



UDK: 576.32/36 (045)

Eldor IBRAGIMOV,
O'zMU huzuridagi biofizika va biokimyo instituti tayanch doktoranti
Dilnaza FAZILBEKOVA,
O'zMU huzuridagi biofizika va biokimyo instituti stajyor tadqiqotchisi
Pulat USMANOV,
O'zMU huzuridagi biofizika va biokimyo instituti professori, b.f.d
Shahobiddin ADIZOV,
O'zR FA O'simlik moddalari kimyosi instituti PhD katta ilmiy xodimi
Дилшода УСМОНОВА,
O'zMU huzuridagi biofizika va biokimyo instituti stajyor tadqiqotchisi
E-mail: eldoribragimov1215@gmail.com

Toshkent tibbiyot akademiyasi dotsenti, t.f.n A.Daminov taqrizi asosida

ROLE OF K -CHANNELS IN THE RELAXANT EFFECT OF THE VINCANIDINE ETHYL IODIDE INDOLE ALKALOID

Annotation

Natural indole alkaloids act as vascular agents and exhibit vasodilatory effects. In this study, the concentration-dependent relaxant effect of vincanidine ethyl iodide – an indole alkaloid - was investigated, focusing on its action through the endothelial layer and modulation of K⁺ channels. Vincanidine ethyl iodide exhibited a potent, dose - dependent relaxant effect on endothelium - intact aortic rings, and its relaxant activity remained unaffected after pre - incubation with BaCl₂ or 4 - aminopyridine (4 - AP). The relaxant effect of vincanidine ethyl iodide (12-hydroxynorfluorocurarine ethyl iodide) involves a crucial role for both K_{ir} and K_v channels, activated via the NO/sGC/cGMP/PKG signaling pathway.

Keywords: aorta, vincanidine ethyl iodide, K -channel, relaxant.

РОЛЬ К -КАНАЛОВ В РЕЛАКСАНТ ДЕЙСТВИИ ИНДОЛЬНОГО АЛКАЛОИДА ВИНКАНИДИНА ЭТИЛ ЙОДИДА

Аннотация

Природные индольные алкалоиды обладают вазодилатирующим действием, являясь сосудистыми агентами. В данном исследовании изучалось концентрационно-зависимое релаксирующее действие индольного алкалоида винканидина этил йодида и его влияние на эндотелиальный слой и модуляцию калиевых каналов. Винканидин этил йодид оказывал мощное дозозависимое релаксирующее действие на эндотелиальные кольца аорты и ослаблялось преинкубацией с BaCl₂ и 4-AP. Предполагается, что релаксирующее действие винканидина этилиодида (12-гидроксинорфлуорокурарин этилиодида) связано с K_{ir} и K_v -каналами, которые активируются через сигнальный путь NO/sGC/cGMP/PKG.

Ключевые слова: аорта, винканидина этил йодид, К-канал, релаксант.

VINKANIDIN ETIL YODID INDOL ALKALOIDINING RELAXANT TA'SIRIDA K -KANALLARINING ROLI

Annotatsiya

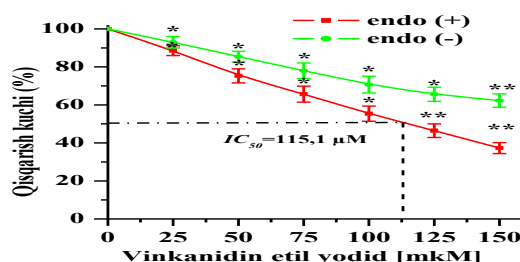
Tabiiy indol alkaloidlari qon tomir agenti sifatida vazodilatator ta'sir ko'rsatadi. Ushbu tadqiqotda vinkanidin etil yodid indol alkaloidining konsentratsiyaga bog'liq relaksant ta'siri va uning endoteliya qavati hamda K⁺ -kanal modulyatsiyasi orqali ta'siri o'rganildi. Vinkanidin etil yodid endoteliya ega aorta halqalarida dozaga bog'liq kuchli relaksant ta'sir ko'rsatdi va BaCl₂ hamda 4-AP bilan oldindan inkubatsiya qilinganida relaksant ta'siri kamaganligi kuzatildi. Vinkanidin etil yodid (12-gidroksinorfluorokurarin etil yodid) ning relaksant ta'sirida K_{ir} va K_v -kanallarining muhim rol o'ynashi, bu NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'li orqali faollashadi.

Kalit so'zlar: aorta, vinkanidin etil yodid, K⁺-kanal, relaksant.

Kirish. Qon tomirlarda qon bosimining uzoq vaqt davomida yuqori bo'lishi arterial gipertenziyaning avj olishiga sabab bo'ladi [1]. Ma'lumki yurak-qon tomir kasalliklarining rivojlanishida arterial gipertenziya asosiy xavf omili sifatida baholanadi [2]. Arterial gipertenziya holatida qon tomir silliq muskul hujayrasida bir qator ion kanallarining normal funksiyasi izdan chiqadi [3]. Ion kanallari transport funksiyasining buzilishi bir qancha patologik holatlarni keltirib chiqaradi [4]. Ushbu patologik holatlarda K⁺ -kanallarining ham funksional faolligi o'zgaradi va qon tomir vazotonusining oshishiga olib keladi [5]. K⁺ -kanallari asosan hujayra membranasida tinchlik potensialini bir maromda ushlab turilishida muhim rol o'ynaydi [6]. K⁺ -kanalari ochilganda sitozoldagi K⁺ hujayra tashqarisiga chiqadi, bu esa hujayra giperpolarizatsiyasini yuzaga keltiradi [7]. Natijada potensialga bog'liq Ca²⁺ kanallari yopiladi, sitozolga Ca²⁺ kirishi kamayadi va qon tomirning bo'shashishi yuz beradi [8]. Shu sababdan K⁺ -kanallarini biologik faol moddalar bilan modulyatsiya qilish bugungi kunda ko'plab tadqiqot markazlarining asosiy nishoni hisoblanadi. Shu sababli biz vinkanidin etil yodid indol alkaloidining silliq muskul hujayrasidagi K⁺ -kanallariga ta'sir mexanizmlarini o'rganishni maqsad qilib oldik.

Tadqiqot metodologiyasi. Oq zotsiz kalamushlari natriy pentobarbitolni (40 mg / kg) yordamida hushsizlantirildi va ko'krak qafasi ochilib aorta qon tomiri ajratib olindi hamda mahsus idishga solinib ortiqcha yog' to'qimalaridan tozalanib 3–4 mm aorta preparatlari tayyorlandi. Ushbu tayyorlab olingan aorta preparati Krebs eritmasi: (mM hisobida) NaCl – 118; KCl – 4,8; KH_2PO_4 – 1,2; NaHCO_3 – 25; MgCO_4 – 1,2; glyukoza – 11; CaCl_2 – 2,5; (pH=7,4) bor preparat yacheykaga joylashtirildi. Harorat doimiyligi ($t=37\pm0,5$ °C) U–8 ultratermostati orqali ta'minlandi. Aorta qon tomir preparatining qisqarish faolligi izometrik sharoitda FT–03 (Grass Instrument Co., AQSh) datchikiga platinali simdan yasalgan ilgaklar yordamida ulandi va signal kuchaytirgich qurilma (Grass Instrument, AQSh) orqali kompyuterda maxsus programma yordamida standart uslub (mexanografiya) yordamida yozib olindi. Dastlab, kalamush aorta preparati 1 gr (~10 mN) kuchlanish berilgan holda 50–60 minut davomida yangi muhitga adaptatsiya qilgunga qadar inkubatsiya qilinadi. So'ng aorta preparati fenilefrin (FE) ta'sirida qisqartirildi va o'rganilayotgan indol alkaloidining vazodilatator ta'siri tekshirildi. Qayd qilingan natijalar OriginLab OriginPro v. 8.5 SR1 (EULA, Northampton, MA 01060-4401, AQSh) maxsus dastur paketlari yordamida statistik qayta tahrirlandi. *In vitro* sharoitida aorta preparati silliq muskul hujayrasi qisqarish kuchi (mN) statistik qayta hisoblashda foiz (%) qiymatida hisoblandi. Natijalar *n* marta takroriylikda amalga oshirilgan tajribalar natijalarining $M\pm m$ shaklida keltirilgan bo'lib, *M*-o'rtacha arifmetik qiymat va *m* – standart xatolik qiymatini ifodalaydi. Shuningdek, tajriba natijalari va nazorat guruhi o'rtasidagi qiymatlarning statistik ishonchlilik darajasi Student *t*-mezoni asosida xisoblandi va $p<0,05$, $p<0,01$ qiymatlarida statistik ishonchli deb baholandi. Eksperimental protokollar hayvonlarga insonparvarona munosabatda bo'lish bo'yicha standartlar va talablar, O'zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo instituti Etika Komitetining laboratoriya hayvonlaridan foydalanish bo'yicha tartib-qoidalariga (Protokol №7, 2022 yil 7-aprel) muvofiq tarzda amalga oshirildi.

Tahlil va natijalar. FE alfa-1L retseptorlarini stimulyatsiya qilganda, Gq oqsili orqali fosfolipaza (PLC) faollashadi. So'ng PLC, fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat (PIP_2) ni inositol 1,4,5-trifosfat (IP_3) va diatsilgliserol (DAG) ga ajratadi. IP_3 sarkoplazmatik retikulumdagi IP_3 retseptorlariga bog'lanib, Ca^{2+} ionlarining hujayra ichiga chiqarilishiga sabab bo'ladi [9]. Natijada qisqarish kelib chiqadi. Shu nuqtai nazardan, vinkanidin etil yodid indol alkaloidining aorta qon tomir silliq muskul preparatlarida FE (1 mkM) bilan chaqirilgan qisqarish faolligi tahlil qilindi. Bunda vinkanidin etil yodid FE (1 mkM) bilan chaqirilgan qisqarish kuchiga 25–150 mkM diapazondagi konsentratsiyasining relaksant ta'siri kuzatildi, bu effekt statistik jihatdan ahamiyatli ekanligi aniqlab olindi. Jumladan, vinkanidin etil yodid 25 mkM konsentratsiyada FE bilan chaqirilgan aorta qisqarish kuchini nazoratga nisbatan $11,4\pm2,6\%$ ga kamaytirdi, 150 mkM da bu qiymat $62,7\pm3,5\%$ ni tashkil qildi. FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchini 50% ga kamaytiruvchi vinkanidin etil yodid IC_{50} konsentratsiyasi qiymati 115,1 mkM tashkil qildi (1-rasm). Shuningdek keyingi tajribalarda endoteliy qavati olib tashlangan aorta preparatlarida FE bilan chaqirilgan qisqarishlarga vinkanidin etil yodidning relaksant ta'siri tekshirildi. Ma'lumki qon tomir tonusini ushlab turishda ichki endoteliy qavati muhim ahamiyat kasb etadi. Endoteliy qavati olib tashlanganda vinkanidin etil yodidning relaksant ta'siri $62,7\pm2,9\%$ dan $37,7\pm3,5\%$ ga kamayishi kuzatildi (1-rasm).

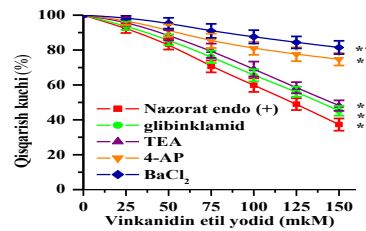


1-rasm. Vinkanidin etil yodidning kalamush aorta preparalarida FE (1 mkM) bilan chaqirilgan qisqarish kuchiga endo (+) va endo (-) holatlarda dozaga bog'liq relaksant ta'siri. FE (1 mkM) yordamida yuzaga keltirilgan qisqarish kuchi nazorat (100%) sifatida qabul qilingan (* – $p<0,05$; ** $p<0,01$; $n=4-5$).

Olingan natijalarda vinkanidin etil yodid FE bilan chaqirilgan aorta preparati qisqarish kuchiga relaksant ta'sir ko'rsatib va bunda endoteliy qavati muhim o'rin tutadi.

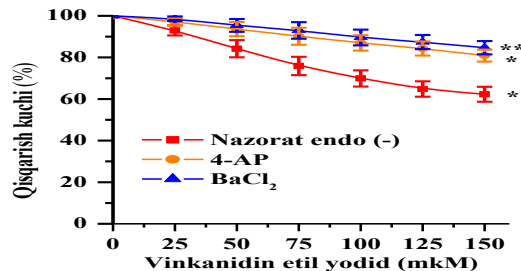
Navbatdagi tajribalarda vinkanidin etil yodidning plazmatik membranada joylashgan K^+ -kanallari funksiyasiga ta'siri tekshirildi. Ma'lumki K^+ -kanallari qon tomir silliq mushak hujayralarining funksional faolligini tartibga solishda muhim rol o'ynaydi. K^+ -kanallarining faollashishi natijasida giperpolarizatsiya, $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ ning kamayishi va vazodilatatsiya, ularning ingibirlanishi esa depolarizatsiya, $[\text{Ca}^{2+}]_{in}$ ning ko'payishi va vazokonstriksiyaga olib keladi [10]. Qon tomir silliq mushaklarda K^+ -kanallarining 4 ta turi: potentsialga bog'liq K^+ -kanallari (K_v), ichkariga rektifikatsiya qiluvchi K^+ -kanallari (K_i), Ca^{2+} aktivlashtiruvchi K^+ -kanallari (K_{Ca}) va ATFga sezgir K^+ -kanallari (K_{ATF}) farqlanadi [11]. Ushbu kanallarning barchasi biologik faol birikmalarning ta'sirida qon tomir silliq muskullarini fiziologik holatini o'zgartirishi aniqlangan [12]. Shu sababli aorta qon tomir qisqarishlarida vinkanidin etil yodidning vazorelaksant ta'sirida K^+ -kanallarining ishtirokini tekshirish maqsadida aorta preparatlari K_{ATP} -kanallari blokatori glibenklamid (50 mM), K_v -kanallari blokatori 4-AP (1 mM) K_{Ca} -kanallari blokatori TEA (5 mM) va K_i -kanallari blokatori BaCl_2 (1 mM) inkubatsiya qilindi.

Muhitda BaCl_2 (1 mM) mavjud sharoitda FE bilan chaqirilgan aorta muskul qisqarish kuchiga vinkanidin etil yodidning relaksant ta'siri $62,7\pm3,5\%$ dan $18,5\pm3,8\%$ ga kamaydi. Navbatdagi tajribada muhitda 4-AP (1 mM) mavjud sharoitda FE (1 mkM) bilan chaqirilgan qisqarish kuchini tekshirilayotgan alkaloidning relaksant ta'siri $62,7\pm3,5\%$ dan $24,2\pm3,6\%$ ga kamayishi aniqlandi. Shuningdek, tajribalarda vinkanidin etil yodidning TEA (5 mM) va glibenklamid (50 mkM) inkubatsiyasi sharoitida FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchiga relaksant ta'siri sezilarli darajada kamaymaganligi aniqlandi (2-rasm).



2-rasm. Vinkanidin etil yodidning K^+ -kanallari blokatorlari mavjud sharoitda FE bilan bilan chaqirilgan kalamush aorta qon tomir preparati qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qida aorta preparati qisqarish kuchi foizda ifodalangan, 1 mkM FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchi 100% deb olingan. Absissa o'qida indol alkaloidning konsentratsiyasi (mkM) ifodalangan (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; $n = 4$).

Vinkanidin etil yodidning relaksant ta'siri endoteliyaga bog'liqligini inobatga olib, navbatdagi tajribalarda endoteliysiz aorta preparatida alkaloidning K^+ -kanallariga ta'siri tekshirildi. Ma'lumki endoteliyadan sintezlanadigan bir qancha bo'shashtiruvchi omillar bo'lib, ularning faoliyati bevosiyta K^+ kanallari ishtirokida amalga oshadi [13]. NO va prostatsiklin ham K^+ -kanallarini faollashtirish orqali hech bo'lmaganda qisman qon tomirlarining bo'shashishini keltirib chiqaradi [14]. Shu sababdan vinkanidin etil yodid indol alkaloidining vazorelaksant ta'sirini endoteliysiz aorta preparatida K^+ -kanallarining rolini baholash muhimdir. Shunday qilib endoteliy qavati olib tashlangan aorta xalqalari K^+ -kanallarining blokatorlari bilan inkubatsiya qilindi va FE (1 mkM) bilan chaqirilgan qisqarishlarga etil yodidning 25 mkM dan 150 mkM gacha kumulyativ tarzda qo'shib borildi. Olingan natijalar nazorat guruhi bilan solishtirildi. Tajribalarda muhitda $BaCl_2$ (1 mM) mavjud sharoitda endoteliy qavatining olib tashlanishi FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchini $37,7 \pm 3,5\%$ dan $15,3 \pm 3,2\%$ ga kamaytirgan bo'lsa, 4-AP (1 mM) mavjud sharoitda FE (1 mkM) bilan chaqirilgan qisqarish kuchini $37,7 \pm 3,6\%$ dan $19,1 \pm 2,9\%$ ga kamaytirishi aniqlandi (3-rasm). Shunungdek, tajribalarda vinkanidin etil yodidning TEA (5 mM) va glibenklamid (50 mkM) inkubatsiyasi sharoitida FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchiga relaksant ta'siri sezilarli darajada etmasligi aniqlandi.



3-rasm. Vinkanidin etil yodidning K^+ -kanallari blokatorlari mavjud sharoitda endoteliy qavati mavjud bo'lmagan aorta preparatlarida FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchiga ta'siri. Ordinata o'qida aorta preparati qisqarish kuchi foizda ifodalangan, 1 mkM FE bilan chaqirilgan qisqarish kuchi 100% deb olingan. Absissa o'qida indol alkaloidning konsentratsiyasi (mkM) ifodalangan (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; $n = 4$).

Tajribalarda endoteliy mavjud va endoteliysiz aorta preparatlarida vinkanidin etil yodidning $BaCl_2$ va 4-AP ni oldindan inkubatsiya qilinishi FE bilan chaqirilgan qisqarishlariga relaksant ta'sirini sezilarli darajada kamaytirdi. Lekin endoteliy qavatining olib tashlanishi vinkanidin etil yodidning relaksant ta'sirida $BaCl_2$ ba 4-AP ingibirlovchi ta'siri mos ravishda $44,2 \pm 3,5\%$ dan $22,4 \pm 3,2\%$ ga va $38,5 \pm 3,5\%$ dan $18,6 \pm 3,2\%$ ga kamaydi. Ushbu natijalar vinkanidin etil yodidning relaksant ta'sirida K_{ir} va K_v -kanallari muhim rol o'ynashini va bu endoteliyga bog'liq amalga oshishini ko'rsatdi.

Xulosa va takliflar. Olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, vinkanidin etil yodidning relaksant ta'sirida K_{ir} va K_v -kanallarining muhim rol o'ynashi va bu NOS, NO/sGC/cGMP/PKG signal yo'li orqali faollashishi bilan amalga oshadi.

ADABIYOTLAR

1. Saz-Lara A., Bruno RM., Cavero-Redondo I., Álvarez-Bueno C., Notario-Pacheco B., Martínez-Vizcaino V. Association Between Arterial Stiffness and Blood Pressure Progression with Incident Hypertension: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Cardiovasc. Med* 2022; 9, 798934
2. Gupta P., Bast JA., Razavi AC., Canonico ME., Shahzad A., Naeem M., Bonaca MP., Sperling LS., Quintana RA. Hypertension in atherosclerotic cardiovascular disease: insights into epidemiology, management strategies, and outcomes. *Curr Opin Cardiol*. 2025; 40(4): 206-212.
3. Zeng X., Yang Y. Molecular Mechanisms Underlying Vascular Remodeling in Hypertension. *Rev Cardiovasc Med*. 2024; 25(2): 72.
4. Zaripov AA., Jumayev IZ., Usmanov PB., Mirzayeva YT., Esimbetov AT., Rustamov SY, Boboev SNU., Ibragimov EBU., Qurbonova SB., Zhurakulov S.N. Protective Effect of DHQ-11 against Hypoxia-induced Vasorelaxation. *Trends in Sciences* 2024; 21(11), 81-92.
5. Taylor Jade L., Pritchard Harry AT., Walsh Katy R., Danby Thea GE., Grant H., Allan Stuart M., Nelson Mark T., Greenstein Adam S. PS-B10-7: A vascular smooth muscle potassium channel dysfunction underlies small vessel disease of the brain in both hypertension and alzheimer's disease. *Journal of Hypertension* 2023; 41(1): 447.
6. Jackson WF. Potassium Channels in Regulation of Vascular Smooth Muscle Contraction and Growth. *Adv Pharmacol*. 2017; 78: 89-144.
7. Daghbouche-Rubio N., López-López JR., Pérez-García MT., Ciudad P. Vascular smooth muscle ion channels in essential hypertension. *Front Physiol*. 2022; 13(10), 161-175.

8. Mironova GY., Haghbin N., Welsh DG. Functional tuning of Vascular L-type Ca^{2+} channels. *Front Physiol.* 2022; 13:1058744.
9. Pereira da Silva EA., Martín-Aragón Baudel M., Navedo MF., Nieves-Cintrón M. Ion channel molecular complexes in vascular smooth muscle. *Front Physiol.* 2022; 13:999369.
10. Dogan MF., Yildiz O., Arslan SO., Ulusoy KG. Potassium channels in vascular smooth muscle: a pathophysiological and pharmacological perspective. *Fundam Clin Pharmacol.* 2019; 33(5): 504-523.
11. Ko EA., Han J., Jung ID., Park WS. Physiological roles of K^{+} channels in vascular smooth muscle cells. *J Smooth Muscle Res* 2008; 44(2): 65-81.
12. Richter-Laskowska M., Trybek P., Delfino D.V. Wawrzekiewicz-Jałowicka, A. Flavonoids as Modulators of Potassium Channels. *Int. J. Mol. Sci.* 2023; 24, 1311.
13. Nappi F., Fiore A., Masiglat J., Cavuoti T., Romandini M., Nappi P., Avtaar Singh S.S., Couetil J.P. Endothelium-Derived Relaxing Factors and Endothelial Function: A Systematic Review. *Biomedicines* 2022; 10, 2884.
14. Sobey CG. Potassium channel function in vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2001; 21(1): 28-38.