

ГИПООСМОТИК СТРЕСС ШАРОИТИДА ТИМОЦИТ ХУЖАЙРАЛАРИДАН ГЛУТАТИОН ЧИҚИШИГА ХУЖАЙРА ИЧКИ цАМФ НИНГ ТАЪСИРИ

Меланова Н.Р.¹, Курбанназарова Р.Ш.^{1,2}, Мерзляк П.Г.¹,
Ташмухамедов Б.А.^{1,2}, Сабиров Р.З.^{1,2}

E-mail: Melanova@mail.ru

Тирик хужайра цитоплазмасидаги метаболитлар сони кўп, лекин уларнинг бирламчи мессенжер сигнал молекулалар сифатидаги роли ҳозирги пайтгача яхши ўрганилмаган. Булардан бири – глутатион молекуласи ҳисобланади. Глутатион (GSH) – трипептид (гамма-глутамилцистеилглицин) тузилишига эга бўлиб, барча тирик хужайраларда учрайдиган эркин тиол ва куйи молекуляр антиоксидант ҳисобланади. У бир қанча биологик жараёнларда иштирок этиб, ксенобиотикларни қайтарилишини таъминлайди, гидропероксидазани бартараф этади ва цитозол оксилларидаги сульфигидрил группаларнинг қайтарилган ҳолатини сақлаб туришда иштирок этади [1]. Глутатионнинг оксидланиши глутатион дисулфид ҳосил бўлишига олиб келади (GSSG). Глутатион хужайра цитоплазмасида асосан қайтарилган шаклда (умумий миқдорига нисбатан 90-95%) учрайди. Хужайра ички глутатиони концентрацияси кўплаб хужайра турларида 1-2 мМ ни ташкил этади. Жигар хужайрасида нисбатан кўпроқ глутатион мавжуд (10 мМ атрофида) бўлади, бу эса ксенобиотикларнинг детоксикациясида молекулаларнинг кўп сарфланиши туфайли бўлиб, ксенобиотиклар глутатион конъюгатлари шаклида хужайралардан махсус АТФазалар ёрдамида чиқарилади [1,2]. Оз миқдордаги глутатион хужайралараро муҳитда ҳам учраши мумкин. Интерстициал суяқликда глутатион концентрацияси бир неча мкМ ни ташкил этади, плазмада эса бу миқдор одатда икки марта кўп бўлади. Айни пайтда ўпка эпителийсини қопловчи юпка суяқлик қатламида

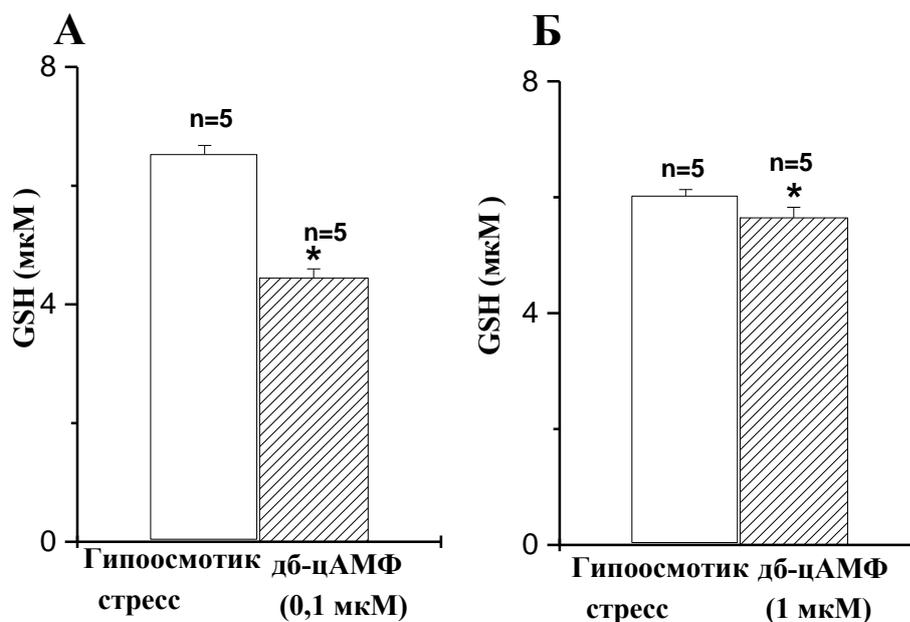
глутатион концентрацияси тахминан 400 мкМ бўлиб, бу оддий интерстициумга нисбатан икки мартаба кўп ҳисобланади. Бунга ўпка эпителийси юза қаватида интенсив газ алмашинуви рўй бериши сабаб бўлиб, натижада кучли оксидловчи стресс содир бўлади. Шу сабабли альвеолаларнинг эпителиал хужайралари глутатионни хужайра ташқи муҳитига секреция қилади ва бу орқали ўзини эркин радикалли оксидланишдан ҳимоя қилади [3].

Лимфопозитик бошланғич хужайралар суяк кўмигида пайдо бўлиб, қон оқими билан бирга тимусга боради. Бу ерда улар пролиферацияга учраб, позитив ва негатив селекцияда сараланади. Уларнинг кўп қисми апоптоз натижасида нобуд бўлади ва фақатгина етилган, Т-рецепторга эга бўлган ва ўз антигенлари билан таъсирланмаганларигина етилган Т-лимфоцитлар сифатида қон оқимида чиқарилади [3]. Хужайра ташқи муҳитидаги глутатионининг роли ва лимфоид хужайраларидан чиқиш йўллари ва глутатион чивишига таъсир этувчи омиллар ҳақида аввалги мақолларимизда маълумотлар бериб ўтганмиз.[4,5,6,7]

Биз тажрибаларимизда таркиби (мМ): 135 NaCl, 5 KCl, 10 HEPES, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 5 глюкоза, рН 7,4 (290±2 мОсм/кг Н₂О) бўлган нормал Рингер эритмасидан ва таркиби (мМ): 5 KCl, 10 HEPES, 2 CaCl₂, 1 MgCl₂, 5 глюкоза, рН 7,4 (40±2 мОсм/кг Н₂О) бўлган Н-буфер эритмасидан фойдаландик ва гипотоник эритмаларни шу икки эритмаларни турли хил миқдорда аралаштириб тайёрланди. Зотсиз оғирлиги 100-150 г, виварийда оддий шароитда боқилган, 6-8 ҳафталик оқ каламушлар тимусидан тимоцит хужайралари стандарт метод орқали ажратиб олинди. Хужайралардан глутатион моддасининг чиқиши миқдорий колориметрик методида аниқланди. Реакциянинг охириги маҳсулоти сариқ ранг (TNB) спектрофотометрнинг 425 нмли тўлқин узунлигидаги ёруғликни ютилиши орқали ўлчанди [8].

Циклик аденазинмонофосфат организмда хужайра мембранаси орқали ўта олмайдиган айрим гормонлар сигналларини хужайра ичкарасида

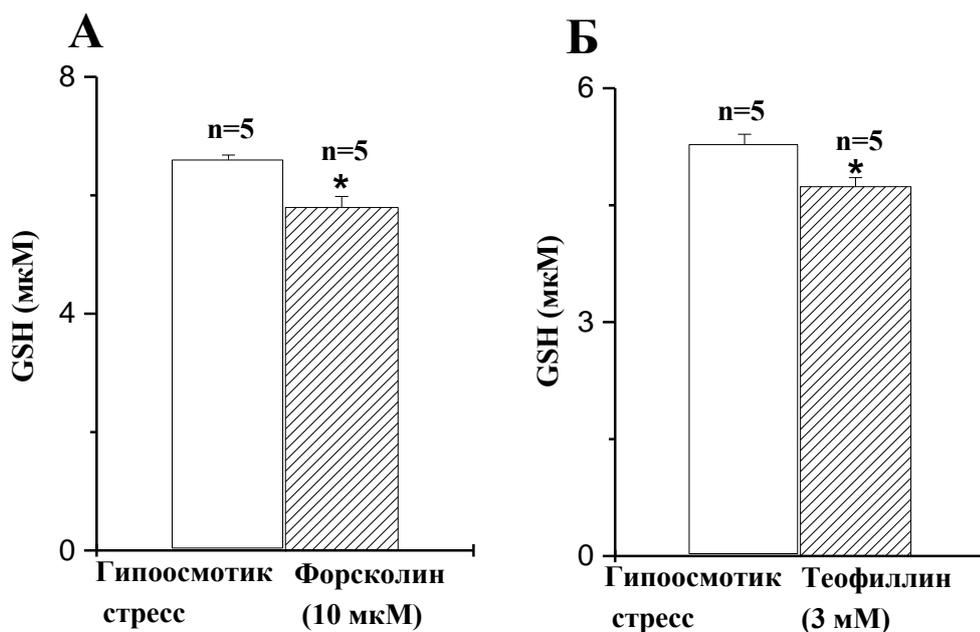
узатилишида иштирок этувчи иккиламчи воситачи ролини бажаради. цАМФ айрим гормонал стимулларга жавоб равишида аденилатциклаза ферменти ёрдамида синтезланиб, хужайра ички протеинкиназалар симуляцияси орқали иккиламчи воситачи сифатида таъсир этади. цАМФ парчаланиши фосфодиэстераза ферменти ёрдамида амалга оширилади. Биз тадқиқотларимизда гипоосмотик стресс шароитида глутатион чиқишида аденилатциклаза сигнал каскадини ролини ўргандик. 100 млн/мл хужайрадан 20 минут давомида назоратда $6,53 \pm 0,15$ мкМ глутатион ажралди, худди шу жараёнга 0,1 мкМ дб-цАМФ (цАМФнинг мембранадан ўтувчи хосиласи) эритмасини таъсирини кузатганимизда $4,45 \pm 0,15$ мкМ глутатион чиқди (1А-расм). Тажрибамизнинг кейинги босқичида биз дб-цАМФнинг концентрациясини 1 мкМга етказдик, бунда назоратда $6,026 \pm 0,15$ мкМ ва модда таъсирида $5,65 \pm 0,17$ мкМ глутатион ажралди (1Б-расм). Демак, дб-цАМФ тимоцитлардан глутатион чиқишини сезиларли даражада пасайтиради



Хужайра сони 100 млн/мл. Ордината ўқида – хужайрадан глутатион чиқиши мкМ ҳисобида кўрсатилган, абсцисса ўқида- тажриба гуруҳлари ифодаланган. Барча ҳолатларда моддасиз назоратга нисбатан $P < 0,05$ ($n=5$).

1-расм. Гипоосмотик стресс шароитида тимоцит хужайраларидан глутатион чиқишига дб-цАМФнинг 0,1 мкМ (А) ва 1мкМ (Б) эритмаларининг таъсири.

Хужайра ички цАМФ миқдорини аденилатциклаза активатори бўлган форсколин ва фосфодиэстераза ингибитори теофиллин моддалари ёрдамида ҳам кўпайтириш мумкин. Бизнинг тажрибаларамизда, 100 млн/мл хужайрадан 20 минут давомида назоратда $6,60 \pm 0,08$ мкМ, форсколиннинг 10 мкМли эритмаси таъсир этирилганда эса $5,8 \pm 0,2$ мкМ глутатион ажралди (2А-расм). Шу жараёнга теофиллиннинг 3 мМли эритмаси таъсирида $4,74 \pm 0,11$ мкМ глутатион чиқса, назоратда $5,28 \pm 0,13$ мкМ глутатион ажралди (2Б-расм). Олинган натижалар гипоосмотик стресс шароитида глутатион ажралиш механизмида аденилатциклаза сигнал каскадининг роли борлигидан далолат беради. Ушбу хулоса глутатион чиқарилиш системаси ва гормонларга боғлиқ бўлган иккиламчи мессенджер цАМФ сигналлаш йўллари орасида узвий боғланиш мавжудлигига ишорадир.



Хужайра сони 100 млн/мл. Ордината ўқида – хужайрадан глутатион чиқиши мкМ ҳисобида кўрсатилган, абсцисса ўқида- тажриба гуруҳлари ифодаланган. Барча ҳолатларда моддасиз назоратга нисбатан $P < 0,05$ ($n=5$).

2-расм. Гипоосмотик стресс шароитида тимоцит хужайраларидан глутатион чиқишига аденилатциклаза активатори форсколин (А) ва фосфодиэстераза ингибитори теofilлин (Б) моддаларини таъсири.

ФОЙДАЛАНИЛГАН АДАБИЁТЛАР.

1. Forman H. J., Zhang H., Rinna A. Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis // *Mol. Aspects Med.* 2009. V. 30. P. 1-12.
2. Franco R., Cidlowski J.A. SLCO/OATP-like transport of glutathione in FasL-induced apoptosis: glutathione efflux is coupled to an organic anion exchange and is necessary for the progression of the execution phase of apoptosis // *J. Biol. Chem.* 2006. V. 281. P. 29542-29557.
3. Savino W., Dardenne M. Neuroendocrine control of thymus physiology // *Endocr. Rev.* 2000. V. 21. P. 412-443.
4. Sabirov R.Z., Kurbannazarova R.S., Melanova N.R. and Okada Y. Swelling-induced release of glutathione from rat thymocytes // *J. Physiol. Sci.* 2010, 60 (Suppl.): S13.
5. Меланова Н.Р., Курбанназарова Р.Ш, Мерзляк П.Г, Ташмухамедов Б.А, Окада Я., Сабилов Р.З. Выброс глутатиона из тимоцитов в норме и при гипоосмотическом стрессе // Доклады Академии наук Республики Узбекистан. – Ташкент, 2011. – № 2. – С. 63-66.
6. Меланова Н.Р., Курбанназарова Р.Ш, Мерзляк П.Г, Ташмухамедов Б.А, Окада Я., Сабилов Р.З. Фармакологический анализ механизма выброса глутатиона из тимоцитов при гипоосмотическом стрессе // *Узбекский биологический журнал.* –Ташкент, 2011. – № 4. – С. 11-14.
7. Sabirov R.Z., Kurbannazarova R.S., Melanova N.R. and Okada Y. Volume-Sensitive Anion Channels Mediate Osmosensitive Glutathione Release From Rat Thymocytes // *J.PLOCE ONE.* 2013 -V.8,-No1,-P. e55646.

8. Eyer, P., Podhradsky, D. Evaluation of the micromethod for determination of glutathione using enzymatic cycling and Ellman's reagent // *Anal. Biochem.* 1986. Vol.153. P. 57-66.

**ГИПООСМОТИК СТРЕСС ШАРОИТИДА ТИМОЦИТ
ҲУЖАЙРАЛАРИДАН ГЛУТАТИОН ЧИҚИШИГА ҲУЖАЙРА
ИЧИДАГИ ЦАМФ НИНГ ТАЪСИРИ**

Меланова Н.Р., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г.,
Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З.

E-mail: Melanova@mail.ru

Олинган натижалар гипоосмотик стресс шароитида глутатион ажралиш механизмида аденилатциклаза сигнал каскадининг роли борлигидан далолат беради. Ушбу хулоса глутатион чиқарилиш системаси ва гормонларга боғлиқ бўлган иккиламчи мессенджер цАМФ сигналлаш йўллари орасида узвий боғланиш мавжудлигига ишорадир.

Калит сўзлар: Глутатион, тимоцит, гипоосмотик стресс, лимфоцит ҳужайраси, осмотиклик,

**ДЕЙСТВИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО цАМФ НА ВЫБРОС ГЛУТАТИОНА ИЗ
ТИМОЦИТОВ ПРИ ГИПООСМОТИЧЕСКОМ СТРЕССЕ.**

Меланова Н.Р., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г.,
Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З.

E-mail: Melanova@mail.ru

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что имеется тесная связь между аденилатциклазной системой (а значит и цАМФ-зависимыми гормональными системами) и выбросом глутатиона при гипоосмотическом стрессе.

Ключевые слова: Глутатион, тимоцит, гипоосмотический стресс, лимфоцитные клетки, осмотичность,

SUMMARY

EFFECT OF INTRACELLULAR cAMP ON THE RELEASE OF GLUTATHIONE FROM THYMOCYTES UNDER HYPOOSMOTIC STRESS.

Melanova N.R., Kurbannazarova R.S., Merzlyak P.G., Tashmukhamedov
B.A., Sabirov R.Z.

Our results suggest that there is a close link between the adenylate cyclase system (and therefore the cAMP-dependent hormonal signal transduction) and the release of glutathione under the hypo-osmotic stress

Key words: *Glutathion, thymocyt, hypoosmotic stress, lymphocyte cells, osmolality,*

Меланова Н.Р, Курбанназарова Р.Ш, Мерзляк П.Г,
Ташмухамедов Б.А, Сабилов Р.З нинг “Типоосмотик стресс шароитида
тимоцит хужайраларидан глутатион чиқишига хужайра ичидаги ц амф нинг
таъсири” мавзусидаги мақоласига

ТАҚРИЗ

Тирик хужайра цитоплазмасидаги метаболитлар сони кўп, лекин уларнинг бирламчи мессенжер сигнал молекулалар сифатидаги роли ҳозирги пайтгача яхши ўрганилмаган. Булардан бири – глутатион молекуласи ҳисобланади. Глутатион (GSH) – трипептид (гамма-глутамилцистеилглицин) тузилишига эга бўлиб, барча тирик хужайраларда учрайдиган эркин тиол ва куйи молекуляр антиоксидант ҳисобланади. У бир қанча биологик жараёнларда иштирок этиб, ксенобиотикларни қайтарилишини таъминлайди, гидропероксидазани бартараф этади ва цитозол оксилларидаги сульфигидрил группаларнинг қайтарилган ҳолатини сақлаб туришда иштирок этади .

Циклик аденазинмонофосфат организмда хужайра мембранаси орқали ўта олмайдиган айрим гормонлар сигналларини хужайра ичкарасида узатилишида иштирок этувчи иккиламчи воситачи ролини бажаради. цАМФ айрим гормонал стимулларга жавоб равишида аденилатциклаза ферменти ёрдамида синтезланиб, хужайра ички протеинкиназалар симуляцияси орқали иккиламчи воситачи сифатида таъсир этади. цАМФ парчаланиши фосфодиэстераза ферменти ёрдамида амалга оширилади. Тажрибаларда типоосмотик стресс шароитида глутатион чиқишида аденилатциклаза сигнал каскадини ролини ўрганилган . 100 млн/мл хужайрадан 20 минут давомида назоратда $6,53 \pm 0,15$ мкМ глутатион ажралди, худди шу жараёнга 0,1 мкМ дб-цАМФ эритмасини таъсирини кузатганда $4,45 \pm 0,15$ мкМ глутатион ажралган. Тажрибаларнинг кейинги қисмида хужайра ички цАМФ миқдорини аденилатциклаза активатори бўлган форсколин ва фосфодиэстераза ингибитори теofilлин моддалари ёрдамида ўрганилган. Натижада 100 млн/мл хужайрадан 20 минут давомида назоратда $6,60 \pm 0,08$ мкМ, форсколиннинг 10 мкМли эритмаси таъсир этирилганда эса $5,8 \pm 0,2$ мкМ глутатион ажралган. Шу жараёнга теofilлиннинг 3 мМли эритмаси таъсирида $4,74 \pm 0,11$ мкМ глутатион чиқса, назоратда $5,28 \pm 0,13$ мкМ глутатион ажралган. Муаллифнинг мақоласида олинган натижалар типоосмотик стресс шароитида глутатион ажралиш механизмида аденилатциклаза сигнал каскадининг роли борлигидан далолат беради ва кейинги илмий ишлар учун асос бўла олади, дейиш мумкин.

