



Piruvat karboksilaza fermentining farmakologik roli: Metabolik kasalliklar va onkologiyada terapevtik nishon sifatidagi klinik-biokimyoviy tahlili.

The Pharmacological Role of the Pyruvate Carboxylase Enzyme: A Clinical and Biochemical Analysis as a Therapeutic Target in Metabolic Diseases and Oncology

**Azimova Dilafruz Furkat qizi
Azimova Baxtigul Jovli qizi
Tulyaganov Rustam Tursunovich.**

Tashkent Pharmaceutical Institute

Azimova Dilafruz Furkat qizi, Azimova Baxtigul Jovli qizi, Tulyaganov Rustam Tursunovich

Toshkent farmatsevtika instituti

ABSTRACT

Pyruvate carboxylase (PC) operates as a critical anaplerotic enzyme orchestrating the ATP-dependent carboxylation of pyruvate into oxaloacetate, effectively bridging the glycolysis and gluconeogenesis pathways. The pathological upregulation of PC activity is intrinsically linked to the acceleration of hepatic glucose output in type 2 diabetes mellitus and the metabolic reprogramming observed in solid tumors. This research evaluates the pharmacological utility of PC as a primary therapeutic target, analyzing the dose-dependent efficacy of novel allosteric inhibitors in mitigating metabolic dysregulation. Utilizing both in vitro enzymatic assays and in vivo murine models (Diet-Induced Obesity - DIO), the interaction dynamics between PC and experimental pharmacological agents were quantitatively investigated. Empirical data indicate that targeted inhibition of the PC biotin carboxylase domain reduces aberrant gluconeogenesis by approximately 42% without inducing systemic lactic acidosis. The observed thermodynamic binding profiles and pharmacokinetic models suggest that selective PC modulators can effectively uncouple pathological lipogenesis and tumor proliferation networks. The dynamics of these findings establish a robust molecular framework within the pharmaceutical industry for synthesizing next-generation antidiabetic and antineoplastic drugs. This positions PC not merely as a metabolic intermediary, but as a central biochemical node for advanced pharmacological intervention.



Keywords: Pyruvate carboxylase, pharmacological target, gluconeogenesis, enzyme inhibitors, metabolic syndrome, oncology, anaplerosis, hepatocytes.

ANNOTATSIYA

Piruvat karboksilaza (PK) glikoliz va glyukoneogenez yo'llarini o'zaro bog'lab, piruvatning oksaloatsetatga ATP ga bog'liq karboksillanishini boshqaruvchi hal qiluvchi anaplerotik ferment sifatida faoliyat yuritadi. PK faolligining patologik ortishi 2-tip qandli diabetda jigarda glyukoza ishlab chiqarilishining tezlashishi hamda qattiq o'smalarda kuzatiladigan metabolik qayta dasturlash bilan bevosita bog'liq. Mazkur tadqiqot PK ning asosiy terapevtik nishon sifatidagi farmakologik ahamiyatini baholaydi va metabolik buzilishlarni yumshatishda yangi allosterik ingibitorlarning dozaga bog'liq samaradorligini tahlil qiladi. In vitro enzimologik tahlillar va in vivo hayvonlar modellari (dietaga bog'liq semizlik — DIO) usullaridan foydalangan holda, PK va eksperimental farmakologik vositalar o'rtasidagi o'zaro ta'sir dinamikasi miqdoriy jihatdan o'rganildi. Empirik ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, PK ning biotin-karboksilaza domenini maqsadli ingibirlash tizimli laktat atsidozni keltirib chiqarmasdan, patologik glyukoneogenezni qariyb 42% ga sezilarli darajada pasaytiradi. Qayd etilgan termodinamik bog'lanish profillari va farmakokinetik modellar selektiv PK modulyatorlari patologik lipogenez va o'sma proliferatsiyasi tarmoqlarini samarali ravishda uzib qo'yishi mumkinligini isbotlaydi. Olingan natijalar dinamikasi farmatsevtika sanoatida yangi avlod antidiabetik va antineoplastik dori vositalarini sintez qilish uchun molekulyar baza yaratadi. Bu esa piruvat karboksilazani shunchaki oraliq metabolik vositachi emas, balki ilg'or farmakologik aralashuv uchun markaziy biokimyoviy tugun sifatida namoyon qiladi.

Kalit so'zlar: Piruvat karboksilaza, farmakologik nishon, glyukoneogenez, ferment ingibitorlari, metabolik sindrom, onkologiya, anapleroz, gepatotsitlar.

KIRISH

Hujayra metabolizmining global regulyatsiyasida mitoxondrial matritsada joylashgan piruvat karboksilaza (PK; EC 6.4.1.1) fermenti fundamental rol o'ynaydi. Karbonhidratlar, lipidlar va aminokislotalar almashinuvini o'zaro bog'lovchi bu anaplerotik ferment piruvatni oksaloatsetatga aylantirib, trikarbon kislotalari siklini (TKS) substrat bilan ta'minlaydi. Jahon sog'liqni saqlash tashkilotining so'nggi epidemiologik ko'rsatkichlariga ko'ra, 2-tip qandli diabet va u bilan bog'liq metabolik kasalliklarning tarqalish sur'ati global sog'liqni saqlash tizimi uchun misli ko'rilmagan xavf tug'dirmoqda. Patofiziologik nuqtai nazardan, insulin rezistentligi fonida jigarda



glyukoza ishlab chiqarilishining nazoratsiz ortishi gepatotsitlarda aynan PK va fosfoenolpiruvat karboksikinaza (PEPCK) fermentlarining giperaktivatsiyasi bilan tushuntiriladi.

Zamonaviy farmakoterapiya arsenalida mavjud bo'lgan biguanidlar (metformin) o'zining gipoglikemik ta'sirini asosan AMP-faollashtirilgan protein kinaza (AMPK) orqali amalga oshiradi. Bu dorilar gepatotsitlardagi mitoxondrial nafas olish zanjirini susaytirib, bilvosita glyukoneogenezni ingibirlaydi. Biroq, ularning to'g'ridan-to'g'ri molekulyar ta'sir mexanizmlari yetarlicha selektiv emasligi sababli, me'da-ichak traktidagi nojo'ya ta'sirlar va og'ir holatlarda laktat atsidoz xavfi saqlanib qolmoqda. O'ziga xos ilmiy bo'shliq shundan iboratki, oxirgi 10 yillikdagi farmakologik izlanishlar asosan retseptorlar va kinazalarga qaratildi, ammo metabolik oqimning bevosita "darvozaboni" bo'lgan PK fermentini maqsadli modulyatsiya qilish imkoniyatlari to'liq kashf etilmagan.

Tadqiqot qaysi yo'nalishda davom etayotganini aniqlashtirish muhim. Onkologiya sohasidagi so'nggi ma'lumotlar PK fermentining nafaqat metabolik sindromda, balki ko'krak bezi, o'pka va miya saratoni hujayralarida ham yuqori darajada ekspressiya qilinishini isbotladi. Saraton hujayralari glyutamin tanqisligi sharoitida o'zlarining anaplerotik ehtiyojlarini aynan PK orqali qondiradi. Mazkur maqola bevosita PK fermentining tuzilishi, uning allosterik aktivatori bo'lgan atsetil-KoA bilan o'zaro ta'siri va yangi avlod ingibitorlarining farmakodinamik xususiyatlarini in vitro hamda in vivo sharoitlarda baholashga yo'naltirilgan.

TADQIQOT METODOLOGIYASI

Farmakologik tadqiqot dizayni biokimyoviy enzimologiya va hayvonlarda o'tkazilgan in vivo tajribalarning qat'iy mantiqiy ketma-ketligini o'z ichiga oladi. Dastlabki bosqichda tozalangan rekombinant sigir jigari piruvat karboksilazasi (Sigma-Aldrich, AQSh) ishlatildi. Fermentning bazal va ingibirlangan faolligini o'lchash maqsadida malatdehidrogenaza (MDH) ishtirokidagi qo'shma spektrofotometrik usul qo'llanildi. Reaksiya muhiti 100 mM Tris-HCl (pH 7.8), 5 mM MgCl₂, 5 mM natriy piruvat, 2.5 mM ATP, 15 mM NaHCO₃ va 0.15 mM atsetil-KoA dan tashkil topgan. NADH oksidlanishi natijasida 340 nm to'lqin uzunligidagi yutilishning kamayishi spektrofotometr (UV-Vis) yordamida har 10 soniyada qayd etib borildi. Tajriba doirasida PK ning eksperimental ingibitori sifatida farmatsevtik modellashtirilgan polifenol hosilasi (shartli nomi: PK-INB-74) sinovdan o'tkazildi.

In vivo tadqiqotlar uchun 8 haftalik C57BL/6J naslli erkak sichqonlar (n=40) tanlab



olindi. Ular 12 hafta davomida yuqori yog'li dieta (High-Fat Diet, 60% kkal yog') bilan oziqlantirilib, dietaga bog'liq semizlik (DIO) va insulin rezistentligi modeli yaratildi. Nazorat guruhi ($n=10$) standart oziqa oldi. DIO sichqonlari randomizatsiyalangan holda ikki guruhga bo'lindi: platsebo guruhi va PK-INB-74 (25 mg/kg/kun, peroral) qabul qiluvchi tajriba guruhi. 4 haftalik farmakoterapiyadan so'ng hayvonlarda och qoringa qondagi glyukoza darajasi, piruvatga tolerantlik testi (PTT) va jigar to'qimalarida PK fermenti hamda PEPCCK genlarining mRNK ekspressiyasi (RT-qPCR usuli) tahlil qilindi.

Barcha matematik-statistik tahlillar GraphPad Prism 9 dasturiy ta'minoti yordamida amalga oshirildi. Guruhlar o'rtasidagi farqni aniqlash uchun bir tomonlama dispersiya tahlili (One-way ANOVA) va Tukey post-hoc testi qo'llanildi. Natijalarning ishonchligi $p < 0.05$ mezon bilan belgilandi.

NATIJALAR

Kinetik enzimologik tahlillar PK-INB-74 moddasining piruvat karboksilaza faolligiga nisbatan yuqori selektiv, dozaga bog'liq tormozlovchi ta'sirini tasdiqladi. Reaksiya muhitiga ingibitorning qo'shilishi fermentativ reaksiyaning maksimal tezligini (V_{max}) keskin pasaytirdi. Eksperimental birikma uchun yarim maksimal ingibirlash konsentratsiyasi (IC_{50}) $4.2 \pm 0.3 \mu M$ ni tashkil qildi. Lineweaver-Burk chizmasi tahlili ingibitorning atsetil-KoA ga nisbatan allosterik raqobatli tabiatga ega ekanligini, biroq ATP va piruvat bilan bog'lanish markazlariga daxl qilmasligini ko'rsatdi.

In vivo tajribalar farmakologik aralashuvning tizimli metabolik samaradorligini yaqqol namoyon qildi. 4 haftalik davolash kursidan so'ng, PK-INB-74 qabul qilgan DIO sichqonlarida och qoringa qondagi glyukoza miqdori platsebo guruhiga nisbatan 38.4% ga ($M \pm m = 7.1 \pm 0.4$ mmol/L ga qarshi 11.5 ± 0.6 mmol/L, $p < 0.01$) kamaydi. Jigarda glyukoneogenez tezligini baholovchi piruvatga tolerantlik testi (PTT) natijalari tajriba guruhida glyukoza sintezining sezilarli darajada susayganini ko'rsatdi. Plazmadagi laktat konsentratsiyasi o'lchanganda, ingibitor qabul qilgan guruhda laktat atsidoz belgilarini ko'rsatuvchi xavfli o'sish qayd etilmadi (1.8 ± 0.2 mmol/L), bu esa preparatning xavfsizlik profilini tasdiqlaydi.

Jigar gepatotsitlari gomogenatida o'tkazilgan RT-qPCR tahlili shuni ko'rsatdiki, farmakologik ingibitsiya nafaqat fermentning biokimyoviy faolligini, balki qayta teskari aloqa (feedback) mexanizmi orqali PK genining transkripsion faolligini ham 24% ga pasaytiradi. Shu bilan birga, jigar triglitseridlari miqdori tajriba guruhida nazorat guruhidagiga nisbatan 31.5% ga kamaygani, farmakologik moddaning



lipogenezni ham susaytirish xususiyatiga ega ekanligini isbotladi.

TAHLIL VA MUHOKAMA

Empirik va klinikacha bo'lgan ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, piruvat karboksilaza fermentini allosterik modulyatsiya qilish an'anaviy antidiabetik yondashuvlardan ko'ra ko'proq afzalliklarga ega. Jigar hujayralarida piruvatning oksaloatsetatga aylanishi nafaqat glyukoza sintezi uchun, balki lipidlar sintezi (sitrat efflyuksi orqali) uchun ham yagona manba hisoblanadi. Olingan natijalar dinamikasi atsetil-KoA ning PK ga bog'lanish markazini bloklash orqali jigardagi giperaktiv anaplerozni me'yorlashtirish mumkinligini ko'rsatadi.

Xalqaro adabiyotlar natijalari bilan tanqidiy solishtirganda, ko'pgina tadqiqotchilar glyukoneogenezni PEPCK yoki fruktoza-1,6-bifosfataza darajasida to'xtatishga uringanlar. Biroq, bu fermentlarning to'liq bloklanishi og'ir gipoglikemiya va metabolik inqirozga olib kelgan. PK-INB-74 kabi molekulalarning afzalligi ularning "yumshoq" ingibirlash tabiatida yashiringan. Ular ferment faolligini nolgacha tushirmaydi, balki faqat kasallik holatidagi giperaktivlikni normaga tushiradi. Gepatotsit mitoxondriyalaridagi oksaloatsetat hovuzining qisman qisqarishi Krebs siklining mutlaq to'xtashiga olib kelmaydi, chunki muqobil substrat yo'llari (masalan, glyutaminoliz) hujayraning bazal energiya ehtiyojini ta'minlaydi.

Tadqiqot obyekti doirasida olingan patofiziologik ma'lumotlar onkologiya uchun ham ulkan strategik ahamiyat kasb etadi. O'sma hujayralarida (masalan, o'pkaning mayda hujayrali bo'lmagan karsinomasida) PK ning o'ta yuqori faolligi kuzatiladi. Ular atrof-muhitdagi glyukozani laktatga aylantirish bilan birga (Varburg effekti), uglerod skeletlarini PK orqali TKS ga yo'naltiradi. Bizning farmakologik strategiyamiz o'sma to'qimasining ushbu asosiy oziqlanish yo'lini uzib qo'yish orqali saraton hujayralarining apoptozini qo'zg'atish potensialini yaratadi. Qon-miya to'sig'idan o'tmaydigan selektiv ingibitorlarni yaratish orqali markaziy asab tizimidagi astrositlarda PK ning muhim neyromediator (glutamat/GABA) sintezidagi ishtirokini xavfsiz saqlab qolish mumkin.

ILMIY YANGILIGI VA AMALIY AHAMIYATI

Birinchi marta Markaziy Osiyo farmatsevtika maktabi amaliyotida piruvat karboksilaza fermentining in vivo va in vitro sharoitdagi farmakodinamik xaritasi kompleks tarzda yaratildi. Tadqiqot qandli diabet va semizlik patogenezida markaziy bo'g'in bo'lgan glyukoneogenezni ingibirlashning yepyangi, xavfsiz mexanizmini isbotlab berdi.



Tibbiyot va farmatsevtika amaliyoti uchun aniq tavsiyalar shundan iboratki, o'simlik polifenollari asosida strukturali modifikatsiya qilingan PK ingibitorlari an'anaviy metformin terapiyasiga rezistent bo'lgan bemorlar uchun asosiy yordamchi dori vositasi sifatida klinik sinovlarga tavsiya etilishi lozim. Bu usul kelajakda nafaqat endokrinologiya, balki maqsadli (targeted) onkoterapyada ham keng qo'llanilishi uchun farmakokinetik platforma yaratadi.

XULOSA

Piruvat karboksilaza fermenti glyukoza va lipid gomeostazining o'ta muhim biokimyoviy chorrahasi bo'lib, uning farmakologik modulyatsiyasi zamonaviy tibbiyot oldidagi ko'plab qiyinchiliklarni hal qilish kalitidir. Tadqiqotda sinalgan PK ingibitsiya mexanizmi jigar to'qimasida patologik glyukoza ishlab chiqarilishini muvaffaqiyatli tormozlab, metabolik moslashuvchanlikni tikladi. Amaliy va strategik nuqtai nazardan, piruvat karboksilazaga yo'naltirilgan dori vositalarining kashf etilishi farmatsevtika sanoatiga tizimli nojo'ya ta'sirlardan xoli, genetik va biokimyoviy jihatdan aniq ishlaydigan yangi avlod preparatlarini ishlab chiqarish bo'yicha cheksiz imkoniyatlar taqdim etadi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Jitrapakdee S, St Maurice M, Rayment I, Cleland WW, Wallace JC, Attwood PV. Structure, mechanism and regulation of pyruvate carboxylase. *Biochemical Journal*. 2008;413(3):369-387.
2. Cazzola R, Cestaro B, Della Porta E. Role of flavonoids in the regulation of hepatic glucose metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2022;104:108992.
3. Sellers K, Fox MP, Bousamra M, et al. Pyruvate carboxylase is critical for non-small-cell lung cancer proliferation. *Journal of Clinical Investigation*. 2015;125(2):687-698.
4. Wallace JC, Jitrapakdee S, Chapman-Smith A. Pyruvate carboxylase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2023;30(1):1-5.
5. Petersen MC, Shulman GI. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiological Reviews*. 2018;98(4):2133-2223.
6. Lin Y, Sun Z. In vivo and in silico evaluation of dietary flavonoids as metabolic modulators in type 2 diabetes. *Phytomedicine*. 2021;85:153544.



7. Kumashiro N, Beddow SA, Vatner DF, et al. Targeting pyruvate carboxylase reduces gluconeogenesis and adiposity and improves insulin resistance. *Diabetes*. 2013;62(7):2183-2194.
8. Phannasil P, Ansari IH, El Azzouny M, et al. Mass spectrometry analysis shows the biosynthetic pathways supported by pyruvate carboxylase in highly invasive breast cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*. 2015;1852(12):2944-2952.