

F-17 ALKALOIDINING ENDOTELIYGA BOG'LIQ VAZORELAKSANT TA'SIRI

Zaripov A.A. – biologiya fanlari falsafa doktori, katta ilmiy xodim

O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti

Usmanov P.B. – biologiya fanlari doktori, professor

O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti

Jo'raqulov Sh.N. - kimyo fanlari doktori, katta ilmiy xodim

O'zR FA O'simliklar moddalari kimyosi instituti

Annotatsiya. Ushbu maqolada F-17 izoxinolin alkaloidini vazorelaksant ta'sirida endoteliy qavatining roli o'rganildi. Aorta qon tomir preparatining endoteliy qavati olib tashlangan sharoitda tajribalar amalga oshirildi. Qisqarish kuchi FT-03 (Grass Instrument Co., AQSH) mexanotroni yordamida qayd qilingan. Olingan natijalar Shuni ko'rsatadiki, F-17 alkaloidining vazorelaksant ta'siri endoteliyga bog'liq bo'lib, bunda NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'lining faollashuvi bilan Ca^{2+} ionlarining plazmalemmadagi Ca^{2+} -kanallari orqali kirishining susayishi bilan amalga oshadi.

Tayanch so'zlar: F-17 alkaloidi, endoteliy, vazorelaksant, NO-sintaza, siklooksigenaza.

Аннотация. В данной статье изучалась роль эндотелиального слоя в вазорелаксантном действии изохинолинового алкалоида F-17. Эксперименты проводились на препаратах аорты с удалённым эндотелием. Сила сокращения регистрировалась с помощью механофона FT-03 (Grass Instrument Co., США). Полученные результаты показали, что вазорелаксантный эффект алкалоида F-17 зависит от наличия эндотелия и реализуется за счёт активации сигнального пути NO/sGC/cGMP/PKG, сопровождающейся снижением поступления ионов кальция (Ca^{2+}) через кальцевые каналы плазмолеммы.

Ключевые слова: F-17 алкалоид, эндотелий, вазорелаксант, NO-синтаза, циклооксигеназа.

Abstract. In this article, the role of the endothelial layer in the vasorelaxant effect of the isoquinoline alkaloid F-17 was studied. The experiments were carried

out on aortic preparations with the endothelium removed. The contraction force was recorded using an FT-03 force transducer (Grass Instrument Co., USA). The results showed that the vasorelaxant effect of the alkaloid F-17 depends on the presence of the endothelium and is realized due to the activation of the NO/sGC/cGMP/PKG signaling pathway, accompanied by a decrease in the influx of calcium ions (Ca^{2+}) through the calcium channels of the plasma membrane.

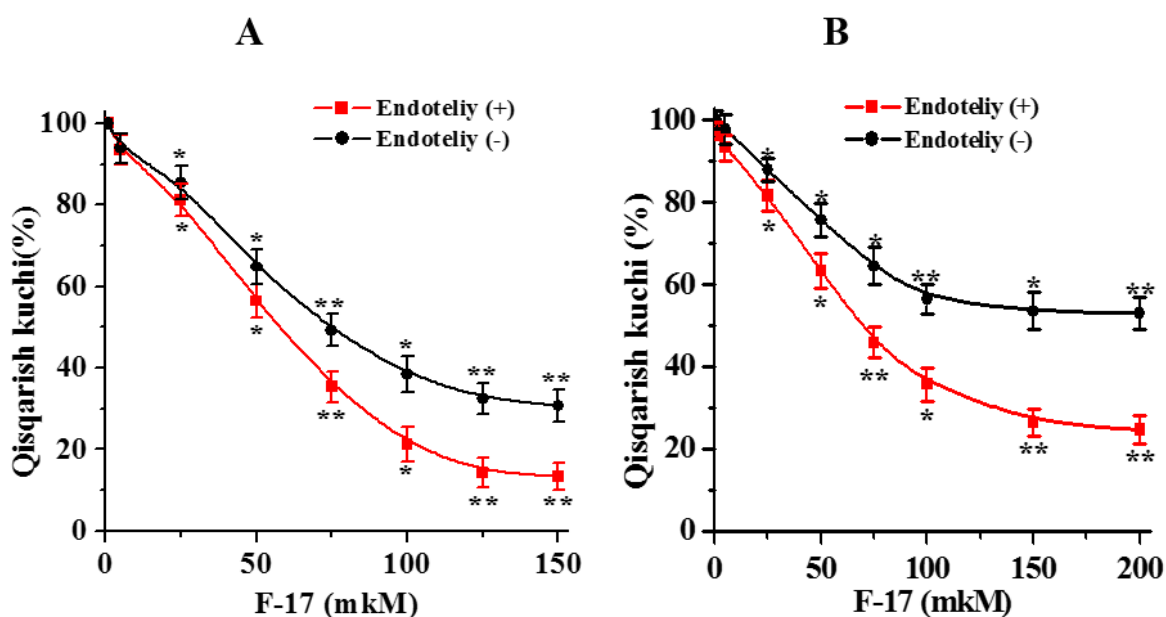
Key words: *F-17 alkaloid, endothelium, vasorelaxant, NO synthase, cyclooxygenase.*

Endoteliy hujayralari qon tomir silliq muskul qisqarish faolligini boshqarishda muhim rol o'ynaydi, Shuningdek, bir qator vazoaaktiv omillarni ishlab chiqarish orqali SMH lari funksional holati va qon tomir tonusini ushlab turishni ta'minlaydi [1,2,3]. Ushbu vazoaaktiv omillardan silliq muskul qisqarish faoliyatini boshqarishda eng muhim rolni azot oksidi (NO) bajaradi. Azot oksidi endotelial hujayralarda NO sintaza (eNOS) yordamida sintezlanadi va qon tomirlar silliq muskullari bo'shashishda asosiy vositachi hisoblanadi [4]. Endoteliy qavatining funksional faolligini buzilishi gipertoniya, miokard infarkti, ateroskleroz kabi yurak qon tomir kasalliklarini keltirib chiqaradi [5]. Shu sababli, F-17 alkaloidining vazorelaksant ta'sir ko'rsatishida endoteliy qavatining ihtimoliy ishtirokini o'rgandik.

Tadqiqot usullari va materiallari. Tajribalar oq, zotsiz kalamushlar (200-250 g) servikal dislokatsiya usulida jonsizlantirildi va ko'krak qafasi ochilib, aorta qon tomiri jarrohlik usulida ajratib olindi. Tayyorlab olingan aorta preparatlari Krebs – Xenselayt fiziologik eritmasi ((mM): NaCl 120,4; KCl 5; NaHCO₃ 15,5; NaH₂PO₄ 1,2; MgCl₂ 1,2; CaCl₂ 2,5; C₆H₁₂O₆ 11,5; pH 7.4.) bilan perfuziyalangan maxsus kameraga (5 ml) joylashtirildi [6]. Aorta halqalari qisqarish faolligi Grass FT.03 (Grass-Telefactor, AQSh) mexanotroni orqali signal kuchaytirgichga uzatiladi va undan kompyuterda *Logger Lite* programmasi yordamida yozib olindi. Fiziologik eritmalar karbogen (95%O₂, 5% CO₂) bilan oksigenlandi va harorati U-8 ultratermostati yordamida +37°C da ushlab turildi. Tajribalarda aorta

preparatlaridan endoteliy qavati paxta tampon yordamida mexanik usulda olib tashlandi va ularni olib tashlanganligiga ishonch hosil qilish uchun atsetilxolin yordamida tekshirildi [7]. Shuningdek eNOS blokatori – L-NAME, guanilatsiklaza fermenti ingibitori – metilen koʻki va siklooksigenaza fermenti ingibitori – indometatsin ishtirokida tajribalar oʻtkazildi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Tajribalarda aorta preparatidan endoteliy qavatining olib tashlanishi F-17 alkaloidining vazorelaksant effekti kamayganligini koʻrsatdi. Endoteliy qavati olib tashlangan aorta preparatida F-17 alkaloidi 150 mkM konsentratsiyada KCl bilan chaqirilgan qisqarish kuchini $69,3 \pm 3,9\%$ ga kamaytirishi, endoteliysi mavjud preparatlarda esa bu koʻrsatkich $86,6 \pm 3,3\%$ ni tashkil qilishi aniqlandi (1 -rasm, A). Shuningdek, F-17 alkaloidi (200 mkM) endoteliy qavati olib tashlangan aorta preparatlarida FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchiga vazorelaksant taʼsiri $75,4 \pm 3,9\%$ dan $47,1 \pm 3,8\%$ ga kamayganligi kuzatildi (1 -rasm, B).



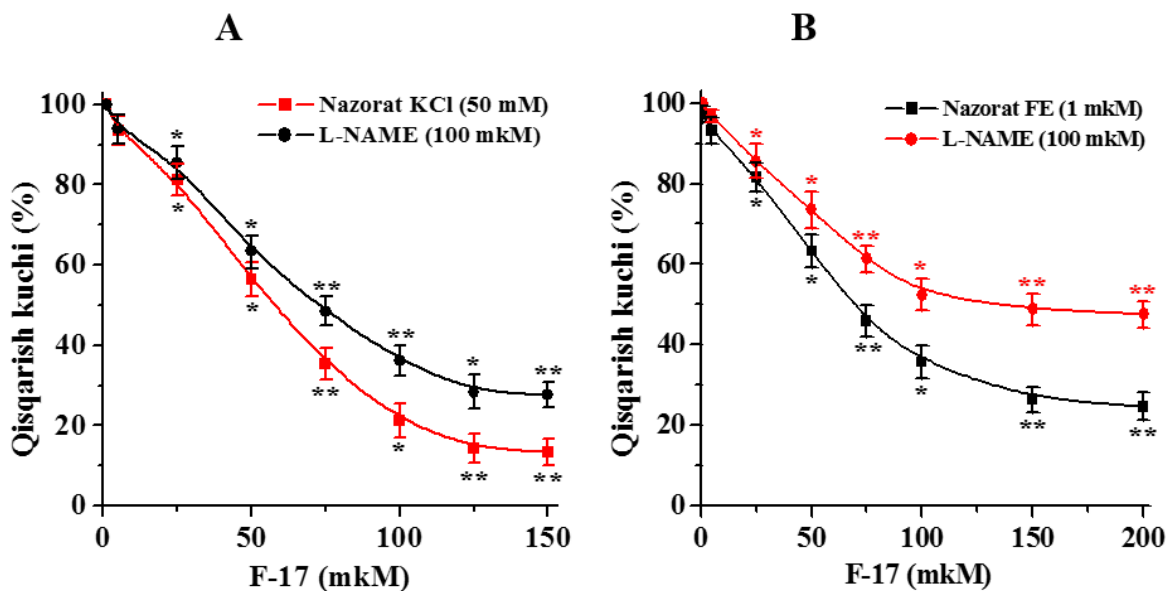
1-rasm. F-17 alkaloidining kalamush aorta preparati endoteliy qavati mavjud (+) va endoteliysiz (-) sharoitda KCl (A) va FE (B) yordamida chaqirilgan qisqarish kuchiga taʼsiri. Ordinata oʻqida – aorta preparati qisqarish kuchi foizda ifodalangan, 50 mM KCl va 1 mkM FE yordamida chaqirilgan qisqarish kuchi 100% deb olingan. Absissa oʻqida – alkaloidning konsentratsiyasi (mkM) ifodalangan. (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; $n=5$).

Ushbu olingan natijalar F-17 alkaloidining KCl va FE bilan indutsirlangan aorta qisqarish kuchiga relaksant taʼsirida endoteliyga bogʻliq boʻshashtiruvchi

reaksiyalarning ishtiroki mavjud ekanligini ko'rsatdi. Bunda ko'proq endoteliyning ishtiroki FE bilan indutsirlangan qisqarishlarda yuzaga kelganligini ko'rishimiz mumkin.

Yuqorida ta'kidlab o'tilganidek, endoteliy hujayralari bir qator vazoaaktiv omillarni hosil qiladi, ular orasida azot oksidi (NO) qon tomir silliq muskullarining bo'shashishida etakchi rol o'ynaydi [8, 9]. NO molekulalari lipofil hisoblanadi, Shuning uchun SMHlariga erkin kirib boradi. Azot oksidi bilan faollashgan guanilatsiklaza siklik guanozinmonofosfatni (sGMF) sintez qiladi, bu boshqa bir ferment proteinkinaza G ni faollashtiruvchi bo'lib xizmat qiladi. Proteinkinaza G kaliy kanallarining ayrimlarini faollashtiradi, bu SMHlarining giperpolyarizatsiyasini (membrana potensialini manfiy tomonga siljitadi) keltirib chiqaradi [10]. Bundan tashqari, membranadagi Ca^{2+} ning hujayra ichiga kirishini hamda SR dagi Ca^{2+} ni chiqishini susaytiradi va SMHlarini bo'shashishini ta'minlaydi.

Shu nuqtai nazardan, F-17 alkaloidining bo'shashtiruvchi effektiga NO-sintaza ingibitori L-NAME (N ω -nitro-L-argininning etil efiri) ning ta'siri o'rganildi. Bunda 100 mkM L-NAME ishtirokida o'rganilayotgan F-17 alkaloidining KCl bilan chaqirilgan aorta preparatlari qisqarish kuchiga vazorelaksant ta'siri nazoratga nisbatan $14,2 \pm 3,2\%$ gacha kamayishi aniqlandi (2-rasm, A). Shuningdek, F-17 alkaloidining FE bilan chaqirilgan qisqarishlariga vazorelaksant ta'siri L-NAME inkubatsiyasi sharoitida $75,4 \pm 3,9\%$ dan $52,5 \pm 3,3\%$ ga kamayganligi aniqlandi (2-rasm, B).



2-rasm. F-17 alkaloidining kalamush aorta qon tomir preparati L-NAME (100 mkM) inkubatsiyasi sharoitida KCl va FE bilan indutsirlangan qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qida aorta preparati qisqarish kuchi foizda ifodalangan, 50 mM KCl va 1 mkM FE yordamida chaqirilgan qisqarish kuchi 100% deb olingan. Abssissa o'qida alkaloidning konsentratsiyasi (mkM) ifodalangan (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n=4$).

Tadqiqotlarda o'rganilayotgan F-17 alkaloidining vazorelaksant ta'sirida endoteliyga bog'liq bo'shashtiruvchi omilning ishtirok qilishi kuzatildi. Bunga NO sintaza blokatori L-NAME inkubatsiyasi sharoitida FE bilan chaqirilgan aorta qisqarishlarida alkalodning ta'sir kuchining kamayganligi bunga misol bo'ladi. Ushbu natijalarni qo'shimcha tasdiqlash uchun, tajribalar davomida NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'lining davomi bo'lgan guanilatsiklaza fermenti faolligini susaytiruvchi ingibitor - metilen ko'ki yordamida tadqiqotlar olib borildi [11]. Normal sharoitda aorta preparatlarini metilen ko'ki bilan oldindan inkubatsiya qilinishi F-17 alkaloidining vazorelaksant ta'sir ko'rsatkichlarini kamaytirganligi qayd qilindi. Aorta preparatini metilen ko'ki (10 mkM) inkubatsiyasi sharoitida KCl bilan indutsirlangan qisqarishlariga F-17 alkaloidining ta'siri $86,6 \pm 3,3\%$ dan $76,7 \pm 4,1\%$ ga kamaygan bo'lsa, FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchi $75,4 \pm 3,9\%$ dan $59,8 \pm 3,7\%$ ga pasayishi aniqlandi (1-jadval).

1-jadval. KCl va FE bilan indutsirlangan qisqarish sharoitida F-17 alkaloidining vazorelaksant faolligiga L-NAME, metilen ko'ki va indometatsinning ta'siri (* $p<0,05$; ** $p<0,01$; $n=4$).

Tajriba sharoiti	Vazorelaksatsiya %	
	KCl (50 mM)	FE (1 mkM)
Endoteliy (+)	86,6±3,3%**	75,4±3,9%**
Endoteliy (-)	69,3±3,9%**	47,1±3,8%**
L-NAME (100 mkM)	72,4±3,2%**	52,5±3,3%**
Metilen ko'ki (10 mkM)	76,7±4,1%*	59,8±3,7%**
Indometatsin (10 mkM)	83,8±3,9%**	69,6±4,4%*

Ushbu natijalar F-17 alkaloidining vazorelaksant ta'sirining endoteliyga bog'liq holda NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'li orqali amalga oshishini ko'rsatdi. Shuningdek, endoteliy hujayralari NO bilan bir qatorda yana bir samarali vazofaol faktor – prostaglandin RGI2 ni ishlab chiqaradi, uning ta'siri sAC/cAMP/PKA signal yo'lining faollashishi orqali amalga oshiriladi. [12]. Shu sababdan, F-17 alkaloidining vazorelaksant effektiga siklooksigenaza (COX2) fermenti ingibitori – indometatsin ta'siri o'rganildi [13]. Aorta preparatlari indometatsin (10 mkM) bilan inkubatsiya qilinganda F-17 alkaloidining vazorelaksant effektiga sezilarli ta'sir ko'rsatmadi (1-jadval).

Xulosa. F-17 alkaloidining endoteliy qavati olib tashlangan sharoitdagi va NO sintaza ingibitori L-NAME, guanilatsiklaza ingibitori metilen ko'ki ta'sirida vazorelaksant effektining sezilarli darajada pasayishini ta'minlashida NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'li muhim rol ni bajarishini ko'rsatadi. F-17 alkaloidi ta'sirida NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'lining faollashishi Ca^{2+} ionlarining plazmalemmadagi Ca^{2+}_L va Ca^{2+}_R -kanallari orqali kirishini kamaytiradi, natijada silliq musukul hujayralarida $[Ca^{2+}]_in$ miqdori kamayadi va silliq muskullarning relaksatsiyasi ta'minlanadi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati:

1. Baretella O., Vanhoutte P.M. Endothelium-Dependent Contractions: – Prostacyclin and Endothelin-1. – Partners in Crime? // *Adv – Pharmacol.* – 2016. – V.77. – P.177-208.
2. Galley H.F., Webster N.R. Physiology of the endothelium // *Br. J. Anaesth.* – 2004. – V.93(1). – P.105-113.
3. Wang Y., Ren Y., Xing L., Dai X., Liu S., Yu B., Wang Y. Endothelium-dependent vasodilation effects of Panax notoginseng and its main components are mediated by nitric oxide and cyclooxygenase pathways // *Exp. Ther. Med.* – 2016. – V.12. – P.3998-4006.
4. Brett D.S., Snyder S.H. Isolation of nitric oxide synthase, a calmodulin-requiring enzyme // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 1990. – V.87(2). – P.682-685
5. Mombouli J.V., Vanhoutte P.M. Endothelial dysfunction: from physiology to therapy // *J Mol Cell Cardiol.* – 1999. – V.31. – P.61-74.
6. Vandier C., Jean-Yves Le Guennec, 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. – V.26. – P.195–203.
7. Fleming I., Busse R. Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2003. – V.284. – P.1-12.
8. Ковалев И.В. Механизмы регуляции оксидом азота электрической и сократительной функции гладких мышц // Автореферат к.мед.н. (03.00.13 –физиология, 03.00.02–биофизика). – Томск. – 2012. – С.35.
9. Tousoulis D., Kampoli A., Tentolouris C., Papageorgiou N., Stefanadis C. The role of nitric oxide on endothelial function // *Curr. Vasc. Pharmacol.* – 2012. – V.10(1). – P.4-18.
10. Jackson W.F. Potassium Channels in Regulation of Vascular Smooth Muscle Contraction and Growth // *Adv Pharmacol.* – 2017. – V.78. – P.89-144.
11. Tom E.N.L., Mimb J.R.B., Nyunai N., Bekono Y.F., Longo F. Vasodilatory effects of Aqueous extract from *Harungana madagascariensis* stem bark in isolated rat aorta: The roles of endothelium and K⁺ channels // *Am J. Ethnomed* – 2018. – V.5 – P.1-8.
12. Shimokawa H., Flavahan N.A., Lorenz R.R., Vanhoutte P.M. Prostacyclin releases endothelium-derived relaxing factor and potentiates its action in coronary arteries of the pig // *Br J Pharmacol.* – 1988. – V.95. – P.1197-1203.
13. Mardini I.A., FitzGerald G.A. Selective inhibitors of cyclooxygenase-2: a growing class of anti-inflammatory drugs // *Mol. Interv.* – 2001. – V.1(1). – P.30-38.

