70% трихлоруксусной кислоты в инкубационную среду. После этого митохондриальная суспензия была подвергнута центрифугированию в течение 15 минут при скорости 4000 оборотов в минуту. Затем 2 мл жидкости с верхней части осадка было отобрано и добавлено 1 мл 75% тиобарбитуратной кислоты (ТБК). В контрольную пробирку добавлено 2 мл воды и 1 мл ТБК. Смесь была инкубирована в водяной бане в течение 30 минут. После охлаждения, изменение оптической плотности было измерено на длине волны 532 нм. Для определения количества МДА было использована формула с молярным коэффициентом экстинкции ($\epsilon=1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$): $\text{нмоль МДА/мг белка} = D/1,56 \times 30$.

Экспериментальная группа животных была разделена на 5 групп: I группа (контрольная, здоровые), II группа (экспериментальный миокардит), III группа (экспериментальный миокардит + YaN-1), IV группа (экспериментальный миокардит + YaN-2), V группа (экспериментальный миокардит + кверцетин). Для создания модели экспериментального миокардита у крыс, животным II, III, IV и V групп в течение 7 дней вводили подкожно 0,1% раствор адреналина в дозе 0,1 мг/100 г массы тела. Для выявления патофизиологических изменений в функции сердца у крыс с экспериментальным миокардитом была проведена электрокардиограмма.

После подтверждения образования экспериментального миокардита у опытных животных, III группе животных было введено 20 мг/кг полифенола YaN-1, группе IV – 10 мг/кг полифенола YaN-2, а группе V – 20 мг/кг флавонола кверцетина в течение 10 дней перорально. Затем у животных была проведена повторная электрокардиограмма. После выявления признаков восстановления на кардиограммах, митохондрии сердца крыс были выделены методом дифференциального центрифугирования. Процесс перекисного окисления липидов (ПОЛ) в митохондриях сердца крыс был определен фотометрическим методом, путем регистрации изменения оптической плотности на спектрофотометре V-5000 при длине волны 540 нм в 3 мл клеток. Полученные результаты были статистически обработаны и графически изображены с помощью программы OriginPro 8.6 (Microsoft, США). Сравнения между пятью экспериментальными группами проводились с использованием t-теста Стьюдента. При этом значения $*P < 0,05$ и $**P < 0,01$ указывают на статистическую достоверность.

Полученные результаты. В качестве индуктора индукции ПОЛ митохондриальной мембраны сердца была использована система Fe^{2+} /цитрат. В присутствии Fe^{2+} /цитрата в инкубационной среде происходит ускорение процесса ПОЛ и наблюдается набухание митохондриальной мембраны. В экспериментах процесс ПОЛ, индуцированный Fe^{2+} /цитратом в инкубационной среде, т.е. скорость набухания митохондрий была принята 100% (контроль). Согласно полученным результатам, у животных II группы, названной экспериментальной моделью миокардита, наблюдалось резкое увеличение количества митохондрий сердца по сравнению с контролем (I группа) (рис. 1 и 2).

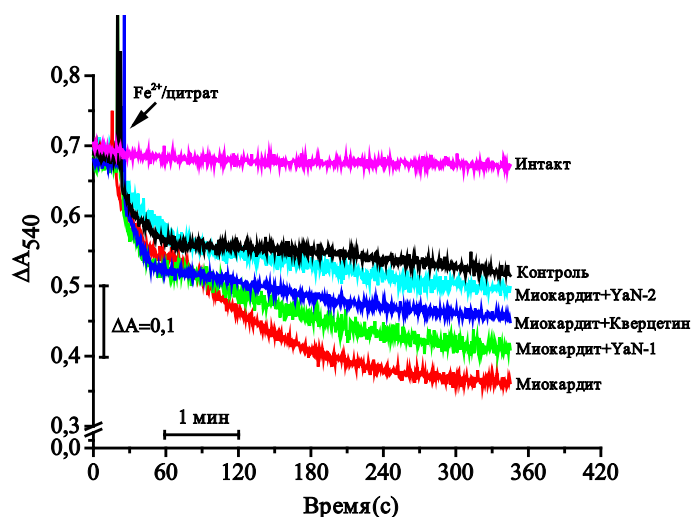


Рис. 1. Влияние диазоиминопроизводных госсипола полифенолов YaN-1 и YaN-2 и флавонола кверцетина на процесс ПОЛ в мембране митохондрий сердца при экспериментальном миокардите, зарегистрированное спектрофотометрически.

Введение крысам 0,1 мл 0,1% раствора адреналина в течение 7 дней привело к усилению процесса ПОЛ в митохондриальной мембране их сердца. Крысам III группы с экспериментальным миокардитом была проведена фармакотерапия полифенолом диазоиминопроизводного госсипола YaN-1 в дозе 20 мг/кг, а крысам IV группы – полифенола диазоимино госсипола YaN-2 10 мг/кг, крысам V группы – флавонола кверцетина 20 мг/кг в течение 10 дней, а затем митохондрии сердца были выделены. Крысам III, IV и V групп, у которых был вызван экспериментальный миокардит, была проведена фармакотерапия диазоиминопроизводными госсипола YaN-1, YaN-2 и флавонолом кверцетина и при этом наблюдалось что процесс ПОЛ в митохондриальной мембраны сердца по сравнению со II контрольной группой ингибировался на $18,4 \pm 2,1\%$, $42 \pm 1,7\%$ и $31,6 \pm 1,9\%$, соответственно (рис. 2).

Таким образом, установлено, что процесс ПОЛ мембраны митохондрий сердца крысы усиливается в условиях миокардита, вызванным адреналином. Процесс ПОЛ, возникающий в результате дисфункции митохондрий сердца, определяется образованием продуктов цепного цикла. Уровень одного из таких продуктов ПОЛ, МДА, также может повышаться при миокардите. Чтобы это выяснить, в следующем эксперименте было установлено, что определенное количество МДА – продукта ПОЛ – образуется в митохондриях сердца крысы в условиях адреналин-индуцированного миокардита.

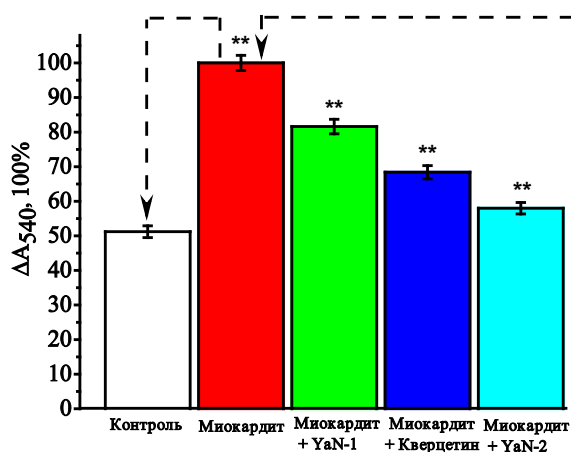


Рис. 2. Влияние диазоиминопроизводных госсипола полифенолов YaN-1 и YaN-2 и флавонола кверцетина на процесс ПОЛ в мембране митохондрий сердца при экспериментальном миокардите (**P<0,01; n=5).

МДА, продукт ПОЛ, может повышаться в митохондриях сердца при экспериментальном миокардите. Количество МДА в митохондриях сердца крыс I контрольной группы составляло $3,12 \pm 0,076$ нмоль/мин мг белка. Установлено, что количество МДА в митохондриях сердца крыс II группы, названной экспериментальной моделью миокардита, составляло $3,93 \pm 0,096$ нмоль/мин мг белка и увеличивалось на 25,96% по сравнению с контролем. Следовательно, в условиях экспериментального миокардита увеличение продуктов ПОЛ митохондриальной мембраны вызывает повреждение липопротеинов, белков, потерю активности ферментов и приводит к структурным и функциональным изменениям в мембране. Эту мембранную дисфункцию, связанную с ПОЛ, можно фармакологически скорректировать с помощью полифенолов.

Крысам III группы с экспериментальным миокардитом вводили YaN-1, IV группе полифенол YaN-2 и флавонол кверцетина V группе животных в течение 10 дней и выделяли митохондрии сердца. Согласно полученным результатам, содержание МДА в митохондриях сердца крыс составило $3,59 \pm 0,084$ нмоль/мин мг белка в III группе, $3,29 \pm 0,06$ нмоль/мин мг белка в IV группе и $3,46 \pm 0,058$ нмоль/мин мг белка в V группе, соответственно. Установлено, что показатели восстановились у III группы на 10,9%, IV группы – на 20,5%, V группы – на 15,1% соответственно, по сравнению с показателями II группы (экспериментальный миокардит) (рис. 3).

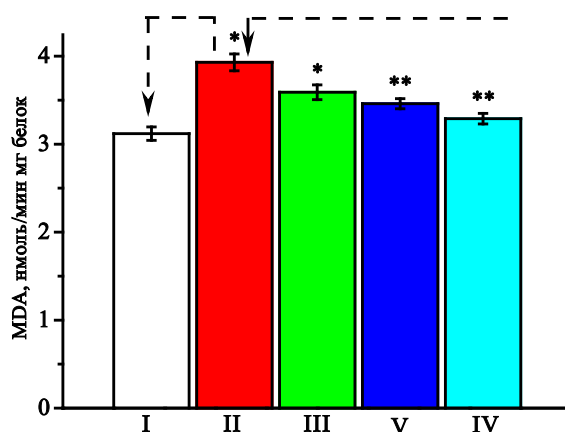


Рис. 3. Влияние диазоиминопроизводных госсипола полифенолов YaN-1 и YaN-2 и флавонола кверцетина на образование продукта ПОЛ МДА в митохондриях сердца крыс при экспериментальном миокардите. (I группа – контрольная; II группа – экспериментальный миокардит; III группа – экспериментальный миокардит + YaN-1; IV группа – экспериментальный миокардит + YaN-2, V группа – экспериментальный миокардит + кверцетин. *P<0,05; **P<0,01; n=5).

Заключение. По результатам экспериментов можно сделать вывод, что патологическое состояние приводит к нарушению целостности и функции митохондриальной мембраны, в результате чего в митохондриальной мембране наблюдается процесс ПОЛ и образуется продукт МДА. При экспериментальном миокардите усиление процесса ПОЛ в мембране митохондрий может быть обусловлено перекисным окислением липидов, расположенных во внутренней и наружной мембране, генерацией свободных радикалов, изменением гомеостаза ионов, снижением мембранного потенциала. Таким образом, диазоиминопроизводные госсипола YaN-1 и YaN-2 эффективно ингибировали процесс ПОЛ и количество МДА, усиливали антиоксидантную систему митохондрий сердца у крыс с экспериментальным миокардитом.

Полученные результаты показали, что выбранное диазоиминопроизводное госсипола YaN-1 является слабым по сравнению с кверцетином, а полифенол YaN-2 активен в ингибировании ПОЛ митохондрий сердца крыс и восстановлении мембранной дисфункции в условиях миокардита по сравнению с существующим кардиопротектором кверцетином.

Данное исследование поддержано грантом F-OT-2021-465 Министерства инновационного развития Республики Узбекистан.

Конкретный вклад авторов: Рахимов А.Д. и Джумаева М.С. проводили эксперименты, анализировали данные и написали статью, Позиллов М.К. руководил экспериментами, редактировал данные и статью, Якубова Н.Х. и Гафуров М.Б. синтезировали вещества.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bindoli A. (1988) Lipid peroxidation in mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*. 5(4), 247-261. DOI.org/10.1016/0891-5849(88)90018-4.
2. Colquhoun A. Lipids. (2010) mitochondria and cell death: implications in neuro-oncology. *Molecular neurobiology*. 42(1):76-88. DOI: 10.1007/s12035-010-8134-4.
3. Horvath SE, and Daum G. (2013) Lipids of mitochondria. *Prog Lipid Res*. 52(4): 590-614. DOI: 10.1016/j.plipres.2013.07.002
4. Xiao M., Zhong H., Xia L., Tao Y., Yin H. (2017) Pathophysiology of Mitochondrial Lipid Oxidation: Role of 4-Hydroxynonenal (4-HNE) and other Bioactive Lipids in Mitochondria. *Free Radical Biology and Medicine*. 101: 316-327. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2017.04.363
5. Addabbo F., Montagnani M., Goligorsky M.S. (2009) Mitochondria and Reactive Oxygen Species. *Hypertension*. 53(6): 885–892. DOI: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.130054.
6. Migliaccio E., Giorgio M., Mele S., Pelicci G., Reboldi P., Pandolfi P.P., Lanfrancone L., Pelicci P.G. (1999) The p66shc adaptor protein controls oxidative stress response and life span in mammals. *Nature*. 402: 309–313. DOI: 10.1038/46311
7. Узбеков М.Г. (2014) Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. *Социальная и клиническая психиатрия*. 24(4): 92–101. // Uzbekov M.G. (2014) Perekisnoe okislenie lipidov i antioksidantnie sistemi pri psixicheskix zabolevaniyax. *Sotsial'naya i klinicheskaya psixiatriya*. 24(4): 92–101.
8. Гаврилова О.А. (2017) Особенности процесса перекисного окисления липидов в норме и при некоторых патологических состояниях у детей (обзор литературы). *Acta biomedica scientifica* 2(4): 15-22. DOI.org/10.12737/article_59fad50f919f18.64819381. // Gavrilova O.A. (2017) Osobennosti protsessa perekisnogo okisleniya lipidov v norme i pri nekotorig patologicheskix sostoyaniyax u detey (obzor literaturi). *Acta biomedica scientifica*. 2(4): 15-22. DOI.org/10.12737/article_59fad50f919f18.64819381.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛ МИОКАРДИТДА ЮРАК МИТОХОНДРИЯСИНИНГ ЛИПИДЛАРНИНГ ПЕРЕКИСЛИ ОКСИДЛАНИШ ЖАРАЁНИГА ВА МАЛОН ДИАЛДЕГИД МИҚДОРИГА ГОССИПОЛ ДИАЗОИМИНО ҲОСИЛАЛАРИ YаN-1 ВА YаN-2 ПОЛИФЕНОЛЛАРИНИНГ ТАЪСИРИ

А.Д. Рахимов, М.К. Позилов, Н.Х. Якубова, М.Б. Гафуров, М.С. Жумаева

Ушбу мақолада адреналин билан чақирилган экспериментал миокардитда каламуш юрак митохондриясининг Fe²⁺/цитрат ёрдамида чақирилган липидларнинг перекисли оксидланиш (ЛПО) жараёнига ва малон диалдегид (МДА) миқдорида госсипол диазоимино ҳосилалари YаN-1 ва YаN-2 полифенолларининг таъсири ўрганилган. Тажриба учун олинган эркак оқ зотсиз каламушлар V гуруҳга бўлинди. Экспериментлар миокардит чақирилган III гуруҳ каламушларга YаN-1 полифенолидан (20 мг/кг/сутка), IV гуруҳга YаN-2 (10 мг/кг/сутка) ва V гуруҳга кверцетин флавонолидан (20 мг/кг/сутка) 10 кун перорал юборилган. Адреналин билан чақирилган миокардит шароитида юрак митохондриясининг ЛПО жараёнига ва МДА миқдорида YаN-1, YаN-2 полифеноллари ҳамда кверцетин флавоноли самарали ингибирловчи таъсир этди.

Калит сўзлар: юрак, митохондрия, миокардит, ЛПО, МДА, YаN-1, YаN-2.

EFFECTS OF GOSSYPOL DIAZOIMINO DERIVATIVES YAN-1 AND YAN-2 POLYPHENOLS ON LIPID PEROXIDATION AND MALONDIALDEHYDE LEVELS IN CARDIAC MITOCHONDRIA DURING EXPERIMENTAL MYOCARDITIS

A.D. Raximov, M.K. Pozilov, N.X. Yakubova, M.B. Gafurov, M.S. Jumaeva

This article examines the effects of gossypol diazoimino derivatives, YаN-1 and YаN-2, on lipid peroxidation (LPO) processes and malondialdehyde (MDA) levels in rat cardiac mitochondria under Fe²⁺/citrate-induced oxidative stress during adrenaline-induced experimental myocarditis. Male white rats used in the experiment were divided into group V. The experiments included the oral administration of YаN-1 polyphenol (20 mg/kg/day) to group III rats, YаN-2 polyphenol (10 mg/kg/day) to group IV, and quercetin flavonol (20 mg/kg/day) to group V for 10 days following the induction of myocarditis. The polyphenols YаN-1, YаN-2, and the flavonol quercetin demonstrated significant inhibitory effects on the lipid peroxidation (LPO) process and malondialdehyde (MDA) levels in cardiac mitochondria under conditions of adrenaline-induced myocarditis.

Keywords: heart, mitochondria, myocarditis, LPO, MDA, YаN-1, YаN-2.

ВЛИЯНИЕ ЗАСОЛЕНИЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОРТОВ ХЛОПЧАТНИКА

К.М. КУЛДОШОВА^{1,2}, А.А. АХУНОВ¹, А.М. АНАРОВА^{1,3}

¹Институт биоорганической химии АН РУз;

²Национальный университет Узбекистана;

³Ташкентский химико-технологический институт

Автор для переписки: zarabarlos90@gmail.com

В данной работе представлены результаты исследования биохимических и морфологических реакций проростков двух сортов хлопчатника *G. barbadense* (Сурхан-103) и *G. hirsutum* (С-6580) – на хлоридное (NaCl) и сульфатное (Na₂SO₄) засоление в различных концентрациях. Результаты показали, что сорт С-6580 обладает высокой толерантностью к солевому стрессу, что выражается в увеличении активности пероксидазы и относительной стабильности уровня H₂O₂. Морфологический анализ подтвердил эти различия: у чувствительного сорта наблюдались укорочение корней, пожелтение листьев и ослабление роста, в то время как устойчивый сорт сохранял более стабильные параметры.

Ключевые слова: засоления, хлопчатника, активные формы кислорода, малонового диальдегида, пролин, пероксидаза, *Gossypium barbadense*, *Gossypium hirsutum*.

Введение. В настоящее время засоление почв является одной из наиболее актуальных агроэкологических проблем в мировом масштабе. В различных регионах Узбекистана широко распространены хлоридные, сульфатные и карбонатные типы засоления, что приводит к деградации земель, резкому снижению урожайности сельскохозяйственных культур, ухудшению мелиоративных условий и снижению эффективности аграрного производства [1].

Высокая концентрация ионов натрия (Na⁺) нарушает метаболические процессы растений, отрицательно влияет на их рост и развитие, формирование корневой системы, процессы фотосинтеза и дыхания, а также вызывает преждевременное старение листьев и, как следствие, приводит к нарушению осмотического баланса клеток [2]. Кроме того, высокие концентрации солей способствуют избыточному накоплению активных форм кислорода (АФК) в тканях растений, что приводит к развитию состояния окислительного стресса. Окислительный стресс, в свою очередь, усиливает перекисное окисление липидов в клетках растений, повреждает белки и ДНК, а также вызывает нарушения основных физиологических процессов [3]. В связи с этим изучение реакций растений на стресс при засолении, в частности функционирования антиоксидантной защитной системы, является одной из важнейших научно-практических задач.

Хлоридное засоление, особенно засоление на основе хлорида натрия (NaCl), резко повышает осмотическое давление в клетках растений, что, в свою очередь, нарушает внутриклеточный водный баланс. В результате затрудняется усвоение воды через корни, клетки сокращаются, а метаболические процессы замедляются. Кроме того, чрезмерное накопление хлорид-ионов нарушает фотосинтетическую систему и ферментативную активность растений, усиливая окислительный стресс [4].

При сульфатном засолении основным действующим веществом является сульфат натрия (Na₂SO₄), который также вызывает осмотический стресс. Однако фитотоксичность сульфат-ионов считается ниже по сравнению с хлорид-ионами. Поэтому сульфатное засоление растения переносят относительно легче. Тем не менее, при высоких концентрациях Na₂SO₄ также оказывает отрицательное влияние на клеточные структуры и перегружает защитные системы организма [5].

Согласно литературным данным, щелочные соли, такие как карбонат натрия (Na₂CO₃) и гидрокарбонат натрия (NaHCO₃), наносят растениям гораздо больший вред по сравнению с нейтральными солями – NaCl и Na₂SO₄ [6].

Засоление оказывает прямое негативное влияние на морфологию растений. У проростков, выращенных в условиях различных концентраций солей NaCl и Na₂SO₄, наблюдаются укорочение корней, замедление роста стеблей и пожелтение листьев. Солевой стресс вызывает дефицит воды в организме растения, что нарушает процессы клеточного растяжения и дифференцировки. Кроме того,

при высокой концентрации соли отмечается набухание митохондрий, истончение клеточной стенки и утончение стеблей основные признаки морфологической деградации [7].

Цель исследования оценить биохимические (на примере активности фермента пероксидазы (ПО) и содержания H_2O_2) и морфологические реакции сортов хлопчатника при различных концентрациях хлоридного и сульфатного засоления.

Материалы и методы. В исследованиях были использованы 2 сорта хлопчатника. Сорта из семейств *G. barbadense* – Сурхан-103 и *G. hirsutum* – С-6580, полученных методом классической селекции, были предоставлены НИИ селекции, семеноводства и агротехнологии выращивания хлопчатника при МСХ Республики Узбекистан.

Выращивание проростков: семена хлопчатника оголяли в концентрированной серной кислоте, затем промывали под струей холодной воды в течении 15 минут. Оголенные семена выдерживали в дистиллированной воде в течении 12 часов. Набухшие семена, завернутые в бумажные рулоны, проращивали течение 7 суток во влажной темной камере при 30°C. Проростки выращивались в условиях двух моделей засоления ($NaCl$ и Na_2SO_4) и в двух концентрациях каждой: 100 и 200 мМ $NaCl$, 66 и 133 мМ Na_2SO_4 .

Активность фермента пероксидазы произведены по методу Бояркина [8].

Содержания пероксида водорода определяли по методу [9] основанному на окислении йодида калия (KI) с помощью пероксида водорода в кислой среде.

Содержание белка определяли по методу Лоури [10].

Статистическая обработка материала проводилась с помощью программы анализа данных Atte Stat V.10.9.6, работающей как надстройка программы “Microsoft Excel-2007”. Эксперименты проводилась в 3-х кратный повторности.

Результаты и их обсуждение. Одним из ключевых факторов устойчивости растений к солевому стрессу является функционирование антиоксидантной защитной системы. В ее составе важную роль играет фермент ПО – гемсодержащий фермент, катализирующий восстановление H_2O_2 с участием различных электрон-донорных молекул. Также он участвует в синтезе лигнина и фенольных соединений – компонентов клеточной стенки.

В данном исследовании были проанализированы биохимические и морфологические ответы сортов хлопчатника *G. barbadense* (Сурхан-103) и *G. hirsutum* (С-6580) на солевой стресс, вызванный $NaCl$ и Na_2SO_4 .

Как показано на рисунке 1, изменения активности ПО и содержания H_2O_2 при двух типах засоления у сортов Сурхан-103 и С-6580 различаются. Результаты показали, что эффект солевого стресса на активность ПО и уровень H_2O_2 носит сорто-специфический характер. В частности, сорт Сурхан-103 проявил высокую чувствительность к засолению. При воздействии 200 мМ $NaCl$ активность пероксидазы снизилась до 3.90, что составляет более чем 50%-ное снижение по сравнению с контролем. Одновременно содержание H_2O_2 возросло до 413, что свидетельствует о развитии сильного окислительного стресса в тканях растения.

Так, в результатах Fargoоq и др. установлено, что при высоком уровне засоления количество АФК увеличивается, а антиоксидантные системы выходят из строя, что усиливает окислительный стресс [2]. При сульфатном засолении (Na_2SO_4) также наблюдалось снижение активности ПО. В целом, сорт Сурхан-103 проявил чувствительность к солевому стрессу, а слабая активность антиоксидантной системы указывает на его низкую устойчивость к таким условиям.

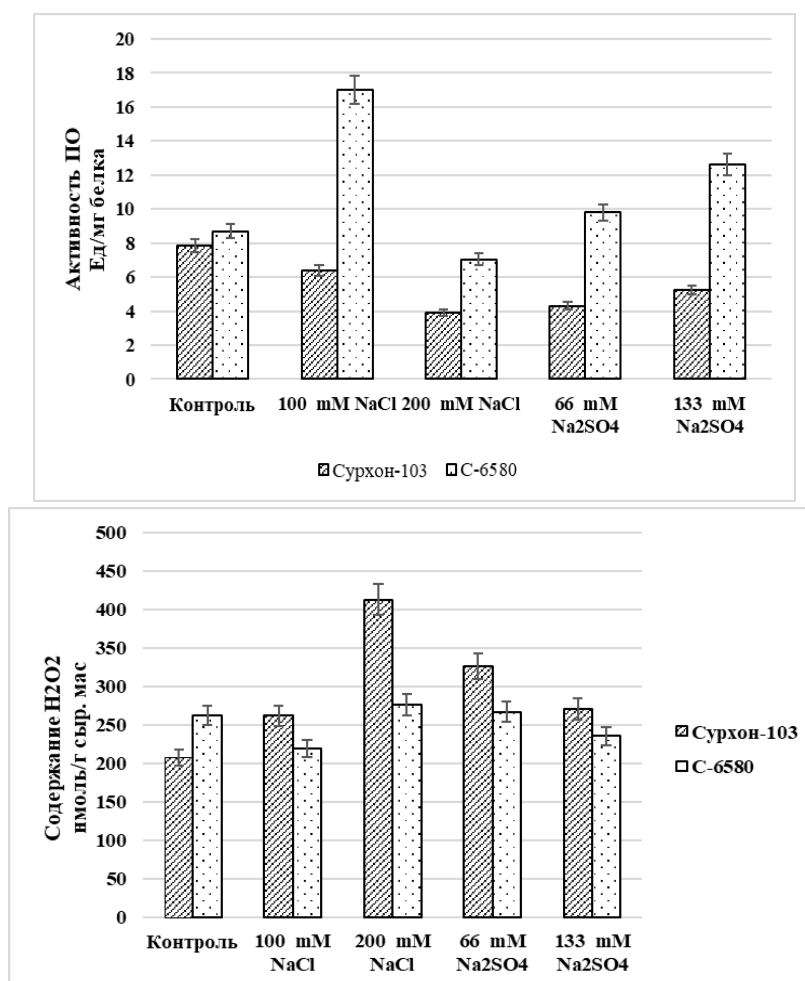


Рис. 1. Активность фермента пероксидазы и содержание H_2O_2 у проростков сортов хлопчатника Сурхон-103 и С-6580 в условиях различного засоления. Данные представлены как среднее значение по вариантам \pm SE ($n=3$).

Сорт С-6580 проявил устойчивость к солевому стрессу. В условиях хлоридного засоления активность фермента ПО оставалась высокой – при концентрации 100 мМ NaCl активность ПО достигала 17.00 единиц, что почти в два раза выше по сравнению с контролем. При этом наблюдались минимальные изменения в содержании H_2O_2 , что указывает на эффективную работу ферментативной системы защиты и быстрое нейтрализование свободных радикалов. Эти результаты соответствуют данным, полученным Shaheen и другими исследователями: у устойчивых к засолению сортов хлопчатника, таких как Kehkshan, CIM-595 и MNH-992, также наблюдалась высокая активность ПО и уровень H_2O_2 , близкий к контролю [11].

В условиях сульфатного засоления активность ПО также оставалась высокой особенно при 133 мМ Na_2SO_4 , где она достигала 12.60 единиц. Это свидетельствует о том, что сорт С-6580 способен формировать стабильный антиоксидантный ответ как на хлоридное, так и на сульфатное засоление.

Согласно результатам исследования Wang и соавторов, у сорта Zhong 9835 при 300 мМ Na_2SO_4 наблюдался резкий рост активности ПО, что совпадает с нашими данными, согласно которым у сорта С-6580 также происходило увеличение активности ПО и относительная стабильность уровня H_2O_2 при различных типах засоления [12].

Анализ результатов показывает, что сорт С-6580 обладает мощным механизмом защиты, адаптируясь к условиям засоления за счет повышения активности фермента ПО. При этом относительная стабильность уровня H_2O_2 подтверждает эффективность его антиоксидантной системы. В противоположность этому, у сорта Сурхан-103 активность ПО снижалась, а содержание H_2O_2 значительно возрастало в ответ на засоление, что свидетельствует о низкой устойчивости к окислительному стрессу.

Таким образом, сорт С-6580 отличается высокой устойчивостью к солевому стрессу и может быть рекомендован в качестве потенциального источника для селекционной работы. Сорт Сурхан-103, напротив, проявил чувствительность к засолению и должен выращиваться с применением щадящих агротехнических мероприятий.

Сорт Сурхан-103 проявил себя как чувствительный к засолению. Особенно это проявилось при 200 мМ NaCl, когда активность фермента ПО снизилась до 3.90 единиц, что составляет более 50% снижения по сравнению с контролем. Одновременно с этим содержание H₂O₂ возросло до 413, что указывает на наличие выраженного окислительного стресса.

В нашем исследовании сорт С-6580 проявил себя как устойчивый к солевому стрессу. У этого сорта активность фермента ПО в условиях засоления увеличивалась и при 100 мМ NaCl достигала 17.00 единиц, что в два раза выше по сравнению с контролем.

Кроме оценки биохимических реакций в лабораторных условиях, также были глубоко изучены морфологические ответные реакции проростков. Эти результаты представлены на рисунке 2 и таблице.



Рис. 2. Морфологические изменения проростков сортов хлопчатника Сурхан-103 и С-6580 в условиях различного засоления.

На представленном рисунке показаны морфологические изменения проростков сортов хлопчатника Сурхан-103 и С-6580, выращенных в контрольных условиях и при различных уровнях засоления (100 и 200 мМ NaCl; 66 и 133 мМ Na₂SO₄).

Длина стебля и корня проростков различных сортов хлопчатника в условиях хлоридного и сульфатного засоления

Вариант	Длина стебля (см)		Длина корня (см)	
	Сурхан-103	С-6580	Сурхан-103	С-6580
Контроль	10,5±0,50	11,0±0,55	12,0±0,6	12,5±0,55
100 мМ NaCl	6,0±0,30	7,5±0,33	7,0±0,30	8,0±0,35
200 мМ NaCl	3,5±0,15	4,5±0,15	4,0±0,20	5,0±0,20
66 мМ Na ₂ SO ₄	7,5±0,35	8,5±0,40	8,5±0,42	9,5±0,45
133 мМ Na ₂ SO ₄	4,5±0,22	5,5±0,25	5,0±0,20	6,0±0,25

Данные представлены как среднее значение по вариантам ± SE (n=3).

У сорта Сурхан-103 в контроле проростки развивались прямо, с активной динамикой роста, длина стебля и корней была хорошо выражена. При 100 мМ NaCl рост немного замедлился, однако основные морфологические признаки (высота проростков, длина корней) сохранились. Однако при

концентрации 200 мМ NaCl наблюдалось значительное угнетение роста, корни были укорочены и тонкие, листья пожелтели.

Аналогичная тенденция была зафиксирована и в образцах, обработанных Na₂SO₄. При 66 мМ Na₂SO₄ рост проростков заметно снижался, а при 133 мМ наблюдалось выраженное торможение роста стебля и корней, отмечались морфологические изменения искривление листьев и многочисленные неразвитые участки корневой системы. В экспериментах на растении *Brassica rapa* также было показано, что сульфатное засоление оказывает сильное тормозящее влияние на рост [12]. В нашем исследовании при 133 мМ Na₂SO₄ также отмечено значительное замедление морфологического роста у сорта Сурхан-103.

У сорта С-6580, напротив, наблюдалась относительная устойчивость к стрессу. В контроле проростки были здоровыми и хорошо развитыми. Даже при 100 мМ NaCl активность роста сохранялась на более высоком уровне по сравнению с сортом Сурхан-103. При 200 мМ NaCl, несмотря на замедление роста, длина корней и размер листьев оставались относительно лучшими.

В условиях Na₂SO₄ (66 и 133 мМ) морфологический ответ сорта С-6580 также следовал данной тенденции: особенно при 66 мМ Na₂SO₄ зафиксированы хорошие показатели роста.

В работах Lei Zhang и соавторов, при выращивании растений в течение 7 дней в растворах с концентрацией NaCl 0, 80, 160 и 240 мМ наблюдались морфологические и физиологические изменения: снижение сухой массы листьев и корней, длины и объема корней, среднего диаметра корней, содержания хлорофилла и пролина, а также чистой фотосинтетической активности и устьичной проводимости [13]. Эти данные схожи с нашими наблюдениями по морфологической деградации у сортов Сурхан-103 и С-6580. Особенно при 200 мМ NaCl и 133 мМ Na₂SO₄ отмечались укорочение корней и стебля, деформация листьев – все это характерно для чувствительных сортов.

Заключение. В ходе исследования были определены активность ПО и содержание H₂O₂ – ключевые компоненты антиоксидантной защитной системы, – и на их основе оценена степень адаптации сортов к стрессу. Результаты показали, что у обоих сортов содержание H₂O₂ в условиях засоления повышалось по сравнению с контролем, что свидетельствует об усилении окислительных процессов в клетках под действием солевого стресса. При этом активность ПО также возрастала, что указывает на активацию естественных защитных механизмов организма растений, направленных на нейтрализацию АФК.

Высокие уровни засоления значительно угнетают морфологическое развитие проростков хлопчатника. Особенно при 200 мМ NaCl и 133 мМ Na₂SO₄ наблюдается укорочение стеблей и корней, пожелтение и деформация листьев.

Сравнительный анализ показал, что сорт С-6580 оказался более устойчивым к солевому стрессу по сравнению с сортом Сурхан-103, что подтверждается морфологическими признаками.

Конкретный вклад авторов: К.М. Кулдошова написала статью. А.А. Ахунув руководил экспериментами, редактировал статью. А.М. Анарова принимала участие в экспериментах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Saidova M.E. (2024) Tuproqlar degradatsiyasi va rekultivatsiyasi. Elektron o'quv qo'llanma. – 160 b. // Saidova M.E. (2024). Soil Degradation and Reclamation. Electronic Study Guide. – 160 pages. (In Uzbek)
2. Farooq M., Gogoi N., Hussain M., Barthakur S., Paul S., Bharadwaj N., Migdadi H., Alghamdi S., Siddique K. (2017) Effects, tolerance mechanisms and management of salt stress in grain legumes. PPB, 118: 199-217. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.020>.
3. Rita A., André F., Bárbara R., Denise C., Ana R. 2020 *Biologia Celular de Plantas* (PT). Port. Plants, 9(2): 147. <https://doi.org/10.3390/plants9020147>.
4. Kuldoshova K., Akhunov A., Khashimova N., Babaeva D., Navruzov S. (2024) The influence of abscisic and indoleacetic acids on the activity of ascorbate peroxidase of cotton under salinity. *Universum: Himia i Biologia*, 10: (124). <https://doi.org/10.32743/UniChem.2024.124.10.18331>.
5. Kuldoshova K., Akhunov A., Khashimova N., Ziyavitdinov J. (2023) The effect of exogenous abscisic acid on antioxidant system of cotton. *Hell. Plant Prot. J.* 16: 40-49. <https://doi.org/10.2478/hppj-2023-0006>.

6. Gong B., Wen D., Vandenlangenberg M., Wei M., Yang J., Shi Q.H. (2013) Comparative effects of NaCl and NaHCO₃ stress on photosynthetic parameters, nutrient metabolism, and the antioxidant system in tomato leaves. *Sci. Hortic.* 157: 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2013.03.032>.
7. Leia C., Felix R., Jian Zh., Chunzhao Zh., Yang Zh., Staffan P. (2022) The cell biology of primary cell walls during salt stress. *RWI.* 35(1): 201–217. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac292>.
8. Бояркин А.Н. (1990) Методика определения пероксидазной активности в растениях. *Биоорг. химия.* №3. – С. 43–45. // Boyarkin A.N. (1990). *Boyarkin A.N. (1990) Metodika opredeleniya peroksidaznoy aktivnosti v rasteniyax. Bioorg. ximiya.* №3. – S. 43–45
9. Velikova V., Yordanov I., Edreva A. (2014) Optimized assay for hydrogen peroxide determination in plant tissue using potassium iodide. *A. J. Anal. Chem.* 5:730-736.
10. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. (1951) Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193(1): 265–275.
11. Shaheen S., Baber M., Aslam S., Shaheen M., Waheed R., Seo H., Azhar M. (2023) Effect of NaCl on morpho-physiological and biochemical responses in *Gossypium hirsutum* L. *Agron* 13:1012. <https://doi.org/10.3390/agronomy13041012>.
12. Wang Q., Lu X., Chen X., Malik W.A., Wang D., Zhao L., Wang J., Wang S., Guo L., Cui R., Han M., Rui C., Zhang Y., Fan Y., Chen C., Ye W. (2021) Transcriptome analysis of upland cotton revealed novel pathways to scavenge reactive oxygen species (ROS) responding to Na₂SO₄ tolerance. *Sci Rep.* 11(1):8670. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-87999-x>.
13. Lei Z., Huijuan M., Tingting Ch., Jun P., Shuxun Y., Xinhua Zh. (2014) Morphological and physiological responses of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) plants to salinity. *Plos One* 9(11): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112807>.

GO'ZA NAVLARINING BOKIMYOVIY VA MORFOLOGIK KO'RSATKICHLARIGA SHO'RLANISHNING TA'SIRI

K.M. Kuldoshova, A.A. Axunov, A.M. Anarova

Ushbu maqolada *G. barbadense* (Surxon-103) va *G. hirsutum* (C-6580) g'o'za navlari nihollarining turli konsentratsiyadagi xloridli (NaCl) va sulfatli (Na₂SO₄) sho'rlanishga nisbatan biokimyoviy va morfologik javob reaksiyalari o'rganilgan. Natijalar shuni ko'rsatdiki, C-6580 navi sho'r stressiga yuqori darajada chidamli bo'lib, peroksidaza fermenti faolligining ortishi va H₂O₂ darajasining nisbatan barqaror saqlanishi bilan ajralib turdi. Morfologik tahlil ushbu farqlarni yana bir bor tasdiqladi: sezgir navda ildizlarning qisqarishi, barglarning sarg'ayishi va o'sishning susayishi kuzatildi, holbuki chidamli navda bu belgilar nisbatan barqaror bo'lib qoldi.

Kalit so'zlar: sho'rlanish, g'o'za, kislorodning faol shakllari, malon dialdegid, prolin, peroksidaza, *Gossypium barbadense*, *Gossypium hirsutum*.

THE EFFECT OF SALINITY ON THE BIOCHEMICAL AND MORPHOLOGICAL PARAMETERS OF COTTON CULTIVARS

K.M. Kuldoshova, A.A. Akhunov, A.M. Anarova

This study presents the results of an investigation into the biochemical and morphological responses of seedlings from two cotton cultivars – *G. barbadense* (Surxon-103) and *G. hirsutum* (C-6580) – to chloride (NaCl) and sulfate (Na₂SO₄) salinity at different concentrations. The results showed that cultivar C-6580 exhibited high tolerance to salt stress, indicated by increased peroxidase activity and relative stability in H₂O₂ levels. Morphological analysis confirmed these differences: the sensitive cultivar showed root shortening, leaf yellowing, and reduced growth, while the tolerant cultivar maintained more stable growth parameters.

Keywords: salinity, cotton, reactive oxygen species, malondialdehyde, proline, peroxidase, *Gossypium barbadense*, *Gossypium hirsutum*.

BIOLOGICAL EFFECTS OF ALKYL-TETRAHYDROISOQUINOLINE DERIVATIVES IN LEUKEMIA AND NORMAL CELLS

U.B. KHAMIDOVA, M.R. UMAROVA, E.O. TERENCEVA, N.A. TOSHEVA,
O.B. ALIMUKHAMEDOVA, A.M. YARILKAGANOVA, A.B. BAYMIRZAEV, Sh.S. AZIMOVA

Institute of Plant Chemistry of Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan

Corresponding author: terenteva_katerina@bk.ru

The effect of a number of alkyl-tetrahydroisoquinoline derivatives on the increase in primary and secondary lipid peroxidation products in cancer (T-lymphoblast leukemia) and healthy cells (blood mononuclears) was studied. Cytotoxic-active samples were shown to increase MDA and DC levels only in cancer cells. In healthy cells, these substances exhibit antioxidant activity.

Keywords: alkyl-tetrahydroisoquinolines, cytotoxicity, oxidative stress, proteinase inhibition.

Introduction

The formation of free radical lipid oxidation accompanies the cytotoxicity of some biologically active substances and plays an important role in the damage and death of cancer cells [1,2]. A similar mechanism of manifestation of inhibitory properties was revealed in a number of anticancer drugs, such as doxorubicin, cisplatin, etoposide, etc. [3,4]. The formed highly active products of peroxidation – malondialdehyde (MDA), diene (DC) and triene conjugates (TC) cause destruction of plasma membranes, proteins and DNA at the cellular level [5]. However, oxidative stress also affects healthy cells, causing toxicity and therefore side effects [6]; in this regard, it is relevant to search for cytostatics that show selectivity of action only in relation to cancer cells, without damaging healthy tissues and organs [7]. Isoquinoline alkaloids and their chemical modifications show a variety of physiological activities, including antitumor properties [8-10]. As studies in recent years show, tetrahydroisoquinolines are capable of causing the accumulation of reactive oxygen species in tumor cells, which leads to disruption of the mitochondrial membrane potential as well as an increase in the amount of intracellular calcium and accordingly, their death [11]. At the same time, there is evidence of antitumor tetrahydroisoquinolines, such as Pixantrone, whose cytotoxicity doesn't occur by oxidative stress (www.drugbank.ca).

The aim of this research is to investigate the ability of new tetrahydroisoquinoline derivatives to form the products of peroxidation.

Materials and methods

T-lymphoblastic leukemia cells CCRF-CEM (ATCC: CCL-19) were obtained from the University of Heidelberg, Germany.

Mononuclear blood cells (leukocytes) were obtained by layering whole blood of conditionally healthy people on a solution of ficoll-trazograph (density gradient) in a ratio of 1: 2 with a preliminarily introduced EDTA solution (100 µl per 10 ml of blood) and subsequent centrifugation at 4000 rpm/min for 10 min. The white mononuclear ring was selected and washed twice in RPMI-1640 medium.

All cells were cultured in RPMI-1640 medium (Himedia, India) containing 1% antibiotic-antimycotic, 2 mM L-glutamine, 10% FBS (Himedia, India) in a CO₂ incubator (SHELLAB, USA).

Tetrahydroisoquinoline derivatives were synthesized by Saidov Sh.A. as described in [12]. All compounds were dissolved in DMSO immediately before the experiment.

The ability of substances to influence the growth of primary and secondary lipid peroxidation products was studied using the method [13]. 100 thousand / ml of CCRF-CEM cells and leukocytes of conventionally healthy people were incubated with the test substances for 2 and 12 hours, after which the level of MDA, DC and TC was investigated according to [13]. The control involved standard peroxidation without the addition of test samples. The antitumor drug Cisplatin-Naprod and the flavonoid dihydroquercetin (DHQ) were used as reference drugs.

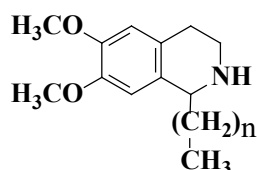
Statistical analysis

The results were analyzed by Origin Pro 8.6 software. Data obtained in 3 independent experiments was

statistically expressed as the mean value for each concentration (\pm) standard error of the mean. Statistical significance was assessed using Student's T-test. The results were considered reliable at $p \leq 0.05$.

Results and discussion

Structures of eight tetrahydroisoquinolines are



1: n=7; **2:** n=8; **3:** n=9; **4:** n=11; **5:** n=13; **6:** n=15; **7:** n=16; **8:** n=17 [12]

Previously, we studied the cytotoxicity of the presented compounds against 4 cancer cell lines – HeLa, HEP-2, HBL-100, KML [14]. It was found that the cytotoxicity of these alkyl derivatives in 10 and 1 μ M increased with increasing length of the methylene chain in the ring of tetrahydroisoquinoline. In addition, it was found that the cytotoxicity of these compounds on healthy cells was 2 or more times lower than on cancer cells.

In continuation of this work, we studied the effect of alkyl-tetrahydroisoquinolines in 10 μ M, on the level of products of lipid peroxidation in cancer and normal cells. DC, TC and MDA values were measured to determine the relationship between the cytotoxicity of compounds and oxidative stress.

The data is presented in Tables 1 and 2.

Table 1

DC and TC (y.e.) values on cancer and healthy cells

cells substance 10 μ M	CCRF-CEM				leukocytes			
	2 hours		12 hours		2 hours		12 hours	
	DC	TC	DC	TC	DC	TC	DC	TC
1	0,77 \pm 0,01	0,26 \pm 0,03	0,81 \pm 0,09	0,25 \pm 0,01	1,15 \pm 0,06	0,21 \pm 0,03	1,04 \pm 0,03	0,31 \pm 0,04
2	0,78 \pm 0,03	0,25 \pm 0,01	0,83 \pm 0,12	0,24 \pm 0,03	1,47 \pm 0,07	0,23 \pm 0,02	0,96 \pm 0,03	0,33 \pm 0,04
3	0,80 \pm 0,06	0,24 \pm 0,04	0,82 \pm 0,08	0,23 \pm 0,03	1,21 \pm 0,16	0,20 \pm 0,00	0,93 \pm 0,02	0,30 \pm 0,05
4	0,78 \pm 0,05	0,26 \pm 0,05	0,86 \pm 0,04	0,23 \pm 0,03	1,86 \pm 0,09	0,22 \pm 0,03	0,98 \pm 0,02	0,37 \pm 0,05
5	0,78 \pm 0,05	0,29 \pm 0,06	0,88 \pm 0,08	0,24 \pm 0,03	1,16 \pm 0,00	0,16 \pm 0,03	0,91 \pm 0,07	0,30 \pm 0,03
6	0,77 \pm 0,04	0,26 \pm 0,07	0,79 \pm 0,05	0,25 \pm 0,04	1,70 \pm 0,02	0,21 \pm 0,03	0,98 \pm 0,08	0,30 \pm 0,03
7	0,76 \pm 0,03	0,25 \pm 0,04	0,73 \pm 0,07	0,24 \pm 0,05	1,69 \pm 0,04	0,18 \pm 0,05	0,95 \pm 0,07	0,34 \pm 0,07
8	0,77 \pm 0,07	0,29 \pm 0,03	0,74 \pm 0,03	0,26 \pm 0,01	1,27 \pm 0,05	0,19 \pm 0,04	1,01 \pm 0,03	0,32 \pm 0,02
Cisplatin	0,80 \pm 0,02	0,28 \pm 0,01	0,78 \pm 0,02	0,23 \pm 0,02	2,77 \pm 0,08	0,31 \pm 0,04	1,33 \pm 0,04	0,45 \pm 0,07
DHQ	0,66 \pm 0,03	0,26 \pm 0,03	0,72 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01	2,15 \pm 0,11	0,22 \pm 0,05	1,24 \pm 0,03	0,37 \pm 0,03
control	0,78 \pm 0,04	0,27 \pm 0,02	0,77 \pm 0,02	0,30 \pm 0,02	2,38 \pm 0,02	0,29 \pm 0,03	1,40 \pm 0,02	0,48 \pm 0,06

According to the data in Table 1, the reference drug cisplatin had practically no effect on the level of diene and triene conjugates in the studied time range and increased the level of malondialdehyde already 2 hours after incubation, both in T-lymphoblastic leukemia cells and on normal leukocytes. In similar conditions the flavonoid dihydroquercetin reduced the levels of primary and secondary lipid peroxidation products by up to 27% compared to the control.

Isoquinoline derivatives increase the level of diene conjugates in cancer cells after 12 hours of incubation and the growth increased in proportion to the elongation of the methylene chain. The maximum

increase of DC was achieved in the 5th sample (14 fragments $-CH_2-$), which also showed the maximum cytotoxicity [14]. Further chain lengthening lead to a decrease of both the level of primary lipid peroxidation products and the percentage of dead cells. It is important to note that in the leukocytes of healthy people, the content of both DC and MDA under the influence of all tested derivatives was lower than the control values.

Table 2

The amount of MDA (nmol / ml) in cancer and healthy cells

substance, 10 μ M	cells	CCRF-CEM		leukocytes	
		2 hours	12 hours	2 hours	12 hours
1		0,40 \pm 0,05	1,04 \pm 0,09	1,47 \pm 0,05	2,43 \pm 0,06
2		0,43 \pm 0,07	1,27 \pm 0,04	2,08 \pm 0,06	3,07 \pm 0,05
3		0,34 \pm 0,03	0,98 \pm 0,02	1,39 \pm 0,01	2,70 \pm 0,01
4		1,93 \pm 0,01*	0,88 \pm 0,07	1,91 \pm 0,03	2,83 \pm 0,01
5		1,63 \pm 0,10*	1,35 \pm 0,08*	1,52 \pm 0,04*	2,57 \pm 0,15
6		1,74 \pm 0,03*	1,31 \pm 0,08*	1,81 \pm 0,09*	2,17 \pm 0,12
7		0,26 \pm 0,01	1,08 \pm 0,09	1,52 \pm 0,03	1,59 \pm 0,07
8		0,57 \pm 0,05	1,08 \pm 0,01	1,54 \pm 0,07	1,63 \pm 0,03
Cisplatin		1,91 \pm 0,06*	1,27 \pm 0,01*	2,16 \pm 0,02*	2,40 \pm 0,02*
DHQ		1,42 \pm 0,02*	0,89 \pm 0,01*	1,46 \pm 0,05*	2,14 \pm 0,08*
control		1,51 \pm 0,09	1,21 \pm 0,03	2,02 \pm 0,07	2,59 \pm 0,13

* $p \leq 0.05$

As for the effect of substances on the amount of malondialdehyde (see Table 2), the compounds that showed the maximum inhibitory effect against cancer cells – **4**, **5**, **6**, already after 2 hours of incubation increased the MDA level from 8% to 28% compared to the control. Meanwhile, the amount of malondialdehyde in healthy cells was significantly reduced: **5** – 1.52 ± 0.04 nmol/ml (control – 2.02 ± 0.07 nmol/ml), **6** – 1.8 ± 0.09 nmol/ml. In derivatives with minimal or zero cytotoxicity, the level of malondialdehyde was lower than the control values and was comparable to the reference drug dihydroquercetin.

Such differences in the accumulation of DC, MC and MDA in cancer and healthy cells after the action of cytotoxic-active isoquinolines indicate the selectivity of the compounds' action. This may be due to the difference in the structure of the plasma membranes of cancer and non-transformed cells. It is generally the case that the membranes of healthy and tumor cells differ in the amount and composition of fatty acids [15]. Early studies revealed that a less selective distribution of fatty acids in phospholipids and glycerides is observed in the membranes of various tumors; saturated C18 acids prevail over C16 [16]. In addition, the plasma membranes of transformed cells exhibit increased levels of cholesterol, neutral lipids and glycerides, while the levels of dolichol, ubiquinone and total phospholipids are significantly lower than those of healthy cells and tissues [17,18]. It is possible that these tetrahydroisoquinolines, which cause oxidative stress only in cancer cells, contribute to their damage.

Conclusion

Thus, a study of the effect of a number of alkyl-tetrahydroisoquinoline derivatives on the increase in primary and secondary lipid peroxidation products in cancer and healthy cells showed that cytotoxic-active samples increase MDA and DC levels only in cancer cells. In healthy cells, these substances exhibit antioxidant activity. It may be due to these properties that the difference in cytotoxicity of tetrahydroisoquinolines on cancer and normal cells is achieved.

Specific contribution of the authors: The experiments were carried out by Umarova M.R., Khamidova U.B., Tosheva N.A., Yarilkaganova A.M. Azimova Sh.S. advised on setting up the experiment. Baymirzaev A.B. edited the article. Terenteva E.O., Alimukhamedova O.B. planned experiments and discussed the results.

REFERENCES

1. Nano J.L., Nobili C., Girard-Pipau F., Rampal P. (2003) Effects of fatty acids on the growth of Caco-2 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 69(4):207-15. [http://doi.org/10.1016/s0952-3278\(03\)00083-8](http://doi.org/10.1016/s0952-3278(03)00083-8)
2. Erejuwa O.O., Sulaiman S.A., Ab Wahab M.S. (2013) Evidence in support of potential applications of lipid peroxidation products in cancer treatment. *Oxid Med Cell Longev*. Article ID 931251, 8. <http://doi.org/10.1155/2013/931251>
3. Hrelia S., Fiorentini D., Maraldi T., Angeloni C., Bordoni A., Luigi Biagi P., Hakim G. (2002) Doxorubicin induces early lipid peroxidation associated with changes in glucose transport in cultured cardiomyocytes. *Biochim. Biophys. Acta* 23:50-156. [http://doi.org/10.1016/s0005-2736\(02\)00612-0](http://doi.org/10.1016/s0005-2736(02)00612-0)
4. Soni H., Kaminski D., Gangaraju R., Adebisi A. (2018) Cisplatin-induced oxidative stress stimulates renal Fas ligand shedding. *Ren Fail* 40(1):314-322. <http://doi.org/10.1080/0886022X.2018.1456938>
5. Matveychuk D., Dursun M., Wood P.L. and Baker G.B. (2011) Reactive aldehydes and neurodegenerative disorders. *Clin. Psychopharmacol. Bull.* 21(4):277-288. <http://doi.org/10.5455/bcp.19691231040000>
6. Asensio-López M.C., Soler F., Pascual-Figal D., Fernández-Belda F. and Lax A (2017) Doxorubicin-induced oxidative stress: The protective effect of nicorandil on HL-1 cardiomyocytes. *PLoS One* 12(2):e0172803. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0172803>
7. Schumacker P.T. (2006) Reactive oxygen species in cancer cells: live by the sword, die by the sword. *Cancer Cell* 10(3):175-6. <http://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.08.015>
8. Patil R., Hosni-Ahmed A., Jones T.S., Patil S.A., Asres L.B., Wang X., Yates R.C., Geisert E.E. and Miller D.D. (2014) Synthesis and in vitro evaluation of novel 1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline derivatives as potent antiglioma agents. *Anticancer Agents Med Chem* 14(3):473-482. <http://doi.org/10.1007/S00044-010-9356-8>
9. Bielawski K., Leszczyńska K., Kałuża Z., Bielawska A., Michalak O., Daniluk T., Staszewska-Krajewska O., Czajkowska A., Pawłowska N. and Gornowicz A. (2017) Synthesis and antimicrobial activity of chiral quaternary N-spiro ammonium bromides with 3',4'-dihydro-1'H-spiro[isindoline-2,2'-isoquinoline] skeleton. *Drug Des Devel Ther* 11:2015-2028. <http://doi.org/10.2147/DDDT.S133250>
10. Bentley K.W. (2006) β -Phenylethylamines and the isoquinoline alkaloids. *Previous Review Nat Prod Rep.* 23:444-463 <https://doi.org/10.1039/NP9971400387>
11. De Marco F., Perluigi M., Marcante M., Coccia R., Foppoli C., Blarmino C., Rosei M. (2002) Cytotoxicity of dopamine-derived tetrahydroisoquinolines on melanoma cells. *Biochem Pharmacol.* 64(10):1503-12. [http://doi.org/10.1016/s0006-2952\(02\)01353-9](http://doi.org/10.1016/s0006-2952(02)01353-9)
12. Saidov A.Sh., Levkovich M.G., and Vinogradova V.I. (2013) Synthesis of 1-alkyltetrahydroisoquinolines. *Chem. Nat. Compd.* 49(5):897-901. DOI:10.1007/s10600-013-0772-0
13. Дерюгина А.В., Корягин А.С., Копылова С.В., Таламанова М.Н. Методы изучения стрессовых и адаптационных реакций организма по показателям системы крови. Нижний Новгород: Нижегородский госуниверситет, 2010, 25// Deryugina A.V., Koryagin A.S., Kopylova S.V., Talamanova M.N. Methods for studying stress and adaptive reactions of the body by indicators of the blood system. Nizhny Novgorod: Nizhegorodskiy gosuniversitet, 2010, 25.
14. Khamidova U., Terenteva E., Umarova M., Abdurakhmanov J., Sasmakov S., Makhnyov A., Vinogradova V., Saidov A., Khashimova Z., Azimova Sh. (2021) Study of the Biological Activity of Alkyl Derivatives of Tetrahydroisoquinolines// *J Pharm Res Int* 33 (46B): 238-246. <http://doi.org/10.9734/JPRI/2021/v33i46B32938>
15. Lim B. and Kwan H. Roles of lipids in cancer. *Advances in Lipid Metabolism* Open access peer-reviewed chapter: 2018. <http://doi.org/10.5772/intechopen.80788>
16. Gray G.M. (1963) The lipid composition of tumor cells. *Biochem J.* 86(2):350-357
17. Eggens I., Bäckman L., Jakobsson A., Valtersson C. (1988) The lipid composition of highly differentiated human hepatomas, with special reference to fatty acids. *Br J Exp Pathol* 69(5):671-683 PMID: PMC2013280

18. Portoukalian J., Zwingelstein G., Dore J. (1979) Lipid composition of human malignant melanoma tumors at various levels of malignant growth. *Eur J Biochem* 94(1):19-23. DOI: 10.1111/j.1432-1033.1979.tb12866.x

ALKILTETRAGIDROIZOXINOLIN HOSILALARINING LEYKOZ VA NORMAL HUYAYRALARGA
BIOLOGIK TA'SIRI

U.B. Xamidova, M.R. Umarova, Ye.O. Terenteva, N.A. Tosheva, O.B. Alimuxamedova, A.M. Yarilkaganova,
A.B. Baymirzayev, Sh.S. Azimova

Bir qator alkil-tetragidroizoxinolin hosilalarining saraton va sog'lom hujayralardagi birlamchi va ikkilamchi lipidlarning peroksidlanishi mahsulotlarini ortishiga ta'siri o'rganildi. Sitotoksik faol namunalar faqat saraton hujayralarida MDA va DK darajasini oshirishi aniqlandi. Sog'lom hujayralarda bu moddalar antioksidant faollikni namoyon qiladi.

Kalit so'zlar: alkil-tetragidroizoxinolinlar, sitotoksik faoligi, oksidativ stress, proteinaza ingibirlanishi.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНЫХ АЛКИЛТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИНА
В ЛЕЙКОЗНЫХ И НОРМАЛЬНЫХ КЛЕТКАХ

У.Б. Хамидова, М.Р. Умарова, Е.О. Терентьева, Н.А. Тошева, О.Б. Алимухамедова, А.М. Ярлыкганова,
А.Б. Баймирзаев, Ш.С. Азимова

Исучено влияние ряда алкил-тетрагидроизохинолиновых производных на нарастание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов в раковых и здоровых клетках. Показано, что цитотоксически-активные образцы повышают уровни МДА и ДК лишь в раковых клетках. В здоровых клетках данные вещества проявляют антиоксидантную активность.

Ключевые слова: алкил-тетрагидроизохинолины, цитотоксичность, оксидативный стресс, ингибирование протеиназы.

ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM THE AERIAL PARTS OF *SILENE CLAVIFORMIS* LITV

M.Z. SHARIPOVA, M.U. NEGMATOVA, V.N. SYROV, F.R. EGAMOVA,
N.Sh. RAMAZONOV, U.Yu. YUSUPOVA

Institute of the Chemistry of Plant Substances, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan
yusupovauyu@gmail.com

This study reports the isolation of four naturally occurring secondary metabolites from the aerial parts of *Silene claviformis* Litv., including two triterpenoids-cycloastragenol and astrasieversianin X – and two steroidal glycosides-lineolon and 3-O-acetyl sibirgenin. Their chemical structures were elucidated using advanced spectroscopic techniques such as 1D and 2D NMR and high-resolution electrospray ionization mass spectrometry (HR-ESIMS). The combined mixture of these metabolites was evaluated for anti-inflammatory and antiexudative activity. These findings suggest the therapeutic potential of the extract as a natural anti-inflammatory agent.

Key words: *Silene*, Caryophyllaceae, triterpenes, anti-inflammatory activity.

Introduction

Secondary metabolites are low-molecular-weight organic compounds derived from primary metabolic pathways in plants, typically with molecular masses below 3000 Da. Unlike primary metabolites, they do not directly contribute to growth, development, or reproduction of the organism [1-3]. However, these compounds are of great interest in scientific research due to their diverse chemical structures and significant pharmacological properties [4]. Triterpenoids, which are synthesized from the 30-carbon precursor squalene, are widespread in the plant kingdom and serve numerous biological roles [5–7]. Steroids, in contrast, consist of a core steroidal aglycone linked to one or more sugar units [8]. The *Silene* genus, part of the Caryophyllaceae family, is a well-known natural source of triterpenoids and steroidal compounds [9].

This study explores the chemical composition of the butanol extract derived from the aerial parts (flowers, leaves, stems, and spines) of *Silene claviformis* Litv., a plant native to the lower mountain slopes of the Samarkand region in Uzbekistan. In our previous work, we reported the isolation of phytoecdysteroids from this species, which individually lacked antibacterial or antifungal effects [10], though collectively they showed anti-stress properties [11]. Here, we focus on the isolation and anti-inflammatory evaluation of four major compounds and two steroidal glycosides.

Results and Discussion

Chemical Part

The chemical analysis of the butanol extract from *Silene claviformis* Litv. resulted in the isolation and characterization of several compounds, specifically the triterpenoids cycloastragenol (1) [12] and astrasieversianin X (2) [13], as well as two pregnane-type steroid glycosides–lineolon (3) [14] and 3-O-acetyl sibirgenin (4) [15].

Structural elucidation of these compounds was accomplished through advanced spectroscopic techniques, including nuclear magnetic resonance (1D and 2D NMR) mass spectrometry, and confirmed by comparison with previously reported. The chemical structures of the isolated compounds are illustrated in Fig.1

Biological assay

Experimental results demonstrated that the total compound mixture (TC) exhibited a significant anti-inflammatory effect. As shown in Table 1, TC effectively reduced paw edema induced by formaldehyde in rats, with a 34.8% reduction observed three hours after administration of the inflammatory agent compared to the control group. Additionally, TC showed a marked antiexudative effect in a serotonin-induced inflammation model, where it decreased paw swelling by 41.9% within two hours of treatment (Table 1).

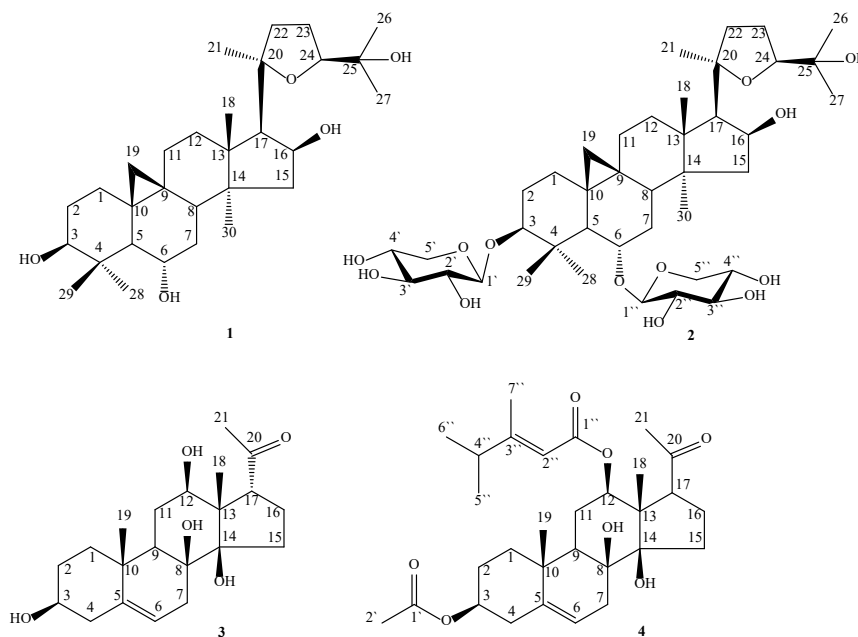


Figure 1. Structures of isolated compounds from *Silene claviformis*.

Table 1

Comparative effects of the TC and cortisone acetate on formalin- and serotonin-induced paw edema in rats (M ±m, n = 6)

Experiment condition	Increase in the volume of the paw of rats relative to the initial one (ml)	Edema inhibition %	P
After 3 hours administration of formalin			
Control	0.46±0.032	-	
TC	0.30±0.028	34.8	p<0.01
Cortisone acetate	0.24±0.016	47.8	p<0.001
After 3 hours administration of serotonin			
Control	0.62±0.044	-	
TC	0.36±0.024	41.9	p<0.001
Cortisone acetate	0.32±0.018	48.4	p<0.001

The TC also demonstrated a significant anti-exudative effect in experimental models of serositis. Treatment with TC led to a reduction in exudate accumulation by 21.8% in the pleural cavity and 22.6% in the abdominal cavity following silver nitrate administration (Table 2).

Table 2

Impact of the TC and cortisone acetate on exudate volume in rat models of experimental serositis (pleurisy and peritonitis) (M ±m, n=6)

Experiment condition	Amount of exudate after 6 hours (ml)			
	In the pleural cavity	Anti-exudative effect %	In the abdominal cavity	Anti-exudative effect %
Control	2.84±0.26	-	3.18±0.14	-
TC	2.22±0.16 p>0.05	21.8	2.46±0.13 p<0.01	22.6
Cortisone acetate	1.94±0.12 p<0.02	31.7	2.12±0.10 p<0.001	33.3

The antiexudative activity of the TC was further validated in rabbit experiments, where trypan blue was injected into the marginal ear vein following TC administration (see Table 3). Compared to the control group, the appearance of blue stains on the skin—reflecting trypan blue leakage through the histohematic barrier—was significantly delayed, and the size of these stains was markedly reduced (Table 3).

Table 3

Impact of the TC and cortisone acetate on capillary permeability in rabbits (M ±m, n=5)

Experiment condition	Latent period of appearance of staining spots (min)	Effect %	Diameter of staining spots (cm)	Effect %
Control	3.58±0.22	-	1.52±0.06	-
TC	5.88±0.26 p<0.001	64.2	1.34±0.04 p<0.05	13.4
Cortisone acetate	6.96±0.38* p<0.001	94.4	1.20±0.02* p<0.001	26.7

Note. *Significantly between the indicators in the groups of animals receiving the drug SCK and cortisone acetate (the level of significance is accepted at p<0.05).

The reference drug cortisone acetate, used for comparison, exhibited a slightly stronger effect in both antiexudative and antiproliferative assays (Table 3).

Experimental Section

Isolation and Identification of Compounds

Methanol, a highly polar solvent, is widely recognized in the literature for its efficiency in extracting chemical constituents from various plants [16-17]. The air-dried aerial parts of *Silene claviformis* were extracted using 90% aqueous methanol. The crude extract was then partitioned sequentially with chloroform and hexane, then with n-butanol (targeting glycosides, flavonoids, and other bioactives). The n-butanol and hexane fractions were further purified through repeated chromatography using silica gel columns, Sephadex LH-20, and HPTLC plates. This process yielded four known glycosidic compounds, with one (compound 4) identified as a newly discovered natural product (Figure 1), known for their cardiovascular, antioxidant, and antiangiogenic activities.

Evaluation of Biological Activities

Biological testing was conducted on male rats (180–200 g) and albino rabbits (2.5–3.0 kg). The TC, consisting of steroids extracted from *Silene claviformis*, was administered orally at a dose of 50 mg/kg as an aqueous gum arabic emulsion due to its limited solubility. Control animals received equivalent amounts of the gum arabic vehicle. The anti-inflammatory effects of TC were assessed in two experimental series. The first involved measuring the inhibition of paw swelling in rats induced by intraplantar injection of 0.2 ml of 1% formalin or 0.1 ml of 0.5% serotonin. Additionally, the reduction in serous fluid accumulation during experimental pleurisy and peritonitis was evaluated following administration of 0.2% silver nitrate solution (0.5 ml into the pleural cavity and 1.0 ml into the abdominal cavity). This was performed using rabbits with clipped abdominal hair, where local inflammation was induced with xylene. TC was administered one hour prior to injection of 1% trypan blue solution (2.0 mg/kg) into the marginal ear vein. The effects were quantified by comparing the latency of blue spot appearance and their size on the skin before and after treatment [17]. The granulation tissue mass was calculated by subtracting the pellet weight. TC was administered once daily for seven days starting on the day of surgery. Cortisone acetate (10 mg/kg) served as the reference anti-inflammatory agent, administered similarly [18]. All procedures adhered to established guidelines for evaluating anti-inflammatory activity and complied with international regulations (Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes). Statistical analysis was performed using Student's t-test.

Conclusion

In this investigation, four compounds were isolated from the aerial parts of *Silene claviformis* Litv., all identified for the first time within this genus. Notably, compound 4 represents a novel natural product from this genus. The total compound mixture exhibited significant anti-inflammatory effects by inhibiting the exudative phase of inflammation, as evidenced by reduced paw edema induced by formaldehyde and serotonin in rats, and decreased vascular permeability in rabbits challenged with xylene. Additionally, repeated

administration of TC demonstrated a clear antiproliferative effect in rats.

Authors Contribution: Yusupova U.Yu. and Sharipova M.Z. – performed the experiments and prepared the initial draft of the manuscript. Yusupova U.Yu. – supervised and carried out scientific editing. The remaining authors – participated in compound extraction, analysis, and data interpretation.

REFERENCES

1. Twaij B.M., Hasan M.N. (2022) Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses. *Int. J. Plant Biol.* 13(1): 4-14. <https://doi.org/10.3390/ijpb13010003>
2. Yang L., Wen K.S., Ruan X., Zhao Y.X., Wei F., Wang Q. (2018) Response of Plant Secondary Metabolites to Environmental Factors. *Molecules* 23: 762. DOI: 10.3390/molecules23040762
3. Pagare S., Bhatia M., Tripathi N., Pagare S., Bansal Y.K. (2015) Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy.* 9(3): 293-304.
4. Usmanov D.A., Ramazanov N.S., Yusupova U.Y., Kurilov D.V., Kachala V.V., Krukovsaya N.V., Kolotyorkina N.N., Zavarzin I.V. (2019) Iridoids from *Phlomis ostrowskiana* Regel plant. *Russ Chem Bull.* 68: 2275–2278. <https://doi.org/10.1007/s11172-019-2699-5>
5. Ran X., eGia C.F., Seiichi P.T. (2004) On the origins of triterpenoid skeletal diversity. *Phytochemistry.* 65(3): 261-291. DOI: 10.1016/j.phytochem.2003.11.014
6. Miettinen K., Iñigo S., Kreft L., Pollier J., De Bo Ch., Botzki A., Coppens F., Bak S., Goossens A. (2014) The TriForC database: a comprehensive up-to-date resource of plant triterpene biosynthesis. *Nucleic Acids Research.* 46(1): 586–594. DOI: 10.1093/nar/gkx925
7. Kubes J., Skalicky M., Tumova L., Martin J., Hejnak V., Martinkova J. (2019) Vanadium elicitation of *Trifolium pratense* L. cell culture and possible pathways of produced isoflavones transport across the plasma membrane. *Plant cell reports.* 38(5): 657-671. <https://doi.org/10.1007/s00299-019-02397-y>
8. Song F., Zheng M., Wang J. (2023) Chemoenzymatic synthesis of C14-functionalized steroids. *Nat Synth.* <https://doi.org/10.1038/s44160-023-00280-z>
9. Kılınç H., Masullo M., Bottone A., Karayıldırım T., Alankuş Ö., Piacente S. (2019) Chemical constituents of *Silene montbretiana*. *Nat Prod Res.* 33(3): 335-339. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1451998>
10. Yusupova, U.Yu., Sasmakov S.A., Usmanov D.A., Ramazonov N.Sh., Azimova S.S., Sagdullaev Sh.Sh. (2021) Phytoecdysteroids from *Silene claviformis* and their antibacterial and antifungal activities. *Polish J of Nat Sci.* 35(3): 313-321.
11. Ramazonov N., Yusupova U., Egamova F., Syrov V. (2020) Anti stress activity of phytoecdysteroids isolated from aerial part of *Silene claviformis*. *J. Chem. Sci. Int.* 29: 9-17. DOI: 10.9734/CSJI/2020/v29i730190
12. He M., Wang K., Che H., Wang H., Yang K., Zhang G., Yao J., Wang J. (2022) A comprehensive review of cycloastragenol: Biological activity, mechanism of action and structural modifications. *Eurp J of Med Chem Rep.* 5:100060. <https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2022.100060>
13. Senol Deniz F.S., Eren G., Orhan I.E., Sener B., Ozgen U., Aldaba R., Calis I. (2021) Outlining in vitro and in silico cholinesterase inhibitory activity of twenty-four natural products of various chemical classes: smilagenin, kokusaginine, and methyl rosmarinic acid as emboldening inhibitors. *Molecules* 26(7): 2024. DOI: 10.3390/molecules26072024
14. Abe F., Yamauchi T. (2000) Pregnane glycosides from the roots of *Asclepias tuberosa*. *Chem Pharm Bull.* 48(7): 1017-1022. DOI:10.1248/cpb.48.1017
15. Maslennikova V.A., Tursunova R.N., Abubakirov N.K. (1970) Structure of sibirgenin. *Chem Nat Compd.* 6, 322–327. <https://doi.org/10.1007/BF00567310>
16. Aygun R.B., Zengin G., Yıldıztuğay E., Jugreet Sh., Yılmaz M.A., Mahomoodally F.M. (2022) Chemical characterization, anti-oxidant and anti-enzymatic properties of extracts from two *Silene* species: A focus on different plant parts and extraction methods. *Proc Biochem* 116, 206-213. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.03.016>
17. Ойвин И.А., Ойвин В.И., Балуда В.П. (1962) О роли фибрина в механизме сосудистой проницаемости. Бюл. эксперим. биол. и мед. 54(10): 45-47 // Oyvin I.A., Oyvin V.I., Baluda V.P. (1962) O roli fibrina v mehanizme sosudistoy pranisayemosti. *Bull. experiment biol. and med.* 10: 45-47.

18. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Москва: Новая волна, 2008, 567 с // Mashkovskiy M.D. Lekarstvenniye sredstva. Moscow: Novaya volna, 2008, 567 p.

SILENE CLAVIFORMIS LITV. O'SIMLIGINING YER USTKI QISMLARIDAN OLINGAN BIOFAOL BIRIKMALARNING YALLIG'LANISHGA QARSHI TA'SIRI

M.Z. Sharipova, M.U. Negmatova, V.N. Syrov, F.R. Egamova, N.Sh. Ramazonov, U.Yu. Yusupova

Ushbu tadqiqotda *Silene claviformis* Litv. o'simligining yer ustki qismlaridan to'rtta tabiiy ikkilamchi metabolit ajratib olindi: ikki triterpenoid – sikloastragenol (1) va astrazieversianin X (2), hamda ikki steroid glikozid – lineolon (3) va 3-O-atsetil sibirgenin (4). Ushbu birikmalarning kimyoviy tuzilmalari 1D va 2D yadroviy magnit rezonans (YMR), shuningdek, yuqori aniqlikdagi elektropurkalovchi ionlashgan massa-spektral tahlil (HR-ESIMS) usullari yordamida aniqlangan. Ajratilgan metabolitlar aralashmasi yallig'lanishga va eksudatsiyaga qarshi faolligi bo'yicha baholandi. Olingan natijalar ushbu ekstraktning tabiiy yallig'lanishga qarshi vosita sifatida terapevtik salohiyatga ega ekanligini ko'rsatdi.

Kalit so'zlar: *Silene*, *Caryophyllaceae*, triterpenlar, yallig'lanishga qarshi faollik.

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ АКТИВНЫХ СРЕДСТВ ИЗ НАДЗЕМНОЙ ЧАСТИ *SILENE CLAVIFORMIS* LITV.

M.З. Шарипова, M.У. Негматова, В.Н. Сыров, Ф.Р. Эгамова, Н.Ш. Рамазонов, У.Ю. Юсупова

В данном исследовании описано выделение четырёх природных вторичных метаболитов из надземной части растения *Silene claviformis* Litv., включая два тритерпеноидов – циклоастрегенол (1) и астразиверзианин X (2), а также два стероидных гликозида – линеолон (3) и 3-О-ацетилсбиргенин (4). Их химическая структура была установлена с использованием современных спектроскопических методов, таких как одномерная и двумерная ЯМР-спектроскопия (1D и 2D NMR), а также масс-спектрометрия с высоким разрешением и электроспрейной ионизацией (HR-ESIMS). Комбинированная смесь этих метаболитов была протестирована на противовоспалительную и антиксудативную активность, что указывает на терапевтический потенциал экстракта как природного противовоспалительного средства.

Ключевые слова: *Silene*, *Caryophyllaceae*, тритерпены, противовоспалительная активность.

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ЭКДИСТЕРОНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПАРАМЕТРЫ ИЗОЛИРОВАННЫХ МИТОХОНДРИЙ

Ш.Г. ГАЗИЕВА^{1,2}, В.Н. СЫРОВ³, У.З. МИРХОДЖАЕВ², Ю.В. ЛЕВИЦКАЯ¹, А.Ю. БАЕВ^{1,2}

¹Центр передовых технологий, Ташкент;

²Национальный университет Узбекистана им. Мирзо Улугбека;

³Институт химии растительных веществ АН РУз

β -экдистерон – это природный гормон, который регулирует развитие членистоногих и синтезируется различными растениями в качестве защиты от насекомых. Экдистерон обладает большим фармакологическим потенциалом и оказывает положительное влияние при патологиях, связанных с митохондриальной дисфункцией и окислительным стрессом. Однако остаётся до конца неизвестным, способен ли экдистерон оказывать прямое влияние на митохондрии. В настоящей работе мы изучили влияние β -экдистерона на функциональные параметры изолированных митохондрий. Наши результаты показали, что экдистерон не оказывает существенного влияния на процессы окислительного фосфорилирования, формирование митохондриального мембранного потенциала и кальциевый гомеостаз в изолированных митохондриях. Эти данные позволяют предположить, что известные фармакологические эффекты экдистерона реализуются не за счёт его прямого действия на митохондрии.

Ключевые слова: β -экдистерон, изолированные митохондрии, окислительное фосфорилирование, митохондриальный мембранный потенциал, РТР пора митохондрий.

Введение. Ранее нами было показано, что β -экдистерон оказывает стимулирующее влияние на митохондриальный мембранный потенциал нейронов и астроцитов головного мозга крыс [1]. Также показывалось, что применение экдистерона *in vivo*, способствует восстановлению биоэнергетических процессов митохондрий печени крыс, нарушенных при иммобилизационном стрессе [2]. Исследования на клетках млекопитающих показали, что экдистерон обладает большим фармакологическим потенциалом и проявляет защитные свойства на клеточных моделях болезни Паркинсона [1, 3, 4], Альцгеймера [5], ишемического инсульта [6], диабета [7, 8] и т.д. Интересно, во всех вышеуказанных работах, положительные свойства экдистерона проявлялись, в том числе за счёт восстановления митохондриальной дисфункции, а также подавления окислительного стресса, которые наблюдались во всех моделях. Более того, недавно, методами транскриптомики, было показано, что β -экдистерон способен активировать процессы гликолиза, митохондриального дыхания, синтеза АТФ и в целом увеличивать биосинтез белка как в миобластиках, так и фибробластах [9].

Таким образом, было показано, что экдистерон оказывает положительное влияние при патологиях, связанных с митохондриальной дисфункцией и окислительным стрессом. Более того, его положительные эффекты часто связывают с модуляцией митохондриальных функций за счёт изменения различных клеточных процессов. Однако остаётся до конца неизвестным, способен ли экдистерон оказывать прямое влияние на митохондрии. Одной из предположительных мишеней экдистерона в клетках млекопитающих является эстрогеновый рецептор β (ER β) [10]. Недавно было показано, что активированный ER β может иметь митохондриальную локализацию и влиять на биоэнергетические процессы, а также на процессы митохондриальной кальциевой сигнализации [11].

В связи с вышесказанным в настоящей работе мы изучили влияние β -экдистерона на процессы биоэнергетики и кальциевой буферной ёмкости изолированных митохондрий печени крыс.

Материалы и методы. Митохондрии из печени белых беспородных крыс выделяли методом дифференциального центрифугирования по Шнайдеру, используя в качестве среды выделения 0,25 М сахарозу, 1 мМ ЭДТА, 10 мМ трис-НCl, рН 7,4. Все процедуры проводились на льду для поддержания температуры не выше, чем +4° С. Все процедуры по выделению клеток 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 скорости дыхания изолированных митохондрий и окислительного фосфорилирования производили при помощи системы микрореспирометра Mitocell S200 на базе закрытого платинового электрода Кларка (Strathkelvin Instruments), а оценка скорости дыхания изолированных митохондрий проводилась по Чансу как описано в [12]. В качестве среды инкубации использовали 120 mM KCl, 5 mM трис-HCl, 1 mM KH_2PO_4 , 1 mM ЭГТА, малат, глутамат, pH 7,1. Все измерения проводились при комнатной температуре, при непрерывном перемешивании.

Измерение Ψ_m проводили методом спектрофлуориметрии при помощи Rhodamine 123 (10 μM , 20 минут на льду). Сигнал Ψ_m регистрировали при 505возб /534эмиссия нм как описано в [12].

Кальциевая буферная ёмкость митохондрий (Ca^{2+} -БЁМ), детектируемая методом флуоресценции. Измерение кальциевой буферной ёмкости (Ca^{2+} -БЁМ) осуществлялось методом флуоресценции с использованием кальций-чувствительного флуоресцентного индикатора Calcium Green 5N (1 μM , длина волны возбуждения – 506 нм, эмиссии – 532 нм) как описано в [12]. Исследования проводились на спектрофлуориметре Agilent Cary Eclipse (Agilent Technologies, США). Все эксперименты проводили в 3 мл кварцевых кюветках, при комнатной температуре и постоянном перемешивании. Концентрация митохондрий в пробе составляла 0,5 мг/мл по белку. Состав стандартной среды инкубации: 120 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 5 mM KH_2PO_4 , 5 mM глутамат, 5 mM малат, 1 mM MgSO_4 .

Статистическую обработку проводили методами однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, тест Тьюки) для множественных выборок, а также тестом Стьюдента для парных выборок. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение.

Для изучения влияния β -экдистерона на биоэнергетические процессы изолированных митохондрий, мы в первой серии экспериментов оценили окислительное фосфорилирование митохондрий в присутствии β -экдистерона и без. Для данной серии экспериментов мы выбрали 2 концентрации β -экдистерона, а именно 10 и 100 μM . Митохондрии обрабатывались экдистероном за 2 минуты до начала эксперимента. Наши эксперименты показали, что добавка экдистерона не оказывала значительного влияния ни на один из этапов окислительного фосфорилирования по Чансу, что как следствие не привело к изменению параметров ДК и АДФ/О (рисунок 1 А и Б).

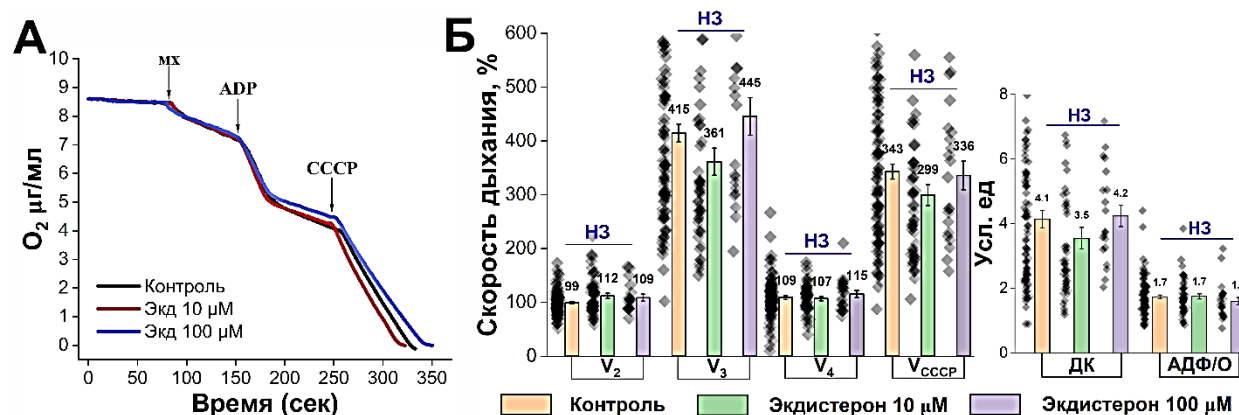


Рис. 1. Влияние β -экдистерона на окислительное фосфорилирование изолированных митохондрий печени крыс. **А.** Репрезентативные записи экспериментов; **Б.** Статистический анализ полученных данных. $n=92$ для контроля; $n=50$ для экдистерона 10 μM ; $n=18$ для экдистерона 100 μM .

НЗ – не значительно.

Во многих ранних работах отмечалось, что экдистерон оказывает стимулирующее влияние на митохондриальный мембранный потенциал, в связи с этим в следующей серии экспериментов мы изучили влияние β -экдистерона на митохондриальный мембранный потенциал ($\Delta\Psi_m$) изолированных митохондрий.

Для оценки формирования мембранного потенциала мы использовали среды инкубации без содержания метаболических субстратов. В течении первых 2 минут в эксперименте наблюдали базовый уровень мембранного потенциала, который в контроле имел тенденцию к падению и в момент первой добавки (рисунок 2. А; глутамат-малат, в концентрациях 5 и 1 mM соответственно) уровень

базового потенциала в среднем составлял 26% (0% – митохондрии полностью поляризованы, 100% – митохондрии полностью деполяризованы). Добавка глутамата-малата, в контроле, приводила к резкому увеличению (в течении 1 минуты) потенциала митохондрий, затем уровень потенциала стабилизировался на определённом уровне, в среднем на отметке 11% (рисунок 2 А и Б).

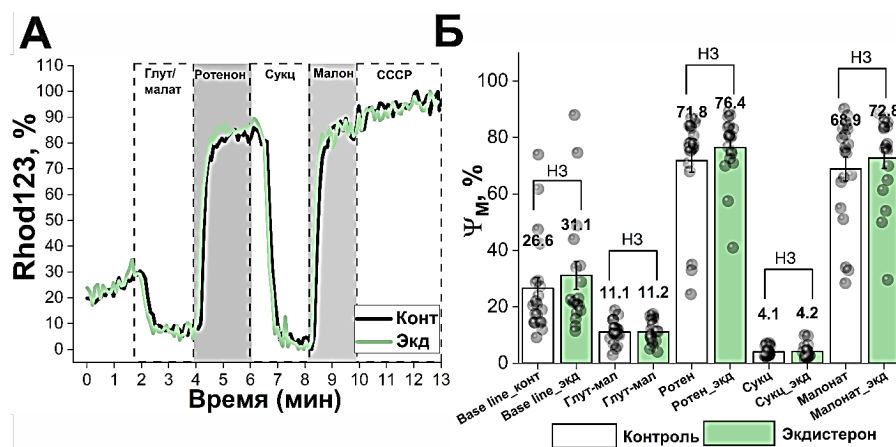


Рис. 2. Влияние β -эктистерона на формирование мембранного потенциала изолированных митохондрий печени крыс. **А.** Репрезентативные записи экспериментов, нормализованные под 100%. **Б.** Статистический анализ экспериментов. $n=20$ для контроля; $n=18$ для эктистерона 10 μM , НЗ – не значительно.

Хорошо известно, что добавка глутамата-малата способствует синтезу NADH в митохондриях, который является субстратом для комплекса I электрон транспортной цепи (ЭТЦ), в связи с этим глутамат-малат в подобных экспериментах считаются субстратами, которые в основном запускают митохондриальную биоэнергетику через комплекс I. После стабилизации Ψ_M делалась добавка ротенона – селективного ингибитора комплекса I. После добавки ротенона Ψ_M резко начинал падать, что регистрировалось как увеличение интенсивности свечения Rhod 123 (рисунок 2 А). В большинстве экспериментов эффект ротенона развивался в течении одной минуты, после чего мы давали время для стабилизации сигнала и делали добавку сукцината (рисунок 2 А). Сукцинат является субстратом для комплекса II ЭТЦ (сукцинат дегидрогеназы). При добавке сукцината Ψ_M также эффективно формировался, как и при добавке глутамата-малата, более того эффект сукцината, в качестве субстрата, формирующего потенциал в большинстве экспериментов, проявлял себя более эффективно по сравнению с глутаматом-малатом (рисунок 2 А и Б). После стабилизации сигнала, после добавки сукцината, делалась добавка малоната – ингибитора сукцинатдегидрогеназы (рисунок 2 А). Добавка малоната приводила к падению Ψ_M , после чего делалась добавка СССР, разобщителя окислительного фосфорилирования, который приводил к максимально возможной деполяризации митохондрий (рисунок 2 А).

В данной серии экспериментов мы использовали эктистерон в концентрации 10 μM . Преинкубация митохондрий с β -эктистероном (2 минуты) не оказала влияния ни на один из этапов формирования Ψ_M (рисунок 2 А и Б).

В следующей серии экспериментов мы оценили влияние эктистерона на кальциевую буферную ёмкость митохондрий (Ca^{2+} БЁМ). Данный метод характеризует пороговую концентрацию кальция, которую митохондрии могут поглотить прежде, чем откроется циклоспорин А чувствительная пора митохондрий (РТР).

В контрольных экспериментах было достаточно сделать 6 добавок Ca^{2+} по 10 μM каждая, чтобы открыть РТР (рисунок 3 А). Добавка эктистерона в разных концентрациях приводила к снижению Ca^{2+} БЁМ на 10-15% (рисунок 3 А и Б), однако последующий анализ не выявил статистической значимости между сравниваемыми группами (рисунок 3 Б). При некоторых концентрациях мы видели снижение параметра Ca^{2+} БЁМ на 15%. При проведении парного сравнения группы контроля с данными экспериментальными группами при помощи t-теста, тест показывал значимую разницу между группами. В связи с чем мы решили также провести эксперименты на фоне селективного ин-

гибитора эстрогеновых рецепторов β – РНТРР. Добавка ингибитора в контрольных экспериментах незначительно снижала Ca^{2+} БЁМ и не оказывала влияния на эффект экдистерона (рисунок 3 В и Г).

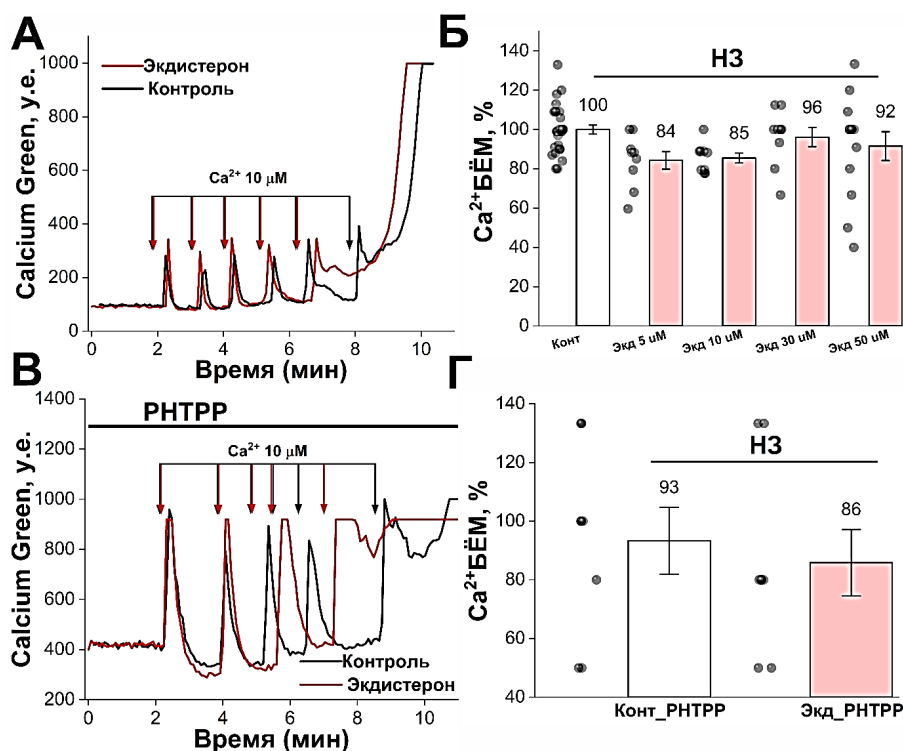


Рис. 3. Оценка влияния β экдистерона на кальцевую буферную ёмкость митохондрий. **А, В** – репрезентативные записи экспериментов; **Б, Г** – Статистический анализ экспериментов. $n=29$ для контроля; $n=9$ для экдистерона $5 \mu\text{M}$, $n=9$ для экдистерона $10 \mu\text{M}$, $n=9$ для экдистерона $30 \mu\text{M}$, $n=13$ для экдистерона 50 , $n=8$ для конт+РНТРР, $n=8$ для экдистерон+ РНТРР, НЗ – не значительно.

Заключение. Таким образом, проведенные нами эксперименты показывают, что экдистерон не оказывает значительного влияния на функциональные параметры изолированных митохондрий. Это означает, что наблюдаемые ранее эффекты на клетках и на экспериментальных животных имели не прямое влияние на митохондрии, а опосредованное.

Благодарности. Данное исследование было выполнено в рамках бюджетного финансирования Центра Передовых Технологий.

Вклад авторов в работу. Г.Ш.Г. – проведение экспериментов; С.В.Н., М.У.З. и Л.Ю.В. – ресурсы, концептуализация; Б.А.Ю. концептуализация и дизайн экспериментов, анализ данных, написание и редактирование рукописи, ресурсы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Небесная К.С. Икромова Ф.Р., Газиева Ш.Ф., Комилова Н.Р., Сыров В.Н., Баев А.Ю. (2024) β экдистерон оказывает положительное влияние на биоэнергетику нейронов и астроцитов при ротеноновой модели болезни Паркинсона. *Узбекский биологический журнал* 4: 3-8. // Nebesnaya K.S.; Ikromova F.R., Gazieva Sh. F., Komilova N.R., Syrov V.N., Baev A.Yu. (2024) β ecdysterone okazivaet polojitelnoe vliyanie na bioenergetiku neyronov I astrocytov pri rotenonovoy modeli bolezni Parkinsona. *Uzbekskiy Biologicheskij Jurnal*, 4, 3-8
2. Baev A.Y., Charishnikova O.S., Khasanov F.A., Nebesnaya K.S., Makhmudov A.R., Rakhmedova M.T., Khushbaktova Z.A., Syrov V.N., Levitskaya Y.V. (2022) Ecdysterone prevents negative effect of acute immobilization stress on energy metabolism of rat liver mitochondria. *J Steroid Biochem Mol Biol* 219: 106066. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2022.106066

3. Zou Y., Wang R., Guo H., Dong M. (2015) Phytoestrogen beta-Ecdysterone Protects PC12 Cells Against MPP⁺-Induced Neurotoxicity In Vitro: Involvement of PI3K-Nrf2-Regulated Pathway. *Toxicol Sci* 147(1): 28-38. DOI: 10.1093/toxsci/kfv111
4. Pan Z., Niu Y., Liang Y., Zhang X., Dong M. (2016) beta-Ecdysterone Protects SH-SY5Y Cells Against 6-Hydroxydopamine-Induced Apoptosis via Mitochondria-Dependent Mechanism: Involvement of p38(MAPK)-p53 Signaling Pathway. *Neurotox Res* 30(3): 453-466. DOI: 10.1007/s12640-016-9631-7
5. Xu T., Niu C., Zhang X., Dong M. (2018) beta-Ecdysterone protects SH-SY5Y cells against beta-amyloid-induced apoptosis via c-Jun N-terminal kinase- and Akt-associated complementary pathways. *Lab Invest* 98(4): 489-499. DOI: 10.1038/s41374-017-0009-0
6. Sun J., Zhao K., Zhang W., Guo C., Liu H. (2024) Ecdysterone improves oxidative damage induced by acute ischemic stroke via inhibiting ferroptosis in neurons through ACSL4. *J Ethnopharmacol* 331: 118204. DOI: 10.1016/j.jep.2024.118204
7. Xia X., Zhang Q., Liu R., Wang Z., Tang N., Liu F., Huang G., Jiang X., Gui G., Wang L., Sun X. (2014) Effects of 20-hydroxyecdysone on improving memory deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rat. *Eur J Pharmacol* 740: 45-52. DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.06.026
8. Mallek A., Movassat J., Ameddah S., Liu J., Semiane N., Khalkhal A., Dahmani Y. (2018) Experimental diabetes induced by streptozotocin in the desert gerbil, *Gerbillus gerbillus*, and the effects of short-term 20-hydroxyecdysone administration. *Biomed Pharmacother* 102: 354-361. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.03.070
9. Shuvalov O., Kirdeeva Y., Fefilova E., Daks A., Fedorova O., Parfenyev S., Nazarov A., Vlasova Y., Krasnov G.S., Barlev N.A. (2024) 20-Hydroxyecdysone Boosts Energy Production and Biosynthetic Processes in Non-Transformed Mouse Cells. *Antioxidants (Basel)* 13(11). DOI: 10.3390/antiox13111349
10. Parr M.K., Botre F., Nass A., Hengevoss J., Diel P., Wolber G. (2015) Ecdysteroids: A novel class of anabolic agents? *Biol Sport* 32(2): 169-173. DOI: 10.5604/20831862.1144420
11. Burstein S.R., Kim H.J., Fels J.A., Qian L., Zhang S., Zhou P., Starkov A.A., Iadecola C., Manfredi G. (2018) Estrogen receptor beta modulates permeability transition in brain mitochondria. *Biochim Biophys Acta Bioenerg* 1859(6): 423-433. DOI: 10.1016/j.bbabi.2018.03.006
12. Ikromova F.R., Khasanov F.A., Saidova M.J., Shokirov R.K., Gazieva S., Khadjibaev A.M., Tulyaganov D.B., Akalaev R.N., Levitskaya Y.V., Stopnitskiy A.A., Baev A.Y. (2024) Acute CCl₄-induced intoxication reduces complex I, but not complex II-based mitochondrial bioenergetics – protective role of succinate. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*. DOI: 10.1007/s10863-024-10047-6

AJRATILGAN MITOXONDRIYALARNING FUNKSIONAL PARAMETRLARIGA EKDISTERON TA'SIRINI BAHOLASH

Sh.G. Gaziyeva, V.N. Sirov, U.Z. Mirxodjayev, Yu.V. Levitskaya, A.Y. Baev

β-ekdisteron – bu tabiiy gormon bo'lib, u bo'gimoyoqlilar (arthropodlar) rivojlanishini tartibga soladi va ayrim o'simliklar tomonidan hasharotlarga qarshi himoya vositasi sifatida sintez qilinadi. Ekdisteron katta farmakologik salohiyatga ega bo'lib, mitoxondriyal disfunktsiya va oksidlovchi stress bilan bog'liq patologiyalar holatida ijobiy ta'sir ko'rsatadi. Biroq, ekdisteron mitoxondriyaga to'g'ridan-to'g'ri ta'sir ko'rsatishga qodirmo yoki yo'qmi – bu hali to'liq aniqlanmagan. Mazkur tadqiqotda biz β-ekdisteronning ajratib olingan mitoxondriyalar funksional parametrlariga ta'sirini o'rgandik. Natijalarimiz shuni ko'rsatdiki, ekdisteron oksidlovchi fosforillanish, mitoxondriyal membrana potentsialining shakllanishi va mitoxondriyadagi kalsiy gomeostazi jarayonlariga sezilarli ta'sir ko'rsatmaydi.

Kalit sozlar: β-ekdisteron, ajratib olingan mitoxondriyalar, oksidlanishli fosforillanish, mitoxondriyal membrana potentsiali, mitoxondriyal PTP porasi.

ASSESSMENT OF THE EFFECT OF ECDYSTERONE ON FUNCTIONAL PARAMETERS OF ISOLATED MITOCHONDRIA

Sh.G. Gazieva, V.N. Syrov, U.Z. Mirxodjaev, Yu.V. Levitskaya, A.Y. Baev

β-Ecdysterone is a natural hormone that regulates the development of arthropods and is synthesized by various plants as a defense mechanism against insects. Ecdysterone possesses significant pharmacological potential and exerts beneficial effects in pathologies associated with mitochondrial dysfunction and oxidative stress. However, it remains

unclear whether ecdysterone can directly affect mitochondria. In the present study, we investigated the influence of β -ecdysterone on the functional parameters of isolated mitochondria. Our findings revealed that ecdysterone does not significantly affect oxidative phosphorylation, mitochondrial membrane potential, or calcium homeostasis in isolated mitochondria.

Keywords: β -ecdysterone, isolated mitochondria, oxidative phosphorylation, mitochondrial membrane potential, mitochondrial permeability transition pore.

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НЕОРГАНИЧЕСКИХ ПОЛИФОСФАТОВ НА КАЛЬЦИЕВУЮ СИГНАЛИЗАЦИЮ ФИБРОБЛАСТОВ

¹Ф.Р. РУСТАМОВА, ¹К.С. НЕБЕСНАЯ, ¹Ш.У. ТУРДИКУЛОВА, ^{1,2}А.Ю. БАЕВ

¹Центр передовых технологий, г. Ташкент;

²Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека

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

Неорганические полифосфаты (поли-Ф) представляют собой гомополимеры, состоящие из повторяющихся остатков ортофосфата, и являются эндогенными метаболитами клеток млекопитающих. При выходе во внеклеточное пространство они способны выполнять сигнальные функции. В данном исследовании изучалось влияние поли-Ф с разной степенью полимеризации на кальциевый гомеостаз фибробластов кожи человека. Добавка поли-Ф вызывала транзистентное увеличение концентрации внутриклеточного кальция, которое зависело от присутствия внеклеточного кальция. Установлено, что с увеличением степени полимеризации поли-Ф наблюдается снижение амплитуды кальциевого сигнала, при одновременном увеличении доли клеток, реагирующих на стимул. Наблюдаемые эффекты были зависимы от ингибиторов P2X₇, P2X₄ и P2X₁ рецепторов, при этом наибольшее ингибирование кальциевого ответа наблюдалось при применении селективного ингибитора P2X₄-рецепторов.

Ключевые слова: фибробласты, пуринергическая сигнализация, неорганические полифосфаты, кальциевый гомеостаз, P2X-рецепторы.

Пуринорецепторы играют ключевую роль в кальциевой сигнализации в различных типах клеток – от нейронов до иммунных и эндотелиальных. Эти рецепторы подразделяются на две основные группы: P2X-рецепторы – это лиганд-зависимые ионные каналы, активируемые аденозинтрифосфатом (АТФ). Их активация приводит к открытию ионных каналов, через которые в клетку поступают ионы Na⁺ и Ca²⁺, а также происходит выход ионов K⁺. P2Y-рецепторы – это метаболитные рецепторы, относящиеся к семейству G-белок-связанных рецепторов (GPCR), активируемые различными нуклеотидами, включая АДФ, АТФ, УДФ и ДДФ. Их активация инициирует внутриклеточные сигнальные каскады с участием вторичных мессенджеров, таких как IP₃, DAG и cAMP.

Ранее было показано, что неорганические полифосфаты (поли-Ф) могут выполнять роль глиотрансмиттеров, реализуя сигнальные функции через метаболитные пуринорецепторы P2Y₁ [1]. Мы также показали, что в тимоцитах поли-Ф участвуют в кальциевой сигнализации и восстановлении объема клеток при гипосмотическом стрессе преимущественно через активацию ионотропных P2X-рецепторов [2]. Хорошо известно, что поли-Ф выделяются из активированных тромбоцитов и играют ключевую роль в процессах коагуляции и формировании тромба [3]. В то же время поли-Ф, выделяемый из тромбоцитов может активировать P2Y₁ рецепторы эндотелиальных клеток выстилающих стенки сосудов [4], что так же может иметь какое-то физиологическое значение.

Таким образом, было показано, что поли-Ф взаимодействуют с пуринорецепторами, модулируя их активность и влияя на кальциевую сигнализацию. Однако остается открытым вопрос: влияет ли степень полимеризации поли-Ф на их способность активировать различные типы пуринорецепторов? Несмотря на отсутствие прямых данных, предполагается, что длина цепи поли-Ф может существенно влиять на их биологическую активность, например, усиливая или ослабляя рецепторный ответ, не изменяя при этом принципиального механизма взаимодействия с рецептором.

Материалы и методы. В данной работе использовались человеческие фибробласты, полученные из Лаборатории клинической и двигательной нейрологии Института нейрологии Университетского колледжа Лондона (UCL, London). Клетки культивировали в матрасах для клеточной культуры в среде DMEM, дополненной 10% эмбриональной телячьей сыворотки (FBS) и антибиотиками, при температуре 37 °C в атмосфере с 5% CO₂. Для проведения экспериментов клетки пересевали в чашки Петри. Для регистрации кальциевых сигналов клетки загружали кальций-чувствительным красителем Fluo-4 AM (Thermo Fisher Scientific, США) в концентрации 3 μM в течение 40 минут. После загрузки клетки дважды промывали раствором Хэнкса.

В качестве среды использовался сбалансированный солевой раствор Хэнкса (HBSS) следующего состава (в мМ): 156 NaCl, 3 KCl, 2 MgSO₄, 1,25 KH₂PO₄, 2 CaCl₂, 10 глюкоза, 10 HEPES; pH доводили до 7,4 с помощью NaOH.

Для проведения экспериментов в условиях отсутствия внеклеточного кальция использовали модифицированный HBSS без CaCl₂ с добавлением 0,5 мМ ЭГТА (EGTA) для хелатации остаточного кальция. Регистрация изменений концентрации внутриклеточного кальция проводилась на флуоресцентном микроскопе Celena S (Logos Biosystems, Корея) с использованием GFP-канала (Ex/Em: ~488/525 нм). Съёмка выполнялась с частотой 1 кадр в 5 секунд. Анализ данных выполняли с использованием программы Origin Pro 2024 (OriginLab Corporation, США). Статистическую обработку проводили методами однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA, тест Тьюки). Отличия считались статистически значимыми при $p < 0,05$. В экспериментах использовались поли-Ф 100, любезно предоставленный проф. Т. Шибой, а также поли-Ф 18, 26 и 65 синтезированные и любезно предоставленные для исследования научными сотрудниками из лаборатории Клеточной физиологии и патологии, Орловского государственного университета имени И.С. Тургенева.

Результаты и их обсуждение. В настоящей работе было исследовано влияние поли-Ф разной степени полимеризации на концентрацию внутриклеточного кальция в первичных фибробластах человека. В работе использовались поли-Ф со степенью полимеризации 18, 26, 65 и 100 (остатков ортофосфорной кислоты в цепочке). В первой серии экспериментов мы использовали поли-Ф 100 в концентрациях 50, 30 и 10 мМ. В качестве положительного контроля, мы также проводили эксперименты с АДФ (10 мМ) – естественного агониста большинства P2Y рецепторов. Для нормализации амплитуды сигнала в конце каждого эксперимента делалась добавка кальциевого ионофора A23187 (10 мМ). Добавка поли-Ф 100 в концентрации 50 мМ приводила к повышению концентрации кальция в цитозоле, за которым следовало постепенное восстановление (рисунок 1 А и Б). Для оценки эффективности исследуемых веществ измерялись 2 параметра – амплитуда эффекта, а также % клеток, ответивших на добавку вещества. Анализ показал, что добавка АДФ в концентрации 10 мМ приводила в среднем к увеличению амплитуды на 70% у 90% клеток находящихся в чашке Петри (рисунок 1 Б и В). Добавка поли-Ф 100 в концентрации 50 мМ приводила к увеличению амплитуды сигнала в среднем на 54% у 67% клеток в чашке Петри (рисунок 1 Б и В). Снижение концентрации поли-Ф до 30 и 10 мМ не приводило к значимым изменениям в амплитуде ответа клеток, однако слегка снижало % ответивших клеток (рисунок 1 Б и В).

В литературе часто поднимается вопрос о разнице между эффектами поли-Ф разной степени полимеризации. В связи с этим в следующей серии экспериментов была проведена оценка влияния длины цепи полифосфатов (18, 26, 65 и 100 остатков) на кальциевую сигнализацию в фибробластах. Для всех последующих экспериментов была выбрана концентрация поли-Ф 50 мМ. Анализ амплитуды кальциевого ответа (рисунок 2А) показал, что значения амплитуд во всех группах были близки друг к другу: 66% для полифосфатов с длиной 18 остатков, 62% для 26 остатков, 60% для 65 остатков и 54% для 100 остатков. Несмотря на относительно небольшую разницу в абсолютных значениях, статистический анализ выявил достоверные различия: амплитуда сигнала при добавлении полифосфатов длиной 18 остатков была значимо выше по сравнению с полифосфатами длиной 65 и 100 остатков ($p < 0,05$). Кроме того, отмечено статистически значимое снижение амплитуды в группе с длиной 100 остатков по сравнению с длиной 65 остатков ($p < 0,05$). Также стоит отметить, что имела тенденция к повышению амплитуды кальциевого ответа со снижением степени полимеризации, однако данное наблюдение не всегда подтверждалось статистической достоверностью (рисунок 2А).

Анализ доли ответивших клеток (рисунок 2Б) не выявил статистически значимых различий между группами, однако в данном случае наблюдалось увеличение % ответивших клеток в зависимости от повышения степени полимеризации сравнивая поли-Ф 18, 26 и 65, однако эффект поли-Ф 100, в среднем был сопоставим с поли-Ф 18.

Ранее показывалось, что поли-Ф может увеличивать концентрацию внутриклеточного кальция за счет активации P2Y₁, P2X и RAGE рецепторов [1, 2, 4]. Для понимания, с какими рецепторными системами взаимодействуют поли-Ф в данном случае, мы, в первую очередь провели эксперименты в безкальциевой среде. Отсутствие кальция в среде инкубации резко снижало % ответивших клеток при добавке всех видов поли-Ф (рисунок 3 А и Б). Сравнительный анализ доли ответивших клеток

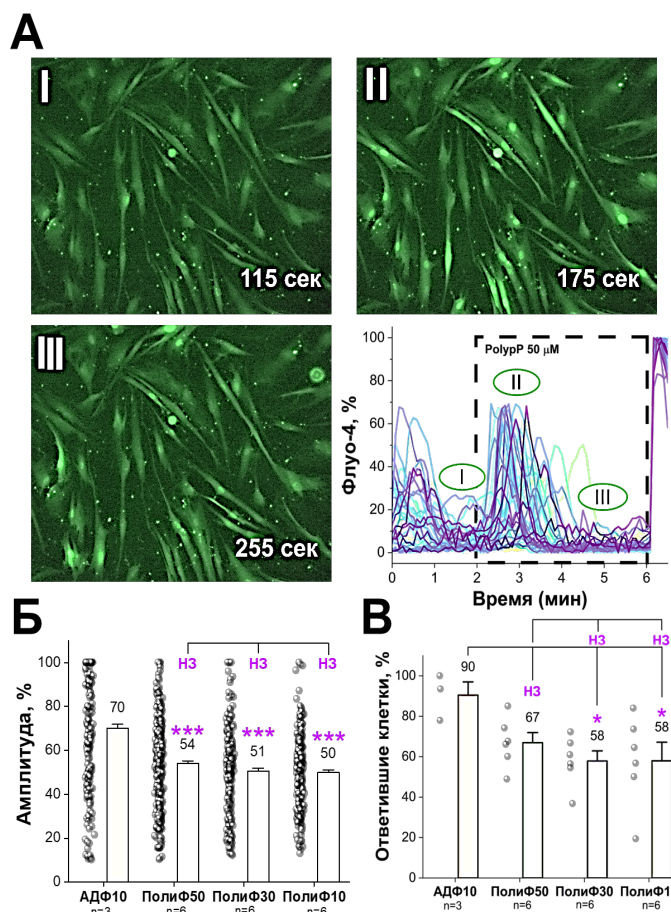


Рис. 1. Концентрационная зависимость влияния полифосфатов на кальциевую сигнализацию в фибробластах. (А) Репрезентативные изображения клеток, в разные фазы проведения эксперимента: I – базовый уровень флуоресценции; II – ответ на добавление полифосфатов; III – восстановление сигнала, а также репрезентативный график эксперимента; (Б) Средняя амплитуда кальциевого ответа клеток не различалась между концентрациями полифосфатов 50, 30 и 10 μM; каждая точка отображает амплитуду ответа одиночной клетки; В. Доля ответивших клеток (%) показала небольшие, но статистически значимые различия между группами; точками отображен % ответивших клеток в одном эксперименте (в одной чашке Петри). * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, НЗ – не значительно.

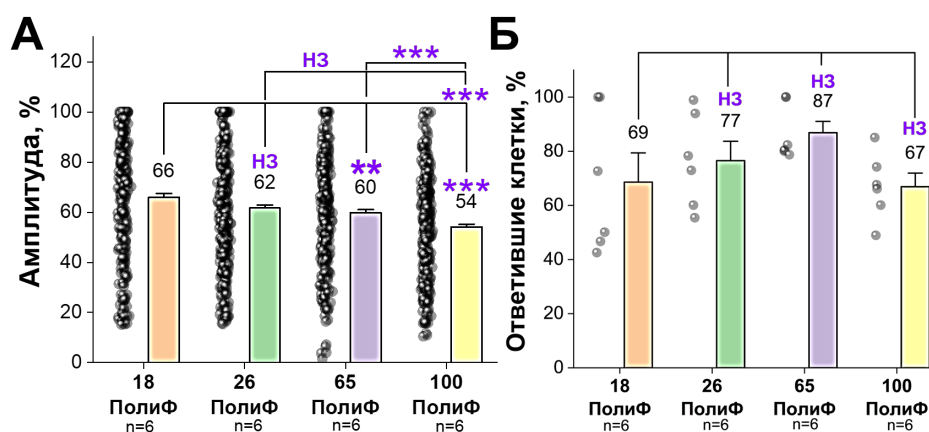


Рис. 2. Влияние длины цепи полифосфатов на кальциевую сигнализацию в фибробластах. (А) Амплитуда кальциевого ответа клеток при добавлении полифосфатов различной длины цепи (18, 26, 65 и 100). Значимые различия выявлены для цепей длиной 65 и 100, однако общая амплитуда изменений невысока. (Б) Доля ответивших клеток (%) не демонстрировала статистически значимых различий между группами с разной длиной полифосфатов. ** $p < 0,05$ и *** $p < 0,005$, НЗ – не значительно.

показал, что в стандартном растворе Хэнкса ответ наблюдался у 67% клеток. В безкальциевых условиях эта доля резко снижалась и составляла: 1,2% для поли-Ф 100, 7,5% для поли-Ф 18, 6,8% для поли-Ф 26 и 2% для поли-Ф 65 (рисунок 3 Б). При этом статистически значимых различий между группами полифосфатов не наблюдалось.

Данный эксперимент подразумевает, что при добавке поли-Ф, кальций в цитоплазму поступает из межклеточного пространства, что исключает участие метаболитных рецепторов. В связи с этим, для выявления связи наблюдаемых эффектов с пуринорецепторами мы применили ингибиторы некоторых P2X пуринорецепторов. В следующей серии экспериментов были применены ингибиторы к P2X1 (NF 449), P2X4 (5-BDBD) и P2X7 (A-438079), рецепторов, которые наиболее проницаемы для ионов кальция среди всего семейства P2X. Для данной серии экспериментов использовался поли-Ф 100 в концентрации 50 мкМ.

Применение всех вышеперечисленных ингибиторов приводило к значительному снижению % ответивших клеток. Наибольший эффект наблюдался при применении ингибитора P2X4. На фоне 5-BDBD эффект поли-Ф уменьшался с 67% ответивших клеток до 16% (рисунок 3 В и Г). Однако стоит отметить, что амплитуда ответивших 16% клеток никак не изменилась (не показано на рисунке).

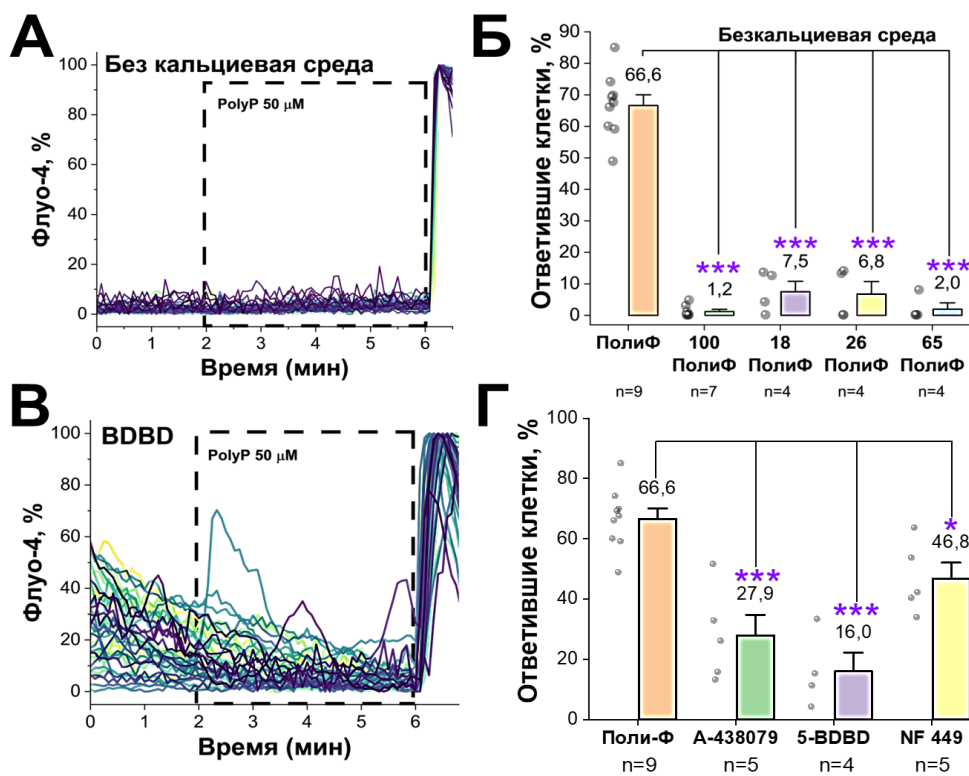


Рис. 3. Влияние безкальциевой среды и ингибиторов пуринорецепторов на кальцевый ответ фибробластов, индуцированный поли-Ф. (А) Репрезентативные записи в безкальциевой среде при добавлении полифосфатов (PolyP 50 мкМ), где ответ клеток отсутствует. (Б) Доля ответивших клеток (%) в безкальциевой среде значительно ниже по сравнению с контрольной группой с кальцием. (В) Репрезентативные кальцевые сигналы при обработке ингибитором 5-BDBD, где наблюдается выраженное снижение ответа. (Г) Доля ответивших клеток (%) при добавлении различных ингибиторов пуринорецепторов: А-438079 (P2X7), 5-BDBD (P2X4) и NF 449 (P2X1). Во всех случаях отмечено значительное уменьшение числа ответивших клеток по сравнению с контрольной группой (поли-Ф). Статистическая обработка данных проведена методами ANOVA (тест Тьюки). Значимые различия отмечены: ** $p < 0,05$; *** $p < 0,001$.

Применение ингибитора P2X1 (NF449) снижало % ответивших клеток до 47, а ингибитора P2X7 (A-438079) до 28%. Эти данные подтверждают вовлечённость рецепторов P2X-подтипа, особенно P2X4 и P2X7, в формировании кальциевого ответа, индуцированного полифосфатами. Наше исследование показывает, что поли-Ф могут взаимодействовать не только с P2Y1R, но и с другими пуриnergическими рецепторами, возможно, в зависимости от профиля их экспрессии в разных клетках.

Благодарности. Данное исследование было выполнено при поддержке гранта №ФЗ-2020100418.

Вклад авторов в работу. Р.Ф.Р. – проведение экспериментов, анализ данных, подготовка рисунков к публикации; К.С.Н. – культивирование фибробластов; Т.Ш.У. – концептуализация, ресурсы; Б.А.Ю. – концептуализация и дизайн экспериментов, написание и редактирование рукописи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Holmstrom K.M., Marina N., Baev A.Y., Wood N.W., Gourine A.V., Abramov A.Y. (2013) Signalling properties of inorganic polyphosphate in the mammalian brain. *Nat Commun* 4: 1362. DOI: 10.1038/ncomms2364
2. Nebesnaya K.S., Makhmudov A.R., Rustamov K.R., Rakhmatullina N.S.H., Rustamova S.I., Mirkhodjaev U.Z., Charishnikova O.S., Sabirov R.Z., Baev A.Y. (2024) Inorganic polyphosphate regulates functions of thymocytes via activation of P2X purinoreceptors. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1868(1): 130523. DOI: 10.1016/j.bbagen.2023.130523
3. Morrissey J.H. (2017) Poly-P as Modulator of Hemostasis, Thrombosis, and Inflammation. *Blood* 130(Suppl 1): SCI-1-SCI-1.
4. Dinarvand P., Hassanian S.M., Qureshi S.H., Manithody C., Eissenberg J.C., Yang L., Rezaie A.R. (2014) Polyphosphate amplifies proinflammatory responses of nuclear proteins through interaction with receptor for advanced glycation end products and P2Y1 purinergic receptor. *Blood* 123(6): 935-945. DOI: 10.1182/blood-2013-09-529602

NOORGANIK POLIFOSFATLARNING FIBROBLASTLARDA KALSIY SIGNALLASHUVIGA TA'SIRINI O'RGANISH

F.R. Rustamova, K.S. Nebesnaya, Sh.U. Turdikulova, A.Y. Baev

Noorganik polifosfatlar (Poli-F) takrorlanib turadigan ortofosfat qoldiqlaridan iborat gomopolimerlar bo'lib, sut emizuvchilar hujayralarining endogen metabolitlaridir. Hujayra tashqarisidagi bo'shliqqa chiqishda ular signal funksiyalarini bajarishga qodir. Ushbu tadqiqotda turli darajadagi polimerizatsiyaga ega Poli-F ning inson terisi fibroblastlarining kalsiy gomeostaziga ta'siri o'rganildi. Poli-F qo'shilishi hujayra ichidagi kalsiy konsentratsiyasining tranzitor oshishiga olib keldi, bu hujayra tashqarisidagi kalsiy mavjudligiga bog'liq edi. Poli-F polimerlanish darajasining ortishi bilan kalsiy signal amplitudasining pasayishi, shu bilan birga stimulga javob beradigan hujayralar ulushining ortishi aniqlandi. Kuzatilgan ta'sirlar P2X7, P2X4 va P2X1 retseptorlari ingibitorlariga bog'liq bo'lib, P2X4 retseptorlari selektiv ingibitori qo'llanilganda kalsiy javobining eng ko'p ingibirlanishi kuzatildi.

Tayanch so'zlar: fibroblastlar, purinergik signalizatsiya, anorganik polifosfatlar, kalsiy gomeostazi, P2X-retseptorlar.

STUDY OF THE EFFECT OF INORGANIC POLYPHOSPHATES ON CALCIUM SIGNALING IN FIBROBLASTS

F.R. Rustamova, K.S. Nebesnaya, S.U. Turdikulova, A.Y. Baev

Inorganic polyphosphates (polyP) are homopolymers composed of repeating orthophosphate residues and are endogenous metabolites in mammalian cells. Upon release into the extracellular space, they are capable of exerting signaling functions. In this study, we investigated the effects of polyP with varying chain lengths on calcium homeostasis in human dermal fibroblasts. Application of polyP induced a transient increase in intracellular calcium concentration, which was dependent on the presence of extracellular calcium. It was found that as the degree of polymerization of polyP increased, the amplitude of the calcium signal decreased, while the proportion of responding cells increased. The observed effects were modulated by inhibitors of P2X7, P2X4, and P2X1 receptors, with the most pronounced inhibition of the calcium response observed upon application of a selective P2X4 receptor antagonist.

Keywords: fibroblasts, purinergic signaling, inorganic polyphosphates, calcium homeostasis, P2X receptors.

ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ПОЛИФОСФАТА НА ЧАСТОТУ И АМПЛИТУДУ СОКРАЩЕНИЙ ПЕРВИЧНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ: РОЛЬ ПУРИНОРЕЦЕПТОРОВ

Г.В. МАКСИМЧЕВА^{1,2}, Х.Р. РУСТАМОВ², Р.З. САБИРОВ¹, А.Ю. БАЕВ^{2,3}

¹Институт биофизики и биохимии при НУУз им. М. Улугбека;

²Центр передовых технологий, г. Ташкент;

³Национальный университет Узбекистана им. М. Улугбека

Неорганические полифосфаты (поли-Ф), попадая во внеклеточное пространство, могут выполнять роль сигнальных молекул, через активацию некоторых пуринорецепторов. Ранее нами было показано, что поли-Ф, аналогично АТФ, способен вызывать как повышение, так и снижение частоты клеточных сокращений (ЧКС) в разных кардиомиоцитах из одной популяции клеток. В настоящем исследовании, при помощи ингибиторного анализа, нами показано, что некоторые ингибиторы пуринорецепторов, в частности P2Y1 и P2X4, значительно подавляют ответ клеток, реагирующих увеличением ЧКС на добавку поли-Ф. В то же время ингибиторы не влияли на эффект снижения ЧКС, индуцированный поли-Ф, что указывает на участие иных сигнальных механизмов в наблюдаемых эффектах.

Ключевые слова: Неонатальные кардиомиоциты, сократимость кардиомиоцитов, неорганические полифосфаты, пуринорецепторы.

Неорганические полифосфаты (поли-Ф) – это линейные полимеры остатков ортофосфорной кислоты, которые внутри клетки участвуют в процессах клеточной биоэнергетики [1]. Поли-Ф участвуют в регуляции активности ферментов в раковых клетках [2], секретируются тромбоцитами и являются мощным модулятором свертывания крови [3], регуляции митохондриального транспорта ионов [4] и регуляции активности дыхательной цепи [1, 5]. По литературным данным известно, что поли-Ф действуют через активацию пуринорецепторов. Так, в астроцитах было показано действие поли-Ф через активацию P2Y1 пуринорецепторов, а в тимоцитах поли-Ф действуют через P2X пуринорецепторы [6, 7]. В сердечно-сосудистой системе P2-пуринорецепторы присутствуют на поверхности кардиомиоцитов предсердий, желудочков, проводящей системы сердца, в эндотелии и гладкомышечных клетках стенок сосудов. Ранее нами было показано, что поли-Ф оказывают существенное влияние на способность первичных кардиомиоцитов к спонтанному сокращению [8]. Нами было обнаружено, что клетки, которые культивировались вместе, могли по-разному отвечать как на АТФ, так и на поли-Ф. В своей работе мы выделили 4 субпопуляции клеток в зависимости от их ответа на добавку поли-Ф, а именно: клетки, отвечавшие повышением частоты клеточных сокращений (ЧКС) и повышением амплитуды, повышением ЧКС и понижением амплитуды, понижением ЧКС и повышением амплитуды, понижением ЧКС и понижением амплитуды [8]. Для того, чтобы разобраться в механизмах наблюдаемых эффектов, в настоящей работе нами был применен ряд ингибиторов, блокирующих проведение сигнала через метаболитные рецепторы и некоторые пуринорецепторы.

Материалы и методы. Эксперименты над животными проводились в строгом соответствии с рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментах или других целях (Страсбург, 1986 г.) и ARRIVE (<https://arriveguidelines.org>) и были одобрены Комитетом по биоэтике Института биофизики и биохимии (разрешение ВЕС/IBB-NUU/2024/12-1). В данной работе мы использовали сбалансированный солевой раствор Хенкса (HBSS) следующего состава (в mM): 156 NaCl; 3 KCl; 2 CaCl₂; 2 MgSO₄; 1,25 KH₂PO₄; 10 HEPES; 10 глюкозы; pH 7,4. Все реактивы имели квалификацию «х.ч.» или «ч.д.а.». Кардиомиоциты получали из сердец неонатальных крыс с использованием набора для выделения первичных кардиомиоцитов Pierce™ (кат. номер 88281 ThermoFisher Scientific), согласно протоколу производителя. Вкратце, сердца неонатальных крыс извлекали и измельчали на мелкие кусочки 1–3 мм. Полученные фрагменты ткани инкубировали в течение 20–30 мин в растворе фермента при постоянном помешивании при 37° С. Затем надосадочную жидкость удаляли и оставшиеся фрагменты промывали дважды ледяным

раствором HBSS. Далее, фрагменты аккуратно дезинтегрировали пипетированием в среде ДМЕМ с добавлением 10% FBS и 1% раствора антибиотиков. Полученную суспензию клеток высевали на покровные стекла 3×10 мм и инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO_2 . Через 24 часа заменяли среду на аналогичную, содержащую добавку для роста кардиомиоцитов, предусмотренную протоколом для выделения.

Регистрацию клеточных сокращений производили при помощи видеомикроскопии в сочетании с программным обеспечением для анализа изображений как описано в [8]. Частоту сокращений также контролировали и определяли визуально. Цифровую обработку фрагментов записей проводили программой ImageJ 1.52 (NIH, LOCI, Университет Висконсин, США) и плагина Myocyter v.1.3 [9]. Статистический анализ полученных результатов проводили с использованием программы Origin Pro 2024 (Microcal Software Inc., Northampton MA). Статистическую значимость отличий оценивали при помощи метода ANOVA и критерия Фридмана, для зависимых выборок, не отвечающих нормальному распределению; сравнение независимых парных выборок производили при помощи теста Стьюдента. Отличия считались статистически достоверными при $p \leq 0,05$. Данные представлены как среднее \pm стандартная ошибка, для n экспериментов.

Результаты и их обсуждение. Ранее нами было показано, что внеклеточный поли-Ф может увеличивать концентрацию внутриклеточного кальция ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$) посредством активации P2Y1 [6, 10], P2X [7], RAGE рецепторов [10], модуляции активности кальциевых каналов [11] и др. В настоящей работе нашей основной гипотезой являлось предположение, что эффекты поли-Ф на ЧКС и амплитуду клеточных сокращений, которые мы наблюдали ранее, опосредованы его способностью увеличивать концентрацию $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$ посредством активации тех или иных рецепторных систем. В связи с этим в настоящей работе мы использовали: а) ингибитор фосфолипазы C (U-73122), который ограничивает инозитолтрифосфат (IP_3)-опосредованный путь увеличения $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$, что сопряжено с активацией некоторых метаболитных рецепторов; б) селективный ингибитор P2Y₁ рецептора – MRS 2179; в) PPADS – неселективный ингибитор P2X рецепторов (с IC₅₀ для P2X₁, P2X₂, P2X₃, P2X₅ примерно 1–2,6 μM); г) селективный ингибитор P2X₄ рецептора – BAY-1797.

В первой серии экспериментов нами был использован ингибитор фосфолипазы C – U-73122 (U-73) (рис. 1). Применение только одного U-73122 не приводило к статистически значимым изменениям ЧКС и амплитуды. Добавка 10 μM поли-Ф на фоне U-73122 приводила к снижению ЧКС (рис. 1 А, Б и В) в той же мере, как и в случае с контрольными экспериментами [8]. В последующем анализе мы разделили клетки в зависимости от того, как они отвечали на добавку поли-Ф и сравнили с контрольными экспериментами. Добавка U-73 приводила к снижению процента клеток, которые отвечали повышением ЧКС и клеток, которые никак не отвечали на добавку поли-Ф, что соответственно привело к росту доли клеток, которые отвечали понижением ЧКС (рис. 1 Г). Однако из-за большого разброса данных различия между группами не имели статистической достоверности (рис. 1 Г). Оценка амплитуды не выявила каких-либо отличий между контрольными и экспериментальными клетками (рис. 1 Д).

В следующей серии экспериментов мы использовали ингибиторы к P2Y1 и P2X4 рецепторам, а также ингибитор пуринорецепторов широкого спектра действия PPADS. Нами было показано, что добавка поли-Ф на фоне MRS 2179 приводила исключительно к понижению ЧКС, т.е. полностью исчезли субпопуляции клеток, которые отвечали повышением ЧКС и не отвечали на добавку поли-Ф вовсе (рисунок 2 А). Эффект MRS 2179 никак не отразился на амплитуде ответов клеток (рисунок 2 Б).

Схожий эффект наблюдался на фоне BAY-1797, но не на фоне PPADS (рисунок 2 В–Е). На фоне PPADS наблюдалась тенденция к снижению доли клеток, которые отвечали повышением амплитуды, но данные эффекты не имели статистической достоверности (рисунок 2 В).

Для последующего анализа мы построили диаграмму рассеяния, учитывая ответы клеток по 2 параметрам одновременно – ЧКС и амплитуду, как было показано ранее [8]. Таким образом, у нас образовалось 4 кластера клеток – отвечавшие повышением ЧКС и повышением амплитуды, повышением ЧКС и понижением амплитуды, понижением ЧКС и повышением амплитуды, понижением ЧКС и понижением амплитуды (рисунок 3). Наши данные показывают, что применение U-73 и PPADS сильно снижало долю клеток в правом нижнем и верхних кластерах, показывающих клетки, которые отвечали увеличением ЧКС и снижением амплитуды и увеличением ЧКС и увеличением

амплитуды, соответственно (рисунок 3 В и Д). Применение MRS 2179 и BAY-1797 полностью элиминировало клетки, которые отвечали повышением ЧКС, т.е. все клетки в правой части диаграммы (рисунок 3 Г и Е). Если рассматривать эффект ингибиторов на амплитуду ответов, то наибольший ингибирующий эффект проявлялся у MRS 2179. На фоне данного ингибитора только 27% клеток были локализованы в левом верхнем углу гистограммы (понижение ЧКС и повышение амплитуды) и соответственно в данных условиях 73% клеток отвечали понижением ЧКС и понижением амплитуды (рисунок 3 Г)

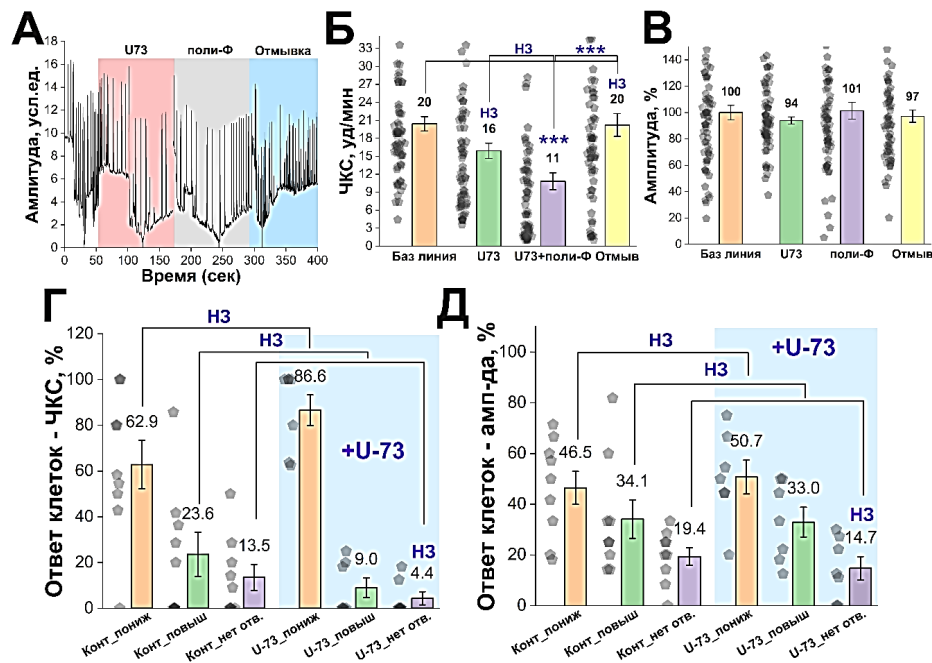


Рис. 1. Влияние поли-Ф на сократительную активность кардиомиоцитов на фоне ингибитора фосфолипазы С и неселективного антагониста P2 рецепторов. **А.** Репрезентативная запись экспериментов; **Б–В.** Влияние поли-Ф на ЧКС и амплитуду клеточных сокращений в присутствии ингибитора фосфолипазы С; **Г–Д.** Разделение клеток на 3 кластера в зависимости от ответа на добавку поли-Ф и сравнение с контрольными экспериментами. N=21, n=99 для контрольных экспериментов и N=13, n=66 для экспериментов с U-73122 (N – чашки, n – количество клеток, которые вошли в статистику. *** – $p \leq 0,001$, НЗ – не значительно).

Заключение. В настоящей работе нами было изучено влияние экзогенного поли-Ф на ЧКС и амплитуду клеточных сокращений первичных кардиомиоцитов в присутствии различных ингибиторов пуринорецепторов. Ранее нами было обнаружено, что поли-Ф, как и АТФ, могут вызывать противоположные эффекты в разных кардиомиоцитах из одной клеточной популяции. Применение ингибиторов имело значительное влияние на клетки, которые отвечали повышением ЧКС в ответ на добавку поли-Ф. Ингибиторы P2Y1 и P2X4 рецепторов имели наибольшую эффективность. Однако стоит отметить, что применяемые ингибиторы не оказывали влияния на эффект поли-Ф, приводящий к снижению ЧКС. Хорошо известно, что активация некоторых P2Y пуринорецепторов (подтипов 12, 13 и 14) приводит к ингибированию аденилатциклазы. Из литературных данных известно, что активация P2Y12 и P2Y13 может приводить к снижению частоты клеточных сокращений [12]. В связи с этим, в будущих работах мы планируем проверить гипотезу о возможной активации P2Y12 и P2Y13 рецепторов поли-Ф, а также как ингибирование активности P2Y12 и P2Y13 рецепторов будет влиять на ЧКС кардиомиоцитов в присутствии поли-Ф.

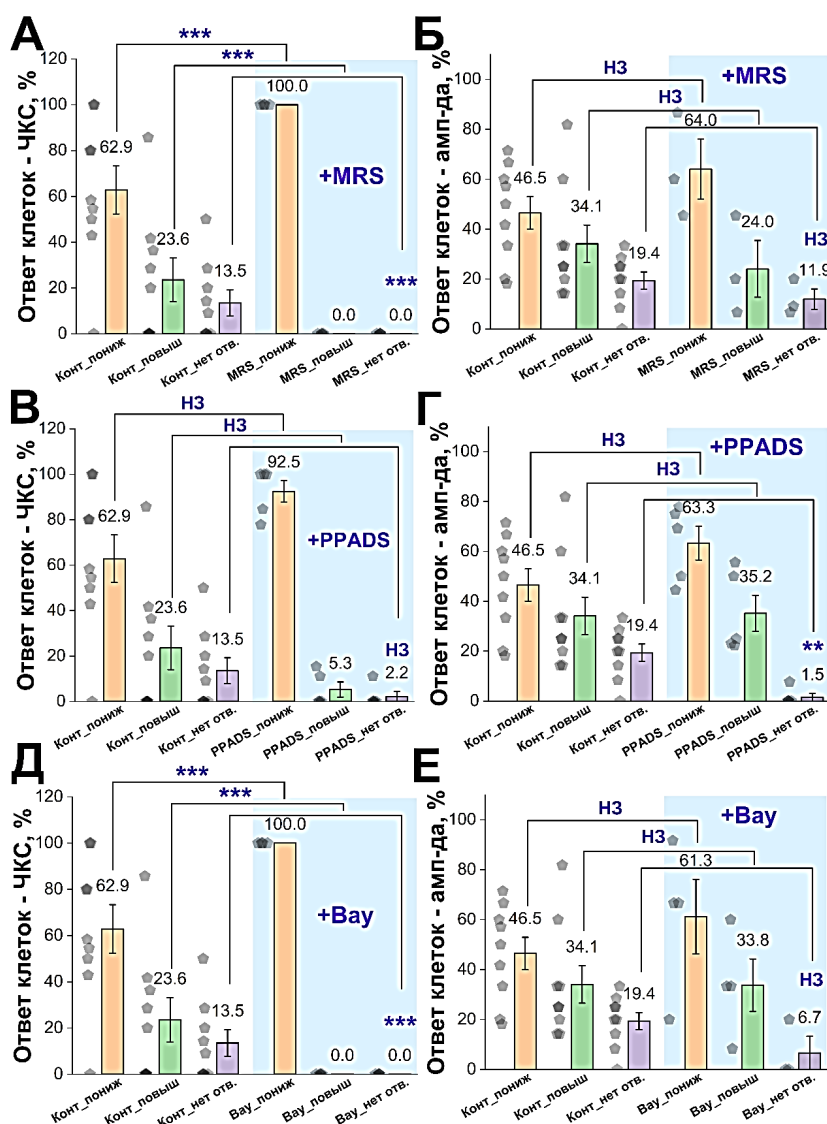


Рис. 2. Влияние поли-Ф на сократительную активность кардиомиоцитов на фоне ингибиторов некоторых пуринорецепторов. Разделение клеток на 3 кластера в зависимости от ответа на добавку поли-Ф и сравнение с контрольными экспериментами для MRS 2179 (А-Б), PPADS (В-Г) и BAY-1797 (Д-Е). N=21, n=99 для контрольных экспериментов; N=8, n=43 для экспериментов MRS 2179; N=7, n=47 для экспериментов с PPADS; N=6, n=23 для экспериментов с BAY-1797 (N – чашки, n – количество клеток, которые вошли в статистику). *** – $p \leq 0,001$, ** – $p \leq 0,01$ H3 – не значительно.

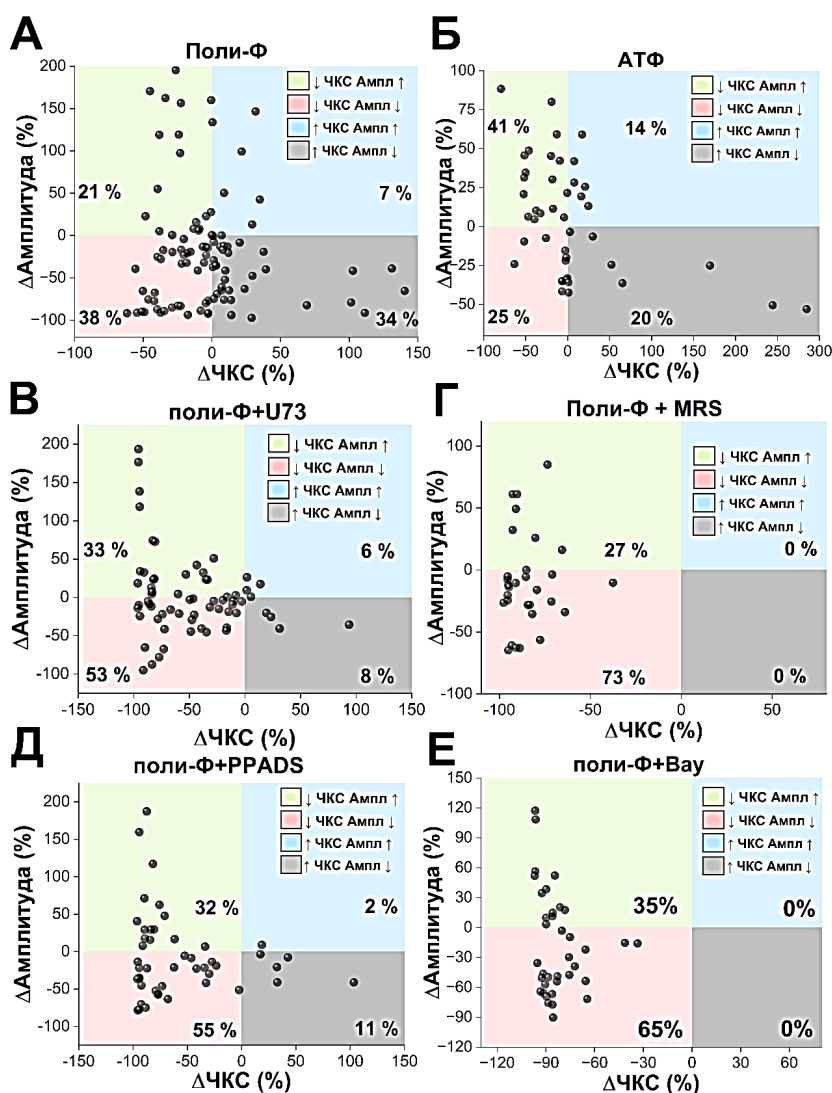


Рис. 3. Сравнительный анализ различных субпопуляций клеток в ответ на добавки поли-Ф (А) и АТФ (Б), на фоне различных ингибиторов (В-Е).

Финансирование. Данная работа была выполнена при поддержке гранта № ФЗ-20200929214 (А.Ю.Б.) Фонда финансирования науки и поддержки инновации Республики Узбекистан.

Конкретный вклад авторов. М.Г.В. – выполнение экспериментов, подготовка рисунков, написание рукописи. Р.Х.Р. – анализ данных, подготовка рисунков, С.Р.З. – концептуализация, редактирование рукописи; Б.А.Ю. – концептуализация и дизайн экспериментов, анализ данных, подготовка рисунков, написание и редактирование рукописи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Baev A.Y., Abramov A.Y. (2022) Inorganic Polyphosphate and F0F1-ATP Synthase of Mammalian Mitochondria. *Prog Mol Subcell Biol* 61: 1-13. DOI: 10.1007/978-3-031-01237-2_1
2. Wang L., Fraley C.D., Faridi J., Kornberg A., Roth R.A. (2003) Inorganic polyphosphate stimulates mammalian TOR, a kinase involved in the proliferation of mammary cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 100(20): 11249-11254. DOI: 10.1073/pnas.1534805100
3. Morrissey J.H., Smith S.A. (2015) Polyphosphate as modulator of hemostasis, thrombosis, and inflammation. *J Thromb Haemost* 13 Suppl 1: 92-97. DOI: 10.1111/jth.12896
4. Baev A.Y., Negoda A., Abramov A.Y. (2017) Modulation of mitochondrial ion transport by inorganic polyphosphate – essential role in mitochondrial permeability transition pore. *J Bioenerg Biomembr* 49(1): 49-55. DOI: 10.1007/s10863-016-9650-3

5. Pavlov E., Aschar-Sobbi R., Campanella M., Turner R.J., Gomez-Garcia M.R., Abramov A.Y. (2010) Inorganic polyphosphate and energy metabolism in mammalian cells. *J Biol Chem* 285(13): 9420-9428. DOI: 10.1074/jbc.M109.013011
6. Holmstrom K.M., Marina N., Baev A.Y., Wood N.W., Gourine A.V., Abramov A.Y. (2013) Signalling properties of inorganic polyphosphate in the mammalian brain. *Nat Commun* 4: 1362. DOI: 10.1038/ncomms2364
7. Nebesnaya K.S., Makhmudov A.R., Rustamov K.R., Rakhmatullina N.S.H., Rustamova S.I., Mirkhodjaev U.Z., Charishnikova O.S., Sabirov R.Z., Baev A.Y. (2024) Inorganic polyphosphate regulates functions of thymocytes via activation of P2X purinoreceptors. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1868(1): 130523. DOI: 10.1016/j.bbagen.2023.130523
8. Максимчева Г.В. Рустамов.Х.Р., Сабиров Р.З., Баев А.Ю. (2025) Влияние неорганических полифосфатов и АТФ на сократительную активность кардиомиоцитов неонатальных крыс. *Узбекский биологический журнал* 3: 17-22. // Maksimcheva G.V. Rustamov K.R., Sabirov R.Z., Baev A.Y. (2025) Vliaynie neorganicheskikh polifosfatov i ATF na sokratitelnyy aktivnost kardiomiocitov neonatalnih kris. *Uzbekskiy biologicheskij jurnal* 3: 17–22
9. Grune T., Ott C., Haseli S., Hohn A., Jung T. (2019) The “MYOCYTER” – Convert cellular and cardiac contractions into numbers with ImageJ. *Sci Rep* 9(1): 15112. DOI: 10.1038/s41598-019-51676-x
10. Dinarvand P., Hassanian S.M., Qureshi S.H., Manithody C., Eissenberg J.C., Yang L., Rezaie A.R. (2014) Polyphosphate amplifies proinflammatory responses of nuclear proteins through interaction with receptor for advanced glycation end products and P2Y1 purinergic receptor. *Blood* 123(6): 935-945. DOI: 10.1182/blood-2013-09-529602
11. Gawri R., Bielecki R., Salter E.W., Zelinka A., Shiba T., Collingridge G., Nagy A., Kandel R.A. (2021) The anabolic effect of inorganic polyphosphate on chondrocytes is mediated by calcium signalling. *J Orthop Res*. DOI: 10.1002/jor.25032
12. Villanueva-Castillo B., Rivera-Mancilla E., Haanes K.A., MaassenVanDenBrink A., Villalon C.M. (2020) The role of purinergic P2Y(12) and P2Y(13) receptors in ADPbetaS-induced inhibition of the cardioaccelerator sympathetic drive in pithed rats. *Purinergic Signal* 16(1): 73-84. DOI: 10.1007/s11302-020-09689-z

ЕКЗОГЕН ПОЛИФОСФАТНИНГ БИРЛАМЧИ КАРДИОМИОЦИТЛАР ҚИСҚАРИШ ЧАСТОТАСИ ВА АМПЛИТУДАСИГА ТА’СИРИ: PURINORETSEPTORLARНИНГ РОЛИ

G.V. Maksimcheva, X.R. Rustamov, R.Z. Sabirov, A.Yu. Bayev

Anorganik polifosfatlar (poli-F) hujayradan tashqari bo‘shliqqa tushib, ba’zi purin retseptorlarini faollashtirish orqali signal molekulari vazifasini bajarishi mumkin. Ilgari biz poli-F, ATF kabi, bitta kardiomiotsit hujayralar populyatsiyasidan turli xil hujayra qisqarish chastotasining (HQCH) o‘zgarishiga olib kelishi mumkinligini ko‘rsatdik (ham oshishiga, ham pasayishi). Ushbu tadqiqotda, ingibitor tahlili yordamida, biz purin retseptorlarining ba’zi ingibitorlari, xususan, P2Y1 va P2X4 poli-F qo‘shimchasiga HQCHni oshirish bilan javob beradigan hujayralarning javobini sezilarli darajada bostirishini ko‘rsatdik. Shu bilan birga, ingibitorlar poli-F tomonidan qo‘zg‘atilgan HQCHni kamaytirishiga ta’sir qilmadi, bu esa kuzatilgan ta’sirlarda boshqa signal mexanizmlarining ishtirokini ko‘rsatadi.

Kalit so‘zlar: Neonatal kardiomiotsitlar, kontraktillik, Noorganik polifosfatlar, purinoreceptorlar.

EFFECT OF EXOGENOUS POLYPHOSPHATE ON THE FREQUENCY AND AMPLITUDE OF CONTRACTIONS IN PRIMARY CARDIOMYOCYTES: ROLE OF PURINORECEPTORS

G.V. Maksimcheva, Kh.R. Rustamov, R.Z. Sabirov, A.Yu. Baev

Inorganic polyphosphates (polyP), upon entering the extracellular space, can act as signaling molecules through the activation of certain purinergic receptors. In our previous studies, we demonstrated that polyP, similar to ATP, is capable of causing both an increase and a decrease in the frequency of cellular contractions (CCF) in different cardiomyocytes from the same cell population. In the present study, using inhibitor analysis, we show that certain purinoreceptor inhibitors, specifically those targeting P2Y1 and P2X4 receptors, significantly suppress the response of cells that react to polyP addition with an increase in CCF. At the same time, the inhibitors had no effect on the polyP-induced decrease in CCF, indicating the involvement of other signaling mechanisms in the observed effects.

Keywords: Neonatal cardiomyocytes, contractility, inorganic polyphosphates, purinoreceptors.

ЗООЛОГИЯ

КЛОПЫ *SCANTIUS AEGYPTIUS* L. И *PYRRHOCORIS APTERUS* L. В УЗБЕКИСТАНЕ

А.Г. КОЖЕВНИКОВА

Ташкентский государственный аграрный университет

Автор для переписки: gnadezhda03@gmail.com

В статье представлены материалы по семейству красноклопов – Pyrrhocoridae обитаемые в Узбекистане. Приведены их морфологические, биологические и экологические особенности, систематическое положение, распространение, вредоносность.

Ключевые слова: Красноклопы, египетский красноклоп, *Scantius aegyptius* L., красноклоп бескрылый, *Pyrrhocoris apterus* L.

Введение. Учёные Узбекистана обратили внимание на тот факт, что происходит расширение жизненных ареалов некоторых вредителей и усиление их вредоносности. К таким вредителям и относятся клопы, повреждающие сельскохозяйственные растения [1,2].

Все представители отряда Hemiptera, к которому относится семейство красноклопы (Pyrrhocoridae), мелкие или средних размеров насекомые, класса Insecta.

Из-за особенностей строения передней пары крыльев представителей отряда Hemiptera, они получили название полужесткокрылые. Вершинная часть передней пары крыльев, более-менее прозрачная и составляет перепонку. Оставшаяся часть передних крыльев кожистая, непрозрачная и подразделяется на два отдела кориум и клавус. Это полунадкрылья или гемизелитры. Строение полунадкрыльев является важным систематическим признаком и имеет существенное значение для классификации и диагностики видов полужесткокрылых насекомых. Крылья в покое у клопов сложены на спине плоско.

У представителей отряда Hemiptera, хорошо развита переднегрудь, прикрытая сверху крупной переднеспинкой. Переднегрудь сочленена с остальной частью груди немного подвижно. Среднегрудь, если смотреть сверху, то при сложенных полунадкрыльях, представлена треугольным щитком.

У взрослых насекомых (имаго) заднегрудь снизу имеет пахучие железы, открывающиеся около задних тазиков ног, у личинок пахучие железы открываются на брюшке [3].

Г.Я. Бей-Биенко отмечает, что по особенностям строения ротовых органов, с членистым хоботком (нижняя губа обычно состоит из 3-4 члеников), и по некоторым другим признакам – таким как телотрофический тип яйцевых трубочек самки, присутствие всего лишь 4 мальпигиевых сосудов и пр., клопы близки к равнокрылым и нередко объединяются с ними в общий отряд на правах подотряда. Однако есть и существенные отличия: они заключаются в неоднородности передних крыльев, ином прикреплении хоботка, в сильном развитии переднеспинки, в присутствии пахучих желез, в строении кишечника, лишённого фильтрационной камеры и в других признаках [3].

Поэтому большинство систематиков считает полужесткокрылых самостоятельным отрядом.

Количество видов полужесткокрылых тоже довольно большое. Их насчитывается более 40000 видов [3]. В Узбекистане известно более 400 видов.

Материалы и методы.

Для сбора и анализа материала использовались общепринятые энтомологические методы, включая визуальные наблюдения, ловушки различных типов (клеевые, световые), а также методы лабораторного культивирования и морфологического анализа.

Результаты исследований.

Полужесткокрылые это насекомые с неполным превращением, имеют всего 3 фазы развития: яйцо, личинка, имаго. Большинство полужесткокрылых развивается в году в одном поколении.

Полужесткокрылые в Узбекистане обитают повсюду: в воде, в почве, в растительных остатках и подстилке, они живут открыто на растениях, под корой и могут проникать в жилище человека и постройки для животных.

Большую часть фауны представителей этого отряда составляют растительноядные виды, поэтому среди них много вредителей сельскохозяйственных растений.

Кроме того, имеются хищные виды, питающиеся членистоногими, их используют в биологическом методе борьбы с вредителями. Есть кровососы, паразиты, питающиеся кровью птиц, различных млекопитающих и человека.

Можно сказать, что среди полужесткокрылых есть вредители культурных растений и полезные для нас виды – истребители сельскохозяйственных вредителей.

Все наземные виды живут открыто на растениях или обитают под корой деревьев, в растительной подстилке и в почве.

Однако систематики делят отряд полужесткокрылых на 2 подотряда скрытноусые и свободноусые, хорошо отличающиеся своими особенностями.

Представители подотряда скрытноусых водные насекомые. В Узбекистане хорошо известны клопы гладыши, водяные скорпионы и другие.

Подотряд свободноусых более многообразен и включает в себя наземные формы, хотя в тоже время имеются водные формы. Например, семейство водомерки и семейство ложные водомерки.

Водомерки обычные и хорошо распространенные обитатели водоёмов в Узбекистане, а представители ложных водомерок – морские обитатели.

Семейство клопов-паразитов тоже известно, виды этого семейства отличаются плоским телом и сильно укороченными, или отсутствующими крыльями. В связи с паразитическим образом жизни и питанием кровью теплокровных животных обнаруживаются в гнездах птиц, в обиталищах летучих мышей, в дуплах и в птичниках.

Представители семейства хищнецов обитают в южных районах, нападают на насекомых и других членистоногих, высасывая из них гемолимфу. При таких условиях существования их можно в перспективе использовать в биологической борьбе с вредителями.

Семейство кружевницы отличается оригинальными видами. Тело у них маленькое, но надкрылья имеют красивую сетчатую, кружевную структуру. Однако среди этого семейства в наших условиях встречаются опасные вредные виды (растительноядный грушевый клоп).

Изучение представителей семейства слепняков заслуживает пристального внимания. В Узбекистане широко известны опасные вредные виды: люцерновый клоп, полевой клоп, свекловичный клоп [4]. Но в этом семействе имеются и полезные виды – энтомофаги.

Семейство подкорники обитают под корой отсюда название. Семейство известно своим распространенным вредителем – сосновым подкорным клопом. Он обитает под корой сосны, высасывает соки и вызывает усыхание вершины, задержку роста и иногда даже гибель.

Семейство щитников широко известно своими видами, число которых достигает 4 тысяч.

В Узбекистане хорошо известны вредная черепашка, наносящая ущерб пшенице, крестоцветные клопы и другие.

Но среди семейства имеются хищные, полезные для человека виды, например американский клоп периллюс (*Perillus bioculatus* F.) – энтомофаг карантинного колорадского жука.

Семейство красноклопы – *Rugthosoridae* отличаются красным, оранжевым или желтым телом. Ярко окрашенные виды, в сочетании с чёрным брюшком и пятнами на полунадкрыльях способствуют их правильному определению по морфологическим признакам и строению генитального аппарата.

В 2025 году, в Ташкентской области автор данной статьи наблюдала массовое количество красноклопов (рис. 1).

Это явление было обнаружено 28-29 мая 2025 года в Кибрайском районе. 28 мая происходило необычное активное и многочисленное передвижение красноклопов, 29 мая в 11 часов утра клопы концентрировались в углублениях и ямках почвы в массовом количестве. Насекомых трудно было пересчитать, так как они находились в скоплениях и при малейшем вмешательстве тревожились и как активные насекомые разбегались в разные стороны и скрывались.

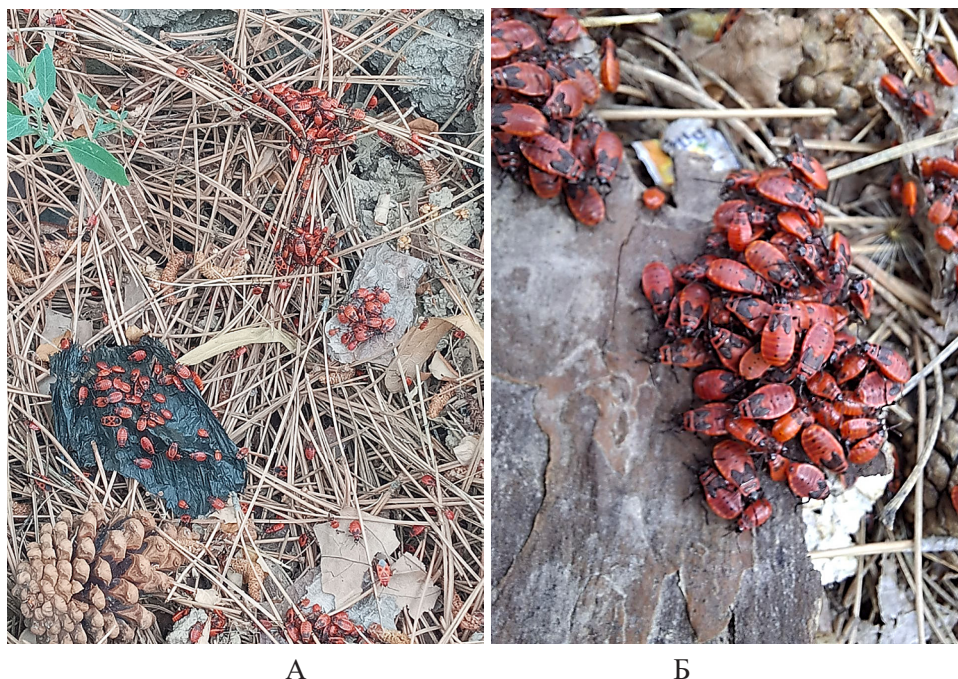


Рис. 1. Скопления клопов *Scantius aegyptius* L. и *Pyrrhocoris apterus* L. (А – клопы-красноклопы на растительной подстилке. Б – массовое скопление насекомых (фото автора).

Согласно исследованиям можно предположить, что побуждает их собираться в скопления. Вероятно они собрались в теплые места, хотя они находились под прямыми солнечными лучами, да ещё располагались на старом черном пакете, где температура окружающей среды была +35°C.

Возможно нашли прохладу и необходимую влажность в углублениях почвы и в растительных остатках, но тогда не совсем ясно их расположение под прямыми солнечными лучами.

Если они приступали к периоду размножения, то удивляло большое количество личинок, которые у клопов не способны к размножению.

Видимо их привлекал выделяемый ими же самими сильный запах. Поскольку науке известно, что выделения пахучих желез могут иметь значение химического сигнала, обеспечивающего встречу или концентрацию особей одного и того же вида.

Насекомые, особенно клопы, выделяют феромоны, которые привлекают особей своего вида и отпугивают врагов. Запах, выделяемый для отпугивания врагов насекомыми в массовом количестве будет сильнее, т.е. насекомые находятся в относительно более безопасном положении. Возможно они защищают всем скопом отложенные самками яйца, выделяя отпугивающие для врагов, но привлекающие для них самих запахи.

Среди клопов красноклопов Узбекистана часто встречаются два, широко распространенных вида: египетский красноклоп (Миср кизил кандаласи) – *Scantius aegyptius* L. и красноклоп бескрылый или солдатик (Қанотсиз кизил қандала, яъни аскар қандала) – *Pyrrhocoris apterus* L. Отличается *Pyrrhocoris apterus* L. тем, что крылья у имаго не развиты.

По сведениям В.А. Моисеева и А.Г. Давлетшиной египетский красноклоп (*Scantius aegyptius* L.) широко распространен в Средней Азии и Казахстане [5].

Наблюдения показали, что *Scantius aegyptius* L. имеет тело длиной 8-10 мм и броскую окраску, оно окрашено в ярко-красный цвет и имеет чёрные и жёлтые пятна (рис. 2).

Питается растительной пищей и погибшими насекомыми. Размножается яйцами, откладывая их в почву и под растительные остатки, хорошо скрывая их. Этим отчасти объясняется многочисленность клопов – красноклопов.

Красноклоп бескрылый или солдатик (*Pyrrhocoris apterus* L.), впервые описан Линнеем. Обитающий в Узбекистане *Pyrrhocoris apterus* L. имеет тело длиной 7-10 мм. Из-за яркой окраски красноклопов бескрылых видно в траве, на почве, на тропинках.



Рис. 2. Египетский красноклоп (по Моисееву В.А. и Давлетшиной А.Г.).

Брюшко и рисунок на надкрыльях у солдатиков чёрные. Отличительные особенности, заключаются в том, что крылья у них не развиты (рис. 3).



Рис. 3. Красноклоп бескрылый или солдатик (фото автора).

Клопы *Pyrrhocoris apterus* L. многоядные насекомые, они поедают пыльцу растений, высасывают сок из них и поедают семена, кроме того питаются погибшими членистоногими. В большинстве случаев они безвредны, а иногда даже и полезны, так как они санитары и участвуют в разложении органических остатков питаясь опавшими семенами, плодами или погибшими насекомыми, предотвращая накопление погибших организмов. То есть способствуют круговороту веществ в природе, что важно, учитывая их способность к массовому размножению. В свою очередь они служат пищей для других животных (птиц, рептилий).

По нашим сведениям и сведениям ученых Узбекистана встречается в Средней Азии и Казахстане – на полянах, прогреваемых солнцем, дорогах, образуя большие скопления [5].

Красноклоп бескрылый или солдатик (*Pyrrhocoris apterus* L.) обитает на травянистой растительности. Вред от солдатиков заключается в том, что они своим колюще-сосущим ротовым аппаратом высасывают соки из молодых побегов, листьев, стеблей, плодов и семян и таким образом вредят огородным и некоторым другим культурам (рассада капусты, ботва свеклы, ростки клубники), что

приводит к деформации листьев, замедлению роста растений и к снижению урожайности.

В целом *Pyrrhocoris apterus* L. является представителем и полезной и вредной энтомофауны, его значение зависит от окружающей среды, возделываемых вблизи сельскохозяйственных растений и многочисленности вида.

Заключение.

Разработана экспресс диагностика определения вредителя в полевых условиях, которая основывается на основных морфологических признаках и строении полового аппарата.

В Узбекистане часто встречаются два вида красноклопов: египетский красноклоп – *Scantius aegyptius* L. и красноклоп бескрылый или солдатик – *Pyrrhocoris apterus* L.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хамраев А.Ш., Абдуллаева Д. Вредоносность главнейших клопов-мирид // Ўсимликларни зараркунанда, касаллик ва бегона ўтлардан химоя қилишнинг ривожланиш истиқболлари. Конф. тезислари. Ташкент: 2001. С.122. // Khamrayev A.SH., Abdullayeva D. Vredonosnost' glavneyshikh klopov-mirid // O'simliklarni zararkunanda, kasallik va begona o'tlardan himoya qilishning rivozhlanish istiqbollari. Konf. tezis Tashkent: 2001. S.122.
2. Хамраев А.Ш., Комилова Ш., Кучкаров А.Х., Абдуллаева Д.Р., Бекбергенова З.О. Причина изменения состава фаунистических компонентов насекомых-вредителей агроценозов Узбекистана на примере клопов-мирид // Зоологические исследования регионов России и сопредельных территорий. Тезисы докл. межд. науч. конф. (28-29 ноябрь, 2002). Нижний Новгород: 2002. С. 59. // Khamrayev A.SH., Komilova SH., Kuchkarov A.KH., Abdullayeva D.R., Bekbergenova Z.O. Prichina izmeneniya sostava faunisticheskikh komponentov nasekomykh-vrediteley agrotsenozov Uzbekistana na primere klopov-mirid // Zoologicheskkiye issledovaniya regionov Rossii i sopredel'nykh territoriy. Tezisy dokl. mezhd. nauch. konf. (28-29 noyabr, 2002). Nizhniy Novgorod: 2002. S. 59.
3. Бей-Биенко Г.Я. Общая энтомология. Изд. «Высшая школа». Москва: 1980. С. 203. // Bey-Biyenko G.YA. Obshchaya entomologiya. Izd. «Vysshaya shkola». Moskva: 1980. S. 203.
4. Кожевникова А.Г., Юсупов Ш.С. Мониторинг мирид (Miridae) Ферганской долины для разработки современных защитных мероприятий // Ж. Agro Biznes. № 3 (168). Ташкент: 2023. С. 25-27. // Kozhevnikova A.G., Yusupov SH.S. Monitoring mirid (Miridae) Ferganskoy doliny dlya razrabotok sovremennykh zashchitnykh meropriyatiy // Zh. Agrobiznes. № 3 (168). Tashkent: 2023. S. 25-27.
5. Моисеев В.А., Давлетшина А.Г. Мир насекомых Узбекистана. Изд. «Ўқитувчи». Ташкент: 1997. С. 42. // Moiseyev V.A., Davleshina A.G. Mir nasekomykh v Uzbekistane. Izd. «Uchitel». Tashkent: 1997. S. 42.

O'ZBEKISTONDA SCANTIUS AEGYPTIUS L. VA PYRRHOCORIS APTERUS L. KANALARI

A.G. Kozhevnikova

Maqolada O'zbekistonda qizil kanalar turkumi – Pyrrhocoridae hasharotlarga oid materiallar keltirilgan. Ularning morfologik, biologik va ekologik xususiyatlari, tizimli joylashuvi, tarqalishi, zarari o'rganilgan.

Kalit so'zlar: Qizil hasharotlar, Misr qizil hasharoti, *Scantius aegyptius* L., qanotsiz qizil bug, *Pyrrhocoris apterus* L.

SCANTIUS AEGYPTIUS L. AND PYRRHOCORIS APTERUS L. IN UZBEKISTAN

A.G. Kozhevnikova

The article presents materials on the study of bedbugs of the Redbug family – Pyrrhocoridae in Uzbekistan. It has study their morphological, biological and environmental features, systematic position, distribution, harmfulness.

Keywords: Redbugs, Egyptian redbug, *Scantius aegyptius* L., wingless redbug, *Pyrrhocoris apterus* L.

МУНДАРИЖА

Экспериментал миокардитда юрак митохондриясининг липидларнинг перекисли оксидланиш жараёнига ва малон диалдегид микдорига госсипол диазоимино ҳосилалари YaN-1 / YaN-2 полифенолларининг таъсири	3
А.Д. Рахимов, М.К. Позилов, Н.Х. Якубова, М.Б. Гафуров, М.С. Жумаева	
Go'za navlarining biokimyoviy va morfologik ko'rsatkichlariga sho'rlanishning ta'siri	9
К.М. Kuldoshova, А.А. Axunov, А.М. Anarova	
Alkiltetragidroizoxinolin hosilalarining leykoz va normal hujayralarga biologik ta'siri	15
U.B. Xamidova, M.R. Umarova, Ye.O. Terenteva, N.A. Tosheva, O.B. Alimuxamedova, A.M. Yarilkaganova, A.B. Baymirzayev, Sh.S. Azimova	
<i>Silene claviformis</i> Litv. o'simligining yer ustki qismlaridan olingan biofaol birikmalarning yallig'lanishga qarshi ta'siri	20
M.Z. Sharipova, M.U. Negmatova, V.N. Syrov, F.R. Egamova, N.Sh. Ramazonov, U.Yu. Yusupova	
Ajratilgan mitoxondriyalarning funksional parametrlariga ekdisteron ta'sirini baholash	25
Sh.G. Gaziyeva, V.N. Sirov, U.Z. Mirxodjayev, Yu.V. Levitskaya, A.Y. Baev	
Noorganik polifosfatlarning fibroblastlarda kalsiy signallashuviga ta'sirini o'rganish	31
F.R. Rustamova, K.S. Nebesnaya, Sh.U. Turdikulova, A.Y. Baev	
Ekzogen polifosfatning birlamchi kardiomiotsitlar qisqarish chastotasi va amplitudasiga ta'siri: purinoretseptorlarning roli	36
G.V. Maksimcheva, X.R. Rustamov, R.Z. Sabirov, A.Yu. Bayev	
O'zbekistonda <i>Scantius aegyptius</i> L. va <i>Pyrhocoris apterus</i> L. kanalari	42
A.G. Kozhevnikova	

СОДЕРЖАНИЕ

Влияние диазоиминных производных госсипола полифенолов YaN-1 И YaN-2 на перекисное окисление липидов и содержание малондиальдегида в митохондриях сердца при экспериментальном миокардите	3
А.Д. Рахимов, М.К. Позилов, Н.Х. Якубова, М.Б. Гафуров, М.С. Джумаева	
Влияние засоления на биохимические и морфологические показатели сортов хлопчатника	9
К.М. Кулдошова, А.А. Ахунов, А.М. Анарова	
Биологические эффекты производных алкилтетрагидроизохинолина в лейкозных и нормальных клетках	15
У.Б. Хамидова, М.Р. Умарова, Е.О. Терентьева, Н.А. Тошева, О.Б. Алимухамедова, А.М. Ярылкаганова, А.Б. Баймирзаев, Ш.С. Азимова	
Противовоспалительное действие биологических активных средств из надземной части <i>Silene claviformis</i> Litv.	20
М.З. Шарипова, М.У. Негматова, В.Н. Сыров, Ф.Р. Эгамова, Н.Ш. Рамазонов, У.Ю. Юсупова	
Оценка влияния экдистерона на функциональные параметры изолированных митохондрий	25
Ш.Г. Газиева, В.Н. Сыров, У.З. Мирходжаев, Ю.В. Левицкая, А.Ю. Баев	
Изучение влияния неорганических полифосфатов на кальциевую сигнализацию фибробластов ...	31
Ф.Р. Рустамова, К.С. Небесная, Ш.У. Турдикулова, А.Ю. Баев	
Влияние экзогенного полифосфата на частоту и амплитуду сокращений первичных кардиомиоцитов: роль пуринорецепторов.....	36
Г.В. Максимчева, Х.Р. Рустамов, Р.З. Сабиров, А.Ю. Баев	
Клопы <i>Scantius aegyptius</i> L. и <i>Pyrrhocoris apterus</i> L. в Узбекистане	42
А.Г. Кожевникова	

CONTENTS

Effects of gossypol diazoimino derivatives YAN-1 and YAN-2 polyphenols on lipid peroxidation and malondialdehyde levels in cardiac mitochondria during experimental myocarditis.....	3
A.D. Raximov, M.K. Pozilov, N.X. Yakubova, M.B.Gafurov, M.S. Jumaeva	
The effect of salinity on the biochemical and morphological parameters of cotton cultivars	9
K.M. Kuldoshova, A.A. Akhunov, A.M. Anarova	
Biological effects of alkyl-tetrahydroisoquinoline derivatives in leukemia and normal cells.....	15
U.B. Khamidova, M.R. Umarova, E.O. Terenteva, N.A. Tosheva, O.B. Alimukhamedova, A.M. Yarilkaganova, A.B. Baymirzaev, Sh.S. Azimova	
Anti-inflammatory effects of bioactive compounds from the aerial parts of <i>Silene claviformis</i> Litv.....	20
M.Z. Sharipova, M.U. Negmatova, V.N. Syrov, F.R. Egamova, N.Sh. Ramazonov, U.Yu. Yusupova	
Assessment of the effect of ecdysterone on functional parameters of isolated mitochondria	25
Sh.G. Gazieva, V.N. Syrove, U.Z. Mirxodjaev, Yu.V. Levitskaya, A.Y. Baev	
Study of the effect of inorganic polyphosphates on calcium signaling in fibroblasts.....	31
F.R. Rustamova, K.S. Nebesnaya, S.U. Turdikulova, A.Y. Baev	
Effect of exogenous polyphosphate on the frequency and amplitude of contractions in primary cardiomyocytes: role of purinoreceptors	36
G.V. Maksimcheva, Kh.R. Rustamov, R.Z. Sabirov, A. Yu. Baev	
<i>Scantius aegyptius</i> L. and <i>Pyrrhocoris apterus</i> L. in Uzbekistan.....	42
A.G. Kozhevnikova	

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)71 232 11 81, (+998) 90 915 13 73.

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

На обложке:

Атлас капалаги
Павлиноглазка атлас
Attacus atlas, Linnaeus, 1758

Формат 60×84 1/8. Гарнитура Times. Бумага «Бизнес». Тираж 78.
Усл. печ. л. 3,1. Уч. изд.л. 3,4.

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