

ТУТОВНИК (MORUS NIGRA) ЭКСТРАКТИНИ КАЛАМУШ АОРТА ПРЕПАРАТИ Ca^{2+} КАНАЛЛАРИГА ТАЪСИРИ

Омонтурдиев С.З., Иномжонов Д.Р., Абдуллаев А.А., Гайибов У.Г.,

Арипов ТФ.

E-mail: siroj.2012@mail.ru

ЎзРФА биоорганик кимё институти

Наманган давлат университети

Аннотация: ушбу мақолада маҳаллий ўсимликлардан ажратиб олинган тутовник (*morus nigra*) экстрактини каламуш аорта препарати силлиқ мускул ҳужайраларида жойлашган потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлари фаоллигига таъсир механизми ўрганилган. Бунда ўрганилган экстракт Ca^{2+} -каналларига сезиларли таъсирга эгаллиги аниқланган бўлиб, ушбу натижаларга потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлар блокатори ёрдамида олинган натижалар ҳам тасдиқ бўла олади.

Таянч иборалар: силлиқ мускул, Ca^{2+} -канал, блокатор, *morus nigra*, экстракт.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ТУТОВНИКА (MORUS NIGRA) НА Ca^{2+} - КАНАЛЫ АОРТЫ КРЫС

Омонтурдиев С.З., Иномжонов Д.Р., Абдуллаев А.А., Гайибов У.Г.,

Арипов ТФ.

E-mail: siroj.2012@mail.ru

Институт биоорганической химии АН РУз

Наманганский государственный университет

Аннотация: В данной статье изучен механизм действия экстракта тутовника (*morus nigra*), выделенного из местных растений, на активность потенциалзависимых Ca^{2+} каналов, расположенных в гладкомышечных клетках препарата аорты крысы. Установлено, что исследуемый экстракт

оказывает существенное влияние на Ca^{2+} каналы, и эти результаты могут быть подтверждены результатами, полученными при использовании блокатора верапамила потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов.

Ключевые слова: гладкая мышца, Ca^{2+} канал, блокатор, *morus nigra*, экстракт.

THE EFFECT OF TUTOVNIK (MORUS NIGRA) EXTRACT ON RAT AORTA PREPARATION Ca^{2+} CHANNELS

Omonturdiev S.Z., Inomjonov D.R., Abdullaev A.A., Gayibov U.G.,
Aripov T.F.

E-mail: siroj.2012@mail.ru

Institute of Bioorganic Chemistry of the Academy of Sciences
of the Republic of Uzbekistan
Namangan State University

Annotation: *In this article, we studied the mechanism of action of mulberry (morus nigra) extract isolated from local plants on the activity of voltage-dependent Ca^{2+} -channels located in smooth muscle cells of a rat aorta preparation. It was found that the studied extract has a significant effect on Ca^{2+} channels, and these results can be confirmed by the results obtained using a blocker verapamil of potential-dependent Ca^{2+} -channels.*

Key words: *smooth muscle, Ca^{2+} channel, blocker, morus nigra, extract.*

Силлиқ мускул тўқималарининг ҳужайраси узунлиги ~ 15÷500 мкм ва диаметри ~ 2÷10 мкм бўлган ипсимон ҳужайрадир. Ҳужайра ўртасида ядро жойлашган. Цитоплазмадаги ядро атрофида қалин (миозин) ва ингичка (актин) иплари жойлашган. Миозин ипларидан актин ипларига жуда ингичка кўндаланг кўприкчалар чиқади. Актин ипларининг миозин ипларига нисбати 12:1, яъни кўндаланг-тарғил мускул ҳужайралариникига нисбатан 2 марта

кўпдир [1]. Кўндаланг-тарғил мускуллардан фарқли равишда СМлар саркомерларнинг тартибланган системасига эга эмас ва улар саркоплазмасининг асосий ҳажмини турли диаметрдаги филаментлар эгаллайди. [2].

Қон томирларининг тонусини кўплаб омиллар белгилайди, улардан Ca^{2+} ионлари муҳим роль ўйнайди. СМХ цитозолида Ca^{2+} концентрациясини ортиши ҳужайра ичида кечадиган қатор жараёнларнинг триггери ҳисобланиб, СМни қисқаришига олиб келади. Ҳужайра ичидаги Ca^{2+} миқдори ҳужайра ташқарисидан Ca^{2+} ни кириши ва уни саркоплазматик ретикулум (СР)дан чиқиши ҳисобига ортади [3]. Цитозолда Ca^{2+} ни ортиши уни кальмодулин билан боғланишини стимуллайди ва конформацион ўзгаришлар содир бўлади. Масалан, СМХнинг медиаторлар ёки гормонлар билан чақирилган қисқаришини ҳам ҳужайра ичидан, ҳам ҳужайра ташқарисидаги деподан кирадиган Ca^{2+} ионлари таъминлайди [4]. СМХ Ca^{2+} киришининг энг ўрганилган йўли L-типидаги Ca^{2+} -каналлари ҳисобланади. Бундан ташқари Ca^{2+} Ca^{2+} -каналлари орқали ҳам киради. Шу сабабли СМХ да қўзғалиш ва қисқариш жараёнларининг уйғунлиги – электромеханик ва фармокомеханик механизмлар орқали амалга ошади [5]. Электромеханик қисқаришда мембрана деполиризацияси амалга ошиб, бунда потенциалга боғлиқ бўлган Ca^{2+} -каналли активлашади, ҳужайранинг ташқарисидан саркоплазмага Ca^{2+} киради. Натижада Ca^{2+} нинг миқдори 500-700 нМ (наномоль) гача ортиб кетади ва қисқариш амалга ошади. Электромеханик қисқаришда мембрана потенциали осцилляция билан характерланадиган фазада СМХда асосий роль ўйнайди. Мембрана потенциалининг бундай характери потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналларини синхрон активациясини ва юқори частотали, ҳамда юқори амплитудали Ca^{2+} сигналини таъминлайди. Адабиётлардан маълумки аорта препарати қисқариш фаоллигини ўрганишда, KCl (50 мМ)дан

фойдаланилади. Шу нуқтаи назардан тажрибаларимизда маҳаллий ўсимликдан ажратиб олинган тутовник экстрактини каламуш аорта препарати қисқариш фаоллигига таъсири ўрганилди.

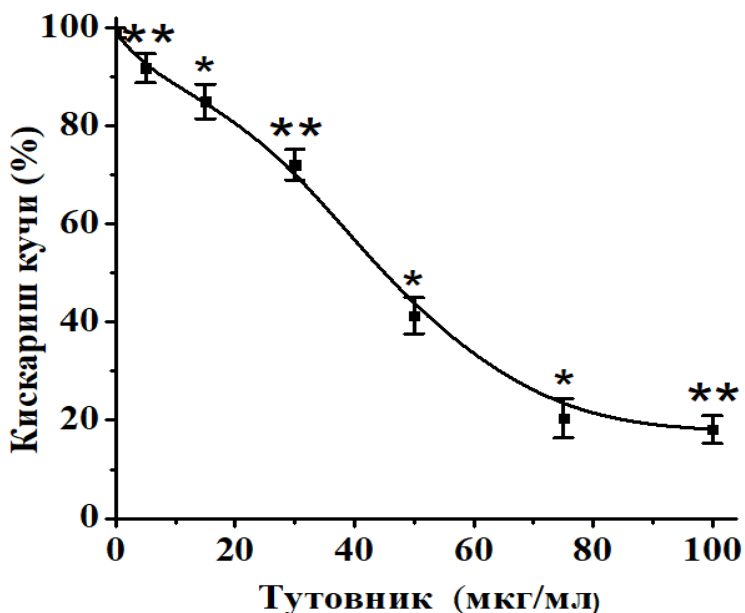
Тадқиқотнинг объекти сифатида маҳаллий ўсимликдан ажратиб олинган тутовник (*morus nigra*) экстракти ва каламуш аорта препаратлари олинган.

Тадқиқот материаллари ва усуллари. Тажрибалар оқ, зотсиз эркек каламушларнинг (200-250 г) аорта препаратларида олиб борилди. Тажриба ҳайвонлари цервикал дислокация усулида жонсизлантирилди ва кўкрак қафасини очилиб, аорта қон томири жарроҳлик усулида ажратиб олинди ва Кребс - Хензелейт физиологик эритмаси (мМ): NaCl 120,4; KCl 5; NaHCO₃ 15,5; NaH₂PO₄ 1,2; MgCl₂ 1,2; CaCl₂ 2,5; C₆H₁₂O₆ 11,5, HEPES *pH* 7.4 билан перфузияланган махсус камерага (5 мл) жойлаштирилди. Айрим тажрибалар учун таркибида Ca²⁺ бўлмаган Кребс эритмалар ҳам ишлатилди. Бунинг учун Кребс эритмасига ЭГТА (1 мМ) қўшилди. Физиологик эритмалар карбоген (95% O₂, 5% CO₂) билан оксигенланди ва U-8 ультратермостати ёрдамида +37°C да ушлаб турилди. Аортани ўраб турган бириктирувчи тўқима ва ёғни олиб ташлагандан сўнг аортани 3-4 мм ли ҳалқа кўринишида сегментларга бўлинди. Аорта ҳалқалари Radnoti (Isometric-Transducer, США) датчикига платинали симдан ясалган илгаклар ёрдамида уланди. Бундай ҳолатда аорта ҳалқалари 60 мин. давомида мувозанатга келгунга қадар ушлаб турилди. Ҳар бир препаратга 1 гр (10 мН) га мос келадиган бошланғич кучланишни берилди. Қисқариш кучи механотрондан келувчи сигнал кучайтиргичга узатилади ва Go-link автоматлаштирилган рақамли конвертор ёрдамида компьютерга қайд қилинади. Олинган натижалар OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060–4401, АҚШ) махсус дастур пакетлари

ёрдамида статистик қайта ишланди. *In vitro* шароитида каламуш аорта қон томири препаратининг изометрик қисқариш кучи (мН) статистик қайта ҳисоблашда фоиз (%) қийматида ҳисобланди [6].

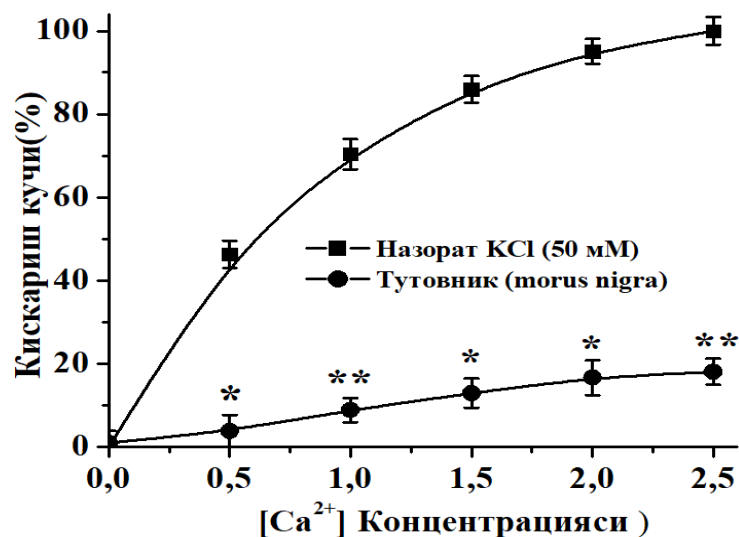
Олинган натижалар ва уларнинг таҳлили. Маълумки, KCl (50 мМ) таъсирида чақирилган аорта препаратининг қисқаришида силлиқ мускул ҳужайраларида жойлашган потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлари фаоллашиши билан қисқариш юзага келади [7]. Ушбу ҳолатда муҳитдаги K^{+} ионлари концентрацияси ортиши ҳисобига мембрана потенциали қиймати ўзгаради ва потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлари фаоллашади [8-9].

Тажрибаларимизда тутовник (*morus nigra*) экстракти KCl (50 мМ) ёрдамида олдиндан чақирилган аорта препаратлари қисқаришини сезиларли даражада сусайтириши аниқланди. Хусусан 5 мкг/мл концентрацияда $8,2 \pm 3\%$ га 100 мкг/мл концентрацияда эса назоратдагига нисбатан $81,9 \pm 2,8\%$ га сусайтириши аниқланди (1-расм).



1-расм. тутовник (*morus nigra*) экстрактини KCl (50мМ) билан чақирилган каламуш аортаси силлиқ мускул препаратларининг қисқаришига таъсири. Ордината ўқида – аорта препаратининг KCl (50 мМ) ёрдамида чақирилган қисқариш кучи, 100% деб ҳисобланган, абсцисса ўқида тутовник (*morus nigra*) экстракти концентрацияси (мкМ) ифодаланган. Барча ҳолатларда * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 4-5$).

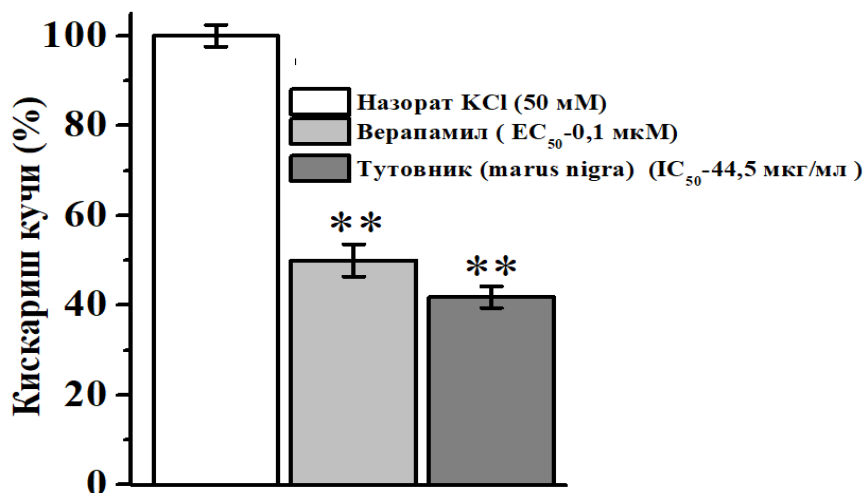
Тажриба натижалари асосида, мазкур экстракт таъсирида юзага келаётган релаксant эффект потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналларний фаоллигини суайтириши ҳисобига юзага келаётган бўлиши мумкин деган тахминга келинди. Ушбу тахминни текшириш мақсадида тажрибаларнинг навбатдаги серияларида кальций ионлари мавжуд бўлмаган Кребс эритмаси ва потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлари блокаторлари ёрдамида тажрибалар олиб борилди. Адабиёт маълумотларига кўра кальций ионлари мавжуд бўлмаган Кребс эритмасида KCl таъсирида аорта препаратларида қисқариши кузатилмайди, лекин Кребс эритмасига Ca^{2+} ионларини (0 – 2.5 мМ) ошириб борилиши аорта препаратларида секин ортиб борувчи қисқаришни юзага келтиради [10]. Ушбу шароитда (*morus nigra*) экстракти (80 мкг/мл) концентрацияда таъсири ўрганилганда ҳар хил дозадаги Ca^{2+} ионлари юзага келтираётган аорта препаратларидаги секин ортиб борувчи қисқаришни назоратдаги қисқаришга нисбатан сезиларли даражада сусайтириши кузатилди (3-расм).



2-расм. тутовник (*morus nigra*) экстрактини релаксant фаоллигига муҳитда $[\text{Ca}^{2+}]$ концентрациясини таъсири. Ордината ўқида – аорта препаратининг KCl (50 мМ) ёрдамида чақирилган қисқариш кучи, 100% деб ҳисобланган, абсцисса ўқида – Ca^{2+} концентрацияси (0 - 2.5 мМ) ифодаланган. Барча ҳолатларда * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 5$).

Олиб борилган тажриба натижаларидан кўриниб турибдики (*morus nigra*) экстракти Ca^{2+} ионлари юзага келтираётган аорта препаратлари қисқаришига сезиларли таъсир кўрсатмоқда ва бу орқали L тип Ca^{2+} каналлари орқали мембранага Ca^{2+} ионлари киришини сусайтиришини тахмин қилиш мумкин.

Юқоридаги олинган натижаларнинг L тип Ca^{2+} каналларига боғлиқлигини исботлаш учун ушбу экстрактларни L тип Ca^{2+} каналларнинг махсус блокатори верапамил билан ўзаро таъсири солиштирилди [11]. Тажрибаларда KCl (50мМ) билан чақирилган аорта препаратлари қисқариш фаоллигига верапамилнинг ярим максимал концентрацияси (0,1 мкМ)да тажрибалар олиб борилди. Сўнгра инкубация муҳитида 44,5 мкг/мл тутовник (EC_{50}) ва верапамил (0,1 мкМ) мавжуд шароитда KCl (50 мМ) ёрдамида тажрибалар олиб борилганда ушбу экстракт верапамилнинг ярим максимал таъсирига қўшимча равишда $8,2 \pm 2,4\%$ га сусайтириши қайд қилинди (4-расм).



3-расм. тутовник (*morus nigra*) экстракти ва Ca^{2+} -каналли блокатори - верапамил (EC_{50}) мавжуд шароитда KCl (50мМ) ёрдамида чақирилган аорта препаратлари қисқаришига ўзаро таъсири. Ордината ўқида – аорта силлиқ мускул препаратининг KCl (50 мМ) ёрдамида чақирилган қисқариш кучи, 100% деб ҳисобланган. Барча ҳолатларда $p < 0,05$ ($n = 6$).

Олиб борилган натижалари шуни кўрсатадики текширилган экстракт кучли релаксant таъсирга эга бўлиб, KCl (50 мМ) ёрдамида чақирилган қисқаришни, сезиларли даражада камайтирди. Ушбу жараёнда силлиқ мускул ҳужайралари сарколеммасида жойлашган потенциалга боғлиқ Ca^{2+} -каналлини блокляниши натижасида ва уларга Ca^{2+} ионларини кириши камайиши сабабли мускул бўшашишига олиб келади. Ушбу натижалар асосида текширилган тутовник экстракти потенциалга боғлиқ Ca^{2+} каналларга таъсир қилаётгани тахмин қилинди. Бу тахминни Ca^{2+} -канал специфик блокатори верапамил ёрдамида олинган натижалар ҳам қўшимча тасдиқлай олади.

Фойдаланилган адабиётлар рўйхати

1. Calcium Channels in Smooth Muscle JUN YU and RATNA BOSE. Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Manitoba, Winnipeg, Canada //GASTROENTEROLOGY 1991;100:1448-1480
2. Karaki H, Weiss GB. Calcium channels in smooth muscle. Gastroenterology 1984;87:960-970.
3. Hamill OP, Marty A, Neher E, Sakmann B, Sigworth FJ. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. Pflugers Arch 1981;391:85-100.
4. Lee KS, Akaike N, Brown AM. The suction pipette method for internal perfusion and voltage clamp of small excitable cells. J Neurosci Methods 1980;2:51-78.
5. Walsh Jr. JV, Singer JJ. Identification and characterization of major ionic currents in isolated smooth muscle cells using the voltage-clamp technique. Pflugers Arch 1987;408:83-97
6. Ghosh D.A., Syed M.P., Prada M.A., Nystoriak L.F., Santana M., Nieves C., Navedo M.F. Calcium channels in vascular smooth muscle // Advances in Pharmacology. 2017. Vol. 78. Pp. 49-87.
7. Plamen I.Z., Kokova V.Yu., Apostolova E.G., Peychev L.P. Possible role of 18-kDa translocator protein (TSPO) in etifoxine-induced reduction of direct twitch responses in isolated rat nerve-skeletal muscle preparations // Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2018. Vol. 17 (7). Pp. 1309-1315.
8. Vandier C., Guennec Jean-Yves L., Bedfer G. What are the signaling pathways used by norepinephrine to contract the artery? A demonstration using guinea pig aortic ring segments // Adv. Physiol. Educ. 2002. Vol. 26(1-4). Pp. 195-203.
9. Webb R.C. Smooth muscle contraction and relaxation // Adv. Physiol. Edu. 2003. Vol. 27. Pp. 201-206.

10. Nishimura K., Ota M., Ito K. Existence of two components in the tonic contraction of rat aorta mediated by alpha 1-adrenoceptor activation // British Journal of Pharmacology. 2002. Vol. 102. Pp. 215-221.
11. Cleary L., Vadeputte C., Kelly J.G., Docherty J.R. Actions of R- and S-verapamil and nifedipine on rat vascular and intestinal smooth muscle // Auton. Autacoid. Pharmacol. 2004. Vol. 24. Pp. 63-67.