

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ

ЧОРИЕВА НАРГИЗА МАМАРАЖАБОВНА

**ЭРИТРОЦИТ ВА ЛИМФОЦИТЛАРДАГИ МЕМБРАНА
ЖАРАЁНЛАРИНИНГ ГОССИПОЛ ВА УНИНГ ҲОСИЛАЛАРИ
ТАЪСИРИДАГИ МОДУЛЯЦИЯСИ**

03.00.02 – Биофизика ва радиобиология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент - 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси автореферати мундарижаси

Оглавление автореферата диссертации доктора философии(PhD)

Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD)

Чориева Наргиза Мамаражабовна

Эритроцит ва лимфоцитлардаги мембрана жараёнларининг госсипол ва унинг ҳосилалари таъсиридаги модуляцияси.....3

Чориева Наргиза Мамаражабовна

Модуляция мембранных процессов в эритроцитах и лимфоцитах госсиполом и его производными.....21

Choriyeva Nargiza Mamarajabovna

Modulation of the membrane processes in erythrocytes and lymphocytes by gossypol and its derivatives.....39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ

List of published works.....43

**ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ БИОФИЗИКА ВА
БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР
БЕРУВЧИ DSc.03/30.12.2019.B.01.13РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИОФИЗИКА ВА БИОКИМЁ ИНСТИТУТИ

ЧОРИЕВА НАРГИЗА МАМАРАЖАБОВНА

**ЭРИТРОЦИТ ВА ЛИМФОЦИТЛАРДАГИ МЕМБРАНА
ЖАРАЁНЛАРИНИНГ ГОССИПОЛ ВА УНИНГ ҲОСИЛАЛАРИ
ТАЪСИРИДАГИ МОДУЛЯЦИЯСИ**

03.00.02 – Биофизика ва радиобиология

**БИОЛОГИЯ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PHD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2021

Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2020.4.PhD/B86 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация иши Ўзбекистон Миллий университетида бажарилган.

Диссертация автореферати уч тилда (ўзбек, рус ва инглиз (резюме)) Илмий кенгашнинг веб-саҳифасида (www.ibb-nuu.uz) ва «ZiyoNet» Ахборот-таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Сабиров Равшан Заирович
биология фанлари доктори, академик

Расмий оппонентлар:

Хушматов Шунқор Садуллаевич
биология фанлари доктори

Ташмухамедова Шохиста Собировна
биология фанлари доктори, профессор

Етакчи ташкилот:

Андижон давлат университети

Диссертация ҳимояси Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти ҳузуридаги илмий даражалар берувчи DSc.03/30.12.2019.B.01.13 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «___» _____ соат _____ даги мажлисида бўлиб ўтади (Манзил:100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246–68–96).

Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университети Биофизика ва биокимё институти Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (№___ рақами билан рўйхатга олинган). Манзил: 100174, Тошкент шаҳри, Олмазор тумани, Талабалар шаҳарчаси, Университет кўчаси, 174-уй. Тел.: (99871) 246-68-96, e-mail: ibb-nuu@mail.ru; mamurjon2281@mail.ru.

Диссертация автореферати 2021 йил «___» _____ куни тарқатилди.
(2021 йил «___» _____ даги №_____ рақамли реестр баённомаси).

Асраров Музаффар Исламович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
раиси в.б., б.ф.д., профессор

Позиллов Маъмуржон Комилжонович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, б.ф.д.

Ахмеджанов Искандар Гулямович
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
қошидаги илмий семинар раиси, б.ф.д., профессор

КИРИШ (Фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурати. Ҳозирги вақтда турли сабабларга кўра келиб чиққан гемоглобин камайиши (анемия) дунё миқёсида энг долзарб тиббий муаммолардан бири ҳисобланади. Анемия патогенезининг асосий механизмларидан бири – эритроцит мембранаси бузилиши ва мембрананинг транспорт функцияси издан чиқиши билан боғлиқ хужайра беъқарорлиги таъкидланади. Одатда анемия барча тўқима хужайралари ҳажми ўзгаришларига, стероидлар синтези, ДНК синтези, хужайраларнинг кўпайиши ва кўплаб метаболик жараёнларнинг бузилишига олиб келади. Маҳаллий ўсимлик хомашёси асосида эритроцитлар хужайрасини барқарорлаштирувчи ва шу билан бирга кам токсик, самарали таъсир этувчи фармакологик препаратлар ишлаб чиқарилиш амалий фармацевтика ва фармакология соҳасининг энг долзарб муаммоларидан биридир. Ушбу нуқтаи назардан эритроцитлар мембранасининг структура ва функциясига биологик фаол моддаларнинг таъсир механизмларини аниқлаш илмий ва амалий аҳамият касб этади.

Дунёнинг етакчи илмий-тадқиқот марказларида эритроцитлар мембранасига кам токсик таъсир этувчи дори воситаларнинг янги авлодини яратишга қаратилган тадқиқотлар кенг миқёсида олиб борилмоқда. Госсипол ва уни ҳосилаларининг ўсмага қарши, вирусларга қарши, яллиғланишга қарши, айрим ферментлар фаоллигига қарши таъсир хусусияти билан бир қаторда юрак-қон томир тизимига салбий таъсири ҳам аниқланган. Эришилган натижаларга қарамадан ҳозирги кундаги тадқиқотларда госсипол ва унинг ҳосилаларини эритроцит ва лимфоцит хужайралари плазматик мембрана фаоллигига ҳамда ҳажм бошқарилиш тизимидаги анион каналларига таъсир механизмларини ёритиб бериш тақозо этилади.

Республикамизда ҳам бугунги кунда маҳаллий ўсимликлардан ажратилган табиий ва синтетик биологик фаол моддаларнинг хужайра ҳажм бошқарилиши тизимига таъсир механизмларини аниқлаш бўйича кенг кўламли фундаментал ва амалий изланишлар олиб борилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегиясининг ижтимоий соҳани ривожлантиришнинг тўртинчи устувор йўналишида «фармацевтика саноатини янада ривожлантириш, аҳоли ва тиббиёт муассасаларининг арзон, сифатли дори воситалари ва тиббиёт буюмлари билан таъминланишини яхшилаш...»¹ каби муҳим вазифалар белгиланган. Ушбу вазифадан келиб чиққан ҳолда Ўзбекистонда ўсадиган ўсимликлардан ажратиб олинган моддалар орасидан биологик фаол бирикмаларнинг хужайра ҳажми бошқарилиши тизимига таъсир механизмларини аниқлаш ва улар асосида фармакологик препаратларни яратиш муҳим аҳамият касб этади.

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги ПФ-4947-сонли фармони

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310-сон «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва илм-фан тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарори ва 2020 йил 12 августдаги ПҚ-4805-сон «Кимё ва биология йўналишларида узлуксиз таълим сифатини ва илм-фан натижадорлигини ошириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VI. «Тиббиёт ва фармакология» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Ҳозирда дунёнинг йирик илмий тадқиқот марказларининг олимлари томонидан госсипол юқори концентрацияда эритроцитлар мембранаси физик хоссаларини ўзгартириши ва гемолитик анемияга олиб келиши мумкинлиги қайд қилинган, ҳамда эритроцитлар мембранаси билан боғланиш натижасида мембрана физик-кимёвий хоссалари ўзгариши борасида кўплаб изланишлар олиб борилмоқда (Zbidah et al., 2012). Ўсимликлардан ажратиб олинган бошқа полифенол бирикмалар эритроцитлар мембранаси билан боғланиш хусусиятлари ҳамда мембрананинг физик хоссаларига таъсири аниқланган (Cyboran et al., 2012; Meczarska et al., 2017). Госсиполнинг ҳужайраларга ташқи Ca^{2+} киришини фаоллаштириши аниқланган (Jan et al., 2000; Qiu et al., 2002).

МДХ давлатларида қизил қон ҳужайралари мембранасининг тузилиши ҳамда мембрана орқали моддаларнинг ташилиши диффузия ва транспортёр оксил молекулалари орқали таъминланиши аниқланган (Головецкий, 2007; Мороз и др., 2012). Эритроцитда АТФ анаэроб гликолиз жараёнида синтезланиб, мембрана деформацияси ва ўтказувчанлигидаги аҳамияти очиб берилган (Викулов ва бошқ., 2001; Зинчук, 2001).

Республикаemiz миқёсида госсипол ва унинг ҳосилаларидан – мегосин каламушлар тимоцит ҳужайраларида митохондрия ва саркоплазматик ретикулум даражасида Ca^{2+} транспортини кальмодулинга боғлиқ модуляциялаши аниқланган (Гордиенко ва бошқ., 2000). Госсипол ва унинг ҳосилалари вирусларга қарши фаоллиги, интерферон синтезини индукциялаши ва иммуномодулятор сифатида таъсир кўрсатиши яхши таърифланган (Барам ва Исмаилов, 1994). Госсипол ҳосилалари – мегосин ва рометаннинг мембранотроп хоссалари, жумладан саркоплазматик ретикулум Ca^{2+} -АТФазаси билан боғланиш ҳосил қилиши ҳамда антиоксидант, шунингдек *in vitro* шароитида митохондрияда оксидланишли фосфорланиш жараёнини барқарорлаштирувчи таъсирга эга эканлиги қайд қилинган (Iopov et al., 2012). Бироқ, госсипол ва уни ҳосилаларининг изоосмотик, гипоосмотик стресс ва коллоид-осмотик лизис шароитларида одам эритроцитларидан гемоглобин чиқишига ҳамда тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасига, шунингдек ҳажмга боғлиқ анион транспортига

таъсир механизмлари ўрганилмаган ва бу йўналишда илмий тадқиқотларни амалга ошириш долзарб илмий-амалий аҳамиятга эга.

Диссертация тадқиқотининг диссертация бажарилган илмий-тадқиқот муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти ЎЗМУ ҳузуридаги Биофизика ва биокимё институти илмий-тадқиқот ишлари режасининг ФА-А11-Т060 «Истикболли иммуномодулятор ва саратонга қарши препаратлар сифатида хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ анион каналларининг янги модуляторларини аниқлаш» (2015-2017), ПЗ-2017-0920-49 «Маҳаллий хомашё асосида хужайра ҳажм бошқарилиши ва ҳажмга боғлиқ мембрана транспорти модуляторлари бўлган янги перспектив субстанцияларни тадқиқи» (2018-2020) ҳамда ФА-Ф5-014 «Ҳажмга боғлиқ анион каналларининг биофизикавий фенотиби ва хужайра ҳажм бошқарилиш механизмидаги функцияларини ўрганиш» (2017-2020) мавзуларидаги илмий лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқотнинг мақсади госсипол ва унинг ҳосилалари таъсирида эритроцит ва лимфоцит мембраналарида кечувчи хужайра ҳажми бошқарилишига боғлиқ жараёнларга таъсирини аниқлаш ва механизмини ёритишдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

госсипол ва унинг ҳосилаларининг (рагосин, мегосин, готизол ва батриден) эритроцит хужайраларига изоосмотик шароитда таъсирини аниқлаш;

госсипол ва унинг ҳосилаларининг эритроцит хужайраларини осмотик стрессга нисбатан чидамлилигига таъсирини аниқлаш;

госсипол ва унинг ҳосилаларининг нистатин чақирган коллоид-осмотик лизис шароитида эритроцит хужайраларига таъсирини аниқлаш;

госсипол ва унинг ҳосилаларининг коллоид-осмотик бўлмаган эсцилли лизис жараёнига таъсирини аниқлаш;

госсипол ва унинг ҳосилаларининг гипоосмотик стресс шароитидаги тимоцит хужайралари ҳажми бошқарилишига таъсирини аниқлаш ва унинг механизмини ёритиш;

Тадқиқотнинг объекти сифатида одам қизил қон хужайралари, ёш каламушлардан ажратилган тимоцит хужайралари, гўза (*Gossipium L.*) ўсимлиги чигитидан ажратиб олинган госсипол ва унинг ҳосилалари (рагосин, мегосин, готизол ва батриден) олинди.

Тадқиқотнинг предмети госсипол ва унинг ҳосилаларининг (рагосин, мегосин, готизол ва батриден) одам қизил қон хужайралари осмотик ва коллоид-осмотик стрессга нисбатан чидамлилигига ва тимоцит хужайраларининг гипоосмотик стресс шароитидаги ҳажм бошқарилишига таъсирини тадқиқ қилишдан иборат.

Тадқиқотнинг усуллари. Тажрибаларда замонавий биофизика, биокимё ва хужайра биологияси усулларида фойдаланилди. Қизил қон хужайралари ва каламуш тимоцитлари стандарт методлар ёрдамида

ажратилди, гемолиз миқдори қизил қон ҳужайраларидан гемоглобиннинг чиқиши бўйича ўлчанди, тимоцитлар ҳужайра ҳажми суспензиянинг ёруғлик ўтказувчанлигини регистрацияси усули бўйича аниқланди; натижаларни математик ва статистик таҳлил қилиш учун Origin 5 ва 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, США) компьютер дастурларидан фойдаланилди.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

госсипол изоосмотик шароитда одам эритроцитларини коллоид-осмотик бўлмаган ва анион транспортга боғлиқ эмас механизм билан парчалаши, гемолитик фаоллик батриден ва мегосинда 1,5-2 баробар ошганлиги, готизол ва рагосинда эса кескин (10-30 баробар) пасайгани аниқланган;

сублитик дозаларда госсипол ва унинг ҳосилалари осмотик стресс шароитида одам эритроцитларини ҳимояловчи таъсири аниқланган ва бу хусусият мегосинда энг кучли, батриденда эса энг паст эканлиги исботланган;

госсипол сублитик микромоляр дозаларда одам эритроцитларининг коллоид-осмотик стрессга нисбатан сезгирлигини кучайтириши, ҳосилаларда эса бу хусусият йўқолиб, улар қизил қон ҳужайраларини нафақат осмотик, балки коллоид-осмотик стресс шароитида ҳам ҳимоялаши исботланган;

госсипол ва унинг ўрганилган барча ҳосилалари кичик микромоляр дозаларда тимоцитлар ҳажм бошқарилиш тизимини кескин фаолсизлантириши аниқланган ва бу хусусият госсиполда энг кучли, рагосинда эса энг паст эканлиги аниқланган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

госсипол ва унинг ҳосилалари орасидан одам қизил қон ҳужайраларини осмотик стресс ва коллоид-осмотик лизис шароитларида ҳимояловчи янги моддалар аниқланган;

госсипол ва унинг ҳосилалари орасидан тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасини ингибирловчи ва келажакда иммунмодулятор сифатида қўлланиши мумкин бўлган янги моддалар аниқланган;

госсипол ва унинг ҳосилалари саратон касаллигида кескин фаоллашувчи ҳажмга боғлиқ анион каналларининг ингибиторлари эканлиги аниқланган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги тадқиқотларда замонавий биофизика, биокимё ва ҳужайра биологияси тадқиқот усулларини қўллаш орқали олинганлиги, натижалар таҳлили замонавий компьютер дастурлари ёрдамида таҳлил қилинганлиги билан тасдиқланади. Олинган натижаларнинг исботи уларнинг халқаро ва республика анжуманлардаги муҳокамаси, илмий натижалар рецензияланган халқаро нашрларда чоп этилиши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти. Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти госсипол ва унинг ҳосилаларининг эритроцитлар ва тимоцитлардаги ҳажм бошқарилиш системасига таъсир механизмларини ёритиш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти, одам қизил қон ҳужайраларини осмотик ва коллоид-осмотик стресс шароитида ҳимоялашда

ва анион каналларига боғлиқ касалликларни олдини олиш ва даволашда госсипол ва унинг ҳосилаларини самарали гемопротектор ҳамда иммуномодулятор туркумига мансуб янги авлод истиқболли дори воситалари сифатида қўллаш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши. Эритроцит ва лимфоцитлардаги мембрана жараёнларини госсипол ва унинг ҳосилалари таъсиридаги модуляцияси бўйича олинган илмий натижалар асосида:

госсипол ва унинг ҳосилаларини эритроцитлардаги осмотик стресс жараёнларига ҳамда тимоцит хужайлари ҳажм бошқарилишига таъсири бўйича олинган натижалардан ПЗ-20171024153 рақамли «Биологик фаол моддаларни скрининг қилиш учун сичқон ингичка ичак раки хужайра култураси асосида тест тизими яратиш» амалий лойиҳасида *Cuscuta evropea* лектинсимон оксилларини эритроцит мембрана жараёнларига таъсирини аниқлашда ҳамда лимфоцитлар ҳажм бошқарилишига таъсири механизмларини ойдинлаштиришда услубий, назарий ва амалий маълумотлар сифатида фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 23 ноябрдаги 4/1255-2593-сон маълумотномаси). Натижада зарпечак ўсимлигидан олинган экстрактнинг мембранафаол хусусиятларини ҳамда хужайра ҳажм бошқарилиш механизмига таъсирини тавсифлаш имконини берган;

госсипол ва унинг ҳосилаларини эритроцитлар лизиси ҳамда гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳажм бошқарилишига таъсири бўйича олинган илмий натижалардан ФА-И11-Т009 сонли «Хламидиозларга қарши – гозалидон ва вирусларга қарши мегосин шамчаларини ишлаб чиқаришни ташкил этиш» лойиҳасида госсипол ҳосилалари – гозалидон ва мегосинларнинг хламидиозларга ва вирусларга қарши таъсир механизмларини ойдинлаштиришда фойдаланилган (Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг 2020 йил 23 ноябрдаги 4/1255-2594-сон маълумотномаси). Натижада госсипол ва унинг ҳосилаларининг биологик мембраналарга таъсирини таққослаш, гозалидон ва мегосинларнинг фаоллик механизмларини тавсифлаш имконини берган.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 2 та халқаро ва 6 та республика илмий-амалий анжуманларида муҳокама қилинган.

Тадқиқот натижаларининг эълон қилинганлиги. Диссертация мавзуси бўйича жами 16 та илмий иш чоп этилган, шулардан Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссиясининг диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этишга тавсия этилган илмий журналларда 8 та мақола, шундан 7 та республика ва 1 та хорижий журналларда нашр этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация таркиби кириш, тўртта боб, якуний қисм, хулосалар, фойдаланилган адабиётлар рўйхатидан иборат. Диссертациянинг ҳажми (мундарижа, қисқартма сўзлар ва фойдаланилган адабиётлар рўйхати билан) 109 бетни ташкил этган.

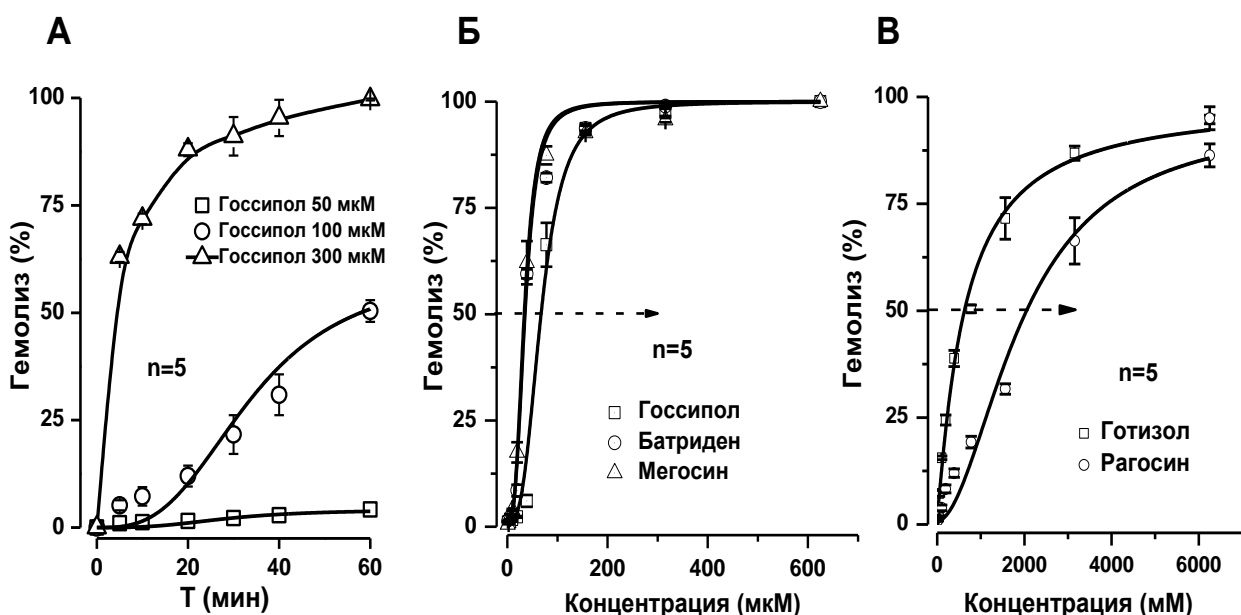
ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида ўтказилган тадқиқотларнинг долзарблиги ва зарурати асосланган, Республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги кўрсатилган, тадқиқотнинг мақсади ва вазифалари, объекти ҳамда предметлари тавсифланган, муаммонинг ўрганилганлик даражаси, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижалари баён қилинган, олинган натижаларнинг ишончлилиги, илмий-амалий аҳамияти очиб берилган, тадқиқот натижаларини амалиётга жорий қилиш, нашр этилган ишлар ва диссертация тузилиши бўйича маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Эритроцит ва лимфоцитлар мембранасининг физик-кимёвий хоссалари ва биологик фаол моддаларнинг модуляциян таъсири**» деб номланган биринчи бобида эритроцит мембранасининг тузилиши ва биологик фаол моддаларнинг таъсири, тимуснинг морфологик тузилиши, нормал ва патофизиологик ҳолатларда ҳужайра ҳажм бошқарилиш системаси, госсипол ва унинг ҳосилаларининг полифункционал фармакологик таъсири тўғрисида маълумотлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Эритроцитлар гемолизи ва тимус ҳужайраларининг функционал параметрларини ўрганиш услублари**» деб номланган иккинчи бобида тадқиқотда фойдаланилган моддалар ва эритмалар тавсифи, эритроцит ҳужайраларини кўнгилли соғлом одам қонидан ажратишнинг стандарт методлари, гемолиз даражасини аниқлаш, каламуш тимус ҳужайралар суспензиясини тайёрлаш услуби, тимоцитлар ҳажм ўзгаришини ёруғлик ўтказиш усули батафсил ёритилган, шунингдек олинган натижаларни математик қайта ишлаш усуллари ва статистик таҳлили келтирилган.

Диссертациянинг «**Госсипол ва унинг ҳосилаларини (рагосин, мегосин, готизол ва батриден) гемолиз жараёнига таъсирини тавсифлаш**» деб номланган учинчи бобида эритроцит ҳужайраларида нормал ва гипоосмотик стрессда госсипол ва унинг ҳосилалари таъсирида содир бўлувчи лизис жараёнининг вақтга, моддалар концентрациясига боғлиқлиги тавсифланган. Дастлаб госсипол таъсирида нормал изоосмотик шароитда эритроцит ҳужайраларидан гемоглобин чиқишини вақтга боғлиқлиги текширилди. Гемолиз жараёни 60 минут давомида госсиполнинг куйи (50 мкМ), ўрта (100 мкМ) ва юқори (300 мкМ) концентрацияларида кузатилди (1-расм, А). Эритроцит ҳужайраларига госсипол ва унинг ҳосилаларидан рагосин, мегосин, готизол ва батриденлар таъсиридаги лизисининг модда концентрациясига боғлиқлигини ўрганилганда, госсиполнинг 50% гемолизга олиб келувчи самарали концентрацияси $C_{50} = 67.4 \pm 1.6$ мкМ га ($n=5$) тенг бўлди. Бу кўрсаткич батриден моддасида $43,6 \pm 1,1$ мкМ га ($n=5$) тенг бўлган бўлса, мегосинда $34,9 \pm 1,9$ мкМ ($n=5$) га тенг эканлиги аниқланди (1-расм, Б). Готизол моддаси госсиполга нисбатан деярли 10 баробар сустроқ бўлиб, унда $C_{50} = 643 \pm 32$ мкМ га ($n=5$) тенг эканлиги аниқланди. Рагосин моддаси янада фаолсизроқ бўлганлиги кузатилди ва унинг учун $C_{50} = 2270 \pm 104$ мкМ га ($n=5$) тенг бўлди (1-расм, В).

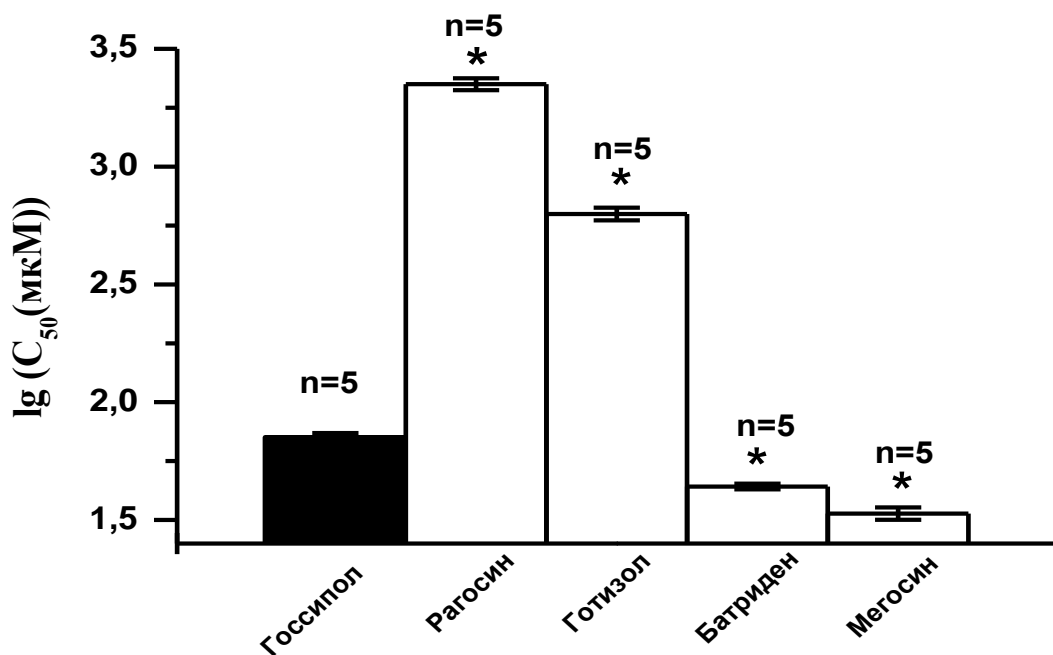


1-расм. Эритроцит хужайраларининг госсипол ва унинг ҳосилалари таъсиридаги лизис жараёнининг вақтга ва концентрацияга боғлиқлиги. Ордината ўқида – гемоллиз даражаси % ҳисобида кўрсатилган, абсцисса ўқида – (А) вақт (минут), (Б ва В) концентрацияга боғлиқлиги кўрсатилган; n – тажрибалар сони.

Госсипол ва унинг ҳосилалари таъсиридаги лизис жараёнининг 50% гемоллизга олиб келувчи самарали концентрацияларини бир-бири билан таққослаш мақсадида C_{50} кўрсаткичи логарифмда ифодаланган (2-расм).

Моддаларнинг структурасини таҳлил қилганимизда куйидаги қонуниятлар яққол намоён бўлди: 1) госсипол молекуласига барбитур кислотаси фрагменти киритилганда (батриден) ёки β -аминоэтил сульфат кислотаси фрагменти (мегосин) киритилганда молекуланинг гемолитик фаоллиги 1,5-2 баробар ошди; 2) 2-аминотиазол фрагменти киритилганда (готизол) ва 4-аминоантипирин (рагосин) фрагментлари киритилганда полифенол молекуласининг гемолитик фаоллиги (ва унинг хужарайраларга нисбатан кутилган токсик самараси) кескин равишда (10-30 баробар) пасайди; 3) ўрганилган барча ҳосилаларда госсиполнинг альдегид группаси йўқолган, демак ушбу группа модданинг гемолитик хусусияти детерминантаси эмас.

Олинган натижаларга асосланиб, ҳосилалардаги радикалларнинг кимёвий хоссалари модданинг гемолитик фаоллигига катта таъсир кўрсатади, деган хулосага келишимиз мумкин.

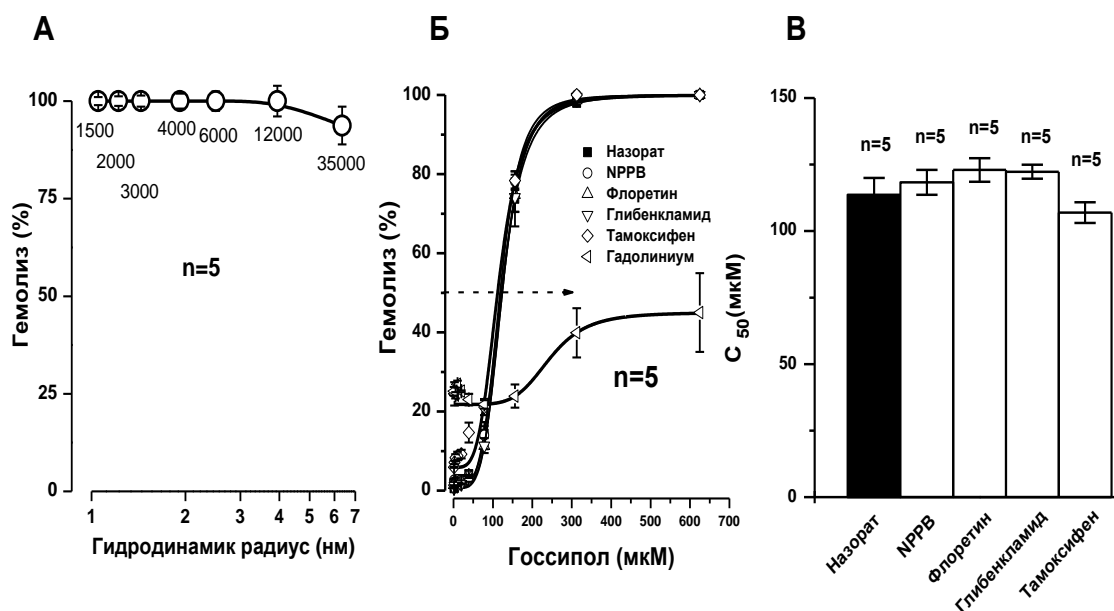


2-расм. Полифенолларнинг одам эритроцитларига нисбатан гемолитик фаоллигининг қиёсис тахлили. Ордината ўқида – гемолизга олиб келувчи самарадор концентрациялар C_{50} логорифмда берилган, абсцисса ўқида – ўрганилган полифеноллар кўрсатилган. Статистик аҳамиятли ($P < 0,05$) фарқ (*) белгиси билан кўрсатилган, n – тажрибалар сони.

Кузатилган жараёнларнинг биофизикавий механизмини аниқлаш госсипол ва унинг ҳосилаларининг физиологик таъсир механизмлари тахлилининг зарур омилидир. Кейинги тажрибаларда 100% гемолиз берувчи концентрацияларда олинган госсипол (625 мкМ) таъсиридаги гемолиз жараёнининг коллоид-осмотик механизмини аниқлаш учун молекуляр оғирлиги 1500 Да дан 35000 Да гача бўлган полиэтиленгликолларнинг (ПЭГ) кўйидаги концентрацияси ишлатилди: ПЭГ 1500 (25 мМ); ПЭГ 2000 (25 мМ); ПЭГ 3000 (20 мМ); ПЭГ 4000 (15 мМ); ПЭГ 6000 (12 мМ); ПЭГ 12000 (10 мМ); ПЭГ 35000 (3 мМ). Мазкур концентрацияларда ПЭГлар гемоглобин молекуласи туфайли юзага келган онкотик градиентини компенсация қила олади. Тажрибаларимизда ишлатилган ПЭГлардан фақат энг катталаригина гемолиз даражасига сезиларли таъсир қилди, лекин батамом бартараф қилмади (3-расм, А). Осмопротекция усули билан олинган натижаларига кўра госсипол одам қизил қон ҳужайраларини изоосмотик шароитда коллоид-осмотик бўлмаган механизм билан парчалаши аниқланди. Госсипол таъсирида содир бўлаётган гемолизнинг энг эҳтимоллий механизми – бу амфифил гемолитик ҳужайраларнинг плазматик мембранасининг кўш қават липидларига боғланиш орқали тўғридан-тўғри мембранани беқарорлаштириши (ёки эритиши) мумкин. Демак гемолиз механизми кимёвий гемолиз ҳисобланади.

Қизил қон ҳужайраларида анион транспорти жуда ҳам муҳим роль ўйнайди, чунки бу турдаги ҳужайраларнинг асосий биологик функцияси – бу тўқималарга кислородни етказиб бериш ва у ерда метаболизм натижасида

ҳосил бўлган карбонат ангидридини бикарбонат аниони шаклида мембранадаги анион алмашувчиси орқали ҳужайра ичкарасига ташиб, гемоглобинга боғлиқ холда ўпкага олиб бориш. Эритроцитлардаги ўта фаол бўлган анион транспорти ҳужайраларни лизисдан сақлаши мумкинлигини тахмин қилдик ва навбатдаги тажрибаларимизда госсипол таъсирида одам эритроцит ҳужайраларида гемолиз чақириб, шу жараёнга кенг қўламли таъсир доирасига эга бўлган анион транспорти блокаторлари NPPB (5 нитро-2-3-фенил-пропиламинобензол кислота) 100 мкМ, ҳажмга боғлиқ анион канали блокаторлари флоретиннинг 200 мкМ, глибенкламиднинг 200 мкМ, ва тамоксифеннинг 50 мкМ ва макси-анион каналлари блокатори гадолинийнинг (Gd^{3+}) 50 мкМ дан таъсирини тадқиқ қилдик. Тажрибаларимизда фойдаланилган анион транспорти блокаторлари NPPB, флоретин ва глибенкламидлар учун госсиполнинг 50 % гемолиз берувчи концентрациянинг озгина ошиши, шунингдек тамоксифен учун эса бир оз камайиши қайд этилган бўлсада натижаларнинг статистик аҳамияти назоратдан сезиларли фарқ қилмаслигини кўрсатди (3-расм, Б, В).



3-расм. Госсипол таъсирида кечаётган гемолиз жараёнига полиэтиленгликоль ва анион транспорти блокаторларнинг таъсири. А) Госсипол таъсирида кечадиган гемолиз жараёнига полиэтиленгликольларнинг таъсири. Ордината ўқида – гемолиз даражаси % ҳисобида кўрсатилган, абсцисса ўқида – гидродинамик радиуси нм ҳисобида кўрсатилган, n – тажрибалар сони. Б) Стационар (37°C, 60 мин) гемолизнинг госсипол концентрациясига боғлиқлигига турли блокаторларнинг таъсири; В) 50% гемолизга олиб келувчи госсипол концентрациясига муҳитдаги блокатор моддаларнинг таъсири: Ордината ўқида – гемолизга олиб келувчи самарадор концентрациялар C₅₀ мкМда берилган, абсцисса ўқида – турли хил блокаторлар кўрсатилган. n – тажрибалар сони.

Шундай қилиб, анион транспорти, ва шу жумладан ҳажмга боғлиқ бўлган анион транспорт тизими госсипол таъсиридаги одам қизил қон ҳужайралари гемолизига қаршилик кўрсата олмайди дейишимиз мумкин.

Бундан ташқари, олинган натижа госсипол таъсиридаги гемоллиз коллоид-осмотик бўлмаган механизм асосида содир бўлишидан далолат бериши мумкин.

Ҳажмга боғлиқ равишда фаоллашувчи макси-анион канали учун махсус ингибиторлар маълум эмас, аммо кўплаб тадқиқотларда гадолинийум ионларини 50 мкМ миқдорида ишлатилади (Sabirov & Okada, 2009; 2012). Госсипол таъсирида қизил қон ҳужайраларида гемоллиз чақириб, Gd^{3+} моддасини шу жараёнга таъсирини тадқиқ этганимизда, доза-жавоб натижаси сезиларли даражада ўзгарганини кўришимиз мумкин (3-расм, Б). Гадолинийум госсиполнинг юқори концентрациялардаги таъсирини кескин камайтирди, паст концентрацияларда (<150 мкМ) эса 20-25% гача спонтан (яъни ўз-ўзидан) гемоллизни келтириб чиқарди. Олинган натижа Gd^{3+} ионларининг эритроцит мембранасига беқарорлаштирувчи таъсирдан далолат беради. Шу билан бирга бу поливалент лантаноид госсипол молекулаларини боғлаб, уни фаолсизлантиради, ва натижада госсиполнинг катта концентрацияларида ҳам тўлиқ гемоллиз кузатилмайди.

Барча турдаги ҳужайралар ҳаёт фаолияти давомида осмотик ўзгаришларга учрайди. Тўқима ҳужайраларида осмотик стресс нормал физиологик жараёнларда, жумладан қон капиллярларида интенсив нафас олиш, овқат ҳазм қилиш ҳамда буйракда суюқлик тансиқлигида содир бўлади, ва бундан ташқари яллиғланиш, бактериялогик инфекциялар ва турлича бўлган захарланиш шароитларида ҳам юзага келади. Ҳужайранинг цитолитик стресс омилларига қаршилик кўрсатиш хусусиятини ҳужайра ҳажм бошқариш тизими таъминлаб беради (Okada Y., 2018). Одам қизил қон ҳужайралари шишганда, ҳажмга боғлиқ ион каналлари фаоллашиб, ҳажмини қисқаришига олиб келади. Госсипол ва унинг ҳосилалари сублитик микромоляр дозаларда эритроцитлар ҳажм бошқаришига ва ХБАК фаоллигига ингибирловчи таъсири этиши мумкин деб тахмин қилдик, ҳамда кейинги тадқиқотларимизда осмотик босими турли хил бўлган эритмаларда қизил қон ҳужайралари осмотик резистентлигига госсиполнинг таъсирини ўргандик.

Тажрибаларимизда муҳитдаги осмотик босимнинг камайиши билан ҳужайраларда лизис жараёнининг ортиши кузатилди. Назоратдаги эритманинг осмотик босими 290 мОсм/кг H_2O бўлганда лизис даражаси $1,75 \pm 0,8\%$ ($n=5$) ни, 40-80 мОсм/кг H_2O бўлганда эса лизис даражаси 90% дан ошди (4-расм, А). Олинган натижалар Больцман тенгламаси (2.6-формула) асосида аппроксимация қилинганда эгри чизиқлар яхши ифодаланди. Назорат тажрибаларида эритроцит ҳужайраларининг 50% ли гемолизига олиб келувчи самарадор босим (P_{50}) $95,8 \pm 3,3$ мОсм/кг H_2O ($n=5$) ни ташкил этди (4-расм). Бу кўрсаткич госсиполнинг 1 мкМ миқдори таъсирида назоратга нисбатан 88,2% ($n=5$) ни, 10 мкМ миқдори таъсирида 74,6%, ($n=5$) ни ташкил этган бўлса, 50 мкМ миқдори таъсирида 105,6% ($n=5$) ни ташкил этганлиги аниқланди (4-расм, А ва Б).

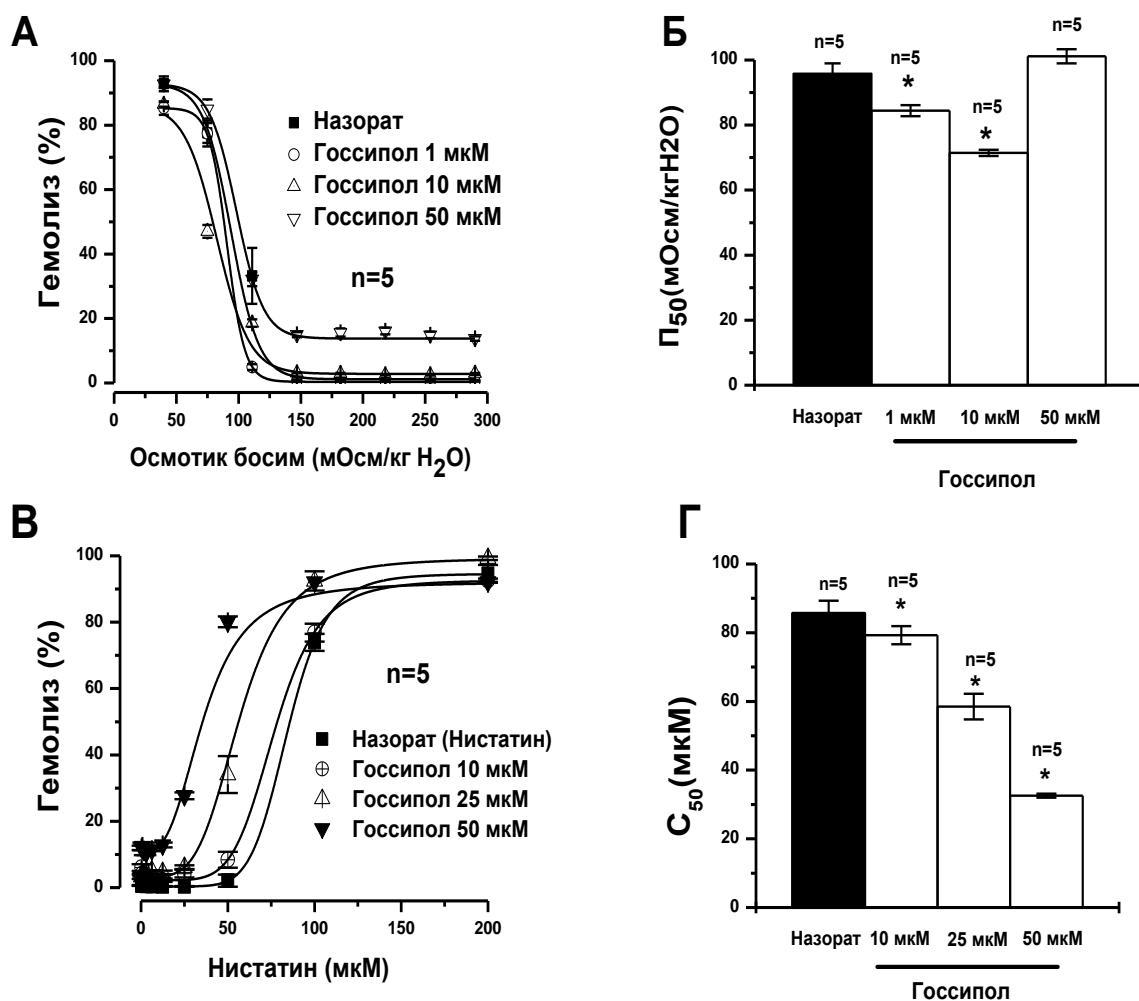
Ўтказилган тадқиқотимиз натижаларини умумлаштириб шуни айтишимиз мумкинки, госсипол моддаси гемолитик бўлишига қарамай, паст концентрацияларда одам эритроцит хужайраларининг осмотик резистентлигини оширади. Бунинг сабаби госсипол таъсирида эритроцитларнинг хужайра ҳажм бошқариш системасининг фаоллашганлиги ёки плазматик мембрананинг механик стрессга нисбатан чидамлилиги ошганлиги бўлиши мумкин. Худди шундай тажрибалар госсиполнинг ҳосилалари билан ҳам ўтказилди, ва олинган натижаларни инобатга олган ҳолда, самаралилик жиҳатидан госсипол ва унинг ҳосилалари паст (1 мкМ) концентрацияда қуйидаги каторни ташкил этди: мегосин > готизол > госсипол > рагосин > батриден.

Госсиполнинг катта концентрацияда эритроцитларнинг осмотик чидамлилигини пасайтириши унинг ўзи гемолитик хусусиятига эгаллиги билан боғлиқ бўлиши мумкин.

Одам қизил қон хужайраларининг ўз ҳажмини бошқариш хусусияти пора ҳосил қилувчи моддалар таъсирида кечадиган коллоид-осмотик лизис жараёнида муҳим аҳамият касб этади. Полиен антибиотиклар туркумига мансуб нистатин моддаси хужайра мембранасида коллоид-осмотик мувозанатнинг бузилишига олиб келувчи Na^+ ва хлор ионлари ва сувни ўтказувчи поралар ҳосил қилади. Оқибатда қўш Доннан системасидаги мувозанат бузилади ва хужайра оддий Доннан системасига ўтади, ҳажм максимал даражада ортади ва хужайра лизисга учрайди.

Биз нистатин препарати таъсирида одам эритроцит хужайраларида коллоид-осмотик лизис чақириб, шу жараёнга госсиполнинг 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ концентрацияларининг таъсирини тадқиқ қилдик. Эритроцит хужайраларининг осмотик стресс ва коллоид-осмотик стрессга нисбатан чидамлилигига госсиполнинг таъсири бўйича натижалар қуйидаги 4-расмда келтирилган. Аввал биз гемолиз даражасини нистатин концентрациясига боғлиқлигини аниқладик. Олинган натижалар Хилл тенгламаси асосида аппроксимация қилинганда, 50% гемолиз чақирувчи нистатиннинг самарадор концентрацияси (C_{50}) $85,7 \pm 8,6$ мкМ ($n=5$) га тенг бўлгани кузатилди (4-расм, В ва Г). Бу кўрсаткич госсиполнинг 10 мкМ таъсирида назоратга нисбатан 92,5% ($n=5$) ни ташкил этган бўлса, 25 мкМ таъсирида 68,3% ($n=5$) га тенг ва 50 мкМ таъсирида эса 38,0% ($n=5$) га тенг эканлиги аниқланди (4-расм, В ва Г). Бу ерда госсиполнинг концентрацияси ошиб бориши билан, эритроцитларнинг нистатинли гемолизга нисбатан чидамлилик хусусияти пасайган.

Олинган натижаларга асосланиб қуйидаги хулосага келинди: госсипол сублитик микромоляр дозаларда одам эритроцитларининг нистатин чақирган коллоид-осмотик стрессга нисбатан сезгирлигини оширади. Худди шундай шароитда рагосин, мегосин, готизол ва батриденлар ўрганилганда, уларда ушбу хусусият йўқолиб, ҳосилалар эритроцитларнинг нафақат осмотик, балки коллоид-осмотик стрессга нисбатан ҳам ҳимоялаши аниқланди.

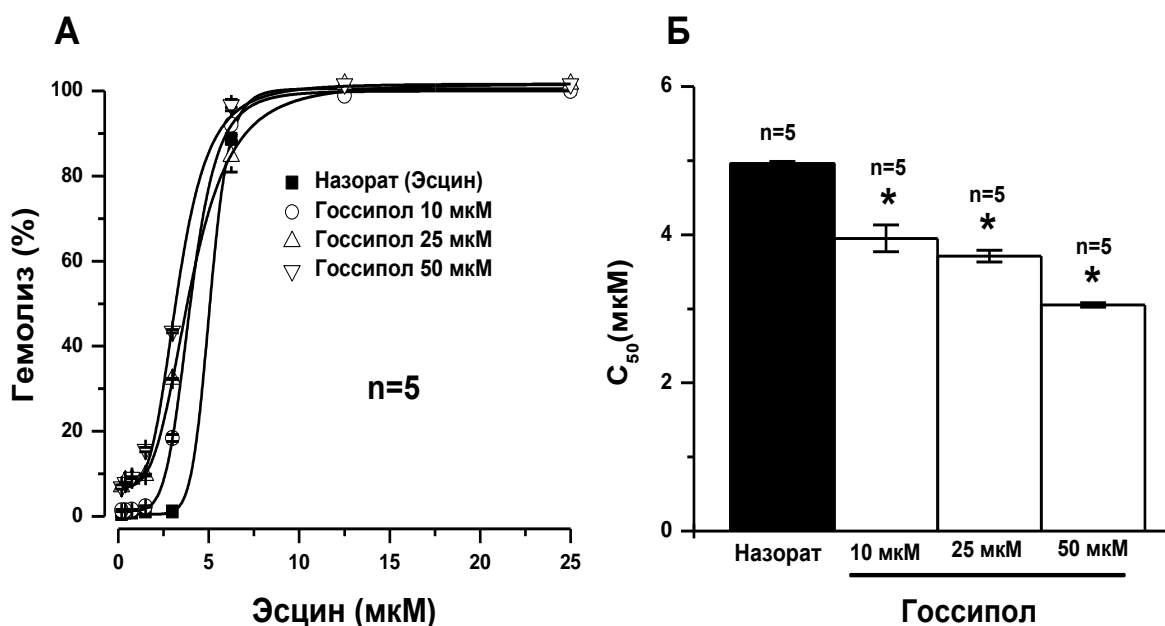


4-расм. Эритроцит хужайраларининг осмотик стресс ва коллоид-осмотик стрессга нисбатан чидамлилигига госсиполнинг таъсири. А) Эритроцит хужайраларининг осмотик босими 290 - 40 мОсм/кг H₂O бўлган эритмалардаги гемолизига госсиполнинг таъсири. ордината ўқида – гемолиз даражаси % ҳисобида кўрсатилган Б) ордината ўқида – 50% гемолизга олиб келувчи осмотик босим (P_{50}), абсцисса ўқида – тажриба шароити кўрсатилган; В) Стационар (37°C, 60 мин) гемолизнинг нистатин концентрациясига боғлиқлигига госсиполнинг таъсири; Г) 50% гемолизга олиб келувчи нистатин концентрациясига (C_{50}) муҳитдаги госсиполнинг таъсири. n– тажрибалар сони. Статистик аҳамиятли ($P < 0,05$) фарқ (*) белгиси билан кўрсатилган.

Лизис механизми коллоид-осмотик бўлмаганда ҳажмга боғлиқ анион транспортининг протектив роли амалга ошмайди. Нистатинли гемолиз батамом коллоид-осмотик механизм билан содир бўлса, от каштанидан ажратиб олинadиган эсцин моддаси таъсирида содир бўладиган лизис асосан кимёвий гемолиз механизми билан кечади (Хамидова О.Ж. 2020).

Эсцин препарати таъсирида одам эритроцит хужайраларида гемолиз чақириб, шу жараёнга госсиполнинг 10 мкМ, 25 мкМ, 50 мкМ концентрацияларининг таъсирини тадқиқ қилдик. Назорат тажрибада 50% гемолиз чақирувчи эсциннинг самарадор концентрацияси (C_{50}) $4,96 \pm 0,03$ мкМ (n=5) га тенг бўлгани кузатилди. Бу кўрсаткич госсиполнинг 10 мкМ таъсирида назоратга нисбатан 79,6% (n=5) ни ташкил этган бўлса, 25 мкМ

таъсирида 74,8% (n=5) га тенг ва 50 мкМ таъсирида эса 61,5% (n=5) эканлиги аниқланди (5-расм, А ва Б).



5-расм. Эритроцит ҳужайраларининг эсцинли муҳитдаги гемолизига госсиполнинг таъсири. А) Стационар (37°C, 60 мин) гемолизнинг эсцин концентрациясига боғлиқлигига госсиполнинг таъсири; Б) 50% гемолизга олиб келувчи эсцин концентрациясига (C₅₀) муҳитдаги госсиполнинг таъсири. Статистик аҳамиятли фарқ (*) белгиси билан кўрсатилган. n – тажрибалар сони.

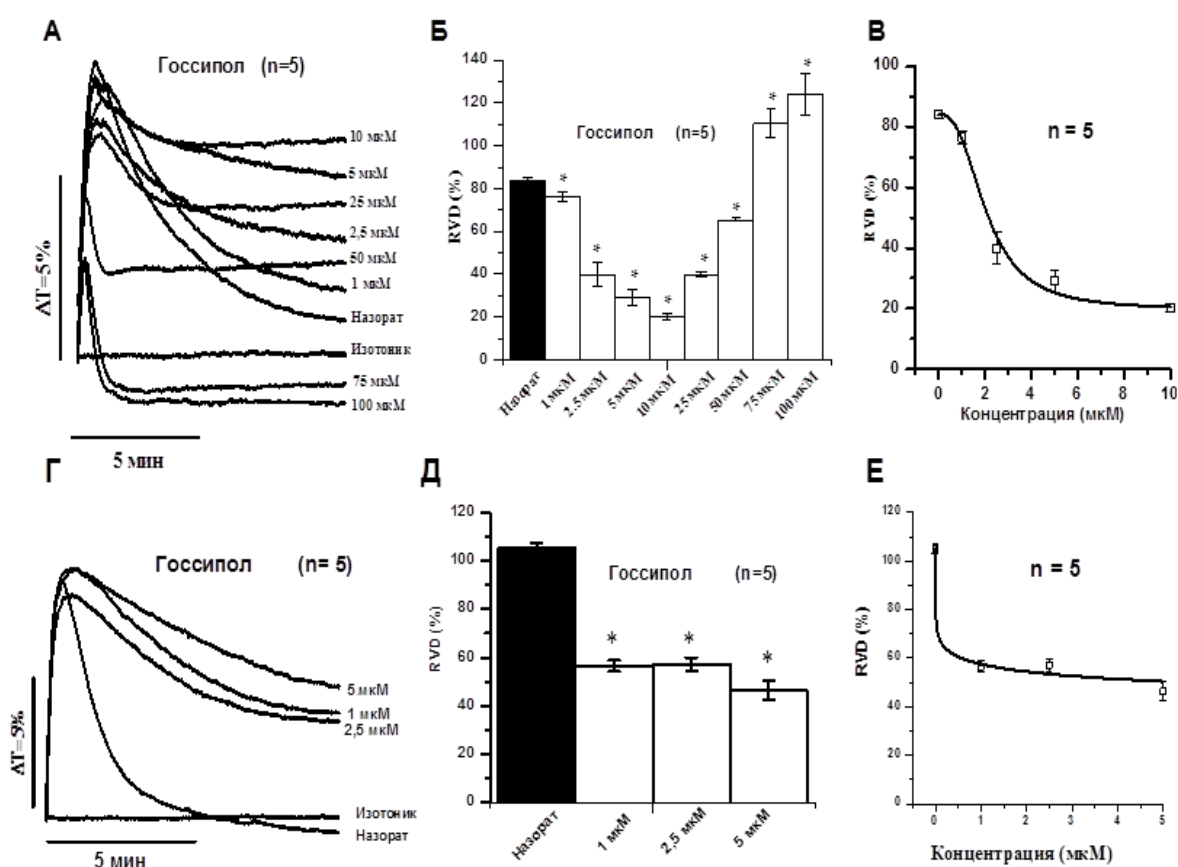
Бу ерда госсипол кичик концентрацияларда коллоид-осмотик бўлмаган эсцин таъсиридаги гемолизини кучайтирди. Мазкур салбий таъсир госсиполнинг ўрганилган барча ҳосилаларида ҳам сақланиб қолди.

Диссертациянинг «Госсипол ва унинг ҳосилаларини (рагосин, мегосин, готизол ва батриден) тимоцит ҳужайраларининг функционал параметрларига таъсирини тавсифлаш» деб номланган тўртинчи бобида гипоосмотик стресс шароитида тимоцит ҳужайралари ҳажм бошқарилиши системасига госсиполнинг ингибирловчи таъсири ҳамда жараённинг анион транспортига боғлиқлиги бўйича тадқиқот натижалари келтирилган.

Тимоцитлар ҳажмини изотоник муҳитда (нормал Рингер эритмаси) 20-30 дақиқа давомида ўзгармасдан сақлайди. Гипотоник муҳитга тушганда эса тимоцитлар дастлаб тезда шишади (пассив жавоб), сўнгра изотоник ҳажмга яқин даражагача ўз ҳажмини тиклайди (актив жавоб). Бу жараёнга бошқарилувчи ҳажм камайиши (RVD – regulatory volume decrease) дейилади (6-расм, А). Ҳужайраларнинг ҳажмини тиклаш самарадорлигини таърифлаш учун биз RVD кўрсаткичидан фойдаландик. Мазкур параметр ҳужайра 15 дақиқа давомида ўз ҳажмини неча фоизини тиклашини кўрсатади.

Гипоосмотик стресс шароитида тимоцитлар ҳужайра ҳажм бошқарилишига госсипол моддасининг дозага боғлиқ таъсир эттирилганда, унинг таъсири икки фазали бўлгани кузатилди. Гипоосмотик шароитда, назоратда ҳужайра ҳажми (RVD) 83,7±3,6% га (n=5) кичрайди, инкубация

муҳитига госсипол қўшилганда ҳужайра ҳажм бошқарилиши концентрацияга боғлиқ равишда пасайиб борди ва 10 мкМ концентрацияда $RVD = 20,2 \pm 2,9\%$ ни ($n=5$) ташкил этди. 100 мкМ концентрацияда эса регулятор ҳажм камайиши кўрсаткичи тикланиб борди ва $RVD = 124,0 \pm 9,8\%$ ни ($n=5$) ташкил этди. Олинган натижалар Хилл тенгламаси асосида аппроксимация қилинганда, биринчи фаза учун ярим-максимал эффект $2,1 \pm 0,3$ мкМ ва Хилл коэффиценти $2,6 \pm 0,6$ бўлди (6-расм, А, Б, В). Катта концентрациялардаги RVD параметрининг ўсиши госсипол мембрана стабиллигини пасайтириши ёки мембранада поралар ҳосил қилиши ва шу поралар орқали цитоплазмадаги осмолитлар чиқиши натижасида ички осмотик босим пасайиши билан боғлиқ бўлиши мумкин.



6-расм. Гипоосмотик стресс шароитида тимоцит ҳужайралари ҳажм бошқарилиши системасига госсиполнинг ингибирловчи таъсири ҳамда жараённинг анион транспортига боғлиқлиги. А ва Г) Ҳужайралар суспензиясининг ёруғлик ўтказувчанлиги ўзгариши регистрациясининг оригинал ёзуви кўрсатилган. Б ва Д) Ордината ўқида – ҳужайра ҳажмининг бошқарилиши % ҳисобида кўрсатилган, абсцисса ўқида – госсипол миқдори мкМ да ифодаланган. С ва Е) Эгрисимон чизиқлар экспериментал нуқталарни Хилл тенгламаси аппроксимацияси (параметрлари текста кўрсатилган). n – тажрибалар сони. Назоратдан статистик равишда ($P < 0,05$) фарқ (*) билан белгиланган.

Госсиполнинг барча ҳосилалари кичик микромоляр концентрацияларда тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасини кескин фаолсизлантириши

аниқланди, ва самаралилик жиҳатидан моддалар қуйидаги қаторни ташкил этди: госсипол > готизол > батриден > мегосин > рагосин.

Тимоцит хужайраларида Ca^{2+} , K^+ ва Cl^- каналлари ҳамда K/Cl котранспорти ҳажм бошқарилиши механизмида муҳим роль ўйнайди. Тимоцитларда K^+ ва Cl^- транспортини блоклаш хужайра ҳажм бошқарилишининг батамом тўхтатилишига олиб келади. Гипоосмотик стрессдаги хужайра ҳажм бошқарилишига госсиполнинг таъсир механизмини ўрганиш учун гипотоник эритма таркибидаги барча бир валентли катионлар йирик органик катион–N-метил-D-глюкамин (НМДГ)га алмаштирилди ва лимфоцит хужайралари мембранасининг катион ўтказувчанлиги ГрД ёрдамида оширилди.

Лимфоцитлар ГрД ва НМДГли гипотоник Рингер эритмасига (кейинги ўринларда НМДГ-ГрД деб аталади) қўшилганда, дастлаб хужайра шишиб, натрийли гипотоник Рингерга нисбатан ўз ҳажмларини яхшироқ тиклади. Ушбу шароитда хужайра плазматик мембранасида ҳажм бошқарилиши асосан ҳажмга боғлиқ анион транспорти фаоллигига боғлиқ бўлади (Rustamova et al. 2019). Хужайра ҳажми дастлабки ҳолатидан ҳам камайди ва *RVD* параметри $105,2 \pm 6,6\%$ ни ($n=5$) ташкил этди.

Инкубация муҳитига госсипол қўшганимизда хужайра ҳажм бошқарилиши концентрацияга боғлиқ равишда пасайиб борди. Олинган натижалар Хилл тенгламаси асосида аппроксимация қилинганда, ярим максимал эффект $3,1 \pm 1,8$ мкМ ни, Хилл коэффициенти $1,0 \pm 0,1$ ($n = 5$) ни ташкил этди (6-расм Г, Д, Е).

RVD да иштирок этувчи ион каналларига госсиполнинг таъсирини аниқлашда махсус танланган НМДГ-ГрД ли экспериментал муҳитида *RVD* асосан анион ўтказувчанлигига боғлиқ бўлганлигига асосланиб, госсиполнинг тимоцитлар ҳажм бошқарилишига блокловчи таъсири айнан ҳажмга боғлиқ анион транспортини блоклаш йўли билан амалга ошириши аниқланди. Мазкур таъсир госсиполнинг ўрганилган барча ҳосилаларида ҳам худди шундай намоён бўлди.

ХУЛОСАЛАР

1. Госсипол одам қизил қон хужайраларини изоосмотик шароитда $67,4 \pm 1,6$ мкМ га тенг ярим максимал концентрацияда коллоид-осмотик бўлмаган ва анион транспортга боғлиқ эмас механизм билан парчалаши аниқланган; батриден ва мегосиннинг гемолитик фаоллиги госсиполга нисбатан 1,5-2 баробар ошгани, готизол ва рагосиннинг гемолитик фаоллиги эса кескин (10-30 баробар) пасайгани аниқланди.

2. Гемолитик бўлишига қарамай, госсипол сублитик микромоляр дозаларда одам қизил қон хужайраларини осмотик стрессга нисбатан ҳимоялаши биринчи бор аниқланди. Мазкур хусусият ҳосилаларда ҳам сақланиб, самаралилик жиҳатидан моддалар қуйидаги қаторни ташкил этди: мегосин > готизол > госсипол > рагосин > батриден.

3. Госсипол сублитик микромоляр дозаларда одам эритроцитларининг нистатин чақирган коллоид-осмотик стрессга нисбатан сезгирлигини ошириши аниқланди. Рагосин, мегосин, готизол ва батриденларда ушбу хусусият йўқолиб, улар эритроцитларнинг нафақат осмотик, балки коллоид-осмотик стрессга нисбатан ҳам ҳимоялади.

4. Госсипол ва унинг барча ҳосилалари коллоид-осмотик бўлмаган эсцин таъсиридаги лизисдан эритроцитларни ҳимояламайди, балки аксинча гемолизини кучайтирди.

5. Госсипол ва унинг барча ҳосилалари кичик концентрацияларда тимоцитлар ҳажм бошқарилиш системасини кескин фаолсизлантириши аниқланди; самаралилик жиҳатидан моддалар қуйидаги қаторни ташкил этди: госсипол > готизол > батриден > мегосин > рагосин; мазкур хусусият моддар таъсирида ҳажмга боғлиқ анион транспортини блоклаш йўли билан амалга ошириши аниқланди.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.В.01.13 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ ИНСТИТУТЕ БИОФИЗИКИ И
БИОХИМИИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
УЗБЕКИСТАНА**

ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И БИОХИМИИ

ЧОРИЕВА НАРГИЗА МАМАРАЖАБОВНА

**МОДУЛЯЦИЯ МЕМБРАННЫХ ПРОЦЕССОВ В ЭРИТРОЦИТАХ И
ЛИМФОЦИТАХ ГОССИПОЛОМ И ЕГО ПРОИЗВОДНЫМИ**

03.00.02 – Биофизика и радиобиология

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

Ташкент – 2021

Тема диссертации доктора философии (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан под номером В2020.4.PhD/В86.

Диссертационная работа выполнена в Национальном университете Узбекистана.

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

Научный руководитель:

Сабиров Равшан Заирович
доктор биологических наук, академик

Официальные оппоненты:

Хушматов Шункор Садуллаевич
доктор биологических наук

Ташмухамедова Шохиста Собировна
доктор биологических наук, профессор

Ведущая организация:

Андижанский государственный университет

Защита диссертации состоится «___» _____ 2021 г. в ___ часов на заседании Научного Совета DSc.03/30.12.2019.B.01.13 по присуждению ученых степеней при Институте биофизики и биохимии Национального университета Узбекистана. (Адрес: 100174, г. Ташкент, Алмазарский район, Студенческий городок, ул. Университетская, 174. Тел. 246-68-96.

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

Автореферат диссертации разослан: «___» _____ 2021 года.
(реестр протокола рассылки № «___» от _____ 2021 года).

Асраров Музаффар Исламович
И.о., председателя Научного совета
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

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

Ахмеджанов Искандар Гулямович
Председатель Научного семинара при Научном совете
по присуждению ученых степеней, д.б.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (Аннотации диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. В настоящее время понижение уровня гемоглобина (анемия), вызванное различными причинами, является одной из наиболее острых медицинских проблем в мире. Одним из основных механизмов патогенеза анемии является нестабильность красных кровяных клеток, связанная с нестабильностью мембраны эритроцитов и нарушением ее транспортной функции. Обычно анемия приводит к изменению размеров всех клеток ткани, нарушению синтеза стероидов, синтеза ДНК, пролиферации клеток и дисрегуляции многих метаболических процессов. Одной из наиболее актуальных проблем в области практической фармацевтики и фармакологии является разработка более эффективных и в то же время менее токсичных препаратов, стабилизирующих эритроцитарные клетки, на основе местного растительного сырья. В связи с этим изучение механизмов действия биологически активных веществ на структуру и функцию мембраны эритроцитов приобретает важное научное и практическое значение.

Ведущие мировые научные центры проводят обширные исследования, направленные на создание новых эффективных поколений препаратов, которые в то же время являлись бы менее токсичными для мембраны эритроцитов. Установлено, что госсипол и его производные, наряду с выраженным противоопухолевым, противовирусным, противовоспалительным и антиферментативным действием, также оказывают неблагоприятное воздействие на сердечно-сосудистую систему. Несмотря на достигнутый успех, в настоящее время требуется выяснение механизмов действия госсипола и его производных на функции плазматической мембраны эритроцитов и лимфоцитов, а также их влияния на анионные каналы в системе регуляции объема клеток.

В нашей Республике в настоящее время также проводятся масштабные фундаментальные и прикладные исследования по определению механизмов действия природных и синтетических биологически активных веществ, выделенных из местных растений, на систему управления объемом клеток. В «Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан» подчеркивается, что четвертым приоритетным направлением Стратегии действий по развитию социальной сферы определены такие важные задачи, как «дальнейшее развитие фармацевтической отрасли, улучшение снабжения населения и медицинских учреждений дешевыми и качественными лекарствами и медикаментами»¹. Исходя из этих задач, важное значение приобретает выявление механизмов действия биологически активных веществ, выделенных из растений, произрастающих в Узбекистане, на систему регуляции клеточного объема и разработка фармакологических препаратов на их основе.

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 7 февраля 2017 г. «О стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан». № УП-4947.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указе Президента Республики Узбекистан от 6 мая 2019 г № ПП-4310 «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки» и Постановлении Президента Республики Узбекистан от 12 август 2020 г № ПП-4805 «О мерах по повышению качества непрерывного образования и результативности науки по направлениям «химия» и «биология»», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

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

Степень изученности проблемы. Учеными из крупнейших мировых исследовательских центров отмечено, что высокие концентрации госсипола могут изменять физические свойства мембраны эритроцитов и приводить к гемолитической анемии (Zbidah et al., 2012). Также исследовано связывание с мембраной эритроцитов и влияние на физические свойства мембраны и для других полифенольных соединений, выделенных из растений (Cyboran et al., 2012; Meczarska et al., 2017). Показано, что госсипол активизирует проникновение внеклеточного Ca^{2+} внутрь клеток (Jan et al., 2000; Qiu et al., 2002).

В странах СНГ было изучено строение мембраны эритроцитов, а также белковых молекул, обеспечивающих транспорт веществ через мембрану (Головецкий, 2007; Мороз и др., 2012). Выявлена роль АТФ, синтезирующегося в эритроцитах в процессе анаэробного гликолиза, в деформации и проницаемости мембран (Викулов и др., 2001; Зинчук, 2001).

В нашей Республике было показано, что госсипол и его производное – мегозин кальмодулин-зависимым образом модулируют транспорт Ca^{2+} в тимоцитарных клетках крыс на уровне митохондрий и саркоплазматического ретикулума (Гордиенко и др., 2000). Противовирусная активность госсипола и его производных, индукция ими синтеза интерферона и их действие в качестве иммуномодуляторов хорошо охарактеризованы в работе (Барам, Исмаилов, 1994). Показано, что производные госсипола – мегозин и рометан обладают мембранотропными свойствами и могут связываться с Ca^{2+} -АТФазой саркоплазматического ретикулума, быть антиоксидантами, а также эффективно стабилизировать окислительное фосфорилирование *in vitro* (Ionov et al., 2012). Однако механизмы влияния госсипола и его производных на выход гемоглобина из эритроцитов человека в нормально среде, а также в условиях гипоосмотического стресса и коллоидно-осмотического лизиса, на систему регулирования объема тимоцитов, а также на объемно-зависимый транспорта анионов не установлены, и исследования в этом направлении являются крайне актуальными.

Связь темы диссертации с научно-исследовательскими работами института, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование

выполнено в рамках плана научно-исследовательских работ фундаментальных проектов Института биофизики и биохимии при Национальном Университете Узбекистана ФА-А11-Т060 «Поиск новых модуляторов регуляции клеточного объема и объем-зависимых анионных каналов как перспективных иммуномодуляторов и противоопухолевых препаратов» (2015-2017), ПЗ-2017-0920-49 «Разработка новых перспективных субстанций на основе растительных экстрактов и их компонентов из местного сырья – модуляторов регуляции клеточного объема и объем-зависимого мембранного транспорта» (2018-2020) и ФА-Ф5-014 «Исследование биофизического фенотипа объем-зависимых анионных каналов и их функций в механизме регуляции клеточного объема» (2017-2020).

Целью исследования является определение влияния госсипола и его производных на процессы, связанные с регуляцией объема клеток в мембранах эритроцитов и лимфоцитов и выяснение его механизма.

Задачи исследования:

изучение действия госсипола и его производных (рагосина, мегосина, готизола и батридена) на клетки эритроцитов в изоосмотических условиях;

изучение действия госсипола и его производных на устойчивость клеток эритроцитов к осмотическому стрессу;

изучение действия госсипола и его производных на клетки эритроцитов в условиях коллоидно-осмотического лизиса, индуцированного нистатином;

изучение действия госсипола и его производных на процесс неколлоидно-осмотического лизиса под действием эсцина;

изучение действия госсипола и его производных на регуляцию объема тимоцитов в условиях гипоосмотического стресса и выяснение его механизма;

Объектом исследования служили эритроциты человека, клетки тимоцитов молодых крыс, госсипол, выделенный из семян хлопчатника (*Gossypium L.*), и его производные (рагосин, мегосин, готизол и батриден).

Предмет исследования является исследование влияния госсипола и его производных (рагосина, мегосина, готизола и батридена) на устойчивость эритроцитов человека к осмотическому и коллоидно-осмотическому стрессу и регуляцию объема тимоцитов в условиях гипоосмотического стресса.

Методы исследования. В экспериментах использовались современные методы биофизики, биохимии и клеточной биологии. Эритроциты и тимоциты крысы выделяли стандартными методами, степень гемолиза измеряли по высвобождению гемоглобина из эритроцитов, объем тимоцитов определяли методом регистрации светопропускания клеточной суспензии; математическая и статистическая обработка данных была проведена с помощью компьютерных программ Origin 5 и 8.6 (OriginLab, Northampton, MA, США).

Научная новизна диссертационного исследования заключается в следующем:

установлено, что госсипол разрушает человеческие эритроциты в изоосмотических условиях по неколлоидно-осмотическому и не связанному с анионным транспортом механизму; гемолитическая активность была выше в 1,5–2 раза у батридена и мегосина, и существенно (в 10–30 раз) ниже у готизола и рагосина;

доказано, что в сублитических дозах госсипол и его производные оказывают защитное действие на человеческие эритроциты при осмотическом стрессе, и это свойство оказалось наиболее сильным у мегосина, а самым низким – у батридена;

доказано, что госсипол в сублитических микромолярных дозах увеличивает чувствительность эритроцитов человека к коллоидно-осмотическому стрессу, в то время как у производных это свойство утрачивается, и они защищают эритроциты не только при осмотическом, но и при коллоидно-осмотическом стрессе;

обнаружено, что госсипол и все его производные в малых микромолярных дозах эффективно подавляют систему регуляции объема тимоцитов, и это свойство оказалось наиболее выраженным у госсипола и самым низким – у рагосина.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

среди производных госсипола выявлены новые вещества, защищающие эритроциты человека в условиях осмотического стресса и коллоидно-осмотического лизиса;

среди производных госсипола выявлены вещества, которые ингибируют систему регулирования объема тимоцитов и могут быть использованы в будущем в качестве иммуномодулятора;

обнаружено, что госсипол и его производные являются ингибиторами объемно-зависимых анионных каналов, которые резко активируются при канцерогенезе.

Достоверность результатов исследования подтверждается тем, что они получены с применением современных биофизических, биохимических методов и подходов клеточной биологии, анализ полученных результатов проведен с помощью современных компьютерных программ. Вместе с тем о достоверности представленных данных свидетельствуют их обсуждение в международных и республиканских научных форумах, а также оценки экспертов, полученные при опубликовании результатов в рецензируемых научных журналах.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Научная значимость результатов исследования заключается в том, что был выяснен механизм действия госсипола и его производных на систему регуляции объема в эритроцитах и тимоцитах.

Практическая значимость результатов исследования заключается в том, что госсипол и его производные могут применяться в качестве эффективных гемопротекторов и иммуномодуляторов при защите эритроцитов человека

при осмотическом и коллоидно-осмотическом стрессе, а также в профилактике и лечении заболеваний, связанных с анионными каналами.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных научных результатов по модуляции мембранных процессов в эритроцитах и лимфоцитах под действием госсипола и его производных:

результаты по влиянию госсипола и его производных на процессы в эритроцитах при осмотическом стрессе и регуляцию объема тимоцитов были использованы в прикладном проекте ПЗ-20171024153 «Создание тест-системы на культуре клеток рака тонкой кишки для скрининга биологически активных веществ» в качестве методических, теоретических и практических данных для определения механизмов действия лектиноподобных белков *Cuscuta evropea* на процессы в мембране эритроцитов и на регуляцию объема лимфоцитов (справка Академия Наук Республики Узбекистан № 4/1255-2593 от 23 ноября 2020 года). Результаты позволили описать мембраноактивные свойства экстракта, полученного из растения повелики, и его влияние на механизм регулирования объема клеток;

результаты по влиянию госсипола и его производных на лизис эритроцитов и регуляцию объема тимоцитов при гипоосмотическом стрессе были использованы в фундаментальном в проекте ФА-И11-Т009 «Организация производства суппозиторий антихламидийного действия – гозалидона и противовирусного действия мегосина» при выяснении механизмов действия производных госсипола – гозалидона и мегосина против хламидиозов и вирусов (справка Академия Наук Республики Узбекистан № 4/1255-2594 от 23 ноября 2020 года). В результате появилась возможность сравнить действие госсипола и его производных на биологические мембраны, описать механизмы действия гозалидона и мегосина.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования были обсуждены на 2 международных и 6 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано всего 16 печатных работ, из них 8 научных статей, в том числе 7 в республиканских и 1 в зарубежном журнале, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных научных результатов диссертации.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, четырех глав, заключения, выводов, списка использованной литературы. Объем диссертации (с оглавления, списка условных обозначений и списка литературы) составляет 109 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обосновывается актуальность и востребованность проведенного исследования, показано соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики,

характеризуются целью и задачи исследования, объект и предмет, излагаются степень изученности проблемы, научная новизна и практические результаты исследования, раскрываются достоверность полученных результатов, научная и практическая значимость, внедрение в практику результатов исследования, сведения по опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Физико-химические свойства мембран эритроцитов и лимфоцитов и модулирующее действие биологически активных веществ**» приведены данные о структуре мембраны эритроцитов и действии на них биологически активных веществ, морфологическом строении тимуса, системе регулирования объема клеток в норме и патологических условиях, полифункциональном фармакологическом действии госсипола и его производных.

Во второй главе диссертации «**Методы изучения гемолиза эритроцитов и функциональных показателей клеток тимуса**» описаны вещества и растворы, использованные в исследовании, стандартные методы выделения эритроцитов человека из крови здоровых добровольцев, определения уровня гемолиза, представлены методы приготовления суспензии клеток тимуса крыс, метод регистрации клеточного объема по величине светопропускания, а также методы математической обработки и статистического анализа полученных результатов.

Третья глава диссертации озаглавлена «**Описание действия госсипола и его производных (рагосина, мегосина, готизола и батридена) на процесс гемолиза**». Первоначально мы исследовали временную зависимость высвобождения гемоглобина из клеток эритроцитов под действием госсипола в нормальных изоосмотических условиях. Процесс гемолиза наблюдали при низкой (50 мкМ), средней (100 мкМ) и высокой (300 мкМ) концентрациях госсипола в течение 60 мин (рис. 1, А). Из зависимости уровня гемолиза от концентрации госсипола и его производных была определена эффективная концентрация госсипола, приводящая к 50% гемолизу $C_{50}=67,4\pm 1,6$ мкМ ($n=5$). Для батридена и мегосина этот показатель был равен $34,9\pm 1,9$ мкМ ($n=5$) и $43,6\pm 1,1$ мкМ ($n=5$), соответственно (рис. 1, Б). Готизол оказался почти в 10 раз слабее госсипола с $C_{50}=643\pm 32$ мкМ ($n=5$), а рагосин – наименее активным с $C_{50} = 2270\pm 104$ мкМ ($n=5$) (рис. 1, В).

Для сравнения эффективных концентраций госсипола и его производных, приводящего к 50% гемолизу, на рисунке 2 показатель C_{50} приведен в логарифмической шкале. При анализе строения исследованных соединений были установлены следующие закономерности: 1) введение в молекулу госсипола фрагмента барбитуровой кислоты (батриден) или фрагмента β -аминоэтилсульфата (мегосин) повышает гемолитическую активность молекулы в 1,5-2 раза;

2) гемолитическая активность полифенола (и его ожидаемое токсическое действие на клетки) резко (в 10-30 раз) снижается при введении

в молекулу фрагментов 2-аминотиазола (готизол) и 4-аминоантипирина (рагосин);

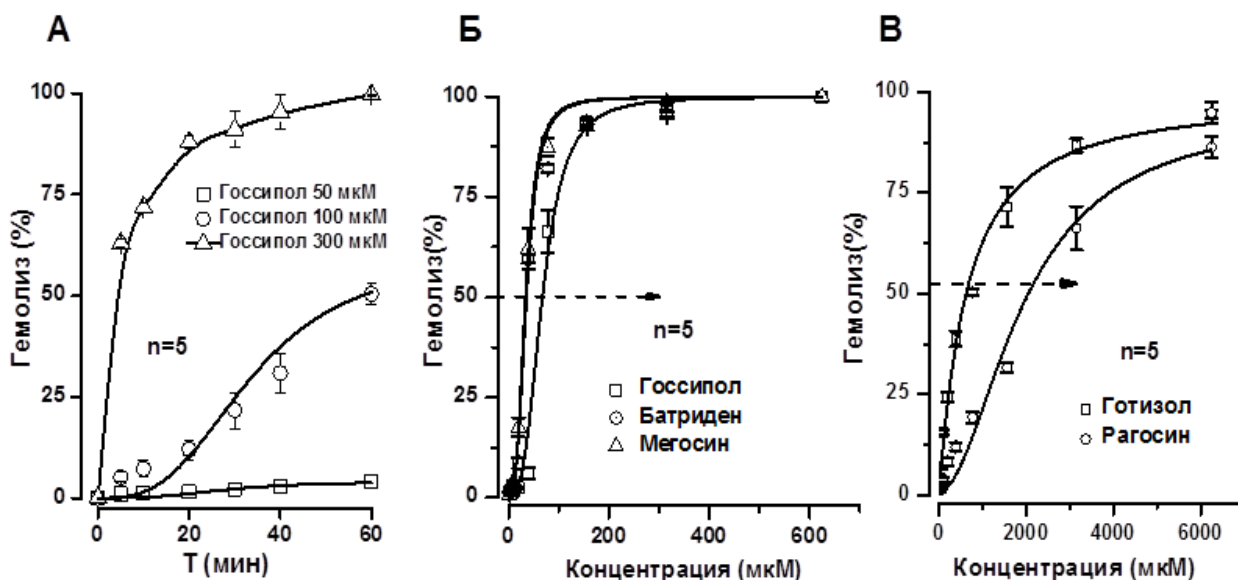


Рисунок 1. Зависимость уровня гемолитической активности эритроцитов от времени и концентрации госсипола и его производных. По оси ординат - степень гемолитической активности в %, по оси абсцисс - (А) время (минуты), (Б и В) концентрация в мкМ; n - количество экспериментов.

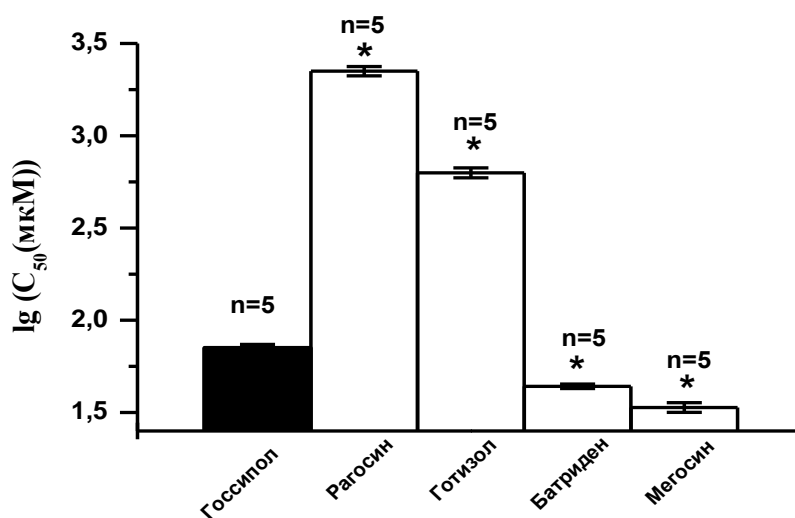


Рисунок 2. Сравнительная гемолитическая активность полифенольных соединений в отношении эритроцитов человека. По оси ординат – логарифмы эффективных концентраций веществ, приводящие к 50% гемолитической активности, по оси абсцисс – исследованные полифенолы. Статистически значимая разница (P < 0,05) обозначена знаком (*), n - количество опытов.

3) альдегидная группа госсипола отсутствует во всех исследованных продуктах, что означает, что эта группа не является детерминантой гемолитических свойств вещества.

Основываясь на полученных данных, мы можем прийти к заключению, что химические свойства радикалов в производных госсипола сильно влияют на гемолитическую активность вещества.

Определение биофизического механизма наблюдаемых процессов является необходимым условием при анализе физико-химических основ физиологического действия госсипола и его производных. В последующих экспериментах для изучения коллоидно-осмотического механизма процесса гемолиза, мы использовали концентрацию госсипола, вызывающую 100%-ный лизис (625 мкМ), и следующие концентрации полиэтиленгликолей (ПЭГ), которые достаточны для выравнивания градиента онкотического давления, генерируемого внутри эритроцитов молекулами гемоглобина: ПЭГ 1500 (25 мМ); ПЭГ 2000 (25 мМ); ПЭГ 3000 (20 мМ); ПЭГ 4000 (15 мМ); ПЭГ 6000 (12 мМ); ПЭГ 12000 (10 мМ); ПЭГ 35000 (3 мМ). В этих экспериментах, из использованных ПЭГ только самые крупные оказали заметное влияние на уровень гемолиза, но не устранили его полностью (рис. 2, А). Таким образом, согласно результатам, полученным с помощью метода осмозащиты (осмопротекции), было установлено, что госсипол разрушает эритроциты человека в изоосмотических условиях по неколлоидно-осмотическому механизму. Наиболее вероятным механизмом гемолиза в случае госсипола, по-видимому, является химический, при котором амфифильный гемолитик напрямую растворяет (или разрушает, дестабилизирует) плазматическую мембрану клетки путем связывания с липидами бислоя матрикса плазматической мембраны.

Транспорт анионов играет очень важную роль в красных кровяных клетках, потому что основная биологическая функция этого типа клеток – доставлять кислород к тканям, переносить образовавшийся там в результате метаболизма углекислый газ внутрь клетки в виде бикарбонатного аниона через мембранный хлор/бикарбонатный анионообменник и, в связанном с гемоглобином состоянии, транспортировать его к легким. Мы предположили, что крайне высокоактивный транспорт анионов в эритроцитах может защищать клетки от лизиса. Поэтому, в наших последующих экспериментах мы вызывали лизис эритроцитов человека под действием госсипола и исследовали влияние на этот процесс ингибитора транспорта анионов широкого спектра действия NPPB (5-нитро-2-3-фенилпропиламинобензойная кислота) при концентрации 100 мкМ, блокаторов объем-зависимых анионных каналов – флоретина (200 мкМ), глибенкламида (200 мкМ) и тамоксифена (50 мкМ), а также блокатора макси-анионных каналов – ионов гадолия (Gd^{3+}) при концентрации 50 мкМ.

Хотя мы и могли отметить небольшое увеличение эффективной концентрации госсипола, вызывающей 50%-й лизис при действии NPPB, флоретина и глибенкламидов, а также небольшое снижение этого параметра для тамоксифена, полученные величины статистически значимо не отличались от контроля (рис. 3, Б, В). Таким образом, можно заключить, что система транспорта анионов, в том числе объем-зависимого анионного

транспорта, не может противодействовать гемолизу эритроцитов человека под действием госсипола. Кроме того, полученный результат является ещё одним свидетельством того, что гемолиз под действием госсипола происходит не по коллоидно-осмотическому механизму, для которого можно было бы ожидать существенной протекторной роли объем-зависимого анионного транспорта.

Специфические ингибиторы для макси-анионного канала, который также активируется при увеличении клеточного объема, в настоящее время неизвестны, однако во многих исследованиях используются ионы гадолиния в концентрации 50 мкМ (Sabirov & Okada, 2009; 2012). Когда мы исследовали влияние Gd^{3+} на этот процесс, вызывая гемолиз в эритроцитах под действием госсипола, мы обнаружили, что форма кривой доза-зависимости значительно изменилась (рис. 3, Б). Гадолиний резко ингибировал действие госсипола при высоких концентрациях, тогда как при низких концентрациях (<150 мкМ) он сам вызывал спонтанный гемолиз примерно на уровне 20-25%. Полученный результат может свидетельствовать о дестабилизирующем действии ионов Gd^{3+} на мембрану эритроцитов. Однако этот поливалентный лантаноид, по-видимому, сам также связывает и инактивирует молекулы госсипола, в результате чего полный гемолиз не наблюдается даже при высоких концентрациях гемолитика.

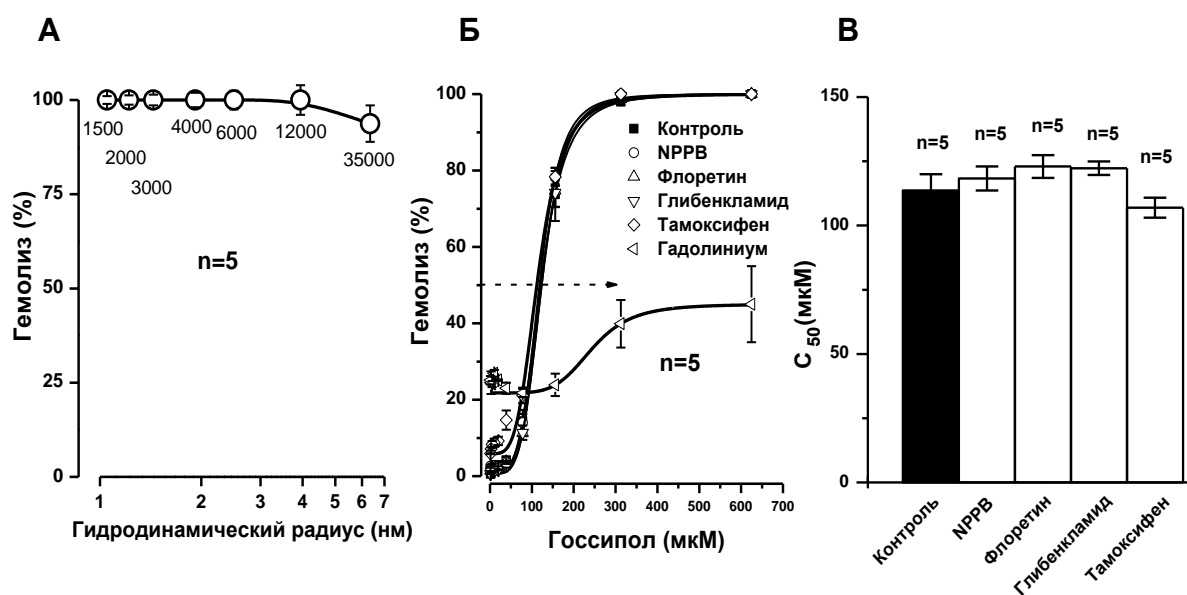


Рисунок 3. Влияние ПЭГ и блокаторов анионного транспорта на процесс гемолиза вызванного госсиполом. А) Влияние ПЭГ на процесс гемолиза. По оси ординат - степень гемолиза в %, по оси абсцисс – гидродинамический радиус ПЭГ в нм, n – количество опытов. Б) Зависимость гемолиза от концентрации госсипола в присутствии различных блокаторов анионного транспорта (37°C, 60 мин); В) Влияние блокаторов на C₅₀ госсипола: по оси ординат – концентрация госсипола (мкМ), по оси абсцисс - блокаторы. n - количество экспериментов.

Все типы клеток претерпевают осмотические изменения в процессе жизнедеятельности. Осмотический стресс в клетках тканей возникает в ходе нормальных физиологических процессов, как, например, в капиллярах при интенсивном дыхании, при пищеварении и при дефиците жидкости в почках, и кроме того при различных патологических состояниях в условиях воспаления, бактериальных инфекций и различных интоксикаций. Устойчивость клетки к факторам цитолитического стресса обеспечивается системой регуляции клеточного объема (Okada Y., 2018). Когда красные кровяные клетки человека набухают, активируются ионные каналы, зависящие от объема, что приводит к последующему уменьшению размера клеток. Мы предположили, что госсипол и его производные могут оказывать ингибирующее действие на регуляцию объема эритроцитов и активность объем-зависимого анионного канала (ОЗАК) в сублитических микромолярных дозах, и поэтому в наших последующих исследованиях мы исследовали влияние госсипола на осмотическую стойкость эритроцитов в растворах с различным осмотическим давлением.

В наших экспериментах мы наблюдали увеличение уровня лизиса клеток при понижении осмотического давления внеклеточной среды. Так, степень гемолиза составила $1,75 \pm 0,8\%$ ($n=5$) при осмотическом давлении в контрольном растворе, равном $290 \text{ мОсм/кг H}_2\text{O}$, и степень лизиса составляла более 90% при уменьшении осмотичности до $40\text{-}80 \text{ мОсм/кг H}_2\text{O}$ (рис. 4, А). Полученные результаты хорошо аппроксимировались уравнением Больцмана. В контрольных экспериментах эффективное давление (Π_{50}), приводящее к 50% гемолизу эритроцитарных клеток, составляло $95,8 \pm 3,3 \text{ мОсм/кг H}_2\text{O}$ ($n = 5$) (рис. 4). Этот показатель составил 88,2% ($n=5$) от контроля в присутствии 1 мкМ госсипола, 74,6% для 10 мкМ и 105,6% ($n=5$) для 50 мкМ (рис. 4, А и Б).

Обобщая результаты нашего исследования, можно сделать вывод, что, несмотря на то, что госсипол является гемолитиком, в низких концентрациях он увеличивает осмотическую резистентность эритроцитов человека, так как для лизиса в присутствии малых доз госсипола необходимо более низкое осмотическое давление, т.е. больший осмотический градиент. Это может быть связано с активацией системы регуляции объема клеток эритроцитов под действием госсипола или повышением устойчивости плазматической мембраны к механическому воздействию. Аналогичные эксперименты были проведены также и с производными госсипола. На основе полученных результатов, по своей эффективности защищать эритроциты при гипоосмотическом стрессе госсипол и его производных в низких концентрациях (1 мкМ) располагались в следующий ряд: мегосин > готизол > госсипол > рагосин > батриден.

Снижение осмотической резистентности эритроцитов при высоких концентрациях госсипола может быть связано с тем, что он сам обладает гемолитической активностью при этой дозе.

Способность красных кровяных клеток человека регулировать свой собственный объем играет важную роль в процессе коллоидно-осмотического лизиса, который происходит под действием порообразующих веществ. Нистатин, относящийся к классу полиеновых антибиотиков, образует в клеточной мембране поры, проницаемые для ионов натрия, хлора и воды. Это приводит к нарушению коллоидно-осмотического баланса. Равновесие в двойной Доннановской системе нарушается, клетка переходит в простую Доннановскую систему, в результате чего клеточный объем увеличивается до максимума и происходит ее лизис.

В наших экспериментах мы индуцировали коллоидно-осмотический лизис эритроцитов человека под действием нистатина и исследовали влияние на этот процесс госсипола при концентрациях 10–50 мкМ. Результаты по влиянию госсипола на устойчивость клеток эритроцитов к осмотическому и коллоидно-осмотическому стрессу представлены на рисунке 4.

Вначале мы определили зависимость степени гемолиза от концентрации нистатина. Когда результаты были аппроксимированы уравнением Хилла, эффективная концентрация нистатина, вызывающего 50% гемолиз (C_{50}), составила $85,7 \pm 8,6$ мкМ ($n = 5$) (рис. 4, В и Г).

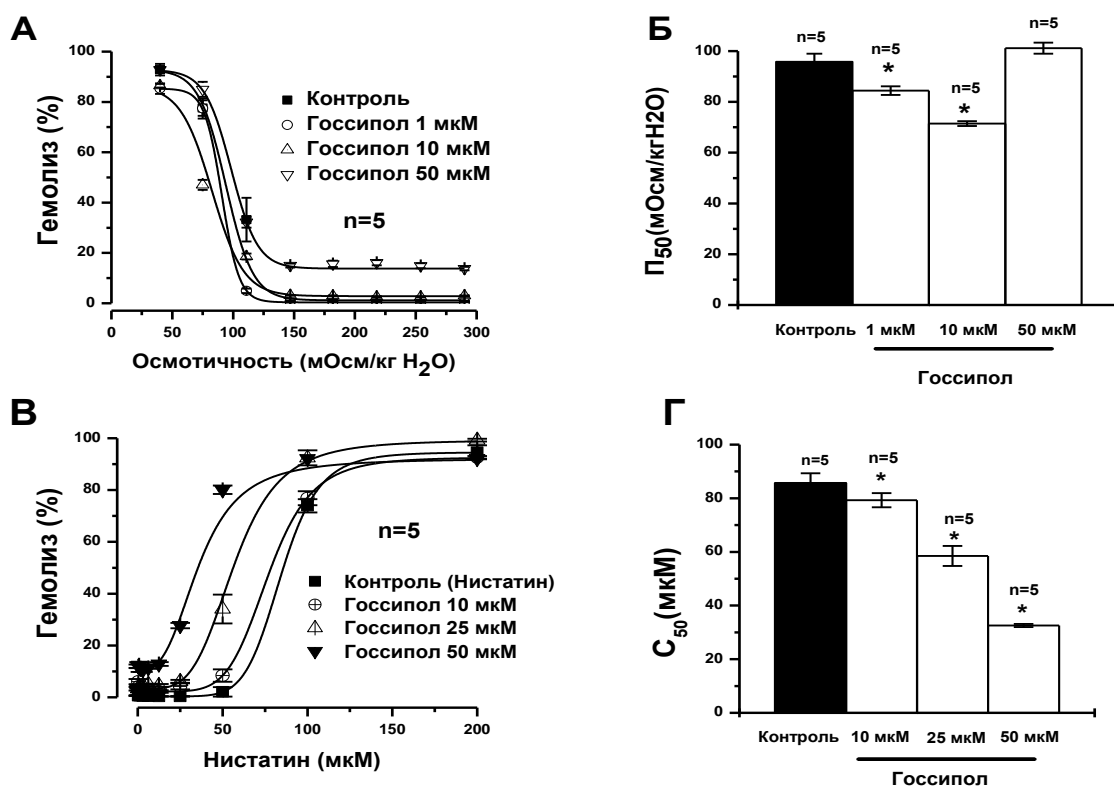


Рисунок 4. Влияние госсипола на устойчивость эритроцитов к осмотическому и коллоидно-осмотическому стрессу. А) Влияние госсипола на гемолиз эритроцитов в растворах с осмотическим давлением 40–290 мОсм/кг H₂O. По оси ординат – степень гемолиза выражена в %. Б) По оси ординат – осмотическое давление P_{50} , по оси абсцисс указаны условия эксперимента; В) Влияние госсипола на гемолиз, индуцированный нистатином (37°C, 60 мин); Г) Влияние госсипола на C_{50} в % от контроля. Статистически значимые отличия от контроля ($P < 0,05$) обозначены знаком (*).

В присутствии госсипола при 10 мкМ этот показатель составил 92,5% (n=5) от контроля, а при концентрации 25 мкМ – 68,3% (n = 5), и при концентрации 50 мкМ – 38,0% (n = 5) от контрольной величины (рис. 4, В и Г). Видно, что по мере увеличения концентрации госсипола устойчивость эритроцитов к гемолизу нистатином снижается.

На основании полученных результатов нами был сделан следующий вывод: госсипол в сублитических микромолярных дозах повышает чувствительность эритроцитов человека к коллоидно-осмотическому стрессу, вызванному нистатином. Наши последующие эксперименты показали, что производные госсипола рагосин, мегосин, готизол и батриден теряют это свойство и защищают эритроциты не только при осмотическом, но и при коллоидно-осмотическом стрессе.

Когда механизм лизиса не является коллоидно-осмотическим, протективная роль объем-зависимого анионного транспорта не проявляется. В то время, как нистатиновый гемолиз является полностью коллоидно-осмотическим, лизис эритроцитов под действием препарат эсцина, получаемого из конского каштана, протекает в основном не по коллоидно-осмотическому, а по химическому механизму. Поэтому, мы провели аналогичные эксперименты с этим препаратом, который также является эффективным гемолитиком в отношении эритроцитов человека. В контрольном эксперименте было установлено, что эффективная концентрация C_{50} эсцина равна $4,96 \pm 0,03$ мкМ (n=5).

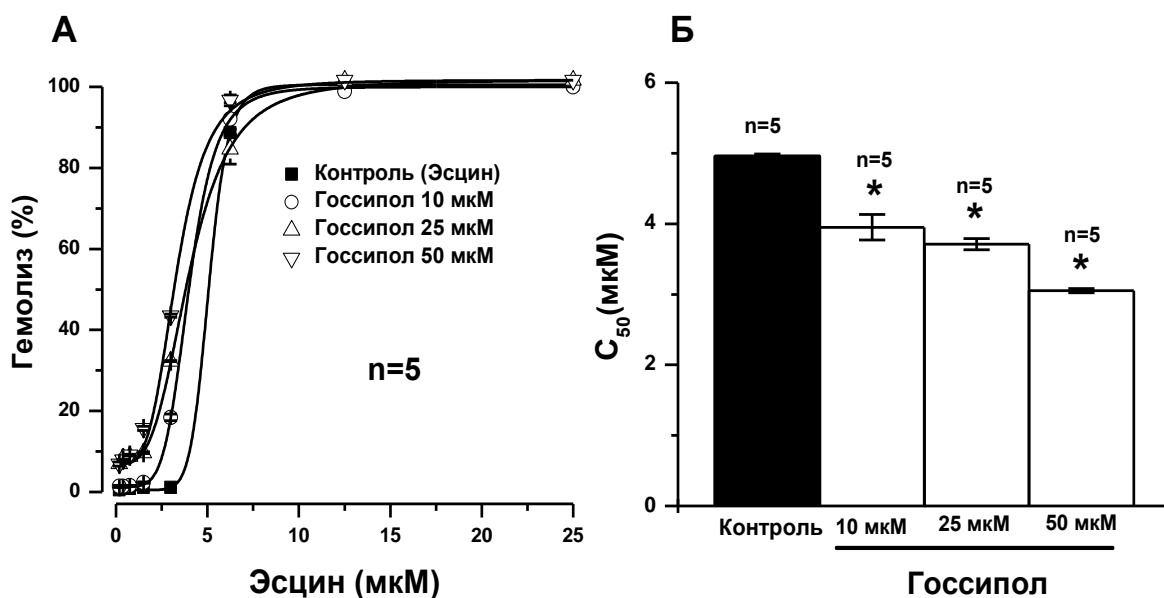


Рисунок 5. Потенцирующее влияние госсипола на гемолиз красных кровяных клеток человека, индуцированный эсцином. А) Зависимость стационарного уровня гемолиза (37°C, 60 мин) от концентрации эсцина в чистом растворе Рингера (контроль) и в присутствии госсипола в указанных концентрациях. Б) Эффективная концентрация эсцина, вызывающая 50%-й лизис (C_{50} , мкМ) в чистом растворе Рингера (контроль) и в присутствии госсипола в указанных концентрациях. Статистически значимое отличие от контроля (при $P < 0,05$) показано знаком (*).

Этот показатель составил 79,6% от контроля в присутствии 10 мкМ госсипола, 74,8% при 25 мкМ и 61,5% при 50 мкМ полифенола (рис. 5, А и Б). Таким образом, госсипол в этих экспериментах усиливал гемолиз неколлоидно-осмотического типа, вызываемый эсцином. Такое ослабляющее влияние сохранялось также и для всех остальных изученных производных госсипола.

В четвертой главе диссертации, озаглавленной **«Описание действия госсипола и его производных (рагосина, мегосина, готизола и батридена) на функциональные параметры клеток тимуса»**, представлены результаты исследования ингибирующего действия госсипола на систему регуляции объема клеток при гипоосмотическом стрессе и транспорта анионов. Объем тимотицитов в изотонической среде (нормальный раствор Рингера) оставался без изменений в течение 20-30 минут. В гипотонической среде тимотициты сначала быстро набухали (пассивный ответ), а затем восстанавливали свой объем до уровня, близкого к изотоническому (активный ответ). Этот процесс называется регуляторным уменьшением объема (*RVD* – *regulatory volume decrease*) (рис. 6, А). Для того, чтобы количественно охарактеризовать эффективность восстановления объема клеток, мы использовали параметр *RVD*. Этот параметр показывает процент восстановления клеточного объема в течение 15 минут.

В наших экспериментах было установлено, что госсипол оказывает сильное влияние на процесс регуляторного уменьшения объема тимотицитов. Когда клетки подвергались гипоосмотическому стрессу в присутствии госсипола, зависимость регуляторного изменения объема тимотицитов от концентрации вещества имело двухфазный характер. Параметр *RVD* в контроле был равен $83,7 \pm 3,6\%$ ($n=5$), он уменьшался с ростом концентрации госсипола до $20,2 \pm 2,9\%$ ($n=5$) при концентрации 10 мкМ. При дальнейшем увеличении концентрации госсипола, параметр *RVD* постепенно увеличивался и достигал значение $RVD = 124,0 \pm 9,8\%$ ($n=5$) при концентрации 100 мкМ. Полученные результаты были аппроксимированы с использованием уравнения Хилла, и в результате было установлено, что полумаксимальный эффект для первой фазы равен $2,1 \pm 0,3$ мкМ, а коэффициент Хилла $2,6 \pm 0,6$ (рис. 6, А, Б, В). Увеличение параметра *RVD* при высоких концентрациях госсипола (вторая фаза на кривой доза-зависимости) может быть связано с уменьшением стабильности эритроцитарной мембраны, или снижением внутриклеточного осмотического давления в результате образования пор в мембране и выходом через эти поры внутриклеточных осмолитов.

В последующих экспериментах было установлено, что все исследованные производные госсипола при низких микролярных концентрациях сильно ингибируют систему регулирования объема тимотицитов, и по своей эффективности вещества располагаются в следующий ряд: госсипол > готизол > батриден > мегосин > рагосин.

В механизме регуляции объема тимоцитов важную роль играют Ca^{2+} -, K^+ - и Cl^- -каналы и котранспорт K^+/Cl^- . Блокада транспорта K^+ и Cl^- в тимоцитах приводит к полной остановке процесса регуляторного уменьшения клеточного объема.

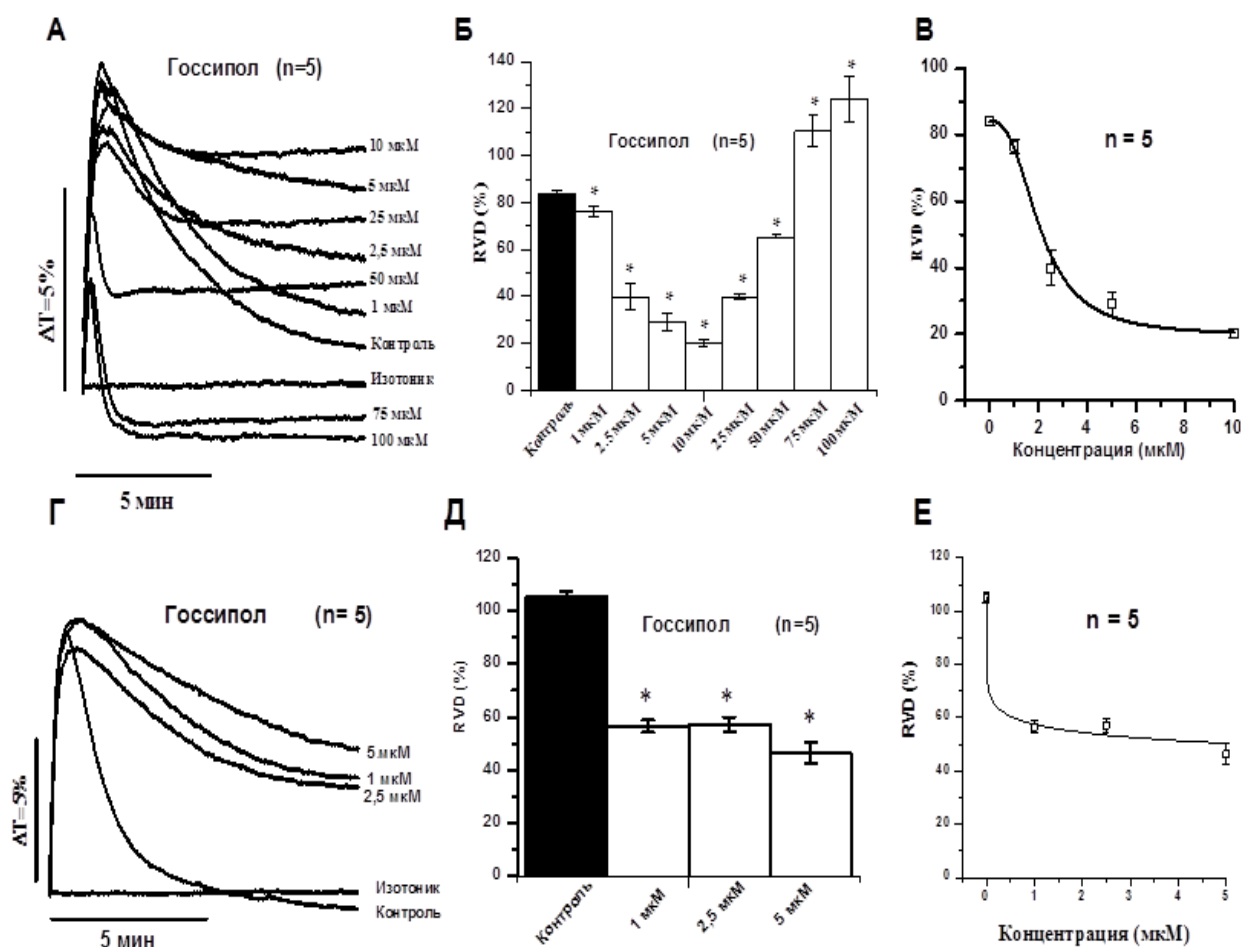


Рисунок 6. Ингибирующее действие госсипола на систему регуляции объема тимоцитарных клеток в условиях гипоосмотического стресса и зависимость процесса от транспорта анионов. А и Г) Показаны оригиналы записей изменения светопропускания суспензии клеток. Б и Д) По оси ординат – регуляция объема клеток в %, по оси абсцисс - количество госсипола в мкМ. В и Е) Аппроксимация экспериментальных точек уравнением Хилла с параметрами, указанными в тексте. n – количество экспериментов. Статистически значимое отличие от контроля (при $P < 0,05$) показано знаком (*).

Для того, чтобы изучить механизм действия госсипола на регуляцию объема клеток в условиях гипоосмотического стресса, все одновалентные катионы в гипотоническом растворе были заменены на большой органический катион – N-метил-D-глюкамин (НМДГ), а катионная проницаемость клеточной мембраны была увеличена добавлением в среду грамицидина Д (ГрД). Когда тимоциты добавлялись в гипотонический раствор Рингера с ГрД и НМДГ (далее называемым НМДГ-ГрД), клетки первоначально набухали, а затем восстанавливали свой объем даже

несколько лучше, чем в обычном натрий-содержащем гипотоническом растворе Рингера. В этих условиях регуляция объема клеток главным образом зависит от активности объемно-зависимого транспорта анионов (Rustamova et al. 2019). В наших экспериментах объем клеток снижался по сравнению с исходным уровнем, и параметр *RVD* был равен $105,2 \pm 6,6\%$. При внесении госсипола в эту инкубационную среду, параметр *RVD* постепенно уменьшался с увеличением его концентрации. Когда результаты были аппроксимированы с помощью уравнения Хилла, были получены следующие параметры: $C_{50} = 3,1 \pm 1,8$ мкМ, коэффициент Хилла $1,0 \pm 0,1$ (рис. 6 Г, Д, Е).

Таким образом, основываясь на ингибирующем эффекте госсипола в специально подобранной экспериментальной среде НМДГ-ГрД, в которой процесс *RVD* в основном зависит от анионной проницаемости, установлено, что блокирующий эффект госсипола на регуляцию объема тимоцитов осуществляется за счет блокировки именно объема-зависимого анионного транспорта. Этот эффект был воспроизведен для всех изученных производных госсипола.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что госсипол в изоосмотических условиях разрушает эритроциты человека с полумаксимальной эффективной концентрацией, равной $67,4 \pm 1,6$ мкМ, по неколлоидно-осмотическому и независимому от анионного транспорта механизму. Установлено, что гемолитическая активность батридена и мегосина в 1,5–2 раза выше, а гемолитическая активность готизола и рагосина резко (в 10–30 раз) понижена, по сравнению с госсиполом.

2. Несмотря на то, что госсипол является гемолитиком, впервые установлено, что в сублитических микромолярных дозах он способен защищать эритроциты человека от осмотического стресса. Данное свойство сохраняется и у его производных; по своей эффективности исследованные соединения располагаются в следующий ряд: мегосин > готизол > госсипол > рагосин > батриден.

3. Установлено, что госсипол в сублитических микромолярных дозах увеличивает чувствительность эритроцитов человека к коллоидно-осмотическому стрессу, вызванному нистатином. У рагосина, мегосина, готизола и батридена это свойство теряется, и они способны защищать эритроциты не только от осмотического, но и от коллоидно-осмотического стресса.

4. Госсипол и все его производные не защищают эритроциты от неколлоидно-осмотического лизиса под действием эсцина, а наоборот, усиливают его.

5. Установлено, что госсипол и все его исследованные производные в низких концентрациях инактивируют систему регуляции объема тимоцитов: по своей эффективности исследованные соединения располагаются в следующий ряд: госсипол > готизол > батриден > мегосин > рагосин;

установлено, что это свойство реализуется путем блокирования объем-зависимого анионного транспорта.

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

INSTITUTE OF BIOPHYSICS AND BIOCHEMISTRY

CHORIEVA NARGIZA MAMARAJABOVNA

**MODULATION OF THE MEMBRANE PROCESSES IN
ERYTHROCYTES AND LYMPHOCYTES BY GOSSYPOL AND ITS
DERIVATIVES**

03.00.02 – Biophysics and radiobiology

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

Tashkent – 2021

The title of the dissertation of PhD has been registered with number B2020.4.PhD/B86 at the Supreme Attestation Commission of the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan.

The dissertation has been prepared at the National University of Uzbekistan.

The abstract of the dissertation in three (Uzbek, Russian and English (Resume)) languages has been placed on the website of the Scientific Council (www.ibb-nuu.uz) and on the website of «ZiyoNet» information and educational portal (www.ziyo.net).

Scientific supervisor:	Sabirov Ravshan Zairovich doctor of biological sciences, academician
Official opponents:	Khushmatov Shunkor Sadullaevich doctor of biological sciences Tashmuxeimedova Shokhista Sobirovna candidate of biological sciences, professor
Leading organization:	Andijon State University

The dissertation will be defended on _____ 2021 year ____ at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.B.01.13 at the Institute of Biophysics and Biochemistry, at the National University of Uzbekistan at the following address: 100174, Tashkent city, Almazar district, Student`s town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Institute of Biophysics and biochemistry, National University of Uzbekistan (registration number № ____). Address: 100174, Tashkent city, Olmazor district, Student`s town, University st., 174. Phone: (99871) 262-68-96. e-mail: ibb-nuu@mail.ru.

The abstract of the dissertation has been distributed on « ____ » _____ 2021.
(Protocol at the register № ____ dated « ____ » _____ 2021).

Asrarov Muzaffar Islamovich
Acting Vice-Chairman of the Scientific Council Awarding
Scientific Degrees, D.B.Sc., professor

Pozilov Mamurjon Komiljonovich
Scientific secretary the Scientific Council Awarding
Scientific Degrees, D.B.Sc.

Axmedjanov Iskandar Gulyamovich
Chairman of the academic seminar under the
Scientific Council Awarding Scientific Degrees, D.B.Sc., professor

INTRODUCTION (abstract of PhD dissertation)

The aim of the research work is the determination of the influence of gossypol and its derivatives on the processes associated with the regulation of cell volume in the membranes of erythrocytes and lymphocytes and the elucidation of its mechanism.

The objects of the research work: served as human erythrocytes, thymocyte cells of young rats, gossypol isolated from cotton seeds (*Gossipium L.*), and its derivatives (ragosin, megasin, gotizol and batridene).

The scientific novelty of the research work is as follows:

it was found that gossypol destroys human erythrocytes under isoosmotic conditions by a non-colloid-osmotic mechanism that is not associated with anionic transport; hemolytic activity was 1.5–2 times higher for batriden and megosine, and significantly (10–30 times) lower for gotizole and ragosine;

it was found that in sublimate doses, gossypol and its derivatives have a protective effect on human erythrocytes under osmotic stress, and this property turned out to be the strongest in megosine, and the lowest in batriden;

it was found that gossypol in sublitic micromolar doses increases the sensitivity of human erythrocytes to colloid-osmotic stress, while in derivatives this property is lost, and they protect erythrocytes not only in osmotic, but also in colloid-osmotic stress;

it was found that gossypol and all its derivatives in small micromolar doses effectively suppress the thymocyte volume regulation system, and this property was most pronounced in gossypol and the lowest in ragosine.

Implementation of the research results. Based on the scientific results obtained on the modulation of membrane processes in erythrocytes and lymphocytes under the influence of gossypol and its derivatives:

the results on the effect of gossypol and its derivatives on the processes in erythrocytes under osmotic stress and regulation of thymocyte volume were used in the applied project PZ-20171024153 «Creation of a test system on the culture of small intestinal cancer cells for screening biologically active substances» as methodological, theoretical and practical data for determining the mechanisms of action of lectin-like proteins *Cuscuta evropea* on processes in the membrane of erythrocytes and on the regulation of lymphocyte volume (Certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4/1255-2593 dated November 23, 2020). The results made it possible to describe the membrane-active properties of the extract obtained from the poveliki plant and its effect on the mechanism of cell volume regulation;

the results on the effect of gossypol and its derivatives on the lysis of erythrocytes and the regulation of thymocyte volume under hypoosmotic stress were used in the fundamental project FA-I11-T009 "Organization of the production of anti-Chlamydial suppositories - gozalidone and the antiviral action of megosin" when elucidating the mechanisms of action of gossalidon and gossypol derivatives megosine against chlamydia and viruses (Certificate of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan No. 4 / 1255-2594 dated

November 23, 2020). As a result, it became possible to compare the action of gossypol and its derivatives on biological membranes, to describe the mechanisms of action of gozolidone and megosine.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists of introduction, four chapters, conclusions and list of publications. Total volume is 109 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; I part)

1. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Нуритдинова Н.С., Матчанов А.Д.,Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Госсипол ва унинг ҳосилалари таъсиридаги одам эритроцитларининг лизисини ўрганиш. // ЎзМУ хабарлари. –2015. –№3/1. – Б.49-51. (03.00.00., №9).

2. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Нуритдинова Н.С., Матчанов А.Д.,Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Одам қизил қон хужайраларидан осмотик стресс шароитида гемоглобин чиқишига госсипол ва батриденнинг таъсири. // ЎзМУ хабарлари. –2015. –№3/1. –Б.52-54. (03.00.00., №9)

3. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.,Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Исследование механизма литического действия госсипола на эритроциты человека. // Узб. биол. Журнал. –2015. –№2. – С.3-7. (03.00.00., №5).

4. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.,Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Госсипол потенцирует коллоидно-осмотический лизис эритроцитов человека. // ДАН РУз. –2015. –№ 5. – С.99-102. (03.00.00., №6).

5. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.М., Далимов Д.Н., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Одам қизил қон хужайраларидан осмотик стресс шароитида гемоглобин чиқишига рагосин, мегосин ва готизолнинг таъсири. // Гулистон давлат университети ахборотномаси. –2016. –№3. –Б.13-16. (03.00.00., №3).

6. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.М., Далимов Д.Н., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Одам эритроцитларининг коллоид-осмотик лизис жараёнига рагосин, мегосин, готизол ва батриденнинг химояловчи таъсири. // Гулистон давлат университети ахборотномаси. –2017. –№3. –Б.14-17. (03.00.00., №3).

7. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Зияев Х.Л., Эрматов А.М., Эсанов Р.С., Далимов Д.Н., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Одам қизил қон хужайраларининг β-эсцилли лизис жараёнига рагосин, мегосин, готизол ва батриденнинг таъсири. // ЎзМУ хабарлари. – 2017. –№3/1. –Б.188-191. (03.00.00., №9).

8. Chorjieva N.M., Fayziev D.D., Tsiferova N.A., Toshtemirova G.A., Khamidova O.J., Merzlyak P.G., Kurbannazarova R.Sh., Ziyaev Kh.L., Gafurov M.B., Sabirov R.Z. Lytic and sublytic effects of gossypol on red blood cells and thymocytes. // Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology. – 2021. – V. 48; – P. 227-237. (SCOPUS Cite Score 4.2).

II бўлим (II часть; II part)

9. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Файзиев Д.Д., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Далимов Д.Н., Гафуров М.Б., Матчанов А.Д., Ташмухамедов Б.А., Сабилова Р.З. Исследование влияния госсипола и его производных на эритроциты человека. // Конференция молодых ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений». Ташкент. (19 марта) – 2012 года. – С. 61.

10. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Неколлоидный механизм литического действия госсипола на эритроциты человека. // Конференция молодых ученых «Актуальные проблемы химии природных соединений» посвященной памяти акад. С.Ю. Юнусова. Ташкент (12 марта). – 2015. – С. 149.

11. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Нуритдинова Н.С., Матчанов А.Д., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Госсипол одам қизил қон хужайраларининг осмотик резистентлигини оширади. // Материалы научно-практической конференции «Актуальные проблемы физико-химической биологии», посв. 80-летию акад. АН РУз Ташмухамедова Б.А. Ташкент (14 апреля). – 2015. – С. 349.

12. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Потенцирующее действие госсипола на коллоидно-осмотический лизис эритроцитов человека. // Материал международной конференции молодых ученых. «Экспериментальная и теоретическая биофизика '12». Пущино. (2-3 ноября) – 2015. – С. 150.

13. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.М., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Госсипол таъсиридаги гемолиз жараёнининг коллоид-осмотик механизмида анион транспорти ролини ўрганиш. // «Физик-кимёвий биология ва экотоксикологиянинг замонавий муаммолари» мавзусидаги илмий-амалий анжумани, проф. Мирходжаев У.З. нинг 70 йиллик таваллудига бағишланган. Тошкент (26 апрел). – 2016. – Б. 247-248.

14. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.М., Далимов Д.Н., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Осмотик стресс шароитида эритроцитлардан гемоглабин чиқишига рагосин, мегосин ва готизолнинг таъсири. // Ёш олимлар Республика конференцияси «Соғлиқни сақлаш ва қишлоқ хўжалигининг долзарб муаммоларини ечишда биоорганик кимёнинг роли». Тошкент (15-16 ноябрь). – 2016. – Б. 61-62.

15. Чориева Н.М., Хамидова О.Ж., Курбанназарова Р.Ш., Мерзляк П.Г., Гафуров М.Б., Ҳақбердиев Ш.М., Далимов Д.Н., Ташмухамедов Б.А., Сабилов Р.З. Осмотик стресс шароитида эритроцитлардан гемоглабин чиқишига рагосин, мегосин ва готизолнинг таъсири. // Ёш олимлар Республика конференцияси «Соғлиқни сақлаш ва қишлоқ хўжалигининг

долзарб муаммоларини ечишда биоорганик кимёнинг роли». Тошкент (15-16 ноябрь). – 2016. – Б. 62-63.

16. Choriyeva N.M., Kurbannazarova R.Sh., Merzlyak P.G., Ziyayev Kh.L., Ermatov A.M., Tashmukhamedov B.A., Sabirov R.Z. Effect of gossypol on the regulation of thymocyte cell volume under hypoosmotic stress. // In: Abstracts of the 12th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Tashkent. Uzbekistan. (September 7-8). – 2017. – P. 397.

Автореферат «Ўзбекистон биология журналы» журналы таҳририятида
таҳрирдан ўтказилди (20.04.2021 й.)