UNIVERSAL JOURNAL OF MEDICAL AND NATURAL SCIENCES
ISSN 2992-8826
https://sr-journals.org/index.php/UJMANS

Polifenol birimalirining mitoxondriya funksional ko'rsatkichlariga ta'sir mexanizmlari

R.K.Kenjaboyeva
Namangan davlat unversiteti magistiranti
E-mail: rayhonakenjaboyeva@gmail.com

Annotatsiya. Ushbu tadqiqotda o‘simlik polifenollari, xususan trigalloilglyukoza va tetragalloilglyukozaning kalamush jigari mitoxondriyalarining funksional ko‘rsatkichlariga ta’sir mexanizmlari o‘rganildi. Tadqiqotning asosiy maqsadi polifenol birikmalarning mitoxondriya faoliyatini modulyatsiya qilishdagi rolini aniqlashdan iborat. Olingan natijalar ushbu birikmalarning Ca^{2+}-ga bog‘liq siklosporin A-sezgir PTP ochilishini ingibirlashi, mitoKATP-kanalini faollashtirishi hamda mitoxondriya ichki membranasining passiv ion o‘tkazuvchanligini oshirishi mumkinligini ko‘rsatdi. Natijalar polifenollarning mitoxondrial disfunktsiya bilan bog‘liq patologiyalarda istiqbolli biologik faol modda ekanligini tasdiqlaydi.

Kalit so‘zlar: Polifenollar, mitoxondriya, trigalloilglyukoza, tetragalloilglyukoza, PTP, mitoKATP-kanal, Ca^{2+}, oksidlovchi stress, membrana potensiali, ROS.

Аннотация. В данном исследовании изучены механизмы влияния растительных полифенолов, в частности тригаллоилглюкозы и тетрагаллоилглюкозы, на функциональные показатели митохондрий печени крыс. Основная цель работы заключается в определении роли полифенольных соединений в модуляции митохондриальной функции. Результаты показали, что данные соединения ингибируют Ca^{2+}-зависимое открытие циклофилин А-чувствительной поры (PTP), активируют mitoKATP-канал и увеличивают пассивную ионную проницаемость внутренней мембраны митохондрий. Полученные данные подтверждают перспективность полифенолов как биологически активных соединений при митохондриальной дисфункции.

Ключевые слова: Полифенолы, митохондрии, тригаллоилглюкоза, тетрагаллоилглюкоза, PTP, mitoKATP-канал, кальций (Ca^{2+}), окислительный стресс, мембранный потенциал, ROS.

Abstract. This study investigates the effects and mechanisms of plant polyphenols, particularly trigalloylglucose and tetragalloylglucose, on the functional parameters of rat liver mitochondria. The main objective was to determine the role of polyphenolic compounds in the modulation of mitochondrial function. The results demonstrated that these compounds inhibit Ca^{2+}-dependent opening of the cyclosporin A-sensitive permeability transition pore (PTP), activate the mitoKATP channel, and increase passive ion permeability of the inner mitochondrial membrane. These findings highlight polyphenols as promising biologically active compounds in mitochondrial dysfunction-related disorders.

Keywords: Polyphenols, mitochondria, trigalloylglucose, tetragalloylglucose, PTP, mitoKATP channel, calcium (Ca^{2+}), oxidative stress, membrane potential, ROS.

KIRISH

Zamonaviy biotibbiyot va biofizika sohasida mitoxondriya hujayra metabolizmining markaziy organoidi sifatida alohida o‘rin tutadi. Uning asosiy vazifasi hujayra energetik ta’minotini, ya’ni adenozintrifosfat (ATF) sintezini amalga oshirish bilan birga, ion gomeostazi, oksidlovchi-qaytarilish muvozanati hamda hujayra o‘limi jarayonlarini boshqarishdan iborat. So‘nggi ilmiy ma’lumotlar mitoxondriya funksional holatining buzilishi ko‘plab patologik jarayonlar — metabolik sindrom, qandli diabet, yurak-qon tomir kasalliklari, jigar shikastlanishlari hamda neyrodegenerativ holatlar rivojlanishida muhim rol o‘ynashini tasdiqlamoqda.

Mitoxondriya disfunksiyasi sharoitida elektron transport zanjiri faoliyati susayadi, ATF sintezi kamayadi, reaktiv kislorod turlari (ROS) ortadi hamda membrana potensiali izdan chiqadi. Natijada oksidlovchi stress kuchayib, hujayra strukturalarining shikastlanishi va funksional buzilishlari yuzaga keladi. Shu bois mitoxondriya faoliyatini tartibga soluvchi tabiiy moddalarning ta'sir mexanizmlarini o'rganish dolzarb ilmiy yo'nalishlardan biri hisoblanadi.

O'simliklardan ajratib olingan polifenol birikmalar ushbu yo'nalishda alohida ahamiyatga ega bo'lib, ular kuchli antioksidant va membranani himoya qiluvchi xususiyatlari bilan ajralib turadi. Polifenollar erkin radikallarni neytrallash, lipid peroksidlanishini kamaytirish hamda hujayra va subhujayra membranalarining barqarorligini saqlash orqali biologik tizimlarga ijobiy ta'sir ko'rsatadi. Bundan tashqari, ularning mitoxondrial ion kanallari va o'tuvchanlik tizimlariga ta'siri so'nggi yillarda keng ilmiy qiziqish uyg'otmoqda.

Jigar organizmda detoksikatsiya, modda almashinuvi va energiya muvozanatini ta'minlovchi asosiy organlardan biri bo'lib, undagi mitoxondriyalar yuqori metabolik faollikka ega. Shu sababli kalamush jigari mitoxondriyalari mitoxondriya funksional holatini o'rganish uchun optimal eksperimental model sifatida qo'llaniladi. Ushbu model tizimida biologik faol moddalarning ta'sirini o'rganish ularning hujayra energetikasi va ion transport jarayonlaridagi rolini aniqlash imkonini beradi.

Mazkur tadqiqot doirasida o'simlik polifenollari — trigalloilglyukoza va tetragalloilglyukozaning kalamush jigari mitoxondriyalarining funksional ko'rsatkichlariga ta'siri o'rganildi. Bunda ATF sintezi, nafas olish jarayoni, membrana potensiali, oksidlovchi fosforillanish samaradorligi, reaktiv kislorod turlari hosil bo'lishi, lipid peroksidlanishi hamda mitoxondrial o'tuvchanlik teshigi (PTP) va mitoKATP-kanali faoliyati asosiy biologik parametrlar sifatida baholandi.

Tadqiqotning dolzarbligi shundaki, polifenol birikmalarning mitoxondriya ion-transport tizimlariga ta'sir mexanizmlarini chuqur o'rganish mitoxondrial disfunksiya bilan bog'liq kasalliklarning oldini olish va davolashda yangi istiqbolli biologik faol moddalarning yaratilishiga ilmiy asos bo'lib xizmat qiladi.

Manbalar taxlili. Mitoxondriya hujayraning energetik, metabolik va signal funksiyalarini ta'minlovchi markaziy organoid hisoblanadi. Ularning asosiy vazifasi ATF sintezini amalga oshirish bo'lsa-da, so'nggi tadqiqotlar mitoxondriyalar hujayra proliferatsiyasi, differensiasiyasi, yallig'lanish va apoptoz jarayonlarini tartibga soluvchi ko'p funksiyali tizim ekanligini ko'rsatmoqda [1,2]. Ayniqsa, mitoxondriyalar hujayra ichidagi energiya almashinuvi va redoks muvozanatni boshqaruvchi asosiy platforma sifatida qaraladi [3].

Mitoxondriyaning asosiy funksiyalaridan biri oksidlovchi fosforillanish orqali ATF sintezini ta'minlashdir. Bu jarayonda NADH va $FADH_2$ dan elektronlar elektron transport zanjiri orqali kislorodga uzatiladi va natijada proton gradient hosil bo'ladi [4,5]. Ushbu gradient ATF-sintaza orqali energiyaga aylantiriladi va hujayraning barcha energiyaga bog'liq jarayonlarini qo'llab-quvvatlaydi [6]. Shu sababli mitoxondriya funksiyasining buzilishi energiya tanqisligiga olib kelib, turli patologik holatlarning rivojlanishiga sabab bo'ladi [7].

Mitoxondriyalar metabolik markaz sifatida Krebs sikli, yog' kislotalari β-oksidlanishi va aminokislotalar almashinuvida faol ishtirok etadi [8]. Bu jarayonlar orqali hosil bo'lgan oraliq metabolitlar hujayraning biosintetik ehtiyojlarini qondiradi va metabolik moslashuvni ta'minlaydi [9]. Ayniqsa, jigar, mushak va miya hujayralarida mitoxondriyaning metabolik roli juda muhim bo'lib, bu organlarning funksional faoliyati bevosita mitoxondriya holatiga bog'liq [10].

Mitoxondriyalar reaktiv kislorod turlari (ROS) ishlab chiqarishning asosiy manbalaridan biri hisoblanadi. Elektron transport zanjirida elektronlarning "sizib chiqishi" natijasida superoksid va boshqa ROS hosil bo'ladi [11]. Past darajada ROS hujayra signalizatsiyasida ishtirok etsa, yuqori darajada oksidlovchi stressni keltirib chiqaradi [12]. ROSning ortiqcha ishlab chiqarilishi lipid peroksidlanishi, oqsillar va DNK shikastlanishiga olib keladi [13]. Shu sababli mitoxondriyalar redoks homeostazni saqlashda muhim rol o'ynaydi [14].

Mitoxondriyalar hujayra ichidagi signalizatsiya jarayonlarida ham muhim ishtirok etadi. Ular metabolik signallarni shakllantirib, hujayraning tashqi va ichki muhitga moslashuvini ta'minlaydi [15]. Bundan tashqari, mitoxondriyalar immun javoblarni boshqarishda ham ishtirok etib, yallig'lanish jarayonlarini modulyatsiya qiladi [16]. Mitoxondriya orqali signal uzatish jarayonlari hujayraning hayotiyligi va moslashuvchanligini ta'minlovchi muhim mexanizmlardan biridir.

Mitoxondriyalar Ca^{2+} ionlari homeostazini boshqarishda ham muhim rol o'ynaydi. Ular sitozoldagi Ca^{2+} darajasini tartibga solib, metabolik fermentlar faolligini nazorat qiladi [17]. Mitoxondriyada Ca^{2+} ning ortiqcha to'planishi esa mitoxondriyal disfunktsiyaga olib kelishi mumkin [18]. Shu sababli Ca^{2+} regulyatsiyasi mitoxondriya va hujayra funksiyasining muhim ko'rsatkichlaridan biri hisoblanadi.

Mitoxondriyalar hujayra o'limi jarayonlarida, ayniqsa apoptozda markaziy rol o'ynaydi. Sitoxrom C ning mitoxondriyadan sitozolga chiqishi kaspaza kaskadini faollashtirib, hujayra o'limiga olib keladi [19]. Bundan tashqari, mitoxondriyal o'tkazuvchanlik o'tish teshigi (mPTP) ochilishi membrana potensialining yo'qolishiga va hujayra o'limiga sabab bo'ladi [20]. mPTP ning ochilishi ko'pincha Ca^{2+} ortishi va oksidlovchi stress bilan bog'liq [21].

Materiallar va metodlar

Tadqiqotlar in vitro sharoitda bajarildi. Tajribalarda vazni 180–200 g bo'lgan zotsiz oq erkak kalamushlar jigari mitoxondriyalari tadqiqot obyekti sifatida foydalanildi. O'rganilayotgan moddalar sifatida O'zR FA Bioorganik kimyo instituti tomonidan taqdim etilgan, Glycyrrhiza glabra L. (shirinmiya) ildizidan ajratib olingan glitserret amidlari — 3 (MM=470), 3.1 (MM=512), 3.25 (MM=587) va 3.7 (MM=632) qo'llanildi. Moddalarni eritish uchun dimetilsulfoksid (DMSO) ishlatildi. Nazorat tajribalarida DMSO ning qo'llanilgan konsentratsiyalarda mitoxondriya funksional holatiga sezilarli ta'sir ko'rsatmasligi aniqlandi.

Mitoxondriyalarni ajratib olish: Kalamush jigari mitoxondriyalari Schneider usuli bo'yicha differensial sentrifugalash yordamida ajratib olindi. Ajratish muhiti 250 mM saxaroza, 10 mM Tris-HCl va 1 mM EDTA (pH 7,4) dan iborat bo'ldi. Jigar to'qimasi sovuq muhitda gomogenizatsiya qilinib, dastlab 1500 ayl/min (600 g) da 7–8 min sentrifugalandi. Olingan supernatant keyinchalik 6000 ayl/min (6000 g) da 15 min davomida sentrifugalandi. Hosil bo'lgan mitoxondrial fraksiya EDTA saqlamagan muhitda yuvilib, tajribalargacha 0–4°C da saqlandi.

Mitoxondriyalarda Ca^{2+}-ga bog'liq PTP o'tkazuvchanligini aniqlash

Mitoxondriya membranasining Ca^{2+}-ga bog'liq permeabilitet o'tish porasi (PTP) holati mitoxondriyalarning bo'kish kinetikasi asosida baholandi. Optik zichlikdagi o'zgarishlar 540 nm to'lqin uzunligida, oqsil miqdori 0,3–0,4 mg/ml bo'lgan muhitda va 26°C haroratda qayd qilindi.

Inkubatsiya muhiti tarkibi: 200 mM saxaroza, 20 µM EGTA, 5 mM suktsinat, 2 µM rotenon, 1 µg/ml oligomitsin, 20 mM Tris-HCl, 20 mM HEPES va 1 mM KH_2PO_4 (pH 7,4). Mitoxondriya bo'kish darajasi PTP ochilishining ko'rsatkichi sifatida qabul qilindi.

Mitoxondriyalardagi mitoKATF-kanali faolligini aniqlash:

Mitoxondriyalardagi ATP-ga bog'liq kaliy kanali (mitoKATF) faolligi mitoxondriyalarning bo'kish kinetikasi orqali baholandi. Optik zichlikning o'zgarishi 540 nm da qayd qilindi. Inkubatsiya muhiti tarkibi: 125 mM KCl, 10 mM HEPES, 5 mM suktsinat, 1 mM $MgCl_2$, 2,5 mM K_2HPO_4, 2,5 mM KH_2PO_4, 0,005 mM rotenon va 0,001 mM oligomitsin (pH 7,4). MitoKATF-kanali faolligi optik zichlik o'zgarishi asosida baholandi.

Mitoxondriya membranasining passiv ion o'tkazuvchanligini aniqlash

Mitoxondriya ichki membranasining passiv ion o'tkazuvchanligi Brierley usuli asosida o'rganildi. K^+ va Na^+ ionlari uchun mos ravishda 0,13 M KNO_3 va 0,13 M $NaNO_3$ saqlovchi izoosmotik muhitlardan foydalanildi. Barcha eritmalarda 10 mM Tris buferi (pH 7,4) qo'llanildi. Mitoxondriyalarning bo'kish tezligi 540 nm da LMF-69 fotometri yordamida qayd etildi. Muhitdagi oqsil miqdori 0,3–0,4 mg/ml ni tashkil etdi.

Oqsil miqdorini aniqlash:

Mitoxondriyalardagi oqsil miqdori biuret usuli yordamida aniqlandi. Standart sifatida qoramol zardobi albumini (BSA) qo‘llanildi. Optik zichlik 540 nm da o‘lchanib, oqsil konsentratsiyasi kalibrovka egri chizig‘i asosida hisoblandi.

Statistik tahlil natijasida olingan natijalar OriginPro 7.5 dasturida statistik qayta ishlandi va o‘rtacha arifmetik qiymat (M±m) ko‘rinishida ifodalandi. Tajribalar kamida 4–7 marta takrorlandi. Guruhlar o‘rtasidagi statistik farq Studentning t-mezoniga ko‘ra baholanib, $P < 0,05$ qiymati statistik ishonchli deb qabul qilindi.

Natijalar va muhokama In vitro sharoitda trigalloilglyukoza (TriGG), tetragalloilglyukoza (TetraGG) va geksagalloilglyukozaning (HexaGG) kalamush jigari mitoxondriyalarining funksional holatiga ta’siri baholandi. Tadqiqotlar Ca^{2+}-ga bog‘liq mitoxondrial o‘tkazuvchanlik teshigi (mPTP), mitoKATP-kanali faolligi hamda ichki membrananing passiv ion o‘tkazuvchanligi darajasida olib borildi.

Ca^{2+} ionlari (10 µM $CaCl_2$) ta’sirida kalamush jigari mitoxondriyalarida mPTP ochilishi kuzatildi va bu holat nazorat sifatida qabul qilindi. Musbat nazorat sifatida qo‘llangan 1 µM siklosporin A (CsA) mPTP ochilishini 97–98% ga ingibirlagani ushbu modelning ishonchliligini tasdiqladi.

Galloylglyukozalarning mPTP ga ta’siri konsentratsiyaga bog‘liq ravishda namoyon bo‘ldi. TriGG 10, 20, 30, 40 va 50 µM konsentratsiyalarda mPTP ochilishini mos ravishda 9,49±2,25%, 31,82±3,38%, 46,89±2,06%, 58,36±1,18% va 74,20±0,89% ga ingibirladi. TriGG ning IC_{50} qiymati 32,66±0,53 µM ni tashkil etdi. TetraGG yuqoriroq biologik faollik ko‘rsatib, mPTP ochilishini mos ravishda 10,90±2,80%, 39,65±3,57%, 72,69±1,34%, 86,08±1,66% va 92,65±0,87% ga kamaytirdi, uning IC_{50} qiymati esa 23,95±1,15 µM ni tashkil etdi. HexaGG eng yuqori ingibirlovchi samarani namoyon qilib, 5–25 µM konsentratsiyalarda mPTP ochilishini 21,79±4,23% dan 89,95±2,97% gacha pasaytirdi va IC_{50} qiymati 9,77±0,53 µM bo‘ldi.

Natijalar galloyl guruhlari soni ortishi bilan mPTP ga nisbatan ingibirlovchi ta’sir kuchayishini ko‘rsatdi: HexaGG > TetraGG > TriGG. Bu galloyl guruhlarining antioksidant xossasi kuchayishi va mitoxondrial membrananing funksional barqarorlashuvi bilan izohlanadi.

MitoKATP-kanali faolligini o‘rganishda TriGG ning gumbazsimon (ikki fazali) ta’siri aniqlandi. TriGG 10 µM da kanal faolligini qisman oshirgan bo‘lsa, 20 µM da ATP ta’sirida yuzaga kelgan ingibitsiyani to‘liq kompensatsiya qildi. Maksimal faollashuv 30 µM konsentratsiyada kuzatilib, mitoKATP-kanali faolligi ATP bilan ingibirlangan holatga nisbatan 2,5 baravar oshdi. Biroq 40–50 µM konsentratsiyalarda kanal faolligi pasayishi qayd etildi, bu esa yuqori konsentratsiyalarda moddaning qisman ingibirlovchi xususiyatga ega ekanligini ko‘rsatdi.

TetraGG esa mitoKATP-kanalga dozaga bog‘liq izchil faollashtiruvchi ta’sir ko‘rsatdi. 10, 20, 30, 40 va 50 µM konsentratsiyalarda kanal faolligi ATP bilan ingibirlangan nazoratga nisbatan mos ravishda 5,1%, 24,7%, 45,2%, 58,4% va 75,1% ga ortdi. Ushbu natijalar TetraGG ning mitoKATP-kanal modulyatori sifatida TriGG ga nisbatan samaraliroq ekanligini ko‘rsatdi.

Mitoxondriya ichki membranasining passiv ion o‘tkazuvchanligini baholashda KNO_3 izoosmotik muhitida TriGG ta’sirida K^+ ionlari uchun o‘tkazuvchanlik konsentratsiyaga bog‘liq ravishda 45,6–132,5% gacha oshdi. TetraGG da esa bu ko‘rsatkich 17,6–99,3% oralig‘ida kuzatildi.

$NaNO_3$ muhitida Na^+ ionlariga nisbatan o‘tkazuvchanlik K^+ ionlariga qaraganda sezilarli yuqori bo‘ldi. TriGG 10–50 µM konsentratsiyalarda Na^+ o‘tkazuvchanligini 33,0–190,4% gacha oshirdi. TetraGG esa kuchliroq ta’sir ko‘rsatib, ushbu ko‘rsatkichni 59,8–275,2% gacha oshirdi.

Shunday qilib, galloylglyukozalar mitoxondriyalarning funksional holatini modulyatsiya qiluvchi biologik faol birikmalar ekanligi aniqlandi. Xususan, TetraGG va HexaGG Ca^{2+}-ga bog‘liq mPTP ochilishini samarali ingibirlashi, mitoKATP-kanalini faollashtirishi va ion o‘tkazuvchanligini boshqarishi bilan yuqori mitoprotektiv potensial namoyon etdi. Olingan natijalar ushbu polifenollarning mitoxondrial disfunksiya bilan bog‘liq patologik holatlarda tabiiy biofaol modda sifatida istiqbolli ekanligini ko‘rsatadi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Cell Biology Nunnari J., Suomalainen A. Mitochondria: in sickness and in health. Cell. 2012;148(6):1145–1159.
2.Cell Metabolism Spinelli J.B., Haigis M.C. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism. Nature Cell Biology. 2018;20(7):745–754.
3.Mitochondrial Genetics Wallace D.C. Mitochondria and organ-specific disease. Cell. 2010;157:287–298.
4.Chemiosmotic Theory Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi-osmotic type of mechanism. Nature. 1961;191:144–148.
5.Bioenergetics Nicholls D.G., Ferguson S.J. Bioenergetics 4. Academic Press. 2013.
6.Mitochondrial Physiology Brand M.D., Nicholls D.G. Assessing mitochondrial dysfunction in cells. Biochemical Journal. 2006;435:297–312.
7.Cell Pathology Wen H., et al. Mitochondrial dysfunction and disease. Journal of Cellular Physiology. 2019.
8.Cell Metabolism McBride H.M., Neuspiel M., Wasiak S. Mitochondria: more than just a powerhouse. Current Biology. 2006;16:R551–R560.
9.Molecular Biology Scarpulla R.C. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis. Physiological Reviews. 2008;88:611–638.
10.Metabolism Morio B., et al. Mitochondrial function and aging. Experimental Gerontology. 2019.
11.Reactive Oxygen Species Murphy M.P. How mitochondria produce reactive oxygen species. Biochemical Journal. 2009;417:1–13.
12.Oxidative Stress Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. Redox Biology. 2017;11:613–619.
13.Free Radical Theory Valko M., et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2007;39:44–84.
14.Neurobiology Angelova P.R., Abramov A.Y. Role of mitochondrial ROS in the brain. Free Radical Biology and Medicine. 2018.
15.Innate Immunity West A.P., Shadel G.S., Ghosh S. Mitochondria in innate immune responses. Nature Reviews Immunology. 2015;11:389–402.
16.Immunology D'Angelo D., et al. Mitochondria and inflammatory signaling. Cell Communication and Signaling. 2020.
17.Calcium Homeostasis Raffaello A., De Stefani D., Rizzuto R. The mitochondrial Ca^{2+} uniporter. Cell Calcium. 2016;60:86–93
18.Calcium Signaling Qiu J., et al. Mitochondrial calcium handling in cell physiology. Cell Calcium. 2013.
19.Apoptosis Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis. Science. 1998;281:1309–1312.
20.Mitochondrial Permeability Transition Pore Bernardi P., et al. The mitochondrial permeability transition pore: molecular nature and role as a target in cardioprotection. Physiological Reviews. 2015;95:1113–1155.
21.Mitochondrial Permeability Transition Halestrap A.P. What is the mitochondrial permeability transition pore? Journal of Molecular and Cellular Cardiology. 2009;46:821–831.