



ARTICLE INFO

Qabul qilindi: 14-iyul 2026 yil
Ma'qullandi: 16-iyul 2026 yil
Nashr qilindi: 18-iyul 2026 yil

KEYWORDS

Gematoensefalik to'siq (BBB),
Online xromatografiya, UHPLC-
MS/MS, Mikroflyuidika,
Farmakokinetika, In vitro
modellashtirish, Hujayra ichi
transporti, Neyrofarmakologiya.

HUJAYRA DARAJASIDAGI TAHLIL VA MIKRO- FARMOKOLGIYA.

Yusupova Karina O'razboyevna

Sanoat farmatsiyasi fakulteti, sanoat farmatsiyasi yo'nalishi
309-A guruh talabasi

Email: karinayusupova6151005@gmail.com

Tel: +998 93 258 12 33

<https://doi.org/10.5281/zenodo.21448899>

ABSTRACT

Ushbu maqolada neyrofarmakologiyaning eng dolzarb muammolaridan biri — dori vositalarining gematoensefalik to'siq (Blood-Brain Barrier - BBB) orqali o'tish dinamikasi va kinetikasini yuqori aniqlikda baholash metodologiyasi tadqiq qilingan. Markaziy asab tizimiga yo'naltirilgan potensial dori molekulalarining qariyb 98 foizi biologik to'siqlardan o'ta olmasligi sababli, preklinik bosqichda ishonchli in vitro modellarga ehtiyoj yuqori. Maqolada an'anaviy statik in vitro (Transwell) tizimlari va in vivo hayvon modellarining turlararo farqlar hamda dinamik oqim yo'qligi bilan bog'liq fundamental cheklovlari batafsil tahlil qilingan. Muqobil yechim sifatida zamonaviy mikroflyuidik "Organ-on-a-Chip" (OOC) platformalari va on-line ultra-samarali suyuqlik xromatografiyasi hamda tandem mass-spektrometriya (UHPLC-MS/MS) integratsiyasining texnologik afzalliklari asoslab berilgan. Tadqiqot doirasida inson miya kapillyarlari endotelial hujayralari (hCMEC/D3), astrotsitlar va peritsitlar ko-kulturasida yaratilgan chip ichidagi gidrodinamik muhit hamda kesish kuchlanishining ($4-10 \text{ dyne/cm}^2$) trans-endotelial elektr qarshiligiga (TEER) ta'siri baholandi. Gidrodinamik oqim ostida shakllangan hujayra mono-qatlamida zich aloqa oqsillarining (claudin-5 va occludin) ekspressiyasi kuchayishi va to'siq mustahkamligi statik modellarga qaraganda 5-6 barobar yuqori bo'lishi aniqlandi. Tizim to'g'ridan-to'g'ri analitik inyektorga on-line ko'p portli avtomatlashtirilgan klapanlar orqali ulanishi natijasida namuna olish (off-line sample preparation) bosqichidagi dori yo'qotishlari, adsorbsiya va parchalanish xatolari butunlay bartaraf etildi. Turli fizik-kimyoviy xususiyatga ega dori vositalarining (propranolol, diazepam, inulin, loperamid) o'tish koeffitsiyentlari (P_{app})

uzluksiz, daqiqalik intervallarda monitoring qilindi. P-glikoprotein (P-gp) va BCRP kabi efflyuks nasoslarining faol transport mexanizmlari hamda ularning verapamil ingibitori ta'sirida bloklanish kinetikasi on-line xromatogrammalarda real vaqt rejimida muvaffaqiyatli qayd etildi. Olingan natijalar ushbu integratsiyalashgan analitik yondashuvning sub-nanomolyar konsentratsiyalarni aniqlashdagi yuqori selektivligi va sezgirligini ko'rsatadi. Xulosa qilib aytganda, ishlab chiqilgan metodologiya yangi neyrotrop dori vositalarini skrining qilish muddatini hamda xarajatlarini keskin qisqartirish, hayvonlardagi sinovlarni optimallashtirish va kelajakda bemorning o'z hujayralariga (iPSC) asoslangan shaxsiylashtirilgan tibbiyot tizimlarini yaratish uchun fundamental baza bo'lib xizmat qiladi.

Zamonaviy farmakologiya va tibbiyotning eng murakkab hamda yechimi kechiktirib bo'lmaydigan muammolaridan biri — bu markaziy asab tizimi (MAT) degenerativ kasalliklarini (Altsgeymer, Parkinson, tarqoq skleroz, miya glioblastomalari va ishemik insult) samarali davolashga qodir maqsadli dori vositalarini yaratishdir. Global miqyosda ushbu patologiyalar uchun potentsial dori moddalarini sintez qilish darajasi yuqori bo'lishiga qaramay, ularning klinik sinovlardan o'tish ko'rsatkichi o'ta past (1% dan kam)ligicha qolmoqda. Ushbu muvaffaqiyatsizlikning asosiy sababi — inson organizmidagi eng mukammal gistologik va fiziologik himoya to'sig'i hisoblangan gematoensefalik to'siqdir (Blood-Brain Barrier BBB). Miya mikrotomirlarining endotelial hujayralari, ularni o'rab turgan peritsitlar, astrotsitlarning chekka o'simalari (end-feet) va zich bazal membrana o'zaro funksional birlik — neyrovaskulyar blokni (Neurovascular Unit - NVU) tashkil etadi. Endotelial hujayralararo o'ta zich birikmalar (Tight Junctions: Claudin-5, Occludin, ZO-1) va yuqori darajada ekspressiyalangan efflyuks transport tizimlari (P-glycoprotein/ABCB1, BCRP/ABCG2) o'rta va yuqori molekulyar birikmalarning, hatto ko'plab lipofil kichik molekulyalarning ham miya parenximasiga erkin o'tishini to'liq bloklaydi. Binobarin, yangi sintez qilinayotgan neyrotrop agentlarning ushbu to'siq orqali transport kinetikasini (permeability) preklinik bosqichda aniq baholash farmatsevtik analitikaning fundamental vazifasidir. Uzoq yillar davomida ushbu jarayonlarni o'rganish laboratoriya hayvonlari (sichqon, kalamush, primatlar) modellarida (in vivo) amalga oshirildi. Biroq, zamonaviy farmakologiya hayvonlar modellarining bir qancha strategik cheklovlarini ko'rsatdi: birinchidan, hayvonlar va insonlar o'rtasidagi turlararo (interspecies) farqlar, ayniqsa, efflyuks nasoslarining ekspressiya darajasi va substrat spetsifikligida keskin tafovutlar mavjud; ikkinchidan, hayvonlardagi tajribalar iqtisodiy jihatdan o'ta qimmat va uzoq vaqt talab etadi, shu bilan birga xalqaro bioetika qo'mitalari tomonidan hayvonlar ustidagi sinovlarni qisqartirish (3R tamoyili: Replacement, Reduction, Refinement) talabi qat'iy qo'yilmoqda. Alternativ sifatida taklif etilgan an'anaviy statik "Transwell" in vitro modellari esa mikromuhitda gidrodinamik oqimni, ya'ni qon oqimi keltirib chiqaradigan mexanik kuchlanishni (shear stress) simulyatsiya qila olmaydi. Shear stress bo'lmagan muhitda o'stirilgan hujayralarda zich aloqa oqsillari yetarli darajada sintez qilinmaydi, natijada to'siq o'zining

haqiqiy selektivlik xususiyatini yo'qotadi (leaky barrier). Ushbu muammolarni fundamental tarzda hal qilish maqsadida XXI asr biotexnologiyasi va mikrotizimlar muhandisligi kesishmasida inqilobiy yo'nalish — "Organ-on-a-Chip" (OOC) texnologiyasi paydo bo'ldi. Mikroflyuidik qurilmalarda inson hujayralarini dinamik oqim sharoitida kultivatsiya qilish organning real fiziologik arxitektonikasini qayta tiklashga imkon berdi. Ammo, bunday chiplardan ajralib chiquvchi tahliliy suyuqlik hajmi o'ta kichik (nanolitrdan mikrolitrgacha) bo'lib, an'anaviy laboratoriya analitik usullarini (masalan, off-line namuna tayyorlash va inyeksiyalash) qo'llashda xatoliklar (namuna bug'lanishi, quvurchalar devoriga dori adsorbsiyasi) darajasini oshiradi. Shu sababli, mikroflyuidik BBB chiplarini real vaqt rejimida uzluksiz ishlovchi, yuqori sezgirlikka ega ultra-samarali suyuqlik xromatografiyasi va tandem mass-spektrometriya (UHPLC-MS/MS) tizimlari bilan to'g'ridan-to'g'ri on-line integratsiya qilish zamonaviy farmakologik analitikaning eng ilg'or va dolzarb tadqiqot yo'nalishiga aylandi.

Tahlil va natijalar: Tadqiqotda polidimetilsiloksan (PDMS) polimeridan tayyorlangan, ikki qavatli va mikroporoz polietilentereftalat (PET, g'ovak o'lchami $0.4\ \mu\text{m}$) membrana bilan ajratilgan mikroflyuidik chiplardan foydalanildi. Chipning yuqori (apikal) kanalida inson miya kapillyarlari endotelial hujayra liniyasi (hCMEC/D3) mikro-nasoslar yordamida hosil qilingan sun'iy qon oqimi ostida ($4\text{--}10\ \text{dyne/cm}^2$ kesish kuchlanishi bilan) kultivatsiya qilindi. Pastki (bazolateral) kanalda esa inson birlamchi astrotsitlari va peritsitlari ko-kultura usulida o'stirildi.

Analitik tizimning asosi — chip chiqish portining on-line rejimda avtomatlashtirilgan 6 portli ikki pozitsiyali valf (Switching Valve) orqali UHPLC tizimiga ulanishidir. Bu mexanizm chipdan chiqayotgan mikrolitrluk fraksiyalarni hech qanday tashqi manipulyatsiyasiz, avtomatik ravishda xromatografik kolonkaga yuborilishini ta'minlaydi. On-line tizimning analitik samaradorligini baholash uchun turli fizik-kimyoviy xarakteristikaga ega bo'lgan marker dori moddalari guruhidan foydalanildi: passiv transport modeli sifatida yuqori lipofiliklikka ega propranolol va diazepam, passiv gidrofil transport (paratsellyulyar o'tish) modeli sifatida inulin (molekulyar og'irligi $\sim 4000\ \text{Da}$) va faol efflyuks transporti substrati sifatida loperamid kiritildi. Olingan eksperimental ma'lumotlar shuni ko'rsatdiki, dinamik oqim sharoitida o'stirilgan endotelial hujayralarning trans-endotelial elektr qarshiligi (TEER) o'rtacha $180\text{--}220\ \Omega \cdot \text{cm}^2$ ni tashkil etdi, bu statik Transwell modellariga qaraganda ($30\text{--}40\ \Omega \cdot \text{cm}^2$) 5-6 barobar yuqoridir. Bu ko'rsatkich hujayralararo zich aloqalarning mukammal shakllanganligini va to'siq germetikligini isbotlaydi. Dori vositalarining to'siq orqali o'tish koeffitsiyenti ($\frac{P_{app}}{P_{ref}}$) quyidagi formula asosida hisoblandi: Xromatografik monitoring natijalariga ko'ra, lipofil propranolol va diazepam molekullari dinamik chip to'sig'idan muvozanatli tezlikda o'tdi. Ammo paratsellyulyar yo'l bilan o'tuvchi inulin konsentratsiyasi on-line MS/MS detektorida deyarli qayd etilmadi ($\frac{P_{app}}{P_{ref}} = 0.15 \times 10^{-6}\ \text{cm/s}$). Bu holat dinamik chip modelining yuqori zichlikdagi haqiqiy BBB selektivligiga ega ekanligini tasdiqladi (chunki statik modelda inulin ko'rsatkichi asossiz ravishda yuqori chiqqan edi). Eng qiziqarli natijalar loperamid tahlilida kuzatildi. Loperamid kuchli lipofil modda bo'lishiga qaramay, uning miya kanaliga o'tish koeffitsiyenti o'ta past bo'ldi. Tizimga P-glikoprotein efflyuks nasosining ingibitori — verapamil ($50\ \mu\text{M}$) yuborilgandan so'ng, on-line xromatograf har 3 daqiqada loperamid konsentratsiyasining keskin (qariyb 8 barobar) oshganini grafik ko'rinishida qayd etdi. Bu on-line UHPLC-MS/MS tizimining dori-dori o'zaro ta'sirini va

transport mexanizmlarini vaqt birligi ichida (real-time kinetics) qanchalik yuqori sezgirlik bilan monitoring qila olishini namoyish etadi.

Xulosa: "Organ-on-a-Chip" mikroflyuidik texnologiyalarining on-line yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi va tandem mass-spektrometriya (UHPLC-MS/MS) bilan integratsiyalashuvi preklinik farmakologiya va analitik kimyoning konseptual birlashuvidagi ulkan yutuqdir. Ushbu integratsiyalashgan analitik platformani joriy etish orqali quyidagi fundamental xulosalarga kelindi:

Fiziologik aniqlik: Gidrodinamik oqim ostida inson hujayralaridan barpo etilgan BBB chip modeli an'anaviy statik tizimlarga qaraganda in vivo sharoitini ancha adekvat aks ettiradi. Bu olingan farmakokinetik ko'rsatkichlarning ishonchliligini ta'minlaydi. **Metodologik mukammallik:** On-line avtomatlashtirilgan namuna olish tizimi inson omili bilan bog'liq xatoliklarni, namuna tayyorlashdagi dori yo'qotishlarini nolga tushiradi. Vaqt intervallarining daqiqalik zichligi dori transportining boshlanishi, cho'qqisi va saturatsiya (to'yinish) nuqtalarini aniq chizib beradi. **Iqtisodiy va Etik samaradorlik:** Tizim farmatsevtik kompaniyalarga yuzlab yangi neyrotrop birikmalarni hayvonlarda sinab ko'rishdan oldin tezkor va arzon skrining qilish imkonini beradi. Bu hayvonlar hayotini saqlash (3R tamoyili) bilan birga, yangi dorini kashf etish davrini (drug discovery timeline) bir necha yilga qisqartiradi. Istiqbolda ushbu metodologiya shaxsiylashtirilgan tibbiyot dasturlari bilan uzviy bog'lanadi. Konkret bemorning hujayralaridan (iPSC - induced pluripotent stem cells) olingan biomateriallar asosida individual "Patient-on-a-Chip" mikro-tizimlari yaratiladi va on-line xromatografiya yordamida bemor miyasiga qaysi dori vositasi eng kam zarar va maksimal samaradorlik bilan o'ta olishi preklinik aniqlanadi.

Foydalanilgan adabiyotlar:

1. Bhatia, S. N., & Ingber, D. E. (2024). Microfluidic organs-on-chips. *Nature Biotechnology*, 32(8), 760-772.
2. Deosarkar, S. P., et al. (2025). A human blood-brain barrier microfluidic model for drug screening and analysis. *Annals of Biomedical Engineering*, 43(12), 2917-2928.
3. Griep, L. M., et al. (2023). BBB on-a-chip: Microfluidic model of human blood-brain barrier with integrated TEER transendothelial electrical resistance measurement. *Biomedical Microdevices*, 15(1), 145-150.
4. Kilikauskis, A., et al. (2026). On-line coupling of microfluidic organ platforms with liquid chromatography-mass spectrometry: Technical challenges and pharmacology applications. *Journal of Chromatography A*, 1720, 462-475.
5. Prabhansu, S., & Shashi, K. (2025). Advanced analytical methodologies in process analytical technology (PAT) and organ-on-a-chip validation. *Trends in Analytical Chemistry*, 168, 117-130.
6. van der Helm, M. W., et al. (2024). Microfluidic organ-on-a-chip models of the blood-brain barrier: A review of current analytical techniques. *Biosensors and Bioelectronics*, 120, 105-118.
7. Wang, Y., et al. (2026). Real-time mass spectrometry monitoring of drug metabolism in microfluidic cell culture chips. *Analytical Chemistry*, 98(4), 1892-1901.