

ЮРАК МИТОХОНДРИЯСИ АТФГА БОҒЛИҚ КАЛИЙ КАНАЛИГА 1-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)-6,7-ДИМЕТОКСИ-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ИЗОХИНОЛИН АЛКАЛОИДЛАРИНИНГ ТАЪСИРИ

ВЛИЯНИЕ 1-(4-ДИМЕТИЛАМИНОФЕНИЛ)-6,7-ДИМЕТОКСИ-1,2,3,4-ТЕТРАГИДРОИЗОХИНОЛИН ИЗОХИНОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ НА АТФ-ЗАВИСИМЫЙ КАЛИЕВЫЙ КАНАЛ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА

INFLUENCE OF 1-(4-DIMETHYLAMINOPHENYL)-6,7-DIMETHOXY-1,2,3,4-TETRAHYDROISOQUINOLINE ISOQUINOLINE ALKALOIDS ON THE ATP-DEPENDENT POTASSIUM CHANNEL OF CARDIAC MITOCHONDRIA

Мухамедиева Иродахон Бахтиёрхўжа қизи - Central Asian Medical University
irodakhon09@gmail.com

Позилов Маъмуржон Комилжонович - Мирзо Улугбек номидаги Ўзбекистон
Миллий университети, mamurjon2281@mail.ru

Исроилжонов Саминжон – Фаргона давлат университети

Журакулов Шерзод - Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси, акад.
С.Ю. Юнусов номидаги Ўсимлик моддалар кимёси институти

Аннотация: Ушбу мақолада каламуш юрак митохондриyasi АТФга боғлиқ калий каналига митоК_{АТФ}-канал) 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) изохинолин алкалоидининг концентрациясига боғлиқ таъсири ўрганилди. Тажрибалар *in vitro* шароитда амалга оширилди. Каламушлар юрак митохондриyasi дифференциал центрифугалаш усули ёрдамида ажратиб олинди. Каламуш юрак митоК_{АТФ}-каналига F-24 изохинолин алкалоидининг 5-20 мкМ концентрациялари таъсири ўрганилди. Юрак митоК_{АТФ}-каналига изохинолин алкалоидининг таъсири АТФ мавжуд шароитда олиб борилди. АТФ мавжуд шароитда F-24 изохинолин алкалоидининг 10, 15 ва 20 мкМ концентрациялардаги фаолловчи таъсири яққол намоён бўлди. МитоК_{АТФ}-каналли активатори diazoxid билан ҳам F-24 изохинолин алкалоидининг қийсий таъсири ўрганилди. F-24 изохинолин алкалоидининг diazoxid билан комплекс таъсири юрак митоК_{АТФ}-каналли ўтказувчанлигини яна оширишга олиб келди.

Таянч иборалар: юрак, митохондрия, митоК_{АТФ}-канал, F-24 изохинолин алкалоиди, diazoxid.

Аннотация. В данной статье изучено концентрационно-зависимое действие изохинолинового алкалоида 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) на АТФ-зависимого калиевого канала (митоК_{АТФ}-канала) митохондрии сердца крысы подверженные воздействию. Эксперименты проводились *in vitro*. Сердечные митохондрии крыс выделяли с помощью дифференциального центрифугирования. Изучено влияние изохинолинового алкалоида F-24 в концентрации 5-20 мкМ на митоК_{АТФ}-канал сердца крысы. Воздействие изохинолинового алкалоида на митоК_{АТФ}-канал сердца проводили в присутствии АТФ. В присутствии АТФ активирующее действие изохинолинового алкалоида F-24 в концентрациях 10, 15 и 20 мкМ чётко проявлялось. Изучено сравнительное действие изохинолинового алкалоида F-24 с активатором митоК_{АТФ}-каналов diazoxidом. Комплексное действие изохинолинового алкалоида F-24 с diazoxidом привело к дальнейшему увеличению проводимости митоК_{АТФ}-каналов сердца.

Ключевые слова: сердце, митохондрии, митоК_{АТФ}-канал, изохинолиновый алкалоид F-24, diazoxid.

Abstract. This article studied the concentration-dependent effect of the isoquinoline alkaloid 1-(4-dimethylaminophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (F-24) on the ATP-dependent potassium channel (mitoK_{ATP}-channel) of mitochondria exposed rat hearts. The experiments were carried out *in vitro*. Rat cardiac mitochondria were isolated by differential centrifugation. The effect of the isoquinoline alkaloid F-24 at a concentration of 5-20 μM on the mitoK_{ATP} channel of the rat heart was studied. The impact of isoquinoline alkaloid on the mitoK_{ATP}-channel of the heart was carried out in the presence of ATP. In the presence of ATP, the activating effect of the isoquinoline alkaloid F-24 at concentrations of 10, 15, and 20 μM was clearly manifested. The comparative effect of the isoquinoline alkaloid F-24 with the mitoK_{ATP} channel activator diazoxide was studied. The complex action of the isoquinoline alkaloid F-24 with diazoxide led to a further increase in the conductance of the mitoK_{ATP} channels of the heart.

Keywords: heart, mitochondria, mitoK_{ATP}-channel, isoquinoline alkaloid F-24, diazoxide.

Сўнги йилларда кўплаб илмий лабораторияларда цитоплазматик ва митохондрия ички мембранасидаги митоK_{ATP}-каналларни ўрганиш бўйича кўплаб тадқиқотлар олиб борилмоқда. Митохондрия ички мембранасидаги митоK_{ATP}-канални матрикс ҳажмини назорат қилади ва мембрана потенциали ҳосил бўлишида асосий роль ўйнайди. Бу кардиомиоцит митохондрияларида муҳим аҳамиятга эга бўлиб, уларнинг матриксига K⁺ ионларининг кириши анион каналнинг фаоллашуви билан боради ва матриксда Cl⁻ ионларининг тўпланишига сабаб бўлади [1]. Бунинг натижасида митохондрия ичига сув киришини таъминлайди ва ташқи мембранасининг бузилмасдан бўкишига олиб келади. Матрикс ҳажм ўзгаришларини H⁺/K⁺ алмашувчи тизим орқали қайта тикланади. Inoue I ва бошқа тадқиқотчилар томонидан олиб борилган кўплаб тажрибаларда жигар митохондриясидаги митоK_{ATP}-каналнинг АТФ ва глибенкламид билан ингибирланиши [2] ҳамда диазоксид ва пинацидил [3] билан фаолланиши кўрсатиб берилган.

МитоK_{ATP} фаоллашуви ишемия пайтида юрак мускулларини яъни миокардни ҳимоя қилишда муҳим рол ўйнайди. Ҳозирда митоK_{ATP}-канални потенциал кардиопротекторлари бўлган бир қатор синтетик фаоллаштирувчилари топилди. МитоK_{ATP}-каналнинг самарали ва табиий метаболик фаоллаштирувчиси, уридин-5-дифосфат (УДФ) топилди [4]. Канал фаоллаштирувчилари орасида диазоксид ва никорандил кўриб чиқилади, улар нафақат митоK_{ATP}-канални фаоллаштиради, балки юқори концентрацияларда цитоплазматик мембрана калий каналларини ҳам фаоллаштиради. Митохондрия калий каналининг метаболик регуляторлари функциясини баъзи гормонлар бажариши мумкин. Масалан, β -эстрадиол ва тестостерон жинсий гормонлари митоK_{ATP}-каналига фаоллаштирувчи таъсир кўрсатади.

Кардиомиоцит митоK_{ATP}-каналнинг фаолловчи моддаларнинг хоссалари бўйича кўплаб тадқиқотлар олиб борилган [3; 5]. МитоK_{ATP}-канални фаолловчи бундай моддалар юрак митохондриясини деполяризациялаши кўрсатилган [6]. Бироқ канални метаболик активаторлари синтетик аналоглар бўлгани учун улар табиий фаол моддаларга нисбатан хужайрани ион транспорт тизимларини регуляциясини бузилишига ёки уларни янада самарали фаоллашига сабаб бўлиши ҳам мумкин [7]. Мана шундай биофаол бирикмалардан изохинолин F-24 алкалоиди тажрибаларда антиаритмик таъсирга эга эканлиги уларнинг Na⁺-каналлари блокадаси ҳисобига амалга ошиши, шунингдек, уларни манфий инотроп таъсири кардиомиоцитларда Ca²⁺ ионларининг хужайра ички камайиши билан боғлиқлиги аниқланган [8]. Бироқ, алкалоидларнинг каламуш юрак митохондрияси функционал ҳолатига таъсири *in vitro* тажриба шароитларида ўрганилмаган.

Тадқиқотнинг мақсади: Ушбу тадқиқотимизда каламуш юрак митохондрияси K_{ATP}-каналига изохинолин F-24 алкалоидининг концентрацияга боғлиқ таъсири ушбу канал активатори диазоксид билан қиёсий ўрганилди.

Тадқиқот усуллари. Тажрибаларда зотсиз, оқ каламушлардан (200–220 г.) фойдаланилди ва тажриба ҳайвонлари билан ишлашда халқаро Хельсинки Декларацияси ва халқаро тиббий илмий жамиятлар кенгаши (CIOMS) томонидан ишлаб чиқилган (1985) қоидаларига амал қилинди. Тадқиқотларда ЎзР ФА Ўсимлик моддалари кимёси институти

катта илмий ходими кимё фанлари бўйича фалсафа доктори PhD Ш.Н.Жўракулов томонидан тақдим этилган F-24 изохинолин алкалоидидан фойдаланилди.

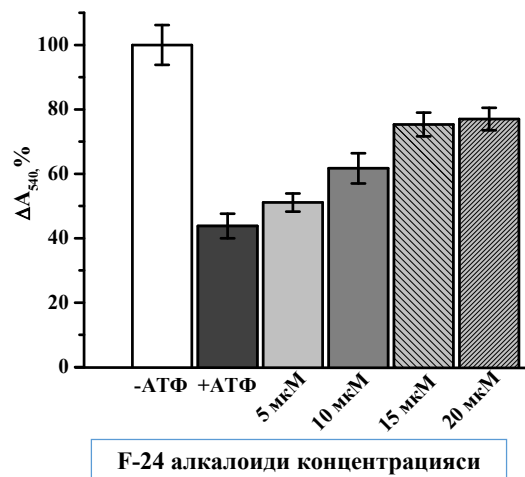
Каламуш юрагидан митохондрияларни ажратиш дифференциал центрифугалаш усули ёрдамида амалга оширилди. Каламуш кўкрак бўшлиғи очилгандан кейин юрак ажратиб олинди ва совутилган ажратиш муҳитига солинди. Ажратиш муҳитининг таркиби куйидагича сахароза 300 мМ, трис-НСl - 10 мМ, ЭДТА - 2 мМ, альбумин 0,2% pH 7,4. Майдаланган юрак тўқимаси гомогенезаторга солинди [9] ва ажратиш муҳитидан 10:1 нисбатда куйилди ва тефлонли пестик ёрдамида гомогенезацияланди.

Митохондриядаги АТФга боғлиқ калий канал фаоллигини аниқлаш. МитоK_{АТФ}-канални ўтказувчанлиги (0,3-0,4 мГ/мл) 3 мл ячейкаларда 540 нм тўлқин узунлигида оптик зичликнинг ўзгариши бўйича аниқланди. ИМ куйидагича: 125 мМ КСl, 10 мМ Нерес, 5 мМ сукцинат, 1 мМ MgCl₂, 2,5 мМ K₂HPO₄, 2,5 мМ KH₂PO₄, 0,005 мМ ротенон и 0,001 мМ олигомицин, pH 7,4 [10].

Митохондриядаги оксил микдори Лоури усули бўйича аниқланди. Тажрибаларда митохондриянинг бўкиш кинетикаси максималга нисбатан фоиз ҳисобида, 4 та турли тажрибаларнинг ўртача арифметик қийматини ҳисоблаш тарзида амалга оширилди. Назорат ва тажрибадан олинган қийматлар ўртасидаги фарқ t-тест бўйича ҳисоблаб чиқилди. Бунда P<0,05 ва P<0,01 қийматлар статистик ишончлиликни ифодалайди.

Олинган натижалар ва уларнинг таҳлили. МитоK_{АТФ}-каналлари фаоллиги матрикс ҳажм ўзгаришларини, шунингдек, калий ионлари циклини регуляция қилишда алоҳида аҳамиятга эга ҳисобланади. Митохондрияда АТФнинг физиологик концентрацияси етарли бўлган шароитда ушбу каналлар функционал фаоллигини намоён этади. Изохинолин алкалоидларини юрак митоK_{АТФ}-каналига таъсири аниқлаш учун куйидаги тажрибалар олиб борилди. Тажрибада F-24 изохинолин алкалоидининг юрак митоK_{АТФ}-каналига таъсири 5-20 мкМ концентрацияларда ўрганилди. Инкубация муҳитида АТФнинг 200 мкМ концентрацияси мавжуд бўлганда мито митоK_{АТФ}-канални қисман ингибирланган ҳолатга ўтади.

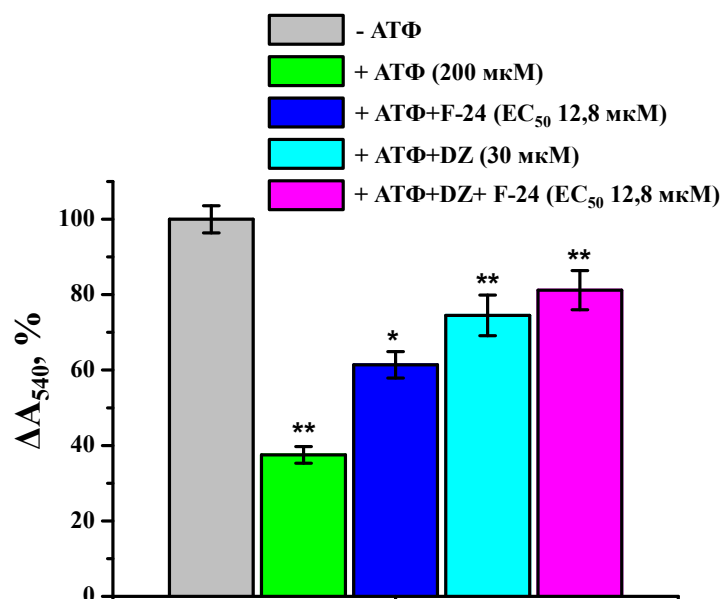
Олинган натижаларга кўра, изохинолин F-24 алкалоиди (5-20 мкМ) юрак митоK_{АТФ}-каналига ишончли таъсир этади.



1-расм. Каламуш юрак митоK_{АТФ}- каналига F-24 алкалоидининг таъсири P<0,05; n=4.

Каламуш юрак митоK_{АТФ}-канални фаоллигига F-24 алкалоидининг таъсирини ўрганилди. Олинган натижаларга кўра, инкубация муҳитида АТФ (200 мкМ) ва F-24 алкалоиди мавжуд шароитда каламуш юрак митоK_{АТФ}-каналининг фаоллиги ортанлиги аниқланди. Ушбу алкалоиднинг 20 мкМ концентрацияси юрак митоK_{АТФ}-канални фаоллигини назоратга нисбатан (+АТФ) 23,1% га ошириши кузатилди (1-расм). F-24 алкалоидининг юрак митоK_{АТФ}-канални фаоллигини ярим максимал фаолловчи концентрацияси (EC₅₀) 12,8 мкМ эканлиги аниқланди.

Навбатдаги тажрибамизда, инкубация муҳитида митоКАТФ-каналнинг классик активатори диазоксиднинг 30 мкМ концентрацияси мавжуд шароитда F-24 изохинолин алкалоидининг активатор таъсири ўрганилди. Инкубация муҳитида АТФ мавжуд шароитда митоКАТФ-каналнинг назоратга (-АТФ) нисбатан 62,5% га ингибирланиши аниқланди (2-расм).



2-расм. Каламуш юрак митоКАТФ- каналига F-24 алкалоидининг таъсири $P < 0,05$; $n=4$.

Инкубация муҳитида алкалоиднинг ярим максимал фаолловчи концентрацияси (EC₅₀) 12,8 мкМ мавжуд шароитда юрак митоКАТФ-канал фаоллигини АТФ мавжуд бўлмаган шароитга нисбатан 38,6% га ингибирлаши аниқланди. Бу эса АТФ мавжуд шароитга нисбатан митоКАТФ-канал фаоллигини оширганлиги намоён бўлди. ИМ да митоКАТФ-канал активатори диазоксиднинг 30 мкМ концентрацияси мавжуд бўлганда унинг фаоллиги АТФ мавжуд шароитга нисбатан 37,0% га фаоллашганлиги аниқланди. Тажрибамизда ИМда митоКАТФ-канал активатори диазоксиднинг 30 мкМ ва алкалоиднинг (EC₅₀) 12,8 мкМ концентрациялари мавжуд шароитда каналнинг фаоллиги АТФ мавжуд шароитга нисбатан 43,7% га ортиши аниқланди (2-расм).

Демак, F-24 алкалоиди каламуш юрак митоКАТФ-каналига (5-20 мкМ) фаолловчи таъсир этади. F-24 алкалоиди алкалоиди турли патологик шароитларда юрак митоКАТФ-каналига самарали таъсир этиши ва кардиомиоцитларда оксидланишли стресс таъсирида келиб чиқадиган апаптозни ингибирлаши мумкин.

Цитоплазматик мембрана ва митоКАТФ-каналлар юракнинг функционал ҳолатдаги энг селектив ва хилма-хил ион каналлари ҳисобланади [11]. Шунингдек, улар юрак реполяризациясини регуляция қилади ҳамда ҳаракат потенциали сигнализациясини барқарор ва изчил таъминлайди. МитоКАТФ-каналларининг бир неча турлари мавжуд бўлсада, улар бир-бирига ўхшаш аммо кўплаб функцияларни бажаради. МитоКАТФ-каналнинг *mitosur* ва *mitokir* суббирликлари канал ҳосил қилувчи оқсил доменларидан иборат бўлиб, K⁺ ионларининг митохондрия мембранаси орқали электрокимёвий градиент бўйича ҳаракатланиш ва K⁺ ионлари учун танлаб ўтказиш имконини беради. Демак F-24 изохинолин алкалоиди ҳужайра митоКАТФ-каналига активатор сифатида таъсир этиши юракнинг ишемик ҳолатида матрикснинг ҳажмини сақлашда, калий ионлари циклини компенсация қилинишида муҳим роль ўйнаши мумкин.

Фойдаланилган адабиётлар

1. Garlid K.D., Paucek P., Mitochondrial potassium transport: the K⁺ cycle, *Biochim. Biophys. Acta.* – 2003. – V.1606(1-3). – P. 23-41.
2. Inoue I., Nagase H., Kishi K., Higuti T. ATP-sensitive K⁺ channel in the mitochondrial inner membrane // *Nature.* – 1991. – V.352(6332). – P. 244-247.
3. Holmuhamedov E.L., Jahangir A., Oberlin A., Komarov A., Colombini M., Terzic A. Potassium channel openers are uncoupling protonophores: implication in cardioprotection // *Febs Letters.* – 2004. – V.568(1-3). – P. 167-170.
4. Миронова Г.Д. Использование модуляторов ионных каналов как возможный путь лечения сердечнососудистых заболеваний, окислительного стресса и нейродегенеративных нарушений // *Патогенез*– 2011– Т. 9, № 3– С. 47.
5. Yamada M. Mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels, protectors of the heart // *J Physiol.* – 2010. – V.588(2). – P. 283- 286.
6. Zhu H., Dong J., Zhu W., Ding H., Zhou Z. ATP-dependent potassium channels involved in cardiac protection induced by intermittent hypoxia against ischemia-reperfusion injury // *Life Sci.* – 2003. – V.73(10). – P. 1275-1287.
7. Позилов М.К., Эргашев Н.А., Асраров М.И., Рахматуллаева М.М., Аминов С.Н. Гликоразмунининг митохондрия нафас олиши ва оксидланишли фосфорланишига таъсири // *Фармацевтика журнали.*– Тошкент, 2014. – №2. – Б 94-98.
8. **Jumayev I., Usmanov P., Rustamov S., Zhurakulov S.** [Comparative inotropic effects of the some isoquinoline alkaloids](#) // *Biomedical & Pharmacology Journal* – 2020. – V.13(1). – P. 325-333.
9. Ахмеров Р.Н. Размельчитель ткани (комбинированный гомогенизатор) с резьбовым ножевым блоком и тканеподающим устройством // *Узб. биол. журн.* – 1979. – №5. – С. 71-72.
10. Вадзюк О.Б., Костерин С.А. Индуцированное диазоксидом набухание митохондрий миометрия крыс как свидетельство активации АТР-чувствительного К⁺-канала // *Укр. биохим. журн.* – 2008. – Т. 80(5). – С. 45-51.
11. Giudicessi J.R., Ackerman M.J. Potassium-channel mutations and cardiac arrhythmias-diagnosis and therapy//*Nat Rev Cardiol.* – 2012. – 9(6). – P. 319-332.