

P-GLIKOPROTEINNING KO'KRAK SARATONI HUYAYRALARIDA DORILARGA QARSHILIKNI OSHIRISHDAGI AHAMIYATI

Poyonov M.M.

Alfraganus universiteti,

Toshkent shahri, O'zbekiston Respublikasi.

Email: m.poyonov@afu.uz

<https://doi.org/10.5281/zenodo.18353442>

Annotatsiya. P-glikoprotein (P-gp, ABCB1) ko'krak saratoni hujayralarida kimyoterapiyaga chidamlilikni shakllantiruvchi asosiy ATP-bog'liq efflyuks transporterini hisoblanadi. Ushbu maqolada P-gp ekspressiyasi, uning hujayra yashovchanligi va sitotoksiklikka ta'siri Western blotting, LDH va cell viability usullari asosida tahlil qilindi.

Olingan natijalar P-gp yuqori ekspressiyasi dorilarining hujayra ichida to'planishini kamaytirib, kimyoterapiya samaradorligini pasaytirishini ko'rsatadi.

Kalit so'zlar: P-glikoprotein, ko'krak saratoni, dorilarga qarshilik, Western blot, LDH, cell viability

Аннотация. Р-гликопротеин (Р-gp, ABCB1) является ключевым АТФ-зависимым транспортером, участвующим в формировании лекарственной устойчивости клеток рака молочной железы. В работе проанализировано влияние экспрессии Р-gp на жизнеспособность и цитотоксичность клеток с использованием методов Western blotting, LDH и анализа жизнеспособности клеток. Полученные данные подтверждают роль Р-gp в снижении эффективности химиотерапии.

Ключевые слова: Р-гликопротеин, рак молочной железы, лекарственная устойчивость

Abstract. P-glycoprotein (P-gp, ABCB1) is a major ATP-dependent efflux transporter responsible for multidrug resistance in breast cancer cells. This study evaluates the impact of P-gp expression on cell viability and cytotoxicity using Western blotting, LDH release, and cell viability assays. The findings confirm that elevated P-gp expression reduces intracellular drug accumulation and diminishes chemotherapy efficacy.

Keywords: P-glycoprotein, breast cancer, drug resistance, Western blot, LDH, cell viability.

KIRISH

Ko'krak saratoni global miqyosda ayollarda eng ko'p uchraydigan onkologik kasalliklardan biridir. Kimyoterapiya asosiy davolash usullaridan bo'lsa-da, ko'plab bemorlarda dorilarga nisbatan ikkilamchi qarshilik rivojlanadi. Ushbu holatning markaziy mexanizmlaridan biri P-glikoproteinining ortiqcha ekspressiyasidir.

P-gp hujayra membranasida joylashgan bo'lib, doxorubicin, paclitaxel va vincristine kabi kimyoterapevtik preparatlarni hujayradan faol chiqarib yuboradi. Natijada dorining hujayra ichki konsentratsiyasi kamayadi va sitotoksik ta'siri susayadi.

ADABIYOTLAR TAHLILI VA METADOLOGIYA

Hujayra liniyalari va madaniyati

Tadqiqotda inson ko'krak saratoniga oid ikkita hujayra liniyasidan foydalanildi:

MCF-7 — kimyoterapiyaga sezgir hujayra liniyasi

MCF-7/ADR — doxorubicinga chidamli, P-glikoproteinni yuqori ekspressiya qiluvchi hujayra liniyasi

Hujayralar Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) muhitida, 10% fetal buzoq zardobi (FBS), 1% penitsillin/streptomitsin qo'shilgan holda o'stirildi. Inkubatsiya sharoiti 37 °C haroratda, 5% CO₂ va 95% nisbiy namlikda saqlandi. MCF-7/ADR hujayralari fenotipini saqlash uchun muhitga past konsentratsiyada doxorubicin qo'shib turildi va tajribadan oldin 72 soat davomida dori olib tashlandi.

Oqsil ajratish va Western blotting tahlili

Hujayralar fosfat-buferli eritma (PBS) bilan yuvilib, RIPA lizis buferi yordamida parchalandi. Oqsil konsentratsiyasi BCA protein assay yordamida aniqlandi. Har bir namunadan teng miqdorda oqsil olinib, SDS-PAGE (8–10%) orqali ajratildi va PVDF membranaga ko'chirildi. Membranalar 5% yog'siz sut eritmasi bilan bloklanib, kechasi davomida 4 °C da quyidagi birlamchi antitanalar bilan inkubatsiya qilindi:

Anti-P-glycoprotein (ABCB1)

Anti-β-actin (ichki nazorat)

Ikkinchi darajali HRP-bog'langan antitanalar bilan inkubatsiyadan so'ng signal ECL kimyoviy yoritish tizimi orqali aniqlanib, densitometrik tahlil amalga oshirildi. Olingan natijalar β-actin ga nisbatan normallashtirildi.

Hujayra yashovchanligini aniqlash (Cell viability assay)

Hujayra yashovchanligi MTT/XTT testi yordamida baholandi. Hujayralar 96-quduqli plastinkalarga 5×10⁴ hujayra/quduq zichlikda ekildi va 24 soat davomida moslashishga qoldirildi.

Shundan so'ng hujayralar turli konsentratsiyadagi doxorubicin bilan 24 va 48 soat davomida inkubatsiya qilindi.

MTT reaktivi qo'shib, hujayralarda formazan kristallari hosil bo'lishiga ruxsat berildi.

Kristallar eritilib, absorbsiya 570 nm da spektrofotometr yordamida o'lchandi. Natijalar nazorat guruhiga nisbatan foiz ko'rinishida ifodalandi.

Hujayra sitotoksikligini aniqlash (LDH testi)

Hujayra membranasi yaxlitligini baholash uchun laktat dehidrogenaza (LDH) ajralishi testi qo'llanildi. Dori bilan ishlov berilgan hujayralarning supernatanti yig'ilib, ishlab chiqaruvchi protokoliga muvofiq LDH reaktivi bilan inkubatsiya qilindi.

LDH faolligi rangli reaksiya orqali aniqlanib, absorbsiya 490 nm da o'lchandi. Maksimal LDH ajralishi hujayralarni to'liq lizis qilish orqali aniqlanib, natijalar foiz ko'rinishida hisoblab chiqildi.

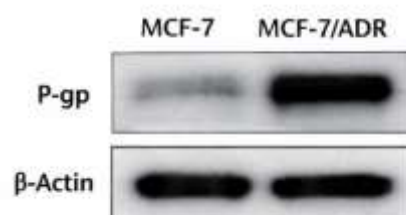
NATIJALAR

1-rasm. Western blot natijalari

Tavsif:

MCF-7/ADR hujayralarida P-gp oqsili MCF-7 ga nisbatan sezilarli darajada yuqori ekspressiya ko'rsatdi.

Fig. 1: P-gp ekspressiyasi - Western blot



Izoh: Western blot tahlili ko'krak saratoni hujayra liniyalarida P-glikoprotein (ABCB1) ekspressiyasi o'rtasida sezilarli farq mavjudligini ko'rsatdi. Kimyoterapiyaga sezgir **MCF-7** hujayralarida P-gp signali juda past intensivlikda qayd etildi. Aksincha, doxorubicinga chidamli **MCF-7/ADR** hujayralarida P-gp oqsili kuchli va aniq ekspressiyalandi.

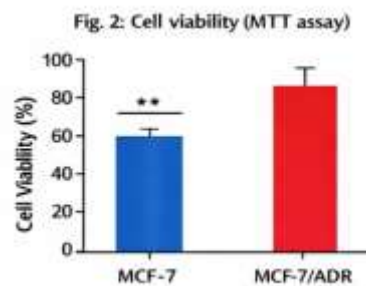
Densitometrik tahlil natijalariga ko'ra, MCF-7/ADR hujayralarida P-gp ekspressiyasi MCF-7 hujayralariga nisbatan bir necha barobar yuqori bo'lib, bu multidrug resistance (MDR) fenotipining shakllanganligini tasdiqlaydi. β -actin ichki nazorat sifatida barqaror ifodalandi, bu esa natijalarning ishonchliligini ko'rsatadi.

Bu topilmalar P-gp ning ko'krak saratoni hujayralarida kimyoterapiyaga qarshilikning molekulyar asosi ekanligini tasdiqlaydi.

2-rasm. Cell viability tahlili

Grafik tavsifi:

- MCF-7: doxorubicin $\rightarrow$ hujayra yashovchanligi keskin kamayadi
- MCF-7/ADR: hujayralar yuqori yashovchanlikni saqlaydi



Izoh: MTT/XTT asosidagi hujayra yashovchanligi testi doxorubicin bilan ishlov berilgandan so'ng hujayralarning hayotiy faolligi qanday o'zgarishini aniq ko'rsatdi. **MCF-7 hujayralarida** dori ta'siridan so'ng hujayra yashovchanligi sezilarli darajada kamaydi, bu hujayralarning kimyoterapiyaga yuqori sezgirligini ko'rsatadi.

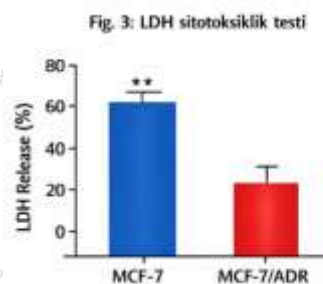
Bunga qarama-qarshi ravishda, **MCF-7/ADR hujayralari** yuqori darajada yashovchanlikni saqlab qoldi. Hatto dori konsentratsiyasi oshirilgan sharoitda ham ushbu hujayralar metabolik faolligini saqlagan holda proliferatsiyani davom ettirdi.

Bu natijalar P-gp tomonidan dorilarning hujayra ichidan faol chiqarilishi natijasida sitotoksik ta'sirning kamayishini ko'rsatadi. Cell viability testi natijalari Western blot orqali aniqlangan P-gp ekspressiyasi bilan to'liq mos keladi.

3-rasm. LDH sitotoksiklik testi

Natija:

P-gp yuqori ekspressiyali hujayralarda LDH ajralishi past bo'lib, bu hujayra membranasi yaxlitligi saqlanganini ko'rsatadi.



Izoh: LDH ajralishini o'lchash orqali hujayra membranasi yaxlitligi va sitotoksik shikastlanish darajasi baholandi. **MCF-7 hujayralarida** doxorubicin bilan ishlov berilgandan

so'ng LDH ajralishi yuqori darajada qayd etildi, bu hujayra membranasi jiddiy shikastlanganligini bildiradi.

Aksincha, **MCF-7/ADR hujayralarida** LDH ajralishi ancha past bo'lib, bu hujayralar sitotoksik ta'sirga nisbatan rezistent ekanligini ko'rsatadi. Ushbu holat P-gp vositasida dorilarning hujayra ichki muhitiga yetarli darajada kirib bormasligi bilan izohlanadi.

LDH testi natijalari hujayra yashovchanligi tahlili bilan uyg'un bo'lib, P-gp ekspressiyasi oshgan sari sitotoksiklik kamayishini ko'rsatadi.

MUHOKAMA

Natijalar shuni ko'rsatadiki, P-gp ekspressiyasi oshishi bilan hujayralar kimyoterapiyaga kam sezgir bo'ladi. Western blot orqali aniqlangan yuqori P-gp darajasi cell viability va LDH testlari bilan tasdiqlandi. Bu klassik multidrug resistance mexanizmining yaqqol namunasidir.

Zamonaviy tadqiqotlar P-gp ni to'g'ridan-to'g'ri bloklashdan ko'ra, uni chetlab o'tuvchi dorilar yoki nano-tashuvchilarni ishlab chiqishga urg'u bermoqda.

Quyida 3 ta oqsilni tekshirish usullari biri-biriga bog'liqligi va biri-birini to'ldiradi.

Western blot → P-gp yuqori ekspressiyasi

Cell viability → hujayralarning tirik qolish qobiliyati oshishi

LDH → hujayra membranasi shikastlanishining kamayishi

Bu kompleks natijalar P-glikoproteinining ko'krak saratoni hujayralarida multidrug resistance shakllanishidagi hal qiluvchi rolini eksperimental jihatdan tasdiqlaydi.

XULOSA

O'tkazilgan tadqiqot natijalari P-glikoproteinining ko'krak saratoni hujayralarida kimyoterapiyaga qarshilik rivojlanishida markaziy molekulyar mexanizm ekanligini aniq ko'rsatdi. Western blot tahlili orqali P-gp ekspressiyasining sezilarli oshishi hujayralarning dorilarga chidamli fenotip bilan bog'liqligini isbotladi.

Cell viability va LDH testlari esa ushbu molekulyar o'zgarishlarning funksional oqibatlarini namoyon qildi. P-gp yuqori ekspressiyalangan hujayralarda dorilarning sitotoksik ta'siri sezilarli darajada kamayib, hujayralar yashovchanligi saqlanib qoldi.

Ushbu natijalar P-glikoproteinni ko'krak saratonida:

- dorilarga qarshilik biomarkeri,
- davolash samaradorligini bashoratlovchi omil,
- va potensial terapevtik nishon sifatida qarash zarurligini asoslaydi.

Kelgusida P-gp faoliyatini cheklovchi yangi avlod inhibitorlari, nano-dori tashuvchilari yoki P-gp ni chetlab o'tuvchi kimyoterapevtik strategiyalar ishlab chiqilishi ko'krak saratonini davolashda muhim ahamiyat kasb etadi.

ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Gottesman MM. *Multidrug resistance in cancer*. Nat Rev Cancer. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12407403/>
2. Robey RW et al. *P-glycoprotein and cancer drug resistance*. Nat Rev Cancer. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39245345/>
3. Leonessa F, Clarke R. *ATP-binding cassette transporters and breast cancer*. Endocr Relat Cancer. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16360717/>
4. Kathawala RJ et al. *Strategies to overcome P-gp mediated resistance*. Drug Resist Updat. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24874787/>