

**O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI BIOFIZIKA VA
BIOKIMYO INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/30.12.2019.B.01.13 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

BIOFIZIKA VA BIOKIMYO INSTITUTI

MUXTOROV ALISHER ABDUGAFOR O‘G‘LI

**BIOLOGIK FAOL BIRIKMALARNING KALAMUSH BOSH MIYASI
SINAPTOSOMA $[Ca^{2+}]_{in}$ DINAMIKASINING O‘ZGARISHIGA TA’SIRINI
O‘RGANISH**

03.00.08 – Odam va hayvonlar fiziologiyasi

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD) DISSERTATSIYASI
AVTOREFERATI**

Toshkent – 2024

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi
Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)
Contents of dissertation abstracts of doctor of philosophy (PhD)

Muxtorov Alisher Abdugafor o'g'li

Biologik faol birikmalarning kalamush bosh miyasi sinaptosoma $[Ca^{2+}]_{in}$ dinamikasining o'zgarishiga ta'sirini o'rganish.....3

Мухторов Алишер Абдугафор угли

Изучение влияния биологически активных соединений на изменение динамики $[Ca^{2+}]_{in}$ в синапсосомах головного мозга крыс.....21

Mukhtorov Alisher Abdugafor o'g'li

Study of the influence of biologically active compounds on the change in $[Ca^{2+}]_{in}$ dynamics in synaptosomes of the rat brain.....39

E'lon qilingan ishlar ro'yxati

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**O‘ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI BIOFIZIKA VA
BIOKIMYO INSTITUTI HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc.03/30.12.2019.B.01.13 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

BIOFIZIKA VA BIOKIMYO INSTITUTI

MUXTOROV ALISHER ABDUGAFOR O‘G‘LI

**BIOLOGIK FAOL BIRIKMALARNING KALAMUSH BOSH MIYASI
SINAPTOSOMA $[Ca^{2+}]_{in}$ DINAMIKASINING O‘ZGARISHIGA TA‘SIRINI
O‘RGANISH**

03.00.08 – Odam va hayvonlar fiziologiyasi

**BIOLOGIYA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD) DISSERTATSIYASI
AVTOREFERATI**

Toshkent – 2024

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2021.1.PhD/B555. raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya ishi O'zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo institutida hamda Namangan davlat universitetida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus va ingliz (rezyume)) Ilmiy kengashning veb-sahifasida (www.ibb-nuu.uz) va «ZiyoNet» Axborot-ta'lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Xoshimov Nozimjon Numonjonovich
biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori

Rasmiy opponentlar:

Shaxmurova Gulnara Abdullayevna
biologiya fanlari doktori, professor

Gayibov Ulugbek Gapparjanovich
biologiya fanlari bo'yicha falsafa doktori

Yetakchi tashkilot:

Andijon davlat universiteti

Dissertatsiya himoyasi O'zbekiston Milliy universiteti Biofizika va biokimyo instituti huzuridagi Ilmiy darajalar beruvchi DSc.03/30.12.2019.B.01.13 raqamli ilmiy kengashning 2024 yil «___» _____soat _____dagi majlisida bo'lib o'tadi (Manzil: 100174, Toshkent shahri, Olmazor tumani, Talabalar shaharchasi, Universitet ko'chasi, 174-uy. Tel.: 99871 246-68-96).

Dissertatsiya bilan O'zbekiston Milliy universiteti Biofizika va biokimyo instituti Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (№___raqami bilan ro'yxatga olingan). Manzil: 100174, Toshkent shahri, Olmazor tumani, Talabalar shaharchasi, Universitet ko'chasi, 174-uy. Tel.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

Dissertatsiya avtoreferati 2024 yil «___» _____kuni tarqatildi.
(2024 yil «___» _____dagi №_____ raqamli reyestr bayonnomasi).



Sabirov Ravshan Zairovich
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash raisi,
b.f.d., akademik

Pozilov Ma'murjon Komiljonovich
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash
ilmiy kotibi b.f.d.

Kurbannazarova Ra'noxon Sharapovna
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy kengash
qoshidagi ilmiy seminar rais o'rinbosari, b.f.d., professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasining annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Dunyoda so‘nggi vaqtlarda neyrodegenerativ kasalliklar keng tarqalib bormoqda. Neyrodegenerativ kasalliklar – turlicha kechadigan kasalliklar guruhi bo‘lib, bunday kasalliklarda bosh miya nerv hujayralarining nobud bo‘lishi aqliy va ish qobiliyatlarining yo‘qotilishiga, keyinchalik esa demensiya va to‘liq degradatsiyaga olib keladi. Buning sabablari bosh miya hujayralarida nerv impulslarini o‘tkazish mexanizmlarining buzilishi, nerv hujayralarida yuzaga keladigan disfunktsiya va kalsiy ionlari almashinuvining buzilishi, stress va nosog‘lom turmush tarzi hisoblanadi. Shunga ko‘ra, ushbu omillarning oldini olish chora-tadbirlarini ishlab chiqish muhim ahamiyat kasb etadi.

Hozirgi vaqtda butun jahon bo‘ylab olib borilayotgan ilmiy tadqiqotlarda aniqlanishicha, neyrodegenerativ kasalliklar ion transport tizimlari va miyaning simpatik hamda parasimpatik nerv tizimi hujayralarining funksional faolligini ifodalovchi konsentratsiyalar majmuasining disfunktsiyasidan kelib chiqadi. Ca^{2+} transporti nerv hujayralarida signal uzatilishi va qo‘zg‘alish/tormozlanish jarayonlarini boshqarilishining markaziy komponenti bo‘lib, bosh miya nerv hujayralari $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ gomeostazi disfunktsiyasi og‘ir patologik holatlarga olib kelishi haqida ma‘lumotlar berilgan. Shu nuqtayi nazardan, patologik sharoitlarda biologik faol moddalar yordamida bosh miya nerv hujayralarida Ca^{2+} transportining farmakologik korreksiyalash mexanizmlarini tahlil qilishga katta e‘tibor qaratilmoqda.

Respublikamizda nerv tizimi kasalliklariga tashxis qo‘yish va davolash muassasalarining moddiy-texnik bazasini yaxshilash, farmatsevtika vositalari bilan ta‘minlash borasida salmoqli islohotlar amalga oshirilmoqda. Bu borada amalga oshirilayotgan dasturiy chora-tadbirlar asosida muayyan natijalarga erishildi, jumladan, nevrologik kasalliklarni davolash va profilaktikasi uchun samarali neyroprotektor dori vositalarini yaratish borasida ham ma‘lum yutuqlarga erishildi. O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasida «Farmatsevtika tarmog‘ini yanada rivojlantirish, aholi va tibbiyot muassasalarini arzon, sifatli dori vositalari bilan ta‘minlash» vazifasi belgilab berilgan. Ushbu vazifalardan kelib chiqqan holda, jumladan, mahalliy xom ashyolar asosida jahon bozorida raqobatlasha oladigan neyroprotektor dori vositalarini yaratish muhim ilmiy-amaliy ahamiyat kasb etadi.

O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son «O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida»¹gi Farmoni, O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020 yil 29 oktabrdagi PF-6097-son «Ilm-fanni 2030 yilgacha rivojlantirish konsepsiyasini tasdiqlash to‘g‘risida»²gi Farmoni, O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020

¹ O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2017 yil 7 fevraldagi PF-4947-son «O‘zbekiston Respublikasini yanada rivojlantirish bo‘yicha Harakatlar strategiyasi to‘g‘risida»gi Farmoni.

² O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020 yil 29 oktabrdagi PF-6097-son «Ilm-fanni 2030-yilgacha rivojlantirish konsepsiyasini tasdiqlash to‘g‘risida»gi Farmoni.

yil 12 avgustdagi PQ-4805-son «Kimyo va biologiya yo‘nalishlarida uzluksiz ta’lim sifatini va ilm-fan natijadorligini oshirish chora-tadbirlari to‘g‘risida»gi Qarori hamda mazkur faoliyatga tegishli bo‘lgan boshqa me‘yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishda ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo‘nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining VI. «Tibbiyot va farmakologiya» ustuvor yo‘nalishlariga muvofiq bajarilgan.

Muammoning o‘rganilganlik darajasi. Hozirgi vaqtda dunyoda nerv hujayralarining funksional faolligida $[Ca^{2+}]_i$ dinamikasidagi roli va uni boshqarish mexanizmlarini o‘rganish bo‘yicha ko‘plab tadqiqotlar olib borilgan.

Yevropada Bernardo H.M. va uning hamkasblari (2023) neyrodegenerativ kasalliklarda bazal gangliyalardagi potensialga bog‘liq kalsiy kanallarining muhim rol o‘ynashini tahlil qilgan. Bundan tashqari, Nanclares C. va boshqalar (2021) Alsgeymer kasalligida astrotsit-neyronal aloqaning boshqarilishining buzilishini o‘rganishgan. Tan R.SG va boshqalar (2021) kalsiyni transepitelial transportining boshqarilishida kalsiy-sezuvchi retseptorlar orqali signallarning uzatilishi qanday rol o‘ynashini o‘rganganlar. Sukumaran P. va uning hamkasblari (2021) autofagiya hamda apoptozni boshqaruvchi kalsiy signal mexanizmlarini o‘rgangan va Ca^{2+} ionlarining nerv hujayralarida signal o‘tkazuvchanligi hamda transduksiya jarayonida markaziy messenjer sifatida muhim rolini aniqlagan. Lanxin Luo va boshqalar (2020) miya fiziologiyasi va kasalliklarida mikroglial funksiyada ion kanallari hamda tashuvchilarni o‘rgangan. Torquatto K.I. va uning hamkasblari (2019) xotirani mustahkamlash, tiklash va yangilashda kalsiy o‘tkazuvchan retseptorlarining roli haqidagi savollarga murojaat qilishgan. Foster T.C. va boshqalar (2017) qarish hamda Alsgeymer kasalligida sinaptik funksiyaning oksidlanish-tiklanishning buzilishida NMDA retseptorlarining markaziy rolini o‘rgangan.

MDH mamlakatlarida Aleksandr Yevgenievich Gaidukov (2023) «Участие пресинаптических входов ионов кальция в механизмах регуляции квантовой секреции нейротрансммиттера» mavzusida doktorlik dissertatsiyasini himoya qilgan. Kushnireva L.A. va Korkotyan E.A. (2018) Alsgeymer kasalligida astrositlardagi kalsiy signalizatsiyasining buzilishi muammolari bilan shug‘ullanganlar.

Respublikamizda prof. K.E.Nasirov (1985) va N.N.Xoshimovlar (2018) tomonidan kalamush miyasi sinaptosomalaridagi Ca^{2+} transportiga alkaloidlar, polifenollar va toksinlarning ta’sirini o‘rganish bo‘yicha ilmiy izlanishlar olib borishgan. G.G.Radjabova (2009) sinaptasomalardagi kalsiy gomeostaziga ba’zi biologik faol birikmalar va elektromagnit maydonlarning ta’sir qilish mexanizmini o‘rgangan. Biroq neyroprotektiv preparatlarga talabning yuqoriligi, shuningdek, o‘simliklardan ajratilgan biologik faol moddalarning asab tizimiga ta’siri hali yetarlicha o‘rganilmaganligi sababli, bu yo‘nalishdagi tadqiqotlar dolzarb bo‘lib, ilmiy va amaliy ahamiyatga egadir.

Tadqiqotning dissertatsiya bajarilayotgan ilmiy-tadqiqot muassasasining

ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya tadqiqoti O'zbekiston Milliy universiteti huzuridagi Biofizika va biokimyo institutining ilmiy-tadqiqot ishlari rejasining AL-27-4722022401 «Mahalliy o'simliklar *Rhus typhina*, *Pinus sylverstris* L., *Hippophae rhamnoides* L. xom ashyosi asosida neyroprotektor xususiyatiga ega yangi dori vositasini yaratish» mavzusidagi ilmiy-amaliy loyiha (2023-2026) doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi *Karelinia caspia* o'simligining yer ustki qismidan ajratib olingan Karalinia va *Punica granatum* L. anor po'stlog'idan ajratib olingan Punitan polifenollarining kalamush bosh miyasi sinaptosomasi membranasidagi Ca^{2+} -transport tizimlariga ta'sir mexanizmlarini aniqlash hamda Alsgeymer kasalligi modellashtirilgan kalamushlarning xulq-atvor reaksiyalarini baholashdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida kalsiyga bog'liq jarayonlarga polifenollarning ta'sirini aniqlash;

in vitro sharoitida NMDA-retseptorlarining agonistlari va antagonistlari fonida polifenollarning ta'sirini aniqlash;

in vivo sharoitida Alsgeymer kasalligi eksperimental modellashtirilgan kalamushlarda ularning xulq-atvorlarini baholash;

in vitro sharoitida Alsgeymer kasalligining eksperimental modelida polifenollarning kalsiy-transport tizimlariga ta'sirini aniqlash.

Tadqiqotning obyekti sifatida O'zR FA akad. O.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti oqsillar va peptidlar kimyosi laboratoriyasi xodimlari tomonidan taqdim etilgan *Karelinia caspia* o'simligining yer ustki qismidan ajratib olingan Karalinia hamda *Punica granatum* L. anor po'stidan ajratib olingan Punitan polifenollari, kalamush bosh miyasi sinaptosomasi olingan.

Tadqiqotning predmeti *in vitro* sharoitida intakt va Alsgeymer kasalligi modellashtirilgan kalamushlarning bosh miyasi sinaptosomalaridagi Ca^{2+} transport tizimiga polifenollarning ta'sirini tavsiflashdan iborat.

Tadqiqotning usullari. Dissertatsiyada zamonaviy fiziologiya va biofizikada keng qo'llaniladigan differensial sentrifugalash usullari, neyrodegenerativ kasalliklarni modellashtirish, fluorimetriya usuli va kalamushlar uchun xulq-atvor testlaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

birinchi marta Karalinia va Punitan polifenollarining kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida $[Ca^{2+}]_{in}$ dinamikasini o'zgartirishiga ta'sir mexanizmi aniqlangan;

Karalinia polifenoli (10-100 mkM) inkubatsiya qilinganida uning fluoressensiya intensivligi va Ca^{2+} ionlari uchun membrana o'tkazuvchanligini oshirishi hamda buning natijasida $[Ca^{2+}]_{in}$ ionlari konsentratsiyasining ortishi aniqlangan;

Punitan polifenoli NMDA-retseptorlarining Mg^{2+} -bog'lanuvchi saytining uchastkalari uchun raqobatlashish yo'li orqali kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida hujayra ichki kalsiy konsentratsiyasini o'zgartirishi aniqlangan;

eksperimental modellashtirilgan Alsgeymer kasalligida Karalinia polifenoli

glutamat bilan raqobatlashishi asosida nerv hujayralaridagi $[Ca^{2+}]_{in}$ dinamikasini boshqaruvchi ta'sir ko'rsatishi isbotlangan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

Karalinia va Punitan polifenollarining kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida Ca^{2+} transportiga ta'sirini tavsiflash natijasida olingan natijalar potensial neyroprotektor dorilarni ishlab chiqish uchun ilmiy asos bo'lib xizmat qiladi. Olingan natijalar neyrodegenerativ sharoitda biologik faol moddalarning neyroprotektor ta'sir qilish mexanizmlari haqidagi mavjud nazariy bilimlar doirasini kengaytiradi. Shuningdek, *in vitro* sharoitida kalamush bosh miyasi sinaptosomalari suspenziyasida Karalinia va Punitan polifenollarining fluoressensiya intensivligiga ta'siri bo'yicha olingan ma'lumotlar, NMDA-retseptorlari orqali o'rganilgan polifenollarning nerv hujayralarida $[Ca^{2+}]_{in}$ dinamikasini modulyatsiyalashiga asoslangan neyroprotektor ta'sirga ega bo'lgan farmakologik dori vositalarini ishlab chiqishga imkon beradi.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi ilmiy-tadqiqot ishlarida zamonaviy fiziologik usullar va asbob-uskunalar, dasturiy ta'minot, shuningdek, zamonaviy biofizik va biokimyoviy tadqiqot usullaridan foydalanish bilan tasdiqlanadi. Har bir tadqiqot tajribasi kamida 4-6 marta o'tkazildi. Olingan ma'lumotlarni qayta ishlash OriginPro 7.5 kompyuter dasturi (OriginLab Corporation, AQSh) va (Styudent kriteriyasi) yordamida o'rtacha qiymatning ishonchlilik interval qiymatlarini hisoblash orqali statistik tahlildan o'tkazildi. Olingan natijalarning isboti ularning tadqiqot natijalarining retsenziyalangan ilmiy nashrlarda chop etilishi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati.

Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati Ca^{2+} -gomeostazini boshqarish mexanizmlari haqidagi nazariy bilimlar doirasining kengaytirilishi, bosh miya sinaptosomasidagi Ca^{2+} -transport tizimlari va NMDA-retseptorlarining funksional faolligining farmakologik boshqarilishini tushuntirilishi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati shundaki, Karalinia va Punitan polifenollarining kalamush bosh miyasi sinaptosomalari Ca^{2+} -transport tizimlariga ta'sir mexanizmlari bo'yicha olingan ilmiy natijalar neyrodegenerativ kasalliklar holatlarini farmakologik korreksiyalash maqsadida yangi neyroprotektor preparatlarni ishlab chiqishda qo'llanilishi mumkin.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Karalinia va Punitan polifenollarining kalamush bosh miyasi sinaptosomasidagi $[Ca^{2+}]_{in}$ dinamikasidagi o'zgarishlarga ta'sirini o'rganish natijasida olingan ilmiy natijalarga asoslanib:

Punitan polifenoli ta'sirida kalamush bosh miyasi sinaptosomalaridagi NMDA-retseptorlarini Mg^{2+} bilan bog'lanuvchi saytlariga raqobatlashish asosida hujayra ichki kalsiy miqdorini korreksiyalashidan olingan natijalar, Xitoy Fanlar akademiyasining Shinjon fizika va texnika institutining o'simlik resurslari hamda qurg'oqchil hududlar kimyosi laboratoriyasining ilmiy loyihalarida polifenollarning farmakologik xususiyatlarini aniqlashda foydalanilgan (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry CAS, institutining 2023 yil 10 avgustdagi 830011-son ma'lumotnomasi). Natijada, qurg'oqchil hududlarda o'sadigan o'simliklardagi biologik faol birikmalarning farmakologik

xususiyatlarini tavsiflash imkonini bergan;

Karalnia polifenolining sog'lom va Alsgeymer kasalligi sharoitida L-glutamatga ta'siri orqali postsinaptik membranadagi NMDA-retseptorlari faolligini modulyatsiya qilishi orqali olingan natijalar Xitoy Fanlar akademiyasining Shinjon fizika va texnika institutining o'simlik resurslari hamda qurg'oqchil hududlar kimyosi laboratoriyasining ilmiy loyihalarida polifenollarning farmakologik xususiyatlarini aniqlashda foydalanilgan (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry CAS institutining 2023 yil 10 avgustdagi 830011-son ma'lumotnomasi). Natijada, biologik faol birikmalarning glutamat eksaytotoksikligini nazorat qilish mexanizmlarini aniqlashda foydalanish imkonini bergan;

eksperimental neyrodegenerativ holatlarda Karalnia va Punitan polifenollari yordamida hujayra ichki kalsiy konsentratsiyasini postsinaptik NMDA-retseptorlari orqali susaytirishi bo'yicha olingan natijalar Rossiya Federatsiyasining OT BM Xanti-Mansiysk avtonom okrugi – Yugra Surgut davlat universitetining «Технологии выращивания и извлечения биологически активных соединений северных ягодных культур и лекарственных трав (ЮграБиоФарм)» mavzusidagi amaliy tadqiqot loyihasida polifenollarning biologik faolligini aniqlash va baholashda foydalanilgan (2023 yil 5 oktabrdagi 03-01/205-son ma'lumotnomasi). Natijada, yoshga bog'liq kasalliklarda polifenollarning neyroprotektor ta'sir mexanizmlarini yoritish va tabiiy polifenollarning muhim biologik faolligini aniqlash imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 6 ta xalqaro va 5 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinishi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 16 ta ilmiy ishlar chop etilgan. Shulardan O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasining falsafa doktori (PhD) dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etishga tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 5 ta ilmiy maqola, jumladan, 2 tasi respublika va 3 tasi xorijiy jurnallarda nashr etilgan, shulardan ikkitasi Scopus ma'lumotlar bazasiga kiritilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya tarkibi kirish, uchta bob, xulosa va foydalanilgan adabiyotlar ro'yxatidan iborat. Dissertatsiya hajmi 109 betni tashkil etadi.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Dissertatsiyaning **kirish** qismida tadqiqotning dolzarbligi va zarurati asoslangan, Respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mosligi ko'rsatilgan, tadqiqotning maqsadi va vazifalari, obyekt hamda predmetlari tavsiflangan, muammoning o'rganilganlik darajasi, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning ishonchliligi, tadqiqot natijalarini amaliyotga joriy qilinishi, nashr etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilishi bo'yicha ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «**Bosh miya nerv hujayralari gomeostazini ushlab turilishida kalsiy transportini boshqarish mexanizmlari**» deb nomlangan

birinchi bobida Ca^{2+} ning inson organizmidagi o'rni va funksiyasi, Ca^{2+} transporti mexanizmlari va ularning boshqarilishi haqida ma'lumotlar berilgan, nerv hujayralarida Ca^{2+} gomeostazining muhimligi, glutamat va uning toksikligi, bosh miyadagi NMDA-retseptorlarining tuzilishi va funksiyalari, Ca^{2+} gomeostazini buzilish mexanizmlari va ularning neyrodegenerativ kasalliklaridagi oqibatlari, polifenollarning nerv tizimiga ta'siri haqidagi ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning **«Kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida kalsiy transportini o'rganish usullari»** deb nomlangan ikkinchi bobida tadqiqot materiallari, eksperimentlarning shartlari, ularni o'tkazish tartibi va amalga oshirishda qo'llaniladigan metodlar keltirilgan. Ishda presinaptik jarayonlarni o'rganish uchun adekvat va qulay model bo'lgan, og'irligi 250-300 gr bo'lgan zotsiz oq erkak kalamushlarning bosh miyasidan ajratib olingan sinaptosomalardan foydalanilgan. Xususan, Alsgeymer kasalligini eksperimental modellash usullari, differensial sentrifugalash usuli yordamida kalamush bosh miyasi sinaptosomasi suspenziyalarini ajratib olish usullari, kognitiv funksiyalarni aniqlash usullari «Ochiq maydon» va «Passiv qochishning shartli refleksi (PQShR)» testlari, fluoressensiya zondlari yordamida kalsiy konsentratsiyasini o'rganish usuli, shuningdek, natijalarni matematik va statistik qayta ishlash usullari qo'llanilgan.

Dissertatsiyaning **«Polifenollarning kalamush bosh miyasi sinaptosomalaridagi kalsiy transportiga ta'siri»** deb nomlangan uchinchi bobida kalamush bosh miyasidan ajratib olingan sinaptosomadagi kalsiy transporti tizimlari o'rganilgan.

Kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida sitoplazmatik kalsiy dinamikasidagi o'zgarishlar.

L-glutamatning faolligi fluoressensiya intensivligining o'zgarishi va sitoplazmadagi erkin kalsiy $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ miqdorining o'zgarishlari bo'yicha baholandi.

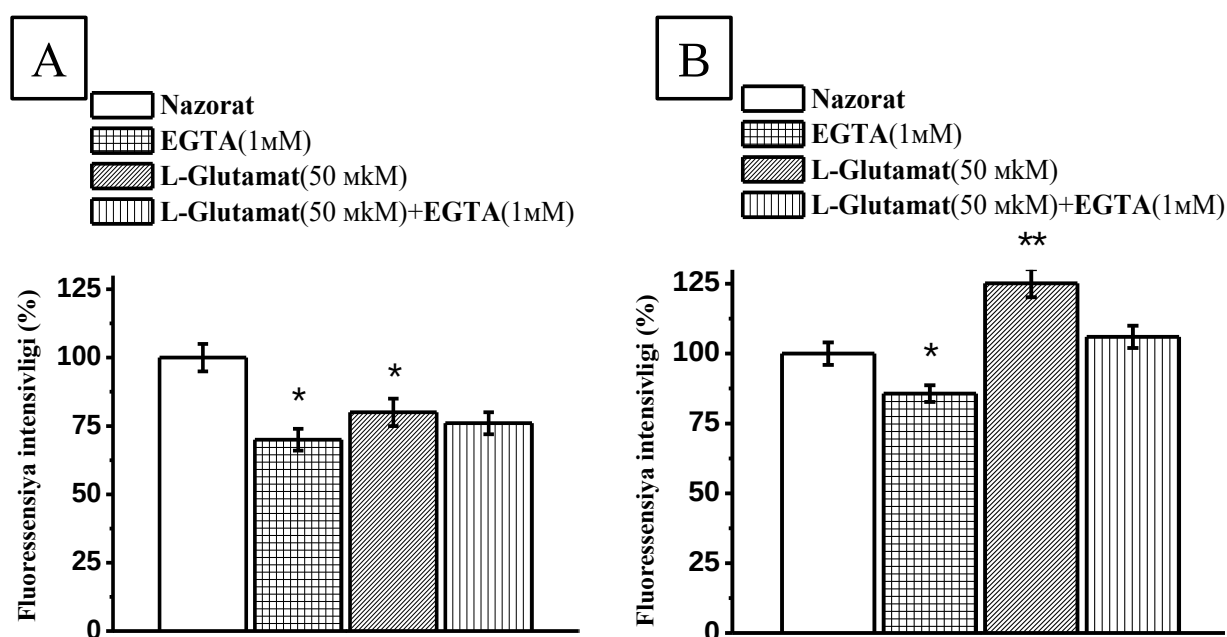
Zamonaviy eksperimental elektrofiziologik tadqiqotlarda glutamat regulyatsiyasi mexanizmini tahlil qilish sinapslarda Ca^{2+} transporti dinamikasini baholashning standart usuli hisoblanadi. Bunda, xlortetrasiklin (XTS) va (pentaatsetoksimetil efir [2-amino-5-(2,7-dixlor-6-gidroksi-3-okso-9-ksantenil) fenoksi]-2-(2-amino-5-metilfenoksi) etan-PP,N,N-tetrasirka kislota (Fluo-3 AM) kabi fluoressensiya zondlardan foydalanib fluoressensiya intensivligini qayd etish asosida sinaptosomalarda Ca^{2+} transportiga biologik faol moddalarning ta'sirini baholash bo'yicha yetarlicha ishonchli ma'lumotlarni olish imkonini beradi.

Tadqiqotning dastlabki bosqichida glutamatning kalamush bosh miyasi sinaptosomalaridagi hujayra tashqi kalsiy miqdoriga ta'sirini o'rganish bo'yicha tajribalar o'tkazildi. Dastlab Ca^{2+} -sezgir zond - xlortetratsiklin (XTS) yordamida sinaptosomalarda 340 va 405 nm (F_{340}/F_{405}) to'lqin uzunligidagi nur bilan qo'zg'atilgan fluoressensiyaning nisbati aniqlandi. Etilenglikol-bis(2-aminoetil efiri)-N,N,N,N-tetrasirka kislota (EGTA)ni oldindan inkubatsiya qilib hujayra tashqi muhitidan Ca^{2+} ni chiqarib tashlash fluoressensiya intensivligining 30 ± 5 %ga pasayishiga olib keldi.

Inkubatsiya muhitida EGTA mavjud bo'lganda glutamat 50 mkM konsentratsiyada fluoressensiya intensivligini nazoratga nisbatan 20 ± 3 %ga

kamaytirdi, bu esa glutamat ta'sirida, birinchi navbatda, membrana o'tkazuvchanligining faollashishi, Ca^{2+} ni hujayra ichiga kirishi va hujayra ichki depolaridan Ca^{2+} ning ajralib chiqishini ko'rsatadi (1A-rasm).

Navbatdagi tajribalarda kalamush bosh miyasi sinaptosomalaridagi hujayra ichki kalsiy miqdoriga glutamatning ta'siri Fluo-3 AM ishtirokida o'rganildi. Fluoressensiya 488 nm da qo'zg'atildi va 530 nm da fluoressensiya intensivligi qayd etildi. Natijada, glutamat fluoressensiya intensivligini $25,2 \pm 3$ %ga oshishiga olib keldi. Inkubatsiya muhitida EGTA mavjud bo'lganda, 50 mkM konsentratsiyadagi glutamat fluoressensiya intensivligini nazoratga nisbatan $6 \pm 3,5$ %ga oshirdi, bu esa sitozoldagi Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$) konsentratsiyasining ortishidan dalolat beradi, ushbu jarayon glutamat ta'sirida yuzaga keladigan membrana o'tkazuvchanligining faollashishi va NMDA retseptorlaridagi kalsiy kanallarining faollashishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin (1B-rasm).



1-rasm. L-glutamatning (50 mkM) EGTA (1 mM) bilan inkubatsiya qilinganda kalamush bosh miyasi sinaptosomasi suspenziyasidagi fluoressensiya intensivligiga ta'siri. A) XTS, B) Fluo-3 AM. Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

Neyromediatorlarning presinaptik terminallardan chiqishi bilan bog'liq bo'lgan qisqa muddatli presinaptik plastiklik postsinaptik neyronning qaysi shaklda javob berishini belgilaydi va nerv tizimida axborotni kodlanishida asosiy rol o'ynaydi. Presinaptik Ca^{2+} -kanallarini boshqarilishi Ca^{2+} ionini kirayotgan oqimlarini yengillashtirishi yoki inaktivatsiya qilishi mumkin. Neyromediatorni ajralib chiqishini presinaptik Ca^{2+} oqimiga bunday kuchli bog'liqlik qisqa muddatli presinaptik plastiklikka ko'rsatiladigan ta'sirni boshqarish mexanizmlari haqida ma'lumotlar berishi mumkin.

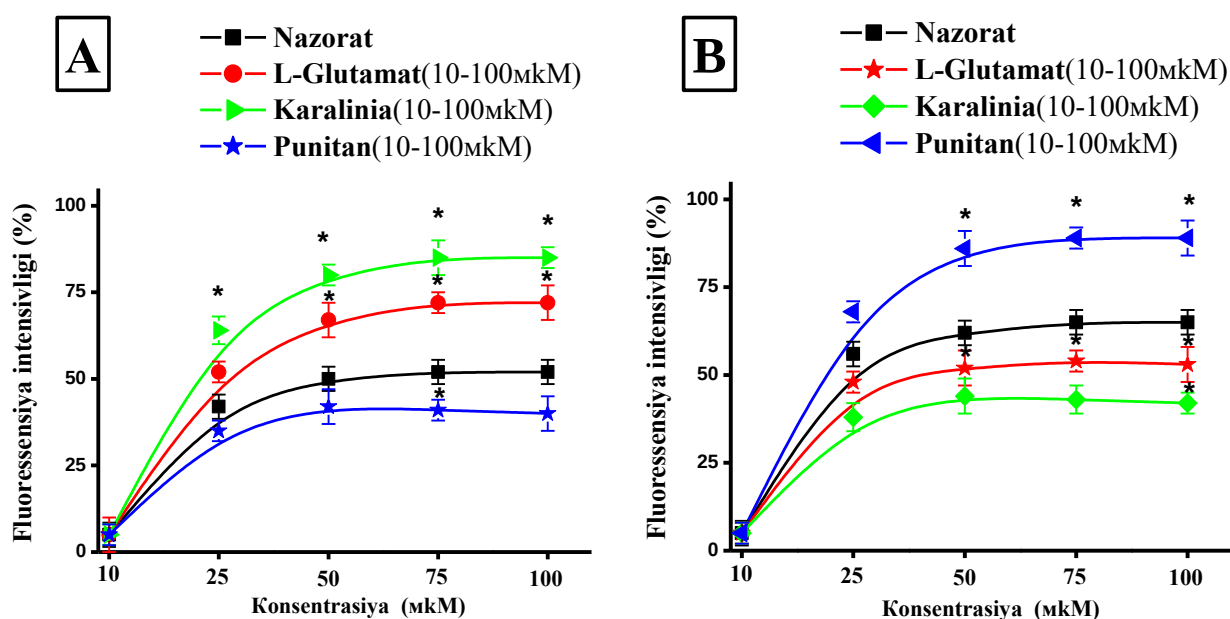
Polifenollarning kalamush bosh miyasi sinaptosomalaridagi kalsiy transportiga ta'sirini o'rganish. Polifenollar noyob biologik faol birikmalar bo'lib, ular gematoensefalitik to'sig'dan o'tib borib, miya hujayralariga yetib borishlari mumkin, mikrogliyalarga bog'liq yallig'lanishlarda modulyatsiya qilishi va neuroprotektor ta'sir ko'rsatishi orqali neurodegenerativ kasalliklarni

yengillashtirishda yordam beradi.

Karalinia va Punitan polifenollarining (10-100 mkM) kalamush bosh miyasi sinaptosomalarining suspenziyasidagi Ca^{2+} transportining o'zgarishiga ta'sirini o'rganishda sinaptik membranalar bilan dastlabki inkubatsiya qilindi, so'ngra sinaptosomalarda hujayra ichki Ca^{2+} konsentratsiyasini o'lchash uchun Fluo-3 AM qo'shildi. Bunda mos holda fluoressensiya intensivligi va $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ miqdorining o'zgarishi kuzatildi. Karalinia (10-100 mkM) konsentratsiyasini oshirib borilishi fluoressensiya intensivligini dozaga bog'liq holda nazoratga nisbatan mos ravishda o'sishiga olib keldi, Punitan konsentratsiyasining oshirilishi esa (10-100 mkM) nazoratga nisbatan fluoressensiyaning susayishiga olib keldi (2A-rasm). Glutamatning (10-100 mkM) ta'sirida hujayra ichki kalsiy konsentratsiyasining ortishi kuzatildi. Glutamat qo'shilishi ichki sinaptosomal kalsiyning ortishiga yordam berdi.

Adabiyot ma'lumotlaridan ma'lumki, L-glutamat retseptorlarining faollashishi, o'z navbatida, ionotrop retseptorlarning kalsiy kanallarini ochilishiga, kalsiyning membranalar orqali sinaptosomalarga kirishiga va keyinchalik aminokislotali neyromediatorlarning ajralib chiqishi bilan membranalarining depolarizatsiyasiga olib keladi.

Keyingi tajribalarda hujayra tashqi kalsiy miqdorini va fluoressensiya intensivligini o'lchash uchun Karalinia hamda Punitan polifenollari 10-100 mkM konsentratsiyalarda XTS-sinaptosoma kompleksi bilan preinkubatsiya qilindi (2B-rasm).



2-rasm. Karalinia, Punitan va L-glutamatning (10-100 mkM) konsentratsiyalarda kalamush bosh miyasi sinaptosomasi suspenziyasining fluoressensiya intensivligiga ta'siri. A) Fluo-3 AM, B) XTS. Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

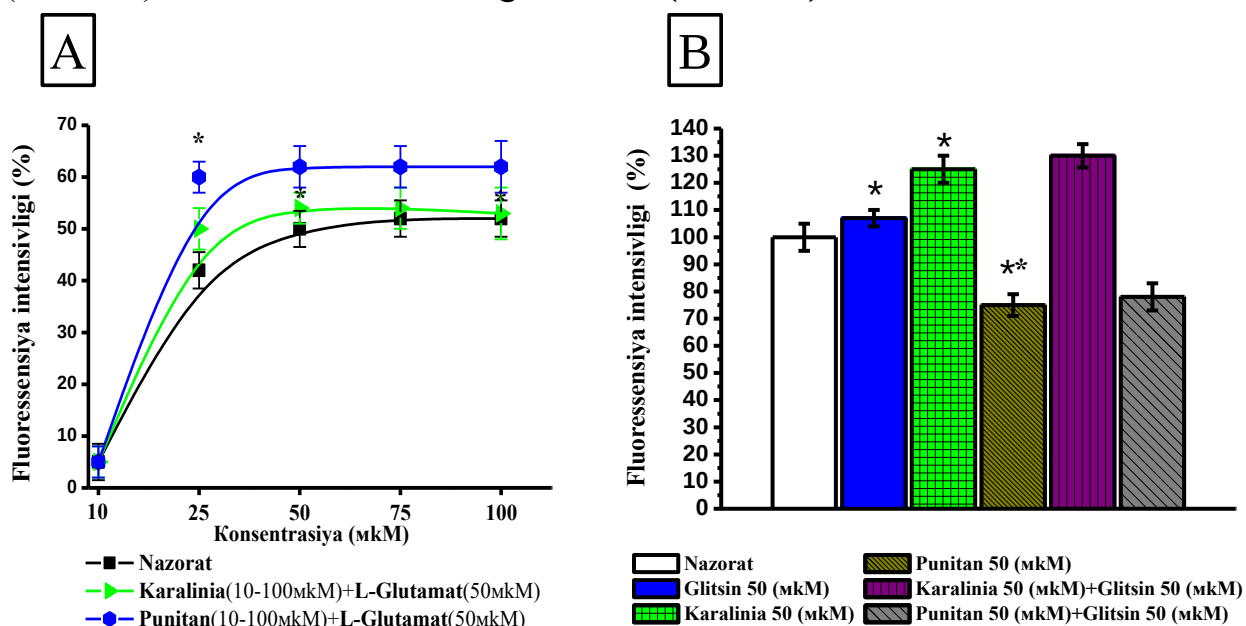
Eksperimental tadqiqotdan olingan ma'lumotlar shuni ko'rsatadiki, Punitan polifenoli 10-100 mkM konsentratsiyalarda dozaga bog'liq ravishda fluoressensiya intensivligini nazoratga nisbatan oshiradi va bu bilan sitoplamatik membrana orqali kalsiyni transportiga to'sqinlik qiladi. Karalinia polifenoli va glutamat 10-100 mkM konsentratsiyalarda fluoressensiya intensivligini nazoratga nisbatan dozaga

bog‘liq ravishda kamaytirdi va kalsiy ionlarining membrana orqali sitoplazmaga kirib borishiga yordam berdi (2B-rasm).

Karalinia va Punitan polifenollari 10 mkM konsentrasiyalarda sinaptik membranalar bilan preinkubatsiya qilinib, so‘ngra glutamat fonida XTS qo‘shilishi, mos ravishda fluoressensiya intensivligi va $[Ca^{2+}]_{in}$ miqdorining o‘zgarishiga olib keldi. Karalinia konsentratsiyasini (10-100 mkM) oshirib borilishi, mos holda glutamat (50 mkM) dozadagi ta’sirining konsentratsiyaga bog‘liq susayishiga olib keldi (3A-rasm).

Glutamat (50 mkM) fonida Punitan polifenoli (10-100 mkM) konsentratsiyalarda ta’siri konsentratsiyaga bog‘liq bloklovchi ta’sirini o‘zgartirmadi. Olingan ilmiy natijalardan Punitan polifenoli NMDA-retseptorining glutamat bilan bog‘lanadigan uchastka saytiga ta’sir qilmaydi, deb xulosa qila olamiz.

Sinaptosoma suspenziyasida Karalinia va Punitan (10-50 mkM) inkubatsiya qilinganida XTS-fluoressensiya intensivligini sezilarli darajada o‘zgartirishi aniqlandi. L-glutamat (50 mkM) qo‘shilganida, Karalinia fluoressensiya intensivligini sezilarli darajada susaytirdi, Punitan (10-100 mkM) esa L-glutamat (50 mkM) fonida o‘z ta’sirini o‘zgartirmadi (3A-rasm).



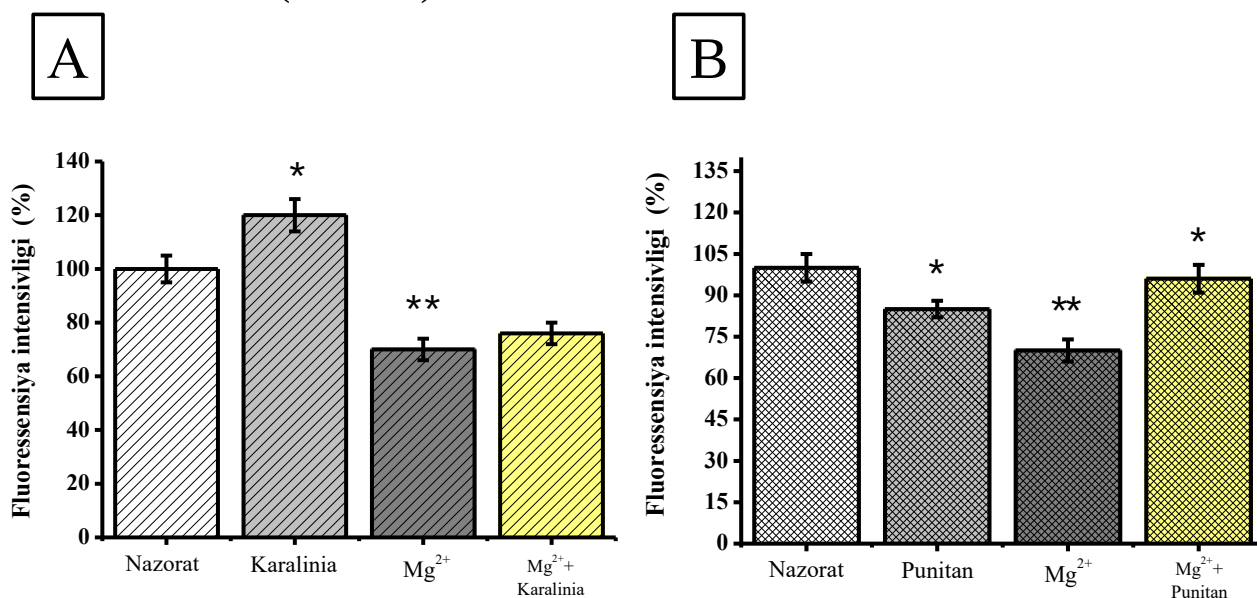
3-rasm. A) Karalinia va Punitan (10-100 mkM) polifenollarini glutamat (50 mkM) bilan inkubatsiya qilingan sharoitda kalamush bosh miyasi sinaptosomasi suspenziyasining XTS-fluoressensiya intensivligiga ta’siri. B) Sinaptosoma suspenziyasida Fluo-3 AM bilan preinkubatsiya qilingan Karalinia va Punitan polifenollari fonida glitsinning NMDA-retseptoriga ta’siri. Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

Glitsinning polifenollar fonida NMDA-retseptorlariga ta’sirini o‘rganish. Oldingi tajribalardan ma’lum bo‘ldiki, glitsin NMDA-retseptorining faol sayti bilan bog‘lanadi va bu bilan retseptor orqali kalsiy kanalini faollashtiradi. Keyingi tajribalarda 50 mkM glitsinni Fluo-3 AM bilan inkubatsiya qilingan 50 mkM konsentratsiyadagi Karalinia va Punitan polifenollari fonidagi kompleks ta’sirini aniqlash maqsadida tadqiqotlar olib borildi (3B-rasm).

Ma'lum bo'lishicha, glitsin NMDA-retseptorlarining glitsin bilan bog'lanuvchi saytiga birikib Ca^{2+} -kanalining faollashishiga yordam beradi. Olingan natijalar shuni ko'rsatadiki, Karalinia va Punitan polifenollari glitsin ta'sirini o'zgartirmadi, bu esa Karalinia va Punitan NMDA-retseptorlarining glitsin bilan bog'lanuvchi uchastkasi bilan bog'lanmasligini bildiradi.

Mg²⁺ ionining polifenollar fonida NMDA-retseptorlariga ta'sirini o'rganish. Tajribalarda magniy ionlarining millimolyar konsentratsiyalarda glutamat-sinaptosoma kompleksining fluoressensiyasini sezilarli darajada ingibirlashi ko'rsatilgan.

Karalinia (50 mkM) fonida magniy ionlarining (50 mkM) sinaptosoma suspenziyasi kompleksining fluoressensiya intensivligiga ingibirlovchi ta'siri o'zgarmaganligi ko'rsatilgan. Ehtimol, bunga Mg^{2+} va Karalinia o'rtasida Mg^{2+} -kanallarining ochilishini stimullovchi uchastkalar uchun raqobat yo'qligi sabab bo'lishi mumkin (4A-rasm).



4-rasm. A) Karalinia va B) Punitan fonida NMDA-retseptorlarining raqobatbardosh bo'lmagan antagonisti Mg^{2+} fluoressensiya intensivligiga (Fluo-3 AM) va kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ darajasiga ta'siri. Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n=6$).

Ma'lumki, NMDA-retseptorlari saytiga magniyni bog'lanish mexanizmi o'z ichiga magniy ionlarining retseptordagi o'ziga xos birikish saytlari bilan o'zaro ta'sirlanishini oladi. NMDA-retseptorlari tinch holatda bo'lganida, tashqi magniy ionlari retseptor porasiga bog'lanadi va transmembrana ion kanalini bloklab qo'yadi hamda kalsiy ionlarining hujayra ichiga kirishiga to'sqinlik qiladi. Shuningdek, magniyning NMDA-retseptorlari bilan birikishi kuchlanishga ham bog'liq. Membrana tinchlik potentsiali vaqtida tashqaridagi magniy ionlari retseptorlarning poralari bilan birikadi va ionlarning keying kirishini to'xtatadi. Bu jarayon manfiy membrana potensialini ushlab turishga yordam beradi.

Punitan polifenoli ta'sirida magniy ionlarining (50 mkM) kompleks bilan ingibirlovchi ta'siri o'zgardi. Bu, ehtimol, Mg^{2+} va Punitan o'rtasida Mg^{2+} ioni kanallarini ochilishini stimullaydigan uchastkalari uchun raqobat mavjudligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin (4B-rasm).

Nifedipinning polifenollar fonida Ca^{2+} -kanallariga ta'sirini o'rganish. Tajribalarda nifedipinni (50 mkM) (Fluo-3 AM)-sinaptosoma suspenziya kompleksi bilan oldindan inkubatsiya qilinganida, fluoressensiya intensivligining susayishiga olib keldi. Karaliniani (50 mkM) inkubatsiyasi fluoressensiya intensivligini oshirdi, (Fluo-3 AM)-sinaptosoma suspenziya kompleksi bilan Punitan polifenoli (50 mkM) fluoressensiya intensivligini susaytirdi.

Karaliniani (50 mkM) (Fluo-3 AM)-sinaptosoma kompleksi bilan oldindan inkubatsiyasi nifedipin (50 mkM) fonida fluoressensiyaning sezilarli o'zgartirmadi, bu esa digidropiridin sezuvchi kalsiy kanallarini boshqaruvchi uchastka uchun Karalinia polifenolini bilan nifedipin o'rtasida raqobat yo'qligini ko'rsatadi.

Shuningdek, Punitanning (50 mkM) nifedipin (50 mkM) fonida (Fluo-3 AM)-sinaptosoma kompleksi bilan inkubatsiyasi Punitan polifenoli ta'sirida fluoressensiya intensivligining sezilarli o'zgarishi kuzatilmadi, bu nifedipinning digidropiridining sezgir kalsiy kanallariga Punitan polifenoli ta'sir qilmasligini ko'rsatadi.

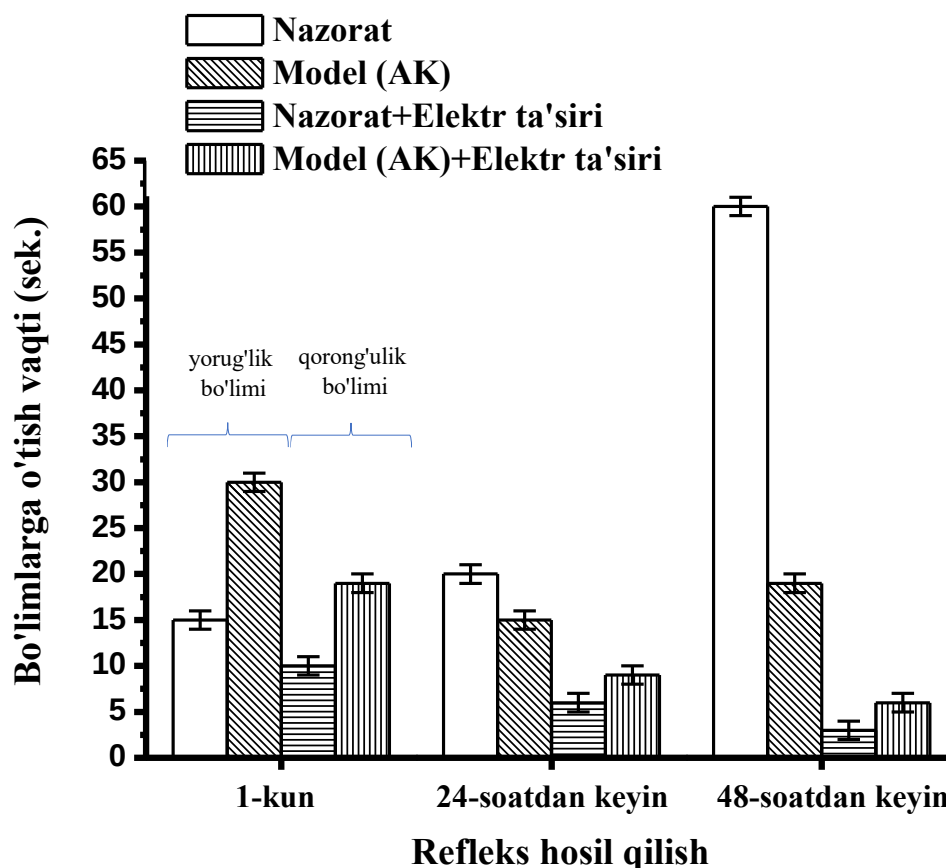
Bundan tashqari, biz sinnarizin va verapamil blokatorlari fonida polifenollarning boshqa kalsiy kanallariga ta'sirini tekshirib ko'rdik. Olingan natijalarga ko'ra, Karalinia va Punitan polifenollari boshqa kalsiy kanallariga ta'sir qilmasligi ma'lum bo'ldi.

Kalamushning kognitiv funksiyalarini aniqlash uchun «Ochiq maydon» testi.

Xulq-atvor testlari natijalari shuni ko'rsatdiki, «Ochiq maydon» testida nazorat guruhlaridagi tajriba hayvonlari juda faol va haddan tashqari qo'zg'aluvchan, tez harakatlanadigan va deyarli bir joyda tura olmaydigan edi. Shu bilan birga, model (AK) guruhlarida juda passiv, nerv tizimi tormozlashgan va hayvonlar uzoq vaqt davomida bir joyda to'xtab qoldi. Ushbu holat hayvon organizmiga neyrotoksin kiritilgandan so'ng, ularda nerv tizimining normal ishlashining buzilishi, neyronlarda impulsar uzatilishining buzilishi va hujayralarning nobud bo'lishidan dalolat beradi.

Kalamushlarning kognitiv funksiyalarini va AKning patologik belgilarini aniqlash uchun «PQShR» testi.

«PQShR» testlaridan olingan natijalar shuni ko'rsatdiki, yorug' bo'linmadagi nazorat guruhlaridagi hayvonlar tezda qorong'i bo'linmaga o'tishga harakat qilishdi, qorong'i bo'limga o'tishgandan keyin ularga elektr zaryadi berilganida yana tezda yorug' bo'linmaga o'tib olishdi. Ushbu sinov takrorlanganida, tajriba hayvonlari yorug' bo'linmadan qorong'i bo'linmaga o'tmadi. Hayvonlarning model (AK) guruhlarida yorug' bo'linmaga joylashtirilganda, ular qorong'i bo'linmaga o'tishga unchalik harakat qilishmadi va ular kirgandan keyin elektr zaryadi berildi. Ushbu sinovlar takrorlanganida, tajriba hayvonlari, avvalgidek, asta-sekin qorong'i bo'linmaga kirib, yana elektr zaryadi oldi. Olingan tajriba natijalari shuni ko'rsatdiki, nazorat guruhidagi tajriba hayvonlari, hayvonlarning uyasini eslatadigan qorong'i bo'linmaga tezda o'tishgan, ammo elektr zaryadi olgandan keyin xuddi shu sinov takrorlanganda, hayvonlar qorong'i bo'linmaga o'tmadi (5-rasm).



5-rasm. Passiv qochishning shartli refleksi (PQShR) testi, refleks hosil bo'lishi.
Barcha holatlarda $P < 0,05$ ($n=6$).

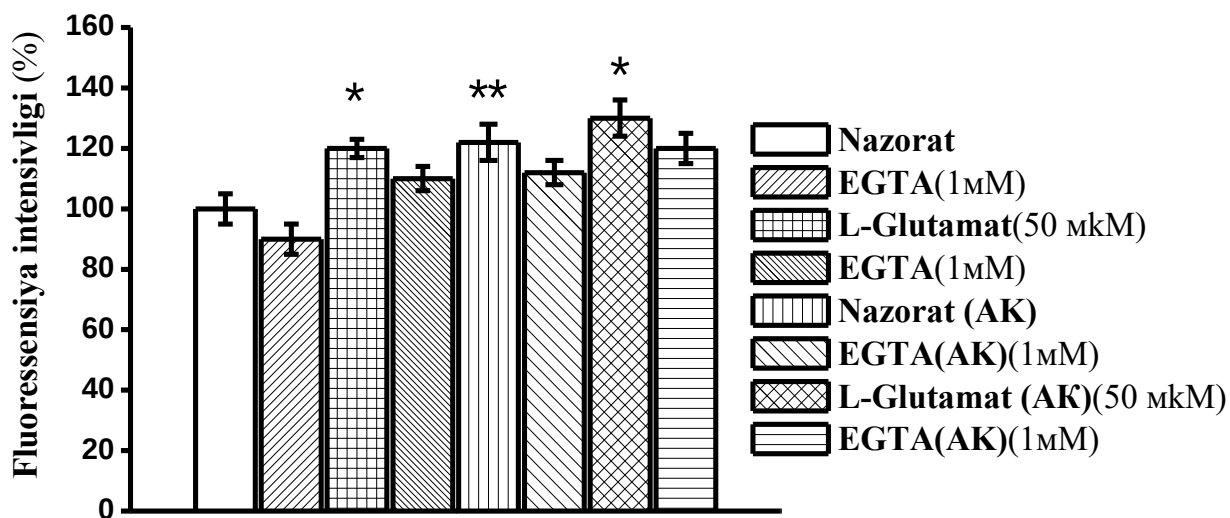
Bundan xulosa qilishimiz mumkinki, hayvonlarda qorong'i bo'linmada elektr ta'sirotda reaksiya paydo qilgan va bu ularning xotirasida saqlanib qolgan. Model guruhidagi hayvonlar dastlab juda passiv bo'lib, asta-sekin qorong'i bo'linmaga o'tishdi. Sinovlar takrorlanganida, hayvonlar yana qorong'i bo'linga kirib, elektr ta'sirini olgan. Ushbu hayvonlarning model guruhlarida Alsgeymer kasalligining belgilari bo'lgan kognitiv funksiyalarning buzilishi, atrofga bo'lgan reaksiya va xotirasining jiddiy buzilganligini ko'rsatishi bilan ifodalanadi.

Alsgeymer kasalligini modellashtirishda L-glutamatning kalamush bosh miyasi sinaptosoma suspenziyasida fluoressensiya intensivligiga ta'siri.

Biz ishimizda AK modellashtirilgan kalamushlarning bosh miyasidan ajratib olingan sinaptosomalardan foydalandik, ular presinaptik jarayonlarni o'rganish uchun adekvat va qulay model hisoblanadi. L-glutamatning faolligi fluoressensiya intensivligidagi signalning o'zgarishi va erkin kalsiyning sitoplazmatik $[Ca^{2+}]_{in}$ darajasidagi o'zgarishlar bilan baholandi.

Tajribalarda L-glutamatning kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida sitoplazmatik kalsiy darajasiga ta'sirini o'rgandik. Ca^{2+} hujayra tashqarisidagi muhitdan chiqarilganda, EGTA bilan dastlabki inkubatsiya fluoressensiyaning 15 ± 3 %ga pasayishiga olib keldi. Immersion muhitda EGTA mavjud bo'lganda, L-glutamat 50 mkM konsentratsiyada fluoressensiya intensivligini 28 ± 3 %ga oshirdi, bu esa sinaptosomada sitoplazmatik Ca^{2+} konsentratsiyasining ortishidan dalolat beradi. Keyingi tajribalarda aniqlanishicha, L-glutamat 50 mkM konsentratsiyalarida modellashtirilgan AK fonida fluoressensiya intensivligini 15-

20±4 %ga oshirdi, bu, birinchi navbatda, membrana o'tkazuvchanligining faollashishi, Ca^{2+} ni hujayra ichiga kirishi va hujayra ichki deposidan Ca^{2+} ning ajralib chiqishi bilan bog'liqdir (6-rasm).



6-rasm. Nazorat va AK modelida EGTA (1 mM) bilan inkubatsiya paytida kalamush bosh miyasi sinaptosomasi suspenziyasida L-glutamatning (50 mkM) fluoressensiya intensivligiga ta'siri. Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n=6$).

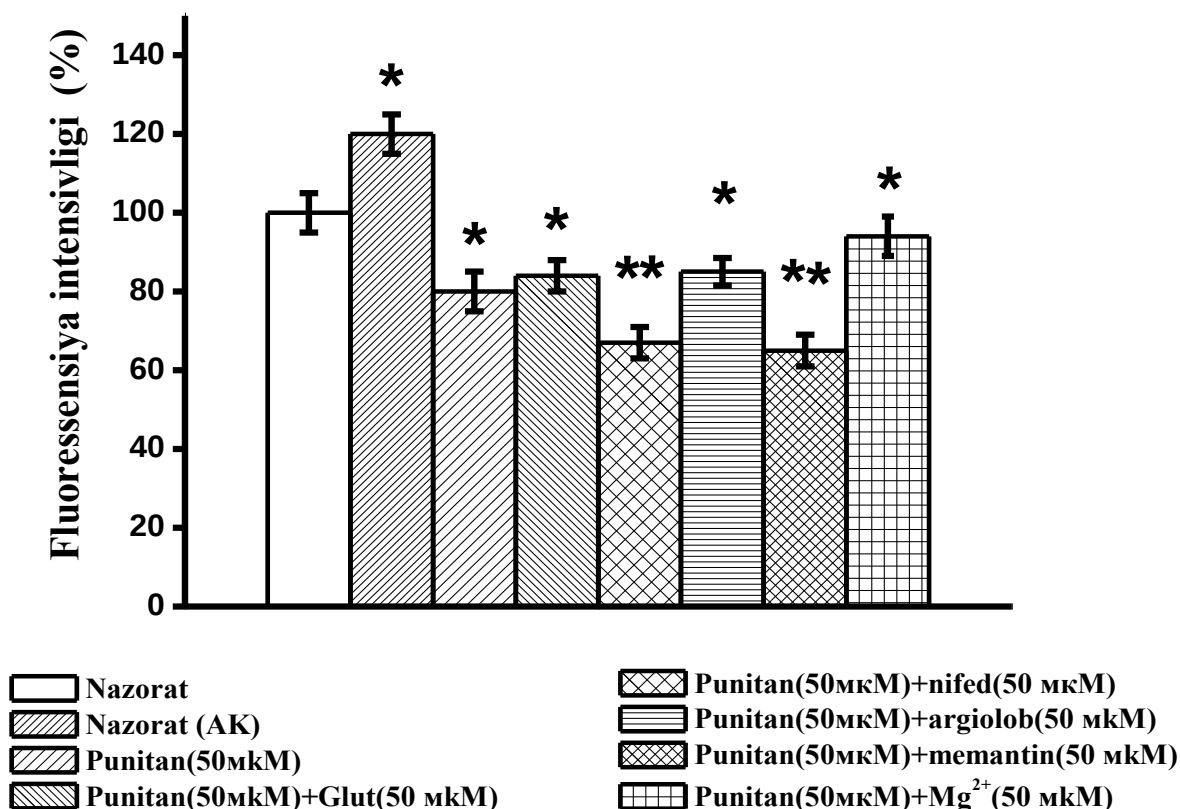
AK modellaridagi tajribalar natijalaridan shuni tushunish mumkinki, AKda presinaptik terminaldan L-glutamat oqimi ajralib chiqadi va ular postsinaptik signallarni uzatadigan glutamat nerv retseptorlarining regulyatori funksiyasini bajaradi. Shunday qilib, membranaga bog'langan Ca^{2+} konsentratsiyasining o'zgarishi tashqi muhitdan Ca^{2+} ni hujayra ichiga kirishi hisobiga ham, uni hujayra ichidagi kalsiy deposidan chiqishi hisobiga ham amalga oshirilishi mumkin.

Olingan natijalar AKda L-glutamatning hujayra tashqi muhitida ortishi ionotrop NMDA-retseptorlarining Ca^{2+} oqimini faollashtirishi va neyronlarning depolarizatsiyasi orqali L-glutamat vositachiligida neyromediatorlar transportining o'zgarishlariga olib keladi, bu esa, o'z navbatida, hujayra ichki jarayonlarining ketma-ketligini va Ca^{2+} hamda Na^+ ning kirib kelishini keltirib chiqaradi. Natijada, NMDA-retseptorlari kanalining ochilishi, asosan, Ca^{2+} , Na^+ , K^+ ning kirib borishini ta'minlashi mumkin. NMDA-retseptorlari kanallari orqali Ca^{2+} ning kirib kelishi L-glutamat retseptorlari faollashuvining fiziologik va patologik ta'siri uchun juda muhim hisoblanadi.

Alsgeymer kasalligi modelida Karalinia va Punitan polifenollarining antagonistlar fonida kalsiy transportiga ta'siri. O'rganilgan polifenollar yordamida olingan natijalar AKda glutamat eksaytotoksikligining oldini olishi va NMDA-retseptorlaridagi kalsiy kanallari orqali kalsiyni funksional faol transportini boshqarishi orqali ta'sir qiladigan turli neyroprotektor dori vositalarini ishlab chiqishda qo'llanilishi mumkin.

Keyingi tajribalarimizda AK chaqirilgan model guruhlaridagi kalamush bosh miyasidan ajratilgan sinaptosomalarda polifenollarning kalsiy kanallariga ta'sir mexanizmini o'rgandik. Buning uchun (Fluo-3 AM) bilan inkubatsiya qilingan

Ca^{2+} -kanali blokatorlari – nifedipin, argiolobatin, memantin va magniy ionlari foydalanildi.

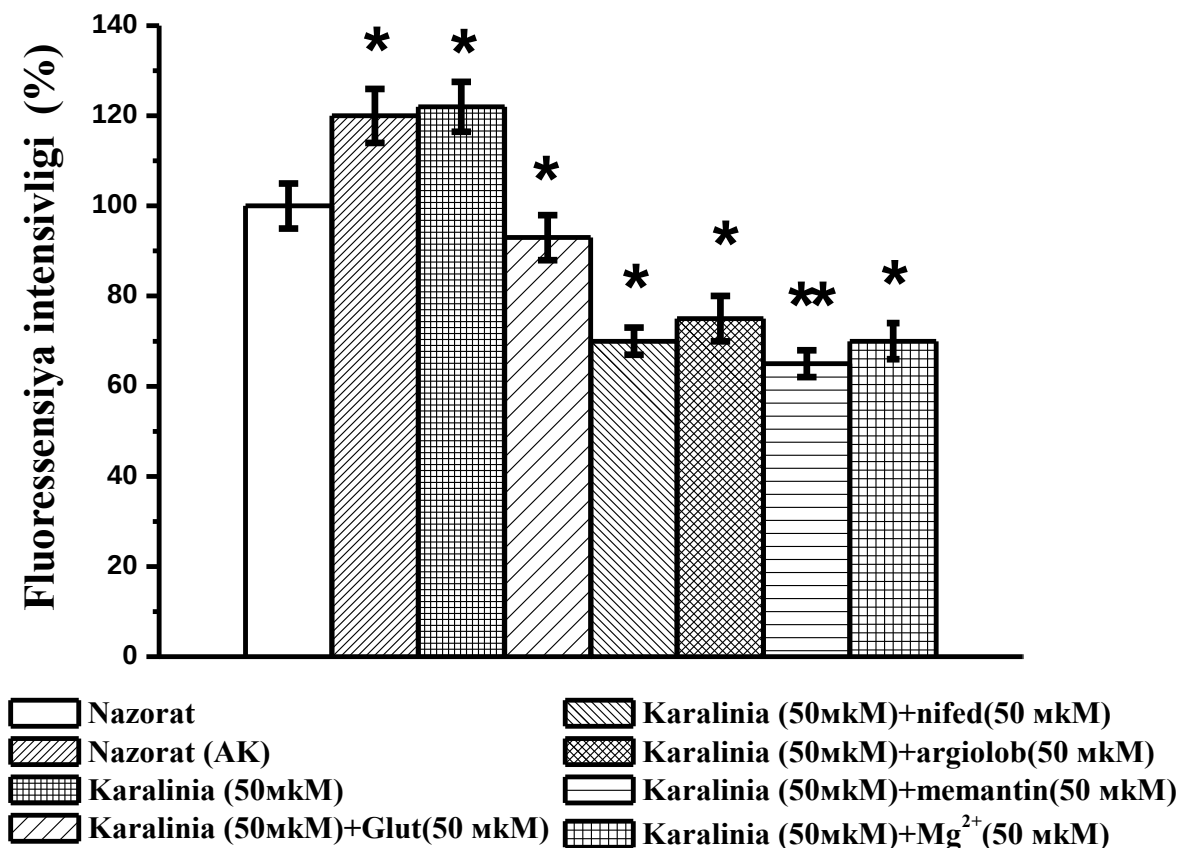


7-rasm. Punitan polifenolining AK bilan modellashtirilgan kalamush bosh miyasi sinaptosomasi suspenziyasida Ca^{2+} blokatorlari bilan fluoressensiya intensivligiga ta'siri (Fluo-3 AM). Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n=6$).

Olingan ma'lumotlardan AK chaqirilgan model guruhidan ajratilgan sinaptosomalarda nazoratdagi intakt guruhiga nisbatan fluoressensiya intensivligi (Fluo-3 AM) yuqori bo'lganligini ko'rishimiz mumkin. Bu AK ning patologik holatlarida NMDA-retseptorining haddan tashqari faollashishi hisobiga Ca^{2+} ning membrana orqali o'tkazuvchanligi ortganligidan dalolat beradi.

Punitan polifenoli kalsiy kanalini bloklashiga yordam beradi va shu bilan hujayra ichki muhitidagi Ca^{2+} konsentratsiyasini kamaytiradi. Punitan fonida 50 mkM glutamat Ca^{2+} -kanaliga o'z faolligini ko'rsatmadi va natijada fluoressensiya intensivligi susaydi. Nefidipin (50 mkM) va argiolobatin (50 mkM) Punitan (50 mkM) bilan birgalikda potensialga bog'liq kalsiy kanallarini bloklashini kuchaytirishi orqali fluoressensiya intensivligini susaytirdi, shuningdek, memantin 50 mkM Punitan fonida hujayra ichki Ca^{2+} konsentratsiyasini sezilarli darajada kamaytirdi. Bundan xulosa qilish mumkinki, Punitan polifenoli memantinning ta'sirini sezilarli darajada oshiradi va u AKni davolash uchun istiqbolli neyrotektor vosita yaratish uchun asos bo'lib xizmat qilishi mumkin. Mg^{2+} NMDA-retseptorlari kalsiy kanalining barchaga ma'lum bo'lgan blokatori hisoblanadi, biroq tajribalar natijasi shuni ko'rsatadiki, Punitan polifenoli fonida fluoressensiya intensivligi sezilarli darajada oshadi, bunga Punitan polifenolining

bosh miya sinaptosomalaridagi NMDA-retseptorlarining Mg^{2+} bilan bog‘lanuvchi sayti uchun raqobatlashish asosidagi ta’siri sabab bo‘lishi mumkin (7-rasm).



8-rasm. Karalinia polifenolining AK modellashtirilgan kalamush bosh miyasi sinaptosomalari suspenziyasida Ca^{2+} blokatorlari bilan fluoressensiya intensivligiga ta’siri (Fluo-3 AM). Ishonchlilik darajasi: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n=6$).

Karalinia polifenoli 50 mkM konsentratsiyada nazoratda ham, neyrogenetiv holatlarda ham o‘zini Ca^{2+} -kanalining aktivatori sifatida namoyon qildi, ammo 50 mkM glutamat bilan kompleks holda ta’sir ko‘rsatganida fluoressensiya intensivligini pasaytirdi. Olingan natijalar Karalinia polifenoli glutamat bilan bog‘lanuvchi saytni inaktivatsiya qilishi va kalsiyni hujayra ichiga kirishini kamaytirishidan dalolat beradi. Nifedipin, argiolobatin, memantin va Mg^{2+} blokatorlari bilan sezilarli o‘zgarishlar kuzatilmadi (8-rasm).

XULOSALAR

1. *Karalinia caspia* o‘simligining yer ustki qismidan ajratib olingan Karalinia, va *Punica granatum* L. anor po‘stlog‘idan ajratib olingan Punitan polifenollari kalamush bosh miyasi sinaptosomalarida sitoplazmadagi kalsiy miqdorini modulyatori ekanligi ko‘rsatildi.

2. Karalinia va Punitan polifenollari membranadagi ion kanallarida joylashgan allosterik uchastkasiga hamda L-tipidagi kalsiy kanallariga ta’sir qilmasligi aniqlandi.

3. Karalinia polifenoli NMDA-retseptorining glutamatni bog'lovchi saytining uchastkasi uchun glutamat bilan raqobatlashish asosida ta'sir qilishi mumkin ekanligi aniqlandi.

4. Punitan polifenolining NMDA-retseptorining Mg^{2+} -bog'lanadigan saytiga ta'sir qilishi aniqlandi.

5. Alsgeymer kasalligi modellashtirilgan tajribalarda Punitan polifenoli NMDA-retseptorining Mg^{2+} -bog'lanadigan saytidagi kalsiy kanallarini bloklashi orqali kasallikning simptomlarini yengillashtirishi va shuningdek, Karalinia polifenoli Alsgeymer kasalligida glutamatning eksaytotoksikligini qisman ingibirlashi aniqlandi.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.B.01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И
БИОХИМИИ НАЦИОНАЛЬНОГО УНИВЕРСИТЕТА УЗБЕКИСТАНА**
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ

МУХТОРОВ АЛИШЕР АБДУГАФОР УГЛИ

**ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ НА ИЗМЕНЕНИЕ ДИНАМИКИ $[Ca^{2+}]_{in}$ В
СИНАПТОСОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС**

03.00.08 – Физиология человека и животных

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ (PhD) ПО
БИОЛОГИЧЕСКИМ НАУКАМ**

Ташкент – 2024

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером B2021.1.PhD/B555.

Диссертационная работа выполнена в Институте биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана и Наманганском государственном университете.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском и английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.ibb-nuu.uz) и информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net).

Научный руководитель:

Хошимов Нозимжон Нумонжонович
доктор философии по биологическим наукам

Официальные оппоненты:

Шахмурова Гулнара Абдуллаевна
доктор биологических наук, профессор

Гайибов Улугбек Гаппаржанович
доктор философии по биологическим наукам

Ведущая организация:

Андижанский государственный университет

Защита диссертации состоится «___» _____ 2024 г. в ___ часов на заседании Научного Совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана. (Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 246-68-96).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Института биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана (зарегистрированной за № ____). Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел: (99871) 246-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

Автореферат диссертации разослан: «___» _____ 2024 года.
(реестр протокола рассылки № «___» от _____ 2024 года).



Сабиров Равшан Заирович
Председатель Научного совета
по присуждению ученых степеней, д.б.н., академик

Позилев Маъмуржон Комилжонович
Ученый секретарь Научного совета по присуждению
ученых степеней д.б.н.

Курбанназарова Раънохон Шараповна
Заместитель председателя Научного семинара при Научном совете
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (Аннотации диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Во всем мире в последние годы широко распространяются нейродегенеративные болезни. Нейродегенеративные заболевания — группа различных по течению болезней, в результате которых гибель клеток мозга вызывает потерю дееспособности и трудоспособности, последующую деменцию и полную деградацию. Причинами этому являются нарушение механизмов передачи импульсов в нервной системе, дисфункция в нервных клетках и нарушение обмена ионов кальция, стресс и не здоровый образ жизни. Поэтому, разработка мер по предотвращению этих факторов имеет важное научное и практическое значение.

В настоящее время в мире в научных исследованиях установлено, что нейродегенеративные заболевания обусловлены дисфункцией ион-транспортных систем и рецепторного комплекса, которые представляют собой функциональную активность клеток симпатической и парасимпатической нервной системы головного мозга. Транспорт Ca^{2+} является одним из центральных компонентов в контроле передачи сигнала и процессов возбуждения/торможения в нервных клетках, а дисфункция $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ в гомеостазе в нервных клетках головного мозга, как сообщается, вызывает серьезные патологические состояния. С этой точки зрения большое внимание уделяется анализу проведенных исследований по изучению механизмов фармакологической коррекции транспорта Ca^{2+} в синапсах головного мозга с помощью биологически активных веществ при патологических состояниях.

В нашей республике проводятся значительные реформы в направлении улучшения материально-технической базы учреждений, диагностики и лечения заболеваний нервной системы, обеспечения фармацевтическими препаратами. На основе реализуемых в данном направлении программных мероприятий были достигнуты определенные результаты, в том числе в области создания эффективных нейропротекторных препаратов для лечения и профилактики неврологических заболеваний. В Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан определена задача «дальнейшего развития фармацевтической отрасли, обеспечения населения и медицинских учреждений доступными, качественными лекарственными средствами». Исходя из этих задач, создание нейропротекторных препаратов на основе местного сырья, способных конкурировать на мировом рынке, имеет важное научное и практическое значение.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 года, № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»¹, Указе Президента

¹ Указ Президента Республики Узбекистан, от 07.02.2017 г. № УП-4947 «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

Республики Узбекистан от 29 октября 2020 года № УП-6097 «Об утверждении концепции развития науки до 2030 года»², Постановлении Президента Республики Узбекистан от 12 августа 2020 года № ПП-4805 «О мерах по повышению качества непрерывного образования и результативности науки по направлениям “химия” и “биология”», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное исследование выполнено в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий Республики Узбекистан VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. В настоящее время в мире проведены многочисленные исследования по изучению роли динамики $[Ca^{2+}]_{in}$ в функциональной активности нервных клеток и их механизмов регулирования.

В Европе Bernardo H.M. и его коллеги (2023) проанализировали важность роли потенциал-зависимых кальциевых каналов базальных ганглиев при нейродегенеративных заболеваниях. Кроме того, Nanclares C. и др. (2021) исследовали нарушение регуляции астроцитарно-нейрональной связи при болезни Альцгеймера. Tan R.SG и др. (2021) изучали роль передачи сигналов кальций-чувствительными рецепторами в регуляции трансэпителиального транспорта кальция. Sukumaran P. и его коллеги (2021) исследовали механизмы передачи сигналов кальция, регулирующие аутофагию и апоптоз, при этом была установлена важная роль ионов Ca^{2+} как центрального мессенджера в процессе трансдукции и передачи сигнала в нервных клетках. Lanxin Luo и др. (2020) изучали роль ионных каналов и транспортеров в функции микроглии в физиологии и заболеваниях головного мозга. Torquatto K.I. и его коллеги (2019) занимались вопросами о роли кальций-проницаемых рецепторов в консолидации, восстановлении и обновлении памяти. Foster T.C. и др. (2017) исследовали центральную роль NMDA-рецепторов в окислительно-восстановительном нарушении синаптической функции при старении и болезни Альцгеймера.

В странах СНГ Гайдуков Александр Евгеньевич (2023) защитил докторскую диссертацию на тему: «Участие пресинаптических входов ионов кальция в механизмах регуляции квантовой секреции нейротрансммиттера». Кушнирева Л.А. и Коркотян Э.А. (2018) занимались вопросами нарушения передачи кальциевых сигналов в астроцитах при болезни Альцгеймера.

В нашей республике проф. К.Э. Насировым (1985), Н.Н.Хошимовым (2018) исследованы влияния алкалоидов, токсинов и полифенолов на Ca^{2+} -транспорт в синапсосах головного мозга крыс. Г.Г.Раджабовой (2009) изучены механизмы действия некоторых биологически активных соединений и электромагнитных полей на гомеостаз кальция в синапсосах. Несмотря

² Указ Президента Республики Узбекистан, от 29.10.2020 г. № УП-6097 «Об утверждении концепции развития науки до 2030 года»

на высокий спрос на нейропротекторные препараты, а также в связи с тем, что влияние биологически активных веществ растительного происхождения на нервную систему пока еще недостаточно изучено, исследования в этом направлении представляются актуальными и имеющими научно-практическое значение.

Связь исследования с планом научно-исследовательских работ научно-исследовательской организации, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планом научно-исследовательских работ Института биофизики и биохимии при Национальном университете Узбекистана в рамках прикладного проекта АЛ-27-4722022401 по теме: «Создание нового лекарственного средства с нейропротекторными свойствами на основе сырья местных растений *Rhus typhina*, *Pinus sylvestris* L., *Hippophae rhamnoides* L.» (2023-2026).

Целью исследования является определение механизма действия полифенолов Karalinia, выделенный из надземной части растения *Karelinia caspia*, и Punitan, выделенный из кожуры граната *Punica granatum* L. на Ca^{2+} -транспортирующие системы мембраны синапсом головного мозга крыс и оценка поведенческих реакций крыс при экспериментальной модели болезни Альцгеймера.

Задачи исследования:

определить влияние полифенолов на кальций-зависимые процессы в синапсах головного мозга крыс;

определить действие полифенолов на фоне агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов в условиях *in vitro*;

оценить поведение крыс при экспериментальной модели болезни Альцгеймера в условиях *in vivo*;

определить влияние полифенолов на кальций-транспортирующие системы при экспериментальной модели болезни Альцгеймера в условиях *in vitro*.

Объект исследования. В качестве объекта исследования выбраны полифенолы Karalinia (выделенный из надземной части растения *Karelinia caspia*) и Punitan (выделенный из кожуры граната *Punica granatum* L.), представленных сотрудниками лаборатории химии белков и пептидов Института биоорганической химии имени акад. А.С. Садыкова АН РУз., синапсомы головного мозга крыс.

Предметом исследования является описание влияния полифенолов на систему транспорта Ca^{2+} в синапсах головного мозга крыс, интактных и моделированных болезнь Альцгеймера, в условиях *in vitro*.

Методы исследования. В диссертации использованы широко используемые в современной физиологии и биофизики методы дифференциального центрифугирования, моделирование нейродегенеративных заболеваний, метод флуориметрии и поведенческие тесты для крысы.

Научная новизна исследования состоит в следующем:

впервые выявлен механизм действия полифенолов Karalinia и Punitan на изменение динамики $[Ca^{2+}]_{in}$ в синапсосах головного мозга крысы;

установлено, что при инкубации полифенола Karalinia (10–100 мкМ) увеличивается интенсивность флуоресценции и проницаемость мембраны для ионов Ca^{2+} , в результате чего повышается концентрация $[Ca^{2+}]_{in}$;

выявлено, что полифенол Punitan вызывает изменения концентрации внутриклеточного кальция в синапсосах головного мозга крыс путем конкуренции за участки Mg^{2+} -связывающих сайтов NMDA-рецепторов;

доказано, что в условиях экспериментальной модели болезни Альцгеймера полифенол Karalinia оказывает регулирующее действие на динамику $[Ca^{2+}]_{in}$ в нервных клетках на основе конкуренции с глутаматом.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

результаты, полученные при описании влияния полифенолов Karalinia и Punitan на транспорт Ca^{2+} в синапсосах головного мозга крысы, служат научной основой для разработки потенциальных нейропротекторных препаратов. Полученные результаты расширяют круг существующих теоретических знаний о механизмах нейропротекторного действия биологически активных веществ при нейродегенеративных состояниях. Также полученные данные о влиянии полифенолов Karalinia и Punitan на интенсивность флуоресценции в суспензии синапсом головного мозга крысы в условиях *in vitro* позволяют разработать фармакологические препараты с нейропротекторным действием на основе модуляции динамики $[Ca^{2+}]_{in}$ в нервных клетках исследуемых полифенолов через NMDA-рецептор.

Достоверность результатов исследования подтверждается применением в исследовательской работе современных физиологических методов и оборудования, программного обеспечения, а также современных биофизико-биохимических методов исследования. Каждый исследовательский эксперимент проводили не менее 4–6 раз. Обработка полученных данных была подвергнута статистическому анализу с использованием компьютерной программы OriginPro 7.5 (OriginLab Corporation, США) путем расчета интервальных значений достоверного интервала среднего значения с использованием критерия Стьюдента. Доказательство полученных результатов поясняется опубликованием результатов исследований в рецензируемых научных изданиях.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования объясняется расширением круга теоретических знаний о механизмах регуляции Ca^{2+} -гомеостаза, объяснением фармакологической регуляции функциональной активности Ca^{2+} -транспортных систем и NMDA-рецепторов в синапсосах головного мозга.

Практическая значимость научных результатов исследований заключается в том, что выявленные случаи воздействия полифенолов Karalinia и Punitan на механизмы действия Ca^{2+} -транспорта в синапсосах головного мозга крысы могут быть использованы при разработке новых нейропротекторных препаратов с целью фармакологической коррекции в

условиях нейродегенеративных заболеваний.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных научных результатов по изучению влияния полифенолов Karalinia и Punitan на изменение динамики синапсосомального $[Ca^{2+}]_{in}$ в мозге крыс:

результаты, полученные с помощью полифенола Punitan, корректирующего изменения внутриклеточного содержания кальция в синапсосомах головного мозга крыс путем конкуренции за участки Mg^{2+} -связывающих сайтов NMDA-рецепторов, были использованы в научных проектах Лаборатории растительных ресурсов и химии засушливых районов Синьцзянского Института физики и химических технологий Китайской академии наук для выявления фармакологических особенностей полифенолов (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry CAS, справка № 830011 от 10 августа 2023 г.). Результаты позволили охарактеризовать фармакологические особенности биологически активных соединений растительного происхождения, произрастающих в засушливых регионах;

результаты воздействия полифенола Karalinia на действие L-глутамата в норме и в условиях болезни Альцгеймера путем модуляции активности NMDA-рецепторов в постсинаптической мембране были использованы в научных проектах Лаборатории растительных ресурсов и химии засушливых регионов Синьцзянского Института физики и химических технологий Китайской академии наук для выявления фармакологических особенностей полифенолов (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry CAS, справка № 830011 от 10 августа 2023 г.). В результате, появилась возможность использовать биологически активные соединения для определения механизмов контроля эксайтотоксичности глутамата;

полученные результаты по снижению внутриклеточной концентрации кальция через постсинаптические NMDA-рецепторы полифенолами Karalinia и Punitan в экспериментальных нейродегенеративных состояниях использованы в проекте прикладных исследований БУ ВО Хант-Мансийского автономного округа – Югры Российской Федерации «Сургутский государственный университет» на тему: «Технологии выращивания и извлечения биологически активных соединений северных ягодных культур и лекарственных трав (ЮграБиоФарм)» при определении и оценки биологической активности полифенолов (справка № 03-01/205 от 05 октября 2023 г.). В результате выяснены механизмы нейропротекторного действия полифенолов при возраст-ассоциированных заболеваниях и выявлены природные полифенолы со значительной биологической активностью.

Апробация результатов исследования. Результаты исследований были обсуждены на 6 международных и 5 республиканских научно–практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 5 научных статей, в том числе 2 в республиканских и 3 в зарубежных журналах, два из которых

входит в базу данных Scopus, рекомендованных к публикации основных научных результатов диссертаций доктора философии (PhD) Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, трех глав, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации составляет 109 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновываются актуальность и востребованность проведенного исследования, цель и задачи исследования, характеризуются объект и предмет, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, излагаются научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются научная и практическая значимость полученных результатов, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации, озаглавленной **«Механизмы регулирования транспорта кальция при поддержании гомеостаза нервных клеток головного мозга»** приведены сведения о роли и функции Ca^{2+} в организме человека, о механизмах транспорта Ca^{2+} и их регулирования, о важности Ca^{2+} -гомеостаза в нервных клетках, сведения о глутамате и его токсичности, о структурах и функциях NMDA-рецепторов головного мозга, о механизмах нарушения Ca^{2+} -гомеостаза и их последствиях при нейродегенеративных заболеваниях, о влиянии полифенолов на нервную систему.

Во второй главе диссертации, озаглавленной **«Методы изучения транспорта кальция в синапсах головного мозга крыс»** представлены материалы исследований, условия экспериментов, порядок их проведения и методы, используемые при их реализации. В работе использованы синапсы, полученные из головного мозга белых беспородных крыс-самцов, массой 250-300 г, которые являются адекватной и удобной моделью для изучения пресинаптических процессов. В частности, использованы методы экспериментальной моделирования болезни Альцгеймера, выделение из головного мозга крысы суспензий синапсов методом дифференциального центрифугирования, методы определения когнитивных функций тест «Открытое поле» и тест «Условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ)», метод определения концентрации кальция с помощью флуоресцентных зондов, а также методы математической и статистической обработки полученных результатов.

В третьей главе диссертации, озаглавленной **«Влияние полифенолов на транспорт кальция в синапсах головного мозга крыс»** в *in vitro* экспериментах были изучены кальций-транспортирующие системы в синапсах головного мозга крыс.

Изменение динамики цитоплазматического кальция в синапсосамах головного мозга крыс.

Об активности L-глутамата судили по изменению интенсивности флуоресцентного сигнала, по изменению цитоплазматических уровней свободного кальция $[Ca^{2+}]_{in}$.

В современных экспериментальных электрофизиологических исследованиях анализ механизма регуляции глутаматом является стандартным методом оценки динамики транспорта Ca^{2+} в синапсах. При этом использование флуоресцентных зондов типа ХТЦ (хлортетрациклин) и Fluo-3 АМ (пентаацетоксиметилловый эфир [2-амино-5-(2,7-дихлор-6-гидрокси-3-оксо-9-ксантенил)фенокси]-2-(2-амино-5-метилфенокси)этан-ПП, №,№-тетрауксусной кислоты) позволяет получить достаточно надежные данные по оценке влияния биологически активных веществ на транспорт Ca^{2+} в синапсосамах на основе регистрации интенсивности флуоресценции.

На начальном этапе исследований были проведены эксперименты по исследованию влияния глутамата на уровень внеклеточного кальция в синапсосамах головного мозга крыс. Предварительно с помощью Ca^{2+} -чувствительного зонда ХТЦ установлено отношение флуоресценции, возбуждаемой светом с длинами волн 340 и 405 нм (F_{340}/F_{405}), в синапсосамах. Удаление Ca^{2+} из внеклеточной среды, преинкубированием этиленгликоль-бис(2-аминоэтиловый эфир)-N,N,N,N-тетрауксусной кислотой (ЭГТА), приводил к снижению флуоресценции на $30 \pm 5\%$.

В присутствии в инкубационной среде ЭГТА, глутамат в концентрации 50 мкМ снижает уровень флуоресценции на $20 \pm 3\%$ по сравнению с контролем, что свидетельствует о снижении концентрации межклеточного Ca^{2+} , вызванное глутаматом, обусловленным в первую очередь активацией мембранной проницаемости, перемещением Ca^{2+} внутрь клетки и освобождением Ca^{2+} из внутриклеточных депо (рис. 1А).

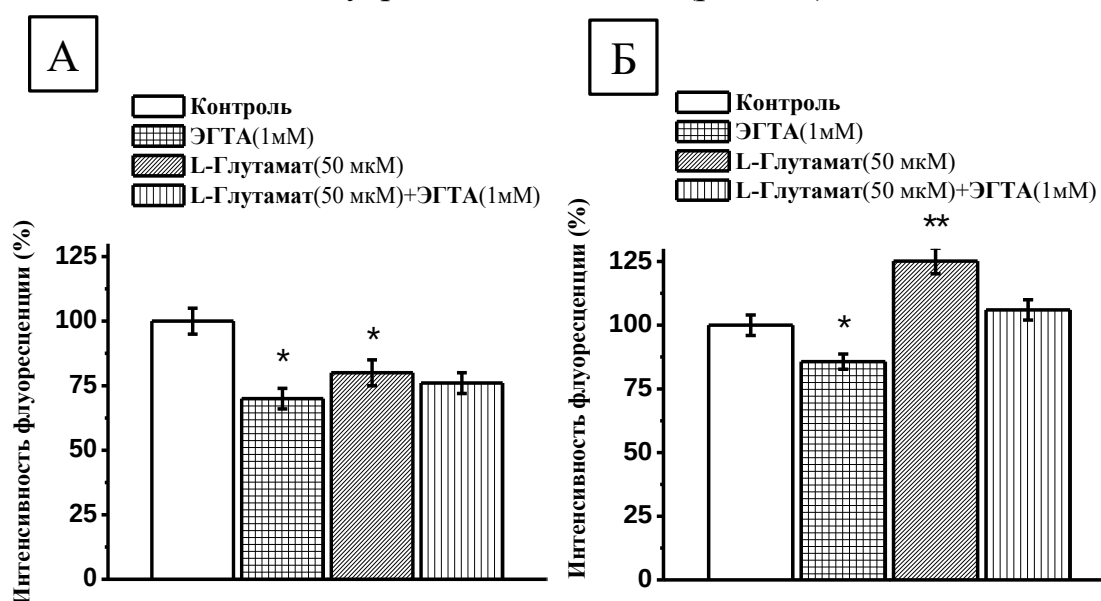


Рис. 1. Действие L-глутамата (50 мкМ) на интенсивность флуоресценции в суспензии синапсосом головного мозга крыс при инкубации с ЭГТА (1 мМ). А) ХТЦ, Б) Fluo-3 АМ. Степень достоверности: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

В следующих сериях экспериментов исследовано влияние глутамата на уровень внутриклеточного кальция в синапсосамах головного мозга крысы с использованием Fluo-3 АМ. Возбуждение флуоресценции вызывали при 488 нм, а регистрацию флуоресценции при 530 нм. В результате глутамат приводил к увеличению флуоресценции на $25.2 \pm 3\%$. В присутствии в инкубационной среде ЭГТА, глутамат в концентрации 50 мкМ увеличивает уровень флуоресценции по сравнению с контролем на $6 \pm 3,5\%$, что свидетельствует об увеличении концентрации Ca^{2+} в цитозоле ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$), вызванное глутаматом, возможно обусловленным активацией мембранной проницаемости и активации кальциевых каналов NMDA-рецепторов (рис. 1Б).

Кратковременная пресинаптическая пластичность, связанная с высвобождением нейромедиаторов, определяет форму ответа постсинаптического нейрона и играет ключевую роль в кодировании информации в нервной системе. Регуляция пресинаптических Ca^{2+} -каналов может облегчать, либо инактивировать входящие потоки ионов Ca^{2+} . Это сильная зависимость высвобождения нейромедиатора от пресинаптического Ca^{2+} -тока может предсказать механизмы регуляции, которые будут оказывать воздействие на кратковременную пресинаптическую пластичность.

Исследование действия полифенолов на транспорт кальция в синапсосамах головного мозга крыс. Полифенолы - уникальные биологические активные соединения, которые могут пересекать гематоэнцефалический барьер, достигать клеток головного мозга, модулировать опосредованное микроглией воспаление и оказывать нейропротекторное действие, потенциально способствуя облегчению нейродегенеративных заболеваний.

Для выяснения действия полифенолов Karalinia и Punitan (10-100 мкМ) на изменение транспорта Ca^{2+} в суспензии синапсом головного мозга крыс, было произведено предварительное преинкубирование с синаптическими мембранами, затем добавлено Fluo-3 АМ для измерения уровня внутриклеточной концентрации Ca^{2+} в синапсосамах. При этом наблюдалось изменение флуоресценции и уровня $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$, соответственно. Увеличение концентрации Karalinia (10-100 мкМ), соответственно приводило к дозозависимому увеличению интенсивности флуоресценции, увеличение концентрации Punitan (10-100 мкМ), приводило к снижению флуоресценции по сравнению с контролем (рис. 2А). При действии глутамата (10-100 мкМ) наблюдалось увеличение концентрации внутриклеточного кальция. Добавление глутамата способствовало повышению внутри синапсосомального кальция.

Из литературных данных известно, что активация L-глутаматного рецептора, в свою очередь, вызывает открытие кальциевых каналов ионотропных рецепторов, поступление кальция в синапсосомы через мембраны и деполяризацию мембран с последующим высвобождением аминокислотных нейромедиаторов.

В следующих экспериментах проведено преинкубирование полифенолов Karalinia и Punitan (10-100 мкМ) с комплексом ХТЦ-синапсоса для измерения уровня внеклеточного кальция и интенсивности флуоресценции (рис. 2Б).

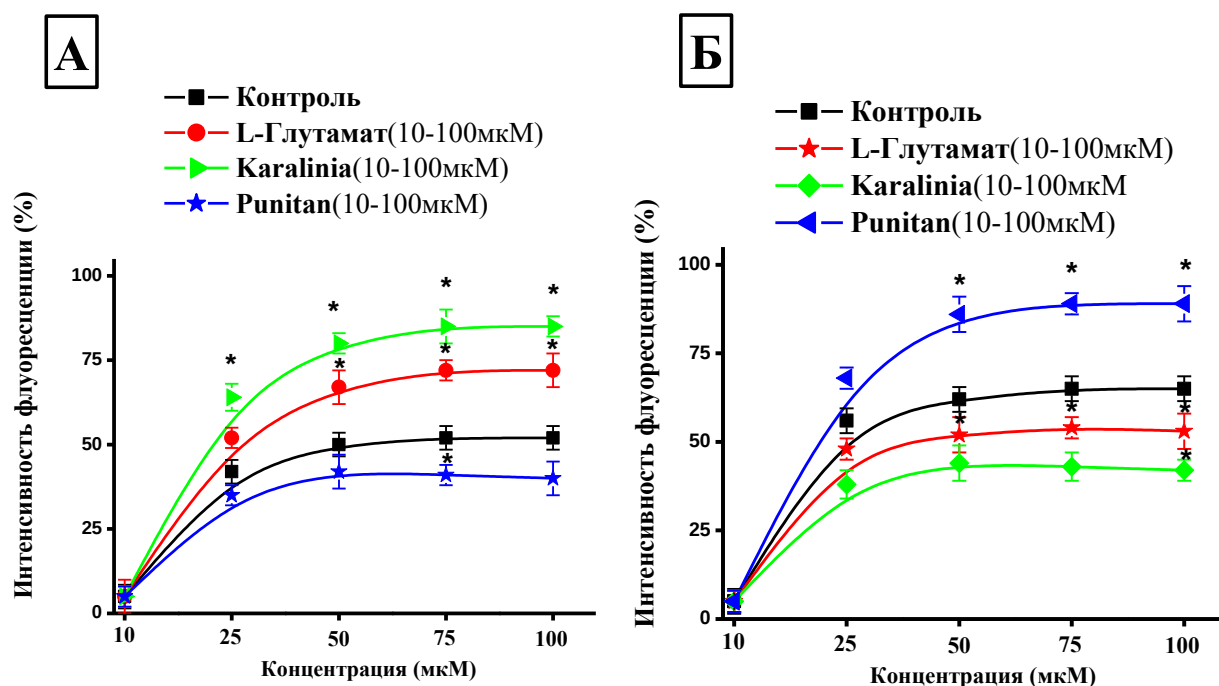


Рис. 2. Влияние полифенолов Karalinia и Punitan и L-глутамата в концентрациях (10–100 мкМ) на интенсивность флуоресценции суспензии синапсосом головного мозга крысы. А) Fluo-3 AM, Б) ХТЦ. Степень достоверности: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

Полученные данные экспериментального исследования свидетельствуют о том, что полифенол Punitan в концентрациях 10-100 мкМ дозозависимо увеличивает интенсивность флуоресценции по сравнению с контролем и этим препятствует транспорту кальция через плазматическую мембрану. Полифенол Karalinia и глутамат в концентрациях 10-100 мкМ дозозависимо снижают интенсивность флуоресценции по сравнению с контролем и способствуют проникновению ионов кальция через мембрану в цитоплазму (рис. 2Б).

Предварительное преинкубирование полифенолов Karalinia и Punitan (10 мкМ) с синаптическими мембранами, затем добавление ХТЦ на фоне глутамата приводило к изменениям интенсивности флуоресценции и уровня $[Ca^{2+}]_{in}$ соответственно. Увеличение концентрации Karalinia (10-100 мкМ), соответственно приводило к снижению эффекта глутамата (50 мкМ). Исходя из этого можем сделать вывод, что полифенол Karalinia действует на глутамат-связывающий сайт участок NMDA-рецептора, конкурируя с глутаматом (50 мкМ) (рис. 3А).

Полифенол Punitan в концентрациях (10-100 мкМ) на фоне глутамата (50 мкМ) не изменил свое блокирующее действие. Из полученного научного результата можем сделать вывод о том, что Punitan не действует на глутамат-связывающий сайт участок NMDA-рецептора.

Установлено, что инкубация Karalinia и Punitan (10–50 мкМ) в суспензии синапсом значительно изменяет интенсивность ХТЦ-флуоресценции. При добавлении L-глутамата (50 мкМ) Karalinia существенно снижает интенсивность флуоресценции, а Punitan (10–100 мкМ) на фоне с L-глутаматом (50 мкМ) не меняет свое действие (рис. 3 А).

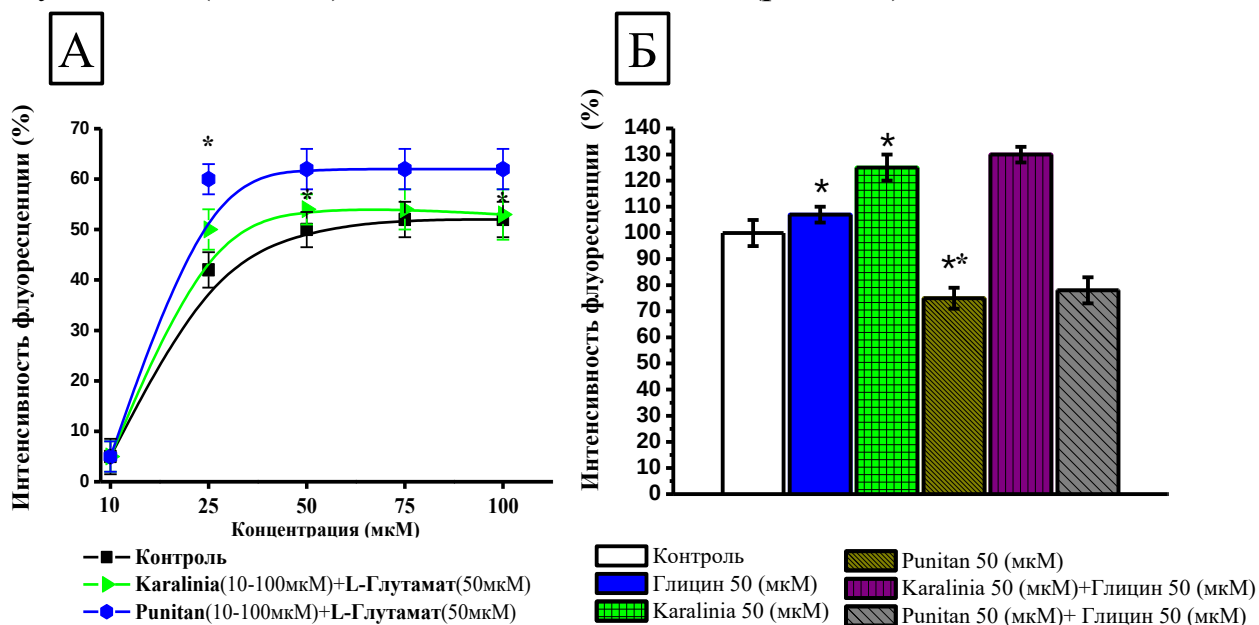


Рис. 3. А) Влияние полифенолов Karalinia и Punitan (10-100 мкМ) на интенсивность ХТЦ-флуоресценции суспензии синапсом мозга крыс в условиях инкубации с глутаматом (50 мкМ). Б) Действие глицина на NMDA-рецептор на фоне полифенолов Karalinia и Punitan, преинкубированный в суспензии синапсом с Fluo-3 AM. Степень достоверности: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

Исследование действия глицина на NMDA-рецепторы на фоне полифенолов. Из предыдущих экспериментов выяснилось, что глицин связывается с активным участком NMDA-рецептора и активирует кальций-канал через этот рецептор. В следующих экспериментах провели исследование с целью выяснения комплексного действия 50 мкМ глицина на фоне полифенолов Karalinia и Punitan (50 мкМ), преинкубированный с Fluo-3 AM (рис. 3 Б).

Как уже выяснилось, глицин действует на глицин-связывающий участок NMDA-рецептора и таким образом способствует активацию Ca^{2+} -канала. Полученные результаты показывают, что полифенолы Karalinia и Punitan не влияют на действие глицина, это объясняется тем, что Karalinia и Punitan не связываются с глицин-связывающим участком NMDA-рецептора.

Исследование действия ионов Mg^{2+} на NMDA-рецептор на фоне полифенолов. Показано, что ионы магния в миллимолярных концентрациях значительно ингибируют флуоресценцию комплекса глутамат-синапсосома.

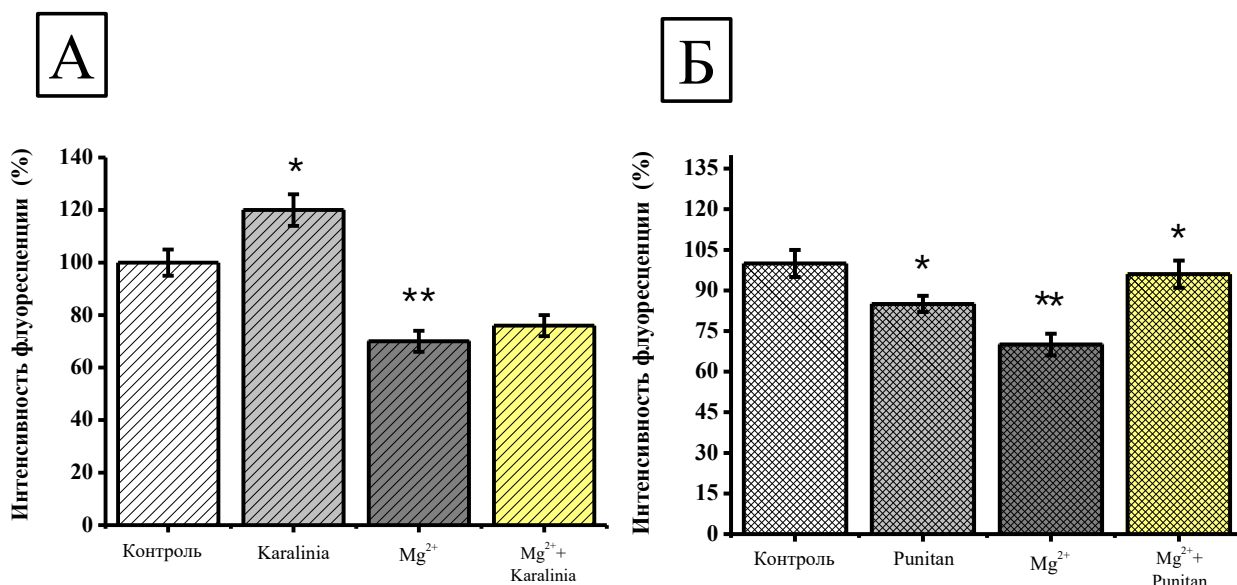


Рис. 4. Влияние неконкурентного антагониста NMDA-рецептора Mg^{2+} на фоне Karalinia (А) и Punitan (Б) на интенсивность флуоресценции (Fluo-3 AM) и уровень $[Ca^{2+}]_{in}$ в синапсосах головного мозга крыс. Степень достоверности: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n = 6$).

Показано, что ингибирующее действие ионов магния (50 мкМ) на интенсивность флуоресценции комплекса суспензии синапсосом не изменяется на фоне Karalinia (50 мкМ). Вероятно, это обусловлено тем, что нет конкуренции между Mg^{2+} и Karalinia за участки, стимулирующих открывание ионных Mg^{2+} -каналов (рис. 4 А).

Известно, что механизм связывания магния на сайте NMDA-рецептора включает взаимодействие ионов магния со специфическими сайтами связывания на рецепторе. Когда NMDA-рецептор находится в состоянии покоя, внешние ионы магния связываются с порой рецептора и блокируют трансмембранный ионный канал, предотвращая приток ионов кальция в клетку. А также, связывание магния с NMDA-рецептором зависит от напряжения. При мембранном потенциале покоя внешние ионы магния связываются с порой рецептора и предотвращают дальнейшее проникновение ионов. Это помогает поддерживать отрицательный мембранный потенциал.

Под влиянием полифенола Punitan ингибирующее действие с комплексом ионов магния (50 мкМ) изменилось. Вероятно, это обусловлено тем, что имеется конкуренция между Mg^{2+} и Punitan за участки, стимулирующих открывание Mg^{2+} -каналов (рис. 4 Б).

Исследование действия нифедипина на Ca^{2+} -каналы на фоне полифенолов. В экспериментах преинкубирование нифедипина (50 мкМ) с комплексом суспензии (Fluo-3 AM)-синапсоса приводило к снижению флуоресценции. Преинкубирование Karalinia (50 мкМ) повышает интенсивность флуоресценции, полифенол Punitan (50 мкМ) с комплексом суспензии (Fluo-3 AM)-синапсоса снижает коэффициент флуоресценции.

Преинкубирование Karalinia (50 мкМ) на фоне нифедипина (50 мкМ) с комплексом (Fluo-3 AM)-синапсоса, не приводило значительному

изменению флуоресценции, что указывает на отсутствие конкуренции между Karalinia и нифедипином за участок регулирования дигидропиридин-чувствительных кальциевых каналов.

Также, преинкубирование Punitan (50 мкМ) на фоне нифедипина (50 мкМ) с комплексом (Fluo-3 АМ)-синаптосома, не приводило к значительному изменению флуоресценции с полифенолом Punitan, что указывает на то, что Punitan не влияет на действие нифедипина за участок регулирования дигидропиридин-чувствительных кальциевых каналов.

Вместе с этим, нами на фоне блокаторов циннаризина и верапамила было проверено действие полифенолов на другие кальциевые каналы. Из полученных результатов выяснилось, что полифенолы Karalinia и Punitan не действуют на другие кальциевые каналы.

Тест «Открытое поле» для определения когнитивных функций крыс.

Результаты поведенческих тестов показали, что в контрольных группах экспериментальные животные на тестах «Открытое поле» были очень активными и перевозбужденными, быстро двигались и практически не стояли на одном месте. В то же время модельные (БА) группы были очень пассивными, нервная система у них заторможенная и животные долго задерживались на одном месте. Это свидетельствует о том, что после введения нейротоксина в организм животного нарушается нормальное функционирование нервной системы, нарушается передача импульсов в нейронах и происходит гибель клетки.

Тест «УРПИ» для определения когнитивных функций крысы и выявление патологических симптомов болезни Альцгеймера

Полученные результаты на тестах «УРПИ» показали, что в контрольных группах животные, находившиеся в светлом отсеке, быстро стремились перейти в темный отсек, после того как в темном отсеке получали электрическое раздражение и быстро переходили опять в светлый отсек. При повторном проведении теста экспериментальные животные не переходили в темный отсек от светлого. Когда модельные (БА) группы животных поместили в светлый отсек, они не сильно стремились перейти в темный отсек, после того как они зашли подавали раздражение. При повторном проведении данного теста экспериментальные животные, как и в прошлый раз, медленно заходили в темный отсек и снова получали раздражение. Полученные данные свидетельствуют о том, что в контрольной группе экспериментальные животные быстро переходили в темный отсек, который напоминал норку животных, но после получения раздражения при повторном проведении этого же теста не переходили в темный отсек (рис. 5).

Из этого можем сделать вывод, что у животных появилась реакция на раздражение в темном отсеке и это остался у них в памяти. В модельной группе изначально животные были очень пассивными и медленно переходили в темный отсек.

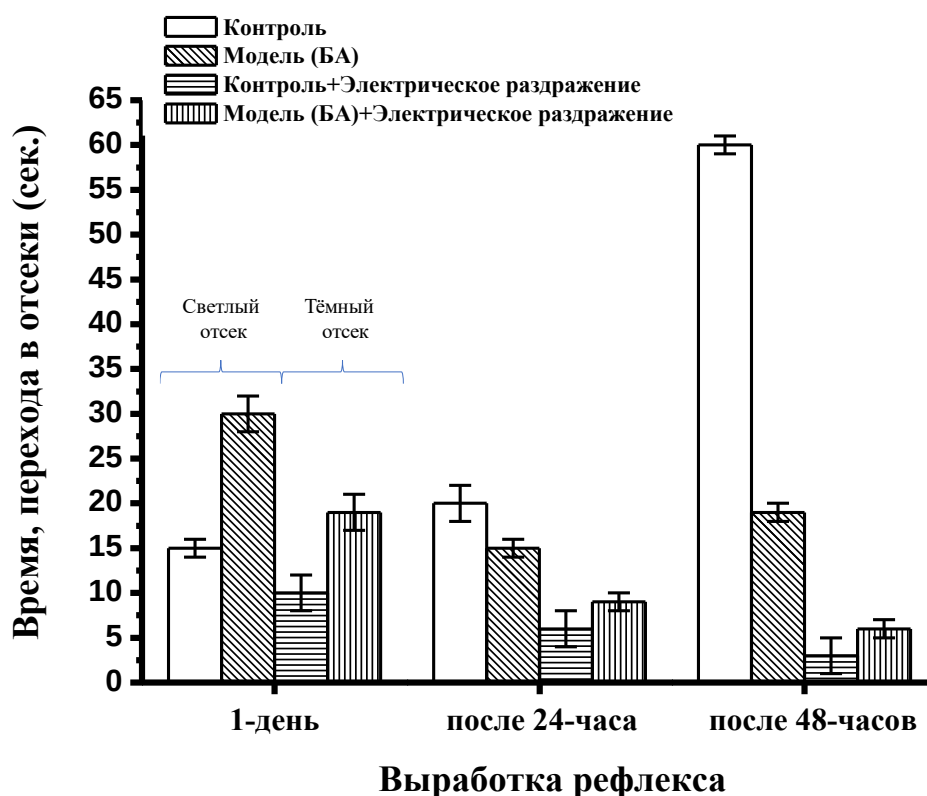


Рис. 5. Тест Условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ), выработка рефлекса. Во всех случаях $P < 0,05$ ($n=6$).

При повторном проведении теста животные снова заходили в тёмный отсек и получали раздражение. Это говорит о том, что у модельной группы животных сильно нарушены когнитивные функции и память, ориентация в пространстве, которые являются симптомами БА (рис.5).

Действие L-глутамата на интенсивность флуоресценции в суспензии синапсом головного мозга крыс при экспериментальных моделях болезни Альцгеймера.

Мы в работе использовали синапсомы, полученные из мозга крыс, смоделированных БА, которые являются адекватной и удобной моделью для изучения пресинаптических процессов. Об активности L-глутамата судили по изменению интенсивности флуоресцентного сигнала, по изменению цитоплазматического уровня свободного кальция $[Ca^{2+}]_{in}$.

В экспериментах исследовали влияние L-глутамата на уровень цитоплазматического кальция в синапсоме головного мозга крыс. При удалении Ca^{2+} из внеклеточной среды предварительная инкубация с ЭГТА приводила к снижению флуоресценции на $15 \pm 3\%$. В присутствии ЭГТА в иммерсионной среде L-глутамат в 50 мкМ концентрациях увеличивает уровень флуоресценции на $28 \pm 3\%$, что свидетельствует об увеличении концентрации цитоплазматического Ca^{2+} в синапсоме. В следующих экспериментах обнаружено, что на фоне моделируемой БА L-глутамат в концентрации 50 мкМ повышает уровень флуоресценции на $15-20 \pm 4\%$, это в первую очередь происходит за счет активизации проницаемости мембран, входа Ca^{2+} внутрь клетки и высвобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо (рис. 6).

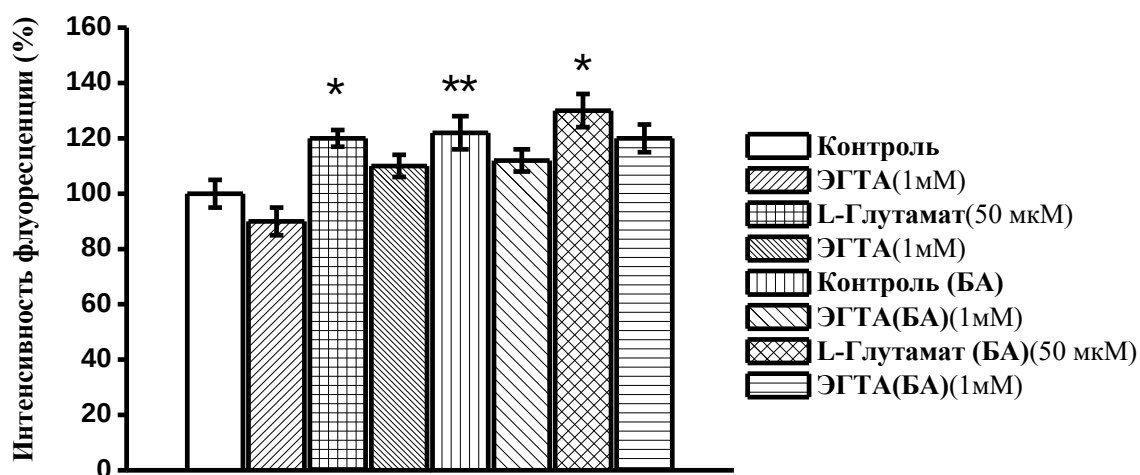


Рис. 6. Влияние L-глутамата (50 мкМ) на интенсивность флуоресценции в суспензии (Fluo-3 АМ) синапсом головного мозга крысы при инкубации с ЭГТА (1 мМ) в контроле и на модели БА. Степень достоверности: * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$ ($n=6$).

Результаты экспериментов на моделях БА могут объяснить, что при БА из пресинаптического терминала высвобождается поток L-глутамата и они функционируют как регуляторы глутаматного нервного рецептора, передающих постсинаптических сигналов. Таким образом, изменение концентрации мембраносвязанного Ca^{2+} может осуществляться как за счет поступления его из внешней среды, так и за счет выхода кальция из внутриклеточных депо.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при БА внеклеточное увеличение концентрации L-глутамата вызывает изменения в опосредованной L-глутаматом нейротрансмиссии путем активации кальциевых каналов ионотропных NMDA-рецепторов и деполяризации мембраны нейрона, что в свою очередь запускает последовательность внутриклеточных процессов, кульминацией которых является приток Ca^{2+} и Na^+ . В результате открытие канала NMDA-рецепторов может обеспечить проницаемость преимущественно ионов Ca^{2+} , Na^+ , K^+ . Приток Ca^{2+} через каналы NMDA-рецепторов имеет решающее значение как для физиологических, так и для патологических эффектов активации L-глутаматного рецептора.

Действие полифенолов Karalinia и Punitan на транспорт кальция на фоне антагонистов в моделях с болезнью Альцгеймера. Полученные данные с использованием полифенолов могут быть использованы при разработке различных нейропротекторных препаратов для предотвращения глутаматной эксайтотоксичности и регулирования функциональной активности транспорта кальция по кальциевым каналам NMDA-рецептора при БА.

В следующих экспериментах изучали механизм действия полифенолов на кальциевые каналы в синапсах головного мозга крыс, выделенных из модельной группы с БА. Для этого использовались блокаторы Ca^{2+} -каналов - нифедипин, аргилобатин, мемантин и ионы магния, преинкубированные с Fluo-3 АМ.

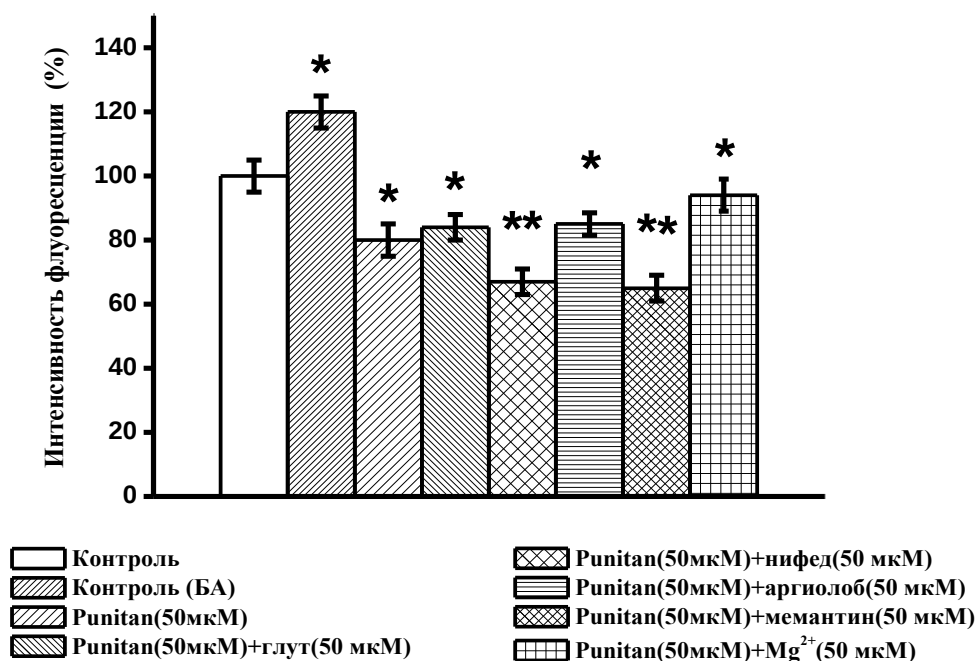


Рис. 7. Действие полифенола Punitan на интенсивность флуоресценции (Fluo-3 AM) в суспензии синапсом головного мозга крысы, моделированной БА, на фоне блокаторов Ca^{2+} -канала и глутамата. Степень достоверности. *— $P < 0,05$; **— $P < 0,01$ ($n=6$).

Из полученных данных можно увидеть, что у синапсом, выделенных из модельной группы с БА, интенсивность флуоресценции (Fluo-3 AM) выше по сравнению с контрольной интактной группой. Это свидетельствует о том, что в патологических состояниях БА проницаемость Ca^{2+} через мембрану увеличивается за счет чрезмерной активации NMDA-рецептора.

Полифенол Punitan способствует блокированию кальциевого канала и этим снижает концентрацию Ca^{2+} во внутриклеточной среде по сравнению с контролем. Глутамат (50 мкМ) на фоне Punitan не проявляет свою активность на Ca^{2+} -каналы и в результате снижается интенсивность флуоресценции. Нифедипин (50 мкМ) и аргиниолобатин (50 мкМ) снижают флуоресценцию вместе с Punitan за счет стимуляции блокирования потенциал-зависимых кальциевых каналов, а также 50 мкМ мемантин на фоне Punitan значительно снижает концентрацию внутриклеточного Ca^{2+} по сравнению с контролем. Исходя из этого можно сделать вывод о том, что Punitan заметно усиливает действие мемантина и он может послужить основой для создания перспективного нейропротекторного средства для лечения БА. Mg^{2+} всем известный блокатор кальциевого канала NMDA-рецепторов, но экспериментальные данные показывают, что на фоне полифенола Punitan интенсивность флуоресценции заметно повышается, этому может способствовать конкурентное действие полифенола Punitan за Mg^{2+} -связывающий сайт NMDA-рецептора синапсом головного мозга (рис. 7).

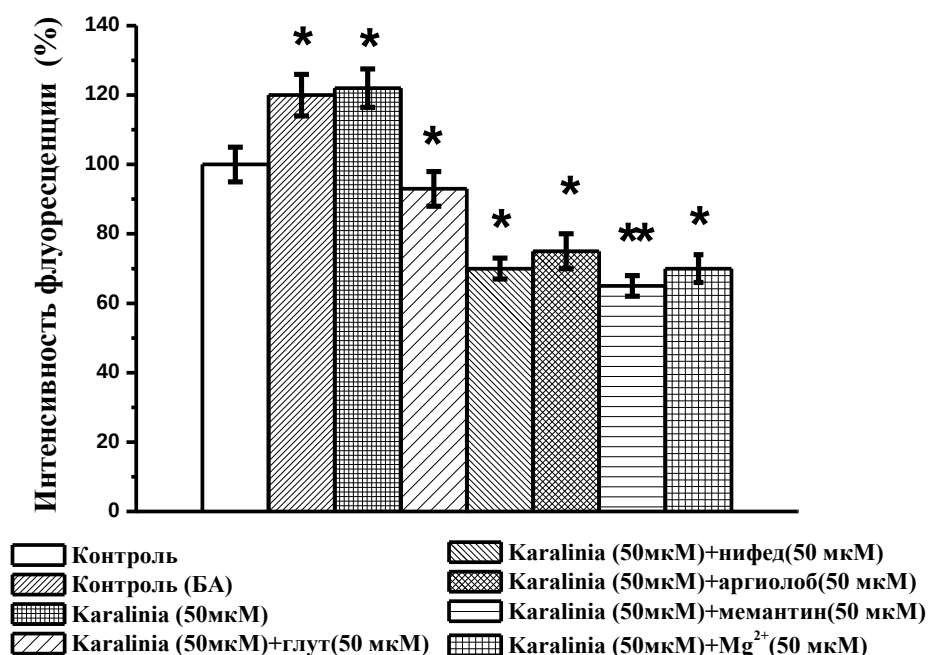


Рис. 8. Действие полифенола Karalinia на интенсивность флуоресценции (Fluo-3 АМ) в суспензии синапсом головного мозга крысы, моделированной БА, на фоне блокаторов Ca²⁺-канала и глутамата. Степень достоверности. *– P<0,05; **– P<0,01 (n=6).

Полифенол Karalinia в концентрации 50 мкМ как в контроле, так и при нейродегенеративных состояниях показал себя в качестве активатора Ca²⁺-канала, но при комплексном действии с 50 мкМ глутаматом снижает интенсивность флуоресценции. Полученные данные свидетельствуют о том, что Karalinia инактивирует глутамат-связывающий сайт и снижает поток кальция во внутрь клетки. С блокаторами нифедипин, аргинолобатин, мемантин и Mg²⁺ значительного изменения не наблюдались (рис. 8).

ВЫВОДЫ

1. Показано, что полифенолы Karalinia, выделенный из надземной части растения *Karelinia caspia* и Punitan, выделенный из кожуры граната *Punica granatum* L. являются модуляторами уровня цитоплазматического кальция в синапсах головного мозга крыс.

2. Выявлено, что полифенолы Karalinia и Punitan не действуют на Ca²⁺-канал L-типа и на аллостерический участок ионных каналов мембран.

3. Обнаружено, что полифенол Karalinia действует на участок глутамат-связывающего сайта NMDA-рецептора, возможно конкурируя с глутаматом.

4. Установлено, что полифенол Punitan действует на участок Mg²⁺-связывающего сайта NMDA-рецептора.

5. Установлено, что в модельных экспериментах болезни Альцгеймера полифенол Punitan облегчает симптомы болезни путём блокирования кальциевых каналов Mg²⁺-связывающего сайта NMDA-рецептора, а также, полифенол Karalinia частично ингибирует эксайтотоксичность глутамата при болезни Альцгеймера.

**SCIENTIFIC COUNCIL FOR AWARDING SCIENTIFIC DEGREES
DSc03/30.12.2019.B.01.13 AT THE INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND
BIOCHEMISTRY OF THE NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY

MUKHTOROV ALISHER ABDUGAFOR OGLI

**STUDY OF THE INFLUENCE OF BIOLOGICALLY ACTIVE
COMPOUNDS ON THE CHANGE IN $[Ca^{2+}]_{in}$ DYNAMICS IN
SYNAPTOSOMES OF THE RAT BRAIN**

03.00.08 – Physiology of humans and animals

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR OF PHILOSOPHY (PhD)
OF BIOLOGICAL SCIENCES**

Tashkent – 2024

The dissertation of PhD has been registered with number B2021.1.PhD/B555 at the Supreme Attestation Commission at the Ministry of higher education, science and innovations of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the Institute of Biophysics and Biochemistry under the National University of Uzbekistan and Namangan state university.

The abstract of the dissertation in three (uzbek, russian and english (resume)) languages has been placed on the website of the Scientific Council (www.ibb-nuu.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor:

Khoshimov Nozimjon Numonzhonovich
Doctor of philosophy in biological sciences

Official opponents:

Shakhmurova Gulnara Abdullaevna
Doctor of biological sciences, professor

Gayibov Ulugbek Gapparzhanovich
Doctor of philosophy in biological sciences

Leading organization:

Andijan state university

The dissertation will be defended on _____ 2024 year _____ at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 at the Institute of Biophysics and Biochemistry, at the National University of Uzbekistan at the following address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Students town, University st., 174. Phone: (99871) 246-68-96.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of Biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number № _____). Address: 100174, Tashkent city, Olmazor district, Students town, University st., 174. Phone: (99871) 246-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

The abstract of the dissertation has been distributed on « _____ » _____ 2024.
(Protocol at the register № _____ dated « _____ » _____ 2024).



Sabirov Ravshan Zairovich
Chairman of Scientific Degrees swarding
Scientific Council, D.B.Sc., academician

Pozilov Mamurjon Komiljonovich
Acting Vice Scientific secretary of scientific degrees
awarding scientific council, D.B.Sc.

Kurbannazarova Ranokhon Sharapovna
Deputy Chairman of the academic seminar under the
Scientific Council Awarding Scientific Degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the research. Define of the mechanism of the effect of Karalinia polyphenols, which were isolated from the above ground part of the plant *Karalinia caspia*, and Punitan, isolated from the peel of the pomegranate *Punica granatum* L., on the rats' Ca^{2+} -transporting system of brain synaptosome membrane and assessment of rats' behavioral reactions in an experimental model of Alzheimer's disease.

The objects of the research. The objects of the study are the polyphenols Karalinia (isolated from the above ground part of the plant *Karalinia caspia*) and Punitan (isolated from the peel of the pomegranate *Punica granatum* L.), which was provided by the staff of the Laboratory of Protein and Peptide Chemistry of the Institute of Bioorganic Chemistry named after A.S. Sadykov, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, synaptosomes the brain of rats.

The scientific novelty of the research:

The mechanism of effect of polyphenols Karalinia and Punitan on changes in the dynamics of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ synaptosomes in the rat brain was studied for the first time.

It was established that Karalinia polyphenol in the background of a Ca^{2+} -sensitive probe - in incubation conditions using chlortetracycline, glutamate (10–100 mkM), the intensity of fluorescence in a suspension of rat brain synaptosomes increased the permeability of the presynaptic membrane for Ca^{2+} ions, consecutively increasing the concentration $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$, due to activation of NMDA-receptors;

It was revealed that Punitan polyphenol triggers the changes in the concentration of intracellular calcium in rat brain synaptosomes by competing for Mg^{2+} binding sites with NMDA receptors.

It has been proven that in an experimental model of Alzheimer's disease, Karalinia polyphenol has a regulatory effect on $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ dynamics in nerve cells based on the competition with glutamate.

Implementation of the research results. Based on the obtained scientific results of studying the effect of polyphenols Karalinia and Punitan on changes in the dynamics of synaptosomal $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ in the brain of rats:

the results, obtained using polyphenol Punitan, correcting changes in intracellular calcium content in rat brain synaptosomes by competing at Mg^{2+} sites, binding sites with the NMDA-receptor, were used in scientific projects to identify the pharmacological characteristics of polyphenols in the Laboratory of Plant Resources and Arid Area Chemistry of Xinjiang Institute of Physics and Chemical Technology Member of the Chinese Academy of Sciences (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry CAS. reference No. 830011 dated August 10, 2023). The result made it possible to characterize pharmacological features of biologically active compounds in plants growing in arid regions;

the results of the effect of Karalinia polyphenol on L-glutamic acid in normal and Alzheimer's disease conditions by modulating the activity of NMDA-receptors

in the postsynaptic membrane were used in scientific projects to identify the pharmacological characteristics of polyphenols in the Laboratory of Plant Resources and Arid Area Chemistry of Xinjiang Institute of Physics and Chemical Technology Member of the Chinese Academy of Sciences (Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry CAS. reference No. 830011 dated August 10, 2023). Thus, it became possible to use biologically active compounds to determine the mechanisms of controlling glutamate excitotoxicity;

the obtained results on the reduction of intracellular calcium concentration through postsynaptic NMDA receptors by Karalinia and Punitan polyphenols in experimental neurodegenerative conditions were used in the applied research project of BI HE the Khanti-Mansiysk Autonomous district- Yugra "Surgut State University" on the topic "Technologies for growing and extracting biologically active compounds of northern berry crops and medicinal herbs (YugraBioFarm)" in determining and assessing biological activity polyphenols (certificate No. 03-01/205 dated October 5, 2023). Consequently, the mechanisms of the neuroprotective effect of polyphenols in age-associated diseases were clarified and natural polyphenols with significant biological activity were identified.

The structure and volume of the dissertation. The structure of the dissertation consists of Introduction, three chapters, conclusions, and a list of references. The volume of the dissertation is 109 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I bo'lim (I часть; I part)

1. Хошимов Н.Н., Азизов В.Г., Мухторов А.А., Мамадаминов Р.Р., Рахимов Р.Н. Действия полифенолов на регуляции транспорт Ca^{2+} NMDA-рецепторов синапсомозга крыс // Наманган давлат университети илмий ахборотномаси. – 2021. Махсус сон. – С.63-73. (03.00.00; №17).

2. Mukhtorov A.A., Mamadaminov R.R., Khoshimov N.N., Nasirov K.E., Rakhimov R.N., Lutpillayev X.G. Regulation of transport of Ca^{2+} NMDA-receptors in rat brain synaptosomes under the influence of polyphenols // European Journal of Medicine. – USA, 2022. – 10 (1) – P. 3-11. (17-Open Academic Journals Index (CGIJ OAJI-0.201)).

3. Khoshimov N.N., Mukhtorov A.A., Nasirov K.E., Rakhimov R.N., Mamadaminov R.R. Effects of polyphenols on changes in the transport of Ca^{2+} NMDA-receptors Under the influence of l-glutamate against the background of Alzheimer's Disease // Journal of Pharmaceutical Negative Results. – India, 2022. – Volume 13 Special Issue 3 – P. 1323-1332. (Scopus. CiteScore 1.0).

4. Khoshimov N.N., Mukhtorov A.A., Nasirov K.E., Rakhimov R.N., Mamadaminov R.R. Effects of polyphenols on changes in the transport of Ca^{2+} NMDA-receptors under the influence of L-glutamate // Research Journal of Pharmacy and Technology. – India, 2023. – 16(3): – P. 1205-1213. (Scopus. P=17; Q2, CiteScore 1.3).

5. Хошимов Н.Н., Мухторов А.А., Насиров К.Э., Мустафакулов М.А. Моделирование нейродегенеративных заболеваний нервной системы // Инфекция, иммунитет и фармакология. – Ташкент, 2023. – № 2. – С. 242-249. (03.00.00., №7).

II bo'lim (II часть; Part II)

6. Khoshimov N.N., Saidmurodov S.A., Mukhtorov A.A., Rakhimov R.N. Regulation of glutamate excitotoxicity by polyphenol // Medical drugs for humans. Modern issues of pharmacotherapy and prescription of medicine – Materials of the V International Scientific and Practical Conference. (Kharkiv, 11 – 12 March. 2021 y.). – Kharkiv, 2021. – P. 70-72.

7. Khoshimov N.N., Rakhimova G.L., Mukhtorov A.A., Rakhimov R.N. Actions of polyphenolic compounds on glutamate – binding sites of the nmda receptor synaptosome in the rat brain // XXIV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье». Санкт-Петербург – 2021. – С.689-690.

8. Хошимов Н.Н., Махмудов Р.Р., Мухторов А.А., Мамадаминов Р.Р., Амиров О.О. Влияние ПС-9 на изменение динамику концентрацию $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{in}}$ синапсомозга крыс // Сборник материалов Международной научно-

практической конференции посвященной памяти академика РАН В.П.Зволинского и 30-летию создания ФГБНУ «ПАФНЦ РАН». с. Соленое Займище – 2021. – С. 1304-1307.

9. Khoshimov N.N., Mukhtorov A.A., Mamadaminov R.R., Rakhimov R.N. Effect of polyphenol on ionotropic glutamate NMDA-receptors of rat brain synaptosomes // XXIV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». Санкт-Петербург – 2022. – С.410-411.

10. Khoshimov N.N., Mukhtorov A.A., Mamadaminov R.R., Rakhimov R.N. Inhibition of the glutamate-binding site of the NMDA receptor under the action of polyphenol // XXIV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина — человек и его здоровье». Санкт-Петербург – 2022. – С.591-592.

11. Хошимов Н.Н., Мухторов А.А., Козоков И.Б., Лутпиллаев Г.Х., Махмудов Р.Р. Влияние карелина на глутаматергическую нейромедиаторную систему NMDA – рецепторы // Материалы научной конференции проблемы биофизики и биохимии – 2022. Респуб.конф. (Ташкент, 20 мая.2022 г.). – Ташкент, 2022. – С. 179-180.

12. Хошимов Н.Н., Мухторов А.А., Козоков И.Б., Лутпиллаев Г.Х., Махмудов Р.Р. Влияние полифенол карелина на неконкурентных антагонистов NMDA-рецепторах // Материалы научной конференции проблемы биофизики и биохимии – 2022. Респуб.конф. (Ташкент, 20 мая 2022 г.). – Ташкент, 2022. – С. 181-182.

13. Khoshimov N.N., Nasirov K.E., Dedaboev J.I., Kozokov I.B., Akhtamov M.A., Khodjiev S.S., Abdurakhmonov Zh.A., Mukhtorov A.A., Mamadaminov R.R. Action of CP-8 on Ca^{2+} -channels of rat brain synaptosomes // International Scientific and Current Research Conferences. (20 March 2023). – Michigan.USA, 2023. – P. 96-100.

14. Мухторов А.А., Хошимов Н.Н., Насиров К.Э., Мустафакулов М.А., Дедабоев Ж.И., Козоков И.Б., Ходжиев С.С., Рахимов Р.Н., Лутпиллаев Г.Х. Действие полифенола Karalinia на транспорт кальция в синапсоммах головного мозга крыс при нейродегенеративных заболеваний // Материалы научной конференции «Проблемы биофизики и биохимии – 2023». Респуб.конф. (Ташкент, 19 мая.2023 г.). – Ташкент, 2023. – С. 63-66.

15. Мухторов А.А., Хошимов Н.Н., Насиров К.Э., Мустафакулов М.А., Саатов Т.С., Дедабоев Ж.И., Козоков И.Б., Ходжиев С.С., Рахимов Р.Н. Альцгеймер касаллиги холатида нифедипин ва циннаризин инкубацияси шароитида ПС-6 полифенолининг кальций узгаришига таъсири // Материалы научной конференции «Проблемы биофизики и биохимии – 2023». Респуб.конф. (Ташкент, 19 мая 2023 г.). – Ташкент, 2023. – С. 166-167.

16. Хошимов Н.Н., Мухторов А.А., Насиров К.Э., Мустафакулов М.А., Саатов Т.С., Дедабоев Ж.И., Козоков И.Б., Ходжиев С.С., Рахимов Р.Н. Альцгеймер касаллиги холатида ПС-7 полифенолини NMDA-рецептори антагонистлари ёрдамида таъсирини урганиш // Материалы научной

конференции «Проблемы биофизики и биохимии – 2023». Респуб.конф.
(Ташкент, 19 мая 2023 г.). – Ташкент, 2023. – С. 193-194.