

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI  
OLIIY VA O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI**

**GULISTON DAVLAT UNIVERSITETI**

*Qo'l yozma huquqida  
UDK 577.352; 615.919*

**Badirdinov Bekzod Rustam o'g'lining  
Sulfat tsellyuloza birikmasining koagulyatsion gemostazga ta'sirini  
aniqlash  
5A140101-Biologiya (fan yunalishi bo'yicha)**

Magistr  
darajasini olish uchun yozilgan  
dissertatsiya

Ilmiy rahbar:  
b.f.n. Xoshimov N.N.

**Guliston – 2021**

## MUNDARIJA

<b>QISQARTMALAR RO'YXATI</b> .....	3
<b>KIRISH</b> .....	4
<b>I BOB. ADABIYOTLAR SHARHI</b> .....	13
1.1. Gemostaz sistemasi.....	13
1.2. Plazma gemostazi (koagulyatsion gemostaz).....	20
1.3. Endotelial oqsillar - gemostazni boshqaruvchilari sifatida.....	23
1.4. Sulfatlangan tsellyuloza birikmalarining hujayrada kechadigan jarayonlarga ta'siri.....	30
1.5. Antikoagulyantlar haqida umumiy ta'rif.....	34
1.6. Gemostaz buzilishini aniqlashning umumiy uslublari.....	39
I bob bo'yicha xulosa.....	41
<b>II.BOB.MATERIAL VA METODLAR</b> .....	43
2.1.. Qon plazmasini ajratib olish.....	43
2.2. Trombotsitlarni ajratish.....	43
2.3.Trombotsitlar agregatsiyasi.....	43
2.4. Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida tsitozoldagi $Sa^{2Q}$ miqdorini o'lchash.....	44
2.5. Membrana bilan bog'langan $Sa^{2Q}$ miqdorini o'lchash.....	45
II- bob bo'yicha xulosalar.....	46
<b>III BOB. OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI</b> .....	47
3.1. CTs-GSC-72 birikmasining qon ivishida QFTV -test yordamida ta'sirini o'rganish.....	48
3.2. CTs-GSC-72 birikmasining texplastin-testga ta'siri.....	50
3.3. CTs-GSC-72 birikmasining faollashgan plazma rekaltsifikatsiya vaqtiga ta'siri.....	52
3. 4. CTs-GSC-72 birikmasining trombin vaqtiga ta'siri.....	53
3.5. CTs-GSC-72 birikmasining trombotsitlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta'siri.....	55
3.6. CTs-GSC-72 birikmasining trombotsit xujayra membranasi bilan bog'langan $Sa^{2Q}$ miqdoriga ta'siri.....	56
3.7. CTs-GSC-72 birikmasining trombotsit xujayrasining tsitozoldagi $[Sa^{2Q}]_{in}$ miqdoriga ta'siri.....	58
III – bob bo'yicha xulosalar.....	59
<b>XULOSALAR</b> .....	61
<b>FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI</b> .....	62

## QISQARTMALAR RO'YXATI

1. tsAMF – tsiklik adenozinmonofosfat
2. ADF – adenzindifosfat
3. ATF - adenzintrifosfat
4. PAAG – poliakrilamid geli
5. RFMK - eruvchan fibrin-monomerli komplekslar
6. FV – Villebrand omili
7. Pg<sup>2</sup> - prostaglandinlar
8. TxA<sub>2</sub> - tromboksan A<sub>2</sub>
9. FL - fosfolipid
10. GP - glikoproteid
11. EPR - endoplazmatik retikulum
12. EGTA – etilenglikol (bis-aminoetilovo'y efir)-N,N-tetra atsetaat kislota
13. Fura-2AM – Atseto-oksi-metil efir
14. [Ca<sup>2Q</sup>]<sub>out</sub> – hujayra tashqarisidagi Sa<sup>2Q</sup> ionlarining konsentratsiyasi;
15. [Ca<sup>2Q</sup>]<sub>in</sub> – hujayra tsitozolidagi Sa<sup>2Q</sup> ionlarining konsentratsiyasi;
16. CTs-GSC-72 – Sulfat tsellyuloza birikmasi shartli nomi

## KIRISH

**Mavzuning dolzarbligi va zarurati.** Hozirgi kunda dunyoda yurak-qon tomir tizimi kasalliklari bilan og'riqan bemorlar soni organizmdagi boshqa tizimdagi kasalliklar sonidan birmuncha ko'p ekanligi ma'lum. Bunda asosan qon va uning tarkibidagi komponentlari disfunktsiyasi tufayli kasalliklar soni ortib bormoqda. Bularning ichida qonning reologiyasini bir meyorda saqlanishida va ichki qon ketishi, jaroxatlanganda organizmni ximoya qiluvchi gemostaz tizimida yuzaga keluvchi buzilishlar bevosita organizmda patologik holatlarga sabab bo'ladi. Ushbu nuqtai nazardan, gemostaz tizimining funksional regulyatsiya mexanizmlarini ilmiy asosda o'rganish, turli biologik faol moddalarning gemostazning turli omillariga ta'sir mexanizmlarini aniqlash uchun olib boriladigan tadqiqotlar dolzarb hisoblanadi.

Trombotsit qon ivishining birlamchi gemostaz jarayonida ishtirok etuvchi qonning shaklli elementi hisoblanib, qon tomirlarining endotelial xujayralariga, ularning faoliyati mu'tadil bo'lishi uchun zarur bulgan moddalarni etkazib turadi. Qonning ivishida ishtirok etadigan trombotsit hujayralarining funksional faolligi gemostaz tizimida muhim hisoblanadi. Bu esa trombotsit xujayralarida bo'ladigan  $Sa^{2Q}$  - transportlarini o'rganish va ularni biologik faol birikmalar yordamida boshqarish dolzarb masalalardan biri hisoblanadi.

Hujayralardagi kaltsiy 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. Shu bilan birga hujayradagi ko'plab fiziologik ta'sirlarni amalga oshishida  $Sa^{2Q}$  signalining generatsiyasi muhim ahamiyatga ega.  $Sa^{2Q}$  generatsiyasi bu- tsitozoldagi va hujayra ichidagi strukturalarda  $Sa^{2Q}$  kontsentratsiyasining o'zgarishi bilan amalga oshadigan jarayon hisoblanadi. Tsitozoldagi va xujayra ichki strukturalaridagi  $Sa^{2Q}$  signalining generatsiyasi

murakkab jarayon hisoblanadi, va unda hujayraning bir nechta  $Sa^{2Q}$  tashuvchi sistemalari qatnashadi.

Bugungi kunda turli hujayralarda kaltsiy transportini boshqaruvchi yoki modullovchi tabiiy birikmalarning hujayra kaltsiy kanallariga ta'siri bo'yicha olib boriladigan ilmiy tadqiqot ishlariga katta ahamiyat berilmoqda. Jumladan, O'zbekiston Respublikasi turli biologik faol moddalarni olish uchun boy tabiiy resurslarga egadir. Fanlar akademiyasi tizimidagi ilmiy tadqiqot muassasalari tomonidan turli o'simliklardan keng spektrdagi biologik ta'sirlarga ega bo'lgan birikmalar katta miqdorda ajratib olinib, ularning ta'sir mexanizmlari o'rganib kelinmoqda. 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 ilmiy tadqiqot ishlarining 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 sohaslarida 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.

Biologik faollikka ega bo'lgan birikmalar orasida hozirgi kunda antikoagulyant xossasiga ega bo'lgan sulfatlangan tsellyuloza birikmalarining gemostaz tizimiga ta'sir mexanizmlari ustida ilmiy tadqiqot ishlarini olib borish, geparinga o'xshash antikoagulyant dori vositalarini yaratishda foydalaniladi. Ularning turli sistemalarga ta'sirini o'rganishni davom ettirish kelgusida ularni tibbiyot, gematologiya, farmakologiya kabi sohalarda qo'llash imkonini beradi.

**Ilmiy ishning o'rganilganlik darajasi:** Sulfatlangan tsellyuloza birikmasining gemostaz tizimining funksiyalari va qon ivishida ishtirok etadigan plazma va trombosit omillariga ta'sir mexanizmlari hozirgacha yaxshi o'rganilgan. Qondagi trombosit va plazma omillari ingibirlanishi yoki faollanishi bu ichki mexanizm asosida amalga oshadi. Sulfatlangan tsellyuloza birikmalari yordamida trombosit xujayra funksiyasi faolligida kaltsiy transportining boshqarish mexanizmlarini o'rganish xali to'liq amalga oshmagan.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 31.10.2016–yildagi PQ–2647–sonli «Aholini dori–darmon vositalari va tibbiyot buyumlari bilan ta'minlashni yanada yaxshilashga doir chora–tadbirlar to'g'risida»gi, O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 24.01.2016–yildagi №1–sonli «O'zbekiston Respublikasida mahalliy farmatsevtika sanoatini yanada rivojlantirish va mahalliy xomashyo va dorivor o'simliklar asosida import o'rnini bosuvchi raqobatbardosh dori vositalarini ishlab chiqarishni tashkil etish chora–tadbirlari to'g'risida» bayoni, 07.02.2017–yildagi PF–4947–sonli O'zbekiston Respublikasi Prezidentining «O'zbekiston Respublikasini 2017–2021 yillarda yanada rivojlantirish bo'yicha Harakatlar strategiyasi to'g'risida»gi Farmonida belgilangan beshta ustuvor yo'nalishning IV. Ijtimoiy sohani rivojlantirishning ustuvor yo'nalishlaridagi aholini ijtimoiy himoya qilish va sog'liqni saqlash tizimini takomillashtirish, farmatsevtika sanoatini yanada rivojlantirish, aholi va tibbiyot muassasalarining arzon, sifatli dori vositalari va

tibbiyot buyumlari bilan ta'minlanishini yaxshilash bo'yicha chora-tadbirlarni amalga oshirish<sup>1</sup> bandida belgilangan ustuvor vazifalarni hamda mazkur faoliyatga tegishli boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishga ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

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.

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 Dasturlar rejasiga mos keladi. Jumladan,

---

<sup>1</sup> Ўзбекистон Республикаси Президентининг 07.02.2017-йилдаги ПФ-4947-сонли «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Харакатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони;

ta'lim tizimida amalga oshirilayotgan islohotlar xam Respublikamizda turli sohalarda o'z o'rnini topa oladigan, har tomonlama etuk 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 ilmiy tadqiqotchilar e'tiborini sulfatlangan tsellyuloza birikmalarining xujayra membranasi orqali va xujayra ichki 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,  $Ca^{2Q}$ -tashuvchi sistemalar va gemostaz sistemasiga ta'sir qilish kabi noyob xossalarga ega



[Cromer et al., 2008; Huang et al., 2007; Swartz, 2007]. Bunday tadqiqotlarning natijalari dolzarb hisoblanib, fundamental tadqiqotlarda foydalanish mumkin.

Hozirda qon tomirlarida tromb hosil bo'lish jarayoniga ta'sir qilish va uni boshqarish maqsadida asosan geparinga o'xshash turli antikoagulyant xossaga ega bo'lgan biologik faol birikmalardan 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 o'simliklardan ajratib olingan modifikatsiyalangan sulfat tsellyuloza (MSTs) CTs-GSC-72 birikmasi yordamida qon ivish sistemasidagi o'zgarishlarni aniqlash va uni boshqarish mumkinligi to'g'risidagi fikrlarni tekshirish maqsadida CTs-GSC-72 birikmasini gemostaz tizimiga ta'sirini o'rganishni maqsad qilib qo'ydik.

**Ishning maqsadi.** CTs-GSC-72 birikmasining gemostaz tizimining koagulyatsion va qon trombositlar gemostazga ta'sir mexanizmini o'rganish.

**Ishning vazifalari:**

- CTs-GSC-72 tsellyuloza birikmasining koagulyatsion testlarga ta'sirini o'rganish.
- CTs-GSC-72 tsellyuloza birikmasining trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta'sirini o'rganish;
- CTs-GSC-72 tsellyuloza birikmasining tsitozoldagi  $Sa^{2Q}$  miqdoriga ta'sirini o'rganish

**Ishning ob'ekti va predmeti:** kalamush qon plazmasi, trombositlar, CTs-GSC-72 tsellyuloza, koagulyatsion testlar, agregatsiya, tsitozoldagi  $Sa^{2Q}$ .

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

**Ishning ilmiy yangiligi:** Modifikatsiyalangan sulfatlangan tsellyuloza birikmasining gemostaz tizimining omillariga ta'sir etish mexanizmlari,

faollashtiruvchi va blokatorlik xususiyatlarini yoritib berish. Bunda aynan gemostaz tizimi va qon ivish sistemasi omillariga CTs-GSC-72 birikmasining ta'sir mexanizmini aniqlashda plazma omillariga, membranaga bog'liq  $\text{Ca}^{2+}$  va tsitoplazmaga bog'liq  $\text{Ca}^{2+}$  miqdorini o'zgarish mexanizmini yoritishdan iborat.

Zamonaviy farmakologiyaning asosiy yo'nalishlaridan biri fiziologik, biokimyoviy va biofizik funktsiyalarda moddalarning ta'sir mexanizmlarini o'rganish bilan bog'liqdir. Eksperimental tadqiqotlarda olib boriladigan ishlar hujayra va to'qimalarning 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 funktsiyasiga ta'sir etuvchi preparatlarni qidirib topish muhim ahamiyat kasb etadi.

**Ishning amaliy ahamiyati:** Modifikatsiyalangan sulfatlangan tsellyuloza birikmasining trombosit membranalarida joylashgan ion kanallari va gemostaz tizimi faoliyatining boshqaruv tizimlariga tormozlovchi va aktivlovchi ta'sir darajasini o'rganib, samarali dori vositalarini yaratishdir.

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

Shunday qilib, gemostaz tizimining trombosit xujayra membranalarida  $\text{Ca}^{2+}$  va  $\text{Ca}^{2+}$  modda almashinuv jarayonlarini, shuningdek, modda almashinuv jarayonlaridagi metabolik bog'lanish ko'priklarini o'rganishda va boshqarishda MSTs birikmalari muhim rol o'ynaydi.

Dissertatsiya ishi natijalari kelajakda tibbiyotda yangi dorivor vositalar ishlab chiqarishga asos bo'lishi mumkin. MSTs birikmasi yordamida gemostaz tizimini boshqarish mumkinligi tadqiq qilindi. Ushbu ma'lumotlarni talabalar va yosh izlanuvchilarga etkazish ularning bilim doirasini oshiradi va ilm-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 48 ta foydalanilgan adabiyotlar ro'yxatidan iborat. Ish 66 betda yoritilgan bo'lib, 12 ta rasmni o'z ichiga oladi.

## I BOB. ADABIYOTLAR SHARHI

### I.1. Gemostaz sistemasi

*Gemostaz sistemasi* – bu qon-tomirlari shikastlanganda qon ketishini to'xtatishga qaratilgan reaksiyalar kompleksidir. Gemostaz omillari qonni suyuq holatda saqlanishi, transkapillyar almashinuvni boshqarishda, tomir devorini chidamliligida ishtirok etadi, reparativ jarayonlarning intensivligiga ta'sir qiladi.

Organizmdagi qonning normal sharoitda suyuq holatda bo'lishi ivish jarayonida ishtirok etuvchi omillarning 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.

- 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 omillari qatnashadi. Bu jarayon fibrin hosil bo'lishi bilan (fibrinoliz) yakunlanadi [Zotova i dr., 2005] (1-rasm).

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

Qon ivish tizimida kechadigan barcha jarayonlar yaxlit holda kompleks bo'lib faollashishi natijasida xar bir qon ivituvchi omillar bir-biri bilan o'zaro uzviy bog'lanish hosil qilib, faollashishi orqali qon ivishini ta'minlaydi.



bo'lishini modullovchi turli biologik faol moddalarni sintezlash yoki ekspressiyalash xususiyatiga ega. Ularga fon Villebrand omili, relaksatsiyaning endotelial omili (azot oksidi), prostatsiklin, trombomodulin, endotelin, to'qima tipidagi plazminogen aktivatori, to'qima tipidagi plazminogen aktivatorining ingibitori, to'qima omili (tromboplastin), to'qima omili yo'lining ingibitorlari kiradi. Bundan tashqari endoteliotsitlarning membranasida retseptorlar joylashgan bo'lib, ular ma'lum bir sharoitda qon oqimida erkin tsirkulyatsiyalanadigan molekulyar ligandlar va hujayralar bilan birikadi.

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

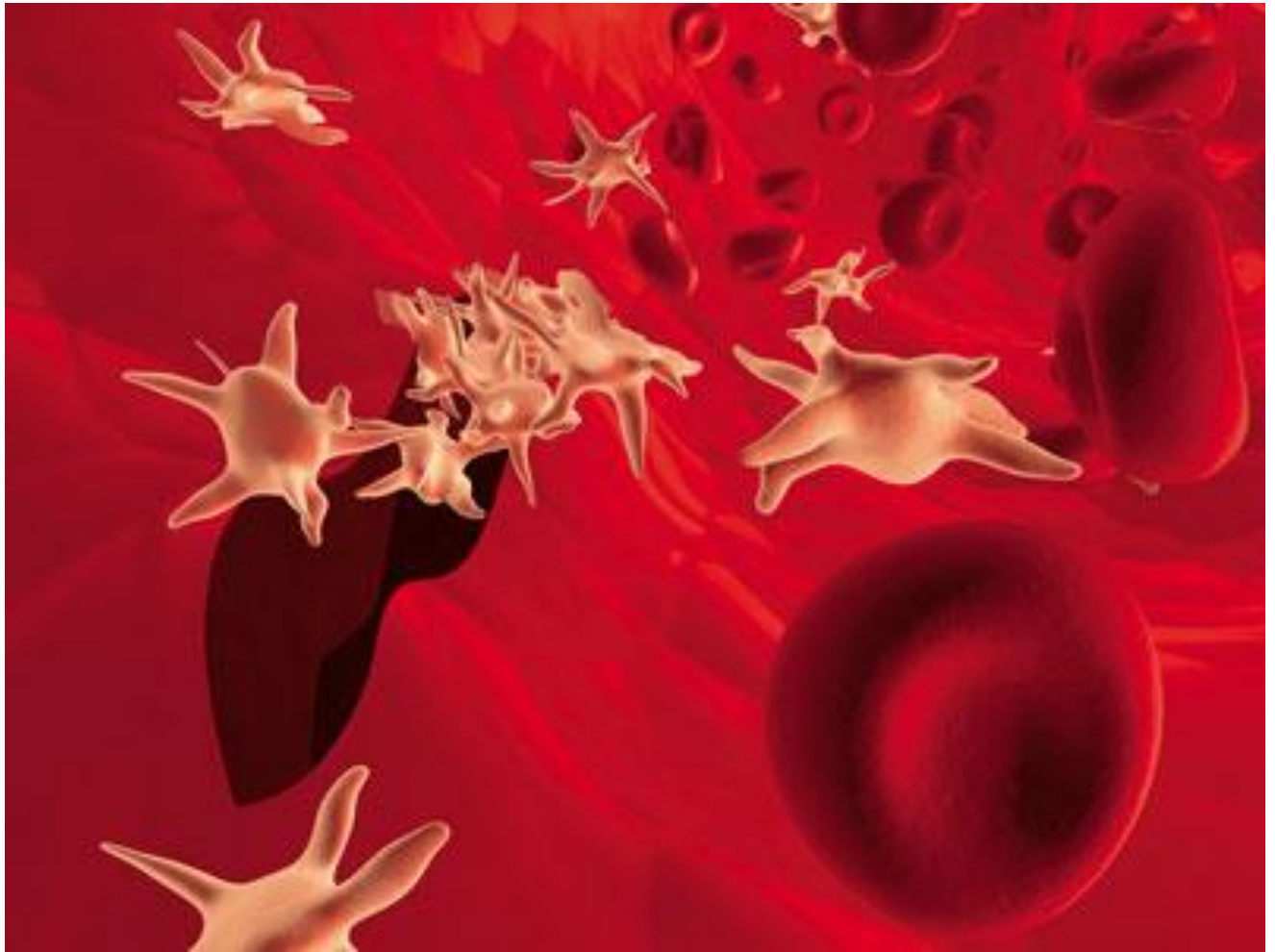
- ushbu hujayralarning ichki yuzasini kontakt inertligi;
- trombotsitlar agregatsiyasining kuchli ingibitori – prostatsiklinni sintezlash;
- trombinni bog'lovchi trombomodulinni endoteliotsitlar membranasida mavjud bo'lishini; bunda trombomodulin qon ivishini chaqiruvchi xususiyatini yo'qotadi, lekin 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 (ATIII) kompleksining fiksatsiyalanishi;
- fibrinolizni ta'minlovchi plazminogenning to'qima aktivatorini sekretiya qilishi va sintezlash xossasi;
- proteinlar S va S sistemasi orqali fibrinolizni stimullashi.

Tomir devorining buzilishi va G'yoki endoteliotsitlarning funksional 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 omillar 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 omilini bog'lanishi uchun yuza hosil qiladi. Ushbu omil faqatgina plazmada omil 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 taloq- dagi gigant xujayralar — megokariotsitlarda hosil bo'ladi. Trombotsitlarning soni ovqat xazm qilish, jismoniy ish bajarish va xirmi- ladorlik davrida kupayadi. Ularning qondagi soni, kundo'zi tundagidan kuprok bo'ladi va qon ivish jarayonida muhim rol uynaydi. Trombotsitlarda tomirni toraytiruvchi modda — serotonin va kengaytiruvchi modda — gistamin sezilarli mikdorda bo'ladi.

Sut emizuvchi hayvonlar qonidagi trombositlarning yadrolari bulmaydi, lekin barcha umurtqililar va kushlarda ular mavjud. Xayvonlar qonidagi trombositlar sonining mikdori, turning o'ziga xos xususiyatlariga bog'liq (2-rasm).



## **2. rasm. Trombotsit hujayrasi**

Trombotsitlar va ularga bog'lik omillar qon ivishida ishtirok etadi. 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 yukotgan endoliy distrofiyaga uchraydi, tomir devori orkali eritrotsitlar to'qimalarga o'ta boshlaydi.

Sog'lom odamning 1 mm<sup>3</sup>qonida 150-400 minggacha qon plastinkalari bo'lib, ko'p mikdorda qon yukotilganda, ovqatda A va V vitaminlar etishmaganda, ayollar hayz ko'rishi paytida, shu bilan birga chaqaloklarda 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 qiskarib, o'zida saqlab turgan qon plastinkalarini kon tomirlariga chikaradi. Talokning kiskarishi adrenalini ta'sirida yuz beradi. Qon plastinkalari miqdorining qonda ko'payib ketishi trombositoz 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 A<sub>2</sub>, prostaglandinlar G<sub>2</sub> va H<sub>2</sub>, serotonin, adrenalini, trombositlar aktivatsiyasining omillari hisoblanadi. Bulardan tashqari ekzogen moddalar (organizmda uchramaydigan), masalan, lateks bo'lishi ham mumkin.

Trombotsitlar adgeziyasi singari agregatsiyasida ham spetsifik Sa<sup>2Q</sup>-ga bog'liq sekretor jarayonini rivojlantirishi mumkin. Bunda trombositlar ekstratsellyulyar bo'shliqqa bir qator moddalarni ajratadi. ADF, adrenalini, subendotelial biriktiruvchi to'qima va trombin ajralish reaksiyalarini indutsiraydi. Avval zich granular tarkibidagi ADF, serotonin, Sa<sup>2Q</sup> ajraladi, so'ng a-granula tarkibidagilarni (trombositlar omil IV, R-tromboglobulin, o'sishning trombositlar omili, fon Villebrand omili, 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, trombositlar ajratgan omillar tomir devorining shikastlangan joylarini yopishga yordam beradi.

Har qanday holatda ham tomir devori shikastlanganda qon ivishi jarayonining asosiy initsiatori – to'qima omili (tromboplastin) sintezlanadi va ekspressiyalanadi. Tromboplastin fermentativ faollikka ega bo'lmasa ham, faollashgan omil VII ning koomili o'rnida rol o'ynashi mumkin. TromboplastinG'omil VII kompleksi omil X, va omil 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 omillar ro'yxati 1.1-jadvalda keltirilgan.

### 1.1-Jadval.

#### Qon ivishi omillari

Omil	Sinonim	Faol shaklining vazifasi
<b>I</b>	<b>Fibrinogen</b>	Fibrin gelini hosil qiladi
<b>II</b>	<b>Protrombin</b>	Fibrinogen (serin proteaza)ni faollashtiradi
<b>III</b>	<b>To'qima tromboplastini</b>	F VII (tashqi yo'l; oqsil-substrat) aktivatsiyasini stimullaydi
<b>IV</b>	<b>Kaltsiy ionlari</b>	Iqish omillarining fosfolipidli yuza bilan o'zaro ta'sirlashishi uchun zarur
<b>V</b>	<b>Proalekrin</b>	F II (oqsil-substrat) aktivatsiyasini stimullaydi
<b>VII</b>	<b>Prokonvertin</b>	F X (serin proteaza) ni faollashtiradi
<b>VIII</b>	<b>Antigemofil omil A</b>	F X (oqsil-substrat) aktivatsiyasini stimullaydi
<b>IX</b>	<b>Antigemofil omil V</b>	F X (serin proteaza)ni stimullaydi
<b>X</b>	<b>Styuart-Prauer omili</b>	F II (serin proteaza)ni faollashtiradi
<b>XI</b>	<b>Plazma tromboplasti xosil bo'lishida ishtirokchi</b>	F IX (serin proteaza)ni faollashtiradi
<b>XII</b>	<b>Xageman omili</b>	F XI (serin proteaza)ni faollashtiradi
<b>XIII</b>	<b>Fibrinni stabillovchi omil</b>	Fibrin to'ri (transglutaminaza) ni stabillaydi
	<b>Yuqorimolekulyar kininogen</b>	Kontakt aktivatsiya omili
	<b>Prekallikrein</b>	Plazminogenni faollashtiradi

	<b>Protein S</b>	Faollashgan omillar V va XIII ni inaktivlashtiradi
	<b>Protein S</b>	Protein S yordamida aktivlashgan omillarning inaktivatsiyasini stimullaydi
	<b>Villebrand omili</b>	Trombotsitlarni subendoteliy bilan birikish jarayonida ishtirok etadi

## I.2. Plazma gemostazi (koagulyatsion gemostaz)

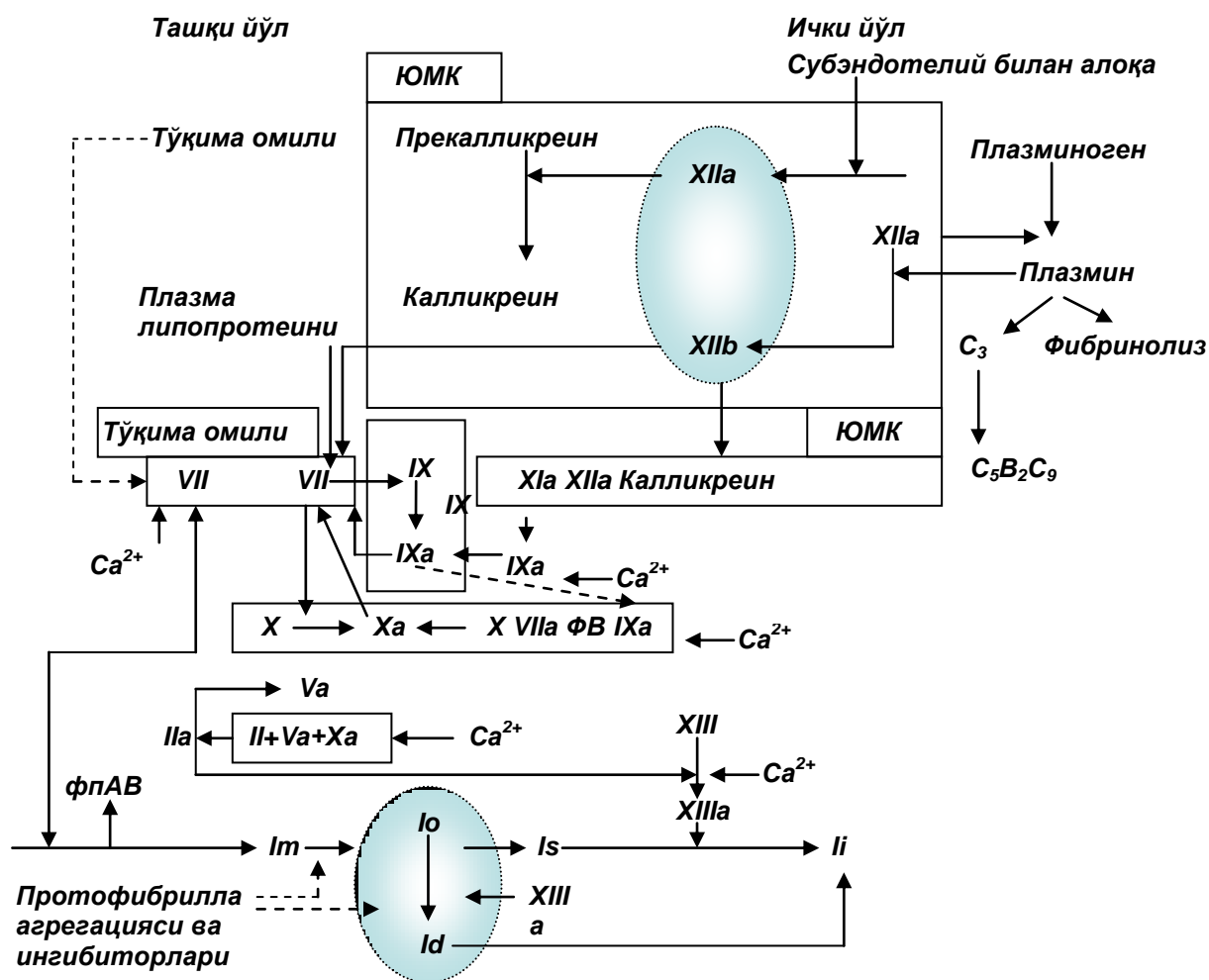
Plazma gemostazi shartli ravishda 3 fazaga bo'linadi: I faza — protrombinazani hosil bo'lishi yoki kontaktli-kallikrein-kinin-kaskadli aktivatsiya. I faza ko'p bosqichli jarayon bo'lib, uning natijasida qonda protrombinni trombinga aylantiruvchi omillar kompleksi to'planadi. Shu sababli bu kompleks protrombinazali 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 omillari (XII, XI, IX, VIII, X), kallikrein-kinin sistemasi va trombotsitlar ishtirok etadi. Natijada fosfolipid qavatida ionlashgan kaltsiy ishtirokida omillar Xa va V kompleksi hosil bo'ladi. Bu kompleks protrombinni trombinga aylantirib protrombinaza singari ta'sir qiladi. Protrombinaza shakllanishining tashqi yo'lida to'qima omili (omil III) asosiy rol o'ynaydi. Ushbu omil to'qimalar shikastlanganda hujayra yuzasiga ekspressiyalanadi va VIIa omili va kaltsiy ionlari bilan kompleks hosil qiladi. Kompleks protrombinni aktivlaydigan omil X ni omil Xa ga aylantiradi. Bundan tashqari, omil Xa to'qima omili kompleksi va omil VIIani aktivlashtiradi. Shunday qilib, tashqi va ichki yo'llar ivish omillarida birlashadi.

II faza - trombin hosil bo'lishi. Bu fazada protrombinaza koagulyatsiya omillari V, VII, X va IV bilan omil II (protrombin) ning nofaol shaklini faol omil IIa — trombinga aylantiradi.

III faza - fibrin hosil bo'lishi. Trombin fibrinogen molekulasidan ikkitadan peptid - A va V ni uzib, fibrin-monomerga aylantiradi. Bundan tashqari, trombin omil XIII ni omil XSh ga aylantiradi. Omil XSh  $Sa^{2Q}$  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 omillarni 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 ATIII, geparin, proteinlar S va S, TFPI (to'qima omili-omil VIIa- $Sa^{2Q}$  kompleksining ingibitori),  $\alpha$ 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(3-rasm).



**3-rasm. Plazma gemostazi.** YuMK - yuqori molekulyar kininogen; RFMK - eruvchan fibrin-monomer komplekslar; fp A va V - fibrinopeptidlar A va V; S3, S5V, S9 - komplement sistemasi omillari.

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 trombnini hosil bo'lishiga olib keladi. Normada ushbu 2 ta jarayon parallel kechadi. Fiziologik spontan fibrinoliz va retraksiya trombnini zichlashishi va uni gemostatik funksiyalarni bajarishiga yordam beradi. Bu jarayonda plazmin (fibrinolitik) sistema va fibrinaza (omil XIIIa) faol qatnashadi. Plazmin sistemasi 4 ta asosiy komponent: plazminogen, plazmin (fibrinolizin), fibrinoliz profermenti aktivatorlari va uning ingibitorlaridan tashkil topgan. Plazmin

sistemi komponentlarining buzilishi fibrinolizning patologik aktivatsiyasiga olib keladi.

### **I.3. Endotelial oqsillar - gemostaz regulyatorlari sifatida**

Gemostaz jarayoni stimullash va boshqarishda endotelial hujayralar membranalarining integral oqsillari (trombomodulin va to'qima omili) 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 koomil 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 trombotsitlarni 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** (omil III, tromboplastin, TAP) serin proteaza noaktiv proferment plazminogeni 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 omili fosfolipoprotein hisoblanadi. Ushbu kompleksning apoproteini membrananing integral glikoproteinidir, u endoteliy, silliq muskul hujayralari fosfolipidlari bilan

mustahkam bog'langan va shikastlanganda qon bilan kontaktlashadi, nihoyat trombin generatsiyasi va qon ivish mexanizmini ishga tushishiga yordam beradi. U qonning tsiruyatsiyalovchi omil VII ga juda o'xshash.  $\text{Ca}^{2+}$  ionlari ishtirokida apoprotein to'qima omili omil VII bilan stexiometrik kompleks hosil qilib uning konformatsion o'zgarishlarini chaqiradi va serin prteinazaga aylantiradi. Reaksiya qonda tsirkulyatsiyalovchi proteinazaning (omil Xa, trombin, omil VIIa, omil IXa) izlari bilan stimullanadi. Bunda hujayra ichidagi  $\text{Ca}^{2+}$  miqdori oshadi. Hosil bo'ladigan kompleks (omil VIIa -T.f.) omil X ni serin proteinaza f.Xa ga aylantiradi. To'qima omili-omil VII kompleksi omil X ni ham, omil IX ni ham, oxir oqibat trombin generatsiyasini aktivlaydi [Boyle, Verrier ea., 1996].

***Plazminogening urokinaza aktivatori (PUA).*** PUA serin proteinazasi va bir zanjirli yoki ko'p zanjirli oqsil hisoblanadi. Bir yoki ko'p zanjirli oqsillar plazminogenni plazminga aylanishini faollashtiradi. Serin proteinazalari faqatgina oqsillarni parchalamasdan, signal molekulari ham hisoblanadi, hujayra retseptorlari bilan o'zaro ta'sirlashib, ularning vazifasini boshqaradi [Devaraja et al.,2008].

Qon ivishining Xa omili, 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 ko'p miqdorda bo'lishi shikastlanmagan endoteliy zonasida tezda inaktivlashadi. Ushbu fakt qonning suyuq holatda ushlab turilishi va uning funktsiyalarining bajarilishi uchun eng zarur sharoit hisoblanadi.

### **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 omillarning 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 omil VII ni aktivlashtiruvchi to'qima omili hisoblanadi.

Ichki yo'l boshqa guruh omillari - XII, XI, IX va VIII omillarning aktivlanishining ketma-ket reaksiyalari zanjiridan o'tadi. XII omilni aktivlanish jarayoni kallikrein bilan tezlashadi, XI omilni yuqori molekulyar kininogen aktivlashtiradi. Omil 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.

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

Qon tomiri shikastlanganda spetsifik oqsil - to'qima omili (TF) - qonning VII omili bilan kontaktga kirishadi. TF qon bilan aloqaga kirishmaydigan ko'plab tipdagi hujayralar, jumladan, silliq muskul, fibroblast, makrofaglarda ekspressiyalanadi. To'qima omili VIIa bilan omil X ni aktiv shaklga keltiradi. TF-VIIa ning aktiv kompleksi cheklangan proteoliz yo'li bilan X va IX omillarni aktivlaydi. Hosil bo'lgan IXa omili xuddi subendotelial hujayralardan "sirpanib tushib qolgan"dek, bevosita yaqinroqda joylashgan aktivlangan trombositlardagi spetsifik retseptor bilan o'zaro ta'sirlashadi. 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.

Shu bilan qon ivishining birinchi fazasi - koagulyatsiya initsiatsiyasi yakunlanadi. Shuning o'zida trombositlar qon ivishining omillari bilan aktiv ta'sirlashadi. Tomirlar endoteliysi zararlanganda trombositlar adgeziyasi va



agregatsiyasi kuzatiladi va qon iviydi. Trombotsitlar 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 omillarni aktivlashtiradi. Ularning aktivatsiyasi trombotsitlarning Ib-V-IX glikoprotein kompleksi hisobiga engillashadi. XI va V omillarning aktiv shakllarini ortishi plastinkalarning a-granulalaridan ularning sekretiya qilinishi hisobiga ham etadi. Aniqlanishicha, omil XIa ning dimeri qon plastinkalarining yuzasi bilan bitta polipeptid zanjiri orqali birikadi, ikkinchi monomer esa omil IX uchun birikish joyi hisoblanadi.

Qon plastinkalarining qon ivishining uchinchi fazasi – koagulyatsion jarayonning tarqalishida ishtirok etishi ko'p planli hisoblanadi. Tomir devorining shikastlangan zonalarida trombotsitlar yuzada hosil qiladi, yuzada qon ivishining barcha omillarining sorkasi, kontsentratsiyasi va aktivatsiyasi sodir bo'ladi. Fosfatidiletanolamin ekspozitsiyadan so'ng tashqi sohada trombotsitar membrananing omillar Va va VIIIa ga affinligini oshiradi, lekin aynan fosfatidilserintenaza va protrombinaz kompleksining barcha omillarining birikadigan joyi bo'lib xizmat qiladi [Vanschoonbeek et al., 2003].

Fosfatidilserin bilan bog'lanadigan anneksin V, v<sub>2</sub>-glikoprotein-I va trombotsitlar sekretiya qiladigan fosfolipaza A<sub>2</sub> bilan yuqorida aytilgan komplekslarni hosil bo'lishi va plastinkalarning koagulyatsion aktivligini ingibirlaydi. Plazmadagi eruvchan V<sub>2</sub>-glikoprotein-I ning asosiy antikoagulyant ta'siri uning trombotsit membranasidagi manfiy zaryadlangan aminofosfolipidlar bilan o'zaro ta'sirlashuviga bog'liqdir.

Trombotsitlar yuzasida koagulyatsion omillar - 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 koomil VIIIa dan iborat bo'lgan tenaz kompleksini hosil bo'lishi uchun aminofosfolipidlardan tashqari stimullangan trombotsitlarda ko'plab bog'lanish joylari ekspozitsiyalanadi (1500 joyG'trombotsit dan yuqori). O'z navbatida omil Va

o'zining retseptori bilan birikkanidan so'ng trombositlar yuzasida omil Xa (5000 joyG'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 omilni 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 omillari (VIII, Va, IX, IXa, X) uchun nolipidli bog'lanadigan joylar, tsitoskelet oqsillari (filamin, talin, miozinning og'ir zanjiri), araxidon kislotasi va uning metabolitlari, hamda alohida antikoagulyant substansiyalar (proteinlar S va S), proteazalarning ingibitorlari mavjud.

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 omillarni 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 omillarni faollashtirishda qatnashadi, balki qon ivishining barcha jarayonini boshqarish vazifasini bajaradi.

Evolyutsiya jarayonida rivojlangan qonning ivishi - suyuq holdan lahtaga (jelesimon) aylanishi organizmning qon yo'qotishiga to'sqinlik qiladigan muhim biologik reaksiyasi hisoblanadi. Sog'lom odamda kichik qon tomirlar

jarohatlanganda qon oqishi 1-3 daqiqada to'xtaydi. Bu birlamchi gemostaz (qon to'xtashi) asosan kichik qon tomirlarning torayishi va bir-biriga yopishib, g'uj bo'lib qolgan trombositlarning ularga tiqilib qolishiga bog'liq. Qon tomirlarining torayishini serotonin va katexolaminlar ta'minlaydi. Trombositlar agregatsiyasi (bir-biriga yopishish) uchun adenzindifosfat (ADF) kerak. Ammo ADF yordamida hosil bo'lgan trombositlar agregatsiyasi hali unchalik mustahkam emas. Trombositlarning mustahkam agregatsiyasi ikkilamchi gemostaz jarayonida trombin ta'sirida ruyobga chiqadi.

Gemostaz jarayonida biologik faol moddalar muhim rol o'ynaydi va ular uchta toifaga bo'linadi:

1) qon ivishiga yordam beruvchi;

2) qon ivishiga to'sqinlik qiluvchi;

3) ivigan qonni suyultirishni belgilovchi moddalar tizimi. Bu moddalarning hammasi qon plazmasida va shaklli elementlarida hamda organizm to'qimalarida va, ayniqsa, qon tomirlar devorida mavjud. [Bo'kovskiy V.A., 1990].

Qon ivish jarayonida plazmada erigan fibrinogen trombin enzimi ta'sirida erimaydigan fibringa (ipsimon strukturaga ega) aylanadi. Ikkilamchi gemostaz besh bosqichga bo'linadi:

1) tromboplastin hosil bo'lish bosqichi. Tromboplastin deganda, qonning protrombinni trombinga aylantiradigan enzimatik faolligi tushuniladi. "Tromboplastin" so'zi o'rniga "Trombokinaza" atamasi ham ishlatiladi. Tomirda yurgan qonda tromboplastin bo'lmaydi. U, qon plastinkalari parchalanganda (qon tromboplastini) yoki to'qimalar shikastlanganda (to'qima tromboplastini) ajratilgan yog'simon (lipid) omil va plazma omillari ishtirokida hosil bo'ladi.

2) trombin hosil bo'lish bosqichi. Tromboplastin plazmada uchraydigan oqsil protrombinga nisbatan proteolitik faollikka ega. Protrombin alfa<sub>2</sub>-globulin bo'lib, molekulyar massasi 66800 Da ga teng. Plazmada 10-15 mg% protrombin bo'lib, jigarda sintezlanadi, bu jarayon vitamin K ga muxtoj. Shu sababli, vitamin K etishmovchigida qon ivishi buziladi. Protrombin tromboplastin

ta'sirida va kaltsiy ionlari ishtirokida trombinga aylanadi. Trombinpeptidaza fibrinogenni qisman parchalash qobiliyatiga ega.

3) fibrin hosil bo'lish bosqichi. Fibrin hosil bo'lishining birinchi bosqichida fibrinogen (mol. massasi-340000 Da) trombin ta'sirida ikki nimtaga bo'linadi. Bu nimtalardan o'z navbatida ikkita aminopeptid A va aminopeptid V ajraladi, nimtalarning qolgan qismlarini fibrin-monomer deb ataladi. Fibrin-monomerning molekulari bir qatorga chizilib, polimerizatsiyaga uchraydi. Polimerizatsiya uchun plazma omili fibrinopeptid A va kaltsiy kationi kerak. Fibrin- polimer gelni hosil qiladi.

4) lahta retraktsiyasi bosqichi. Trombotsitlar parchalanganda ulardan maxsus omil - trombostenin ajraladi. Trombostenin ta'sirida fibrin iplari qisqaradi, natijada avval hosil bo'lgan amorf lahtaning hajmi kichrayib, ichchamlashadi. Bu jarayonni retraktsiya deb ataladi. Retraktsiya natijasida lahta zichlashadi, jarohatlangan joyning yuzasi kamayadi va natijada yaraning bitishi tezlashadi.

5) fibrinoliz bosqichi. Plazma globulinlaridan biri plazminogen (profibrinolizin) to'qima yoki qon omillari ta'sirida faol proteolitik enzim - plazminga (fibrinolizinga) aylanadi. Plazmin fibrinni parchalab, trombinni yo'qotadi. [Galstyan, Suxanova.,2013].

#### **I.4. Sulfatlangan tsellyuloza birikmalarining hujayrada kechadigan jarayonlarga ta'siri**

Sulfatlangan tsellyuloza birikmalarining gemostaz tizimiga antikoagulyant ta'siri o'rganish bo'yicha ko'pgina ilmiy tadqiqot ishlari olib borilgan. Olib borilgan barcha tadqiqotlar bevosita ta'sirga ega bo'lgan geparinga analog sifatida foydalanish imkonini beradigan preparat yaratish ustida amalga oshirilgan. Tsellyuloza birikmalarining strukturalari va xossalari geparinnikiga o'xshagani uchun xam ushbu birikmalar geparin xossasiga ega bo'lgan birikmalar sifatida tadqiqotlar olib borish uchun ilmiy asos bo'lib xizmat qilib kelmoqda. Ko'pgina tadqiqotlarda dengiz suv o'tlaridan olingan tsellyuloza

birikmalarining gemostaz tizimiga ta'sirlari yoritilgan. Oxirgi vaqtlarda ko'plab tadqiqotchilarning e'tiborini biologik faol moddalari hayvonlar toksinlari, o'simlik moddalari 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

Zamonaviy klinik sharoitlarda qisqa muddat ichida qon tomir ichiga yuborish orqali bevosita antikoagulyantlar orqali davolashda asosan sulfat polisaxaridlar asosida olingan fraktsiyalanmagan geparin, kichik molekulali geparin, va pentasaxarid geparin (fontaparinuks, arikstra- dorixonadagi nomi) kabi dori vositalaridan foydalaniladi. Ushbu birikmalar molekulyar og'irligi va antikoagulyant ta'sir mexanizmi bilan bir-biridan farq qiladi.

Biodegradatsiyalangan polimerlardan olingan tabiiy xomashyo manbailari biologik moslashuvchanligi, turli tumanlilik, zaxarlilik darajasi kamligi va insonlar uchun kasallik chaqirmaydigan birikmalarni yaratishda [Vityazcv,2010] mikroorganizmlardan, o'simliklardan, suv o'tlaridan, zamburug'lardan ajratib olingan polisaxaridlar samarali dori-vositasi yaratishga imkon beradi. Antikoagulyant va antitrombotik faollikka ega bo'lgan tabiiy va sintezlangan o'simlik xom ashyosidan olingan polisaxaridlar (fukoidanlar, karragenanlar, ulvanlar, alginatlar, mannanlar, galaktanlar, galaktomannanlar, pektinlar, kraxmal, tsellyuloza) fizik va kimyoviy xossalriga ko'ra, molekulyar og'irligiga ko'ra, aralashish guruxlar soniga ko'ra bir-biridan farq qiladi. Shuning uchun er usti o'simliklardan va daraxtsimon o'simliklardan chiziqli struktura asosida yangi sulfat polisaxaridlarni yaratish samarali natijalarga erishish imkonini beradi [Vityazcv,2010; Vo et all, 2014; Scaglione, 2013; Schouten, 2011; Segal, 2007; Shaker,2007; Shorr, 2012; Sie 1989; Silva 2012; Sokolova 2014].

Hozirgi vaqtda hayvonlar zaharlari va o'simlik moddalarining ta'siri to'g'risida ko'plab adabiyotlarda keltirilgan, ular membrana transportining turli

sistemalariga – ion kanallari, ionotrop retseptorlar, qon ivish sistemalariga ta'sir qiladigan yuqori spetsifik moddalarning manbai hisoblanadi.

Shu bilan birga, ko'pgina birikmalar tomirlarni kengaytiruvchi xususiyatga egadir. Bunda ushbu jarayonga hujayra ichidagi turli depolardan chiqadigan, noradrenalin va kofeinga sezgir bo'lgan kaltsiy ionlari jalb etilishi. Birikmalarning vazorelaksant ta'siri potentsial- va retseptor yordamida boshqariladigan  $Sa^{2Q}$  kanallari, 5-gidrotriptamin retseptorlarning ingibirlanishi,  $\beta$ -adrenergik retseptorlarning stimulyatsiyasi, proteinkinaza va inozitoltrifosfat hosil bo'lishiga javobgar fosfolipaza S ning ingibirlanishi bilan bog'liq bo'lishi mumkin. Shu bilan birga ayrim birikmalar ta'siri ular tomir endoteliysiga NO-sintaza aktivligining modulyatsiyasi hisobiga bo'lishi mumkin. [Vo et all, 2014; Scaglione, 2013; Schouten, 2011; Sokolova 2014].

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

Hayvon 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 tushuntiriladi. 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 [Sokolova 2014].

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 nerv-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 funksiyasidagi 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 funksiyasi. Qonni ivishi – bu qon tomirlar shikastlanganda organizmni ikkilamchi himoya moslashishi. Tabiiy sharoitlarda gemokoagulyatsiya sistemi 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 omilini 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 omillarini, ayniksa trombinni adsorbtsiya qiladi;
- Qon oqimini katta tezligi qon ivishiga xalakit beradi, shu joyda gemokoagulyatsiya omillarini etarli konsentratsiyada tuplanishiga imqon bermaydi;

- Qonning suyuq holatini qondagi tabiiy antikoagulyantlar saklab turishadi;

### **I.5. Antikoagulyantlar haqida umumiy ta’rif**

Antikoagulyantlar grekcha so’zdan olingan bo’lib (Anticoagulantia; anti — qarshi, coagulatio — ivish) — qon ivishini pasayishini ta’minlaydigan modda. Antikoagulyantlar asosan qonni ivishini oldini olishda, tromb hosil bo’lishini oldini olishda, qonning agregat holatini saqlashda muhim vazifalarni bajaradi. [Charles T. 2001].

Antikoagulyantlar bilan uzoq davolanadi uning ta’siri 24-72 soatgacha va bir necha kungacha davom etishi mumkin. Antikoagulyantlar hayvon organizmiga tushib, qon ivish omillarini birini o’zgartiradi, gemostazning barcha mexanizmini buzadi, qon ivishini sekinlashtiradi, hamda periferik qon tomirining devorini buzadi. Antikoagulyantlarning ta’sir mexanizmi qon ivishi omillarining normal hosil bo’lishi- turli metabolitik jarayonlarning kompleks sistemasiga asoslangan koagulyatsiyani to’xtatishdan iborat. Protrombin, ya’ni proteinaza trombinining nofaol shakli, qon ivishining muhim initsiatorlaridan biri hisoblanadi.

Antikoagulyantlar fibrin tromblari hosil bo’lishiga qarshilik ko’rsatadigan moddalar hisoblanadi. Ta’sir mexanizmiga ko’ra ular ikki turga: bevosita va bilvosita ta’sir etuvchi antikoagulyantlarga bo’linadi. Laboratoriya amaliyotlarida *in vitro* da qon ivimasligi uchun limon tuzi va shovul kislotasi (tsitrat va oksalat natriy) ishlatiladi. Fibrinolitik fermentlar, antitrombinlar, antitromboplastinlar, geparin va boshqalar qon ivish sistemasining tromb hosil bo’lishi kasalliklarida qon ketishini tezligini, qon tomir devorlarini o’zgarishini, trombositlarning funktsional holatining o’zgarishiga olib keladi.

Quyida qon ivishiga turli darajada ta’sir etuvchi antikoagulyant xossasiga ega bo’lgan dori vositalarining tavsifi keltirilgan (4.rasm)



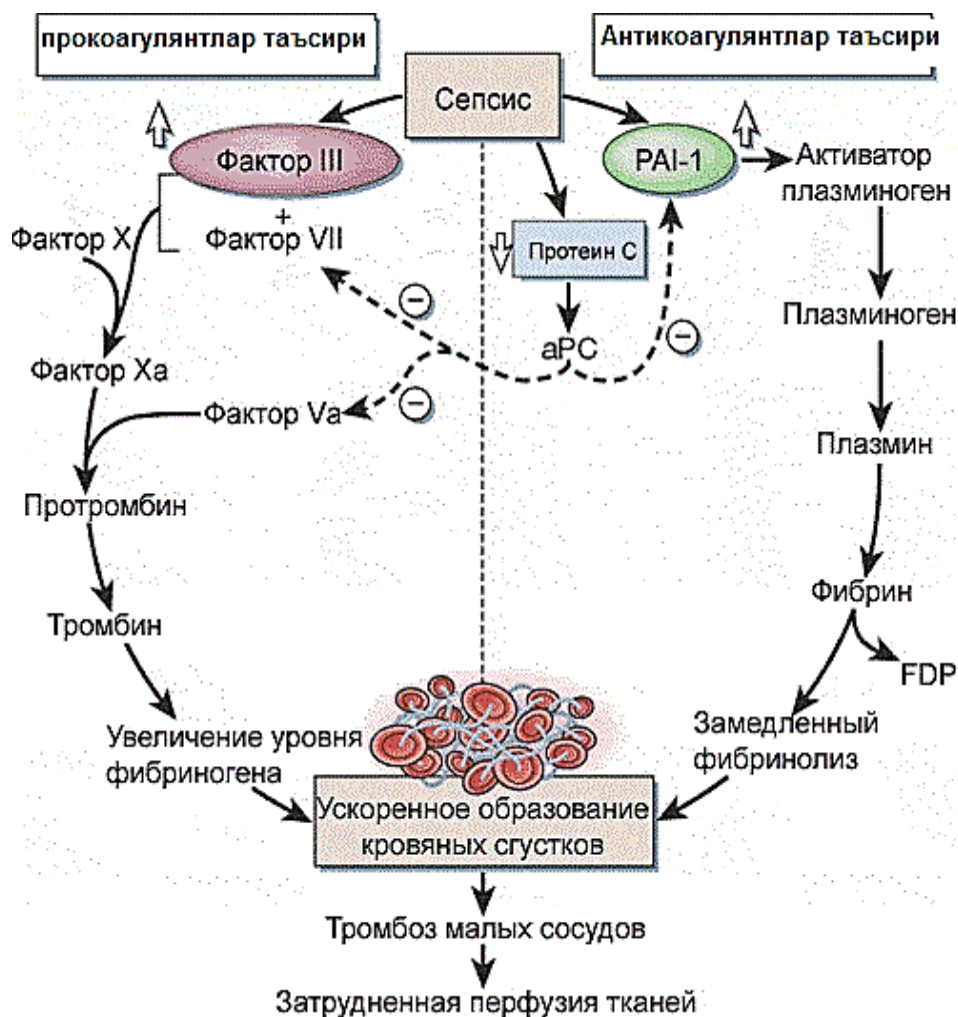


**4- rasm. Qon ivishiga turli darajada ta'sir etuvchi antikoagulyant dori vositalarining tasnifi.**

Qonga bilvosita ta'sir ko'rsatadigan antikoagulyantlarga: brodifakum, bromadiolon, varfarin (zookumarin), difenakum, difenatsin, difetialon, izopropilfentsin, kumatetralil, tetrafentsin, trifenatsin, flokumafen, flokumafen, xlorfasinon, etilfenatsinlar kiradi. [Boloxovets M.F., 1978].

1. Bilvosita ta'sir qiluvchi antikoagulyantlardan (dikumarin va b) jigarda qon ivishi omillari-protrombin va prokonvertinning sintezlanishini buzadi. [Klementeva, 2013].

Antikoagulyantlarning ta'sir mexanizmi sxematik ko'rinishi quyidagi rasmda ko'rsatilgan (5- rasm).



**5. Rasm. Antikoagulyantlarning ta'sir mexanizmining sxematik ko'rinishi.**

**Bevosita ta'sir etadigan antikoagulyantlar:** Geparin va geparinoidlar — modda, geparinga o'xshab ta'sir qiladigan, lekin kimyoviy tarkibiga bilan ajralib turadigan. Bu gruppaga kiruvchilar qonga to'g'ridan to'g'ri ta'sir qilib (in vitro) va butun organizmdagi qon ivish to'xtatishi mumkin. Organizmning ichki muxitiga yuborilganda 4- 6 soat ichida ta'sir etadi. Geparin gemokoagulyatsiyani hamma fazalariga ta'sir ko'rsatadi, ko'p plazma omillarini aktivligini pasaytiradi, kam miqdorda 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.

Natriy tsitrati tromblari hosil bo'lishi asosiy komponent hisoblangan kaltsiy ionlarini biriktirib oladi. Natriy tsitrati organizmda qon ivishiga ta'sir

qilsa ham, uni bu maqsadda ishlatish mumkin emas, chunki u nerv-muskul apparatining qo'zg'aluvchanligini keskin buzadi, bu aparatining me'yorida ishlashi uchun esa kaltsiy ionlari zarur. [Voznesenskaya V.V., 1992]. Geparin-organizmda hosil bo'ladigan, qon ivishiga qarshi fiziologik antikoagulyant hisoblanadi. Geparin, sinantrin plazmadagi protrombinni trombinga aylanishini tormozlaydi. Ular qonga tushgan zahotiy oq ta'sir ko'rsata boshlaydi.

**Bilvosita ta'sir ko'rsatuvchi antikoagulyantlar:** Difenakum, brodifakum, difetialon, flokumafen, bromodialon, izoindanlar kiradi. Ikkinchi avlod antikoagulyantlari birinchi avlod antikoagulyantlar singari bir xil ta'sir mexanizmi va kumulyativ hossalarga ega. Shu bilan birga rodentitsidlik hossasiga ega bo'lib, kemiruvchilarga qarshi kurashishda keng qo'llaniladi. Varfarin qon ivishining kaltsiyga bog'liq bo'lgan II, VII, X, va X omillarining biologik faol shakllarining vitamin K ga bog'liq sintezi hamda jigarda S, Z va S.

Protein "S" trombinni VIII va V omillarini aktivlash kobiliyatini keskin kamaytiradi.

Prostatsiklin – trombotsitlar 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 mikdorda xosil bo'lganda – qondagi tabiiy antikoagulyantlar yordamida neytralizatsiyalanadi. Qonda trombin mikdori 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).

Trombotsitlar – *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 – trombotsitlardan fark qiladi.

Qon tomirlaridan chiqqan qondagi qon plastinkalari tez parchalanadi. Qon ivishida muhim rol o'ynovchi omillar 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.6. Gemostaz buzilishini aniqlashning umumiy uslublari**

Hozirgi vaqtda qon ivishining buzilish mexanizmini aniqlash uchun ko'plab diagnostik testlar mavjud [Dobrovolskiy, Titaeva,2009; Galstyan, Suxanova.,2013]]:

1) QFTV (Qisman faollashgan 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 QFTV 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 kefalin qo'shilmasa – prokoagulyant faollikka ega bo'lgan fosfolipoproteid membranalarining 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. Hozirgi vaqtda protrombin nisbati aniqlanadi.

5) Plazmada fibrinogen miqdorini aniqlash – katastrofik va o'tkir DVS sindrom da fibrinogen kontsentratsiyasini 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

## I bob bo'yicha xulosa.

**Gemostaz sistemasi** – bu organizmdagi qonning agregat xolatini bir meyorda ushlab turuvchi va qon tomirlari shikastlanganda qon kechishini to'xtatishga qaratilgan reaksiyalar kompleksidir. Gemostaz omillari 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 omillarning 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. 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 omillari qatnashadi. Bu jarayon fibrin hosil bo'lishi bilan (fibrinoliz) yakunlanadi.

Biodegradatsiyalangan polimerlardan olingan tabiiy xomashyo manbailari biologik moslashuvchanligi, turli tumanliligi, zaxarlilik darajasi kamligi va insonlar uchun kasallik chaqirmaydigan birikmalarni yaratishda mikroorganizmlardan, o'simliklardan, suv o'tlaridan, zamburug'lardan ajratib olingan polisaxaridlar samarali dori-vositasi yaratishga imkon beradi. Antikoagulyant va antitrombotik faollikka ega bo'lgan tabiiy va sintezlangan o'simlik xom ashyosidan olingan polisaxaridlar (fukoidanlar, karragenanlar, ulvanlar, alginatlar, mannanlar, galaktanlar, galaktomannanlar, pektinlar, kraxmal, tsellyuloza) fizik va kimyoviy xossalriga ko'ra, molekulyar og'irligiga ko'ra, aralashish guruxlar soniga ko'ra bir-biridan farq qiladi. Shuning uchun er usti o'simliklardan, daraxtsimon o'simliklardan chiziqli

struktura asosida yangi sulfat polisaxaridlarni yaratish samarali natijalarga erishish imkonini beradi.

Biz ilmiy ishning maqsadidan kelib chiqib biologik faollikka ega bo'lgan sulfat tsellyuloza birikmalarini orasidan bir nechtasini gemostaz tizimiga ta'sir mexanizmini o'rganib chiqib eng samarali ta'sirga ega bo'lganini tanlab oldik. Tsellyuloza birikmasining gemostaz tizimining  $\text{Ca}^{2+}$  ioni gomeostaziga va qon tomir-trombotsitar gemostaziga ta'sirini o'rganishni maqsad qilib oldik.

## **II BOB. MATERIAL VA METODLAR**

### **2.1. Qon plazmasini ajratib olish**

Qonni ivib qolmasligi uchun 9:1 nisbatda 3,8% natriy tsitrati solingan plastik probirkaga soldik. 200 -250 gm 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 tsentrifugaladik. So'ngra ajrab chiqqan suyuq plazmani olib yana bir marta 10 min davomida 1500 g da tsentrifugalab, trombotsitlari kam bo'lgan plazmani ajratib oldik.

## **2. 2. Trombotsitlarni ajratish**

Trombotsitlarni ajratish [Berkovskiy, Vasilev, 2002] usulidan foydalanib donor qonidan ajratdik. Buning uchun qonga 1:9 nisbatda tsitratli 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 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM glyukoza, 10 mM HEPES-NaOH, pH 6,55, 50 birlikG/ml heparin, 0,35% albumin zardobi va 0,15 mgG/ml apiraza bo'lgan 5 ml muhitda suspenziyaladik. Barcha operatsiyalar xona haroratida plastik idishda olib borildi.

## **2. 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 printsipi 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 birlikG/ml), ristomitsin (5 mkM) (Sigma)dan foydalandik. Ko'rsatilgan induktorlarni trombotsitlarga boy plazmaga qo'shishdan oldin o'rganilayotgan tsellyulozani qo'shdik va 3 min



davomida inkubatsiyaladik. Agregatsiya o'zgarishini tez harakat qiluvchi N-373 samopisetsi yordamida qayd qildik.

#### **2. 4. Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida tsitozoldagi $Sa^{2Q}$ miqdorini o'lchash**

Moddalarning hujayra ichidagi kaltsiy miqdoriga ta'sirini o'rganish uchun fluorestsent metoddan foydalandik (Gukovskaya, Zinchenko, 1990). Trombotsitlarni ( $1 \times 10^8$  hujG'ml) 4 mkM atsetoksimetilli efir Fura-2AM ga 40 min davomida  $37^\circ S$  da soldik. Bunda tsitoplazmaga kirgan bo'yoq moddaning molekulalarida hujayra ichidagi esteraza ta'sirida efir guruhi uziladi, natijada hosil bo'lgan Fura-2 anioni  $Sa^{2Q}$  ni biriktiradi. So'ngra muhitda qolgan bo'yoq moddani yo'qotish uchun ikki marta yuvdik va standart muhitda tsentrifugaladik. Tajribalarda yacheykadagi hujayralar konsentratsiyasi  $5 \times 10^6$  hujG'ml ni tashkil qildi. Fluorestsentsiyani 337 nm da qo'zg'atdik, 496 nm da esa qayd qildik.  $Sa^{2Q}$  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:  $F_{min} \approx [(F_{max} - F_{af})G^3] / F_{af}$ ,

Bu erda  $F_{af}$  – Fura-2AM ga solingan va digitonin qo'shilgan trombotsitlarga 0,1 mM  $MnCl_2$  qo'shgandagi hujayralarning avtofluorestsentsiyasi. Natijalarni fluorimetr (Hitachi, Yaponiya) yordamida o'lchadik.

#### **2. 5. Membrana bilan bog'langan $Sa^{2Q}$ miqdorini o'lchash**

Membranaga bog'langan  $Sa^{2Q}$  miqdorini o'lchash uchun A muhitiga solingan hujayralarga 20 mkM xlortetratsiklin (XTTs) qo'shib 60 min davomida XTTsni plazmatik va ichki hujayraviy membranalardagi  $Sa^{2Q}$  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

( $\text{Ca}^{2+}$  bilan to'yintirilgan bo'yoq moddaning fluorestsentsiyasi) va uning EGTA qo'shilgandan keyingi minimal (indikatorning  $\text{Ca}^{2+}$  bo'lmagandagi fluorestsentsiyasi) ko'rsatkichi orasidagi farqni 100% deb qabul qilib oldik [Sukocheva, 1996].

### **Koagulyatsion testlar**

Moddalarning qon ivishiga ta'sirini trombin generatsiyasi (fosfolipidli test) metodi yordamida aniqladik. Bu metod trombin generatsiyasini ichki va tashqi yo'llari bo'yicha tavsiflab beradi. Koagulyatsion testlarda turli konsentratsiyadagi sulfat tsellyuloza birikmasini ishlatdik. Nazorat sifatida trombindan foydalandik (1 birlik). Birikmaning koagulyatsion aktivligini o'lchash uchun donor qonidan ajratib olingan tsitratli plazmadan foydalandik. Buning uchun qonni avvaldan 1:9 nisbatda 3,5% li natriy tsitratida tayyorlab oldik. Tajribalar uchun trombositlarsiz plazmani ishlatdik.

## II- bob bo'yicha xulosalar

Oldimizga qo'yilgan maqsadni amalga oshirish uchun foydalanilgan metodlar:

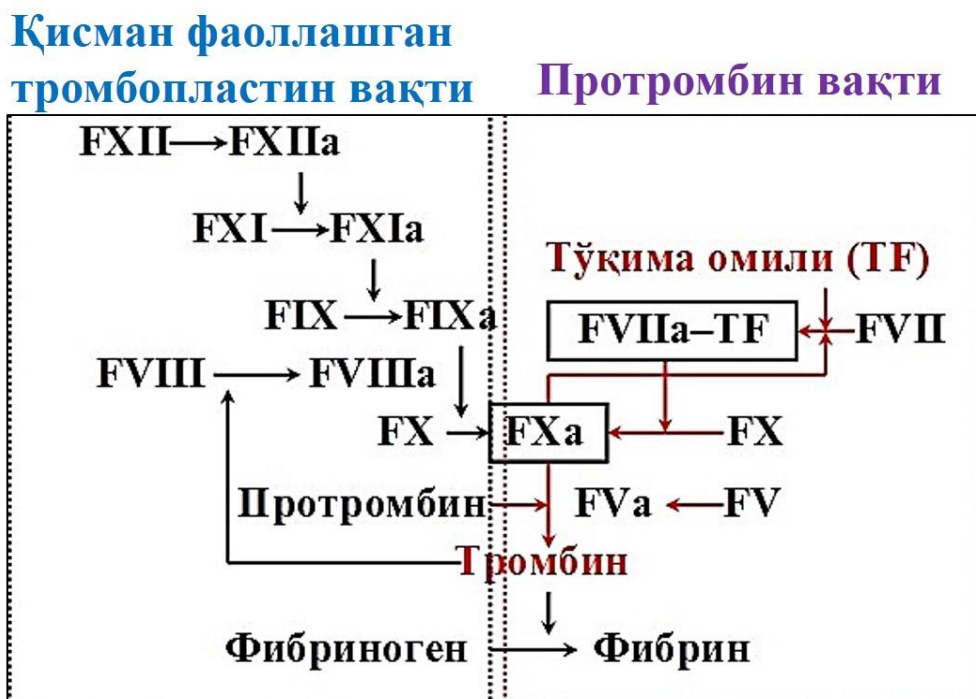
- Qon trombositlarini tsentrifuga yordamida ajratib olish
- Trombositlar agregatsiyasi
- Fura-2AM fluoretsent zondi yordamida tsitozoldagi  $\text{Ca}^{2+}$  miqdorini o'lchash
- Membrana bilan bog'langan  $\text{Ca}^{2+}$  miqdorini o'lchash
- Koagulyatsion testlarni amalga oshirish kabi metodlardan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

### III BOB. OLINGAN NATIJALAR VA ULARNING TAHLILI.

Tajribalar kalamush qonlarida olib borildi. Tajribalarda ADF, adrenalin, trombin, ristomitsin (Sigma),  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgCl}_2$ ,  $\text{CaCl}_2$ , glyukoza, HEPES-NaOH, geparin, albumin zardobi, apiraza, nifedipin va boshqa reaktivlardan foydalanildi.

Ishni bajarishda O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi akademik O.S. Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo institutida Polisaxaridlar kimyosi laboratoriyasida ajratilib modifikatsiyalangan sulfat tsellyuloza birikmasining shartli ravishda (CTs-GSC-72) deb nomlangan birikmaning antikoagulyantlik xossalari o'rganildi.

Dastlabki tadqiqotlarda amalga oshirilgan ishlar asosan gemostaz tizimining koagulyatsiyasida ishtirok etadigan plazma omillariga o'rganilayotgan birikmaning ta'sir mexanizmi ustida tadqiqotlar bajarildi.



1. rasm. Qisman faollashgan tromboplastin vaqti testi va protrombin vaqti testi yordamida skrining qilish mumkin bo'lgan koagulyatsiya omillari sxemasi [Dobrovolskiy va Titaeva, 2009]. Bunda QFTV- testi FVII va FXIII omillarini aniqlash imkonini olish qayd qilinadi.

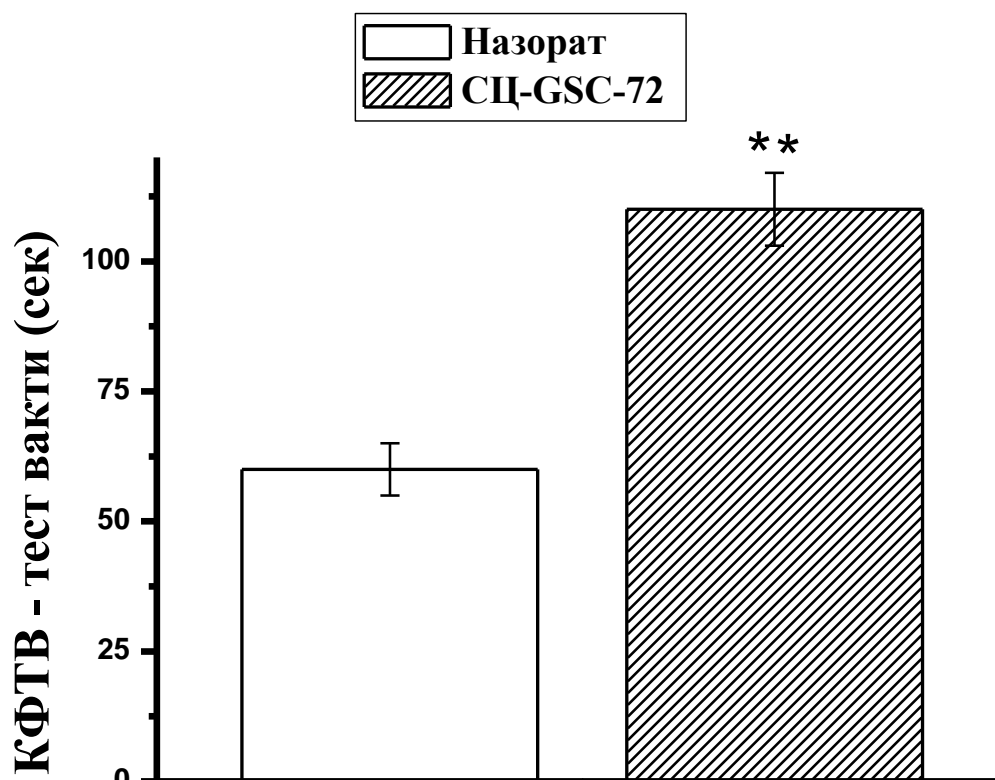
Qon ivishini protrombin vaqti, trombin vaqti, plazmaning rekaltsifikatsiya vaqti, fibrinogen miqdori, umumiy fibrinogen faollikni aniqlash metodlari orqali ilmiy tadqiqot ishi olib borildi.

Yuqoridagi metodlar orqali faqatgina qon ivish sistemasidagi eng yirik buzilishlarni aniqlash imkonini beradi. Ilmiy ishda ushbu buzilishlari aniqlash va uni biologik faol modda yordamida boshqarish mumkinligini tekshirib maqsadida bevosita antikoagulyant xossasiga ega bo'lgan sulfatlangan tselyuloza CTs-GSC-72 birikmasining ta'sir mexanizmi o'rganildi.

### **3.1. CTs-GSC-72 birikmasining qon ivishida QFTV -test yordamida ta'sirini o'rganish.**

Standart metodlar asosida koagulyatsion gemostazning ichki ivish mexanizmidagi XII, XI, IX, VIII kabi omillar asosiy o'rinni egallaydi. Biz ham ushbu tadqiqotimizni gemostaz tizimida koagulyatsiyaning «*ichki*» mexanizmini o'rganishda qisman faollashgan tromboplastin vaqti (QFTV) testidan foydalandik. QFTV testi – qon ivish vaqti (sek.) yordamida gemostaz tizimida «*ichki*» koagulyatsiya mexanizmi omillari skrining qilinishi amalga oshiriladi [Dobrovolskiy va Titaeva, 2009].

CTs-GSC-72 birikmasining qon ivish jarayoniga ta'sir qilish mexanizmini yoritish maqsadida uning qisman aktivlangan trombin vaqti QFTV yoki testga ta'sirini aniqlash ishlari olib borildi. Ma'lumki, QFTV-test ichki ivish mexanizmidagi XII, XI, IX, VIII kabi omillar va qon plazmasida ularning ingibitorlari bor-yo'qligini etishmasligini aniqlab beradi.



**2. rasm. CTs-GSC-72 birikmasining QFTV testga ta'siri.** Ishonchlilik darajasi.\*-  $R < 0,05$ ; \*\*-  $R < 0,01$ ; \*\*\*-  $R < 0,001$ .

Tajribalarimiz davomida CTs-GSC-72 birikmasi 50 mkM konsentratsiyada tromb hosil bo'lish vaqtini nazoratga nisbatan 45-50 sekundgacha uzaytirdi va shu bilan birga fibrin ivitmasini hosil bo'lishini susaytirdi. Bular CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirida qon ivishida ishtirok etuvchi ichki XII, XI, IX, VIII omillardan birining ingibirlanishidan dalolat berishi mumkin (2.rasm).

Demak ushbu test natijalari CTs-GSC-72 birikmasining kichik konsentratsiyadagi ta'siri mavjud preparatlar konsentratsiyasidagidan samarali bo'lib, ichki omillar faolligini bloklashi orqali ta'sirini ko'rsatdi.

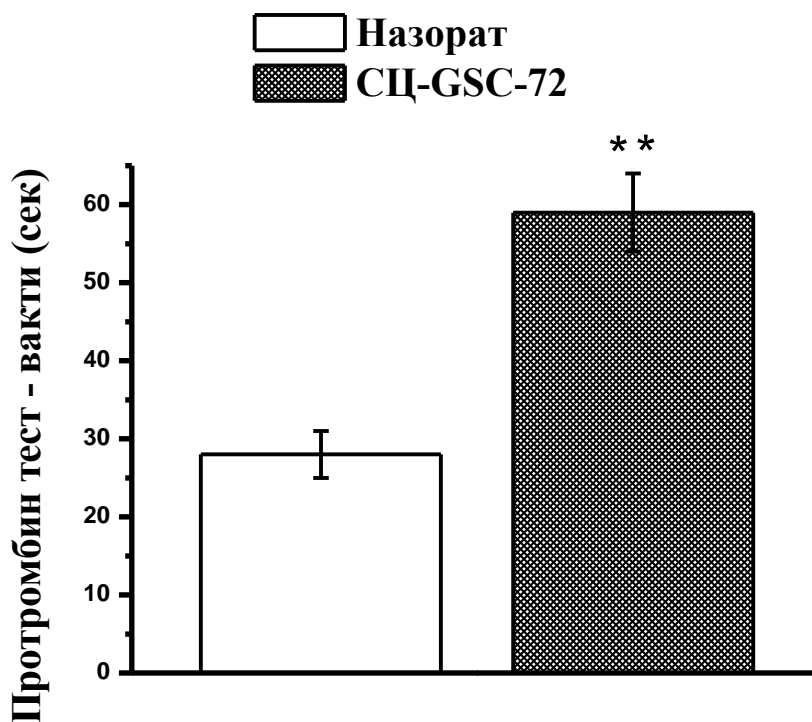
### **3.2. CTs-GSC-72 birikmasining texplastin-testga ta'siri**

Navbatdagi ilmiy tadqiqotlarimiz CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirini aniqlashda texplastin - testidan foydalangan xolda o'rganilgan moddalarning

samaradorlik mezoni ko'rsatkichi sifatida qabul qilingan standart uslub yordamida, protrombin vaqti qiymati qayd qilindi [Ivkin va boshq., 2013].

Odatda, nazorat guruhida kalamush qon plazmasida protrombin vaqtining qiymati nazorat guruhida o'rtacha  $16,0 \pm 0,3$  sekundga teng hisoblanadi. Tadqiqotlarda «Varfarin» ( $0,4 \text{ mgG'kg}$ ) ta'sirida protrombin vaqti  $16,0 \pm 0,3$  sekunddan (nazorat guruhi)  $37,7 \pm 0,5$  sekundga ortishi aniqlangan [Ivkin va boshq., 2013]. Shuningdek, koagulyatsiyaning «*tashqi*» mexanizmini o'rganishda protrombin vaqti (PV) testidan foydalaniladi.

CTs-GSC-72 birikmasining ta'sirini texplastin-test metodi yordamida o'rganganilganda qon ivishining protrombin vaqtini nazoratga nisbatan 35-40 sek. uzaytirdi. Bu esa protrombin omilini faollanishida ishtirok etadigan omillarni ingibirlanishi bilan tavsiflanadi (3.rasm).



**3- rasm. CTs-GSC-72 birikmasining 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

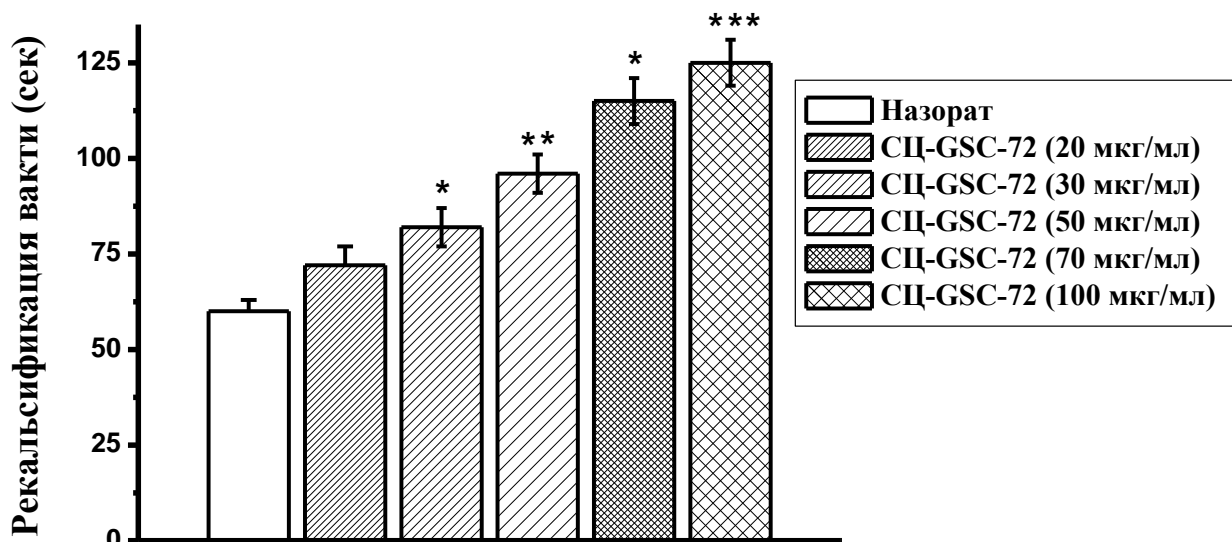
yoki faolligini aniqlab beradi. CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirida protrombin vaqtini uzayishi qon ivishi aktivatsiyasining tashqi yo'lini ingibirlashi, ya'ni V va II omillar aktivligini ingibirlanishini ko'rsatadi. Protrombin vaqtini uzayishi gipokoagulyatsiyani, kamayishini giperkoagulyatsiya ekanligida dalolat beradi. Protrombin vaqtini qo'llash asosan bilvosita antikoagulyant xossaga ega birikmalarda aniq ma'lumotlar beradi.

### **3.3. CTs-GSC-72 tsellyuloza birikmasining faollashgan plazma rekalsifikatsiya vaqtiga ta'siri**

Olib borilgan tadqiqotlar CTs-GSC-72 birikmasining kaltsiy gemostazi va qon ivish sistemasini boshqarishi mumkinligi to'g'risidagi ma'lumotlar asosida biz avval uning gemostaz sistemasiga ta'sirini o'rgandik. Dastlabki o'tkazgan tajribalarimizdan ma'lum bo'lishicha, CTs-GSC-72 birikmasi 50 mkgG/ml konsentratsiyada QFTV-vaqti va texplastin-test bilan o'tkazilgan tajribalarda plazmani ivish vaqtini uzaytirishini aniqladik. Ya'ni biz ushbu birikma ta'sirini xam ichki xam tashqi plazma omillariga ta'sirini ko'rib chiqdik.

Keyingi olib borilgan tadqiqotlarda CTs-GSC-72 birikmasi turli konsentratsiyalarda, ya'ni 20-100 mkgG/ml konsentratsiyalarda faollashgan plazma rekalsifikatsiya vaqtiga qanday ta'sir qilishini o'rgandik. Bunda u dozaga bog'liq hollarda rekalsifikatsiya vaqtini 65-75 sekundgacha uzaytirishi ma'lum bo'ldi. (4-rasm). Agar kaltsiy ionlari qon ivish sistemasining ham ichki, ham tashqi yo'llarini faollashtirish jarayonlarida qatnashishini hisobga olsak, CTs-GSC-72 birikmasining ta'sirida rekalsifikatsiya vaqtini uzayishi qon ivish sistemasining ikkala yo'lga ham ta'siri bilan bog'liq bo'lishi mumkin.





**4-rasm. CTs-GSC-72 birikmasining dozaga bog'liq holda faollashgan plazma rekalsifikatsiya vaqtiga ta'siri.** Ishonchlilik darajasi.\*-  $R < 0,05$ ; \*\*-  $R < 0,01$ ; \*\*\*-  $R < 0,001$ .

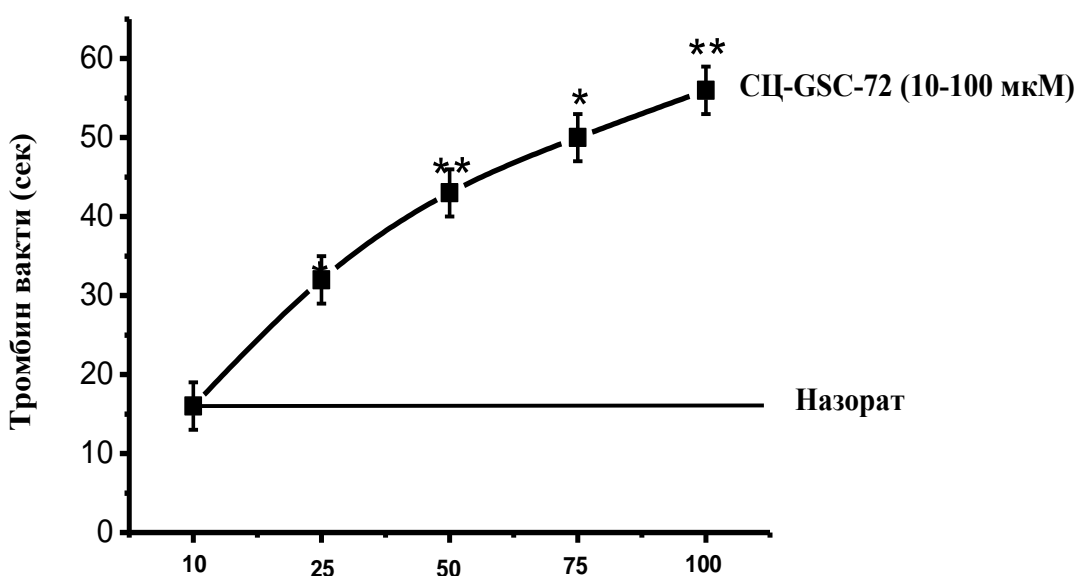
Shunday qilib, olingan natijalarning ko'rsatishicha, CTs-GSC-72 birikmasi QFTV, texplastin, faollashgan plazma rekalsifikatsiya-testlarida plazmaning ivish vaqtini uzaytirib, gemostaz sistemasiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi. Bu natijalar CTs-GSC-72 birikmasini qon ivishining ham tashqi, ham ichki yo'llariga ta'sir qilishini isbotlaydi, bunda u ichki yo'lning XII, XI, IX, VIII omillaridan birini, hamda tashqi yo'lning V va II omillarini ingibirleydi. Bunda CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirida qon ivishida ishtirok etadigan omillarning ingibirlanishi, trombosit omillarining disfunktsiyasi va antikoagulyantlarning trombosit va plazmadan chiqishining faollashuvi kabi mexanizmlar bilan amalga oshadi deb xulosa chiqarish imkonini beradi.

### **3. 4. CTs-GSC-72 tsellyuloza birikmasining trombin vaqtiga ta'siri.**

Keyingi eksperimentlarimizda trombin ta'sirida kalamush qon plazmasining ivishini o'rganganimizda plazmaga fibrinogen qo'shilishi bilan 15-25 sekund vaqt oralig'ida qonning ivishi kuzatildi. CTs-GSC-72 birikmasini 50 mkM konsentratsiyada fibrinogen bilan inkubatsiya qilib tekshirganimizda trombin vaqtini uzayishi kuzatilmadi. Shu bilan bir vaqtda CTs-GSC-72

birikmasini trombin va kaltsiy bilan inkubatsiya qilib, so'ng fibrinogen qo'shganimizda CTs-GSC-72 birikmasi 10-100 mkM konsentratsiyalarda trombin vaqtini nazoratga nisbatan birmuncha va turlicha vaqtga uzaytirishi kuzatildi (5.rasm).

Natijalardan ma'lumki CTs-GSC-72 birikmasi fibrinogen faolligiga ta'sir etmasdan qon ivish tizimiga ta'sir etishidan xulosa chiqarish mumkin. Trombin vaqtini uzayishi bu qonda fibrinogen darajasini o'zgarishi bilan bog'liqligi aniqlangan, fibrinogen darajasini kamayishi plazmaning yuqori miqdorlaridagi fibrinogen degradatsiyasi omillarining o'zgarishi bilan bog'liq.



**5-rasm. CTs-GSC-72 birikmasining trombin vaqtiga ta'siri.** Ishonchlilik darajasi.\*-  $R < 0,05$ ; \*\*-  $R < 0,01$ ; \*\*\*-  $R < 0,001$ .

CTs-GSC-72 birikmasining konsentratsiyaga bog'liq xolda trombin vaqtini uzaytirishi, XII, XI, IX, VIII omillaridan birining ingibirlanishi xisobiga fibrin laxtasi xosil bo'lishini susayishiga olib keladi deb xulosa chiqarish mumkin.

Amalga oshirilgan tadqiqotlarni umumlashtirgan holda taxlil qilinganida qon ivishining yakuniy bosqichini (fibrinogen–fibrin shakllanishi) o'rganishda esa – trombin vaqti (TV) testidan foydalaniladi. Masalan, QFTV va TV qiymati nazorat guruhi qiymatiga yaqin bo'lishi, biroq PV qiymati sezilarli darajada

uzayishi FX–FV–FII–fibrinogen–fibrin raektsiyalar kaskadi aktivatsiyasi me’yorida funktsiya bajarishi, FVII disfunktsiyasini ifodalaydi [Dobrovolskiy va Titaeva, 2009; Galstyan va Suxanova, 2013]. Shuningdek, PV va TV qiymati nazorat guruhiga yaqin bo’lishi, biroq QFTV qiymati ortishi koagulyatsiyaning «*ichki*» mexanizmida FXII, FXI, FIX, FVIII disfunktsiyasini ifodalaydi. Bunda fiziologik sharoitda odam organizmida gemostaz tizimida FXII disfunktsiyasi klinik simptomlarsiz amalga oshadi, FXI disfunktsiyasi esa, nisbatan yaqqol ifodalanishi aniqlangan (S gemofiliya). FIXG’FVIII disfunktsiyasi V gemofiliyaG’S gemofiliya, shuningdek FVIII disfunktsiyasi Villebrand kasalligi patogenezida kuzatiladi [Dobrovolskiy va Titaeva, 2009; Galstyan va Suxanova, 2013]. TV qiymatining uzayishi fibrinogen defitsitiG’fibrinning polimerizatsiya reaktiyasi blokadasi bilan bog’liq hisoblanadi [Galstyan va Suxanova, 2013]. Geparin ta’sirida QFTV va TV qiymati uzayishi, varfarin ta’sirida asosan, PV qiymati ortishi qayd qilinadi [Galstyan va Suxanova, 2013].

### **3.5. CTs-GSC-72 birikmasining trombositlarning ADF bilan indutsirlangan agregatsiyasiga ta’siri**

Ma’lumki, trombositlar agregatsiyasining induktorlari (ADF, trombin, serotonin, trombositlarning aktivatsiya omillari tromboksan  $A_2$  hosil qilish yo’li bilan tsitoplazmadagi  $Ca^{2Q}$  miqdorini oshirib, trombositlarni faollashtirish xususiyatiga egadir. Xususan, ADF trombositlar agregatsiyasini chaqirish va erkin  $Ca^{2Q}$  miqdorini oshirish xususiyatiga ega bo’lgan trombositlarning o’ziga xos aktivatorlaridan biri hisoblanadi. Ma’lumki, kaltsiy ionlari qonning turli shakliy elementlarining funktsional holatini ushlab turishda muhim rol o’ynaydi. Xususan, kaltsiy ionlarining trombositlarning funktsional faolligidagi roli ko’rsatib berilgan.

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

Biz ishimizda CTs-GSC-72 birikmasini trombositlarning ADF bilan induksiyalangan agregatsiyasiga ta'sirini o'rgandik.

Olingan natijalar CTs-GSC-72 birikmasi ADF bilan induksiyalangan trombositlarning agregatsiyasini bloklashi aniqlandi. CTs-GSC-72 birikmasi agregatsiyani 25 mkM konsentratsiyada 30%, 50 mkM da – 46% va 100 mkM da- 80% ga ingibirlashi kuzatildi. Trombositlarni avvaldan  $Ca^{2+}$ -kanallarining blokatori - nifedipin bilan inkubatsiyalaganimizda trombositlarning CTs-GSC-72 birikmasi bilan induksiyalangan agregatsiyasi to'xtadi. O'rganilgan CTs-GSC-72 birikmasi ko'proq trombositlar membranasiidagi glikoprotein retseptorlarining faolligiga hujayra ichidagi depolardan kaltsiy ionlarini mobilizatsiyalanishi hisobiga ta'sir qiladi deb xulosa chiqarish imkonini beradi.

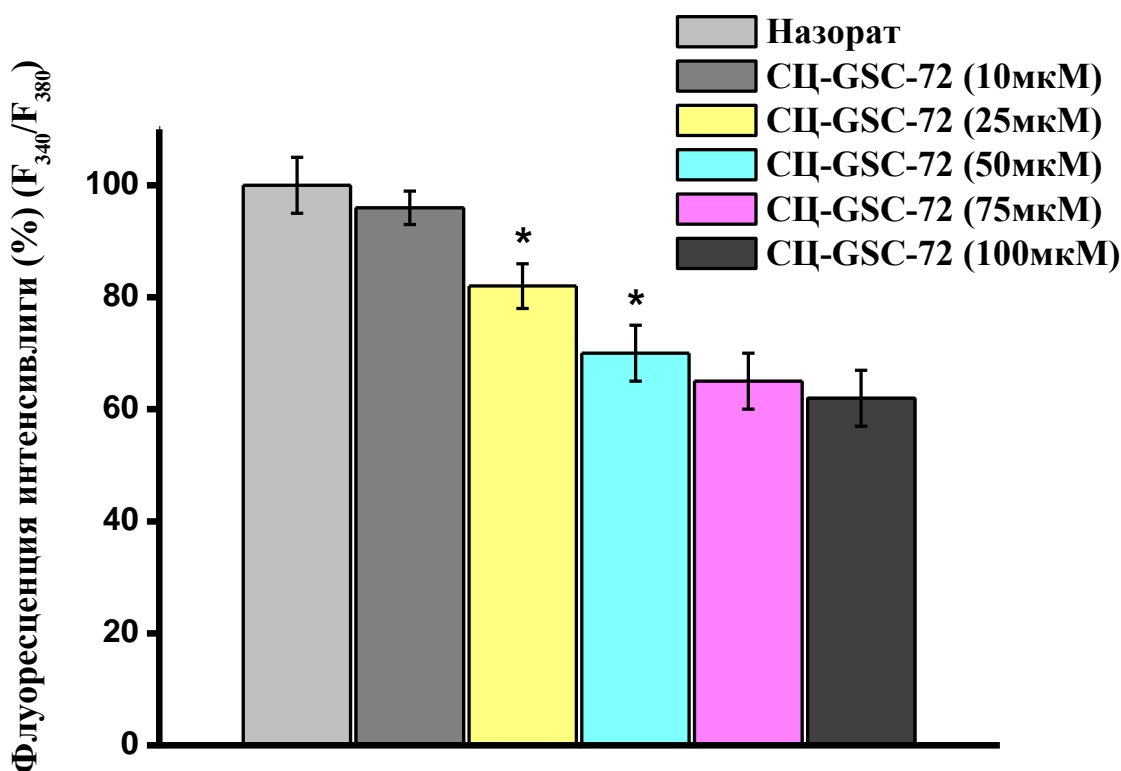
### **3.6. CTs-GSC-72 birikmasining trombositlardagi kaltsiy transportiga ta'siri**

Biz o'rgangan CTs-GSC-72 birikmasini ta'sir mexanizmini ochish uchun ularning membrana bilan bog'langan  $Ca^{2+}$  va tsitozoldagi  $Ca^{2+}$  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.

### **3.6. CTs-GSC-72 birikmasining trombosit xujayra membranasi bilan bog'langan $Ca^{2+}$ miqdoriga ta'siri.**

Bunda CTs-GSC-72 birikmasining turli konsentratsiyalarda kalamush qoni trombosit xujayralarida Xlortetratsiklin (XTTs) fluorestsentsiya zondi yordamida  $Ca^{2+}$  o'zgarishiga ta'sirini o'rgandik. XTTs zondi yordamida hujayra membranasi bilan bog'langan  $Ca^{2+}$  miqdori aniqlanadi,  $Ca^{2+}$  darajasi o'zgarganda (kamayganda yoki ortganda) XTTs fluorestsentsiya intensivligi ham shunga mos holatda xarakatlanadi. Fluorestsentsiya intensivligini o'zgarishi kaltsiy miqdorining o'zgarishi bilan barobar kechadi.

CTs-GSC-72 birikmasini hujayra ichki  $Sa^{2Q}$  miqdorini taqsimlanishiga ta'sirini o'rganganimizda ushbu birikma 10-100 mkG/ml konsentratsiyalarda XTTs fluorestsentsiya intensivligini konsentratsiyaga bog'liq holda kamaytirishi kuzatildi. (6.rasm.). Demak, fluorestsentsiyani ko'rsatgichini pasayishi membranaviy strukturalar bilan bog'langan  $Sa^{2Q}$  miqdorini pasaytirishiga olib keladi va shu bilan birga xujayra ichki  $Sa^{2Q}$  miqdorini oshishiga olib keladi.



**6-rasm. Trombotsit xujayra membranasini  $Sa^{2Q}$  transportiga CTs-GSC-72 birikmasini 10-100 mkM konsentratsiyalarda ta'siri.** Natijalar nazoratga nisbatan % larda berilgan. Ishonchlilik darajasi.\*-  $R < 0,05$ ; \*\*-  $R < 0,01$ ; \*\*\*-  $R < 0,001$ .

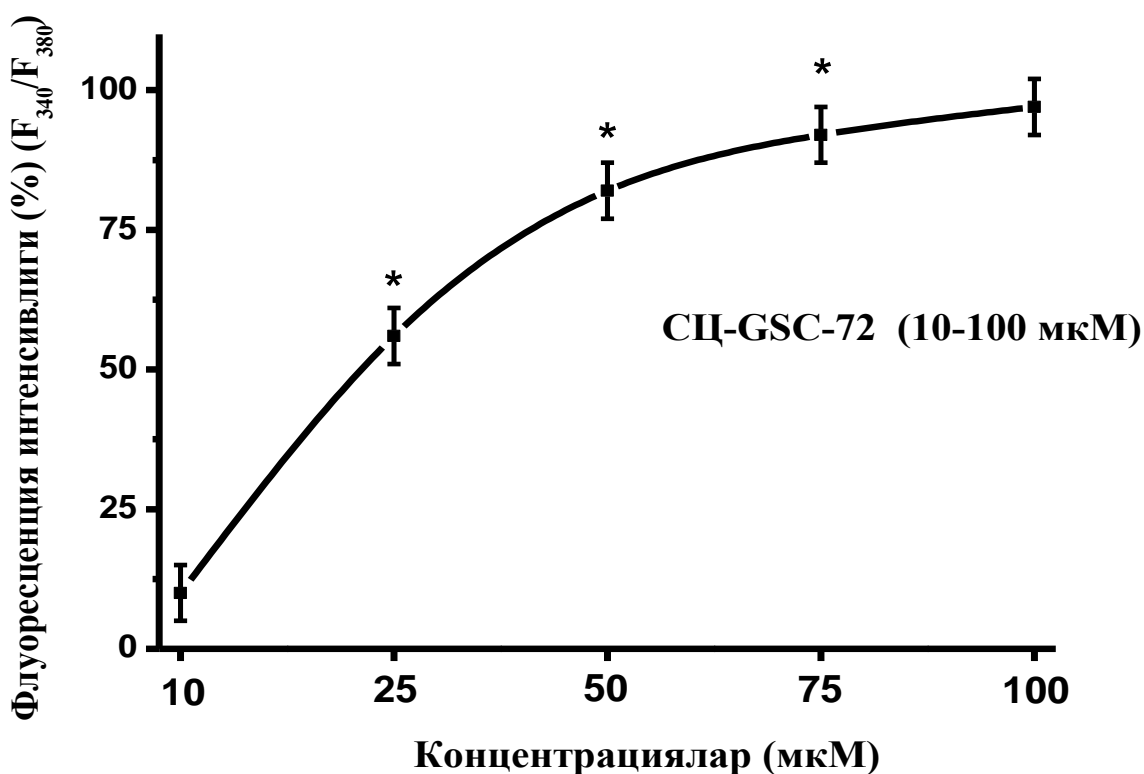
CTs-GSC-72 birikmasining membrana bilan bog'langan  $Sa^{2Q}$  ni taqsimlanishiga ta'sirini o'rganganimizda, u XTTsning fluorestsentsiya intensivligini nazoratga nisbatan konsentratsiyaga bog'liq ravishda 20-40% ga kamayganligi aniqlandi. Agar XTTs membranaviy strukturalar bilan bog'langan

Sa<sup>2Q</sup> bilan o'zaro ta'sirlashishini hisobga oladigan bo'lsak, biz kuzatgan XTTs fluorestsensiyasining pasayishi membranaviy strukturalar bilan bog'langan Sa<sup>2Q</sup> miqdorini kamayishini ko'rsatadi. Demak, CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirida trombotsitlardagi membrana bilan bog'langan Sa<sup>2Q</sup> miqdori kamayadi.

### 3.7. CTs-GSC-72 birikmasining trombotsit xujayrasining tsitozoldagi [Sa<sup>2Q</sup>]<sub>in</sub> miqdoriga ta'siri.

Yuqoridagi o'tkazilgan tajribalarimizdan so'ng biz CTs-GSC-72 birikmasining tsitozoldagi [Sa<sup>2Q</sup>]<sub>in</sub> miqdoriga ta'sirini Fura-2AM fluorestsent zondi yordamida ta'sirini o'rganish ishlarini olib borildi.

Biz bu tajribalarimizda CTs-GSC-72 birikmasining turli konsentratsiyalari ta'sirida [Sa<sup>2Q</sup>]<sub>in</sub> o'zgarishini ko'rdik.



7-rasm. CTs-GSC-72 birikmasining trombotsit xujayrasining tsitozoldagi [Sa<sup>2Q</sup>]<sub>in</sub> miqdoriga ta'siri. Ishonchlilik darajasi.\*- R<0,05; \*\*- R<0,01; \*\*\*- R<0,001.

CTs-GSC-72 birikmasining 10-100 mkM konsentratsiyada oshirib borganimiz sari fluorestsentsiya intensivligi ham oshib bordi (10-50%). Bundan hujayra ichidagi kaltsiy miqdori CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirida 110 nM dan 120-170 nM gacha oshib borganligi ko'rinadi. Eng yuqori ko'rsatkich CTs-GSC-72 birikmasining 100 mkM konsentratsiyadagi ta'sirida kuzatildi, shundan so'ng fluorestsentsiya intensivligi o'zgarmadi (7.rasm).

Ushbu foydalanilgan CTs-GSC-72 birikmasi bir qator qiziqishlarni keltirib chiqaradi va antikoagulyant xossasiga ega ekanligi katta ahamiyat kasb etadi. CTs-GSC-72 birikmasining ta'sirini fizik kimyoviy xususiyatlarini va mexanizmlarini kelajakda batafsil o'rganishnilishi natijasida yangi samarali antikoagulyant preparat sifatida foydalanish imkonini beradi.

### III – bob bo'yicha xulosalar

Amalga oshirilgan ilmiy tadqiqotlarimizdan quyidagi xulosalarga keldik: CTs-GSC-72 birikmasi QFTV, texplastin, faollashgan plazma rekaltsifikatsiya-testlarida plazmaning ivish vaqtini uzaytirib, gemostaz sistemasiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi. Bu natijalar CTs-GSC-72 birikmasi 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.

Shu bilan birga CTs-GSC-72 birikmasining konsentratsiyaga bog'liq xolda trombin vaqtini uzaytirishi, XII, XI, IX, VIII omillaridan birining ingibirlanishi xisobiga fibrin laxtasi xosil bo'lishini susayishiga olib keladi deb xulosa chiqarish mumkin.

O'rganilgan CTs-GSC-72 birikmasi ko'proq trombositlar membranasiidagi glikoprotein retseptorlarining faolligiga hujayra ichidagi depolardan kaltsiy ionlarini mobilizatsiyalanishi hisobiga ta'sir qiladi deb xulosa chiqarish imkonini beradi.

CTs-GSC-72 birikmasi ta'sirida trombositlardagi membrana bilan bog'langan  $Sa^{2Q}$  miqdori kamayadi. Buning sababi uning plazmatik membranadagi Sa-kanallari transportini blok qilishi bilan bog'liqligidir.

CTs-GSC-72 birikmasining tsitozoldagi  $Sa^{2Q}$  miqdorini oshirishi plazmatik membranalaridagi  $Sa^{2Q}$ -kanallarini faollashtirishi natijasida uning trombositlarga  $Sa^{2Q}$  kirishini indutsirlash xususiyatiga ega ekanligini ko'rsatadi. CTs-GSC-72 birikmasi plazmatik membranalaridagi  $Sa^{2Q}$ -kanallarini faollashtiradi, deyish mumkin.

Olib borilgan ishlar natijasi o'rganilayotgan CTs-GSC-72 birikmasining gemostaz tizimini boshqarishda muxim ahamiyatga ega ekanligi va kelgusida istiqbolli antikoagulyant xossasiga ega preparat yaratish uchun asos bo'lishi mumkin.

### XULOSALAR



Yuqoridagi bajarilgan ilmiy amaliy ishlar natijasida CTs-GSC-72 birikmasining gemostazga ta'sirini o'rgandik.

Ish natijasida quyidagi xulosalarga keldik:

1. CTs-GSC-72 birikmasi QFTV, texplastin, faollashgan plazma rekalsifikatsiya-testlari yordamida qon ivishining ham tashqi, ham ichki yo'llariga ta'sir qilishi aniqlandi, bunda u ichki yo'lning XII, XI, IX, VIII omillaridan birini, hamda tashqi yo'lning V va II omillarini ingibirlaydi.

2. CTs-GSC-72 birikmasi trombin vaqtini aniqlash orqali XII, XI, IX, VIII omillaridan birining bloklanishi aniqlandi.

3. CTs-GSC-72 birikmasi trombositlardagi membranasiga bog'liq  $Sa^{2Q}$  miqdori kamaytirishi uning plazmatik membranadagi Sa-kanallari transportini blok qilishi bilan bog'liqligi aniqlandi.

4. CTs-GSC-72 birikmasining  $[Sa^{2Q}]_{in}$  miqdorini oshirish xususiyati plazmatik membranalardagi  $Sa^{2Q}$ -kanallarini faollashtirishi orqali amalga oshadi.

## FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR RO'YXATI

1. Barkagan Z.S., Momot A.P. Osnovo' laboratornoy diagnostiki narusheniy gemostaza G'G' Metod. rekomend. – Moskva, NyuDiamed, 1999. – S. 127 s.
2. Berkovskiy A.L., Vasilev S.A., Jerdeva L.V. Posobie po vzucheniyu adgezivno-agregatsionnoy aktivnosti trombotsitov.G'. i dr. M., 2002, 28 s.
3. Bo'kovskiy V.A., Nikolaeva H.H., Segal P.JI. Antikoagulyantno'e rodentitsido' i gro'zuno'-komensalo'.-Agroximiya. 1990, №6, s.104-123.
4. Voznesenskaya, V. V., Lebedev, V. S., Parfenova, V. M., Ro'lnikov, V. A., Savinetskaya, L. E. O nekotoro'x svoystvax vo'sshey nervnoy deyatel'nosti sero'x kro's, selektsinirovanno'x na izbeganie otravlenno'x primanok G'G' V kN.: «Sinantropiya gro'zunov i ogranichenie ix chislennosti». - M. - 1992. - s 202-211.
5. Galstyan G.M., Suxanova G.A. Vvedenie v gemostaz, sovremenno'e preparato' krovi i ix vliyanie na koagulyatsiyu. Meditsinskiy sovet. 2013;5-6:11-16.
6. Dobrovolskiy A.B., Titaeva E.V. Koagulogicheskie faktoro' riska trombozov i laboratorno'y kontrol antikoagulyantnoy terapii. Aterotromboz, 2009, 2, 1, 2-14.
7. Zotova I.V., Zateynikov D.A., Sidorenko B.A. Sintez oksida azota i razvitie ateroskleroza G'G' Kardiologiya. – 2005. №4. - S.58-67.
8. Ivkin D.Yu., Buryakina A.V., Stepanova I.L., Ivkina A.S. Primenenie varfarina v kachestve preparata sravneniya v opo'tax na kro'sax. Obzoro' po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii. 2013;11(1):46-49.
9. Kamburova V.S., Djoldasova K.B., Esimbetov A.T. Vliyanie biologicheski aktivno'x soedineniy na sokraheniya gladkomo'shechno'x kletok aorto' kro'so'. G'G' "Fiziologiya va biofizikaning zamonaviy muammolari" respublika ilmiy anjumani. Toshkent. 2007, 52-b.

10. Kasheverov I.E., Tsetlin V.I.  $\alpha$ -konoktoksino' v issledovanii strukturo' i funktsiy nikotinovo'x retseptorov G'G' Uspexi biologicheskoy ximii. – 2009. t. 49. S. 235 - 237
11. Klementeva S. A. Dissertatsiya na temu «Retsepturo' ratitsidno'x primanok na osnove antikoagulyantov s primeneniem sinergista». 2006.169.
12. Sukocheva O.A. Gormonalnaya regulyatsiya kaltsievogo gomeostaza i energeticheskogo metabolizma timotsitov kro's G'G' Diss. kand. biol. nauk. Tashkent. 1996. s. 148.
13. Smirnova V.M Fiziologiya cheloveka. Uchebnik. G' M.: Meditsina, 2002.
14. Bindokas V.P. & Adams M.E. A presynaptic calcium channel antagonist from venom of the funnel web spider, *Agelenopsis aperta*. G'G' Neurobiol. – 1989. - 20 – R. 171-188.
15. Boyle EM, Verrier ED, Spiess BD. Endothelial cell injury in. G'G' Ann Thorac Surg. – 1996. – 62. – R. 1549-1557.
16. Broze GJ: The role of tissue factor pathway inhibitor in a revised coagulation cascade. Blood 29:159, 1992
17. Cromer, B. A. & McIntyre, P. Painful Toxins acting at TRPV1. Toxicon – 2008. – 51. – R. 163-173.
18. Davie E.W. and Ratnoff O.D. 1964 Science. 145.1310
19. Devaraja, S., Nagaraju, S., Mahadeswaraswamy, Y.H., Girish, K.S., Kemparaju, K. A low molecular weight serine protease: Purification and characterization from. G'G' Toxicon. – 2008. – 52. – R.734-741
20. 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.
21. 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. G'G' Thromb Haemost. – 1999. - 82(2). – R. 251-258.

22. Giron ME, Salazar AM, Aguilar I, Perez JC, Sanchez EE, Arocha-Pinango CL, Rodriguez-Acosta A, Guerrero B. Hemorrhagic, 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;
23. Gukovskaya A.S., Zinchenko V.P. Mechanisms of receptor-mediated generation of ionic signals in rat thymocytes and Ehrlich ascites tumor cells. *G'G' Sov. Sci. Rev., D. Phys. Chem. Biol.* (Harvard Academic Publishers). 1990. V. 10. P.1-98.
24. Huang, P.T., Shiau, Y.S., Lou, K.L. Intracellular regions of potassium channels: Kv2.1 and heag. *G'G' Eur Biophys, Toxicon.* - 2007.- 49. – R. 285–292.
25. Koshelnick Y., Ehart M., Stockinger H., Binder B. Mechanisms of signaling through urokinase receptor and the cellular response. *G'G' Thromb.* – 1999. *Thromb. Haemost.*, 82, 305-311.
26. Luscher T.F. Endothelium–derived vasoactive factors and regulation of vascular tone in human blood vessels. *G'G' Lung.* - 1990. – 168. - R. 27–34.
27. Lytton J., Westlin M., Hanley M.R. (1991). Thapsigargin inhibits the sarcoplasmic or endoplasmic reticulum CaATPase family of calcium pumps. *G'G' Biol. Chem.* – 266. – R. 17067-17071.
28. Siigur J, Aaspollu A, Tonismagi K, Trummal K, Samel M., Proteases from *Vipera lebetina* venom affecting coagulation and fibrinolysis. *Haemostasis.* 2001 May-Dec; 31(3-6): 123-32.
29. Sims, P. J. and Wiedmer, T. (2001). Unraveling the mysteries of phospholipid scrambling. *Thromb. Haemost.* 86, 266-275.
30. Swartz K.J. Tarantula toxins interacting with voltage sensors in potassium channels. *G'G' Toxicon.* -2007. – 49. – R. 213-230.
31. Vanschoonbeek K, de Maat MPM, Heemskerk JWM, 2003. Fish Oil Consumption and Reduction of Arterial Disease. *J. Nutr.* 133:657-660.

32. Warken TE, Kelton J: The platelet life cycle: Quantitative disorders in blood, in *Blood: Principles and Practice of Hematology*, RI Handin et al. (eds). Philadelphia, Lippincott, 1994, pp 973-1049.
33. Vityazcv FV. Synthesis of sulfated pectins and their anticoagulant activity [Text] G' FV Vityazev, VV Golovchenko, OA Patova G'G' *Biochemistry (Mose)*. - 2010. -75(6). -P.759-768.
34. Vo T. Current state of anticoagulants to treat deep venous thrombosis [Text] G' T. Vo, S. Vazquez, M.T. Rondina G'G' *Curr Cardiol Rep*. - 2014. - 16(3). - P.463.
35. Scaglione F. New oral anticoagulants: comparative pharmacology with vitamin K antagonists [Text] G' F. Scaglione G'G' *Clin Pharmacokinet*. - 2013. - 52(2). - P.69-82.
36. Schouten M. Recombinant activated protein C attenuates coagulopathy and inflammation when administered early in murine pneumococcal pneumonia [Text]
37. M.Schouten, C. van't Veer, J. Roelofs et al. G'G' *Thromb Haemost*. - 2011. - 106(6). -P.1 189-1196.
38. Segal J.B. Management of venous thromboembolism: a systematic review for a practice guideline [Text] G' J.B.Segal, M.B.Streiff, L.V. Hofmann et al. G'G' *Ann Intern Med*. - 2007.- V.146, N3.- P.211-222.
39. Shaker A. M. Heparin, Low Molecular Weight Heparin, and Derivatives in Thrombosis, Angiogenesis, and Inflammation: Emerging Links [Text] G' Shaker A. Mousa G'G' *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*. - 2007. - 33(5). - P. 524-533.
40. Shorr A. Impact of stage 3B chronic kidney disease on thrombosis and bleeding outcomes after orthopedic surgery in patients treated with desirudin or enoxaparin: insights from a randomized trial [Text] G' A.Shorr, B.Eriksson, A.Jaffer, J.Smith G'G' *J Thromb Haemost*. -2012.- 10(8). - P. 1515-1520.

41. Sie P. Neutralization of Dermatan Sulfate in Vitro and in Vivo by Protamine Sulfate and Polybrene [Text] G' P. Sie, , B.Cremers, D.Dupouy, et al. G'G' Thromb. Res. -1989.-54(1).-P.63-74.
42. Silva TH. Marine algae sulfated polysaccharides for tissue engineering and drug delivery approach [Text] G' TH Silva, A Alves, EG Popa, et al. G'G' Biomater. - 2012. -2(4). - P.278-289.
43. Sokolova E. Influence of red algal sulfated polysaccharides on blood coagulation and platelets activation in vitro [Text] G' EV Sokolova, AO Byankina, AA Kalitnik, YH Kim, et al. G'G' J Biomed Mater Res A. - 2014. - 102(5). - P. 1431-1438
44. Charles T. Eason 2. Anticoagulant poisons G'G' Vertebrate pesticide toxicology manual (poisons). — New Zealand Department of Conservation, 2001. — P. 41–74. — ISBN 0-478-22035-9.]
45. <http://G'G'www.ru.wikipedia.org>
46. <http://G'G'www.medical.ru>
47. <http://G'G'www.chem.msu.suG'rusG'teachingG'kolmanG'100.htm>
48. <http://G'G'www.medi.ruG'docG'a798609.htm>