

## ЭКДИСТЕРОН УВЕЛИЧИВАЕТ КОНЦЕНТРАЦИЮ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО КАЛЬЦИЯ ПУТЕМ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С МЕТАБОТРОПНЫМИ РЕЦЕПТОРАМИ НА КЛЕТОЧНОЙ МЕМБРАНЕ НЕЙРОНОВ И АСТРОЦИТОВ КУЛЬТУРЫ СРЕДНЕГО МОЗГА КРЫС

*Ш.И.Рузимурадова*

*Магистрант 2 курса*

*Национальный университет Узбекистана имени Мирзо Улугбека*

*Факультет Биологии. Кафедра Биохимии и Биофизики*

**Аннотация:** Мы изучили влияние экдистерона на концентрацию внутриклеточного кальция в со-культуре нейронов и астроцитов среднего мозга крыс линии Sprague-Dawley. Наши экспериментальные данные показывают, что экдистерон активирует кальциевые сигнальные пути, в результате чего увеличивается концентрация внутриклеточного кальция. Возможным механизмом запуска кальциевой сигнализации является взаимодействие экдистерона с эстрогеновыми рецепторами бета (ER- $\beta$ ) на мембране нейронов и астроцитов культуры среднего мозга крыс.

**Ключевые слова:** экдистерон, кальций, кальциевая сигнализация, IP3 сигнальный путь, эстрогеновые рецепторы бета, ER- $\beta$ , PHTPP

**Экдистероиды** - класс полигидроксистероидов природного происхождения, широко распространенных как в животном, так и в растительном мире. Зооэкдистероиды синтезируются беспозвоночными, в частности насекомыми, для контроля процессов линьки, метаморфоза и диапаузы. Соединения этой группы веществ встречаются и среди растений. Фитоэкдистероиды играют важную роль в растительных организмах, защищая их от поедания насекомыми-фитофагами. Экдистероиды на протяжении многих лет привлекают интерес исследователей благодаря физиологическим и фармакологическим эффектам на клетках млекопитающих. Одним из самых распространенных экдистероидов является экдистерон или 20-гидроксиэкдизон (20-E). Хорошо изучено действие экдистерона на экспрессию генов через ядерные рецепторы клетки во время линьки и метаморфоза насекомых. Известно, что помимо ядерных рецепторов 20-E имеет мембранные рецепторы на поверхности клеток насекомых (1). Экспериментальные данные показывают, что в клетках насекомых взаимодействие 20-E в качестве сигнальной молекулы с мембранными рецепторами, сопряженными GPCR белками, приводит к активации кальциевых сигнальных путей. Работами ученых доказано, что экдистерон регулирует экспрессию генов во время линьки и метаморфоза у чешуекрылых через взаимодействие с мембранными рецепторами при участии G $\alpha$ q-белков, которые приводят к увеличению внутриклеточного кальция (2). Другие исследования показывают, что экдистерон запускает кальциевые сигнальные пути, вызывая фосфорилирование Ca<sup>2+</sup>/кальмодулин-зависимой протеинкиназы II (CaMKII) для регулирования экспрессии генов у насекомых (3, 4). Активация кальциевой сигнализации в клетках млекопитающих под действием экдистерона до нынешнего времени не изучено.

Мы изучили влияние экдистерона на концентрацию внутриклеточного кальция в со-культуре нейронов и астроцитов среднего мозга крыс линии Sprague-Dawley. Наши

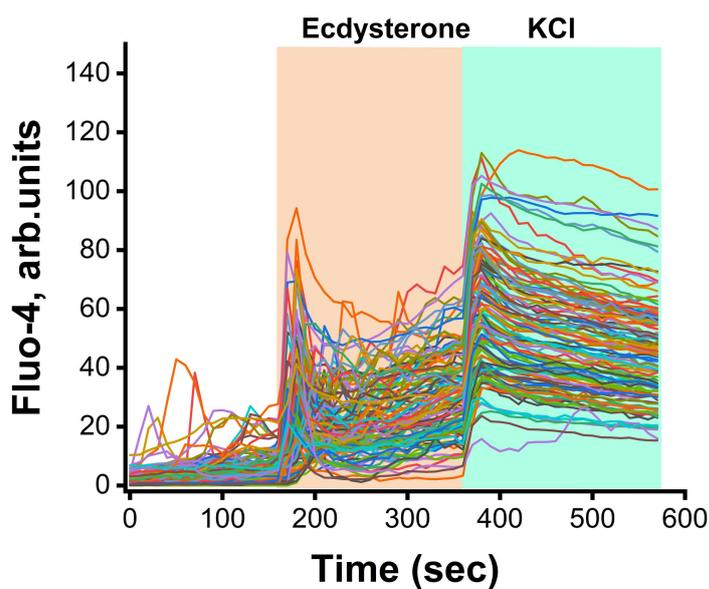
# ILM FAN YANGILIKLARI KONFERENSIYASI

15-APREL

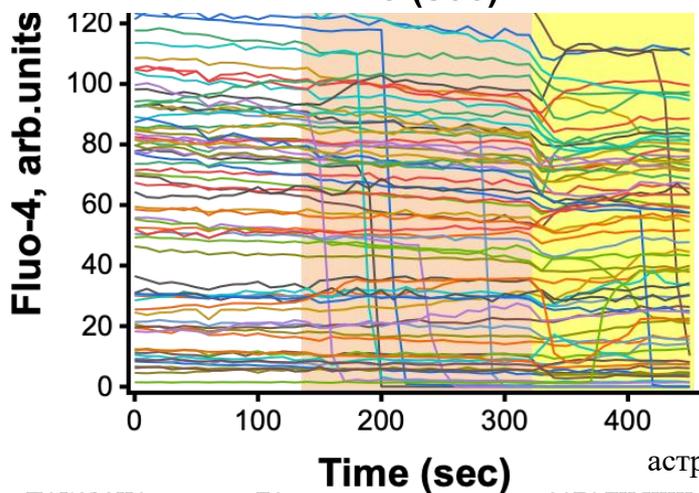
ANDIJON, 2024

экспериментальные данные показывают, что эрдистерон активизирует кальциевые сигнальные пути, в результате чего увеличивается концентрация внутриклеточного кальция. Возможным механизмом запуска кальциевой сигнализации является взаимодействие эрдистерона с эстрогеновыми рецепторами бета (ER- $\beta$ ) на мембране нейронов и астроцитов культуры среднего мозга крыс.

Для выполнения работы мы использовали метод кальциевой визуализации с помощью флуоресцентной микроскопии. Измерение концентрации внутриклеточного кальция проводилось с использованием флуоресцентного кальциевого зонда Fluo-4 AM (Invitrogen). Измерение проводилось на инвертированном флуоресцентном микроскопе EVOS FL Color. Добавка эрдистерона (50мкМ) приводила к увеличению внутриклеточного кальция, о чем свидетельствовало повышение интенсивности свечения кальциевого индикатора Fluo-4 AM. В культуре клеток нейронов и астроцитов инкубированные классическим ингибитором эстрогеновых рецепторов бета РНТРР после добавки эрдистерона увеличение интенсивности свечения флуорофора не наблюдалось, т.е концентрация внутриклеточного кальция не повышалась. Соответственно можно сделать выводы что предполагаемыми метаботропными рецепторами, с которыми взаимодействует эрдистерон на поверхности клеточной мембраны нейронов и астроцитов являются эстрогеновые рецепторы бета.



**Рис.1.** Эрдистерон увеличивает концентрацию внутриклеточного кальция в со-культуре нейронов и астроцитов мозга крыс



**Рис.2.** Эрдистерон не увеличивает концентрацию внутриклеточного кальция в со-культуре нейронов и астроцитов мозга крыс после инкубации с РНТРР

показано

до

астроцитов мозга крыс, что еще не было  
сегодняшнего дня на клетках млекопитающих.

Эксперименты доказывают, что приток кальция в цитоплазму после добавки эрдистерона происходит из люмена эндоплазматического ретикулума, что предполагает запуск IP3 сигнального пути через взаимодействие эрдистерона с метаботропными рецепторами на поверхности нервных клеток. Одним из предполагаемых мембранных рецепторов, с которыми может взаимодействовать эрдистерон являются эстрогеновые рецепторы бета. Но вопрос через какие именно метаботропные рецепторы эрдистерон оказывает свое действие остается открытым.

## Литература:

1. Zhao, XF. G protein-coupled receptors function as cell membrane receptors for the steroid hormone 20-hydroxyecdysone. *Cell Commun Signal* **18**, 146 (2020)
2. J. Ren, X.R. Li, P.C. Liu, M.J. Cai, W. Liu, J.X. Wang, X.F. Zhao, G-protein alphaq participates in the steroid hormone 20-hydroxyecdysone nongenomic signal transduction, *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 144 (2014) 313–323. Pt B.
3. Y.B. Li, X.R. Li, T. Yang, J.X. Wang, X.F. Zhao, The steroid hormone 20-hydroxyecdysone promotes switching from autophagy to apoptosis by increasing intracellular calcium levels, *Insect Biochem. Mol. Biol.* 79 (2016) 73–86.
4. Jing YP, Liu W, Wang JX, Zhao XF. The steroid hormone 20-hydroxyecdysone via nongenomic pathway activates Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinase II to regulate gene expression. *J Biol Chem.* 2015 Mar 27;290(13):8469-81.
5. Artyom Y. Baev, Oksana S. Charishnikova, Feruzbek A. Khasanov, Kamila S. Nebesnaya, Albert R. Makhmudov, Mannona T. Rakhmedova, Zainab A. Khushbaktova, Vladimir N. Syrov, Yuliya V. Levitskaya, Ecdysterone prevents negative effect of acute immobilization stress on energy metabolism of rat liver mitochondria, *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*,

<https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2022.106066>.