

CAM-68 ALKALOIDINING SARKOPLAZMATIK RETIKULUM Ca^{2+} - TRANSPORT TIZIMLARIGA TA'SIRI

Sobirov S.B. – tayanch doktorant

Qoraqalpoq davlat universiteti

Fazilbekova D.A. – stajyor tadqiqotchi

O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti

Esimbetov A.T. – biologiya fanlari doktori, professor

Qoraqalpoq davlat universiteti

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: Maqolada kalamush aorta silliq muskul hujayrasi funksional faolligiga CAM-68 alkaloidining vazorelaksant ta'sir mexanizmlari o'rganilgan. Kalamush aorta preparati qisqarish kuchini baholash FT-03 mexanotroni yordamida amalga oshirildi. Olingan natijalar CAM-68 alkaloidining silliq muskul hujayralariga vazorelaksant ta'siri sarkoplazmatik retikulum Ca^{2+} - kanali IP_3R blokadasi bilan bog'liq ekanligidan dalolat beradi.

Kalit so'zlar: aorta, sarkoplazmatik retikulum, alkaloid, Ca^{2+} kanal, kofein.

Аннотация: В статье были изучены механизмы вазорелаксантного действие алкалоида CAM-68 на функциональную активность гладкомышечных клеток аорты крысы. Оценка силы сокращения препарата аорты крысы проводилась с помощью механотрона FT.03. Полученные результаты свидетельствуют о том, что вазорелаксантное действие алкалоида CAM-68 на гладкомышечные клетки связано с блокадой Ca^{2+} -канала саркоплазматического ретикулума IP_3R .

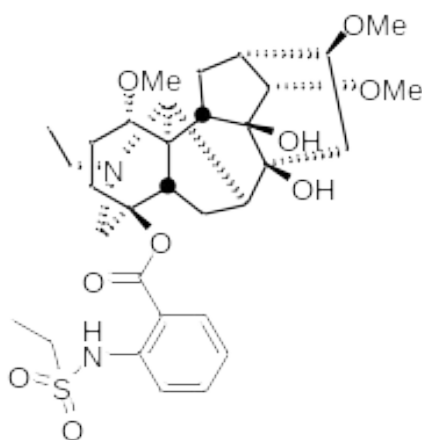
Ключевые слова: аорта, саркоплазматик ретикулум, алкалоид, Ca^{2+} канал, кофеин.

Abstract. The article studies the mechanisms of vasorelaxant action of alkaloid CAM-68 on the functional activity of smooth muscle cells of rat aorta. The contraction force of rat aorta preparation was assessed using the FT.03 force transducer. The obtained results indicate that the vasorelaxant action of alkaloid

CAM-68 on smooth muscle cells is associated with blockade of the Ca^{2+} channel of the sarcoplasmic reticulum IP_3R .

Key words: *aorta, sarcoplasmic reticulum, alkaloid, Ca^{2+} channel, caffeine.*

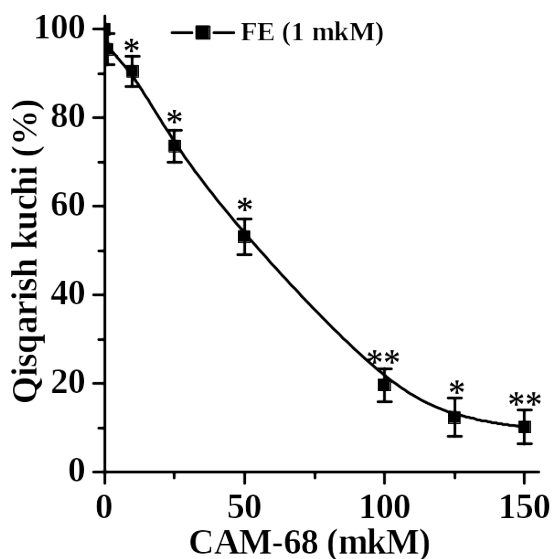
Silliq muskul hujayra (SMH) larining qisqarish va bo'shashish kabi jarayonlarida sarkoplazmatik retikulum (SR) markaziy rol o'ynaydi [1]. SR ning bu jarayondagi funksiyasi buzilsa, qon bosimi va qon oqimida nomutanosibliklar yuzaga keladi [2]. Yurak-qon tomir kasalliklarida, ayniqsa gipertoniya, ateroskleroz va yurak etishmovchiligi kabi holatlarda SR ning kalsiyni saqlash va qayta yig'ib olish funksiyasi izdan chiqishi mumkin [3]. Bu esa SMH larining ortiqcha qisqarishi yoki noto'g'ri relaksatsiyasiga olib keladi [4]. Qon tomir tizimida turli patologik jarayonlarning rivojlanishida SR da joylashgan Ca^{2+} transport tizimlari yani inozitol 1,4,5-trifosfat retseptori (IP_3R), rianodin retseptori (RyR) va Ca^{2+} -ATFaza (SERCA) muhim ahamiyat kasb etadi [5]. Shuni hisobga olgan holda, ushbu tadqiqot ishining maqsadi – **CAM-68** alkaloidining (3S,6S,6aS,7S,7aS,8S,9R,10S,11aS,12S,12aR,14S) - 1-ethyl-7a,11a – dihydroxy 6,8,10 – trimethoxydodecahydro - 2H - 3,6a,12 - (epiethane[1,1,2]triyl) - 7,9-methanonaphtho[2,3-b]azocin-3(4H) - yl 2-(ethylsulfonamido) benzoate) kalamush aorta qon-tomir silliq muskul hujayrasi SR Ca^{2+} -kanallariga ta'sirini o'rganishdan iborat.



1-rasm. CAM-68 alkaloidining kimyoviy struktura formulasi.

Tadqiqot usullari va materiallari. Tajribalar oq, zotsiz kalamushlarning (200-250 g) aorta qon tomir preparatlarida olib borildi. Tayyorlab olingan aorta preparati 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]. Fiziologik eritmalar karbogen (95%O₂, 5% CO₂) bilan oksigenlandi va harorati U-8 ultratermostati yordamida +37°C da ushlab turildi. Aorta preparatlari Grass FT.03 datchikiga platinali simdan yasalgan ilgaklar yordamida ulandi va signal kuchaytirgichga uzatilib kompyuterda mahsus programma yordamida yozib olindi. Tajribalarda Ca²⁺-ionlari bo‘lmagan Krebs – Xenselayt eritmasidan ham foydalanildi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. Fenilefrin (FE) bilan indutsirlangan sharoitda yuzaga keladigan qisqarish bu, SR dan ajraladigan hamda retseptor-boshqariluvchi Ca²⁺_R-kanallari orqali kiradigan Ca²⁺ ionlari hisobidan ta’minlanadi [7]. Tajribalarda FE bilan chaqirilgan aorta preparati qisqarishlariga CAM-68 alkaloidi kuchli vazorelaksant ta’sir qilishi aniqlandi. Yani alkaloid 10 mkM da aorta qisqarish kuchini nazoratga nisbatan 9,5±3,4% ga hamda 150 mkM konsentratsiyada 89,8±3,8% ga kamaytirishi aniqlandi va bunda, yarim maksimal konsentratsiyasi IC₅₀=55,4 mkM ga teng bo‘ldi (2–rasm).



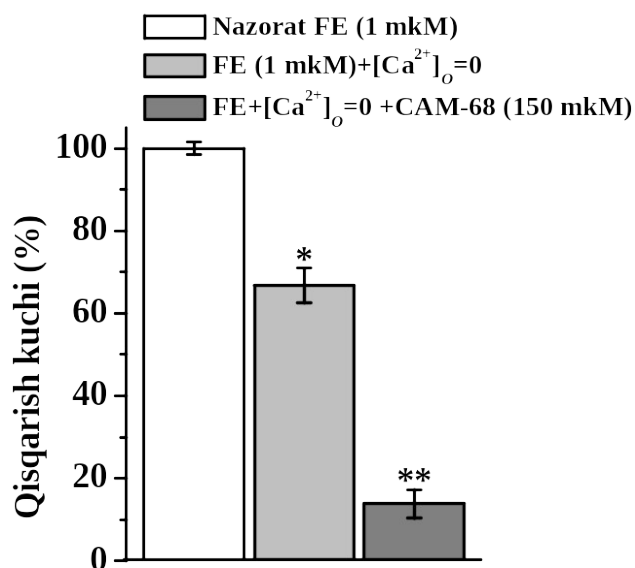
2-rasm. CAM-68 alkaloidining kalamush aorta qon tomiri silliq muskul preparatiga FE (1 mkM) yordamida yuzaga keltirilgan qisqarishiga konsentratsiyaga bog‘liq vazorelaksant ta’siri. FE (1 mkM) yordamida yuzaga

keltirilgan qisqarish kuchi nazorat (100%) sifatida qabul qilingan (barcha holatlarda $*p < 0,05$; va $**p < 0,05$; $n=6$).

Tajribalarda, FE bilan indutsirlangan aorta preparati qisqarish kuchiga CAM-68 alkaloidini dozaga bog'liq bo'shashtiruvchi ta'sir ko'rsatishi aniqlandi. Yani o'rganilayotgan alkaloidning bo'shashtiruvchi ta'siri retseptor-boshqariluvchi Ca^{2+} -kanallari hamda SR Ca^{2+} -kanallarining ingibirlanishi bilan bog'liq bo'lish mumkinligi ilgari surildi.

Ma'lumki, SMH larida SR dan Ca^{2+} ionlarini ajralishida va qisqarish jarayonlarini keltirib chiqarishda IP_3R ining faollashishi muhim rol o'ynaydi [8]. Ca^{2+} ionlari mavjud bo'lmagan muhitda α -adrenoretseptorlar agonistlari ta'sirida faollashuvchi fosfolipaza C fosfatidilinozitol-4,5-difosfatni gidrolizlab, inozitoltrifosfat (IP_3) hosil qiladi, bu esa SR dagi IP_3R ni faollashtiradi va SR dan Ca^{2+} ionlarini hujayraga chiqishini ta'minlaydi [9]. Ushbu mexanizmlarga asoslanib tajribalarimizda FE bilan indutsirlangan aorta preparatlari qisqarishlariga CAM-68 alkaloidi ta'siri o'rganildi. Ca^{2+} ionlari mavjud bo'lmagan sharoitda FE bilan indutsirlangan aorta preparatlari qisqarishlari asosan IP_3R orqali SR dan ajralayotgan Ca^{2+} ionlari hisobidan ta'minlanadi [10].

Tajribalarda Ca^{2+} ionlari mavjud bo'lmagan Krebs fiziologik eritmasida FE (1 mkM) bilan indutsirlangan aorta preparatining qisqarishi normal Krebs fiziologik eritmasidagiga (nazoratga) nisbatan $33,3 \pm 4,2\%$ ga kam ekanligi aniqlandi. Bunda, qisqarish kuchi faqat SR IP_3R orqali sitozolga Ca^{2+} ionlarining chiqishi bilan bog'liq holda amalga oshadi va ushbu sharoitda o'rganilayotgan CAM-68 (150 mkM) alkaloidining maksimal konsentratsiyada aorta preparatining qisqarishini nazoratga nisbatan $86,2 \pm 3,5\%$ ga kamaytirishi aniqlandi (3-rasm).



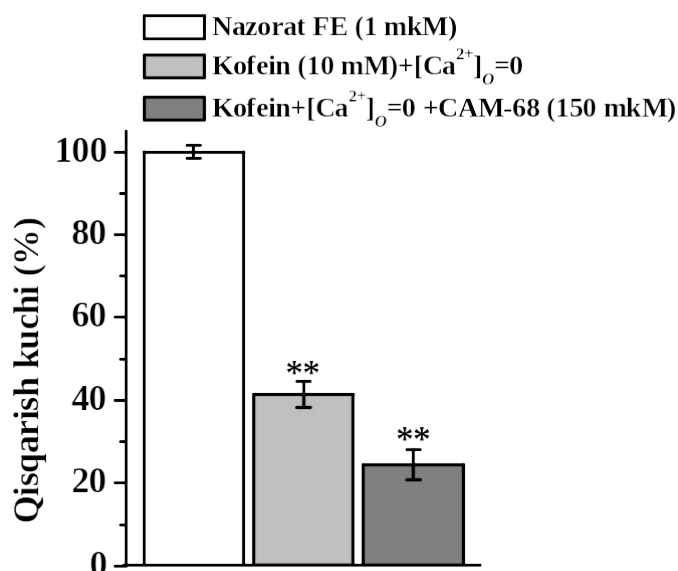
3-rasm. Ca^{2+} -ionlari mavjud bo'lmagan Krebs eritmasida FE bilan chaqirilgan kalamush aortasi qisqarishiga CAM-68 alkaloidining ta'siri. Ca^{2+} -ionlari mavjud bo'lmagan Krebs eritmalarida aorta qisqarish kuchiga alkaloidning vazorelaksant ta'siri. Ordinata o'qida – 1 mkM FE yordamida chaqirilgan aorta qisqarish kuchi 100% deb olingan. (barcha holatlarda ishonchlilik ko'rsatkichi $*p<0,05$, $**p<0,01$; $n=5$)

Olingan natijalar CAM-68 alkaloidining vazorelaksant ta'sirida SR dagi IP_3R ishtiroki bor ekanligidan dalolat beradi.

Adabiyot ma'lumotlariga ko'ra, Ca^{2+} ioni mavjud bo'lmagan $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{out}}=0$ muhitda SMHsi qisqarishining amalga oshishida hujayradagi SR membranasida joylashgan IP_3R bilan bir qatorda RyR ning ham qisman ishtirok etishi qayd qilingan [11].

SMHlarda $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ miqdorini sekin ortishi bilan bog'liq bo'lgan silliq muskullarning fazali qisqarishi SR dagi RyR ni aktivlanishini natijasida amalga oshadi [12]. Ma'lumki, kofein yordamida yuzaga kelgan SMHlari qisqarishi SR da mavjud Ca^{2+} ionlarining RyR orqali chiqishi bilan bog'liq. Shu sababdan, navbatdagi tajribalarda CAM-68 alkaloidining vazorelaksant ta'sirida SR dagi RyR ning ishtirokini baholash uchun kofeindan foydalanildi. Tarkibida Ca^{2+} ionlari bo'lmagan Krebs eritmalarida kofein (10 mM) yordamida chaqirilgan aorta preparatlarining qisqarish kuchi, normal sharoitda FE (1 mkM) bilan chaqirilgan aorta preparatining qisqarish kuchiga nisbatan $41,4\pm3,1\%$ ni tashkil qildi. Ushbu tajribalarda CAM-68 alkaloidining oldindan inkubatsiya qilinishi, kofein (10 mM)

bilan chaqirilgan aorta preparatining qisqarish amplitudasini kamaytirishi aniqlandi. Bunda Ca^{2+} siz muhitda CAM-68 (150 mkM) ning maksimal konsentratsiyasi oldindan inkubatsiya qilinishi kofein (10 mM) bilan chaqirilgan aorta silliq muskul preparatining fazali qisqarish kuchini nazoratga nisbatan $75,5 \pm 3,6\%$ ga kamaytirganligi aniqlandi (4-rasm).



4-rasm. CAM-68 alkaloidining kofein yordamida chaqirilgan kalamush aortasi qisqarishiga ta'siri. Ca^{2+} -ionlari mavjud bo'lmagan Krebs eritmalarida (10 mM) kofein bilan chaqirilgan aorta qisqarish kuchiga CAM-68 alkaloidining vazorelaksant ta'siri. Ordinata o'qida – aorta preparatining kofein yordamida chaqirilgan aorta qisqarish kuchi 100% deb olingan. (barcha holatlarda ishonchlilik ko'rsatgichi * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; $n=4$).

Tadqiqodga olingan CAM-68 alkaloidining kofein ta'sirida yuzaga keltirilgan qisqarish kuchiga vazorelaksant ta'siri SR dagi RyR orqali chiquvchi Ca^{2+} miqdori kamayishi bilan bog'liq hisoblanadi. Ushbu natijalar shuni ko'rsatdiki, CAM-68 alkaloidi, inkubatsiya muhitida Ca^{2+} -ionlar mavjud bo'lmagan sharoitda FE va kofein induktsiyalagan aorta silliq muskul qisqarishlarini samarali susaytiradi.

Xulosa. Olingan natijalar CAM-68 alkaloidining silliq muskul hujayralariga vazorelaksant ta'siri plazmolemmada joylashgan potensialga bog'liq Ca^{2+} -kanallari bilan birga retseptorga bog'liq faollashuvchi Ca^{2+} -kanali hamda SR Ca^{2+} -kanali (IP_3R) blokadasini bilan bog'liqligini tahmin qilish imkonini beradi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Tykcocki N.R., Boerman E.M., Jackson W.F. Smooth muscle ion channels and regulation of vascular tone in resistance arteries and arterioles // Compr.Physiol. 2017 Mar 16;7(2):485-581.
2. Zhou X., Lin P., Yamazaki D., Park K., Komazaki S., Chen W., Takeshima H., Ma J. TRIC Channels and Sarcoplasmic/Endoplasmic Reticulum Calcium Homeostasis // Circ Res. – 2014. – V.114(4). – P.706-716.
3. Masenga S.K., Kirabo A. Hypertensive heart disease: risk factors, complications and mechanisms // Front Cardiovasc Med. – 2023. – V.10. – P.1-16.
4. Guieu R., Deharo J.C., Maille B., Crotti L., Torresani E., Brignole M., Parati G. Adenosine and the Cardiovascular System: The Good and the Bad // J. Clin. Med.– 2020. – V.9. – P.1-21.
5. Chalmers S., Olson M.L., MacMillan D., Rainbow R.D., McCarron J.G. Ion channels in smooth muscle: Regulation by the sarcoplasmic reticulum and mitochondria // Cell Calcium.– 2007. – 42. – P. 447–466.
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. Wier W.G., Morgan K.G. Alpha-adrenergic signaling mechanism in contraction of resistance arteries // Rev.Physiol.Biochem.Pharmacol. – 2003.– V.150.– P.91-139.
8. Зарипов А.А., Есимбетов А.Т., Султанова С.К., Усманов П.Б., Журакулов Ш.Н. F-17 ва F-19 алкалоидларининг вазорелаксат таъсирида саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -транспорт тизимларининг роли // Маъмун академияси ахборотномаси – 2023. – №1/1. – Б.27-33.
9. Han Lu, Xia Zi-Rong, Li Ju-Xiang Effect of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor-dependent Ca^{2+} release in atrial fibrillation// Chinese Medical Journal –2020. – V.133(14). – P.1732-1734.

10. Berridge M.J. Inositol trisphosphate and calcium signalling mechanisms // Biochim Biophys Acta – 2009. – V.1793. – P.933-940
11. Thomas N.L., Williams A.J. Pharmacology of ryanodine receptors and Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release // WIREs Membr Transp Signal – 2012. – V.1. – P.383-397.
12. Dabertrand F., Nelson M.T., Brayden J.E. Ryanodine receptors, calcium signaling and regulation of vascular tone in the cerebral parenchymal microcirculation // Microcirculation – 2013. – V.20(4). – P.307-316.