KIMYO

UDK 581.17(021) DOI: 10.56292/SJFSU/vol29_iss4/a74

MITOXONDRIYA MEMBRANASI O‘TKAZUVCHANLIGIGA O‘SIMLIK ALKALOIDLARINING TA’SIRI

ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛКАЛОИДОВ НА ПРОНИЦАЕМОСТЬ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ МЕМБРАН

EFFECT OF PLANT ALKALOIDS ON MITOCHONDRIAL MEMBRANE PERMEABILITY

Abdullayeva Gulbohor Tolibjonovna[1], Xosilova Ziyofat Begmuratovna[2]

[1]**Abdullayeva Gulbohor Tolibjonovna** – I.Karimov nomidagi Toshkent davlat texnika universiteti, Biotexnologiya kafedrasi professori v.b

[2]**Xosilova Ziyofat Begmuratovna** – Qarshi davlat universiteti, Fiziologiya kafedrasi o‘qituvchisi

Annotatsiya

Mitoxondriya membranalarining fizik-kimyoviy xossalarini o‘rganish shuni ko‘rsatadiki, uning ichki membranasi ma’lum birikmalarni, masalan, dorivor moddalarni tanlab o‘tkazadi. Farmakologik agentlari mitoxondriya funksional parametrlariga ta’sir qilishini, nafaqat toksikologik, balki terapevtik nuqtai nazardan ham ko‘rib chiqish lozim. Bir qancha farmakologik agentlar uchun potensial “nishon” mitoxondriya darajasida bo‘lishi aniqlangan.

Аннотация

Изучение физико-химических свойств мембран митохондрий показывает, что ее внутренняя мембрана избирательно пропускает определенные соединения, например, лекарственные вещества. Необходимо учитывать влияние фармакологических средств на функциональные параметры митохондрий не только с токсикологической, но и с терапевтической точки зрения. Потенциальная «мишень» для нескольких фармакологических агентов была идентифицирована на митохондриальном уровне.

Abstract

The study of the physicochemical properties of mitochondrial membranes shows that its inner membrane selectively allows certain compounds to pass through, for example, drugs. It is necessary to take into account the influence of pharmacological agents on the functional parameters of mitochondria not only from a toxicological, but also from a therapeutic point of view. Potential targets for several pharmacological agents have been identified at the mitochondrial level.

Kalit so‘zlar: *mitoxondriya, alkaloidlar, protopin, o‘tkazuvchanlik, in vitro, muhit, kalsiyionlari.*
Ключевые слова: *митохондрии, алкалоиды, протопин, проводимость, invitro, среда, ионы кальция.*
Key words: *mitochondria, alkaloids, protopin, conductivity, in vitro, environment, calcium ions.*

KIRISH

Zamonaviy fizik-kimyoviy biologiyaning rivojlanishi hujayra faoliyati asosida yotuvchi biokimyoviy, fiziologik va biofizikaviy mexanizmlar, tirik tizimlarda energiya sintezi va uning almashinuvi haqidagi tasavvurlarni kengaytirdi.

Turli xil patologiyalarda hujayra va uning organellalari membranalari shikastlanishi aniqlangan. Xususan, Mx membranasi shikastlanishiga bir qancha omillar ta’sir etadi. Hujayrada erkin radikallar, gidroksil-ionlari (OH^-) va H_2O_2 yuqori konsentratsiyalarda to‘planishi LPO jarayonini kuchayishiga, hujayra membranasi va DNK ning shikastlanishiga ham olib keladi. Mx nafas olishi oqibatida juft bo‘lmagan elektronlar (ê) ajralib chiqadi va ular O_2 bilan o‘zaro ta’sirlashib superoksid ionlarini (erkin radikallar yoki kislorodning reaktiv turlari) hosil bo‘ladi. Ushbu omillar Mx membranasiga ta’sir qilmaydi, chunki Mx kerakli antioksidant himoya tizimlarga ega. Ushbu himoya tizimi glutationning yuqori konsentratsiyasidan, superoksiddismutaza va katalazalardan iborat.

Mx matriksidan shikastlovchi omillarni (radikallar, superoksid anioni) chiqishining asosiy yo‘li H_2O_2 orqali bo‘lishi mumkin. Organizmda erkin radikallarning ortiqcha hosil bo‘lishi va shu munosabat bilan LPO jarayonining kuchayishi, ya’ni OC ta’sirida biomembranalar va hujayralar funksiyalarining buzilishlari sodir bo‘ladi.

KIMYO

TADQIQOT MATRIALLARI VA METODLARI

Tadqiqotlar tana massasi 120-140 g bo‘lgan zotsiz oq kalamushlarda o‘tkazildi. Laboratoriya hayvonlarini boqish normal vivariy sharoitida olib borildi. Tadqiqotlar uch bosqichda, o‘zaro bog‘liq ravishda, *in vitro* sharoitida amalga oshirildi.

Mx ning bo‘kish kinetikasi (Mx oqsili 1mg/ml ni tashkil qildi) 3 ml yacheykalarda 540 nm to‘lqin uzunligida optik zichlikning o‘zgarishi bo‘yicha aniqlandi. Energiyalangan Mx uchun IM tarkibi: 125 mM KCl, 2,5 mM KH_2PO_4, 1mM EGTA, 5 mM glutamat, 1 mM malat, 10 mM tris-HCl, *pH* 7,4; energiyalanmagan Mx uchun IM tarkibi: 0,240 mM saxaroza, 1mM EGTA, rotenon 1 mkM 10 mM tris-HCl. Ca^{2+}-EGTA buferlari qo‘llanilgan muhitda, Ca^{2+}- kotsentratsiyasi BAD4 kompyuter dasturi yordamida hisoblangan.

OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI

Mitoxondriya membranasi o‘tkazuvchanligiga o‘simlik alkaloidlarining ta’sirini o‘rganish mobaynida *in vitro* tadqiqotlarida, sog‘lom hayvon jigari energiyalangan Mx membranasi o‘tkazuvchanligiga, ya’ni SsA-sezgir pora holatiga, protopin, kriptopin, α-allokriptopin va zeravshanizin alkaloidlarining 50 mkM konsentratsiyasi ta’siri o‘rganildi (1-jadval). Inkubatsiya muhitida SsA-sezgir pora induktorlari ishtirok etmagan sharoitda o‘rganilayotgan alkaloidlar Mx bo‘kish tezligiga ta’sir etmadi. Olingan natijalar o‘rganilayotgan birikmalarning membrana faol xossaga ega emasligini, ya’ni bu sharoitda, o‘rganilayotgan birikmalar Mx membranasidagi SsA-sezgir poraga ta’sir qilmasligini bildiradi.

Tajribalarda inkubatsiya muhitiga Ca^{2+} ionlarining kichik konsentrasiyalarini qo‘shish orqali Mx membranasi permeabilizatsiyasi chaqirildi va ushbu sharoitda alkaloidlarning Mx membranasi o‘tkazuvchanligiga ta’siri o‘rganildi (1-jadval). Ushbu sharoitda pora ochiq konformatsion holatga o‘tadi. Tadqiqot natijasida, energiyalangan Mx bo‘kish tezligi va amplitudasiga qo‘llanilgan alkaloidlar orasidan protopinning ta’siri boshqa alkaloidlarga nisbatan yaqqolroq namoyon bo‘ldi. Tadqiqotlarda kriptopin, α-allokriptopin va zeravshanizin alkaloidlari Mx membranasi o‘tkazuvchanligiga ta’siri protopin ta’siriga nisbatan sustroq namoyon bo‘ldi (1-jadval).

1-jadval

O‘simlik alkaloidlarining *in vitro* tadqiqotlarida energiyalangan mitoxondriya membranasi o‘tkazuvchanligiga ta’siri

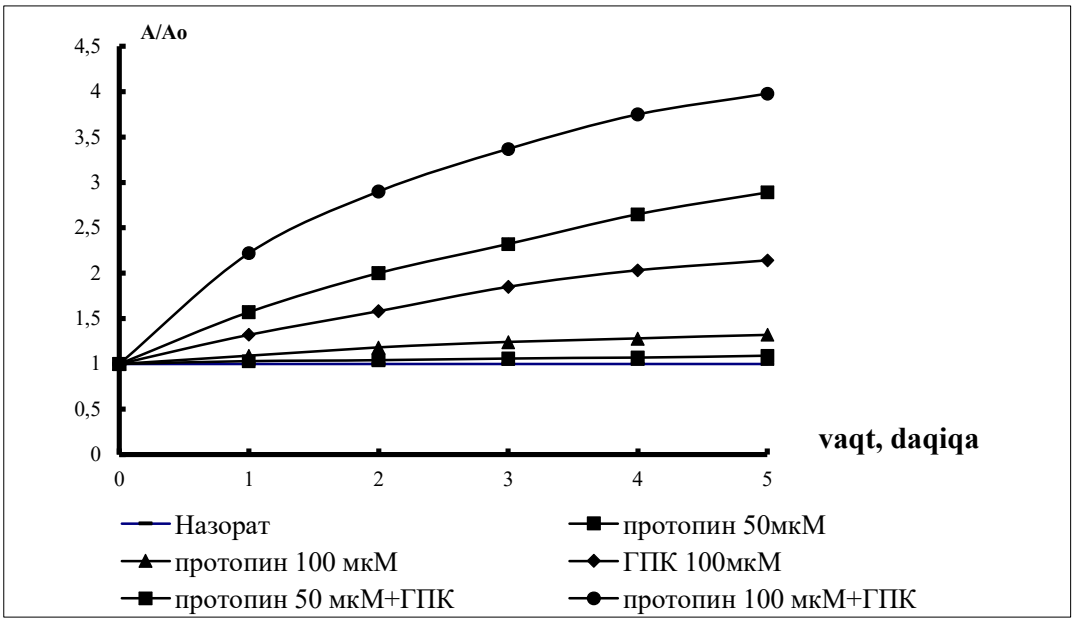
Tajriba guruhlari	Induktorlar ishtirokisiz Mx bo‘kish tezligi,(ΔE_{540}/min)·100	Induktorlar ishtirokida Mx bo‘kish tezligi, (ΔE_{540}/min)·100	
		Ca^{2+}	GPK
Nazorat	10,7±1,5	32,4±2,3	58,7±3,0
Protopin 50 mkM	12,8±1,6	42,1±2,6	66,2±3,2
Kriptopin 50 mkM	11,4±1,5	33,9±2,0	59,1±3,8
α-allokriptopin 50 mkM	11,7±1,3	34,2±2,3	60,5±3,3
Zeravshanizin 50 mkM	12,2±1,8	35,1±2,5	58,8±3,6

Izoh: IM- 125 mM KCl, 2,5 m MKH_2RO_4, 5 mM glutamat, 1 mM malat; 5 mkM Ca^{2+}, 4 mM GPK, 1 mM EGTA, 10 mM tris-HCl, pH-7,4. Barcha holatlarda $P<0,05$ (n=8).

Ma’lumki, ushbu sharoitlarda Mx membranasi o‘tkazuvchanligining o‘zgarishi, asosan, SsA-sezgir porani sust o‘tkazuvchanlik holatida bo‘lishi bilan bog‘liq. Demak, olingan natijalar asosida, protopin alkaloidi ushbu holatda poraning ochilishini faollashtiradi. Olingan natijalarni tasdiqlash maqsadida biz, keyingi tadqiqotlarimizni MRT induktori hisoblangan gidroperekiskumoli (GPK) qo‘llagan sharoitda davom ettirdik. Ushbu sharoitda ham protopinning ta’siri boshqa alkaloidlarga nisbatan yaqqolroq namoyon bo‘ldi (1-jadval).

Shu bilan birga, qo‘shimcha tajribalarda, protopin alkaloidining qo‘llanilgan konsentratsiyasi LPO mahsulotlarini yig‘ilishiga ta’sir etmasligi aniqlandi. Bu jarayon esa, protopin alkaloidining prooksidant ta’sirga ega emasligini, ya’ni LPOni chaqirmasligini bildiradi.

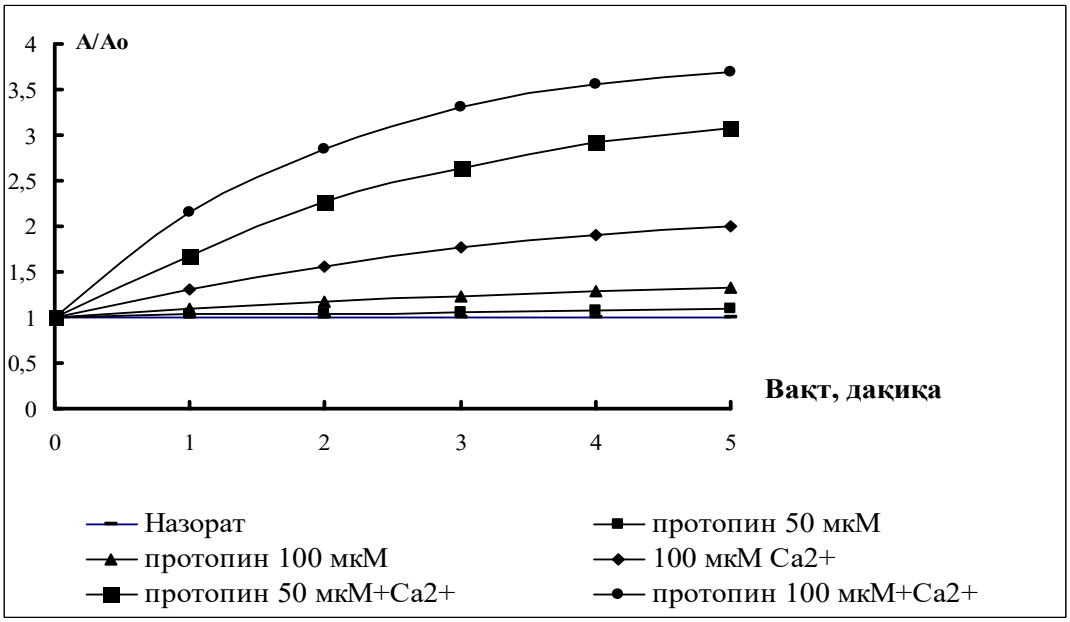
Keyingi *in vitro* tadqiqotlarimizda energiyalanganva energiyalanmagan SsA-pora holatiga protopin alkaloidini 50-100 mkM konsentratsiyalardagi ta’sirini o‘rgandik. Olib borilgan tajribalarimizda energiyalangan Mx membranasi holatiga GPK ishtirokida protopin alkaloidining ta’sirini o‘rgandik(1-rasm).



Izoh: A/A_0 – tajriba guruhi Mx bo‘kish tezligini, nazorat guruhi Mx bo‘kish tezligiga nisbati. IM- 125 mM Kcl, 2,5 mM KH_2RO_4, 1 mM EGTA, 5 mMg lutamat, 1 mM malat,10 mM trisHCl, pH-7,4. Barcha holatlarda $R<0,05$ (n=8).

1-rasm. Protopinning energiyalangan mitoxondriya membranasi GPK-indusirlagan o‘tkazuvchanligiga ta’siri

In vitro tadqiqotlarida inkubatsiya muhitida nazorat guruhi hayvonlarining Mx sida bo‘kish kuzatilmadi. Inkubatsiya muhitiga birikmaning 50 mkM yoki 100 mkM miqdorini qo‘shish Mx bo‘kish tezligiga sezilarli ta’sir etmadi. Muhitga 100 mkM konsentratsiyada GPK ni qo‘shish Mx bo‘kish tezligini nazorat guruhiga nisbatan 2,2 barobarga oshirdi. Bu sharoitda GPK SsA-sezgir porani ochilishiga olib keladi, natijada energiyalangan Mx bo‘kish tezligi oshib boradi (1-rasm). Tajribalarda birikmaning 50 mkM miqdori GPK induktorining SsA-sezgir poraga shikastlovchi ta’sirini kuchaytirdi. Birikmaning miqdorini oshirib borish Mx bo‘kish tezligini oshirib, Mx megakanalini ochiq holatga olib keladi. Tadqiqotlarimizning keyingi bosqichida energiyalangan Mx membranasi permeabilizatsiya holatiga protopin alkaloidining indusirlangan Ca^{2+} ionlari ishtirokida o‘rganib boramiz (2-rasm).

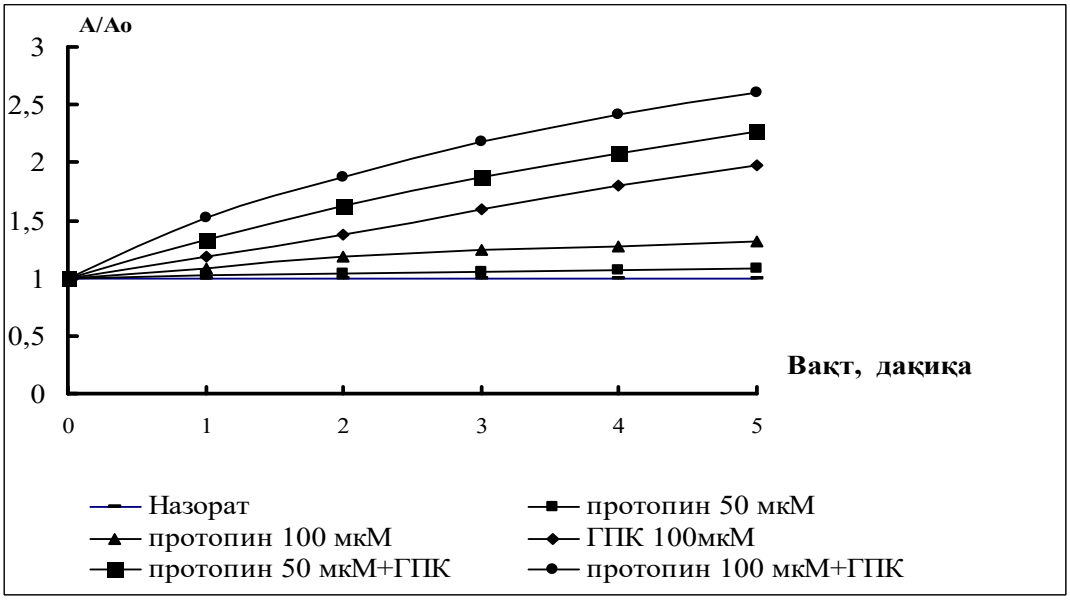


Izoh: A/A_0 – tajriba guruhi Mx bo‘kish tezligini, nazorat guruhi Mx bo‘kish tezligiga nisbati. IM - 125 mM Kcl, 2,5 mM KH_2RO_4, 1 mM EGTA, 5 mM glutamat, 1 mM malat, 10 mM trisHCl, pH-7,4. Barcha holatlarda R<0,05 (n=8).

2-rasm. Protopin energiyalangan mitoxondriya membranasi Ca^{2+}-indusirlagan o‘tkazuvchanligiga ta’siri

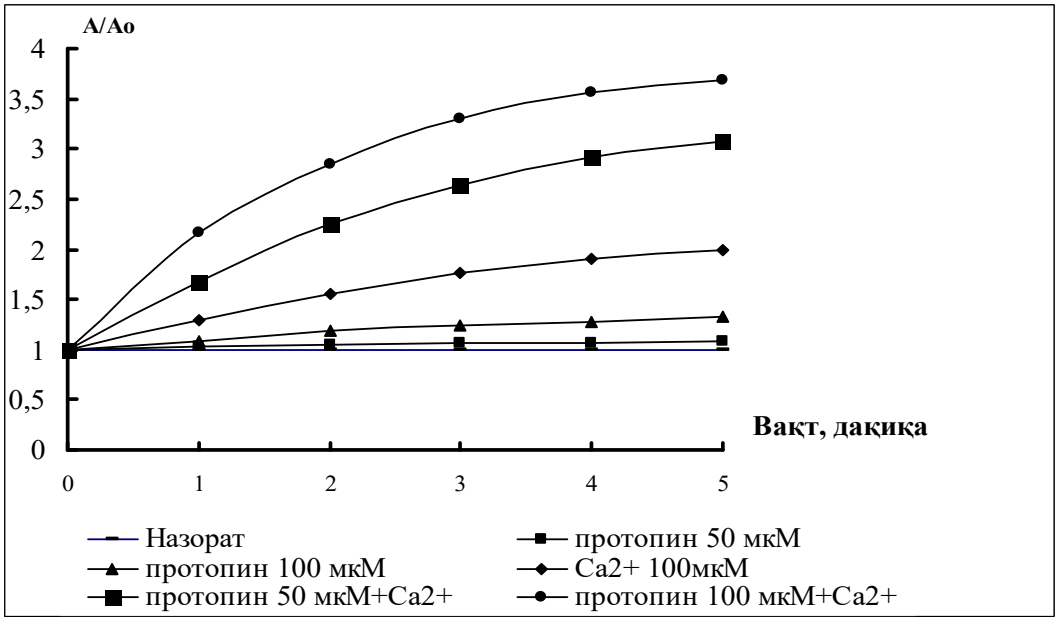
Protopinning 50-100 mkM konцentratsiyalari Mx bo‘kishi tezligiga, ya’ni Ca^{2+}-ga bog‘liq SsA-sezgir pora holatiga sezilarli ta’sir etmadi. Muhitga Ca^{2+} ionlarini qo‘shish pora ochilishini faollashtirdi. Bu sharoitda, protopin Ca^{2+} ionlari birgalikda, SsA-sezgir pora ochilishini yanada oshirdi (2 rasm).

Tajribalar energiyalangan Mx da davom ettirildi. Protopin alkaloidi energiyalangan Mx da, energiyalanmagan Mx dagi singari, SsA-poraning sust o‘tkazuvchanlik holatida, Ca^{2+} va GPK induktorlarini Mx ga shikastlovchi ta’sirini oshirdi (3-; 4-rasmlar).



Izoh: A/A_0 – tajriba guruhi Mx bo‘kish tezligini, nazorat guruhi Mx bo‘kish tezligiga nisbati. Barcha holatlarda R<0,05 (n=8).

3-rasm. Protopinning energiyalanmagan mitoxondriya membranasi GPK-indusirlagan o‘tkazuvchanligiga ta’siri



Izoh: A/A_0 – tajriba guruhi Mx bo‘kish tezligini, nazorat guruhi Mx bo‘kish tezligiga nisbati. Barcha holatlarda R<0,05 (n=8).

4-rasm. Protopinning energiyalanmagan mitoxondriya membranasi Ca^{2+}-indusirlagan o‘tkazuvchanligiga ta’siri

XULOSA

Xulosa qilib shuni aytish mumkinki,ushbu alkaloid energiyalangan va energiyalanmagan Mx larda SsA-sezgir pora induktorlari Ca^{2+} ionlari va GPK ning membrana o‘tkazuvchanligiga ta’sirini oshiradi. Protopin, kriptopin, α-allokriptopin va zeravshanizin alkaloidlari 0,5 mg/kg dozada Mx Ca^{2+}-to‘plash sig‘imini sezilarli tarzda oshiradi. Alkaloidlarning ushbu ta’siri SsA-sezgir poraning yopiq konformatsion holatga o‘tishi natijasida o‘tkazuvchanlikning kamayishi va Ca^{2+} ionlarini akkumulyasiya qilish qobiliyatini ortishiga bog‘liq.

ADABIYOTLAR RO‘YXATI

1. Azzone G.F., Azzi A. Volume changes in liver mitochondria // Proc. Natl. Acad. Science USA. – 1965. – V. 53. – P. 1084 - 1089.

2. Brierley G.P. Passive permeability and energy-linked ion movements in isolated hearth mitochondria // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1974. – V. 227. – P. 398-411.

3. Gustafsson Å.B., Gottlieb R.A. Heart mitochondria: gates of life and death // Cardiovascular Research. – 2008. – V. 77. – P. 334-343;

4. Davidson A.M., Halestrap A.P. Partial inhibition by cyclosporin A of the swelling of liver mitochondria in vivo and in vitro induced by sub-micromolar [Ca^{2+}], but not by butyrate // Biochem. J. – 1990. – V. 268. – P. 147-152.

5. Dudkina N.V., Sunderhaus S., Boekema E.J., Braun H.P. The higher level of organization of the oxidative phosphorylation system: mitochondrial supercomplexes // J. Bioenerg. Biomembr. – 2008. – V. 40. – P. 419–424.

6. Fruehauf J.P., Meyskens F.L. Reactive Oxygen Species: A Breath of Life or Death? // Clinical Cancer Research. – 2007. – V. 13. – P. 789-796

7. Fuentes-Prior P., Salvesen G.S. The protein structures that shape caspase activity, specificity, activation and inhibition // Biochem. J. – 2004. – V. 384. – P. 201–232.

8. Szewczyk A., Wojtczak L. Mitochondria as a pharmacological target // Pharmacol. Rev. – 2002. – V. 54. – P. 101–127 **)**

9. Барам Н.И., Исмаилов А.И. Биологическая активност госсипола и его производных//Химия природных соединений.– Москва, 1993. – №3. – С. 334-49.

10. Гагелганс А.И. Транспорт ионов в митохондриях и действие тиреоидных гормонов // Дис. канд. биол. наук. – Ташкент. 1970. – С. 177.