



UDK: 576.32.36(045)

Shavkat RUSTAMOV,

O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti katta ilmiy xodimi, PhD

E-mail: rustamov.sh.yu@mail.ru

Inoyat JUMAIEV,

O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti katta ilmiy xodimi, DSc

Pulat USMANOV,

O'zMU huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti professori, Biologiya fanlari doktori

Sherzod JO'RAQULOV,

O'zR FA O'simliklar moddalari kimyosi instituti katta ilmiy xodimi, DSc

O'zMU Biologiya va ekologiya fakulteti professori, DSc M.Pozilov taqrizi asosida

DIGIDROKVERSE TIN FLAVONOIDINING MUSBAT INOTROP TA'SIRIDA Na⁺/Ca²⁺-ALMASHINUV VA Na⁺/K⁺-ATFAZANING ISHTIROKINI BAHOLASH

Annotatsiya

Ushbu ishda digidrokversetin flavonoidi *in vitro* sharoitida kalamush yuragi papillyar muskuli qisqarish faolligiga ta'siri o'rganildi. Papillyar muskul preparatlarining qisqarish faoliyati *in vitro* sharoitida mexanografiya uslubida muskul qisqarish kuchini qayd qiluvchi qurilmada SI - BAM21 - LC (World Precision Instruments Inc (WPI); AQSH) o'rganildi. Digidrokversetin flavonoidi 10 mkM dan 60 mkM gacha musbat inotrop ta'sir ko'rsatishi tadqiq qilindi. Ushbu flavonoidning musbat inotrop ta'sir mexanizmiga aniqlik kiritish uchun Ca²⁺ kanallarining blokatori nifedipidan (IC_{50} -0,01 mkM) va Na⁺ kanallarining blokatori lidokaindan (IC_{50} -15 mkM) foydalanildi. Digidrokversetin papillyar muskul qisqarish faolligiga musbat inotrop ta'siri asosan Na⁺ kanallarini faollashtirishi orqali borishi aniqlandi.

Kalit so'zlar: papillyar muskul, musbat inotrope, ouabain, Na⁺/Ca²⁺ almashinuv, Na⁺/K⁺ATFaza

ОЦЕНКА УЧАСТИЯ Na⁺/Ca²⁺-ОБМЕННИКА И Na⁺/K⁺-АТФАЗЫ В ПОЛОЖИТЕЛЬНОМ ИНОТРОПНОМ ДЕЙСТВИИ ФЛАВОНОИДА ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА

Аннотация

В данном исследовании изучено влияние флавоноида дигидрокверцетина *in vitro* на сократительную активность папиллярной мышцы сердца крысы. Сократительная активность препаратов папиллярных мышц в условиях *in vitro* регистрировалась методом механографии на приборе SI - BAM21 - LC (World Precision Instruments Inc.; США). Показано, что дигидрокверцетин в концентрациях от 10 мкМ до 60 мкМ оказывает положительный инотропный эффект. Для уточнения механизма положительного инотропного действия использовали блокатор Ca²⁺ каналов нифедипин (IC_{50} - 0,01 мкМ) и блокатор Na⁺ каналов лидокаин (IC_{50} - 15 мкМ). Установлено, что положительный инотропный эффект дигидрокверцетина на сокращения папиллярной мышцы преимущественно реализуется через активацию Na⁺ каналов.

Ключевые слова: папиллярная мышца, положительный инотроп, ouabain, Na⁺/Ca²⁺ обменник, Na⁺/K⁺ATФаза

EVALUATION OF THE INVOLVEMENT OF Na⁺/Ca²⁺ EXCHANGE AND Na⁺/K⁺-ATPASE IN THE POSITIVE INOTROPIC EFFECT OF THE FLAVONOID DIHYDROQUERCETIN

Annotation

This study examined the effect of the flavonoid dihydroquercetin *in vitro* on the contractile activity of rat cardiac papillary muscle. Contractile activity of papillary muscle preparations *in vitro* was recorded by mechanography using the SI - BAM21 - LC device (World Precision Instruments Inc.; USA). Dihydroquercetin produced a positive inotropic effect at concentrations from 10 μM to 60 μM. To clarify the mechanism of this positive inotropic action, the Ca²⁺ channel blocker nifedipine (IC_{50} = 0.01 μM) and the Na⁺ channel blocker lidocaine (IC_{50} = 15 μM) were used. It was determined that the positive inotropic effect of dihydroquercetin on papillary muscle contractions is mainly mediated by activation of Na⁺ channels.

Key words: papillary muscle, positive inotrope, ouabain, Sodium-calcium exchanger, Na⁺/K⁺ATPase.

Kirish. Bugungi kunda kardioproteksiya yurak-qon tomir kasalliklarini (YuQTK) oldini olish va davolashning eng dolzarb va ustuvor yo'nalishlaridan biri bo'lib, ularning terapiyadagi sezilarli yutuqlariga qaramay, rivojlangan mamlakatlar aholisi salomatligiga salbiy ta'sir ko'rsatmoqda. Shunga ko'ra, ushbu kasalliklarning oldini olish va davolashning zamonaviy konsepsiyasida yuqori samarali kardioprotektorlardan foydalanishga asoslangan kardiomiotsitlar shikastlanishining rivojlanishini oldini olish bo'yicha kombinatsiyalangan kardioprotektor agentlar ta'sirining yangi chora-tadbirlarini ishlab chiqish muhim ahamiyat kasb etadi [1].

Rivojlangan mamlakatlarda ushbu kasalliklarning oldini olish va davolashning zamonaviy konsepsiyasida kardiomiotsitlarning ishemiya oqibatida zararlanishini oldini olishga qaratilgan yangi yondashuvlarni ishlab chiqish alohida o'rin egallaydi, bu esa juda samarali kardioprotektor vositalarning farmakologik yangi agentlarni yaratish imkonini beradi. Ushbu kasalliklar patogenezidagi asosiy omil bu gipoksiya bo'lib, u koronar va miya qon aylanishini buzgan holda kislorod yetishmasligi sharoitida rivojlanadi, bu esa ATF va kreatin fosfat ishlab chiqarishning shikastlanishi bilan birga energiya asosiy manbalari

kardiomiotsitlarda energiya tanqisligi bilan birga Na^+ , K^+ va Ca^{2+} ionlarining transporti hamda ularning transmembran tarqalishi buziladi, bu hujayra ichidagi muhitning atsidozi va Ca^{2+} ionlarining to'planishi bilan birga keladi, bu energiyaning shikastlanishiga va miokarddagi qisqarish jarayonlarining buzilishiga olib keladi [2,3].

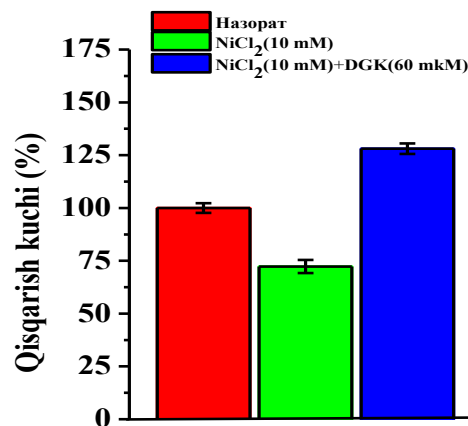
Tadqiqot materiallari va metodi. Tajribalar oq, zotsiz kalamushlar (200-250 gr.) yuragi o'ng qorinchasidan ajratib olingan hamda maxsus tajriba kamerasiga joylashtirilgan papillyar muskul preparatlarida (diametri 0,5-0,8 mm, uzunligi 1-3 mm) olib borildi. Tajriba kamerasida joylashgan preparatlar doimiy ravishda quyidagi tarkibdagi krebs eritmasi bilan (mM): NaCl-118; KCl-4,7; CaCl_2 -2,5; MgSO_4 -1,2; KH_2PO_4 -1,1; glyukoza-5,5; NaHCO_3 -25, pH-7,4 perfuziya qilingan. Krebs eritmasi 35°C haroratda karbogen (O_2 - 95%, SO_2 - 5%) bilan oksigenlangan. DGK flavonoidining miokard qisqarish faoligiga ta'siri izometrik rejimda *in vitro* sharoitda mexanografiya uslubida muskul qisqarish kuchini qayd qiluvchi qurilmada SI - BAM21 - LC (World Precision Instruments Inc. (WPI); SShA) olib borildi. Ushbu priborda mexanik signal SI - piezoelektrik datchik KG20 SI - BAM21 – LCB orqali qurilmadan foydalanilgan holda olindi. Kuchaytirgich orqali uzatilgan signal *iWorx LabScribe2* maxsus dasturi yordamida raqamli formatda PK ga uzatilib qayd qilib borildi hamda matematik va statistik tahlil qilindi. Muskul preparati ESL-2 stimulyatori va Pt-elektrodlar yordamida 0,1-3 Gs chastotada, 10 ms davomiylidagi, pog'ona darajasidan 20% ortuvchi tok kuchi bilan qo'zg'atildi. Ushbu tadqiqotlar normal fiziologik sharoitlarda amalga oshiriladi. Olib borilgan tadqiqot natijalari OriginPro 9.1 (OriginLab Corporation, AQSh) statistik dastur asosida tahlil qilindi.

Olingan natijalar va ularning tahlili. So'nggi yillarda molekulyar gibridlash kardioprotektor vositalarning yangi avlodini yaratishda istiqbolli yondashuv sifatida qaralmoqda, buning natijasida bitta molekulada turli xil farmakologik faoliyatni birlashtirgan yangi dorilarni yaratish mumkin. Ushbu yondashuvning afzalligi shundaki, u kasallikning patogenezini deffektli bilan bog'liq bo'lgan turli xil nishonlarni bir vaqtning o'zida modulyatsiya qilish qobiliyati tufayli ta'minlovchi yaxshilangan farmakokinetik xususiyatlarga ega bo'lgan kompleks ta'sir ko'rsatuvchi dori preparatlarni olish imkoniyatini beradi [4,5].

Kimyoviy birikmalar orasida flavonoidlar fiziologik ta'sir spektri keng diapazonga ega hisoblanadi [6]. Jumladan, shundan ayrimlarining yurak-qon tomir tizimi kasalliklariga antiaritmik va kardiotrop ta'sir ko'rsatishi tavsiflangan. Bizning tajribalarda DGKning kalamush yuragi papillyar muskul qisqarish faoligiga dozaga bog'liq ta'siri tekshirilganda, ushbu flavonoid barcha konsentrsiyalarda musbat inotrop ta'sir ko'rsatishi aniqlangan [7]. Olingan natijalardan ko'rinib turibdiki, digidrokversetin flavonoidi 10 mkM dan 60 mkM gacha bo'lgan konsentrsiyada papillyar muskuli qisqarish kuchini nazoratga nisbatan mos ravishda – 4,7±1,2% dan 51,4±3,4%, gacha oshirishi aniqlangan. Shu bilan birga, flavonoidning muskul qisqarish kuchini yarim maksimalga oshiruvchi EC_{50} qiymati konsentrsiyasi – 21,2 mkM ni tashkil qilgan.

Ma'lumki, $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -almashinuv yurak miotsitlarining elektr faolligi bilan modulyatsiya qilinadi. Yurakdagi $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -almashinuvning asosiy vazifasi bo'shshish va diastola vaqtida miotsitlardan Ca^{2+} ionlarini membranadan tashqariga chiqarishdan iborat bo'lib, u yurak qo'zg'alishi paytida Ca^{2+} -kanallari orqali Ca^{2+} kirishini muvozanatlashtiradi.

Yuqoridagilarni hisobga olib, keyingi tajribalarda $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvning nospesifik blokatori NiCl_2 ishtirokida o'rganilayotgan birikmaning musbat inotrop ta'siri o'rganildi. Bunda 10 mM NiCl_2 mavjud sharoitda DGKning (60 mkM) musbat inotrop ta'siri nazoratga nisbatan 23,3±2,9% ga kamayishi aniqlandi. 10 mM NiCl_2 mavjud sharoitda bundan tashqari, DGK flavonoidining musbat inotrop ta'siri sezilarli darajada kamayishi kuzatildi (1-rasm).

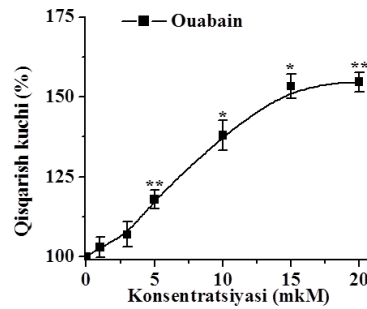


1-rasm. NiCl_2 mavjud sharoitda DGKning papillyar muskul qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qi bo'yicha – muskulning qisqarish kuchi foizda berilgan. Barcha holatlarda (**p<0,05; n=5). Preparatni qo'zg'atish chastotasi 1 Gs.

Tadqiqotlar natijalari shuni ko'rsatadiki, musbat inotrop ta'sirni ta'minlashda $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvning ishtiroki qisman mavjudligi namoyon bo'ldi.

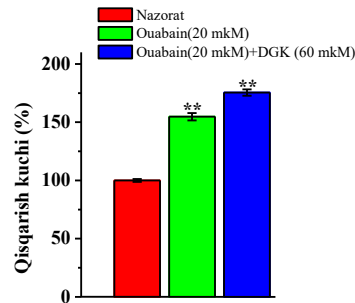
Na^+/K^+ -ATFaza yurak muskul hujayralarida juda muhim funksiyani bajaradi va uning ingibirlanishi turli xil patologik holatlarning kelib chiqishiga sabab bo'lishi mumkin [8]. Tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, yurak yetishmovchiligi bo'lgan bemorlarda Na^+/K^+ -ATFazaning funksional faolligi 40% gacha kamayib ketadi [9]. Masalan, ouabain va digoksin kabi yurak glikozidlari Na^+/K^+ -ATFaza ingibitori hisoblanadi. Ushbu ingibitorlar hujayradan tashqarida ortiqcha K^+ ionlarining va hujayra ichida ortiqcha Na^+ ionlarining to'planishiga olib keladi, chunki Na^+/K^+ -ATFaza K^+ ionlarini hujayra ichiga yoki Na^+ ionlarini hujayradan chiqarib yubora olmaydi. Hujayra ichidagi Na^+ ionlarining to'planishi konsentrsiya gradientiga ta'sir ko'rsatadi, bu odatda $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -almashinuvni teskari reversion rejimda harakatga keltiradi [10]. Hujayra ichida ortiqcha Na^+ ionlarining to'planishi natijasida $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -almashinuvni hujayra ichidagi Na^+ ionlarini hujayradan tashqariga chiqarib, Ca^{2+} ionlarini hujayra ichiga kiritadi va bu esa yurak qisqarish kuchining ortishiga olib keladi.

Yuqoridagi ma'lumotlarga tayangan holda ouabainning papillary muskul qisqarish faolligiga ta'sirini tekshirganimizda dozaga bog'liq holda musbat inotrop ta'sir ko'rsatib, 20 mkM konsentratsiyada qisqarish kuchini nazorat (100 % olingan) ga nisbatan $54,3 \pm 3,2\%$ ga oshirishi kuzatildi (2-rasm).



2-rasm. Ouabainning papillary muskul qisqarish faolligiga dozaga bog'liq ta'siri. Ordinata o'qida – maksimalga nisbatan foiz (%) hisobida ifodalangan qisqarish kuchining amplituda qiymati, abssissa o'qida - ouabainning konsentratsiyasi (mkM) ko'rsatilgan (*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$). Stimulyatsiya chastotasi 1 Gs ($f = 36 \pm 0,5^\circ\text{C}$); $n = 4$).

Keyingi tadqiqotlarda o'rganilayotgan birikmalarning musbat inotrop ta'sirida Na^+/K^+ -ATFaza o'rnini baholash uchun uning inhibitori ouabain ishtirokida tajribalar olib borildi. Bunda ouabain (20 mkM) mavjud sharoitda DGK (60 mkM) qo'shilishi $21,7 \pm 2,7\%$ ga muskul qisqarish kuchini oshirishi qayd qilindi. (3-rasm).



3-rasm. Ouabain mavjud sharoitda DGK, F-18 va DKV-11ning papillary muskul qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qi bo'yicha – muskulning qisqarish kuchi foizda berilgan. Barcha holatlarda *- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$; $n = 5$. Preparatni qo'zg'atish chastotasi 1 Gs.

Ouabainning Na^+/K^+ -ATFazani ingibirlashi orqali $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvni teskari ish rejimiga olib kelishi natijasida Ca^{2+} ionlari kirishining ortishi hisobiga musbat inotrop ta'siri yuzaga kelishini hisobga olib, DGK Na^+/K^+ -ATFazani ingibirlashi orqali musbat inotrop ta'siri ta'minlanishini taxmin qilish mumkin.

Xulosa. Yuqorida olib borilgan barcha tajribalardan shuni aytilish mumkinki, DGK flavonoidining musbat inotrop ta'siri qisman $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ almashinuvchi va Na^+/K^+ -ATFazaning roli mavjudligi bilan izohlanadi.

ADABIYOTLAR

1. Барнаулов О.Д. Фитотерапия больных сердечно-сосудистыми заболеваниями. 2010, 240 С.
2. Глезер М.Г., Асташкин Е.И., Новиков М.В. Лечение стабильной стенокардии: современное состояние вопроса // Фарматека. – 2013. – № 18. – С. 31–38.
3. Werdan K., Ebelt H., Nuding S. et al. Ivabradine in combination with beta-blocker improves symptoms and quality of life in patients with stable angina pectoris: results from the ADDITIONS study // Clin. Res. Cardiol. – 2012. – V. 101, № 5. – P. 365–373.
4. Житникова Л.М. Метаболическая терапия, или кардиопротекция – как необходимый компонент комбинированной терапии сердечно-сосудистых заболеваний // Российский медицинский журнал. – 2012. № 4. – С. 137–143.
5. Жумаев И.З. Айрим изохинолин алкалоидларнинг инотроп таъсирини структурага боғлиқ киёсий тавсифлаш: Автореф. Дисс. ПхД биол. фан. – Тошкент, 2020. – 16 С.
6. Min Luo and Mark E. Anderson. Mechanisms of Altered Ca^{2+} Handling in Heart Failure // Circulation Research. Volume 113, Issue 6, 30 August 2013; Pages 690-708.
7. Рустамов Ш.Ю., Жумаев И.З., Усманов П.Б., Жўракулов Ш.Н. Дигидрокверцетин флавоноидининг инотроп таъсирини тавсифлаш // ҚарДУ хабарлари. – 2021. – V 3. № 49. – P. 26-31.
8. Brozovich F.V., Nicholson C.J., Degen C.V., Yuan Z., Aggarwal G. M., Morgan K.G. Mechanisms of Vascular Smooth Muscle Contraction and the Basis for Pharmacologic Treatment of Smooth Muscle Disorders. // Pharmacol Rev. – 2016. – V. 68, № 2. – P. 476–532.
9. Kirchhoff S., Nelles E., Hagendorff A., Krüger O., Traub O., Willecke K. Reduced cardiac conduction velocity and predisposition to arrhythmias in connexin 40-deficient mice. // Current Biology. – 1998. – V. 8, – № 5, – P. 299–302.
10. Veldkamp, M. W., Viswanathan, P. C., Bezzina, C., Baartscheer, A., Wilde, A. A. M., & Balser, J. R. Two Distinct Congenital Arrhythmias Evoked by a Multidysfunctional Na^+ Channel. Circulation Research, – 2000. – V. 86(9), – P. 91–97.