

***RK3 EKSTRAKTINI KALAMUSH AORTA PREPARATINI POTENSIALGA
BOG`LIQ  $Ca^{+2}$ -L TIP KANALLARIGA TA'SIRINI O`RGANISH***

**Abdullayev I.Z., Ismailova Sh.N., Alimbayeva Sh.B., Xodjaniyazov B.A.,
Omonturdiev S.Z., Rejepov K.J., Gayibov U.G., Zaynabiddinov A.E.,**

O`zRFA bioorganik kimyo instituti

Andijon Davlat universiteti

Namangan Davlat universiteti

E-mail: izzatillo.abdullayev.00@mail.ru

Annotasiya: Tajribalarda RK3 ekstraktini kalamush aortasi silliq muskul hujayralarining qisqarish faolligiga ta'siri o'rganildi. Ushbu natijalar shuni ko'rsatdiki, o'rganilgan ekstrakt potensialga bog'liq L tipdagi Ca^{2+} kanallariga sezilarli ta'siri orqali kalamush aortasini bo'shashtiradi. RK3 ekstrakti ta'sir effekti dozaga bog'liq bo'lib, uning konsentratsiyasi ortgan sari aorta prepaorati qisqarishini sezilarli darajada susaytiradi.

Tayanch iboralar: silliq muskul, Ca^{2+} -kanal, ekstrakt, aorta preparati, RK3, verapamil, KCl.

***ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА РКЗ НА ПОТЕНЦИАЛЬНО
ЗАВИСИМЫЕ КАНАЛЫ ТИПА Ca^{+2} -L ПРЕПАРАТА АОРТЫ КРЫС***

**Абдуллаев И.З., Исмаилова Ш.Н., Алимбаева Ш.Б., Ходжаниязов Б.А.,
Омонтурдиев С.З., Режепов К.Ж., Гайибов У.Г., Зайнабиддинов А.Е.,**

Институт биоорганической химии АНРУз

Андижанский государственный университет

Наманганский государственный университет

E-mail: izzatillo.abdullayev.00@mail.ru

Аннотация: В экспериментах исследовалось влияние экстракта РКЗ на сократительную активность клеток гладкой мускулатуры аорты крыс.

Полученные результаты показали, что исследуемый экстракт расслабляет аорту крыс за счет значительного воздействия на потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа. Влияние РКЗ проявляется дозозависимым, что значительно уменьшает сокращение аорты препарата при повышении его концентрации.

Ключевые слова: гладкая мускулатура, Ca^{2+} -канал, РКЗ экстракт, препарат аорты, РКЗ, верапамил, KCl

STUDY OF THE EFFECT OF RK3 EXTRACT ON POTENTIAL-DEPENDENT Ca^{+2} -L TYPE CHANNELS OF RAT AORTA PREPARATION

Abdullayev I.Z., Ismailova Sh.N., Alimbayeva Sh.B., Xodjaniyazov B.A., Omonturdiyev S.Z., Rejepov K.J., Gayibov U.G., Zaynabiddinov A.E.,

Institute of bioorganic chemistry Academy of sciences of Uzbekistan

Namangan state university

E-mail: izzatillo.abdullayev.00@mail.ru

Abstract: In experiments, the effect of RK3 extract on the contractile activity of rat aorta smooth muscle cells was studied. These results showed that the studied extract relaxes the rat aorta through a significant effect of potential-dependent L-type Ca^{2+} channels. The effect of RK3 extract depends on the dose, which significantly reduces the contraction of the aortic preparation as its concentration increases.

Key words: smooth muscle, Ca^{2+} -channel, extract, aortic preparation, RK3, verapamil, KCl.

Surunkali qon bosimining oshishi odatda insult, miokard infarkti, ishemya kabi jiddiy patologiyalarga olib kelishi mumkin. Ushbu omillarni yuzaga kelishini va qon bosimini tartibga solishda ishtarakini o'rganish, zamonaviy farmasevtika va

tibbiyotning dolzarb muommalaridan biridir. Arterial qon bosimi qon tomirlar tonusi, qon tomir devorlaridagi silliq muskul hujayralari (SMH) qisqarish faolligi bilan belgilanadi. Arteriyalar va arteriolalar qisqarish faolligi qon tomirlarning o'zaro qarshiligi orqali tartibga solinadi. Qon aylanishi vazokonstriktor va vazodilatator stimulyatorlar garmonlar, neyrotransmitterlar. Shuningdek bevosita qon bosimi orqali, qon tomir silliq muskullarning qisqarishini tartibga soluvchi miozinning yengil zanjiri Ca^{2+} /kolmodulinga bog'liq fosforillanishi natijasida yuzaga keladi [1,2]. Ca^{2+} ionlari hujayra ichidagi depolordan Ca^{2+} kanallari orqali chiqarilishida Ca^{2+} aktivatorlari asosiy manbai hisoblanadi [3]. Boshqa tomondan, qon tomir silliq muskullarining tonusi hujayra ichidagi Ca^{2+} ionlari bilan, balki membrana potentsiali va Ca^{2+} ning maxsus mexanizmlari orqali ham tartibga solinadi [4]. Ca^{2+} ionlarining nisbiy balansi orqali qon bosimini tartibga solishda L tipdagi Ca^{2+} kanallari va Ca^{2+} maxsus mexanizmlarining roli juda muhim hisoblanadi. Bunda Ca^{2+} i va L tipdagi Ca^{2+} kanallar mikroserkulsiyada, miogen reaktivlik va tonusda muhim rol o'ynaydi [3,5].

Tadqiqotning maqsadi *in vitro* sharoitida kalamush aorta preparatiga mahalliy o'simliklardan ajratib olingan polifenolini relaksant ta'sir mexanizmlarini tavsiflashdan iborat.

Tadqiqotning ob'ekti sifatida mahalliy o'simliklardan ajratib olingan RK3 polifenoli va kalamush aorta qon tomir preparatlari olingan (1-rasm).



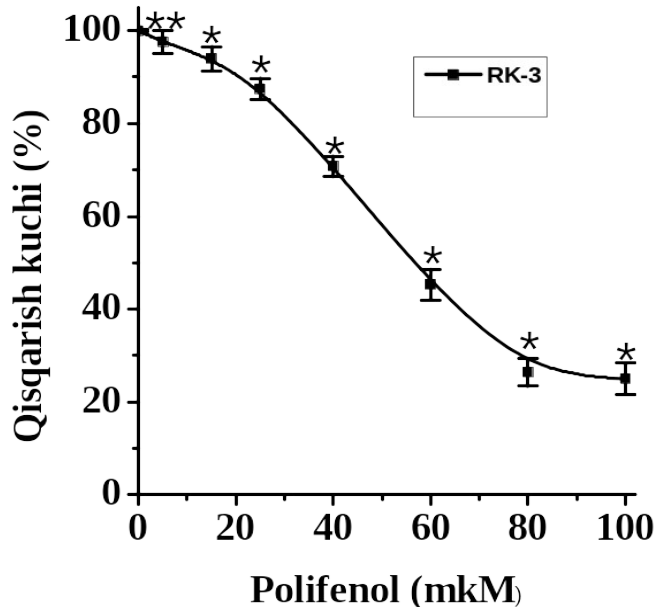
1-rasm. *Gossypium hirsutum*(RK3) o'simligining umumiy ko'rinishi

Tadqiqot materiallari va usullari. Tajribalar oq, zotsiz erkak kalamushlarning (200-250 g) aorta prepartlarida olib borildi. Tajriba hayvonlari servikal dislokatsiya usulida jonsizlantirildi va ko'krak qafasini ochilib, aorta qon tomiri jarrohlik usulida ajratib olindi va Krebs - Xenzelayt fiziologik eritmasi (mM): NaCl 120,4; KCl 5; NaHCO₃ 15,5; NaH₂PO₄ 1,2; MgCl₂ 1,2; CaCl₂ 2,5; C₆H₁₂O₆ 11,5, HEPES pH 7.4; bilan perfuziyalangan maxsus kameraga (5 ml) joylashtirildi. Ayrim tajribalar uchun tarkibida Ca²⁺ bo'lmagan Krebs eritmalar ham ishlatildi. Buning uchun Krebs eritmasiga EGTA (1 mM) qo'shildi. Fiziologik eritmalar karbogen (95% O₂, 5% CO₂) bilan oksigenlandi va DAIHAN ul'tratermostati yordamida +37°C da ushlab turildi. Aortani o'rab turgan biriktiruvchi to'qima va yog'ni olib tashlagandan so'ng aortani 3-4 mm li halqa ko'rinishida segmentlarga bo'lindi. Aorta halqalari Isometric Transducer (Radnoti, USA) datchikiga platinali simdan yasalgan ilgaklar yordamida ulandi. Bunday holatda aorta halqalari 60 min. davomida muvozanatga kelgunga qadar ushlab turildi. Har bir preparatga 1 gr (10 mN) ga mos keladigan boshlang'ich kuchlanishni berildi. Qisqarish kuchi mexanotrondan keluvchi signal kuchaytirgichga uzatiladi va GoLink software yordamida qayd qilinadi. Olingan natijalar OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, AQSh) maxsus dastur paketlari yordamida statistik qayta ishlandi. In vitro

sharoitida kalamush aorta qon tomiri preparatining izometrik qisqarish kuchi (mN) statistik qayta hisoblashda foiz (%) qiymatida hisoblandi [5].

Olingan natijalar va ularning tahlili.

Funksional jihatdan aorta qon tomilari L tip Ca^{2+} kanallarining rolini o'rganish hozirgi zamonaviy tibbiyot va farmakologiyaning eng samarali va ammoviy metodlardan biri hisoblanadi [6]. L tip Ca^{2+} kanallarining rolini o'rganish uchun, KCl (50mM) bilan qisqarish chaqiriladi. muhitda K^{+} konsentratsiyasi ortishi sharoitida membrana potentsiali qiymati o'zgaradi va o'z navbatida, membrana depolyarizatsiyasi amalga oshadi va L tip Ca^{2+} kanallari faolashishi kuzatiladi. Tajribalarda KCl (50mM) yordamida chaqirilgan aorta preparati qisqarishiga RK3 ekstraktining ta'siri o'rganildi. Bunda ushbu ekstrakt konsentratsiyaga bog'liq holatda (5 - 80 mkM) kuchli relaksant ta'sirga ega ekanligi aniqlandi. tajribalarimizda RK3 ekstraktining 5 mKM konsentratsiyasi aorta preparati qisqarishini nazoratga nisbatan $2,6 \pm 2,4\%$ ga susaytirishi aniqlandi, 80 mkM konsentratsiyasi esa qisqarish kuchini $75 \pm 3,4\%$ ga susaytirishi qayd qilindi. KCl (50 mM) yordamida chaqirilgan maksimal qisqarishini ushbu ekstraktning 50% gacha (IC_{50}) konsentratsiyasi 56 mkMni tashkil qildi.

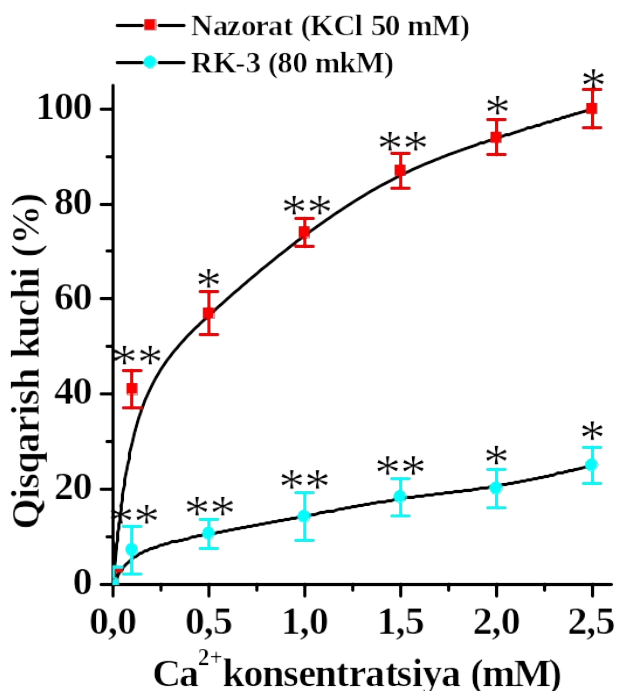


2-rasm. RK3 ekstraktini KCl (50mM) bilan chaqirilgan kalamush aortasi silliq muskul preparatlarining qisqarishiga ta'siri. Ordinata o'qida – aorta preparatining KCl (50 mM) yordamida chaqirilgan qisqarish kuchi, 100% deb hisoblangan, abssissa o'qida RK3 ekstraktining konsentratsiyasi (mkM) ifodalangan. Barcha holatlarda * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n = 4-5$).

Olingan tajriba natijalari asosida RK3 ekstrakti relaksant ta'siri silliq muskul hujayralari plazmalemmasida joylashgan potentsialga bog'liq Ca^{2+} -kanallarini bloklanishi natijasida va ularning sitozoliga Ca^{2+} ionlari kirishi susayishi bilan bog'liq bo'lishini tahmin qilish mumkin.

Ushbu tahminni tekshirish maqsadida navbatdagi tajribalarda kal'siysiz Krebs eritmasi va potentsialga bog'liq Ca^{2+} -kanallari blokatori - verapamildan foydalangan holda tajribalar olib borildi. Ma'lumki, Ca^{2+} siz Krebs eritmada KCl konsentratsiyasini oshishi aorta preparatlarida qisqarishni keltirib chiqarmaydi, lekin ushbu sharoitda Krebs eritmasiga Ca^{2+} ionlarini qo'shganda (0 – 2.5 mM) aorta preparatlarini qisqarishini yuzaga keltiradi [2,7]. Tajribalarimizda Krebs eritmasida RK3 ekstrakti (80 mkM) va 50 mM KCl mavjud sharoitda Ca^{2+} ionlari

qo‘shilganda aorta preparatlari qisqarishi nazoratga nisbatan sezilarli darajada kamaytirishi aniqlandi (2-rasm).

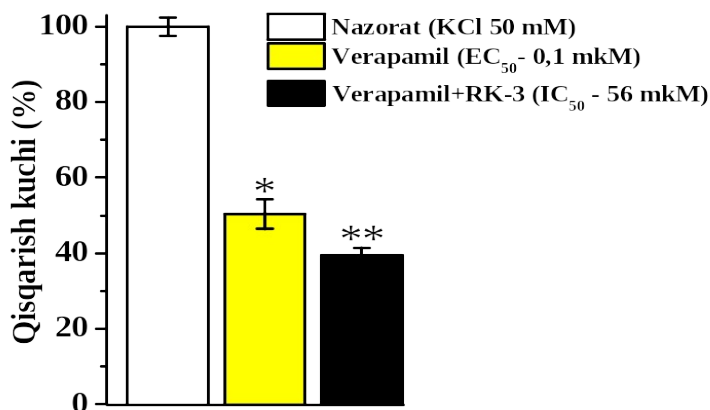


3-rasm RK3 ekstraktini relaksant faolligiga muhitda [Ca²⁺] konsentratsiyasini ta'siri. Ordinata o‘qida – aorta preparatining KCl (50 mM) yordamida chaqirilgan qisqarish kuchi, 100% deb hisoblangan, abssissa o‘qida – Ca²⁺ konsentratsiyasi (0 - 2.5 mM) ifodalangan. Barcha holatlarda *p<0,05, **p<0,01; n=5).

Tajriba natijalari asosida RK3 ekstrakti KCl yordamida chaqirilgan aorta preparati qisqarishiga relaksant ta'sirini hujayrala membranasida joylashgan potensialga bog‘liq L tip Ca²⁺ kanallari orqali Ca²⁺ ionlari kirishini susaytirishi bilan bog‘liq bo‘lishidan dalolat beradi.

Navbatdagi tajribalarimizda tekshirilayotgan ekstrakti relaksant ta'sirini L tip Ca²⁺ kanallariga bog‘liqligini isbotlash uchun ushbu kanallarning maxsus blokatori verapamil bilan o‘zaro ta'siri solishtirildi [3,8]. Buning uchun KCl (50mM) bilan chaqirilgan aorta preparatlarini yarim maksimal qisqarishini keltirib

chiqaradigan verapamil konsentratsiyasi (0,1 mkM) dan foydalanildi. Ushbu sharoitda 56 mkg/ml (EC_{50}) mavjud sharoitda KCl (50 mM) bilan chaqirilgan aorta preparatlarida qisqarish chaqirilganda ushbu ekstrakt aorta qisqarish faolligini qo‘shimcha ravishda $10,9 \pm 2,1\%$ ga susaytirishi qayd qilindi (4-rasm).



4-rasm. RK3 ekstrakti va Ca^{2+} -kanali blokatori -verapamil (EC_{50}) mavjud sharoitda KCl (50mM) yordamida chaqirilgan aorta preparatlari qisqarishiga o‘zaro ta’siri. Ordinata o‘qida – aorta silliq muskul preparatining KCl (50 mM) yordamida chaqirilgan qisqarish kuchi, 100% deb hisoblangan Barcha holatlarda $P < 0,05$ ($n = 6$).

Olingan tajriba natijalari asosida, tekshirilgan ekstrakt kuchli relaksant ta’sirga ega bo‘lib KCl (50 mM) yordamida chaqirilgan qisqarishni, sezilarli darajada kamaytirdi. Ushbu holatda plazmalemmada joylashgan potensialga bog‘liq L tip Ca^{2+} kanallari bloklanishi natijasida va ularga Ca^{2+} ionlarini kirishi kamayishi sababli muskul bo‘shashishiga olib keladi. Tajriba natijalari shuni ko‘rsatadiki ushbu ekstraktning relaksant ta’siri L tip Ca^{2+} kanallarining bloklanishi bilan bog‘liq va ushbu natijalarga Ca^{2+} -kanal spesifik blokatori verapamil bilan olib borilgan tajriba natijalari dalil bo‘la oladi.

Xulosa. Tadqiqot natijalari asosida tekshirilgan ekstrakt 50 mM KCl yordamida chaqirilgan qisqarish faolligini sezilarli susaytirishi aniqlandi, bu orqali

plazmalemmadagi potensialga bogʻliq faollashuvchi Ca^{2+} L–kanallarini bloklanishi aniqlandi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR ROʻYXATI

1. Sven Moosmang¹, Verena Schulla, Andrea Welling, Robert Feil, Susanne Feil, Jörg W.Wegener, Franz Hofmann and Norbert Klugbauer //Dominant role of smooth muscle L-type calcium channel Cav1.2 for blood pressure regulation. The EMBO Journal Vol. 22 No. 22 pp. 6027±6034, 2003.
2. Bayliss,W.M. (1902) On the local reactions of the arterial wall to changes of internal pressure. J. Physiol., 28, 220±231.
3. Davis,M.J. and Hill,M.A. (1999) Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response. Physiol. Rev., 79, 387±423.
4. Somlyo,A.P., Wu,X., Walker,L.A. and Somlyo,A.V. (1999) Pharmacomechanical coupling: the role of calcium, G-proteins, kinases and phosphatases. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol., 134, 201±234.
5. Ковалев И.В., Баскаков М.Б., Капилевич Л.В., Медведев М.А. Роль оксида азота в регуляции электрической и сократительной активности гладких мышц // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – №1 – С.7-25.
6. Jackson,W.F. (2000) Ion channels and vascular tone. Hypertension, 35, 173±178.
7. 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. – V.102. – P.215-221
8. 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. –V.24. –P. 63-67