

**O`ZBEKISTON RESPUBLIKASI
OLIJ VA O`RTA MAXSUS TA`LIM VAZIRLIGI**

GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI

*Qo`l yozma huquqida
UDK 577.352; 615.919*

**Murodov Sarvar Saydulla o`g`lining
Qonning ivituvchi omillariga biologik faol birikmalar
ta`siri**

5A140101-Biologiya (fan yunalishi bo`yicha)

Magistr
darajasini olish uchun yozilgan
dissertatsiya

Ilmiy rahbar:
b.f.n. Shirinova.I.

Guliston – 2021

MUNDARIJA

QISQARTMALAR RO`JXATI	3
KIRISH	4
IBOB. ADABIYOTLAR SHARHI	11
I.1. Trombotsitlarning strukturasi va funksiyasi	11
I.2. Gemostaz sistemasi.....	13
I.3. Plazma gemostazi (koagulyatsiongemostaz).....	20
I.4. Endotelial oqsillar - gemostaz regulyatorlari sifatida.....	23
I.5. Gemostaz buzilishini aniqlashning umumiy uslublari.....	26
I bob bo`yicha xulosa.....	40
II.BOB.MATERIAL VA METODLAR	42
II.1.. Qon plazmasini ajratib olish.....	42
II.2. Trombotsitlarni ajratish.....	42
II.3.Trombotsitlar agregatsiyasi.....	42
II.4. Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida tsitozoldagi Ca^{2+} miqdorini o`lchash.....	43
II.5. Membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdorini o`lchash.....	44
II- bob bo`yicha xulosalar.....	46
III BOB. OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI	47
III.1. Eforbin polifenolini trombotsitlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta`siri.....	47
III.2. Eforbin polifenolining trombotsitlardagi kalsiy transportiga ta`siri.....	49
III.3. Eforbin polifenolining membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdoriga ta`siri	50
III.4. Eforbin polifenolining tsitozoldagi Ca^{2+} miqdoriga ta`siri	51
III.5. Eforbin polifenolining koagulyatsion testlarga ta`siri.....	53
III - bob bo`yicha xulosalar.....	57
XULOSALAR	58
FOYDALANILGAN ADABIYOTLARRO`JXATI	59

QISQARTMALAR RO`JXATI

1. sAMF - siklik adenzinmonofosfat
2. ADF - adenzindifosfat
3. ATF - adenzintrifosfat
4. PAAG - poliakrilamid geli
5. RFMK - eruvchan fibrin-monomerli komplekslar
6. FV - Villebrand omili
7. Pg² - prostaglandinlar
8. TxA₂ - tromboksan A₂
9. FL - fosfolipid
10. GP - glikoproteid
11. EPR - endoplazmatik retikulum
12. EGTA - etilenglikol (bis-aminoetilovyy efir)-N,N-tetrasirka kislota
13. Fura-2AM - Atseto-meksi-etilli efir

KIRISH

Mavzuning dolzarbligi. Ma'lumki, qon organizmda ichki muhit doimiyligini ta'minlashda, immunitet tizimining me'yoriy faoliyatida muhim ahamiyatga ega hisoblanadi. Gemostaz tizimida yuzaga keluvchi buzilishlar bevosita organizmda patologik holatlarga sabab bo'ladi. Ushbu nuqtai nazardan, gemostaz tizimi funksional regulyatsiya mexanizmlarini ilmiy asosda o'rganish, turli biologik faol moddalarning gemostaz zvenolariga ta'sir mexanizmlarini oydinlashtirish yo'nalishida olib boriladigan tadqiqotlar dolzarb hisoblanadi.

Kalsiy ionlari universal regulyatorlar hisoblanadi va neyronlarning qo'zg'alishi, muskullarning qisqarish faolligi, mediator va gormonlarning sekretsiyasi, genlarning ekspressiyasi va hujayralarning proliferatsiyasi kabi turli hujayraviy jarayonlarni amalga oshishida muhim rol o'ynaydi.

Xujayradagi ko'plab fiziologik ta'sirlarni amalga oshishida Ca^{2+} signalining generatsiyasi ahamiyatga ega. Ca^{2+} generatsiyasi bu- sitozoldagi va hujayra ichidagi strukturalarda Ca^{2+} konsentratsiyasining o'zgarishi tushuniladi. Tsitozoldagi va xujayra ichidagi strukturalardagi Ca^{2+} signalining generatsiyasi murakkab jarayon hisoblanadi, va unda hujayraning bir nechta Ca^{2+} tashuvchi sistemalari qatnashadi.

Shu bilan birga hozirgi vaqtda turli hujayralarda kalsiy transportini boshqaruvchi yoki modullovchi tabiiy birikmalarga katta ahamiyat berilmoqda. O'zbekiston Respublikasi turli biologik faol moddalarni olish uchun boy tabiiy resurslarga egadir. Turli o'simliklardan keng spektrdagi biologik ta'sirlarga ega bo'lgan birikmalar katta miqdorda ajratib olinmoqda. Adabiyotlar ma'lumotlariga ko'ra, ushbu birikmalarning ko'pchiligi strukturaviy tuzilishi bo'yicha ion kanallarining ma'lum bo'lgan modifikatorlari bilan umumiylikka egadir. Tabiiy birikmalarning kimyoviy

modifikatsiyasi esa ularning biologik va farmakologik xususiyatlarini o'zgartirishi mumkin .

Respublikamizda olib borilayotgan izchil islohotlar asosida sog'liqni saqlash tizimida keng ko'lamdagi yangilanishlar amalga oshirilmoqda. Respublikamizda ilm-fan, farmatsevtika sohasida olib borilayotgan ishlarning amaliy jihatdan samaradorligini oshirish maqsadida yurtimizda bir qator horijiy mamlakatlar bilan ilmiy hamkorlik yuzasidan bitimlar imzolangan. Shuningdek, Respublikamiz va horijiy rivojlangan mamlakatlar o'rtasidagi ilmiy-tadqiqot markazlari, oliy o'quv yurtlari o'rtasida fan va texnologiyalarni rivojlantirish, sog'liqni saqlash sohalarida hamkorlikni rivojlantirish bo'yicha shartnomalar tuzilgan. Bu ko'rinishdagi islohotlar turli xil sohalarning, jumladan fan va ta'lim sohasidagi amalga oshirilayotgan Dasturlarda o'z samarasini bermoqda.

Biologik faol moddalarning gemostazga ta'sirining hujayra darajasidagi mexanizmlarini tadqiq etish va yurak, qon-tomir kasalliklarini davolash va oldini olishda samarali ijobiy ta'sirga ega dorivor moddalarni izlash tibbiyot fanlari oldida turgan dolzarb vazifalardan biri hisoblanadi. Shu bilan birga mahalliy o'simliklardan ajratib olingan biologik faol moddalar asosida yuqorida ko'rsatib o'tilgan muammo echimiga qaratilgan ilmiy izlanishlar samarali natijalarga olib kelishi mumkin.

Shunday qilib, keltirilgan ma'lumotlarga ko'ra, polifenollar keng spektrli farmakologik ta'sirga egadirlar. Ularning turli sistemalarga ta'sirini o'rganishni davom ettirish kelgusida ularni tibbiyot, farmakologiya, toksikologiya kabi sohalarda qo'llash imkonini beradi.

Ilmiy ishning o'rganilganlik darajasi: Gemostaz tizimining funksiyalari va qon ivishida ishtirok etadigan faktorlarning ishlash mexanizmlari hozirgacha yaxshi o'rganilgan. Xar bir trombosit va qon tomir omillari ingibirlanishi yoki faollanishi bu ichki mexanizm asosida amalga

oshadi. Ayniqsa trombosit xujayrasi funksiyasi faolligiga biologik faol moddalarning ta'sirini o'rganish xali to'liq amalga oshmagan.

Prezidentimiz Shavkat Mirziyoevning 2016 yil 31 oktyabrdagi "Aholini dori-darmon vositalari va tibbiyot buyumlari bilan ta'minlashni yanada yaxshilashga doir chora-tadbirlar to'g'risida"gi qarorida mahalliy giyohlardan dori vositalari ishlab chiqarishni ko'paytirish hisobidan farmatsevtika mahsulotlarini mahalliylashtirishni kengaytirish, aholiga sifatli va arzon dori vositalari etkazib berishga doir muhim yo'nalishlar belgilab berilgan⁽¹⁾.

Bu soxada Respublikamizda ko'plab ilmiy-tadqiqot muassasalarida, bir qator kasalxonalar bazasida tashkil qilingan ilmiy laboratoriyalarda muntazam ravishda ilmiy izlanishlar olib borilmoqda va ko'pgina yutuqlar qo'lga kiritilgan. Ta'kidlab o'tish joizki, bu sohadagi rivojlanishlar bevosita Respublikamiz hukumatining sog'liqni saqlash va farmatsevtika sohasida olib borilayotgan ilmiy-amaliy ishlarning samaradorligini oshirish bo'yicha olib borayotgan izchil siyosati bilan bog'liq. Respublikamizda sog'liqni saqlash va farmatsevtika yo'nalishidagi islohotlarni yanada jonlashtirish, ushbu sohaning ilmiy-texnik, moddiy bazasini zamonaviy talablarga javob beradigan holatda isloh qilish bo'yicha takliflar va qarorlar qabul qilingan.

Shuningdek, hozirgi kunda ilmiy-tadqiqot muassasalarida amalga oshirilayotgan amaliy ishlarda Respublikamiz Oliy ta'lim tizimida tahsil olayotgan talaba yoshlarning ishtirokini ta'minlash, bevosita tayyorlanayotgan mutaxassis kadrlarning olgan nazariy bilimlarini amaliyot bilan bog'lash imkoniyatlarini oshiradi. Bu esa o'z navbatida Respublikamizda zamonaviy bilim va ko'nikmalarni to'liq egallagan, malakali mutaxassislarni etishtirish yo'nalishida amalga oshirilayotgan

¹O'zbekiston Respublikasi qonun hujjatlari to'plami, 2016-y, 51-son, 583-modda, 2016-y, 52-son, 599-modda; 2017-y, 7-son, 87-modda, Lex.uz.

Dasturlar rejasiga mos keladi. jumladan, ta`lim tizimida amalga oshirilayotgan islohotlar xam Respublikamizda turli sohalarda o`z o`rnini topa oladigan, har tomonlama yetuk kadrlarni etishtirishga qaratilgan.

Shubhasiz, Respublikamizning ijtimoiy-iqtisodiy rivojlanishi, xalqimizning turmush darajasi yuksalishi aholiga sifatli tibbiy xizmat ko`rsatish, tibbiyot sohasida olib borilayotgan keng miqyosdagi islohotlar bilan bog`liq. Shu nuqtai nazardan tibbiyot, farmatsevtika sohasida yangi, samarali ijobiy ta`sirga ega farmakologik dori vositalarini yaratishga qaratilgan izlanishlar muhim ahamiyatga ega hisoblanadi. Bu yo`nalishdagi tadqiqotlarning amaliy jihatdan samaradorligi avvalo, mutaxassis kadrlarning bilimi, salohiyatiga bog`liq.

Ko`p yillar mobaynida tadqiqotchilar e`tiborini biologik faol moddalarning membranaviy va ichki hujayraviy jarayonlariga ta`sirini o`rganish tortmoqda. Buning sababi shundaki, ushbu birikmalar kichik kontsentratsiyalarda biologik sistemalarda doimo kechadigan gomeostatik jarayonlarga biologik ta`sir ko`rsatishi mumkin

Tabiiy birikmalarning hujayra va hujayra organellariga ta`sir mexanizmi asosida ularning murakkab fiziologik, biokimyoviy va biofizik jarayonlarni yuzaga keltirishi va hujayra-nishonning funktsional faolligini o`zgartirishi yotadi.

Qon ivish sistemasining o`ziga xosligi shundaki, patologik o`zgarishlar nafaqat uning alohida komponentlarining, balki tomir devori elementlarining buzilishi natijasida ham kelib chiqadi. Qon tomirlaridagi istalgan patologik o`zgarishlar qaysidir darajada gemostaz jarayonida aks etadi. Tomir devori hujayralari va qon ivish sistemasining o`zaro ta`sirlashuvining molekulyar mexanizmlarni o`rganish tomir va koagulyatsion gemostazdagi o`zgarishlarni aniqlash imkonini beradi. Ushbu muammolarni echishda o`simlik va hayvonlardan ajratilgan biologik faol moddalar keng imkoniyatga egadir, chunki ular ion kanallari boshqaradigan hujayraviy jarayonlar, Ca^{2+} -

tashuvchi sistemalar va gemostaz sistemasiga ta`sir qilish kabi noyob xossalarga ega (Cromer et al., 2008; Xuang et al., 2007; Swartz, 2007). Bunday tadqiqotlarning natijalari o`ta muhim bo`lib fundamental tadqiqotlarda ishlatilishi mumkin.

Hozirda qon tomirlarida tromb hosil bo`lish jarayoniga ta`sir qilish va uni boshqarish maqsadida turli biologik faol moddalardan foydalanilmoqda. Chunki ular gemostaz tizimining ma`lum bir qismlariga ta`sir qiladi, ularni gemostazning turli xil omillariga qanday ta`sir qilishiga qarab ular asosida qon-tomir kasalliklarida uchraydigan gemorragik va trombogenik o`zgarishlarni aniqlash va davolash uchun qo`llanmalar yaratish imkonini beradi.

Yuqorida keltirilganlardan kelib chiqqan holda biz biologik faol modda hisoblangan, o`simliklardan ajratib olingan polifenollar (Eforbin misolida) yordamida ham qon ivish sistemasidagi o`zgarishlarni aniqlash va uni boshqarish mumkinligi to`g`risidagi fikrlarni tekshirish maqsadida polifenolning gemostazga ta`sirini o`rganishni maqsad qilib qo`ydik.

Ishning maqsadi. Eforbin polifenolining gemostaz tizimining Ca^{2+} ioni gomeostaziga va qon tomir-trombotsitar gemostaziga ta`sirini o`rganish.

Ishning vazifalari:

- Eforbin polifenolining trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta`sirini o`rganish;
- Eforbin polifenolining membranaga bog`langan Ca^{2+} miqdoriga ta`sirini o`rganish;
- Eforbin polifenolining sitozoldagi Ca^{2+} miqdoriga ta`sirini o`rganish.
- Eforbin polifenolining koagulyatsion testlarga ta`sirini o`rganish.

Ishning ob`ekti va predmeti: kalamush qoni, trombositlar, Eforbin polifenoli, agregatsiya, membranaga bog`langan Ca^{2+} , sitozoldagi Ca^{2+} .

Tadqiqot uslublari. Ushbu magistrlik dissertatsiya ishida zamonaviy usullardan fotometriya, koagulyatsiya va fluorestsentsiya usullaridan foydalanildi.

Ishning ilmiy yangiligi: Eforbin polifenolining gemostaz sistemasi va qon ivish faktorlariga ta`sir etish mexanizmlari, aktivatorlik va blokatorlik xususiyatlarini yoritib berish. Bunda aynan gemostaz tizimi va qon ivish sistemasi faktorlariga Eforbin polifenolining ta`sir mexanizmini aniqlashda plazma omillari, trombosit membranasiga bog`liq Ca^{2+} , va sitoplazmasiga bog`liq Ca^{2+} miqdorini o`zgarishi orqali ingibitorlik mexanizmini tushunishdan iborat.

Zamonaviy farmakologiyaning asosiy yo`nalishlaridan biri fiziologik funksiyalarda moddalarning ta`sir mexanizmlarini o`rganish bilan bog`liqdir. Odam (klinik farmakologiyada) yoki hayvonlar (eksperimental farmakologiyada) a`zo va to`qimalarining funktsional holatini o`zgartiruvchi preparatlarni ta`sir mexanizmlarini o`rganish, bundan tashqari alohida ferment tizimlariga to`g`ridan-to`g`ri ta`sir etuvchi yoki metabolik jarayonlarning ferment tizimlari orqali fiziologik funksiyasiga ta`sir etuvchi preparatlarni qidirib topish muhim ahamiyat kasb etadi.

Ishning amaliy ahamiyati: Polifenolning trombosit membranalarida joylashgan Ca^{2+} va ion kanallari faoliyatining boshqaruv tizimlariga tormozlovchi va aktivlovchi ta`sir darajasini o`rganib, ongli ravishda effektiv dori vositalarini yaratishdir.

Farmakologiyada turli oksidoreduktazalar blokatorlari hisoblagan antibiotiklarning ta'sir mexanizmlari, psixofarmakologik dori vositalari sifatida turli sintetik monoaminooksidazalarning ta'sir mexanizmlari, ayrim asab tizimi kasalliklarida esa atsetilxolinesterazalar blokatorlarining ta'sir mexanizmlari o`rganilmoqda.

Shunday qilib, gemostaz tizimining trombosit xujayra membranalarida Na^{2+} va Ca^{2+} modda almashinuv jarayonlarini, shuningdek, modda almashinuv jarayonlaridagi metabolik bog`lanish ko`priklarini o`rganishda muhim rol o`ynaydi.

Ushbu malakaviy bitiruv ishi natijalari kelajakda tibbiyotda yangi dorivor vositalar ishlab chiqarishga asos bo`lishi mumkin. O`simlik polifenoli yordamida ham gemostaz tizimini boshqarish mumkinligi birinchi bor ko`rsatildi. Ushbu ma`lumotlarni o`quvchilarga etkazish ularning bilim doirasini oshiradi, fanga qiziqishi ortadi.

Dissertatsiya ishining tuzilishi va hajmi: Ish kirish, adabiyotlar tahlili (1 bob), material va metodlar (2 bob), olingan natijalar va ularning tahlili (3 bob), xulosa va 28 ta foydalanilgan adabiyotlar ro`yxatidan iborat. Ish 62 betda yoritilgan bo`lib, 9 ta rasmni o`z ichiga oladi.

I BOB. ADABIYOTLAR SHARHI

I.1. Trombotsitlarning strukturasi va funksiyasi

Trombotsitlar yoki qon plastinkalari, qonning shaklli elementlarini uchinchi turi, diametri 2-5 mkm, yadrosiz va rangsiz, oval va duksimon shakldagi plazmatik tuzilmalar bo`lib, ko`mik va taloqdagi gigant xujayralar - megokariotsitlarda hosil bo`ladi. Trombotsitlarning soni ovqat xazm qilish, jismoniy ish bajarish va xomiladorlik davrida ko`payadi. Ularning qondagi soni, kunduzi tundagidan ko`prok bo`ladi va qon ivish jarayonida muhim rol o`ynaydi. Trombotsitlarda tomirni toraytiruvchi modda - serotonin va kengaytiruvchi modda - gistamin sezilarli miqdorda bo`ladi.

Sut emizuvchi hayvonlar qonidagi trombotsitlarning yadrolari bo`lmaydi, lekin barcha umurtqililar va qushlarda ular mavjud. Xayvonlar qonidagi trombotsitlar sonining miqdori, turning o`ziga xos xususiyatlariga bog`liq.

Trombotsitlar va ularga bog`liq omillar qon ivishida ishtirok qiladi. Bundan tashqari, trombotsitlar tomirlarning endotelial xujayralariga, ularning faoliyati mu`tadil bo`lishi uchun zarur bulgan moddalarni etkazib turadi. Endotelial xujayralar bir kecha- kunduzda qondagi trombotsitlarning 15% ini qamrab oladi va shu tarzda kerakli moddalardan foydalanadi. Trombotsitlar bilan aloqadorligini yuqotgan endoliy distrofiyaga uchraydi, tomir devori orqali eritrotsitlar to`qimalarga o`taboshlaydi.

Sog`lom odamning 1 mm³ qonida 150-400 minggacha qon plastinkalari bo`lib, ko`p miqdorda qon yuqotilganda, ovqatda A va V vitaminlar etishmaganda, ayollar hayz kurishi paytida, shu bilan birga chaqaloqlarda va qariyalarda ham ularning soni kam bo`ladi. Qon plastinkalarining kamayishi - trombopeniya deyiladi. Ba`zi bir fiziologik sharoitlarda, masalan sportchilar mashq qilayotgan paytda qon plastinkalarining soni ko`payadi. Bunda taloq qisqarib, o`zida saqlab turgan qon plastinkalarini qon tomirlariga chiqaradi.

Talokning qiskarishi adrenalın ta`sirida yuz beradi. Qon plastinkalari mikdorining qonda ko`payib ketishi trombotsitoz deyiladi.

Trombotsitlar aylanasimon shaklga ega bo`lib, diametri 2-5 mkm ni, hajmi esa 5-10 mkM ni tashkil qiladi. Trombotsitlar quyidagi zonalardan iborat: periferik, zol-gel va ichki hujayravıy organellalar. Periferik zonaning ustki yuzasida qalinligi 50 nm gacha bo`lgan qatlam joylashgan bo`lib, unda qon ivishining plazmatik omillari, enzimlar, trombotsitlar aktivatsiyasi, ularning adgeziyasi (subendoteliyga yopishishi) va agregatsiyasi (bir-biriga yopishishi) uchun zarur bo`lgan retseptorlar mavjud.

Trombotsitlar soni 1 ml da 300 000 tagacha bo`ladi (fiziologik eritmalar ta`sirida normada ham o`zgarishi mumkin). Trombotsitlarning asosiy vazifasi gemostazda qatnashishdir. Trombotsitlar qon tomirlarining shikastlangan devorlarga yopishib uni "ta`mirleydi", hamda qon tomirlaridan qon oqishi va qon chiqishini to`xtatib, qon ivishida qatnashadi. Ular qonning mikrotsirkulyatsiyasini boshqaradi: tarkibida qon ivishida qatnashuvchi serotonin (mikrotomirlarni tonus va o`tkazuvchanligini o`zgartiruvchi) va boshqa moddalar mavjud. Trombotsitlar moddasi doimo tomirlarning endotelial hujayralarga uzatilib turadi - bu ularning normal mustahkamligi va o`tkazuvchanligini ta`minleydi (trombotsitlar soni kamayganda mikroqonquyilish, oshganda tromb hosil bo`lishi kuchayadi) (<http://www.galactic.org.ua>).

I.2. Gemostaz sistemasi

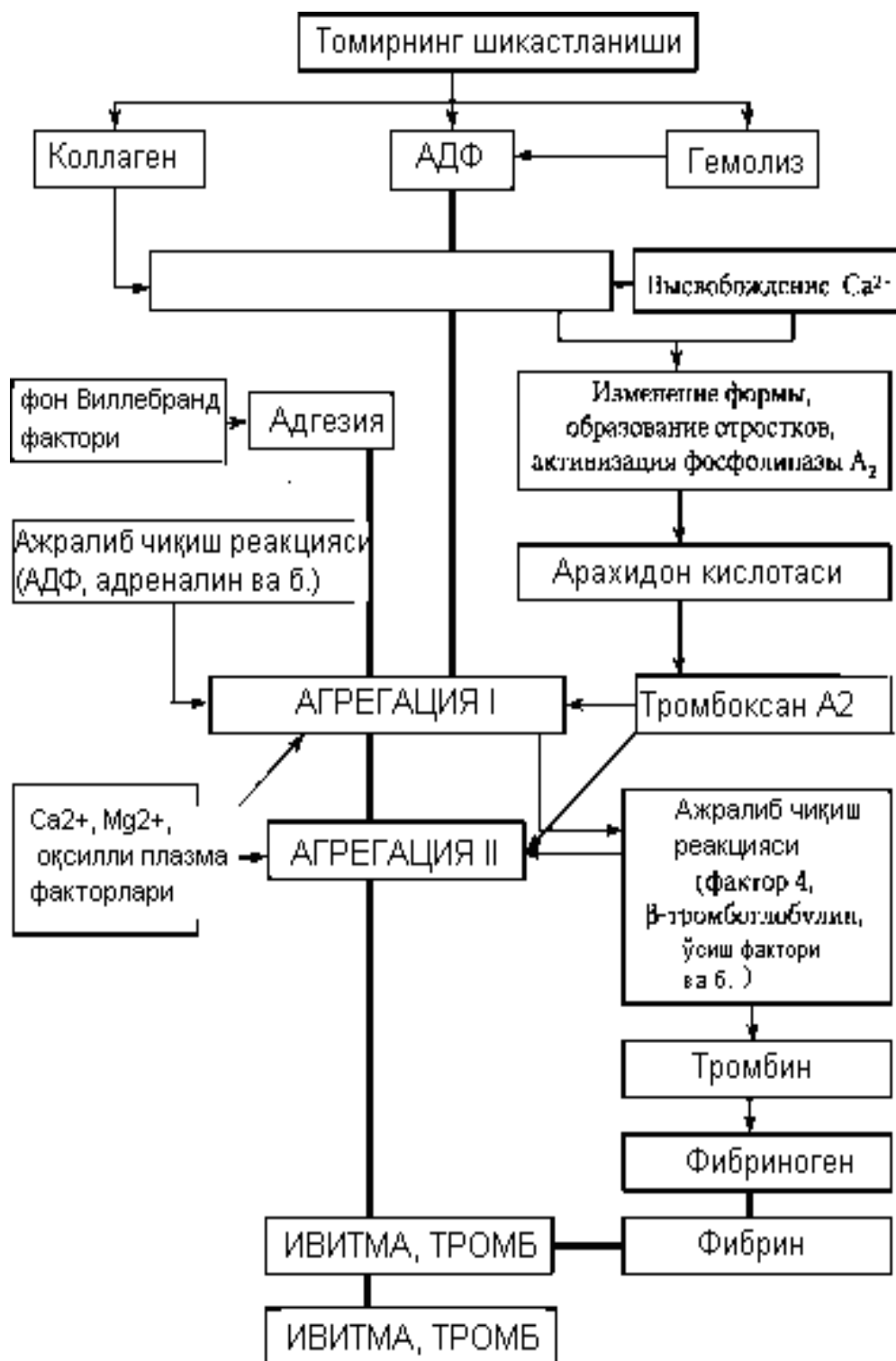
Gemostaz sistemasi - bu tomirlar shikastlanganda qon ketishini to'xtatishga qaratilgan reaksiyalar kompleksidir. Gemostaz faktorlari qonni suyuq holatda saqlanishi, transkapilyar almashinuvni boshqarishda, tomir devorini chidamliligida ishtirok etadi, reparativ jarayonlarning intensivligiga ta'sir qiladi va h.k.

Organizmdagi qonning normal sharoitda suyuq holatda bo'lishi ivish jarayonida ishtirok etuvchi faktorlarning muvozanatda ekanligini ko'rsatadi. Bunday balans bir nechta omillar ta'sirida buzilishi mumkin.

Qon ivishi 2 ta guruhda amalga oshadi: hujayra (qon tomiri-trombotsitar) va plazma (koagulyatsion) gemostazi.

- hujayra gemostazi - hujayralarning adgeziyasi (ya'ni hujayraning yot yuza bilan o'zaro ta'sirlashuvi, jumladan, boshqa turdagi hujayralar bilan), agregatsiyasi (bir xil hujayralarning o'zaro yopishishi), hamda qonning shakliy elementlaridan plazma gemostazini faollashtiruvchi moddalarning ajralishidir.

- plazma (koagulyatsion) gemostazi reaksiyalar kaskadi bo'lib, unda qonning ivish faktorlari qatnashadi. Bu jarayon fibrin hosil bo'lishi bilan (fibrinoliz) yakunlanadi (Zotova, Zateyshikov, Sidorenko, 2005); (1-rasm).



1. rasm. Trombotsitar gemostaz

Organizmda qon ivish sistemasining ikkala zvenosi o`zaro chambarchas bog`langan bo`lib, ular alohida faoliyat ko`rsata olmaydi

Gemostaz reaksiyalarini amalga oshishida tomir devori muhim rol o'ynaydi. Tomirlarning endotelial hujayralari o'zining yuzasida tromb hosil bo'lishini modullovchi turli biologik faol moddalarni sintezlash va yoki ekspressiyalash xususiyatiga ega. Ularga fon Villebrand faktori, relaksatsiyaning endotelial faktori (azot oksidi), prostatsiklin, trombomodulin, endotelin, to'qima tipidagi plazminogen aktivatori, to'qima tipidagi plazminogen aktivatorining ingibitori, to'qima faktori (tromboplastin), to'qima faktori yo'lining ingibitori va b.lar kiradi. Bundan tashqari endoteliotsitlarning membranasida retseptorlar joylashgan bo'lib, ular ma'lum bir sharoitda qon oqimida erkin sirkulyatsiyalanadigan molekulyar ligandlar va hujayralar bilan birikadi.

Endotelial hujayralar butun, ya'ni zararlanmagan holatlarida tromborezistent xossalarga egadir. Endoteliyning tromborezistentligi quyidagilarni ta'minlaydi:

- ushbu hujayralarning ichki yuzasini kontakt inertligi;
- trombotsitlar agregatsiyasining kuchli ingibitori - prostatsiklinni sintezlash;
- trombinni bog'lovchi trombomodulinni endoteliotsitlar membranasida mavjud bo'lishini; bunda trombomodulin qon ivishini chaqiruvchi xususiyatini yo'qotadi, lekin protein S va S kabi 2 ta muhim fiziologik antikoagulyantlar sistemasini faollashtiruvchi ta'sirini saqlab qoladi;
- tomirlarning ichki yuzasida mukopolisaxaridlarning ko'p miqdorda bo'lishi va endoteliyda geparin-antitrombin III (ATSh) kompleksining fiksatsiyalanishi;
- fibrinolizni ta'minlovchi plazminogenning to'qima aktivatorini sekretsia qilishi va sintezlash xossasi;
- proteinlar S va S sistemasi orqali fibrinolizni stimullashi.

Tomir devorining buzilishi va yoki endoteliotsitlarning funktsional xususiyatlarini o'zgarishi trombotik reaksiyalarni rivojlantirishi mumkin.

Tomirlarni shikastlantiruvchi omillar turlicha bo`lib, ular ekzogen (mexanik shikastlanish, ionlashtiruvchi nurlanish, giper- va gipotermiya, toksik moddalar va b.) va endogen faktorlar biologik faol moddalar (trombin, tsiklik nukleotidlar, bir qator tsitokinlar va sh.k.) bo`lishi mumkin.

Tomir devorlaridagi subendotelial komponentlarning endotelial qavat buzilganda (fibrillyar va nofibrillyar kollagen, elastin, proteoglikanlar va b.) qon bilan aloqaga kirishadi va fon Villebrand faktorini bog`lanishi uchun yuza hosil qiladi. Ushbu faktor faqatgina plazmada faktor VIII ni stabillashtirmasdan, balki hujayra retseptorlari bilan subendotelial strukturalarni bog`lab trombosit adgeziyasida muhim rol o`ynaydi (Barkagan, 1998).

Trombotsitlar yoki qon plastinkalari, qonning shaklli elementlarini uchinchi turi, diametri 2-5 mkm, yadrosiz va rangsiz, oval va duksimon shakldagi plazmatik tuzilmalar bo`lib, kumik va taloqdagi gigant xujayralar - megokariotsitlarda hosil bo`ladi. Trombotsitlarning soni ovqat xazm qilish, jismoniy ish bajarish va xomiladorlik davrida ko`payadi. Ularning qondagi soni, kunduzi tundagidan ko`proq bo`ladi va qon ivish jarayonida muhim rol o`ynaydi. Trombotsitlarda tomirni toraytiruvchi modda - serotonin va kengaytiruvchi modda - gistamin sezilarli miqdorda bo`ladi.

Sut emizuvchi hayvonlar qonidagi trombositlarning yadrolari bo`lmaydi, lekin barcha umurtqililar va qushlarda ular mavjud. Xayvonlar qonidagi trombositlar sonining miqdori, turning o`ziga xos xususiyatlariga bog`lik.

Trombotsitlar va ularga bog`liq omillar qon ivishida ishtirok qiladi. Bundan tashqari, trombositlar tomirlarning endotelial xujayralariga, ularning faoliyati mu`tadil bo`lishi uchun zarur bulgan moddalarni etkazib turadi. Endotelial xujayralar bir kecha - kunduzda qondagi trombositlarning 15% ini qamrab oladi va shu tarzda kerakli moddalardan foydalanadi. Trombotsitlar

bilan aloqadorligini yo'qotgan endoliy distrofiyaga uchraydi, tomir devori orqali eritrotsitlar to'qimalarga o'ta boshlaydi.

Sog'lom odamning 1 mm³ qonida 150-400 minggacha qon plastinkalari bo'lib, ko'p miqdorda qon yo'qotilganda, ovqatda A va V vitaminlar etishmaganda, ayollar hayz ko'rishi paytida, shu bilan birga chaqalokl arda va kariyalarda ham ularning soni kam bo'ladi. Qon plastinkalarining kamayishi - trombopeniya deyiladi. Ba'zi bir fiziologik sharoitlarda, masalan sportchilar mashk qilayotgan paytda qon plastinkalarining soni ko'payadi. Bunda taloq qisqarib, o'zida saqlab turgan qon plastinkalarini qon tomirlariga chiqaradi. Taloqning qisqarishi adrenalin ta'sirida yuz beradi. Qon plastinkalari miqdorining qonda ko'payib ketishi trombotsitoz deyiladi.

Trombotsitlar bir-biri bilan ham yopishishi mumkin, ya'ni agregatsiya. Trombotsitlar agregatsiyasi tabiatan turlicha bo'lgan moddalar ta'sirida ro'y berishi mumkin, masalan, trombin, kollagen, ADF, araxidon kislotasi, tromboksan A₂, prostaglandinlar G₂ va X₂, serotonin, adrenalin, trombotsitlar aktivatsiyasining faktorlari va b. Bulardan tashqari ekzogen moddalar (organizmda uchramaydigan), masalan, lateks bo'lishi ham mumkin.

Trombotsitlar adgeziyasi singari agregatsiyasida ham spetsifik Ca²⁺-ga bog'liq sekretor jarayonini rivojlantirishi mumkin. Bunda trombotsitlar ekstratsellyulyar bo'shliqqa bir qator moddalarni ajratadi. ADF, adrenalin, subendotelial biriktiruvchi to'qima va trombin ajralish reaksiyalarini indutsirlaydi. Avval zich granular tarkibidagi ADF, serotonin, Ca²⁺ ajraladi, so'ng *a*-granula tarkibidagilarni (trombotsitar faktor 4, R-tromboglobulin, o'sishning trombositlar faktori, fon Villebrand faktori, fibrinogen va fibronektin) ajralishi natijasida trombositlarning yanada jadal stimullanishi lozim. Tarkibida kislotali gidrolazalarni tutgan liposomal granular kollagen yoki trombin ishtirokidagina ajraladi. Shuni ta'kidlash lozimki, trombotsitlar

ajratgan faktorlar tomir devorining shikastlangan joylarini yopishga yordam beradi.

Har qanday holatda ham tomir devori shikastlanganda qon ivishi jarayonining asosiy initsiatori - to`qima faktori (tromboplastin) sintezlanadi va ekspressiyalanadi. Tromboplastin fermentativ faollikka ega bo`lmasa ham, faollashgan faktor VII ning kofaktori o`rnida rol o`ynashi mumkin. Tromboplastin/faktor VII kompleksi faktor X, va faktor XI ni ham faollashtirishi mumkin, bu orqali trombin generatsiyalanadi. Va u o`z navbatida plazma gemostazini va hujayra gemostazi reaksiyalarini rivojlantiradi.

Gemostatik reaksiyalar yakunida fibrin hosil bo`ladi; bu reaksiyalarni qon ivishida ishtirok etadigan proteinlar amalga oshiradi. Quyidagi jadvalda qon ivishida qatnashadigan faktorlar ro`yxati keltirilgan.

Qonni ivituvchi omillari

Faktor	Sinonim	Faol shaklining vazifasi
I	<u>Fibrinogen</u>	Fibrin gelini hosil qiladi
II	Protrombin	Fibrinogen (Serin proteaza)ni hosil faollashtiradi
III	To'qima tromboplastini	F VII (tashqi yoo'l: oqsil substrat) aktivatsiyasini stimullaydi
IV	Kalsiy ionlari	Iqish faktorlarining fosfolipedli yuza bilan o'zaro ta'sirlashishi uchun zarur.
V	Proalekrin	F II (oqsil-substrat) aktivatsiyasini stimullaydi
VII	Prokonvirtin	F X (Serin proteaza) ni faollashtiradi
VIII	Antigimofil faktor A	F X (oqsil substrat) aktivatsiyasini stimullaydi
IX	Antigimofil faktor B	F X (serin proteaza)ni stimullaydi
X	Styuard-Prauyer faktori	F II (serin proteaza)ni faollashtiradi
XI	Plazma tromboplastim hosil bo'lishida ishtirokchi	F IX (serin proteaza)ni faollashtiradi
XII	Xagiman faktori	F XI (serin proteaza)ni faollashtiradi
XIII	Fibrinni stabillovchi faktor	Fibrin to'ri (transglutaminaza)ni stabillaydi
	Yuqori molikulyar kininogen	Kontakt aktivatsiya faktori

	Prikollikrien	Plazmogenni faollashtiradi
	Protein C	Faollashgan faktorlar V va XIII ni inaktivallashtiradi.
	Protein S	Protein C yordamida aktivlashgan faktorlarning inaktivatsiyasini stimullaydi
	Villebrant faktori	Trombositlarni subendoteliy bilan birikish jarayonida ishtirok etadi.

I.3. Plazma gemostazi (koagulyatsion gemostaz)

Plazma gemostazi shartli ravishda 3 fazaga bo`linadi: I faza - protrombinazani hosil bo`lishi yoki kontaktli-kallikrein-kinin-kaskadli aktivatsiya. I faza ko`p bosqichli jarayon bo`lib, uning natijasida qonda protrombinni trombinga aylantiruvchi faktorlar kompleksi to`planadi. Shu sababli bu kompleks protrombinazali deb nomlanadi [Broze, 1992]. [Warken, Kelton, 1994].

Protrombinazani shakllanishi 2 xil yo`l bilan amalga oshadi: ichki va tashqi. Ichki yo`l bo`yicha qon ivishi to`qima tromboplastini ishtirokisiz kechadi: protrombinazani hosil bo`lishida plazma faktorlari (XII, XI, IX, VIII, X), kallikrein-kinin sistemasi va trombositlar ishtirok etadi. Natijada fosfolipid qavatida ionlashgan kaltsiy ishtirokida faktorlar X va V kompleksi hosil bo`ladi. Bu kompleks protrombinni trombinga aylantirib protrombinaza singari ta`sir qiladi. Protrombinaza shakllanishining tashqi yo`lida to`qima faktori (faktor III) asosiy rol o`ynaydi. Ushbu faktor to`qimalar shikastlanganda hujayra yuzasiga ekspressiyalanadi va VII faktori

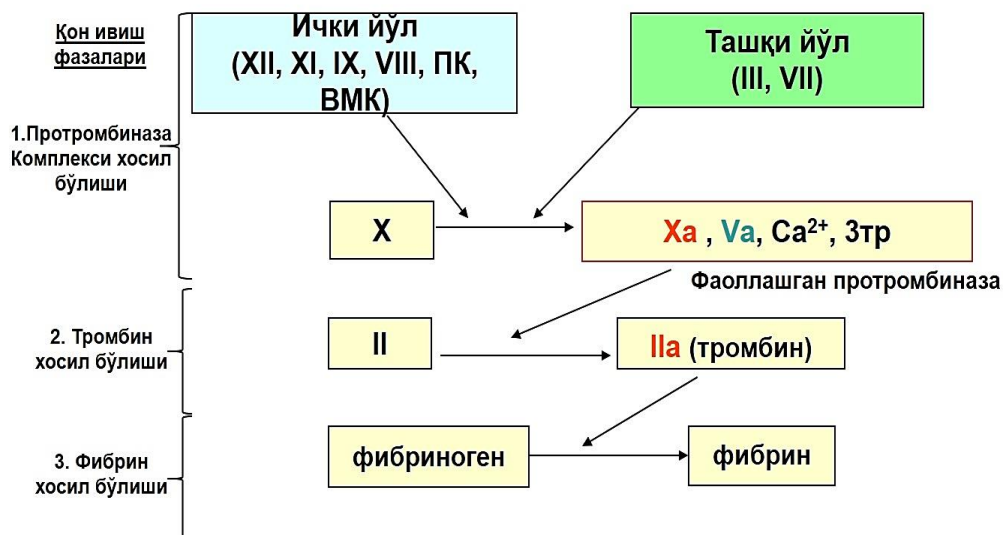
va kalsiy ionlari bilan kompleks hosil qiladi. Kompleks protrombinni aktivlaydigan faktor X ni faktor Xa ga aylantiradi. Bundan tashqari, faktor Xa to`qima faktori kompleksi va faktor VIIani aktivlashtiradi. Shunday qilib, tashqi va ichki yo`llar ivish faktorlarida birlashadi.

II faza - trombin hosil bo`lishi. Bu fazada protrombinaza koagulyatsiya faktorlari V, VII, X va IV bilan faktor II (protrombin) ning nofaol shaklini faol faktor II - trombinga aylantiradi.

III faza - fibrin hosil bo`lishi. Trombin fibrinogen molekulasidan ikkitadan peptid - A va V ni uzib, fibrin-monomerga aylantiradi. Bundan tashqari, trombin faktor XIII ni faktor XIII ga aylantiradi. Faktor XIII Ca^{2+} ishtirokida fibrinolizinda oson eriydigan labil holatdan fibrin-polimerni o`zgartiradi va qon ivitmasini tashkil qiluvchi eruvchan shaklga aylantiradi.

Qonni suyuq holatda ushlab turilishi va koagulyatsiyaning barcha fazalarida faktorlarni o`zaro ta`sirlashish tezligini boshqarish uchun qonda antikoagulyant faollikka ega bo`lgan tabiiy birikmalar bo`lishi lozim. Bunday moddalar organizmda doimo sintezlanadi va ma`lum bir tezlikda qon oqimiga ajraladi. Ularga ATSh, geparin, proteinlar S va S, TFPI (to`qima faktori-faktor VII- Ca^{2+} kompleksining ingibitori), α_2 -makroglobulin, antitripsin va b.lardir. Qon ivish jarayonida antikoagulyant faollikka ega turli moddalar ham hosil bo`ladi. Antikoagulyantlar qon ivishining barcha fazalariga ta`sir qiladi, shuning uchun ularning faolligini o`lchash muhim hisoblanadi(2-rasm).

Қон ивиши схемаси (коагуляцион гемостаз)



2-rasm. Plazma gemostazi. VMK - yuqori molekulyar kininogen; RFMK - eruvchan fibrin-monomer komplekslar; fp A va V - fibrinopeptidlar A va V; S3, S5V, S9 - komplement sistemasi faktorlari

Fibrin stabillashgandan so`ng birlamchi qizil trombnini hosil qiluvchi shakliy elementlar bilan birga postkoagulyatsion fazaning 2 ta asosiy jarayoni - spontan fibrinoliz va retraksiya hosil bo`ladi. Bu jarayonlar gemostatik to`liq tromb hosil bo`lishiga olib keladi. Normada ushbu 2 ta jarayon parallel kechadi. Fiziologik spontan fibrinoliz va retraksiya trombnini zichlashishi va uni gemostatik funktsiyalarni bajarishiga yordam beradi. Bu jarayonda plazmin (fibrinolitik) sistema va fibrinaza (faktor XIIIa) faol qatnashadi. Plazmin sistemasi 4 ta asosiy komponent: plazminogen, plazmin (fibrinolizin), fibrinoliz profermenti aktivatorlari va uning ingibitorlaridan

tashkil topgan. Plazmin sistemasi komponentlarining buzilishi fibrinolizning patologik aktivatsiyasiga olib keladi.

I.4. Endotelial oqsillar - gemostaz regulyatorlari sifatida

Gemostaz jarayoni stimullash va boshqarishda endotelial hujayralar membranalarining integral oqsillari (trombomodulin va to`qima faktori) regulyator oqsillar vazifasini bajaradi [Luscher, 1990; Lytton et al., 1991].

Trombomodulin endotelial hujayralar plazmatik membranasining integral glikoproteini bo`lib, trombinning yuqori affinli retseptori hisoblanadi [Kasheverov, Tsetlin, 2009; Bindokas, Adams, 1989].

Trombomodulin trombin bilan kompleks holda kofaktor sifatida faoliyat ko`rsatadi va trombin katalizlayotgan profermentni aktivatsiyasini taxminan 20000 marta tezlashtiradi. Trombomodulin bilan bog`langan trombin faol markaz konformatsiyasini o`zgarishi natijasida uni antitrombin III ta`siridagi inaktivatsiyasiga nisbatan yuqori sezgirlikka ega bo`ladi va fibrinogen bilan o`zaro ta`sirlashish xususiyati va trombositlarni faollashtirish xususiyatini tamoman yo`qotadi [Esmon et al., 1991].

Tomir hujayralari va endotelial hujayralar ikki tipdagi, ya`ni to`qima va urokinaza tipidagi plazminogen aktivatorlarini ishlab chiqaradi. Ushbu komponentlar fibrinolizni boshlang`ich bosqichini boshqarishda ishtirok etadi. Bu jarayon gemostatik va patologik tromblarni eritishga qaratilgandir.

Plazminogenning ***to`qima aktivatori*** (faktor III, tromboplastin, TAP) serin proteaza noaktiv proferment plazminogenni aktiv ferment plazminga aylanishini katalizlaydi va fibrinoliz sistemasining muhim komponenti hisoblanadi. Plazminogen aktivatori bazal membrana, hujayra tashqarisidagi matriks va hujayralar invaziyasining destruksiya jarayoniga ko`p jalb qilinadigan fermentlardan biri hisoblanadi. Uni endoteliy ishlab chiqaradi va tomir devorida joylashgan [Loscalzo, ea 1988]. To`qima faktori fosfolipoprotein hisoblanadi. Ushbu kompleksning apoproteini

membrananing integral glikoproteinidir, u endoteliy, silliq muskul hujayralari fosfolipidlari bilan mustahkam bogʻlangan va shikastlanganda qon bilan kontaktlashadi, nihoyat trombin generatsiyasi va qon ivish mexanizmini ishga tushishiga yordam beradi. U qonning siruyatsiyalovchi faktor VII ga juda oʻxshash. Ca²⁺ ionlari ishtirokida apoprotein toʻqima faktori faktor VII bilan stexiometrik kompleks hosil qilib uning konformatsion oʻzgarishlarini chaqiradi va serin prteinazaga aylantiradi. Reaksiya qonda tsirkulyatsiyalovchi proteinazaning (faktor Xa, trombin, faktor VIIa, faktor IXa) izlari bilan stimullanadi. Bunda hujayra ichidagi Ca²⁺ miqdori oshadi. Xosil boʻladigan kompleks (faktor VIIa -T.f.) faktor X ni serin proteinaza f.Xa ga aylantiradi. Toʻqima faktori-faktor VII kompleksi faktor X ni ham, faktor IX ni ham, oxir oqibat trombin generatsiyasini aktivlaydi (Boyle, Verrier ea., 1996).

Plazminogening urokinaza aktivatori (PUA). PUA serin proteinazasi va bir zanjirli yoki koʻp zanjirli oqsil hisoblanadi. Bir yoki koʻp zanjirli oqsillar plazminogenni plazminga aylanishini faollashtiradi. Serin proteinazalari faqatgina oqsillarni parchalamasdan, signal molekulalari ham hisoblanadi, hujayra retseptorlari bilan oʻzaro taʼsirlashib, ularning vazifasini boshqaradi [Devaraja et al.,2008]

Qon ivishining Xa faktori, protein S va urokinazaning retseptori aniqlangan, ular qon ivish sistemasining faollashishini boshqaradi [Koshelnick et al., 1999; Esmon et al., 1999].

Ushbu proteinazalardan farqli ravishda trombin PAR oilasi retseptorlarini parchalab va aktivlashtirib hujayralar aktivligini boshqaradi [Siigur et al., 2001, Giron et al., 2007] va uning juda koʻp miqdorda boʻlishi shikastlanmagan endoteliy zonasida tezda inaktivlashadi. Ushbu fakt qonning suyuq holatda ushlab turilishi va uning funktsiyalarining bajarilishi uchun eng zarur sharoit hisoblanadi.

Biologik faol moddalarning hujayra ichida kechadigan jarayonlarga ta`siri

Oxirgi vaqtlarda ko`plab tadqiqotchilarning e`tiborini biologik faol moddalar (hayvonlar toksinlari, o`simlik polifenollari)ning ta`sirini o`rganish tortmoqda. Tabiiy birikmalarning ta`sir mexanizmi asosida, odatda ularning murakkab fiziologik jarayonlarni yuzaga keltirishi yotadi, buning natijasida hujayra-nishonning funktsional faolligi o`zgaradi

Xozirgi vaqtda hayvonlar zaharlari va o`simlik polifenollarining ta`siri to`g`risida ko`plab adabiyotlarda keltirilgan, ular membrana transportining turli sistemalariga - ion kanallari, ionotrop retseptorlar, qon ivish sistemalari va b. ga ta`sir qiladigan yuqori spetsifik moddalarning manbai hisoblanadi.

Shu bilan birga, ko`pgina polifenollar tomirlarni kengaytiruvchi xususiyatga egadir. Bunda ushbu jarayonga hujayra ichidagi turli depolardan chiqadigan, noradrenalin va kofeinga sezgir bo`lgan kalsiy ionlari jalb etilishi (Jiang et al., 2000; De Freitas et al., 1996; Anselmi et al., 1994). Polifenollarning vazorelaksant ta`siri potentsial- va retseptor yordamida boshqariladigan Ca^{2+} kanallari (Yamahara et al., 1988; Ivorra et al., 1993; Chang et al., 1994; Chulia et al., 1995; De Freitas et al., 1996; Sim et al., 2001; Orallo, Alzueta, 2001; Orallo, 2003), hamda $\alpha 1$ va $\alpha 2$ -adrenoretseptorlar (Ivorra et al., 1993; Lei et al., 1999; Orallo, 2003; Valiente et al., 2004), 5-gidrotriptamin retseptorlarning ingibirlanishi (Cheng et al., 1994; Orallo, 2003), b-adrenergik retseptorlarning stimulyatsiyasi (Lee et al., 1994), proteinkinaza C (Souhrada, Souhrada, 1993; Orallo, 2003) va inozitoltrifosfat hosil bo`lishiga javobgar fosfolipaza S ning ingibirlanishi (Bova et al., 1992) bilan bog`liq bo`lishi mumkin. Shu bilan birga ayrim polifenollar ta`siri ular tomir endoteliysiga NO-sintaza aktivligining modulyatsiyasi hisobiga bo`lishi mumkin (Kuramochi et al., 1994; Togna et al., 2001; Yao, Jiang, 2002; Sharabi et al., 2004).

Shunday qilib, keltirilgan ma'lumotlar polifenollarning keng farmakologik ta'sirga egaligini ko'rsatadi. Lekin ularning biologik faolligi etarlicha o'rganilmagan.

I.5. Gemostaz buzilishini aniqlashning umumiy usublari

Hozirgi vaqtda qon ivishining buzilish mexanizmini aniqlash uchun ko'plab diagnostik testlar mavjud [19-27]:

1) AChTV (faollashgan qisman trombin vaqti) test - XII, XI, IX, VIII singari qon ivishning ichki mexanizmi omillarining etishmovchiligi, hamda qon plazmasida ularning ingibitorlari, geparin bor-yo'qligini aniqlaydi. Ushbu holatlarda AChTV vaqtining uzayishi kuzatiladi, qisqarishi esa giperkoagulyatsiyani ko'rsatadi.

2) TV (trombin vaqti) - qon ivishining oxirgi bosqichining kinetikasi - fibrinogeni fibringa aylanish tezligini xarakterlaydi. TV uzayishi gipofibrinogenemiya, disfibrinogenemiya, plazmada PDF miqdorining ortishi, qonda to'g'ri ta'sir qiluvchi antikoagulyantlarning borligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

3) AVR - koagulyatsiya ichki mexanizmining qon ivish omillarini (XII, XI, IX, i VIII), hamda prekallekriin va yuqori molekulyar kininogenning etishmovchiligi yoki ingibirlanishini, yoki ularda ingibitorlarning bor-yo'qligini aks ettiradi. AVR bo'yicha qon ivishi vaqtining qisqarishi omillarning faollashganligini, AVR uzayishi ushbu omillarning etishmovchiligi yoki ingibirlanishini xarakterlaydi. Agar AVR aniqlanganda kefalini qo'shilmasa - prokoagulyant faollikka ega bo'lgan fosfolipoproteid membranalarning aktivligini baholash imkoniyatini beradi.

4) Protrombin vaqti yoki protrombin indeksi - koagulyatsiyaning tashqi mexanizmi protrombin kompleksi (VII, X, V, II) omillarining faolligi yoki etishmasligini aniqlaydi. Protrombin vaqtining normal trombin vaqtida

uzayishi qon ivish aktivatsiyasining tashqi yo`lining ingibirlanishini, ya`ni XII, V, va II omillarning defitsitligini ko`rsatadi. Xozirgi vaqtda protrombin nisbati aniqlanadi.

5) Plazmada fibrinogen miqdorini aniqlash - katastrofik va o`tkir DVS sindrom da fibrinogen konsentratsiyasini pasayishi.

6) Ortofenantrolin testi - qon plazmasidagi eruvchan fibrin monomer komplekslarini miqdoriy aniqlash uchun ishlatiladi. Komplekslar plazmada erigan holatda bo`ladi va tomirlar ichida qon ivishining markeri hisoblanib, trombin ta`sirida ivimaydi.

7) Birlamchi fiziologik antikoagulyantlarni aniqlash - antitrombin III va protein S faolligi hisobga olinadi. qon yo`qotish yoki sarflash natijasida antikoagulyantlar etishmaganida ularning miqdori kamayadi, bu esa tromboz hosil bo`lishiga imkon yaratadi.

8) Plazminogen rezervini aniqlashning ekspress-metodi - IRP ning pasayishi plazminogenning fibrinogen miqdoriga nisbatan kamayganligidan, fibrinogen konsentratsiyasi normada bo`lganida plazminogen miqdorining absolyut kamayganligidan dalolat beradi

Qon ivish mexanizmi to`g`risidagi zamonaviy tasavvurlar

Qon ivishi jarayonining 1964 yilda taklif etilgan "kaskadli" model asosida (Davie, Ratnoff, 1964) hozirgi vaqtga kelib in vivo da qon ketishini to`xtashini tushuntirib bera olmay qoldi. Ushbu modelga asosan fibrin hosil bo`lishiga olib keluvchi koagulyatsion faktorlarning aktivatsiyasi 2 yo`l - qon ivishi jarayonining dastlabki bosqichlarida aktivlashtiruvchi yuzaning xarakteriga bog`liq holda tashqi va ichki yo`l bilan amalga oshadi.

Tashqi yo`l uchun bunday yuza faktor VII ni aktivlashtiruvchi to`qima faktori hisoblanadi.

Ichki yo`l boshqa guruh faktorlari - XII, XI, IX va VIII faktorlarning aktivlanishining ketma-ket reaksiyalari zanjiridan o`tadi. XII faktorni

aktivlanish jarayoni kallikrein bilan tezlashadi, XI faktorni yuqori molekulyar kininogen aktivlashtiradi. Faktor Xa hosil bo`lishi bilan, albatta protrombinazani, qonning ivish jarayoni umumiy yo`l bo`yicha davom etadi (Davie, Ratnoff, 1964; Vanschoonbeek et al., 2003).

Oxirgi paytlarda inson organizmida ushbu ikkala yo`lning nafaqat bir-biri bilan, balki trombositlar bilan ham chambarchas bog`langanligi aniqlangan (Walsh, 2001).

Zamonaviy tushunchalarga ko`ra qon ivish jarayoni 3 fazadan iborat: initsiatsiya, kuchayish va koagulyatsion jarayonning tarqalishi.

Qon tomiri shikastlanganda spetsifik oqsil - to`qima faktori (TF) - qonning VII faktori bilan kontaktga kirishadi. TF qon bilan aloqaga kirishmaydigan ko`plab tipdagi hujayralar, jumladan, silliq muskul, fibroblast, makrofaqlarda ekspressiyalanadi. To`qima faktori VIIa bilan faktor X ni aktiv shaklga keltiradi. TF-VIIa ning aktiv kompleksi cheklangan proteoliz yo`li bilan X va IX faktorlarni aktivlaydi. Xosil bo`lgan IXa faktori xuddi subendotelial hujayralardan “sirpanib tushib qolgan”dek, bevosita yaqinroqda joylashgan aktivlangan trombositlardagi spetsifik retseptor bilan o`zaro ta`sirlashadi (Xeemskerk et al., 2002). Ular glikoprotein IIb-IIIa kompleksida protrombinni bog`lanishi uchun joy hisoblanadi. Bunda fiziologik xolatlarda kam miqdordagi trombinlar hosil bo`ladi, lekin ular qon ketishini to`xtatish uchun fibronogenni etarli miqdordagi fibringa aylantirib bera olmaydi (Furman et al., 2000).

Shu bilan qon ivishining birinchi fazasi - koagulyatsiya initsiatsiyasi yakunlanadi. Shuning o`zida trombositlar qon ivishining faktorlari bilan aktiv ta`sirlashadi. Tomirlar endoteliysi zararlanganda trombositlar adgeziyasi va agregatsiyasi kuzatiladi va qon iviydi. Trombositlar trombinlar aktivatsiyasini chaqiradi, trombin esa ular agregatsiyasining kuchli stimulyatori hisoblanadi.

Qon ivishining ikkinchi fazasi - koagulyatsiyani kuchayishida hosil bo'lgan mikromolyar miqdordagi trombin XI, VIII va V faktorlarni aktivlashtiradi. Ularning aktivatsiyasi trombositlarning Ib-V-IX glikoprotein kompleksi hisobiga engillashadi. XI va V faktorlarning aktiv shakllarini ortishi plastinkalarning a-granularidan ularning sekretiya qilinishi hisobiga ham etadi. Aniqlanishicha, faktor XIa ning dimeri qon plastinkalarining yuzasi bilan bitta polipeptid zanjiri orqali birikadi, ikkinchi monomer esa faktor IX uchun birikish joyi hisoblanadi (Xoffman and Monroe, 2001).

Qon plastinkalarining qon ivishining uchinchi fazasi - koagulyatsion jarayonning tarqalishida ishtirok etishi ko'p planli hisoblanadi. Tomir devorining shikastlangan zonalarida trombositlar yuza hosil qiladi, yuzada qon ivishining barcha faktorlarining sborkasi, konsentratsiyasi va aktivatsiyasi sodir bo'ladi. Fosfatidiletanolamin ekspozitsiyadan so'ng tashqi sohada trombositlar membrananing faktorlar Va va VIIIa ga affinligini oshiradi, lekin aynan fosfatidilserintenaza va protrombinaz kompleksining barcha faktorlarining birikadigan joyi bo'lib xizmat qiladi (Vanschoonbeek et al., 2003).

Fosfatidilserin bilan bog'lanadigan anneksin V, v2-glikoprotein-I va trombositlar sekretiya qiladigan fosfolipaza A2 bilan yuqorida aytilgan komplekslarni hosil bo'lishi va plastinkalarning koagulyatsion aktivligini ingibiraydi. Plazmadagi eruvchan V2-glikoprotein-I ning asosiy antikoagulyant ta'siri uning trombosit membranasidagi manfiy zaryadlangan aminofosfolipidlar bilan o'zaro ta'sirlashuviga bog'liqdir.

Trombositlar yuzasida koagulyatsion faktorlar - XI, XIa, IX, IXa, VIII, VIIIa, V, Va, X, Xa, protrombin va trombinning fiksatsiyalanishida o'ziga xos yuqori affinli bog'lanish joylari mavjudligi aniqlangan. IXa va kofaktor VIIIa dan iborat bo'lgan tenaz kompleksini hosil bo'lishi uchun aminofosfolipidlardan tashqari stimullangan trombositlarda ko'plab bog'lanish joylari ekspozitsiyalanadi (1500 joy/trombosit dan yuqori). O'z

navbatida faktor Va o`zining retseptori bilan birikkanidan so`ng trombositlar yuzasida faktor Xa (5000 joy/trombosit) uchun birikish joylari hosil bo`ladi.

Aktivlashgan trombositlar yuzasida shakllangan protrombinazali kompleks inaktivatsiyadan himoyalangan va protrombin proteolizini indutsiraydi, natijada ko`p miqdorda trombin hosil bo`ladi. Trombin fibrinogenni parchalaydi va XIII faktorni aktivlashtiradi, buning natijasida esa erimaydigan fibrin hosil bo`ladi (Ahmad et al., 2003). Uchinchi fazada gemostatik ta`sir ko`rsatadigan ivitma hosil bo`lishi uchun etarli miqdordagi fibrin hosil bo`ladi.

Mikrozarrachalarning fiziologik va patologik ahamiyati qaysiddir darajada uning tarkibi bilan belgilanadi. Ularning tarkibida aminofosfolipidlardan tashqari bir qator trombositlar retseptorlar: GPIIb-IIIa, GPIb, GPIa-IIa, a-granulaning P-selektini, ivishning ayrim faktorlari (VIII, Va, IX, IXa, X) uchun nolipidli bog`lanadigan joylar, sitoskelet oqsillari (filamin, talin, miozinning og`ir zanjiri), araxidon kislotasi va uning metabolitlari, hamda alohida antikoagulyant substansiyalar (proteinlar S va S), proteazalarning ingibitorlari mavjud (Tracy, 2001).

Shunday qilib, zamonaviy tasavvurlarga ko`ra in vivo da qon ivishi yagona bo`lib, trombositlarning gemostatik reaksiyalari bilan bog`liqdir. Qon plastinkalari o`zining murakkab tuzilgan retseptor apparati hisobiga nafaqat koagulyatsion faktorlarni faollashtirishda qatnashadi, balki qon ivishining barcha jarayonini boshqarish vazifasini bajaradi.

Zamonaviy tushunchalarga ko`ra qon ivish jarayoni 3 fazadan iborat: initsiatsiya, kuchayish va koagulyatsion jarayonning tarqalishi.

Qon plastinkalari o`zining murakkab tuzilgan retseptor apparati hisobiga nafaqat koagulyatsion faktorlarni faollashtirishda qatnashadi, balki qon ivishining barcha jarayonini boshqarish vazifasini bajaradi.

Zaharlar tarkibidagi biologik faol moddalar

Ilon zaharlari tarkibidagi biologik faol moddalarning kompleksi: fermentlar (gialuronidaza, fosfolipaza A, nukleotidaza, fosfodiesteraza, dezoksiribonukleaza, ribonukleaza, adenozintrifosfataza va boshqalar) (Freyssinet, 2003), polipeptidlar (neyro- va gemotoksinlar), oqsillar va anorganik komponentlar mavjuddir. Ta`sir qilish xarakteriga ko`ra ular 2 ta asosiy guruhga bo`linadi: neyrotoksik (nerv sistemasiga ta`sir qiladi) va gemotoksik (qonga ta`sir qiladi). Ko`plab ko`zoynakli ilonlarning zaharlarida membranoaktiv polipeptidlar (molekulyar og`irligi 6000-7000 Da) xam uchraydi va ular keng spektrdagi faollikka egadir: gemolitik, kardiotoxik va sitotoksik. Ularning ta`siri asosida yuzadagi hujayralar membranalarini modifikatsiyalash xususiyati yotadi (bunda qo`zg`aluvchan membranalar depolyarizatsiyalanadi). Ayrim zaharlarning toksik ta`sirini ta`minlanishida fermentlar - gialuronidaza, atsetil-xolinesteraza va fosfolipaza, hamda qon ivishiga ta`sir qiluvchi faktorlar muhim rol o`ynaydi.

Qora ilonlar va shaqildoq ilonlar zaharining gemotoksinlari 2 ta guruhni tashkil qiladi: serin proteazalar va tarkibida metal kationlari mavjud bo`lgan proteazalar. Serin iproteazalar - termolabil endopeptidazalar: ta`sir qilish xarakteriga ko`ra trombin singari fermentlar va kininogenazalarga yaqin, metalloproteazalar - termolabil oqsillar, ular kazein, gemoglobin, insulin va boshqalar gidrolizini katalizlaydi (Davie and Ratnoff, 1964). Metalleproteazalar aktivligini ikki zaryadli ionlar (masalan, Ca^{2+}) promotorlaydi, ularda argininesteraza aktivligi bo`lmaydi va asosan leytsin va fenilalanin qoldiqlari bog`iga ta`sir qiladi. Zahar tarkibida proteazalarning miqdori turlicha bo`ladi (masalan, V. berus qora iloni zaharida 75% proteolitik faollik metalloproteazalarga va 25%i seringa to`ri keladi, gyurza zaharida esa teskari nisbatda bo`ladi).

Zaharlarning gemostaz sistemasiga ta`siri

Zaharlardagi proteazalar qonning ivishi va fibrinolizni buzishi mumkin, natijada esa tromboemboliya yoki gemorragiyalarga olib keladi. Ko`plab zaharlarning proteazalari gemokoagulyatsion kaskadning turli zvenolariga ikki tomonlama ta`sir qiladi: avval qonni tomir ichida ivishi kuzatiladi, so`ng qon uzoq vaqtga ivish xossasini yo`qotadi. Shaqildoq ilonlar zaharining xarakterli belgilariga ularda ham koagulyatsiyalovchi, ham antikoagulyatsiyalovchi ta`sirlarga ega bo`lgan fibrinogenni gidrolizlaydigan fermentlarning bo`lishi kiradi. Shu bilan birga Viperidae oilasiga mansub qora ilonlarning zaharlarida qon ivish jarayonining erta bosqichlarida ta`sir qiluvchi proteolitik fermentlar mavjuddir (Bouma et al., 1998; Broze, 1992; Butenas and Mann, 1996). Qon ivish jarayonini Styuart faktori yoki faktor Xni aktivlashtirish yo`li orqali tezlashtiradigan fermentlar boshqa qora ilonlarda, masalan, *Cerastes cerastes*, *Rassel bo`g`ma iloni* (*Vipera russellii*) zaharida ham aniqlangan. *Vipera russellii* zaharida faktor X aktivatoridan tashqari faktor Vning aktivatori topilgan. Zahar fermenti yordamida faktor V ni aktivlashtirish uchun kaltsiy ionlari shart emas, ushbu yo`l bilan hosil bo`lgan aktivlashgan faktor V trombin ta`sirida tabiiy yo`l bilan aktivlashadigan faktorga nisbatan ancha barqarordir. V.Rassellii zaharidan topilgan yana bir proteaza faktor IX yoki Kristmas faktorini aktivlashtirgan, hamda plazmadagi kaltsiy ionlarining miqdoriga bog`liq bo`lgan. Oddiy qalqantumshuqda *Agkistrodon halys halys* va ko`plab shaqildoq ilonlarning zaharlari peptidlarni parchalab uzadi va fibrinning to`liqsiz monomerlarini hosil qilib fibrinogenni ivitadi. Ushbu zaharlar dis-fibrinogenemiyani aniqlashda ishlatiladi.

Eshis turiga mansub ilonlar zaharida faktorlar X va II ga nisbatan o`ziga xos bo`lgan proteinazalar topilgan. *Echis multisquamatus charx* iloni zaharida yashirin giperkoagulyatsiyani aniqlashda: faktor II miqdorini aniqlashda: fibrinogen o`q oqimining barcha yirikmolekulyar komponentlar

miqdorini aniqlashda foydalaniladigan faktor XI ning aktivatori mavjud (Engelmann et al., 2003; MacFarlane, 1964).

Xozirda trombositlar agregatsiyasini induktivlovchi yoki ingibitorlovchi proteinazalar ko'plab o'rganilgan. Birinchisiga B.Atrox zaharidan ajratib olingan trombositin kiradi. Trombositlar agregatsiyasining ingibitorlariga esa Vipera palestinae dan ajratib olingan fibrinogenaza kiradi. Ushbu proteinaza fibrinolitik faollikka ega va trombositlar agregatsiyasini ingibitorlaydi.

Tabiiy zaharlarni hujayraning funksional faolligiga

ta'siri

Ko'p yillar mobaynida tadqiqotchilar e'tiborini tabiiy toksinlarni membranada va hujayra ichida kechadigan jarayonlarga ta'sirini o'rganish qiziqtirib kelmoqda. Bunga sabab ushbu birikmalar juda kichik dozalarda ham biologik ta'sir ko'rsatadi va bu ta'sirlarning biologik sistemalarda doimo kechadigan gomeostatik jarayonlarning mexanizmlariga aynan o'xshashligidir. Tabiiy birikmalarning hujayra va hujayra ichidagi organellarga ta'sir mexanizmi asosida odatda uning murakkab fiziologik, biokimyoviy va biofizikaviy jarayonlarni initsiatsiyalash qobiliyati yotadi. Bu qobiliyatlar oxir-oqibatda hujayra-nishonning funksional faolligini o'zgartiradi yoki optimallashtiradi.

Tabiiy toksinlarni tajribalarda o'rganish 2 ta asosiy yo'nalishlar bilan bog'liqdir: toksinlarning kimyoviy tabiatini va ularning toksik ta'sir mexanizmlarini o'rganishdir. Ushbu biokimyoviy va fiziologik yo'nalishlar o'zaro bog'liqdir, chunki kimyoviy birikmaning ta'sir mexanizmi birinchi navbatda uning tuzilishiga bog'liqdir. Toksinlarning ta'sir mexanizmini o'rganish toksikologiya, biofizika, fiziologiya, biokimyovo va boshqa fanlarning klassik metodlariga asoslangan. Ushbu metodlar toksinlarning

yaxlit organizmga va uning alohida funksional sistemalari va organlariga ta'sirini baholash imkonini beradi.

Xozirda hayvon zaharlarining ko'plab toksinlari yaxshi o'rganilgan. Xayvon zaharlarining kimyoviy tuzilishi turli-tuman bo'lib, oqsil va nooqsil birikmalardir. Bular - enzimlar va proteinlar, oligo- va polipeptidlar, lipidlar, biogen aminlar, glikozidlar, terpenlar va b. Aksariyat hollarda hayvonlar zaharlari ko'p miqdordagi biologik faol moddalar aralashmasidan iborat bo'ladi. Masalan, o'rgimchaklar, chayonlar va ilon zaharlari tarkibida fosfolipaza A va V, atsetilxolin-esteraza, fosfataza, gialuronidaza, ribonukleaza kabi enzimlar, murakkab oqsil tuzilishiga ega bo'lgan birikmalar, hamda minor oqsil komponentlar va qator organik va noorganik moddalar mavjud (Martin and Boys, 1995; Monroe et al., 1996; Phillipou et al., 1997). Ushbu birikmalar toksik ta'sirning fiziologik faolligi va xarakterini belgilab beradi.

Hozirgi vaqtda adabiyotlarda hayvon toksinlarining ta'siri to'g'risida ko'plab ma'lumotlar keltirilgan bo'lib, unda zaharlarning membrana transportining turli sistemalari - ion kanallari, ionotrop retseptorlar, qonning ivish sistemasiga ta'sir qiluvchi o'ziga xos moddalarning manbai ekanligi aniqlangan.

Zaharlarning toksik ta'siri mexanizmi asosida ularning biologik barerlar (kapillyarlar devori, hujayra membranalari va gematoentsefalitik barer) orqali o'tishi va molekulyar darajada biologik membranalar bilan o'zaro ta'sirlashuvi yotadi. Toksinlarni hujayra va molekulyar darajada o'rganish birinchi navbatda zaharning ta'siri yo'naltirilgan biologik substrat aniqlanadi. Boshqacha aytganda, murakkab biotizimlarda zaharlarga sezgir retseptorlarni aniqlash, ilon zahari ta'sirida zararlanish mexanizmlarini o'rganish bilan bir qatorda bu zaharlardan ushbu retseptor tizimlari funksional faolligini boshqarish imkoniyatlarini xam o'rganish mumkin. Masalan, bu ko'rinishdagi tadqiqotlarda baliq, amfibiya va chayonlardan

ajratib olingan zaxarlardan asab hujayralari membranasi natriy kanallari funktsional faolligini boshqarishda, ilon neyrozaxarlaridan esa amaliyotda xolinoretseptorlar funktsiyasini boshqarishda foydalaniladi. Zaxarlarning retseptorlarga ta`siri fiziologik holatga yaqin bo`lgan holatda ular agonist sifatida ta`sir ko`rsatishi mumkin. Bu ta`sir natijasida retseptorning faoliyati kuchayishi yoki susayishi kuzatiladi. Ba`zan zaharlar endogen fiziologik jarayonlarga antagonist sifatida ta`sir ko`rsatib, hujayra, organ va butun organizm funktsiyalariga nisbatan salbiy ta`sir ko`rsatishi aniqlangan. Zaxarlar ta`sir mexanizmida yuqori darajadagi spetsifiklik, endogen moddalarga nisbatan, masalan mediatorlarga nisbatan konkurent antagonizm hodisasi qayd etiladi.

Zaxarlar ta`sirining qaytar yoki qaytmas holatda bo`lishi ligandning retseptorga bog`lanish darajasiga bog`liq bo`lib, bunda mustaxkam (kovalent) yoki nisbatan bo`sh bo`lgan (elektrostatik, gidrofob va boshqa) bog`lar xosil bo`ladi. Zaxarlarning eng muhim xususiyatlaridan biri - ularning tanlab ta`sir ko`rsatishi hisoblanadi va bunda faqat bitta turdagi nishon-hujayralar zararlanadi. Unga tegib turgan qo`shni hujayralarga esa zaxar komponentlari sezilarli ta`sir ko`rsatmaydi. Zaxarlarning tanlab ta`sir ko`rsatish xususiyati ularning retseptorlar bilan mos ravishda ta`sirlashishi bilan bog`liq hisoblanadi. Bunda ma`lum bir zaxarning molekulyar tuzilishi bilan u ta`sir ko`rsatadigan retseptor molekulari o`zaro mos tushadi va retseptor makromolekulasining faol markazida funktsional guruhlar zaxar molekulasi guruhlari bilan bog`lanish xosil qiladi (Ahmad et al., 2003; Barry and FitsGerald, 1999).

Zaharlar komponentlarining bu ko`rinishdagi nishon-strukturalar bilan ta`siri ta`sir qiluvchi modda o`lchamlari va xususiyatiga bog`liq. Komponent molekulari o`lchamlari uning biologik faolligini belgilab berib, molekulyar massa ortishi bilan zaxar komponentlarining organizm to`qimalariga singishi va tarqalish imkoniyati cheklanishi kuzatiladi.

Boshqa tomondan olib qaralganda esa, molekula o'lchamlari kattalashgan sari makromolekula tarkibida izomer qismlar soni ortishi kuzatiladi va bu esa spetsifik ta'sir ko'rsatish jarayonida bog'lanish xosil qilishlar sonini oshiradi. Ya'ni zaxar komponentlarining molekulasi qancha katta o'lchamda bo'lsa, uning bog'lanish xosil qiluvchi sohalari soni ortishiga olib keladi va bog'lanishlar mustaxkamligi ortadi. Agar zaxar molekulasining o'lchamlari tabiiy agonist molekulasiga nisbatan katta bo'lsa, uning Van-der-Vaals kuchlari natijasida retseptor bilan bog'lanishlari mustaxkamligi darajasi ortishi kuzatiladi. Bu holat zaxar komponentining retseptorning agonisti ta'siriga to'sqinlik qiluvchi sohani yuzaga kelishiga olib keladi. Masalan, atropin va kurarin ushbu ko'rinishda M- va N-xolinoretseptorlarga mos ravishda ta'sir ko'rsatadi (Billy et al., 2002).

Past molekulyar ooksinlar yuqori molekulyar toksinlardan farqli ravishda nisbatan kamroq ta'sir ko'rsatadi: masalan, qo'zg'aluvchan biomembranalarning o'tkazuvchanligining buzilishi, oqsillar, nuklein kislotalar molekullari bilan kovalent bog'larning hosil bo'lishi va h.k. Ko'plab neyromediatorlar (atsetilxolin, adrenalin, serotonin i dr.) ning kattaligi o'lchanganda, ularning molekulyar og'irligi 250-300 D atrofida ekanligi aniqlangan. Tabiiyki, hayvon zaharlari komponentlarining kattaligi ham shu oraliqda bo'ladi va albatta ma'lum bir fazoviy tuzilishga ega (Sims and Wiedmer, 2001).

Xayvon toksinlarining struktura-nishon bilan o'zaro ta'sirlashuvi fizikaviy-kimyoviy reaksiyalar hisobiga amalga oshadi. Zaxar ta'sirida zaxarlanish jarayoni fizik-kimyoviy reaksiyalar natijasida yuzaga kelib, toksinlarning aniq bir muhitda (suvli yoki lipid) biologik membranalar orqali hujayraga kirishi bilan belgilanadi. Masalan, markaziy asab tizimi hujayralariga ko'pgina kimyoviy birikmalarning (asosan suvda eruvchi va zaryadlangan qismlarga ega bo'lgan) kirib kelishi bunga misol bo'ladi. Bu holat bosh miya hujayralarining anatomik jihatdan o'ziga xos tuzilishiga

bog`liq bo`lib, "gematoentsefalik to`siq" xosil qilishi bilan tushintiriladi. Bunda birinchidan, bosh miya kapillyar qon oqimi tarmoqlari boshqa organlarga nisbatan endoteliysi bilan farqlanadi, ya`ni hujayralar o`zaro bir biriga juda yaqin joylashadi. Kapillyarlarning porasi radiusi boshqa to`qimalarga nisbatan sezilarli darajada kichik bo`ladi. Shu sababli gematoentsefalik to`siq orqali lipid qatlamida yaxshi eruvchi moddalar miya hujayralariga oson kirib kela oladi. Biroq yirik o`lchamli, suvda eruvchi makromolekulalar bu to`siq orqali o`ta olmaydi. Suvda eriydigan va zaryadli qismlarga ega bo`lgan molekulalar bevosita endoteliy hujayralari membranasidan faqat o`lchamlari ancha kichik bo`lgan hollardagini o`ta oladi (Panteleev, 2002).

Yuqorida keltirib o`tilganlardan tashqari, biologik faol moddalarning biologik nishon organlar bilan ta`sirlashuvida doimiy holatdagi ko`plab to`siqlar mavjud. Masalan, epiteliy, endoteliy qavatlarining va asab-muskul hujayralarining biologik membranalari bunga misol bo`ladi. Ba`zi bir biologik faol moddalar bu biologik membranalarning xususiyatlarini o`zgartirishi mumkin, biroq bunda fiziologik jarayonlar sezilarli o`zgarmaydi. Zaxarlarning zararli ta`siri biologik membranalarning xususiyatlari buzilishi, endoteliy va asab-muskul hujayralarining ion kanallari funktsiyasidagi buzilishlar bilan bog`liq bo`lishi mumkin.

Qon ivishiga qarshi mexanizmlar

Qon qon tomirlarda doimo suyuq holatda aylanib yuradi, bu gomeostazni eng muhim parametrlaridan biri bo`lib hisoblanadi. Gemokoagulyatsiya sistemasini asosiy funktsiyasi. Qonni ivishi - bu qon tomirlar shikastlanganda organizmni ikkilamchi himoya moslashishi. Tabiiy sharoitlarda gemokoagulyatsiya sistemasi qonni suyuq holatini saqlab turishga imkon yaratadi.

Qonni suyuq holatda bo`lishini juda ko`p mexanizmlar ta`minlaydi:

- Qon tomir devorini sillik holati. Bu Xageman faktorini aktivlanishiga va trombositlarni agregatsiyasiga tuskinlik qiladi;
- Qon tomir devori va eritrotsitlar manfiy zaryadga ega, bu qon hujayralarini qon tomir devoridan itarilib ketishiga sabab bo`ladi;
- Qon tomirlar devori yupka eriydigan fibrin kobigi bilan koplangan, qon ivishini aktiv faktorlarini, ayniksa trombinni adsorbtsiya qiladi;
- Qon oqimini katta tezligi qon ivishiga xalakit beradi, shu joyda gemokoagulyatsiya faktorlarini etarli konsentratsiyada tuplanishiga imqon bermaydi;
- Qonning suyuq holatini qondagi tabiiy antikoagulyantlar saklab turishadi;

Organizmda bor hamma antikoagulyantlar ikki gruppaga bo`linadi: Birlamchi qon ivish va fibrinoliz natijasida xosil bo`ladigan - ikkilamchi. Birinchi gruppaga bir nechta antitromboplastinlar kiradi, bular protrombinazani ta`sirini va uni hosil bo`lishini tormozlaydi. Qonda bir nechta antitrombinlar bor, bulardan eng kuchlisi antitrombin III va antitrombin IV.

Aktiv antikoagulyantlarga geparin, bazofillarda va biriktiruvchi to`qimalarni semiz hujayralari ishlab chiqaradi. Geparin gemokoagulyatsiyani hamma fazalariga ta`sir ko`rsatadi, ko`p plazma faktorlarini aktivligini pasaytiradi, kam mikdorda fibrinolizni stimulyatsiyalaydi. Undan tashqari geparin gialuronidaza aktivligini pasaytiradi, qon tomirlar devorini o`tkazuvchanligini kamaytiradi, antigen-antitana reaksiyasini ingibirlaydi, og`riqqa va yallig`lanishga qarshi ta`sirga ega. Shuning uchun geparin klinikada keng qo`llanadi.

Ikkilamchi antikoagulyantlar: xosil bo`lgan fibrin 90% gacha trombinni adsorbtsiya qiladi va neytrallashtiradi, shuning uchun uni antitrombin I deb atashadi. XI faktor XII va IX faktorlar bilan o`zaro aloqada bo`lgandan keyin XII faktorni aktivligini tormozlaydi. Fibrinoliz natijasida kuchli

antikoagulyantlar xosil bo`ladi. Bular trombin ta`sirini tormozlaydilar, trombositlar agregatsiyasini buzadilar, fibrin -monomer va fibrinogen bilan ivimaydigan kompleks xosil qilishadi. Tinch holatda antikoagulyantlarni miqdori keskin oshadi. Undan tashkari jigarda vitamin K ishtirokida Protein "S" va "S" sintezlanadi. Protein "S" aktivlangan VIII va V faktorlarini inaktivlaydi.

Protein "S" trombinni VIII va V faktorlarini aktivlash kobilyatini keskin kamaytiradi.

Prostatsiklin - trombositlar agregatsiyasiga to`sqinlik qiladigan modda. Trombomodulin - tomirlar endoteliysidagi trombin retseptori - trombin bilan o`zaro ta`siri natijasida «S» oksilini aktivlaydi va natijada qon tomir devoridan plazminogenni to`qima aktivatori ajraladi. Organizmda ikkita qon ivishiga qarshi sistema (KIKS) aniqlangan I va II. Qon tomirda trombin kam miqdorda xosil bo`lganda - qondagi tabiiy antikoagulyantlar yordamida neytralizatsiyalanadi. Qonda trombin miqdori oshganda II KIKS ishga tushiriladi. Bu faoliyatda qon - tomirlarni harakatlantiruvchi markaz ham ishtirok etadi. Bu markaz periferiya qon tomirlarni o`zanini o`zgartirish yo`li bilan, qon tomirlar devoridan fibrinoliz aktivatorlari, geparinga o`xshash moddalarni ajratish bilan ta`sir qiladi. Qon ivishini tezligini va fibrinolizni eng asosiy efferent boshqaruvchisi deb qon tomirlar hisoblanadi (Smirnova, 2002).

Trombositlar - qon plastinkalari, yoki plakchalari diametri 2-5 mk bo`lgan oval yoki dumaloq shakldagi plazmatik tuzilmalardir. Odam va sut-emizuvchilarning qon plastinkalari yadrosiz, shuning uchun ko`pchilik tadqiqotchilar qon plastinkalarini hujayrasiz tuzilmalar deb hisoblashadi. Qon plastinkalari yadrosiz ekanligi bilan tuban darajadagi umurtqalilar qonida bo`ladigan tipik yadroli hujayralar - trombositlardan fark qiladi.

Qon tomirlaridan chiqqan qondagi qon plastinkalari tez parchalanadi. Qon ivishida muhim rol o`ynovchi faktorlar va retraktozimlar qon plastinkalaridan plazmaga chiqadi.

Qon plastinkalari parchalanganda ulardan tomirlarni toraytiruvchi modda - serotonin (5-gidrooksitriptamin) ajralib chiqadi. Shunday qilib, qon plastinkalari qonning ivish xossasini kuchaytiribgina kolmay, balki tomirlarni toraytiruvchi modda ajratish yuli bilan ham qon ketishiga tuskinlik qiladi. Organizmda qon plastinkalarining himoya rolini o`ynashi shundan iborat.

I bob bo`yicha xulosa.

Gemostaz sistemasi - bu organizmdagi qonning agregat xolatini bir meyorda ushlab turuvchi va qon tomirlari shikastlanganda qon ketishini to`xtatishga qaratilgan reaksiyalar kompleksidir. Gemostaz faktorlari qonni suyuq holatda saqlanishi, transkapillyar almashinuvni boshqarishda, tomir devorini chidamliligida ishtirok etadi, reparativ jarayonlarning intensivligiga ta`sir qiladi va h.k.

Organizmdagi qonning normal sharoitda suyuq holatda bo`lishi ivish jarayonida ishtirok etuvchi faktorlarning muvozanatda ekanligini ko`rsatadi. Bunday balans bir nechta omillar ta`sirida buzilishi mumkin.

Qon ivishi 2 ta guruxda amalga oshadi: hujayra (qon tomiri-trombotsitar) va plazma (koagulyatsion) gemostazi. Xujayra gemostazi - hujayralarning adgeziyasi (ya`ni hujayraning yot yuza bilan o`zaro ta`sirlashuvi, jumladan, boshqa turdagi hujayralar bilan), agregatsiyasi (bir xil hujayralarning o`zaro yopishishi), hamda qonning shakliy elementlaridan plazma gemostazini faollashtiruvchi moddalarning ajralishidir. Plazma (koagulyatsion) gemostazi reaksiyalar kaskadi bo`lib, unda qonning ivish faktorlari qatnashadi. Bu jarayon fibrin hosil bo`lishi bilan (fibrinoliz) yakunlanadi.

Gemostaz reaksiyalarini amalga oshishida tomir devori muhim rol o`ynaydi. Tomirlarning endotelial hujayralari o`zining yuzasida tromb hosil bo`lishini modullovchi turli biologik faol moddalarni sintezlash va/yoki ekspressiyalash xususiyatiga ega. Ularga fon Villebrand faktori, relaksatsiyaning endotelial faktori (azot oksidi), prostatsiklin, trombomodulin, endotelin, to`qima tipidagi plazminogen aktivatori, to`qima tipidagi plazminogen aktivatorining ingibitori, to`qima faktori (tromboplastin), to`qima faktori yo`lining ingibitori va b.lar kiradi. Bundan tashqari endoteliotsitlarning membranasida retseptorlar joylashgan bo`lib, ular ma`lum bir sharoitda qon oqimida erkin tsirkulyatsiyalanadigan molekulyar ligandlar va hujayralar bilan birikadi.

Biz ilmiy ishning maqsadidan kelib chiqib biologik faollikka ega bo`lgan polifenollar orasidan bir nechtasini gemostaz tizimiga ta`sir mexanizmini o`rganib chiqib eng samarali ta`sirga ega bo`lganini tanlab oldik. Polifenol birikmaning gemostaz tizimining Ca^{2+} ioni gomeostaziga va qon tomir-trombotsitar gemostaziga ta`sirini o`rganishni maqsad qilib oldik.

II BOB. MATERIAL VA METODLAR

II.1. Qon plazmasini ajratib olish

Qonni ivib qolmasligi uchun 9:1 nisbatda 3,8% natriy sitrati solingan plastik probirkaga soldik. 200 -250 gmm og'irlikdagi kalamushlardan 10-20 ml xajmidagi qonni olib uni tsitrat natriyli eritmaga solib so'ng, Trombotsitlarga boy plazmani olish uchun qonni 10 min davomida 200 g da sentrifugaladik. So'ngra ajrab chiqqan suyuq plazmani olib yana bir marta 10 mn davomida 1500 g da sentrifugalab, trombotsitlari kam bo'lgan plazmani ajratib oldik.

II. 2. Trombotsitlarni ajratish

Trombotsitlarni ajratish (Berkovskiy, Vasilev, 2002) usulidan foydalanib donor qonidan ajratdik. Buning uchun qonga 1:9 nisbatda sitratli antikoagulyant (100 ml suvga 1,4 g natriy tsitrati, 2 g dekstroza) qo'shdik va eritrotsitlarni cho'ktirish uchun trombotsitlarni 15 min. davomida 1150 g da tsentrifugaladik. Trombotsitlarga boy plazmani qaytadan 10 min davomida 3000 g da tsentrifugaladik. Trombotsitlar cho'kmasini tarkibida 150 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 0,37 mM NaX₂PO₄, 1 mM MgCl₂, 1 mm CaCl₂, 5 mM glyukoza, 10 mM XEPES-NaOX, pX 6,55, 50 birlik/ml geparin, 0,35% albumin zardobi va 0,15 mg/ml apiraza bo'lgan 5 ml muhitda suspenziyaladik. Barcha operatsiyalar xona haroratida plastik idishda olib borildi.

II. 3. Trombotsitlar agregatsiyasi

Trombotsitlar agregatsiyasini Born metodi bo'yicha Varian 634 fotometrida elektromagnitli aralashtirgich qurilmasi yordamida qayd qildik. Bu qurilma uni grafikaviy qayd qilish davomida agregatsion jarayonni

dinamikasini tadqiq qilishga yordam beradi. Metodning printsipti Trombotsitlarga boy plazmani agregatsiya induktorlarining ma`lum bir miqdorini qo`shguncha va qo`shgandan keyingi vaqtda optik zichligini o`zgarishini qayd qilishga asoslangan. Trombotsitlar agregatsiyasining induktorlari sifatida ADF (2 mkM), adrenalin (5 mkM) va trombin (0,5 birlik/ml), ristomitsin (5 mkM) (Sigma)dan foydalandik. Ko`rsatilgan induktorlarni trombotsitlarga boy plazmaga qo`shishdan oldin o`rganilayotgan polifenolni qo`shdik va 3 min davomida inkubatsiyaladik. Agregatsiya o`zgarishini tez harakat qiluvchi N-373 samopisetsi yordamida qayd qildik.

II. 4. Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida sitozoldagi Ca^{2+} miqdorini o`lchash

Moddalarning hujayra ichidagi kalsiy miqdoriga ta`sirini o`rganish uchun fluorestsent metoddan foydalandik (Gukovskaya, Zinchenko, 1990). Trombotsitlarni ($1 \cdot 10^8$ huj/ml) 4 mkM atsetoksiEforbinenli efir Fura-2AM ga 40 min davomida $37^{\circ}S$ da soldik. Bunda sitoplazmaga kirgan bo`yoq moddaning molekulalarida hujayra ichidagi esteraza ta`sirida efir guruhi uziladi, natijada hosil bo`lgan Fura-2 anioni Ca^{2+} ni biriktiradi. So`ngra muhitda qolgan bo`yoq moddani yo`qotish uchun ikki marta yuvdik va standart muhitda sentrifugaladik. Tajribalarda yacheykadagi hujayralar konsentratsiyasi $5 \cdot 10^6$ huj/ml ni tashkil qildi. Fluorestsentsiyani 337 nm da qo`zg`atdik, 496 nm da esa qayd qildik. Ca^{2+} bilan to`yingan bo`yoq moddaning fluorestsentsiyasi (F_{max}) o`lchash uchun Fura-2AM ga solingan hujayralarga 50 mkM digitonin qo`shdik. F_{min} ni aniqlash uchun kaltsiysiz muhitdagi fluorestsentsiya jadalligini o`lchadik: $F_{min} = [(F_{max} - F_{af})/3] + F_{af}$,

Bu erda Faf - Fura-2AM ga solingan va digitonin qo`shilgan trombotsitlarga 0,1 mM MnCl₂ qo`shgandagi hujayralarning avtofluorestsentsiyasi. Natijalarni fluorimetr (Xitachi, Yaponiya) yordamida o`lchadik.

II. 5. Membrana bilan bog`langan Ca²⁺ miqdorini o`lchash

Membranaga bog`langan Ca²⁺ miqdorini o`lchash uchun A muhitiga solingan hujayralarga 20 mkM xlortetratsiklin (XTTs) qo`shib 60 min davomida XTTsni plazmatik va ichki hujayraviy membranalardagi Ca²⁺ bilan maksimal ta`sirlashguncha inkubatsiyaladik.

XTTs 405 nm to`lqin uzunligida qo`zg`atildi, 530 nm da qayd qilindi. Natijalarni foizlarda keltirdik, bunda fluorestsentsiya intensivligining maksimal (Ca²⁺ bilan to`yintirilgan bo`yoq moddaning fluorestsentsiyasi) va uning EGTA qo`shilgandan keyingi minimal (indikatorning Ca²⁺ bo`lmagandagi fluorestsentsiyasi) ko`rsatkichi orasidagi farqni 100% deb qabul qilib oldik (Sukocheva, 1996).

Koagulyatsion testlar

2.2. Gemostaz buzilishini aniqlashning umumiy uslublari

Xozirgi vaqtda qon ivishining buzilish mexanizmini aniqlash uchun ko`plab diagnostik testlar mavjud .

1) QFTV (qisman faollashga tromboplastin vaqti) test - XII, XI, IX, VIII singari qon ivishning ichki mexanizmi omillarining etishmovchiligi, hamda qon plazmasida ularning ingibitorlari, geparin bor-yo`qligini aniqlaydi. Ushbu holatlarda AChTV vaqtining uzayishi kuzatiladi, qisqarishi esa giperkoagulyatsiyani ko`rsatadi.

2) TV (trombin vaqti) - qon ivishining oxirgi bosqichining kinetikasi - fibrinogeni fibringa aylanish tezligini xarakterlaydi. TV uzayishi gipofibrinogenemiya, disfibrinogenemiya, plazmada PDF miqdorining

ortishi, qonda to'g'ri ta'sir qiluvchi antikoagulyantlarning borligi bilan bog'liq bo'lishi mumkin.

3) PRVF (plazma rekaltsifikatsiyasining faollashish vaqti) - koagulyatsiya ichki mexanizmining qon ivish omillarini (XII, XI, IX, i VIII), hamda prekallekriin va yuqori molekulyar kininogenning etishmovchiligi yoki ingibirlanishini, yoki ularda ingibitorlarning bor-yo'qligini aks ettiradi. PRVF bo'yicha qon ivishi vaqtining qisqarishi omillarning faollashganligini, AVR uzayishi ushbu omillarning etishmovchiligi yoki ingibirlanishini xarakterlaydi. Agar PRVF aniqlanganda kefalini qo'shilmasa - prokoagulyant faollikka ega bo'lgan fosfolipoproteid membranalarning aktivligini baholash imkoniyatini beradi.

4) Protrombin vaqti yoki protrombin indeksi - koagulyatsiyaning tashqi mexanizmi protrombin kompleksi (VII, X, V, II) omillarining faolligi yoki etishmasligini aniqlaydi. Protrombin vaqtining normal trombin vaqtida uzayishi qon ivish aktivatsiyasining tashqi yo'lining ingibirlanishini, ya'ni XII, V, va II omillarning defitsitligini ko'rsatadi. Xozirgi vaqtda protrombin nisbati aniqlanadi. [Opredelenie protrombinovogo vremeni i protrombina po Kviku. <https://www.invitro.ru/analizes/for-doctors/171/2864/>]

5) Plazmada fibrinogen miqdorini aniqlash - katastrofik va o'tkir DVS sindromda fibrinogen konsentratsiyasini pasayishi.

6) Ortofenantrolin testi - qon plazmasidagi eruvchan fibrin monomer komplekslarini miqdoriy aniqlash uchun ishlatiladi. Komplekslar plazmada erigan holatda bo'ladi va tomirlar ichida qon ivishining markeri hisoblanib, trombin ta'sirida ivimaydi.

7) Birlamchi fiziologik antikoagulyantlarni aniqlash - antitrombin III va protein S faolligi hisobga olinadi. qon yo'qotish yoki sarflash natijasida antikoagulyantlar etishmaganida ularning miqdori kamayadi, bu esa tromboz hosil bo'lishiga imkon yaratadi.

8) Plazminogen rezervini aniqlashning ekspress-metodi - IRP ning pasayishi plazminogenning fibrinogen miqdoriga nisbatan kamayganligidan, fibrinogen kontsentratsiyasi normada bo`lganida plazminogen miqdorining absolyut kamayganligidan dalolat beradi.

II- bob bo`yicha xulosalar

Oldimizga qo`yilgan maqsadni amalga oshirish uchun foydalanilgan metodlar:

- Qon trombositlarini tsentrifuga yordamida ajratib olish
- Trombositlar agregatsiyasi
- Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida tsitozoldagi Ca^{2+} miqdorini o`lchash
- Membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdorini o`lchash
- Koagulyatsion testlarni amalga oshirish kabi metodlardan foydalanildi.

III BOB. OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAXLILI.

Tajribalar kalamush qonlarida olib borildi. Tajribalarda ADF, adrenalin, trombin, ristomitsin (Sigma), NaH_2PO_4 , MgCl_2 , CaCl_2 , glyukoza, XEPES-NaOX, geparin, albumin zardobi, apiraza, nifedipin va b. reaktivlardan foydalanildi.

Tadqiqot davomida O`zRFA Bioorganik kimyo instituti amaliy tajriba laboratoriyasi xodimi k.f.n., kat.i.x. R.N. Raximov tomonidan ajratib olingan (EUPXORBIA XIMUFUSA) o`simligidan ajratib olingan Eforbin (1-O-galloyl-6-bisgalloyl-2,4-valoneoyl- β -D-glucose) polifenol birikmasidan foydalanildi.

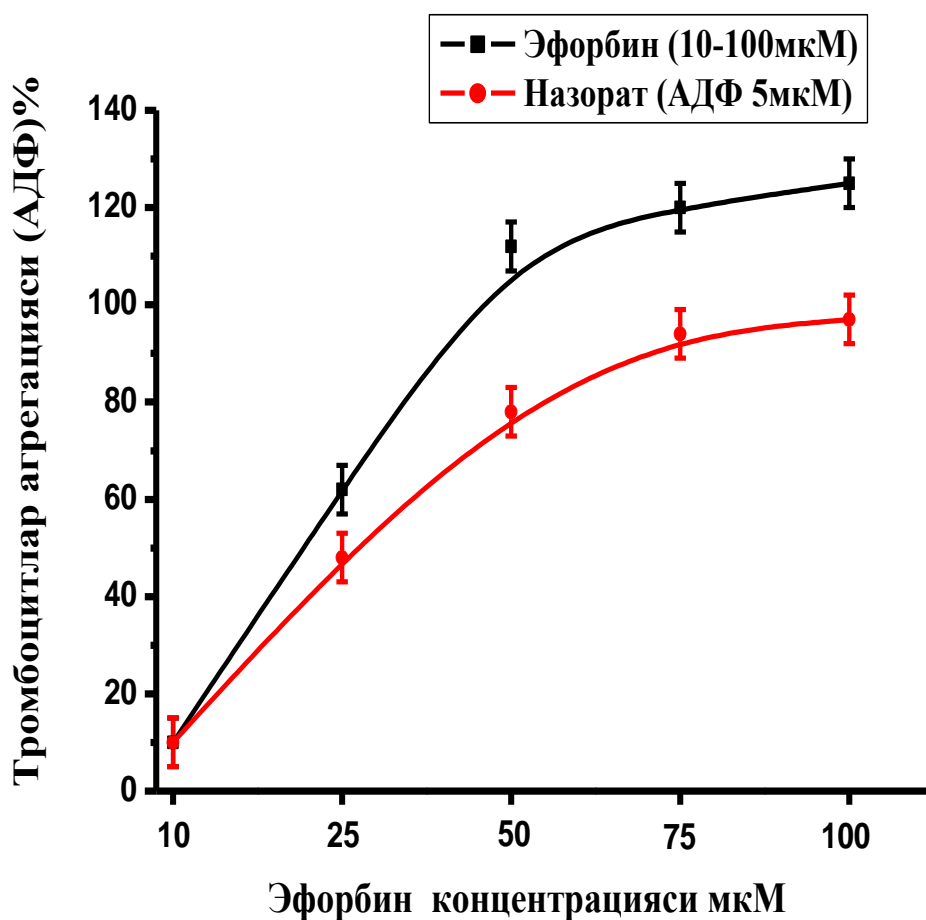
III.1.Eforbin polifenolining trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta`siri

Ma`lumki, trombositlar agregatsiyasining induktorlari (ADF, trombin, serotonin, trombositlarning aktivatsiya faktorlari va b.) tromboksan A2 ni hosil qilish yo`li bilan tsitoplazmadagi Ca^{2+} miqdorini oshirib, trombositlarni faollashtirish xususiyatiga egadir. Xususan, ADF trombositlar agregatsiyasini chaqirish va erkin Ca^{2+} miqdorini oshirish xususiyatiga ega bo`lgan trombositlarning o`ziga xos aktivatorlaridan biri hisoblanadi. Ma`lumki, kaltsiy ionlari qonning turli shakliy elementlarining funksional holatini ushlab turishda muhim rol o`ynaydi. Xususan, kaltsiy ionlarining trombositlarning funksional faolligidagi roli ko`rsatib berilgan.

Darhaqiqat, trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasi muhitda kaltsiy bo`lgan sharoitdagina amalga oshadi va trombositlarda erkin Ca^{2+} miqdorini ortishi bilan kechadi. Bunda $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ni ortishi hujayra ichidagi depolardan Ca^{2+} chiqishi bilan bog`liqdir.

Biz ishimiznida Eforbin polifenolini trombositlarning ADF bilan chaqirilgan agregatsiyasiga ta`sirini o`rganishdan boshladik.

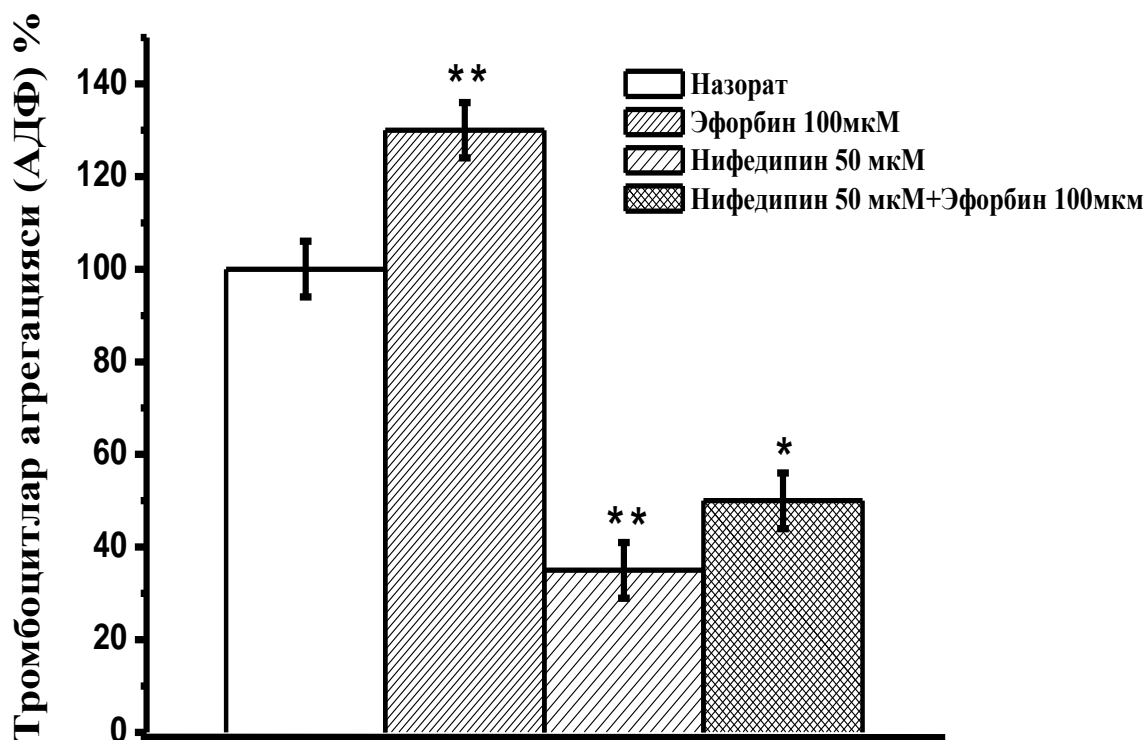
O`simlik polifenoli - Eforbinni trombositlar agregatsiyasiga ta`sirini o`rganganimizda, ushbu polifenol, trombositlarning agregatsiyasini stimullashi aniqlandi (3-rasm). Rasmdan ko`ringanidek, Eforbin agregatsiyani 25 mkM konsentratsiyada 20%, 50 mkM da - 36% va 100 mkM da- 50% ga oshirdi. Trombositlarni avvaldan Ca-kanallarining blokatori - nifedipin bilan inkubatsiyalaganimizda esa trombositlarning Eforbin bilan indutsirlangan agregatsiyasi to`xtadi (4-rasm).



3. Rasm. Eforbin polifenolining trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta`siri. Natijalar nazoratga nisbatan % da keltirilgan.

Ma`lumki, nifedipin potentsialga bog`liq kalsiy kanallarining selektiv blokatori hisoblanadi. Ushbu ma`lumotlar Eforbin ta`siridagi trombositlar

agregatsiyasining stimulyatsiyasi uning plazmatik membranalardagi Ca^{2+} -kanallarining aktivatsiyasi natijasida trombositlarga Ca^{2+} kirishini indutsirlash xususiyatiga egaligi bilan bog'liq bo'lishi mumkinligini ko'rsatadi.



4. Rasm. Eforbin (100 mkM) bilan indutsirlangan trombositlar agregatsiyasiga nifedipinning ta'siri. Ishonchlilik darajasi.*- $R < 0,05$; **- $R < 0,01$; ***- $R < 0,001$.

III.2. Eforbin polifenolining trombositlardagi kaltsiy transportiga ta'siri

Ishimizning birinchi qismida aniqlaganimizdek, Eforbin polifenoli trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasini stimullaydi. Buning sababini esa, trombositlarga Ca^{2+} kirishiga yo'l ochib berishidan deb, hisobladik.

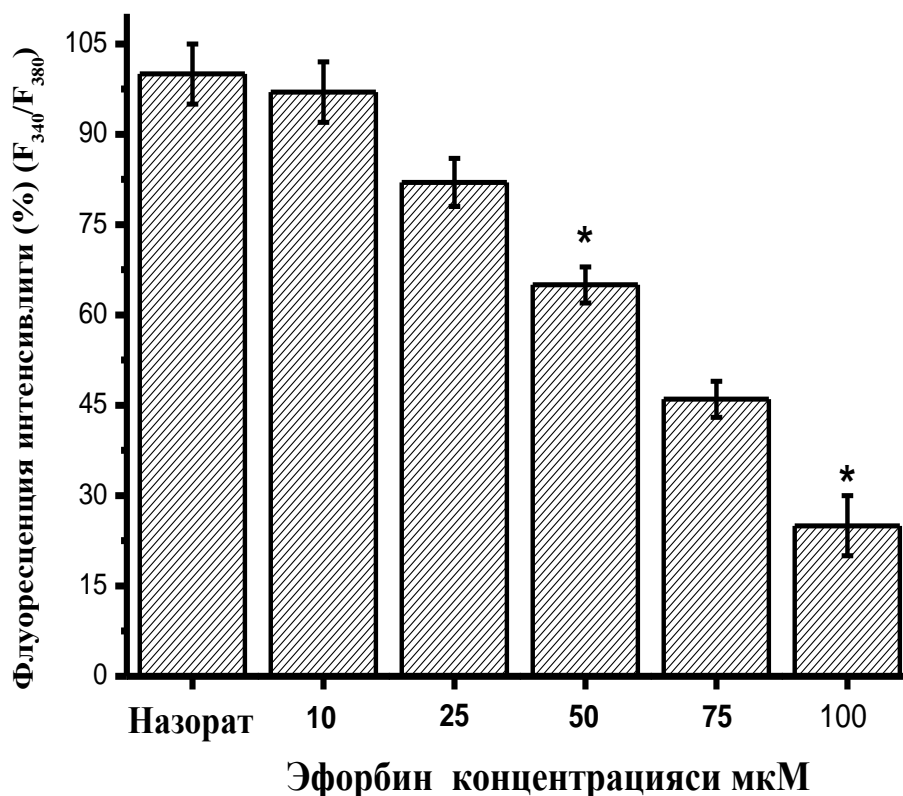
Biz o`rgangan polifenolimizning ta`sir mexanizmini ochish uchun ularning membrana bilan bog`langan Ca^{2+} va sitozoldagi Ca^{2+} miqdoriga ta`sirlarini o`rganishni maqsad qilib qo`ydik. Bu tajribalarda membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdorini o`lchash uchun XTTs fluorestsent zondidan, tsitozoldagi Ca^{2+} miqdorini o`lchash uchun esa Fura 2-AM fluorestsent zondidan foydalandik.

III. 3. Eforbin polifenolining membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdoriga ta`siri

Membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdorini o`lchash uchun XTTs fluorestsentsiyasini qayd qilish yo`li bilan o`lchadik. Bunda biz hujayra ichidagi biror-bir Sa-deposini blok qiluvchi metabolizmning selektiv ingibitorlaridan foydalandik. Tsitozoldagi Ca^{2+} miqdorini o`lchash uchun esa Fura 2-AM fluorestsent zondidan foydalandik (Sukocheva, 1996).

Eforbin polifenolini membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdoriga ta`sirini o`rganganimizda u XTTs fluorestsentsiyasini dozaga bog`liq ravishda nazoratga nisbatan 10-40% ga pasaytirganini aniqladik (6-rasm).

Xulosa qilib aytganda, Eforbin ta`sirida trombositlardagi membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdori kamayadi, deyish mumkin. Bunday xulosaga kelishimizga sabab shundaki, XTTs membranaviy strukturalar bilan bog`langan Ca^{2+} bilan o`zaro ta`sirlashadi, va biz kuzatgan XTTs fluorestsentsiyasining pasayishi membranaviy strukturalar bilan bog`langan Ca^{2+} miqdorini kamayishini ko`rsatadi.



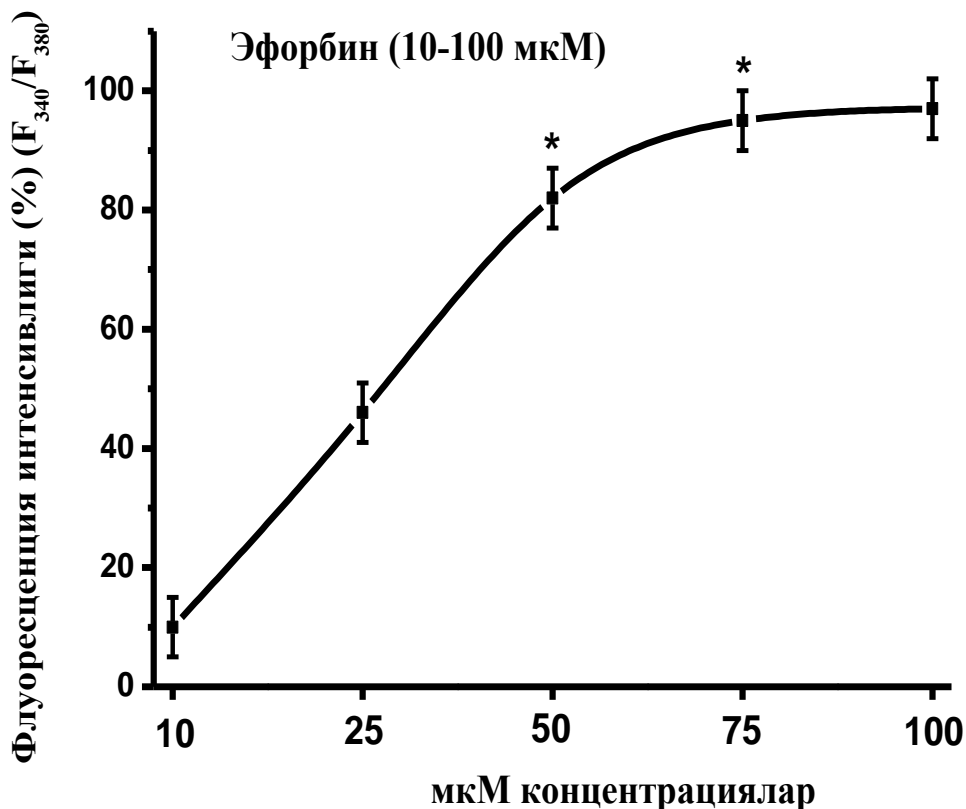
5. Rasm. Eforbin polifenolining trombositlar membranasi bilan bogʻlangan Ca^{2+} miqdoriga taʼsiri. Ishonchlilik darajasi.*- $R < 0,05$; **- $R < 0,01$; ***- $R < 0,001$.

III.4. Eforbin polifenolining tsitozoldagi Ca^{2+} miqdoriga taʼsiri

Yuqoridagi oʻtkazilgan tajribalarimizdan soʻng biz Eforbin polifenolining tsitozoldagi Ca^{2+} [Ca^{2+}]in konsentratsiyasi miqdoriga taʼsirini Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida oʻrgandik.

Biz bu tajribalarimizda Eforbinning turli konsentratsiyalari taʼsirida [Ca^{2+}]in oʻzgarishini koʻrdik. 6-rasmda keltirilganidek, Eforbin konsentratsiyasini oshirib borganimiz sari fluorestsentsiya intensivligi ham oshib bordi (10-40%). Bundan hujayra ichki kaltsiy [Ca^{2+}]in konsentratsiyasi miqdori polifenol taʼsirida 110 nM dan 125-155 nM gacha oshib borganligi koʻrinadi.

Eng yuqori ko`rsatkich 100 mkM polifenol ta`sirida kuzatildi, shundan so`ng fluorestsentsiya intensivligi o`zgarmadi.



6. Rasm. Eforbin polifenolining tsitozoldagi Ca²⁺ [Ca²⁺]in kontsentratsiyasi miqdoriga ta`siri. Ishonchlilik darajasi.*- R<0,05; **- R<0,01; *- R<0,001.**

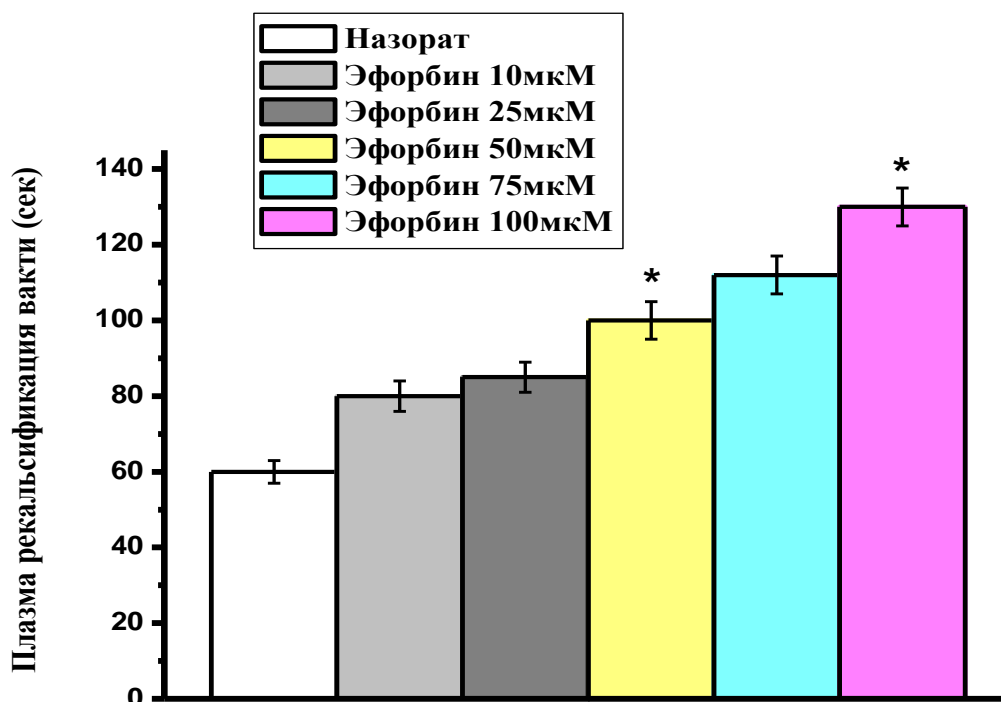
Yana bir kalsiysiz eritmalar bilan o`tkazgan tajribalarimizda Eforbin ta`siri o`zgarmadi. Demak, ushbu modda plazmatik membranadagi Ca²⁺ kanallariga ta`sir qilmaydi, deyish mumkin.

III.5. Eforbin polifenolining koagulyatsion testlarga ta`siri.

Eforbin polifenolining plazma rekaltsifikatsiya vaqtiga ta`siri

Eforbin polifenolining trombosit xujayrasi kaltsiy transporti dinamikasining o`zgarishini boshqarishi mumkinligi to`g`risidagi ma`lumotlar asosida ushbu polifenolni gemostaz sistemasidagi plazma omillariga ta`sirini o`rgandik. Olib borilgan tajribalarimizdan ma`lum bo`lishicha, eforbin 100 mkg/ml konsentratsiyada rekaltsifikatsiya, QFTV va texplastin bilan o`tkazilgan testlarda plazmani ivish vaqtini uzaytirishi orqali plazma omillarini faolligini ingibirlashi kuzatildi.

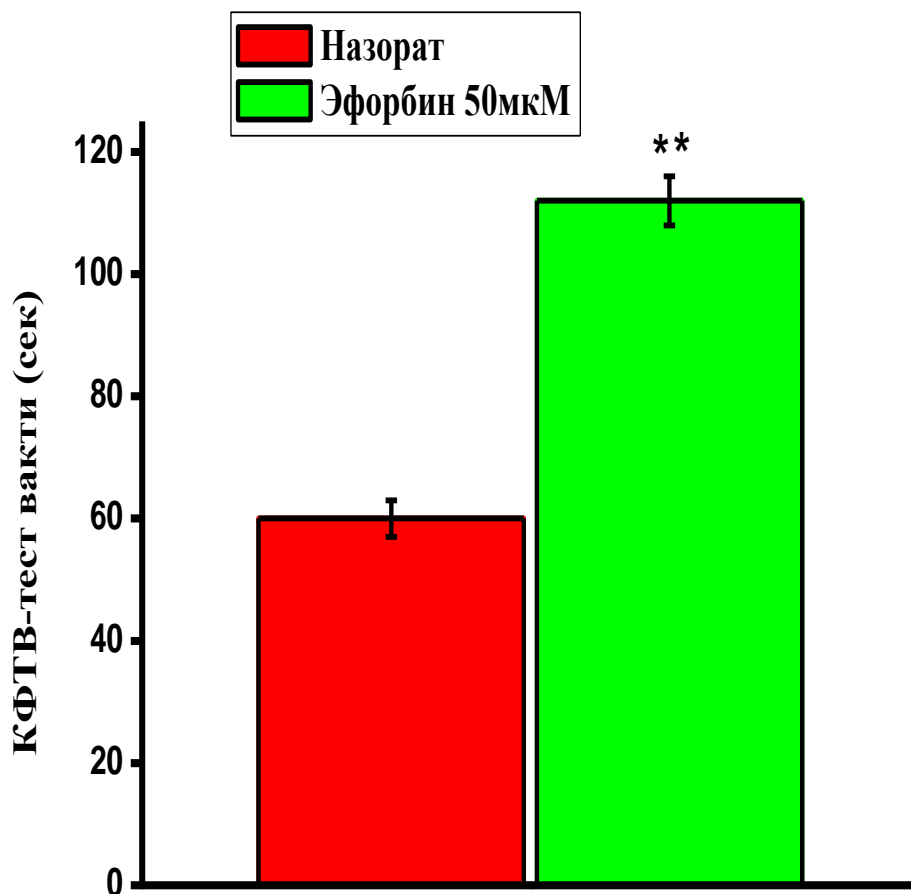
Keyingi o`tkazilgan tadqiqotlarda eforbin turli konsentratsiyalarda, ya`ni 10-100 mkg/ml konsentratsiyalarda rekaltsifikatsiya vaqtiga qanday ta`sir qilishini ko`rdik. Bunda u konsentratsiyaga bog`liq hollarda rekaltsifikatsiya vaqtini uzaytirishi ma`lum bo`ldi. (7-rasm). Agar kaltsiy ionlari qon ivish sistemasining ham ichki, ham tashqi yo`llarini faollashtirish jarayonlarida qatnashishini hisobga olsak, eforbinning ta`siri qon ivish sistemasining ikkala yo`liga ham ta`siri bilan bog`liq bo`lishi mumkin. Bunda qon plazmasidagi XII, XI, IX, VIII omillar funksional faolligini o`zgarishi orqali mavjud plazmadagi qon ivish jarayonidagi o`zgarishlar kuzatiladi.



7.rasm. Eforbin polifenolining dozaga bog`liq holda rekaltsifikatsiya vaqtiga ta`siri. Ishonchlilik darajasi.*- $R < 0,05$; **- $R < 0,01$; ***- $R < 0,001$.

Eforbin polifenolining QFTV-testga ta`siri

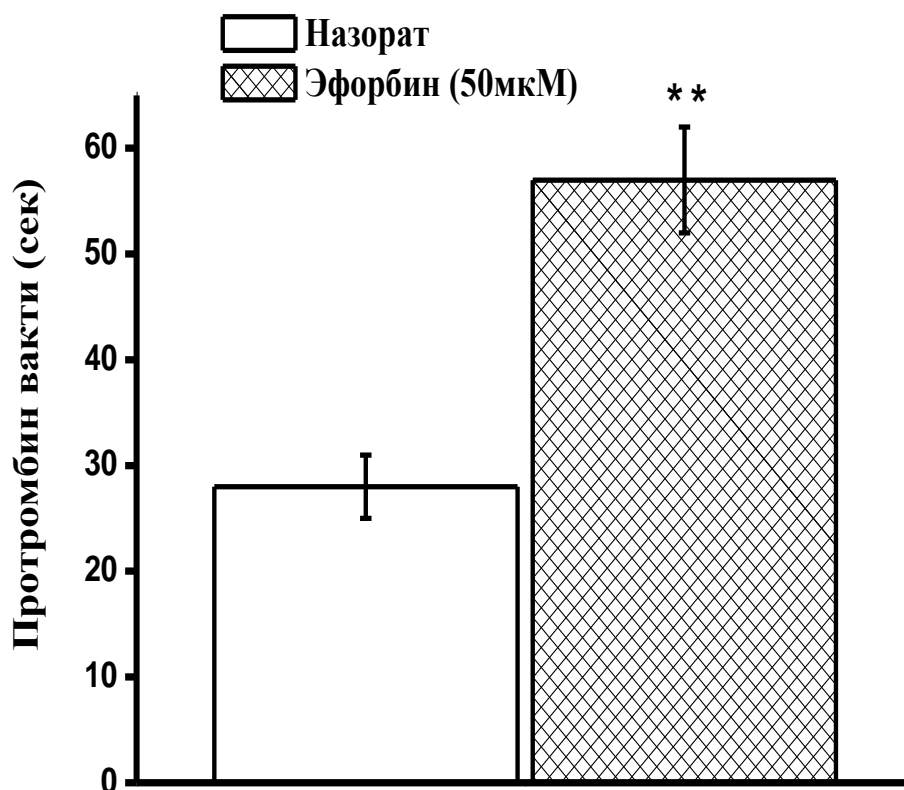
Eforbinning qon ivish jarayoniga ta`sir qilish mexanizmini aniqlashtirish maqsadida uni qisman faollashgan tromboplastin vaqti (QFTV) -testiga qanday ta`sir qilishini ko`rdik. Ma`lumki, QFTV-testi plazma ichki ivish mexanizmida XII, XI, IX, VIII kabi omillar va qon plazmasida ularning ingibitorlari bor-yo`qligini etishmasligini aniqlab beradi. Bu tajribalarimizda eforbin (50mkm) tromb hosil bo`lish vaqtini nazoratga nisbatan 25-50 sek.ga uzaytirdi, shu bilan birga fibrin ivitmasini laxta hosil bo`lishini susaytirdi. Bular eforbin ta`sirida XII, XI, IX, VIII omillardan birining ingibirlanishidan dalolat berishi mumkin (8-rasm).



8.rasm. Eforbinning QFTV- testga ta`siri. Ishonchlilik darajasi.*- $R < 0,05$; **- $R < 0,01$; ***- $R < 0,001$.

Eforbin polifenolining texplastin-testga ta`siri.

Eforbin ta`sirini aniqlashda texplastin - testdan foydalanganimizda ivishning protrombin vaqtini 15-20 sek.ga va fibrin ivitmasini 15-20 sek.ga nazoratga nisbatan uzaytirdi (9-rasm).



9. rasm. Eforbinning texplastin-testga ta`siri. Ishonchlilik darajasi.*- $R < 0,05$; ** - $R < 0,01$; *** - $R < 0,001$.

Bu holda koagulyatsiya tashqi mexanizmining protrombin vaqti yoki protrombin indeksi protrombin kompleksi omillarining (VII, X, V, II) defitsiti yoki faolligini aniqlab beradi. Eforbin ta`sirida protrombin vaqtini uzayishi qon ivishi aktivatsiyasining tashqi yo`lini ingibirlashi, ya`ni V va II omillar aktivligini ingibirlanishini ko`rsatadi.

Shunday qilib, olingan natijalarning ko`rsatishicha, Eforbin polifenoli rekaltsifikatsiya, QFTV va texplastin testlarida plazmaning ivish vaqtini uzaytirib, gemostaz sistemasiga sezilarli ta`sir ko`rsatadi. Bu natijalar Eforbinni qon ivishining ham tashqi, ham ichki yo`llariga ta`sir qilishini isbotlaydi, bunda u ichki yo`lning XII, XI, IX, VIII omillaridan birini, hamda tashqi yo`lning V va II omillarini ingibirlaydi.

III - Bob bo`yicha xulosalar

Amalga oshirilgan ilmiy tadqiqotlarimizdan quyidagi xulosalarga keldik:

1. Eforbin polifenoli trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasini stimullaydi. Eforbin ta`siridagi trombositlar agregatsiyasining stimulyatsiyasi uning plazmatik membranalardagi Ca^{2+} -kanallarining aktivatsiyasi natijasida trombositlarga Ca^{2+} kirishini indutsirlash xususiyatiga egaligi bilan bog`liq bo`lishi mumkinligini ko`rsatadi.

3. Eforbin polifenoli ta`sirida trombositlardagi membrana bilan bog`langan Ca^{2+} konsentratsiyasi miqdori kamayadi. Buning sababi uning plazmatik membranadagi Ca^{2+} -kanallari transportini blok qilishi bilan bog`liqligidir.

4. Eforbinning tsitozoldagi Ca^{2+} konsentratsiyasi miqdorini orttirishi plazmatik membranalardagi Ca^{2+} -kanallarini faollashtirishi natijasida uning trombositlarga Ca^{2+} kirishini indutsirlash xususiyatiga ega ekanligini ko`rsatadi. Eforbin polifenoli plazmatik membranalardagi Ca^{2+} -kanallarini faollashtiradi, deyish mumkin.

5. Eforbin rekalsifikatsiya, QFTV va texplastin testlarida plazmaning ivish vaqtini uzaytirib, gemostaz sistemasiga sezilarli ta`sir ko`rsatadi. Bu natijalar Eforbinni qon ivishining ham tashqi, ham ichki yo`llariga ta`sir qilishini isbotlaydi, bunda u ichki yo`lning XII, XI, IX, VIII omillaridan birini, hamda tashqi yo`lning V va II omillarini ingibirleydi.

XULOSALAR

Yuqoridaga barcha ilmiy amaliy natijalar natijasida ilmiy ishimizda o`simlik polifenoli -Eforbinni gemostazga ta`sirini o`rgandik.

Ish natijasida quyidagi xulosalarga keldik:

1. Eforbin polifenoli trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasini stimullaydi.

2. Eforbin polifenoli ta`sirida trombositlardagi membrana bilan bog`langan Ca^{2+} miqdorini kamayishiga olib keladi.

3. Eforbin ta`sirida tsitozoldagi Ca^{2+} konsentratsiyasi miqdorini ortishi kuzatildi.

4. Eforbin turli koagulyatsion testlar plazma rekaltsifikatsiyasi, QFTV va texplastin testlarida plazma omillarini ingibirlab, plazmaning ivish vaqtini sezilarli uzaytirishi kuzatildi.

Olib borilgan ishlar natijasi o`rganilayotgan moddaning gemostaz tizimini boshqarishda muxim ahamiyatga ega ekanligi va kelgusida istiqbolli antikoagulyant preparat uchun asos bo`lishi mumkin.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO`YXATI

1. Barkagan Z.S., Momot A.P. Основы лабораторной диагностики нарушений гемостаза // Metod. rekomend. - Moskva, NyuDamed, 1999. - S. 127 s.
2. Berkovskiy A.L., Vasilev S.A., Jerdeva L.V. Posobie po vzucheniyu adgezivno-agregatsionnoy aktivnosti trombotsitov./ i dr. M., 2002, 28 s.
3. Zotova I.V., Zateytsikov D.A., Sidorenko B.A. Sintez oksida azota i razvitie ateroskleroza // Kardiologiya. - 2005. №4. - S.58-67.
4. Kamburova V.S., Djoldasova K.B., Esimbetov A.T. Vliyanie biologicheskii aktivnykh soedineniy na sokращeniya gladkomыshechnykh kletok aortы kысы. // “Fiziologiya va biofizikaning zamonaviy muammolari” respublika ilmiy anjumani. Toshkent. 2007, 52-b.
5. Kasheverov I.E., Tsetlin V.I. α -konoktoksinы v issledovanii struktury i funktsiy nikotinovykh retseptorov // Uspexi biologicheskoy khimii. - 2009. t. 49. S. 235 - 237
6. Sukocheva O.A. Gormonalnaya regulyatsiya kaltsievogo gomeostaza i energeticheskogo metabolizma timotsitov kысы // Diss. kand. biol. nauk. Tashkent. 1996. s. 148.
7. Smirnova V.M Fiziologiya cheloveka. Uchebnik. / M.: Meditsina, 2002.
8. 8. Usmonova I.A., Xoshimov.N.N., Nasirov K.E., Raximov Sh.B., Vinogradova V.I. Vliyanie N-Metiltsitizina na uroven vnutrikletochnogo $[Ca^{2+}]$ v trombotsitax // Aktualnye problemy khimii i biologii: // Biologiya - nauka XXI veka: Tez. dokl. 17 Mejdunarodnoy

- Пуцинской школы-конференции молодых ученых. Пушкино, 2013. С. 457-458.
9. Bindokas V.P. & Adams M.E. A presynaptic calcium channel antagonist from venom of the funnel web spider, *Agelenopsis aperta*. // *Neurobiol.* - 1989. - 20 - R. 171-188.
 10. Boyle EM, Verrier ED, Spiess BD. Endothelial cell injury in. // *Ann Thorac Surg.* - 1996. - 62. - R. 1549-1557.
 11. Broze GJ: The role of tissue factor pathway inhibitor in a revised coagulation cascade. *Blood* 29:159, 1992
 12. Cromer, B. A. & McIntyre, P. Painful Toxins acting at TRPV1. *Toxicon* - 2008. - 51. - R. 163-173.
 13. Devaraja, S., Nagaraju, S., Mahadeswaraswamy, Y.X., Girish, K.S., Kemparaju, K. A low molecular weight serine protease: Purification and characterization from. // *Toxicon.* - 2008. - 52. - R.734-741
 14. Devaraja, S., Nagaraju, S., Mahadeswaraswamy, Y.X., Girish, K.S., Kemparaju, K. A low molecular weight serine protease: Purification and characterization from. // *Toxicon.* - 2008. - 52. - R.734-741
 15. Esmon C.T., Taylor F.B., Snow T.R. Protein C pathway. In Haber E., Braunwald E. (ed.): *Thrombolysis: basic contributions and clinical progress.* Mosby-Year Book, 1991. R. 81-89.
 16. Esmon CT, Xu J, Gu JM, Qu D, Laszik Z, Ferrell G, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S, Taylor FB Jr, Esmon NL. Endothelial protein C receptor. // *Thromb Haemost.* - 1999. - 82(2). - R. 251-258.
 17. Giron ME, Salazar AM, Aguilar I, Perez JC, Sanchez EE, Arocha-Pinango CL, Rodriguez-Acosta A, Guerrero B. <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?Db=pubmed&Cmd=ShowDetailView&TermToSearch=17933591&ordinalpos=1&itool=EntrezSys>

- tem2.PEntrez.Pubmed.Pubmed_ResultsPanel.Pubmed_RVDocSum>
Xemorrhagic, coagulant and fibrino-(geno)lytic activities of crude
venom and fractions from mapanare (*Bothrops colombiensis*) snakes.
Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2007 Sep 11;
18. Gukovskaya A.S., Zinchenko V.P. Mechanisms of receptor-mediated generation of ionic signals in rat thymocytes and Ehrlich ascites tumor cells.// Sov. Sci. Rev., D. Phys. Chem. Biol. (Xarvard Academic Publishers). 1990. V. 10. P.1-98.
 19. Xuang, P.T., Shiau, Y.S., Lou, K.L Intracellular regions of potassium channels: Kv2.1 and heag. // Eur Biophys, Toxicon. - 2007.- 49. - R. 285-292.
 20. Koshelnick Y., Ehart M., Stockinger X., Binder B. Mechanisms of signaling through urokinase receptor and the cellular response. // Thromb. - 1999. Thiromb. Xaemost., 82, 305-311.
 21. Luscher T.F. Endothelium-derived vasoactive factors and regulation of vascular tone in human blood vessels. // Lung. - 1990. - 168. - R. 27-34.
 22. Lytton J., Westlin M., Xanley M.R. (1991). Thapsigargin inhibits the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum CaATPase family of calcium pums. // Biol. Chem. - 266. - R. 17067-17071.
 23. Siigur J, Aaspollu A, Tonismagi K, Trummal K, Samel M.,Proteases from *Vipera lebetina* venom affecting coagulation and fibrinolysis. Xaemostasis. 2001 May-Dec; 31(3-6): 123-32.
 24. Sims, P. J. and Wiedmer, T. (2001). Unraveling the mysteries of phospholipid scrambling. Thromb. Xaemost. 86, 266-275.
 25. Swartz K.J. Tarantula toxins interacting with voltage sensors in potassium channels. // Toxicon. -2007. - 49. - R. 213-230.

26. Vanschoonbeek K, de Maat MPM, Xeemskerk JWM, 2003. Fish Oil Consumption and Reduction of Arterial Disease. J. Nutr. 133:657-660.
27. Warken TE, Kelton J: The platelet life cycle: Quantitative disorders in blood, in Blood: Principles and Practice of Xematology, RI Xandin et al. (eds). Philadelphia, Lippincott, 1994, pp 973-1049.
28. 28. Xoshimov N.N., Usmonova I.A., Nasirov K.E. Issledovanie izmeneniya vnutrikletchnogo kaltsiya v trombositax pri raznyx formax insulta. Tezisy konferentsii «Aktualnye problemy sovremennoy bioorganicheskoy ximii v Uzbekistane». Tashkent. 2013. 2013. Str 109-110
29. <[http://www](http://www.ru.wikipedia.org)>.ru.wikipedia.org
30. <<http://www.medical.ru>>
31. <<http://www.chem.msu.su/rus/teaching/kolman/100.htm>>
32. <<http://www.medi.ru/doc/a798609.htm>>