

Малика ДЖУМАЕВА,
 Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека
 магистр

E-mail: djumaevamalika1@gmail.com

Тел: 90 667-58-35

Иродахон МУХАМЕДИЕВА,
 Ферганский Государственный университет
 базовый докторант.

Зулайхо МАМАТОВА,
 Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека
 Доцент кафедры физиологии человека и животных

Шерзод ЖУРАКУЛОВ,
 Академия наук Республики Узбекистан, Институт химии растительных веществ
 старший научный сотрудник

Маъмуржон ПОЗИЛОВ,
 Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека
 Доцент кафедры биофизики

CHARACTERISTICS OF THE INFLUENCE OF SOME ISOQUINOLINE ALKALOIDS ON THE DYSFUNCTION OF RAT LIVER MITOCHONDRIA UNDER OXIDATIVE STRESS

Annotation

This article examined the effects of 1-(4-dimethylaminophenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (F-24) and 1-(4-methoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinoline (F-4) isoquinoline alkaloids on the swelling of rat liver mitochondria under oxidative stress (OS) conditions and on lipid peroxidation (LPO) induced by Fe²⁺/citrate OS model in rats was induced by a single oral administration of salt PbCl₂ at a dose of 10 mg/kg per day. The inhibitory effect was demonstrated by isoquinoline alkaloids F-24 and F-4 on the swelling of rat liver mitochondria during OS induced-PbCl₂ and Fe²⁺/citrate-dependent LPO.

Key words: oxidative stress, liver, mitochondria, isoquinoline alkaloid.

OKSIDATIV STRESSDA KALAMUSH JIGARI MITOXONDRIYASI DISFUNKSIYASIGA AYRIM IZOXINOLIN ALKALOIDLARINING TA'SIRINI TAVSIFLASH

Аннотация

Ushbu maqolada oksidativ stress (OS) sharoitida kalamush jigari mitoxondriyasining bo'kishiga va Fe²⁺/sitrat bilan indutsirlangan lipidlarning peroksidlanishiga (LPO) 1-(4-dimetilaminofenil)-6,7-dimetoksi-1,2,3,4-tetrahidroizoxinolin (F-24) va 1-(4-metoksilfenil)-6,7-dimetoksi-1,2,3,4-tetrahidroizoxinolin (F-4) izoxinolin alkaloidlarining ta'siri o'rganilgan. Kalamushlarda OS modeli PbCl₂ tuzining sutkada bir marta 10 mg/kg miqdorda peroral yo'l orqali yuborish bilan chaqirilgan. PbCl₂ bilan chaqirilgan OSda kalamush jigari mitoxondriyasining bo'kishiga va Fe²⁺/sitratga bog'liq LPOga F-24 va F-4 izoxinolin alkaloidlari ingibirolovchi ta'sir etdi.

Kalit so'zlar: oksidativ stress, jigar, mitoxondriya, izoxinolin alkaloid.

ХАРАКТЕРИСТИКА ВЛИЯНИЯ НЕКОТОРЫХ ИЗОХИНОЛИНОВЫХ АЛКАЛОИДОВ НА ДИСФУНКЦИЮ МИТОХОНДРИЙ ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОКСИДАТИВНОМ СТРЕССЕ

Аннотация

В данной статье были изучены влияния 1-(4-диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) и 1-(4-метоксифенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-4) изохинолиновых алкалоидов на набухание митохондрий печени крыс при условиях оксидативного стресса (ОС) и на перекисное окисление липидов (ПОЛ), индуцированного Fe²⁺/цитратом. Моделирование ОС у крыс было создано путем однократного перорального введения PbCl₂ в дозе 10 мг/кг за сутки. Изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 проявляли ингибирующий эффект на набухание митохондрий печени крыс при ОС, индуцированного PbCl₂, и Fe²⁺/цитрат-индуцированный ПОЛ.

Ключевые слова: оксидативный стресс, печень, митохондрия, изохинолиновый алкалоид.

Введение. Энергетический статус клетки определяется синтезом в ней АТФ. Синтез АТФ осуществляется путем транспорта электронов в дыхательной цепи внутренней мембраны митохондрий. Для этого митохондриальная мембрана должна быть структурно неповрежденной. Только тогда обеспечивается электрохимический градиент мембраны митохондрий, которое имеет особое значение в ее функции [1]. В результате дисфункции митохондриальной мембраны происходит снижение мембранного потенциала и синтеза АТФ, и увеличение проницаемости. Митохондриальные нарушения можно корректировать с помощью биоактивных веществ. В настоящее время для коррекции дисфункций в клетках и органеллах на молекулярном уровне при различных патологических процессах широко используются полифенольные соединения, флавоноиды, терпеноиды и изохинолиновые алкалоиды [2; 3].

В настоящее время более 40% лекарственных препаратов получены из природных источников и успешно применяются в медицине. Среди них особое место занимают алкалоиды. Изохинолиновые алкалоиды обладают выраженными фармакологическими эффектами, резко отличающимися от других групп алкалоидов. Многие изохинолиновые алкалоиды присутствуют во многих лекарственных препаратах. К изохинолиновым алкалоидам относятся кодеин, папаверин, глауцин (алкалоид апорфин - антитуссив), бензофенантридиновые алкалоиды - сангивинарин, челиритрин (противомикробное), фталидные изохинолиновые алкалоиды - α, β-биккулин, α, β-гидрастин (обладают наркотическим действием и считаются аналептиками центральной нервной системы). Простые изохинолины корпалаины широко используются в медицине как гемостатическое средство [4].

В настоящее время биологическая активность изохинолиновых алкалоидов изучаются и учеными нашей страны. В проведенных научных исследованиях установлено, что алкалоиды зонгорин, напеллин, 1-О-бензоилнапеллин, талатизамин и 14-О-бензоилталатизамин активируют митоK⁺_{ATФ}-канал печени и сердца в разной степени; было обнаружено, что алкалоиды зонгорин, напеллин, 1-О-бензоилнапеллин, талатизамин и 14-О-бензоилталатизамин ингибируют открытие митохондриальной Ca²⁺-зависимой поры в печени и сердце крыс [5].

Было обнаружено, что изохинолиновые алкалоиды обладают отрицательной инотропной активностью в отношении папиллярных мышц сердца крыс. Установлено, что отрицательный инотропный эффект изохинолиновых алкалоидов F-14, N-14 и F-24 связан с уменьшением концентрации внутриклеточного Ca²⁺ в кардиомиоцитах [6]. Выявлено, что алкалоиды F-24, N-14 и F-14 обладают антиаритмическим действием, и это обеспечивается за счет блокады ими Na⁺-каналов, высокий отрицательный инотропный эффект алкалоида F-24 заключается в наличии в его структуре дополнительной диметиламино группы, вследствие чего он является липофильным и, следовательно, определено соответствующее увеличение мембранной активности [7]. Однако, влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на митохондриальную дисфункцию, связанную с окислительным стрессом, не исследовалось.

Целью работы является изучение влияния изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на набухание митохондрий печени крыс в условиях ОС, и на ПОЛ, индуцированного Fe²⁺/цитратом. Отобранные для исследования изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 были предоставлены доктором химических наук Ш.Н.Журакуловым, ученым Института химии растительных веществ АН РУз,

Методы и материалы исследования. Эксперименты были проведены на беспородных белых крыс-самцах массой 180-200 г. Кормление лабораторных животных проводилось в стандартных рациональных условиях вивария. Исследования на экспериментальных животных проводились на основе международной Хельсинкской декларации, разработанной Советом международных организаций медицинских наук (CIOMS; *the council for international organizations of medical sciences*) (1985 г.) и «Положения о порядке использования лабораторных животных в научно-исследовательских работах», проводимых в Институте биофизики и биохимии. Исследования проводились в условиях *in vivo*. Для создания модели окислительного стресса у крыс использовалась соль PbCl₂.

Крысы, выделенные для эксперимента, были разделены на следующие группы: I группа - контрольная (n=5), II группа - опытная (PbCl₂-индуцированный ОС, n=5), III группа - опытная (PbCl₂-индуцированный ОС+F-24, n=5) и IV группа (PbCl₂-индуцированный ОС+F-4, n=5). Группам II, III и IV вводили PbCl₂ в дозе 10 мг/кг перорально один раз в день в течение 7 дней. После индуцирования ОС, крысам III и IV групп вводили изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4, с добавлением их в корм животных, в дозе 30 мг/кг один раз в сутки в течение 7 дней, соответственно. В модельных группах ОС погибло лишь небольшое количество крыс (10%).

Митохондрии печени крысы выделяли методом дифференциального центрифугирования [8].

Кинетику Ca²⁺-зависимого набухания митохондрий регистрировали с помощью спектрофотометра (spectrophotometer V-5000) при 540 нм в открытой ячейке объемом 3 мл при постоянном перемешивании суспензии митохондрий при 26°C [9]. Для изучения процесса ПОЛ в мембране митохондрий использована система Fe²⁺/цитрат. Данная система основана на набухание и изменение объема митохондрий в результате ПОЛ в мембране. Изменение объема было определено фотометрическим методом [10].

Статистическую обработку полученных результатов и рисование изображений проводили с помощью компьютерной программы Origin 8.6 (США). В экспериментах кинетику набухания митохондрий рассчитывали в процентах от максимума, также было рассчитано среднее арифметическое значение 5 разных экспериментов.

Полученные результаты и их обсуждение. Ионы Ca²⁺ имеют особое значение в митохондриальных процессах и клеточной сигнализации. При различных патологических состояниях повышенное содержание ионов Ca²⁺ в митохондриях приводит к увеличению проницаемости мембраны для воды и растворенных в ней молекул. При этом наблюдается процесс набухания митохондрий, что вызывает резкое увеличение проницаемости мегаканала (*mitochondrial permeability transition pore*-mPTP). При ОС также происходит набухание митохондрий, что подтвердилось и в ходе проведения экспериментов. Набухание митохондрий, связанное с ОС, можно ингибировать различными биологически активными веществами. Встречаются данные о растительных веществах, ингибирующих набухание митохондрий при различных патологических состояниях. В связи с отсутствием данных о влиянии изохинолиновых алкалоидов на набухание митохондрий печени были проведены следующие эксперименты.

В экспериментах в качестве индуктора, индуцирующего набухание митохондрий в условиях ОС, был использован CaCl₂ в концентрации 10 мкМ. У крыс контрольной группы, при отсутствии ионов Ca²⁺ в инкубационной среде (на рисунке выделяется в качестве интактной группы), процесса набухания митохондрий печени не наблюдалось (рис. 1). Однако, в присутствии CaCl₂ в концентрации 10 мкМ в инкубационной среде у крыс I группы (здоровых) набухание митохондрий печени составляет 0,45 ΔA₅₄₀×10 мин. Набухание митохондрий печени при помощи ионов Ca²⁺ у крыс II группы при состоянии ОС, индуцированного с PbCl₂ составлял 0,83 ΔA₅₄₀×10 мин. Это свидетельствует об увеличении показателей на 84,4% по отношению к I группе.

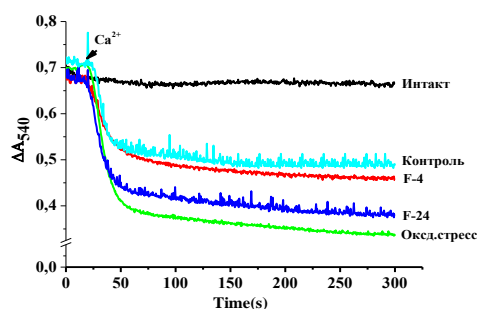


Рисунок 1. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на набухание митохондрий печени крыс в условиях ОС, индуцированного PbCl₂ (оригинальная запись).

Таким образом, введение крысам $PbCl_2$ в дозе 10 мг/кг в течение 7 дней приводило к набуханию митохондрий печени. Повышение интенсивности процесса набухания митохондрий под воздействием ОС при помощи ионов Ca^{2+} обусловило высокое значение проницаемости mPTP. Продолжая эксперимент было выявлено, что у III группы крыс с ОС после введения изохинолинового алкалоида F-24 по 30 мг/кг в течение 7 дней, набухание митохондрий их печени составлял $0,64 \Delta A_{540} \times 10$ мин., что привело к ингибированию на 22,9% по сравнению с патологией (рис. 2). После фармакотерапии крыс IV группы с ОС при помощи изохинолинового алкалоида F-4, набухание митохондрий их печени составил $0,017 \Delta A_{540} \times 10$ мин. Это, в свою очередь привело к ингибированию на 97,9% по отношению к показателям II группы (рис. 2).

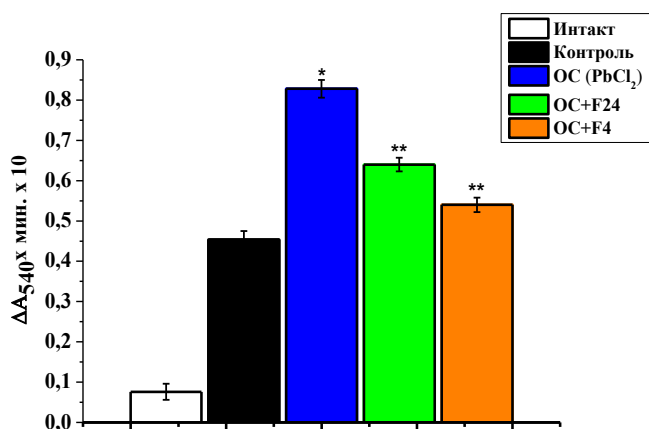


Рисунок 2. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на набухание митохондрий печени крыс в условиях ОС, индуцированного $PbCl_2$ (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; $n=5$).

Следовательно, изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 воздействовали ингибирующим эффектом на набухание митохондрий печени при $PbCl_2$ -индуцированной ОС. При этом установлено, что ингибирующее действие изохинолинового алкалоида F-4 на набухание митохондрий печени в условиях ОС более активно, чем изохинолинового алкалоида F-24.

В условиях ОС набухание митохондрий печени может, в свою очередь, гидролизовать липиды, находящиеся во внутренней и внешней мембране. Усиление процесса ПОЛ митохондриальной мембраны также влияет на ее проницаемость. С целью изучения влияния ПОЛ на набухание митохондрий в условиях оксидативного стресса и ингибирующего действия изохинолиновых алкалоидов на них были проведены дальнейшие эксперименты.

В наших экспериментах было изучено набухание митохондрий печени крыс, индуцированное Fe^{2+} /цитратом (рис. 3). При этом Fe^{2+} /цитрат, являющийся индуктором ПОЛ, ускоряя перекисное окисление в мембране митохондрий нарушает ее барьерную функцию, в результате чего объём органеллы увеличивается и происходит набухание митохондрий. Прямой линией отмечены интактные митохондрии, выделенные из печени здоровых контрольных крыс без какого-либо индуктора. Показатель оптической плотности митохондрий печени крыс I группы с ПОЛ, индуцированный Fe^{2+} /цитратом, составил $0,28 \Delta A_{540} \times 10$ мин. Показатель оптической плотности митохондрий печени крыс II группы с ОС индуцированной $PbCl_2$, при наличии Fe^{2+} /цитрата составил $0,55 \Delta A_{540} \times 10$ мин., что оказалось на 96,4% выше контроля (рис. 3).

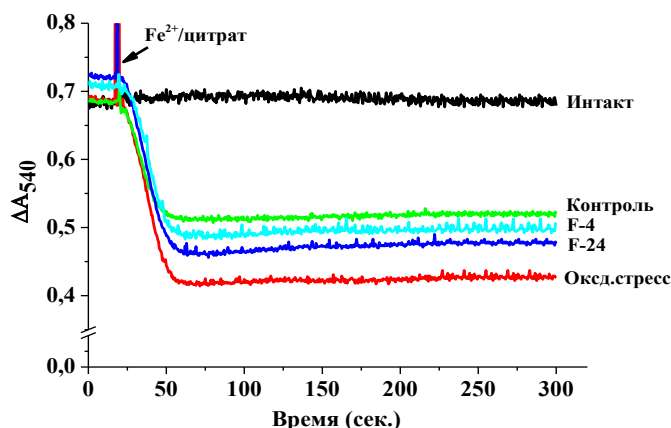


Рисунок 3. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на процесс ПОЛ, индуцированного Fe^{2+} /цитратом, митохондрий печени крыс в условиях ОС (оригинальная запись).

Усиление процесса ПОЛ в мембране митохондрий печени крыс в условиях ОС, может быть связано с нарушением систем ионного транспорта [11].

При фармакотерапии изохинолиновым алкалоидом F-24 животных III группы с ОС, индуцированным $PbCl_2$, было выявлено, что набухание митохондрий Fe^{2+} /цитратом ингибировалось на 25,4% по сравнению с группой II. Установлено, что у крыс IV группы, получавших изохинолиновый алкалоид F-4, наблюдалось ингибирование набухания митохондрий печени на 34,5% по сравнению со II группой (рис. 4).

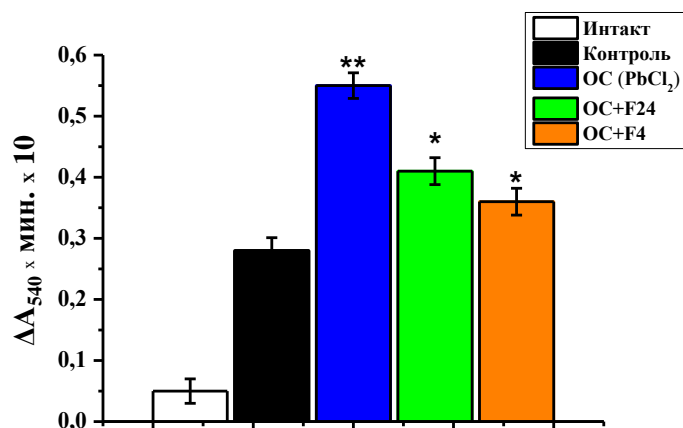


Рисунок 4. Влияние изохинолиновых алкалоидов F-24 и F-4 на ПОЛ митохондрий печени крыс, индуцированного Fe²⁺/цитратом, в условиях ОС (*P<0,05; **P<0,01; n=5).

Следовательно, в условиях ОС изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 оказали тормозящее действие на Fe²⁺/цитрат-индуцированный ПОЛ мембран митохондрий печени крыс. Основными причинами открытия мПТР в условиях ОС являются развитие стресса, прооксиданты, индукция ПОЛ, окисление тиоловых групп в комплексе мПТР.

Приводя к торможению процессы ПОЛ, изохинолиновые алкалоиды могут снижать количество свободных радикалов в митохондриях и связываясь с матричным доменом СуР-D, контролировать ингибирующие свойства ЦсА.

В заключение можно сказать, что изохинолиновые алкалоиды F-24 и F-4 восстанавливают повреждения митохондрий печени в условиях оксидативного стресса. При ОС эти вещества ингибируя открытие мПТР действовали как блокатор, также было обнаружено, что они оказали тормозящее действие на процесс ПОЛ, вызванное Fe²⁺/цитратом.

ЛИТЕРАТУРЫ

- Kohler A., Barrientos A., Fontanesi F., Ott M. The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes // *EMBO reports* – 2023. – V.24: - P. 1-14.
- Tungmunnithum D., Thongboonyou A., Pholboon A., Yangsabai A. Flavonoids and other phenolic compounds from medicinal plants for pharmaceutical and medical aspects: an overview // *Medicines (Basel)*. – 2018. – V.5(3): – P. 1-16.
- Huang W., Wang Y., Tian W., Cui X., Tu P., Li J., Shi S., Liu X. Biosynthesis investigations of terpenoid, alkaloid, and flavonoid antimicrobial agents derived from medicinal plants // *Antibiotics (Basel)*. – 2022. – V.11(10): – P. 1-32.
- Юсупов А., Алимова М. Биологическая активность изохинолиновых алкалоидов // *Евразийский Союз Ученых*. – 2016. – Т.6 (27). – С.127-129.
- Муратова Д.Х., Эргашев Н.А., Шкинев А.В., Асраров М.И., Курбанов У.Х. Влияние зонгорина на активность АТФ-зависимого K⁺-канала и состояние мегапоры митохондрий печени крыс. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2021. – Т. 84. – №4. – С. 12-15.
- Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўракулов Ш.Н., Виноградова В.И. F-24 ва N-14 алкалоидларининг кардиомиоцит Ca²⁺ -транспорт тизимларига таъсир механизмини тавсифлаш// *Инфекция, иммунитет и фармакология*. –2019. – №3. – С.21-27.
- Жумаев И.З., Журакулов Ш.Н., Усманов П.Б., Хушматов Ш.С., Рустамов Ш.Ю., Виноградова В.И. Инотропное воздействие алкалоида 1-(4- диметиламинофенил)-6,7-диметокси-1,2,3,4-тетрагидроизохинолин (F-24) // *Фармацевтика журналы*. – 2018. – №4. – С. 93-97.
- Schneider W.C., Hogeboom G.H. Cytochemical studies of mammalian tissues: the isolation of cell components by differential centrifugation // *Cancer. Res.* – 1951. – 11. – P. 1-22.
- He L., Lemasters J.J. Heat shock suppresses the permeability transition in rat liver mitochondria // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278(19). – P. 16755-16760.
- Almeida A.M., Bertocini C.R., Borecky J., Souza-Pinto N.C., Vercesi A.E. Mitochondrial DNA damage associated with lipid peroxidation of the mitochondrial membrane induced by Fe²⁺-citrat // *An. Acad. Bras. Cienc.* – 2006. – V. 78(3). – P. 505-514.
- Halestrap A.P., Richardson A.P. The mitochondrial permeability transition: a current perspective on its identity and role in ischaemia/reperfusion injury // *J Mol Cell Cardiol* – 2015 – V.78: - P. 129-141.