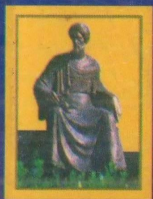
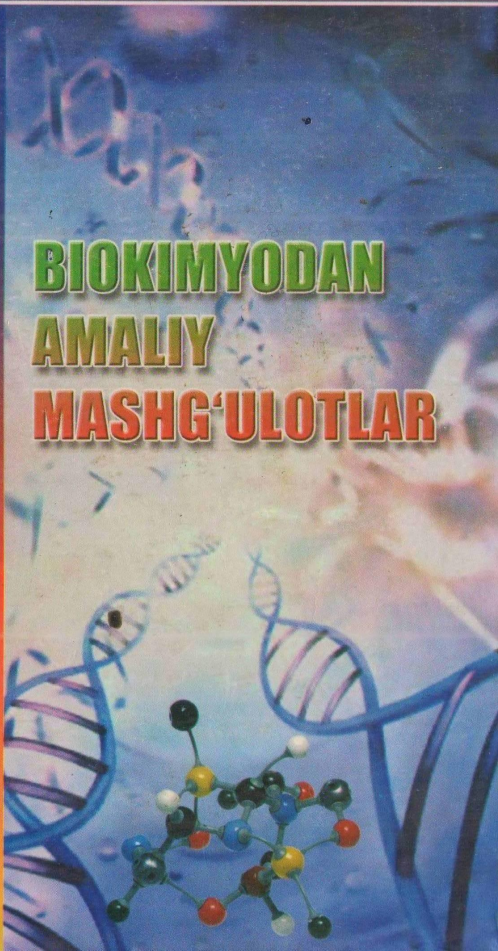


TIBBIYOT O'QUV ADABIYOTI



**BIOKIMYODAN
AMALIY
MASHG'ULOTLAR**

R.G'.Sultonov
N.M.Xolmuhammedova
O'.L.Sultonxo'jayev
Sh.F.Karimova



Tavsiya qilinayotgan darslikda bolalar organizmining tarkibiy va funksional xususiyatlari, ayrim biokimyoviy jarayonlarning o'ziga xosligi ko'rsatilgan. Kitobda, shuningdek, oqsil, karbonsuv, yog'lar almashinuvi, mahsulotlarning bolalar organizmi ushun tarkibiy ko'rsatkichlari berilgan.

Qo'llanmada ko'proq o'sish jarayonida bolalar organizmida ro'y beradigan biokimyoviy o'zgarishlar ham keltirilgan.

Qo'llanma tibbiyot institutlari uchun mo'ljallangan o'quv dasturiga muvofiq tuzilgan.

Taqrizchilar:

R.A. SOBIROVA,

Toshkent tibbiyot akademiyasi «Biokimyo» kafedrasining mudiri,
kimyo fanlari doktori, professor

A.A.ABDUSAMATOV,

ToshPTI «Farmakologiya» kafedrasining mudiri, tibbiyot fanlari doktori,
professor

D.A.QODIROVA,

O'zR FA Biokimyo ITI laboratoriya mudiri,
biologiya fanlari doktori

ToshPTI biologik kimyo kafedrasining mudiri, akademik T.S.Soatov muharrirligi ostida yozilgan

ISBN 5-633-01950-4

© R.G'.Sultonov, N.M.Xolmuhammedova, O'.L.Sultonxo'jayev,
Sh.F.Karimova. «Biokimyodan amaliy mashg'ulotlar».

«Yangi asr avlodi», 2006-yil.

KIRISH

Tibbiyot institutlari talabalari uchun tavsiya etilayotgan ushbu o'quv qo'llanma umumiy o'quv dasturi asosida tuzilgan.

Mualliflar talabalarga amaliy va mustaqil ishlarni amalga oshirish jarayonida kerak bo'lgan nazariy yo'llanmalarni, o'qilayotgan bo'limning tibbiyotdagi amaliy ahamiyatini, chaqaloqlik davridan to 14 yoshgacha bo'lgan bolalarda kechadigan biokimyoviy jarayonlarning o'ziga xos xususiyatlarini, sog'lom organizmning me'yori ko'rsatkichlarini va ularning turli kasallik holatlarida sifat va miqdor jihatidan o'zgarishlarini yoki biokimyoviy o'zgarishlar oqibatida kelib chiqadigan kasalliklarni o'rgatishni asos qilib olganlar. Qo'llanmada darsdan tashqari mustaqil tayyorlanish, amaliy mashg'ulot jarayonida olgan bilimlarini mustahkamlash uchun savol va masalalar ham berilgan. Vaziyat masalalar kelajakda tibbiy muammolarni hal qilishda fikrlash qobiliyatini rivojlantirish maqsadida berilgan. Shuningdek, o'tkazilgan tajribalardan olingan natijalarni rasmiylashtirish yo'llari va tegishli xulosa chiqarish uchun imkoniyatlar yaratilgan. Ushbu o'quv qo'llanmada biokimyo laboratoriyalarida kasalliklarni aniqlash uchun qo'llaniladigan barcha zamonaviy biokimyoviy usullar keltirilgan.

Ushbu o'quv qo'llanmadan nafaqat bolalar shifokorlari, balki davolash, sanitariya-gigiyena, stomatologiya, farmatsevtika kulliyotlarida hamda qishloq xo'jaligi, pedagogika oliy o'quv yurtlarida biologiya mutaxassisligi bo'yicha tahsil olayotgan talabalar, shuningdek ilmiy xodimlar ham foydalanishlari mumkin.

Bu qo'llanma mualliflarning Toshkent bolalar tibbiyot oliygohining biokimyo kafedrasida orttirgan amaliy tajribalari asosida lotin alifbosida chop etilayotgan birinchi kitobidir.

Ushbu darslikni yozish va tayyorlashda marhum professor R.G'.Sultonovning nihoyatda katta xizmatini e'tirof etish lozim.

Mualliflar avvalgi darslikda yoritilmagan masalalar va ayrim kamchiliklarni inobatga olib, ushbu darslikda bartaraf etib, ayrim

amaliyotlarni klinik-diagnostik ahamiyatlarni to'ldirdilar. Qo'shimcha sut biokimyosi va vitaminlar bo'limlarini kiritishdi.

Mualliflar darslikni tuzishda maslahat bergan taqrizchilar: Toshkent tibbiyot akademiya biokimyo kafedrasining mudiri, professor R.A. Sobirova, ToshPTI Farmakologiya kafedrasini mudiri, professor A.A. Abdusamatov va O'zR FA Biokimyo ITI laboratoriya mudiri, biologiya fanlari doktori D.A. Qodirovalarga o'z minnatdorchiliklarini bildiradilar.

OQSILLARNING TUZILISHI VA ULARNING XOSSALARI

Oqsillar barcha tirik hujayra va organizmning asosiy tarkibiy qismi bo'lib, hayotiy jarayonlarda muhim vazifalarni bajaradi. Ular hujayra membranalarining tarkibida turli moddalarni tanlab o'tkazishda, axborotlarni qabul qilib, ularni keyingi jarayonlarga uzatishda, organizmda ro'y beradigan kimyoviy jarayonlarni tezlashtirishda (fermentlar), moddalar almashinuvini boshqarishda (gormonlar), himoya vositalari sifatida (antitelolar), moddalarni tashishda (albuminlar, globulinlar), mushaklar qisqarishida (aktin, miozin) qatnashadi.

Oqsillar murakkab tuzilishga ega bo'lgan yuqori molekularli organik birikmadir. Ularning tarkibiga 20 xil aminokislota kiradi. Oqsillar tuzilishi jihatidan ikki guruhga bo'linadi:

1. Oddiy oqsillar. Bu guruhdagi oqsillar faqat aminokislotalardan tashkil topgan.

2. Murakkab oqsillar esa oqsil va oqsil bo'lmagan qismlardan iborat.

Birinchi va ikkinchi guruhdagi oqsillar o'z navbatida yana bir necha guruhchalarga bo'linadi. Oddiy oqsillarga gistonlar, prolaminlar, protaminlar, glyuteinlar, albuminlar va globulinlar kiradi. Ular bir-biridan fizik-kimyoviy xossalari va aminokislota tarkibining o'ziga xosligi bilan farqlanadi. Murakkab oqsillar tarkibiga kirgan (oqsil bo'lmagan) prostetiklar guruhiga ko'ra yetti turga bo'linadi: nukleoproteidlar (DNK, RNK tutuvchi oqsillar), fosfoproteidlar (fosfor kislota) xromoproteidlar (bo'yovchi moddalar – pigmentlar, gem, flavin tutuvchi oqsillar), glikoproteidlar (karbon suvlar), lipoproteidlar (yog'lar), metaproteidlar (metallar) va murakkab fermentlar (vitaminlar) ni tutuvchi oqsillar. Oqsillarning turli-tumanligi va ularning fizik-kimyoviy xossalari ularning tarkibiga kirgan aminokislotalarning xilma-xilligiga bog'liq. Aminokislotalarning tuzilishi turli xil bo'lib, ular kislotali, asosli va neytral bo'lishi mumkin. Oqsillar to'rt xil tuzilishga ega. Tegishli

aminokislotaning qat'iy tartib bilan, polipeptid zanjirda joylashishi oqsilning birlamchi tuzilishi deyiladi. Bu tuzilish mustahkam peptid bog' yordamida ushlanib turadi. Birlamchi tuzilish oqsillarning xilma-xilligini, qanday turga oid ekanligini, fizik-kimyoviy xossalarini va keyingi tuzilishlarini belgilab beradi. Polipeptid zanjirning spirallanishi (o'ralishi), α yoki β o'ramni hosil qilishi oqsilning ikkilamchi tuzilishi deyiladi. Ushbu tuzilish vodorod bog'lari yordamida mustahkamlanadi. Globulyar oqsillarga α o'ram, fibrillar oqsillarga β o'ram taalluqli. O'ralgan polipeptid zanjir kuchsiz ion, Vander-Vaals bog'lari yordamida taxlanib, shakllanadi. Oqsillarning fazoviy shakllanishi uchlamchi tuzilish deyiladi. Oqsillarning faol yoki nofaol holatga o'tishida uchlamchi tuzilishning fazoviy shakllanishi o'zgaradi. Ayrim oqsillar bir nechta polipeptid zanjirdan iborat bo'ladi. Har qaysi polipeptid zanjir o'zining birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi tuzilishiga ega. Ular protomerlar deyiladi. Bu protomerlarning bir nechtasi yagona oligomerni hosil qiladi. Bu oqsilning to'rtlamchi tuzilishidir. Oqsillar to'rtlamchi tuzilishining (protomerlar fazoviy konformatsiyasining ketma-ket o'zgarishi) fazoviy konformatsiyasi o'zgarishi natijasida oligomer oqsilning faol yoki faol bo'lmagan holatga o'tishi ta'minlanadi. Oqsillar kolloid holatda bo'lib, amfoter xossalarini namoyon qiladi. Muayyan pH muhitda oqsillarning karboksil «COOH» va amino «NH₂» guruhlarini dissotsillanishi natijasida ular «neytral» zaryadga ega bo'lishi mumkin. Zaryadlari «neytral» bo'lgan oqsil elektr maydonida «-» yoki «+» zaryad tomonga qarab harakatlana olmaydi. Demak, muayyan pH muhitida oqsil molekulasini zaryadining neytral bo'lishi izoelektrik nuqta holati deyiladi. Bunday oqsilning turg'unligi yo'qoladi va oqsil cho'kmaga tushadi. Cho'kmaga tushgan oqsilning avvalgi fizik-kimyoviy va biologik xossasi yo'qolishi mumkin. Bunday oqsil qayta suvda erimaydi. Bu ta'sir etuvchi moddani tabiatiga bog'liq bo'ladi. Bunday o'zgarishlar natijasida oqsil tuzilishining buzilishi (o'ralgan, fazoda ma'lum shaklga ega bo'lgan oqsilning yoyilishi) ro'y beradi. Oqsil molekulasini va tuzilishining o'zgarishi natijasida uning fizik-kimyoviy va biologik xossalarining yo'qolishi oqsil denaturatsiya deyiladi. Chuqur o'zgarishlar bilan kechadigan denaturatsiya qaytmagan bo'ladi (oqsilning suvda eruvchanligi butunlay yo'qoladi). O'zgarish yuzaki bo'lganda (oqsil qayta suvda erib, avvalgi fizik-kimyoviy va biologik xususiyatlarini tiklay oladi) denaturatsiya qaytar bo'ladi.

Oqsillarga o'tkaziladigan barcha sifat reaksiyalari yoki miqdoriy o'lchovlar, ularning tarkibidagi u yoki bu funksional guruhlarni aniqlashda fizik-kimyoviy xossalariga asoslanadi. Organizmda aminokislota yetishmasligi oqsil yetishmasligiga sabab bo'ladi. Oqsil yetishmasligi, oqsil almashinuvining buzilishi oqibatida turli asoratlar – kasalliklar yuzaga keladi. Demak, kasalliklarning kelib chiqish sabablarini, ularda kuzatiladigan biokimyoviy o'zgarishlarni aniqlash, ro'y berishi mumkin bo'lgan ko'ngilsizliklarning oldini olish uchun oqsillarning tuzilishini, xossalarini, bajaradigan vazifasini o'rganish bo'lajak shifokor uchun juda zarurdir.

Bo'limning maqsadi:

1. To'qima va biologik suyuqliklardan oqsillarni ajratishda qo'llaniladigan ayrim usullar (gomogenizatsiyalash – maydalash, tuzlash, cho'ktirish; sentrifugalash – katta tezlikda aylantirish; dializ – tuzdan tozalash va h.k.) bilan tanishtirish.
2. Oqsil tarkibidagi aminokislotalarning sifatini aniqlash usullarini o'rgatish.
3. Oqsillarning miqdorini o'lchash usullarini o'rgatish.
4. Qon zardobidagi oqsillarni elektroforez usuli bilan aniqlash va shu usul yordamida oqsillarning fizik-kimyoviy xossalarini o'rgatish.
5. Oqsillarning tuzilishi va xossalarini o'rganish bo'yicha olingan bilimlardan kelajakda amaliy ish faoliyatida foydalanishni o'rgatish.

1. TO'QIMA VA BIOLOGIK SUYUQLIKLARDAN OQSILLARNI AJRATISH USULLARI

To'qimadan oqsillarni ajratib olish uchun ushbu to'qima hujayralari bir-biridan ajratiladi va ularning membranalari buziladi. Bunday maqsadga erishish uchun gomogenizatsiyalash (to'qimani maydalash), ultratovush ta'siri, vaqti-vaqti bilan muzlatish kabi usullardan foydalaniladi. So'ngra oqsillar eritmaga o'tkaziladi – ekstraksiyalanadi. Buning uchun ajratilayotgan oqsilning tabiatiga qarab bufer eritma va organik erituvchilar ishlatiladi. To'qima turli oqsil aralashmalarini tutgani uchun keyingi bosqichda oqsillarning har qaysisi alohida ajratiladi (fraksiyalanadi). Bunda zamonaviy ultrasentrifugalash, elektroforez, xromatografiya va immunobiologiya usullaridan foydalaniladi.

1-ish. MUSHAK TO'QIMALARIDAN OQSILLARNI AJRATISH

Miofibrillarlar qisqaruvchi elementlar mushak hujayralari uchun xos birikmalardir. Ular miozin va aktin kabi qisqaruvchi oqsillar, tropomiozin va troponin kabi boshqaruvchi oqsillardan iborat. Miofibrill oqsillar suvda erimaydi, ammo bu oqsillarni 0,5 mol/l tuz eritmasi yordamida mushak to'qimasidan ajratib olish mumkin. Sarkoplazmaning (mushak hujayra gialoplazmasi) ko'pchilik oqsillari suvda yoki kuhsiz (0,05 mol/l) tuz eritmasida eriydi.

Bu fraksiya tarkibida mushak oqsillaridan tashqari boshqa a'zolarida uchraydigan oqsillar ham bo'ladi. Mushak to'qimalariga 5% li kaliy xlorid (KCl) eritmasi ta'sir ettirilganda miofibrill va sarkoplazma oqsillari ajraladi.

Tekshiriluvchi material: maydalangan mushak to'qimasi, 2g.

Reaktivlar: kaliy xloridning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,1 mol/l eritmasi, uchxlor sirka kislota (UXSK) ning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: sentrifuga tarozisi, sentrifuga probirkalari, chinni hovoncha, shisha qum, oddiy probirka va shtativlar, shisha tayoqcha, pipetka, buretka, filtr qog'oz, doka va voronkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 2 g mushak to'qimasini qaychi bilan maydalab, hujayralarini parchalash uchun chinni hovonchaga solinadi. Uning ustiga 2 ml 5% li kaliy xlorid eritmasi va shisha qum solib ishqalanadi. So'ng yana 3 ml kaliy xlorid eritmasi solinadi-da, besh daqiqa ishqalash davom ettiriladi. Uning ustiga yana bir marta avvalgi eritmadan 5 ml qo'shilib, yana besh daqiqa ishqalanadi. Shunda aralashma bir xil holatga keladi (bu aralashma ekstrakt deyiladi).

2. Olingan aralashma (ekstrakt) ikkita sentrifuga probirkasiga solinadi, shisha qum esa hovonchada qoladi. Probirkalar sentrifuga tarozisida pipetka orqali 5% li kaliy xlorid eritmasi qo'shish orqali bir xil og'irlikka keltiriladi. Gomogenat daqiqasiga 4000 marta aylanadigan sentrifugada 15 daqiqa aylantiriladi. Bunda hujayra bo'lakchalari, parchalangan hujayralar, biriktiruvchi to'qima tolalari cho'kmaga tushadi. Cho'kma ustidagi suyuqlik toza probirkaga olinadi.

3. Olingan ekstrakt bilan oqsilga xos rangli reaksiyalar (14-22-ishlar) o'tkaziladi va Louri yoki Biuret usullari yordamida oqsil miqdori aniqlanadi (26-27-ishlar).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Mushak to'qimalari oqsillarini ekstraksiyalanish shartlarini qisqacha yozing, rangli reaksiyalar nomini va nima aniqlanganini hamda topilgan oqsil miqdorini daftaringizga yozing.

2-ish. SUT OQSILI – KAZEINNI AJRATISH

Sut tarkibida albumin, globulin va murakkab oqsil – fosfoproteidlar vakili bo'lgan kazein bor. Kazein sut oqsillarining 80% ini tashkil qiladi. Kazein nordon xossaga ega bo'lib, uning izoelektrik nuqtasi pH 6,7 atrofida. Kazein kaltsiy tuzlari bilan birikkan bo'lib, erigan holatda bo'ladi. Sut achiganda yoki u nordonlashtirilganda (kislota qo'shilganda) kazein ipir-ipir cho'kmaga tushadi.

Tekshiriluvchi material: sut.

Reaktivlar: xlorid kislotaning 1% li eritmasi, distillangan suv, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, nitrat kislotaning konsentrlangan eritmasi, molibden reaktivi, mis (II) –sulfatning (CuSO₄) 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: 50 ml sig'imli kimyoviy stakan, 50 ml sig'imli silindrlar, shisha tayoqcha, voronka, filtr qog'ozlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. 50 ml sig'imli kimyoviy stakanga 3 ml sut va 7 ml distillangan suv solinadi. Suyuqliklar aralashtirilib, ustiga 10-15 tomchi 1% li xlorid kislota eritmasi qo'shiladi. Kislota juda ehtiyotkorlik bilan tomchilab solinadi, chunki xlorid kislotaning ortiqcha miqdori kazein cho'kmasini eritib yuboradi. 3-5 daqiqa o'tgandan keyin ipir-ipir cho'kma hosil bo'ladi.

2. Xlorid kislotadan xoli bo'lish uchun stakanga 10 ml distillangan suv solib, 5 daqiqa qoldiriladi. So'ngra cho'kma ustidagi suyuqlik osoyishtalik bilan olib tashlanadi. Cho'kmaga yana bir marta distillangan suv solib, xlorid kislotaning ortiqcha qismi olib tashlanadi. Probirkadagi suyuqlik asta-sekin aralashtiriladi va 5 daqiqa o'tgach, aralashma qog'oz filtdan o'tkaziladi.

3. Kazein tarkibida fosfor borligiga ishonch hosil qilish uchun kazein ishqoriy muhitda parchalanadi (gidrolizlanadi), gidrolizat tarkibidagi fosfor molibden reaktivi yordamida aniqlanadi. Buning uchun filtdagi cho'kma qaytar muzlatgichli keng probirkaga olinadi va unga 6 ml 10% li natriy gidroksid eritmasi solinadi. Probirka qum

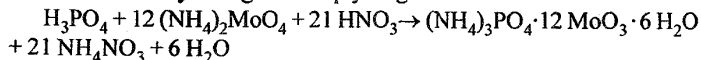
hammomida bir soat davomida qizdiriladi. Suyuqlik sovutilgandan so'ng konsentrlangan nitrat kislotaga (20-30 tomchi) bilan lakmus bo'yicha kuchsiz nordon bo'lguncha neytrallanadi. Neytrallash jarayonida oqsillarning chala parchalangan yuqori molekulyar mahsuloti cho'kmaga tushadi.

4. Eritma tindirilgandan so'ng filtrlanadi. So'ngra suyuqlikdan olib oqsilga xos Biuret va fosfor kislotaga xos molibden reaksiyasi o'tkaziladi:

a) 5 tomchi gidrolizatga 1-2 tomchi natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va 2 tomchi mis (II) sulfat tuzining 1% li eritmasidan solinadi. Hosil bo'lgan binafsha rang oqsil borligini isbotlaydi.

b) 10 tomchi molibden reaktivga 5 tomchi gidrolizat solib, bir necha daqiqa qaynatiladi. Eritma och sariq rangga bo'yaladi. Aralashma sovutilgach, sariq rangli kompleks birikma cho'kmaga tushadi. Bu fosfor kislotaga borligini isbotlaydi.

Ushbu reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Kazein oqsili ajratilishining qisqacha shartini, gidrolizat bilan o'tkazilgan rangli reaksiyalarning asoslanishini va uning natijasini daftaringizga yozing.

3-ish. TUXUM OQSILI – ALBUMINNI AJRATISH

Tuxum tarkibidagi oqsilning 70% ini albumin tashkil qiladi. Albuminni globulindan ajratish uchun tuxum oqsili distillangan suvning 10% li eritmasida suyultiriladi. Globulinlar tuzi eritmada yaxshi eriydi, suv bilan eritilganda esa ular cho'kmaga tushadi. Eritmani filtrlash yoki tsestrifugalash yo'li bilan albuminlar globulinlardan ajratib olinadi.

Tekshiriluvchi material: tuxum oqsili.

Reaktivlar: distillangan suv.

Kerakli anjomlar: 100 va 500 ml sig'imli kimyoviy stakan, 250 va 500 ml sig'imli silindrlar, 100 ml sig'imli kolba, voronkalar, shisha tayoqcha, filtr qog'oz, sentrifuga.

Bajariladigan ish tartibi. Tuxum qobig'ining ikki tomonidan teshikcha ochib, uning oqsili 500 ml sig'imli stakanga solinadi va ustiga 250 ml distillangan suv solib, shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Eritmaning hajmi 300 ml ga yetguncha distillangan suv qo'shiladi. Oqsil eritmasi 30 daqiqa uy haroratida qoldiriladi. Bir ozdan so'ng probirka tubida globulinlar cho'kkani ko'rinadi. Eritma filtr qog'ozdan o'tkaziladi. Filtrlarda qolgan suyuqlik bilan oqsilga xos sifat reaksiyasi o'tkazilib, uning miqdori Louri yoki Biuret usuli bilan aniqlanadi (26-27 ishlar).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar daftaringizga yozing, tegishli xulosa chiqaring. Biuret va Louri usullarining asosini tushuntiring.

4-ish. OQSILLARNI ISSIQLIK TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Barcha oqsillar juda beqaror bo'lib, issiqlik ta'sirida cho'kmaga tushadi. Bunda eritmaning pH muhiti katta ahamiyatga ega.

Ko'pchilik oqsillar odatda manfiy (-) zaryadga ega, shuning uchun ularning izoelektrik nuqtasi kislotali muhitda bo'ladi. Ma'lumki, oqsillar izoelektrik nuqta holatida, ayniqsa, beqaror bo'lib, cho'kmaga tushadi. Demak, ularning zaryadi oqsil zarrachasining turg'unligini ta'minlaydi.

Tekshiriluvchi material: tuxum oqsili yoki qon zardobi oqsili.

Reaktivlar: sirka kislotaning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 5% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, shisha tayoqchalar va spirt lampasi.

Bajariladigan ish tartibi. Ishni quyidagi jadvalga muvofiq bajaring (1-jadval). Eritmalar ko'rsatilgan miqdorda tomchilarda olinadi.

1-jadval

Probirkalar	1	2	3	4	5
Tuxum oqsilining 1% li eritmasi	5	5	5	5	5 tomchi
Sirka kislotaning 1% li eritmasi	-	1	5	5	5 tomchi
Natriy xloridning to'yingan eritmasi	-	-	-	2	5 tomchi
Natriy gidroksidning 10% li eritmasi	-	-	-	-	2 tomchi

Barcha probirkalar qaynaguncha qizdiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Quyidagi jadvalga binoan kuzatilgan cho'kma (+), kuzatilmagani (-) ishorasi bilan ifodalanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

2-jadval

Neytral muhit	Kuchsiz kislotali muhit	Kuchli kislotali muhit	Kuchli kislotali elektrolit	Ishqoriy muhit

5-ish. OQSILLARNI OG'IR METALL TUZLARI TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Oz miqdordagi og'ir metall tuzlari ta'sirida oqsillar cho'kmaga tushadi. Rux, mis, kumush, simob va ularni adsorbsiyalaydi va ular bilan tuzsimon kompleks birikma tuzlarini hosil qiladi. Bu tuzlarning ortiqcha miqdori (kumush nitrat, simob (II) xlorid tuzlaridan tashqari) hosil bo'lgan cho'kmani, oqsil zarrachasida musbat zaryad hosil bo'lgani uchun eritib yuboradi. Ammo bu cho'kma suvda erimaydi. Og'ir metall tuzlari bilan zaharlangan bemorlarni davolashda oqsilning og'ir metall tuzlari bilan suvda erimaydigan kompleks birikmalarni hosil qilish xususiyatidan foydalaniladi. Zaharlangan bemorga ko'p miqdorda oqsil (sut, qatiq, tuxum) beriladi va hosil bo'lgan kompleks birikma parchalanib so'rilishga ulgurmasdan tezda organizmdan chiqariladi (qustirish, me'dani yuvish, huqna qilish orqali).

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi:

Reaktivlar: mis (II) sulfat tuzining 1% li eritmasi, qo'rg'oshin atsetat tuzining 5-10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, shisha tayoqchalar, tomizgichlar (pipetka).

Bajariladigan ish tartibi. 1. Oqsillarni mis sulfat bilan cho'ktirish. 5 tomchi tuxum oqsili eritmasiga ohistalik bilan 1-2 tomchi mis sulfatning 1% li eritmasi solinadi. Bunda och havo rang cho'kma hosil bo'ladi, cho'kma suvda erimaydi. Boshqa probirkaga yuqoridagidek reaktivlar solinadi, hosil bo'lgan cho'kma ustiga yana

5-10 tomchi mis sulfat eritmasi solinadi. Ortiqcha miqdordagi eritma cho'kmani eritib yuboradi.

2. Oqsillarni qo'rg'oshin atsetat bilan cho'ktirish.

5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi 5% li qo'rg'oshin atsetat eritmasi solinadi. Hosil bo'lgan cho'kma suvda erimaydi, ammo ortiqcha miqdordagi cho'ktiruvchi eritmada oson eriydi.

Olingan natijalarni 3-jadvalga muvofiq rasmiylashtiring.

6-ish. OQSILLARNI KONSENTRLANGAN MINERAL KISLOTALAR TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Oqsillar konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida qaytmas denaturatsiya holatiga o'tadi. Oqsilning cho'kmaga tushishi oqsil zarrachalarining suv qobig'i yemirilishi va oqsil-kislota kompleks tuzlari hosil bo'lishi bilan bog'liq. Barcha kislotalarning ortiqcha miqdori (nitrat kislotadan boshqa) cho'kmani eritadi. Ortofosfat kislota oqsilni cho'kmaga tushirmaydi. Oqsillarning nitrat kislota bilan cho'kmaga tushirilishi tibbiyot amaliyotida keng qo'llaniladi. Bu usul bilan siydik tarkibidagi oqsil miqdori aniqlanadi (Roberts – Stolnikov – Brandberg usuli).

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: konsentrlangan nitrat va sulfat kislota.

Kerakli anjomlar: probirkali shtativlar va pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Nitrat kislota bilan oqsillarni cho'ktirish. 5 tomchi konsentrlangan nitrat kislotaga probirkani 45° burchakka og'dirgan holda 5 tomchi oqsil eritmasi ohistalik bilan tomiziladi. Suyuqliklar bir-biri bilan aralashmasligi kerak.

Ikkala suyuqlik chegarasida ingichka oq xalqa – oqsil cho'kmasi hosil bo'ladi. So'ngra suyuqliklar aralashtirilib, yana ortiqcha miqdordagi nitrat kislota qo'shiladi. Cho'kmaning erimasligi kuzatiladi.

2. Oqsillarni sulfat kislota bilan cho'ktirish. Sulfat kislota bilan cho'ktirish ham nitrat kislota bilan cho'ktirish kabi o'tkaziladi. 5 tomchi konsentrlangan sulfat kislotaga ohistalik bilan probirka devori bo'ylab oqsil eritmasi quyiladi. Bunda cho'kma hosil bo'ladi. Unga ortiqcha miqdorda sulfat kislota qo'shilganda cho'kma erib ketadi.

Olingan natijalarni 3-jadvalga muvofiq rasmiylashtiring.

7-ish. OQSILLARNI ORGANIK KISLOTALAR BILAN CHO'KTIRISH

Organik kislotalar ham oqsillarni cho'ktirib, qaytmas denaturatsiya holatini yuzaga keltiradi.

Uchxlorsirka kislota va sulfosalitsil kislotalar oqsilga sezgir bo'lganligi sababli amaliyotda keng qo'llaniladi. Sulfosalitsil kislota siydik tarkibidagi kam miqdordagi oqsilni ham aniqlash imkonini beradi. Shuningdek, bu kislota yordamida boshqa biologik suyuqliklar, ekssudatlar tarkibidagi oqsillarni aniqlash mumkin. Bu kislotalarning sezgirligi 1:50 000 dir. Sulfosalitsil kislota oqsillardan tashqari uning parchalanish mahsulotlari – yuqori molekular pepton va polipeptidlarni ham cho'kmaga tushira oladi.

Uchxlorsirka kislota esa faqat oqsillarni cho'kmaga tushirib, ularning parchalanish mahsulotlarini cho'kmaga tushira olmaydi. Shuning uchun bu kislota qon oqsillarini quyi molekularli moddalardan ajratishda ishlatiladi (aminokislotalar, polipeptidlar va siydikchil). Oqsilsiz azot qoldiqlarini uchxlorsirka kislota yordamida aniqlashda oqsil azoti va oqsilsiz azotni alohida aniqlash mumkin. Oqsillar cho'kmaga tushirilgach, filtrat qaynatilib uchxlorsirka kislotalardan tozalanadi. Bunda uchxlorsirka kislota xloroform va karbonat angidridga parchalanadi.

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi

Reaktivlar: sulfosalitsil kislotalarning 20% li eritmasi, uchxlorsirka kislotalarning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Sulfosalitsil kislota ta'sirida cho'ktirish. 5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi 20% li sulfosalitsil kislota eritmasi solinadi. Oqsil cho'kmaga tushadi.

2. Uchxlorsirka kislota ta'sirida cho'ktirish. 5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi uchxlorsirka kislota eritmasi solinadi. Oqsil cho'kmaga tushadi.

Olingan natijalarni 3-jadvalga muvofiq rasmiylashtiring.

8-ish. OQSILLARNI ORGANIK ERITUVCHILAR TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Spirt, atseton, efir va boshqa shu kabi organik erituvchilarda oqsil erimaydi, balki u cho'kmaga tushadi. Oqsil tabiatiga ko'ra spirtning

turli konsentratsiyasi talab qilinadi. Spirt oqsil zarrachasining suv pardasini emirib, uning eritmadagi holatini turg'unsizlantiradi.

Spirt ta'sirida cho'ktirilayotgan oqsil kuchsiz kislotali yoki neytral holatda bo'lishi kerak. Ushbu reaksiya elektrolit natriy xlorid ishtirokida yaxshi ketadi, chunki u oqsil zaryadini kamaytiradi. Oqsil cho'kmasi qaytar holatda bo'lishi uchun spirt qisqa muddatda past haroratda ta'sir ettiriladi. Spirtning uzoq muddat ta'sir etishi qaytmas holat – denaturatsiyaga olib keladi.

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: etil spirti yoki atseton.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkadagi 5 tomchi oqsil eritmasiga 15-20 tomchi etil spirti(yoki atseton) to'yingan natriy xlorid eritmasi tomizilgach, bir ozdan so'ng cho'kma tushgani kuzatiladi.

Olingan natijalarni 3-jadvalga binoan rasmiylashtiring.

3-jadval

Oqsilni cho'ktiruvchi moddalar	Reaktivlar	Cho'kmaning xossasi va rangi	Reaksiyalarning asoslanishi va xususiyatlari

Bajarilgan ish yuzasidan chiqarilgan xulosalar.

2. OQSILLARNI XONA HARORATIDA NEYTRAL TUZLAR TA'SIRIDA CHO'KTIRISH – TUZLASH

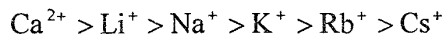
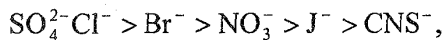
Oqsillarni yuqori konsentratsiyali neytral tuzlar – natriy xlorid, ammoniy sulfat ta'sirida cho'ktirish tuzlash deyiladi.

Tuzlash reaksiyasi natijasida oqsil makromolekulasining suv qobig'i yemiriladi va zaryadi neytrallanadi.

Turli xil oqsillarni cho'ktirish uchun turli miqdordagi tuz talab qilinadi.

Globulinlar yuqori molekular og'irlikka ega bo'lgani uchun albuminlarga nisbatan oson tuzlanadi. Ular ammoniy sulfatning yarim to'yingan eritmalari ta'sirida cho'kmaga tushadi.

Natriy xlorid ammoniy sulfatga nisbatan oqsillarni cho'kmaga sustroq tushiradi, chunki uning suv qobig'ini yemirish xususiyati kamroq. Bu xususiyat Gofmeystr qatoridagi ionlarning joylashishiga bog'liq.



Oqsillarni neytral tuz eritmaları ta'sirida cho'kmaga tushishi qaytar jarayon bo'lib, oqsil cho'kmasi suvda qayta eriy oladi, ya'ni fizik-kimyoviy xususiyatlarini saqlab qoladi. Shu tufayli tuzlash usuli oqsillarni kristall holatida ajratib olish uchun qo'llaniladi.

9-ish. OQSILLARNI NATRIY XLORID VA NATRIY SULFAT TUZLARI TA'SIRIDA CHO'KTIRISH

Tekshiriluvchi material: tuzlash uchun oqsil eritmasi.

Reaktivlar: natriy xloridning mayda kukuni, ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi va mayda kukuni, sirka kislotaning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, shtativlar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Oqsillarni natriy xlorid tuzi bilan cho'ktirish – tuzlash. Probirkaga 20 tomchi oqsil eritmasi solinadi. Unga natriy xlorid kukunidan eritma to'yinguncha, ya'ni qo'shilgan tuz eriguncha qo'shiladi. Bir necha daqiqa o'tgach, globulinlar cho'kmasi hosil bo'ladi.

Probirkadagi aralashma filtdan o'tkaziladi. Bunda albuminlar filtr tagidagi suyuqlikka o'tadi. Ular hatto natriy xlorid bilan to'yintirilganda ham neytral eritmalarda cho'kmaga tushmaydi.

Albumin tutuvchi eritma (filtrat)ga bir tomchi sirka kislotaning 1% li eritmasidan solib qaynatilganda kuchsiz kislotali muhitda albuminlar cho'kmaga tushadi. Bir necha daqiqa o'tgach, ushbu eritma filtdan o'tkaziladi. Filtrat oqsil qolmaganligini isbotlash uchun Biuret reaksiyasi o'tkaziladi. Reaksiyaning manfiyligi oqsil yo'qligini ko'rsatadi.

2. Oqsillarni ammoniy sulfat bilan tuzlash.

20 tomchi oqsil eritmasiga 20 tomchi to'yingan ammoniy sulfat eritmasi solib aralashitiriladi. Yarim to'yingan ammoniy sulfat eritmasi

hosil bo'lishidan globulinlar cho'kmaga tushadi. 5 daqiqa o'tgach, probirkadagi eritma filtdan o'tkaziladi.

Filtratga albuminlar o'tadi. Unga ammoniy sulfat kukunidan to'yinguncha, ya'ni tuzning yangi qo'shimchasi eriguncha solinadi. Albumin cho'kmaga tushadi. Albumin filtdan o'tkaziladi. Filtratda oqsil qolmaganligini isbotlash uchun Biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

Olingan natijalarni quyidagi 4-jadvalga binoan rasmiylashtiring. Musbat natijani «+», manfiy natijani «-» ishorasi bilan belgilang.

4-jadval

Oqsillarni tuzlash usuli bilan cho'ktirish

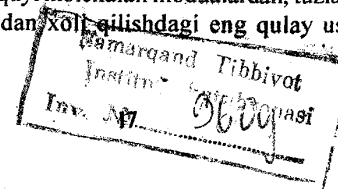
Ishlatilgan oqsil eritmasi va oqsil fraksiyalarining nomi	Natriy xloridning to'yingan eritmasida cho'kadigan oqsillar	Natriy xlorid bilan tuzlashdan so'ng kuchsiz kislotali muhitda cho'kadigan	Yarim to'yintirilgan ammoniy sulfat eritmasida cho'kmaga tushgan oqsil oqsilning nomi	Ammoniy sulfatning to'yingan eritmasida cho'kmaga tushgan oqsil nomi

Bajarilgan ish yuzasidan chiqariladigan xulosa.

3. Tuzlangan oqsil eritmalaridan tuz va oqsillarni tozalash (ajratish). Tuzlash usuli bilan cho'ktirilgan oqsillar odatda tuzlardan gel-filtratsiya yoki dializ usuli yordamida tozalanadi. Bu usullar yordamida oqsil va tuzlarning turli xil molekula ajratish xossasiga ega ekanligi aniqlanadi.

10-ish. OQSIL DIALIZI

Oqsil eritmalarini quyi molekularli moddalardan, tuzlashdan keyingi ortiqcha tuz miqdoridan xollanishdagi eng qulay usullardan biri dializdir.



Yuqori molekulari birikmalarni quyi molekulari birikmalardan yarim o'tkazgich membranalar (kolloidiy, sellofan, pergament qog'oz va h.k.) yordamida ajratish *dializ usuli* deyiladi. Katta diametrga ega bo'lgan oqsil molekulari bunday membranalardan o'ta olmaydi, quyi molekulari birikmalar – tuzlar esa ulardan oson o'tadi.

Tekshiriluvchi material: tuxum oqsilining 3% li eritmasi.

Reaktivlar: ammoniy sulfat tuzining to'yingan eritmasi, bariy xloridning 5% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: 100 ml sig'imli stakan. 150x150 mm li sellofan, shisha tayoqchalar va rezina bog'lagichlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. 2 ml tuxum albumini eritmasiga bir tomchi to'yingan ammoniy sulfat eritmasidan solinadi.

Ho'llangan sellofandan xaltacha yasaladi va unga probirkadagi suyuqlik solinadi (1-rasm).

Xaltachaning og'zi ikkita shisha tayoqcha orasiga olinadi va bu tayoqchalar rezina xalqalar bilan qisiladi. Xaltacha distillangan suv solingan stakanga tushiriladi. Xaltachadagi suyuqlik sathi stakandagi suv sathidan pastroqda bo'lishi kerak.

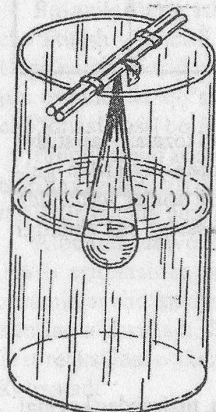
2. Bir soatdan so'ng stakandagi suvdan olib quyidagi reaksiyalar o'tkaziladi:

a) Sulfat ioniga sifat reaksiya. 1 ml suvga 3-4 tomchi bariy xloridning 5% li eritmasi solinadi. Eritmaning oq rangda xiralashishi bariy sulfatning cho'kmaga tushganligini ko'rsatadi;

b) Oqsil borligini isbotlash uchun Biuret reaksiyasi o'tkaziladi;

3. Xaltacha ichidagi suyuqlik probirkaga olinadi va oqsilga oid sifat reaksiya – Biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

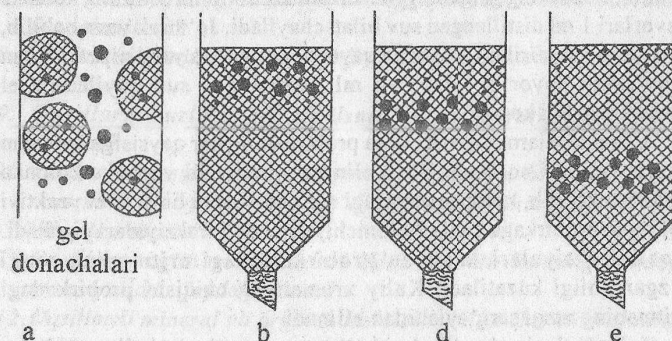
Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Dializ usulining asoslanishini, dializator rasmini va olingan natijalarni daftaringizga yozing va tegishli xulosa chiqaring.



1-rasm. Oqsil dializi

11-ish. TUZLANGAN OQSIL ERITMASINI GEL-FILTRATSIYA USULI BILAN TUZLARDAN TOZALASH

Usulning asosi: Oqsil eritmalari tarkibidagi quyi molekulari birikmalardan gel-filtratsiya usuli yordamida tez va butunlay xoli bo'lish mumkin. Buning uchun maxsus xromatografiya kolonkalar suvda yoki bufer eritmasida bo'ktirilgan gel bilan to'ldiriladi. Ushbu usul bilan moddalarni ajratish ular tarkibidagi molekularning kattakichikligiga bog'liq. Katta molekularlar gel tirqishlariga kira olmaydi va kolonkadan birinchi bo'lib chiqadi. Kichik molekularlar esa gel tirqishlari va kolonkalarda ushlanib qolganligi uchun juda sekin harakatlanadi (2-rasm, a). Gel-filtratsiya usuli ko'pincha moddalarni elakdan o'tkazish orqali ajratish deyiladi. Shunday ajratishning uchta bosqichi 2-rasm b, d, e da ko'rsatilgan. Ko'pgina organik polimerlar shunday molekular elak xossasiga ega. Masalan, dekstran polisaxaridlar – sefadekslar shular jumlasidan. Tirqishlarining soni va katta-kichikligiga qarab sefadekslarning bir necha xili tafovut qilinadi. Bu esa ulardan turli kattalikdagi molekularni ajratishda foydalanishga imkon yaratadi. Sefadekslar tarkibida juda ko'p gidroksil « OH » guruhi bo'lganligi uchun ular oson bo'kib, gelga aylanadi. Gelning bo'kish xossasi qancha yuqori bo'lsa, sefadeksning tartib soni shuncha katta bo'ladi. Odatda oqsil eritmalarini tuzlardan tozalashda $G=25$ markali sefadeksdan foydalaniladi.



2-rasm. Moddalarni gel-filtratsiya usuli bilan ajratish

Tekshiriluvchi material: 0,5% li kaliy xromatdagi tuxum oqsilining 1% li eritmasi (quruq holdagi kaliy xromat oqsil eritmasiga kolonkaga tomizishdan oldin qo'shiladi).

Reaktivlar: Biuret reaktivi, G=25 sefadeks gel, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: 1x25 sm li jo'mrakli kolonka, ajratuvchi voronkalar yoki tagi ingichkalashgan idishlar, voronkalar, kimyoviy stakanlar, shisha tayoqchalar, probirkali shtativlar, o'lchov pipetkalari, shisha-paxta.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Gelni tayyorlash. 4 g sefadeks kukuni 200 ml suv solingan stakanga solib bo'ktiriladi. Asosiy massa tindirilgach, mayda zarrachali suv ohista to'kib tashlanadi. Bu jarayon cho'kma ustidagi suyuqlik tiniq bo'lguncha qaytarilaveradi. Xona haroratida sefadeksning to'la bo'kishi uchun soat vaqt ketadi. Agar suspenziya 100°C li suv hammomida qizdirilsa, bu jarayon bir soatga qisqaradi.

2. Kolonkani tayyorlash 1x25 sm li kolonkaga jo'mragi yopiq holda oz miqdorda suv quyiladi. Kolonkaning tubiga bir bo'lak shisha-paxta qo'yiladi. Havo pufakchalari kirishidan ehtiyot bo'lish lozim. Kolonka shtativga vertikal holda o'rnatiladi. So'ngra kolonkaga voronka orqali quyuq gel-sefadeks suspenziyasi quyiladi.

3. Oqsil eritmasini tomizish.

Oqsil eritmasini gelga tomizishdan oldin kolonka jo'mragi ochiladi va gel sefadeks ustidagi suv ustuni kamaygani kuzatiladi: Gel ustidagi suv 1-2 mm ga yetgach, jo'mrak bekitilib, gelga ohistalik bilan 5 mg kaliy xromat qo'shilgan oqsil eritmasidan 1 ml tomiziladi. Jo'mrak ochilib, eritmaning gelga singishi kuzatiladi. Jo'mrak bekitilib, kolonka devorlari 1 ml distillangan suv bilan chayiladi. Jo'mrak yana ochilib, suv gelga singiriladi. Jo'mrak qayta bekitiladi va yana pipetka bilan juda sekin devor bo'ylab 4-6 ml distillangan suv quyiladi. Gel chayqalmasligi kerak.

4. Fraksiyalarni yig'ish. 12 ta probirkaning har qaysisiga 1 ml dan Biuret reaktivi solinadi. Suv solingan ajratuvchi voronka kolonka bilan birlashtirilgan, kolonka jo'mragi ochiladi va har bir Biuret reaktivi solingan probirkaga 1 ml (20 tomchi) dan oqsil fraksiyalari yig'iladi. Oqsil fraksiyalari ta'sirida probirkalardagi eritmaning rangi o'zgarganligi kuzatiladi. Kaliy xromatning chiqishi probirkadagi eritmaning rangi sarg'ayishidan bilinadi.

Kolonkadagi gel qoldiqlari kaliy xromat to'la yo'qolgunga qadar suv bilan yuviladi. Shundan so'ng u keyingi ishlatishga tayyor bo'ladi.

Olingan natijalar quyidagi jadvalga yoziladi, usulning asosi quyidagi eritiladi. Rangsiz eritma «-», rangli eritma «+» va bir necha «+» ishorasi bo'yalishning juda to'q ekanligini bildiradi.

5-jadval

Oqsil fraksiyalarini gel-filtratsiya usuli bilan ajratish

Probirkalar tartibi	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Oqsil										
Kaliy xromat										

Olingan natijalardan tegishli xulosa chiqariladi.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Oqsillarning cho'kmaga tushishi nimaga bog'liq?
2. Nima uchun oqsillar kolloid eritmalarini hosil qiladi va amfoterlik xususiyatini namoyon etadi?
3. Izoelektrik nuqta nima? Nima uchun turli oqsillarning izoelektrik nuqtasi turli muhitga to'g'ri keladi?
4. Oqsillarning qaytar va qaytmas cho'ktirilishi nimaga bog'liq?
5. Oqsil denaturatsiyasi nima?
6. Mushak to'qimasi oqsili – miozinni distillangan suv yordamida ajratish mumkinmi?
7. Sut kazeinini ajratishda uning qanday xususiyatidan foydalaniladi?
8. Tuxum albuminini globulin fraksiyasidan qanday ajratish mumkin?
9. Oqsillarni tuzlash nima? Usulning ahamiyati, ishlatilishi qanday?
10. Tuzlangan oqsillardan tuzlarni qanday usul bilan tozalash mumkin? Gel-filtratsiya va dializ usullarining ahamiyati nimadan iborat?
11. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirilishning qanday xususiyatidan foydalaniladi?
12. Oqsillarni mineral va organik kislotalar bilan cho'ktirilishning tibbiyotdagi ahamiyati qanday?

3. OQSILLARNING ELEKTROKIMYOVIY XOSSALARI

Barcha oqsillar elektr zaryadiga ega. Zaryadning katta-kichikligi oqsil tarkibiga kiruvchi aminokislotalarning ionlangan guruhlari soniga bog'liq. Oqsil molekularining zaryadga ega bo'lishi ularning elektr maydonida harakatlanishiga imkon beradi. Uning bunday xususiyatidan to'qima va biologik suyuqliklar tarkibidagi oqsil aralashmasini elektroforez usuli bilan ajratishda foydalaniladi.

12-ish. KAZEINNING IZOELEKTRIK NUQTASINI ANIQLASH

Eritma muhitining ma'lum darajasida (pH) oqsil molekulasi «+» va «-» zaryadlarning tenglashib, «o» ga teng bo'lishi izoelektrik nuqta holati deyiladi. Bunday holat oqsil zarrachasi elektr maydonida harakatlana olmaydi, uning turg'unligi yo'qoladi va u cho'kmaga oson tushadi. Oqsilning izoelektrik nuqtasini aniqlash oqsil eritmasining muayyan pH muhitida loyqalanishi – xiralashishiga bog'liq.

Tekshiriluvchi material: natriy atsetatning 0,4% li eritmasi. Kazeinning 0,2 mol/l li eritmasi.

Reaktivlar: sirka kislotaning 0,2 mol/l li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, o'lchovli pipetkalar, makroburetka.

Bajariladigan ish tartibi. Turli pH muhitli bufer eritmasini tayyorlash uchun 6 ta quruq probirkaga jadvalda ko'rsatilgan miqdorda tartib bilan eritma solinadi.

6-jadval

Probirkalarning raqami	Eritmalarning tarkibi, ml			Aralashmaning pH muhiti	Xiralashish darajasi
	CH ₃ COOH, 0,2 mol/l	H ₂ O	Kazeinning natriy atsetatdagi 0,4% li eritmasi		
1	1,6	0,4	0,2	3,8	
2	0,8	1,2	0,2	4,1	
3	0,4	1,6	0,2	4,4	
4	0,2	1,8	0,2	4,7	
5	0,1	1,9	0,2	5,0	
6	0,06	1,94	0,2	5,3	

Eritmalar yaxshilab aralashtiriladi. 5-10 daqiqa o'tgach, eritmalarning xiralashishi kuzatiladi. Kazeinning izoelektrik nuqtasiga to'g'ri keladigan pH qiymatiga cho'kma yaqqol ko'rinadi.

Olingan natijalarni quyidagi jadvalga muvofiq to'ldiring.

7-jadval

pH	3,8	4,1	4,4	4,7	5,0	5,3

Xiralashmagan eritma «-», xiralashgan eritma «+», juda xiralashgan eritma bir nechta «+» ishorasi bilan belgilanadi.

Olingan natijalar yuzasidan tegishli xulosa chiqaring va daftarga yozing.

13-ish. QON ZARDOBI OQSILLARINI POLIAKRILAMID GELIDA ELEKTROFOREZ USULI BILAN AJRATISH

Poliakrilamid gelida o'tkaziladigan elektroforez usuli oqsil aralashmalarini ajratish uchun qulay hisoblanadi. Ushbu usul oqsillarni elektr maydonida harakatlanishi va molekular elakdan o'tkazilishi tufayli ham yuqori ko'rsatkichga ega. Elektroforez usuli uchun ishlatiladigan gel ikki xil monomerlarni: akrilamid va metilenbisakrilamidni polimerlash yo'li bilan olinadi. Polimerlash reaksiyasida persulfat ammoniy va H, H, H₂, H₂- tetrametilendiamin (TMED) eritmalarining aralashmasi katalizator vazifasini o'taydi. Katalizator va monomerlar avval bufer eritmada aralashtiriladi, so'ngra aralashma maxsus shisha naylarga solinadi va shu naychalarda polimerlanadi.

Tekshiriluvchi material: suyultirilgan qon zardobi.

Reaktivlar: 1, 2, 3-eritmalar tayyorlash uchun 7,5% li gel eritmasi, 0,001% li bromfenol ko'k eritmasi; pH 48,3 bo'lgan tris-glitsin buferi; 10 B qora amidning 7% li sirka kislotada tayyorlangan 1% li 7% li sirka kislotada distillangan suv ishlatiladi.

Kerakli anjomlar: Elektroforez asbobi, shisha naychalar, pipetkalar, probirkalar, shtativlar, shpritslar, bo'yoqlarni yuvish uchun ishlatiladigan maxsus moslama.

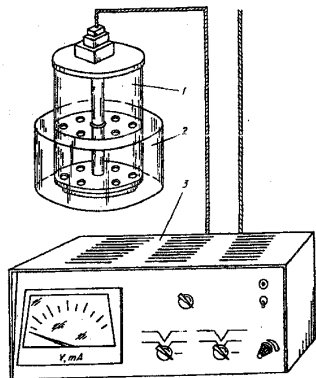
Bajariladigan ish tartibi. 1. Elektroforez o'tkazish uchun tayyorlanish. Barcha tayyorlangan reaktivlar sovitgichdan olinib, xona haroratiga yetguncha stolda qoldiriladi. Yaxshilab yuvilgan va quritilgan shisha naychalar vertikal holda shtativlarga o'rnatiladi. Naychalarning pastki qismi rezina tiqin bilan berkitiladi.

Gel tayyorlash uchun o'lchov silindriga navbati bilan quyidagi eritmalar solinadi. 1-eritma 2 ml, 2-eritma 4 ml, 3-eritma 8 ml va suv 2 ml. Aralashma paster tomizgichi yordamida shisha naychalarning 4/5 hajmigacha quyiladi. So'ngra har bir naychaga gelni chayqatmagan holda Paster tomizgichi bilan distillangan suv quyiladi.

Naychalar 37°C li termostatga 15-20 daqiqaga joylashtiriladi. Gel - suv orasida yaqqol chegara hosil bo'lishi polimerlanish tugallanganligini ko'rsatadi. Naychalar termostatdan olinib, gel ustidagi suv chayqatish yo'li bilan to'kib tashlanadi.

Naychadagi gel ustiga paster tomizgichi yordamida 2 tomchi qon zardobi tomiziladi. Qon zardobi 20 marta suyultirilgan va bromfenol ko'k indikator bilan bo'yalgan bo'lishi kerak. Naychalarning tagidagi rezina tiqin olib tashlanadi. Naychalar elektroforez asbobining yuqori kamerasiga o'rnatiladi.

2. Elektroforez. Elektroforez asbobi 2 kameradan iborat (3-rasm). Kameralar bir-birining ustiga o'rnatiladi. Yuqori kameraga o'rnatilgan shisha naychalar pastki kameraga tushib turishi kerak. Yuqori va pastki kameralar naychalarni ko'mib turguncha pH 8,3 bo'lgan bufer eritma bilan to'ldiriladi. Kameraning markaziga elektrodlar o'rnatilgan: yuqorisi - katod (-), pastki - anod (+).



3-rasm. Elektroforez asbobi.
1-ustki kamera; 2-pastki kamera;
3-elekr manbai

Elektroforez asbobi bilan ishlaganda quyidagi tartibga rioya qilinadi.

1. Elektroforez asbobi doimiy tok beruvchi asbobga ulanadi. Elektrod-larning kerakli qutblarga ulanganligi kuzatib turiladi.

2. Tok beruvchi asbob (TBA) ning «elektroforez» deb yozilgan qo'lchasi chap tomonning oxirgi holatiga keltiriladi. «Set» - tumbleri o'chiriladi.

3. TBA 220 V li tokka ulanadi.

4. Tok bilan ta'minlovchi «elektroforez» qo'lchasi elektroforez holatiga keltiriladi. Ampermetr ko'rsatkichi 25-50 mA ga to'g'rilanadi. «O'lchash» qo'lchasi x1 mA holatiga keltiriladi.

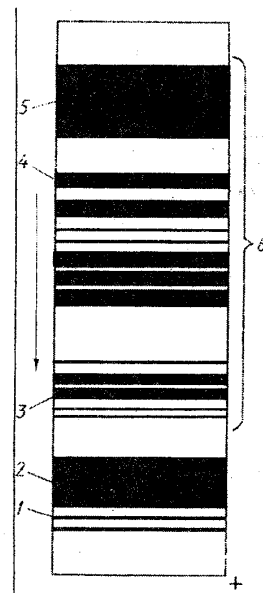
5. «Set» qo'lchasi ishga tushiriladi, lampochka yonadi.

6. «Elektroforez» qo'lchasi soat yo'nalishi bo'yicha, har qaysi naycha uchun 2 mA hisobida (10 naycha uchun 20 mA) ko'rsatkichga ega bo'lguncha buraladi; 15 daqiqa o'tgach, tok kuchi har qaysi naychaga 4 mA hisobida (10 naychaga 40 mA) oshirilib, shu ko'rsatkich tajriba o'tkazish tugaguncha ushlanib turiladi. Elektroforez 1-1,5 soat davom etadi. Shu vaqt ichida bo'yoq uzun binafsha yo'l hosil qiladi. Yo'l naychani pastki qismidan 0,5 sm yuqoriroqda bo'lishi kerak.

7. Ish tugagach, asbob o'chiriladi. Buning uchun «Set» tumbleri yopiq holatga keltiriladi va kamera TBA dan ajratiladi.

Kameraning yuqori qismidagi bufer alohida kolbaga va pastki kameradagi bufer boshqa kolbaga solinadi. Buferlar 10 martagacha ishlatilishi mumkin.

8. Elektroforezdan so'ng gel ustunchalariga ishlov berish. Kameradan ajratilgan naychalar raqamlangan probirkalarga solinadi. Naychalardagi gel uzun ninali shpritsdan va shprits orasiga devor bo'ylab sekin-asta suv quyish orqali ajratib olinadi.



4-rasm. Sog'lom odam qon zardobi elektroforegrammasi.

- 1- α -glikoprotein;
- 2-albuminlar;
- 3-gaptoglobulin, seruloplazmin;
- 4- β - α -lipoproteinlar;
- 5- γ -globulinlar;
- 6- α , β -globulinlar

Gel ustunchalari bo'yoq solingan probirkaga solinadi. 10 daqiqa ichida oqsil va gel bo'yaladi. So'ngra bo'yoq boshqa idishga olinib, gel 7% li sirka kislota eritmasi bilan to'ldiriladi. Gelning ortiqcha bo'yoqlari yuvilishi uchun eritma bir necha marta almashtirib turiladi. Natijada gel rangsizlanib, faqat oqsilning bo'yalgan qismi qoladi (4-rasmda sog'lom odam qon zardobidagi oqsillarning elektroforegrammasi ko'rsatilgan). Bu oqsillarning miqdorini aniqlash uchun densitometriya usulidan yoki fotoelektrokolorimetriya yo'lidan foydalaniladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Elektroforez usulining asoslanishi, ish tartibi va uning bajarilishi daftarga yoziladi.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Elektroforez usuli oqsillarning qanday xususiyatiga bog'liq?
2. Oqsil aralashmalarini qaysi usul yordamida alohida oqsillarga ajratish mumkin?
3. Oqsillarning izoelektrik holati nima?
4. Izoelektrik nuqtasi pH 1 ga teng bo'lgan pepsin elektr maydonida qaysi qutb tomon harakatlanadi? pH 4,6 bo'lgan tuxum albuminichi? pH 7 bo'lgan mioglobin va pH 9,5 bo'lgan ximotriponogenchi?
5. Oqsillarning ionlanish darajasini qanday qilib oshirish mumkin?
6. Poliakrilamid gel elektroforezi ishlash ko'rsatkichining yuqori darajasi nimaga bog'liq?

4. OQSILLARGA O'TKAZILADIGAN SIFAT REAKSIYALAR, OQSIL TARKIBIDAGI AMINOKISLOTALARNI ANIQLASH

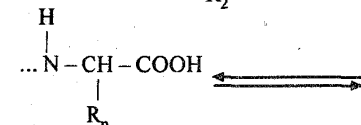
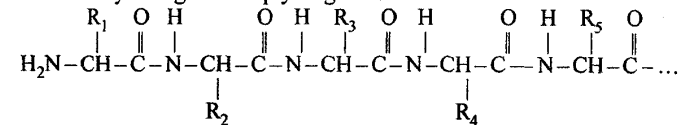
Oqsillarning turli-tumanligi ular tarkibidagi aminokislotalar soni, sifati va tartibi bilan o'lchanadi. Oqsil biosintez jarayonida biror ta'sir natijasida, aminokislotalarning o'rin almashinishi (o'roqsimon hujayra anemiyasida) yoki tushib qolishi sababli turli irsiy kasalliklar kelib chiqishi mumkin. Oqsil yoki aminokislotalar yetishmovchiligi ham turli biologik suyuqliklar tarkibidagi oqsillarni va aminokislotalarning sifat yoki miqdoriy analizi muhim amaliy ahamiyatga ega.

Oqsil va aminokislotalarni aniqlash, ular tarkibidagi funksional guruhlarni turli reaktivlar bilan rangli birikmalar hosil qilishiga asoslangan.

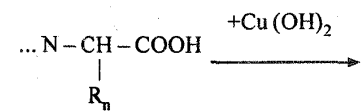
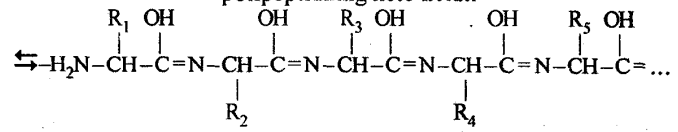
14-ish. OQSILLARNI BIURET REAKSIYASI BILAN ANIQLASH

Reaksiyaning asoslanishi. Oqsil eritmasi ishqoriy sharoitda mis (II) sulfat eritmasi qo'shilganda ko'kimir-binafsha rangga kiradi. Ushbu rang mis ionlarining peptid bog'lar bilan hosil qilgan kompleks birikmasiga bog'liq. Bu reaksiyani ikki va undan ortiq peptid bog' tutgan peptidlar, oqsillar beradi. Ushbu reaksiya barcha oqsillarga tegishli.

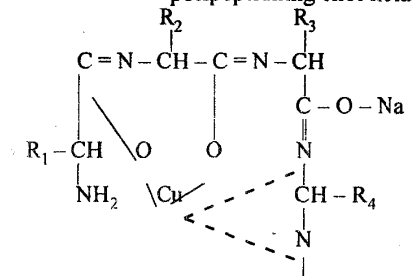
Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



polipeptidning keto holati



polipeptidning enol holati



Binafsha rang polipeptidning mis kompleksi (Biuret kompleksi)

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis sulfatning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

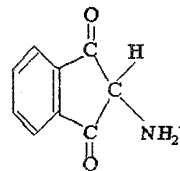
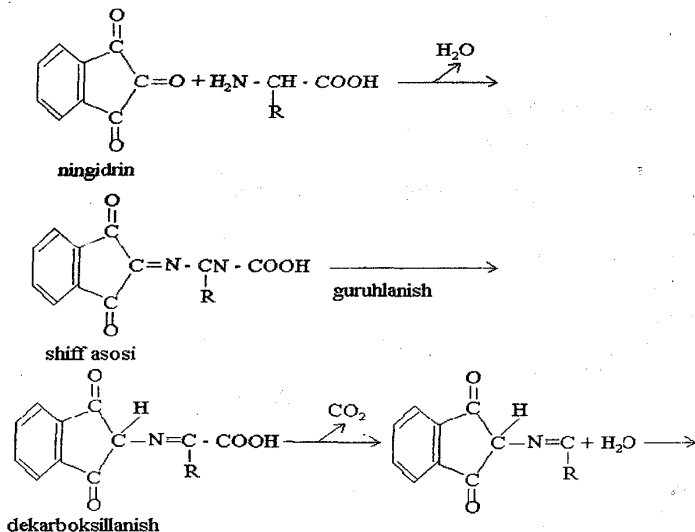
Bajariladigan ish tartibi. 5 tomchi oqsil eritmasiga 2 tomchi natriy gidroksidning 10% li eritmasi va mis sulfatning 1% eritmasidan bir tomchi solib, aralashtiriladi. Eritma ko'k-binafsha tusga kiradi. Olingan natijalar 8-jadvalga yoziladi.

15-ish. α AMINOKISLOTALARGA O'TKAZILADIGAN NINGIDRIN REAKSIYASI

Ushbu reaksiya aminokislotalarning α holatida turgan aminoguruhlariga xosdir.

Reaksiyaning asoslanishi. Ningidrin ta'sirida oksidlangan α aminokislota dezaminlanadi, dekarboksillanadi. Natijada CO_2 , ammiak, aldegid hosil bo'ladi. Oksidlangan ningidrin qaytarilgan ningidrinning ikkinchi molekulasiga bilan ammiak ishtirokida birikib binafsha-ko'k rangli kondensatsiyalangan mahsulotni hosil qiladi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



aminodikeogidridinden (diketogidrinamin)



aldegid

Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: 0,1% li ningidrinning spirtli eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, pipetkalar, spirt lampasi.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkadagi 4-5 tomchi oqsil eritmasiga 3-4 tomchi ningidrin eritmasidan solib, 1-2 daqiqa qizdiriladi. Ko'kimtir-binafsha yoki binafsha rang hosil bo'ladi.

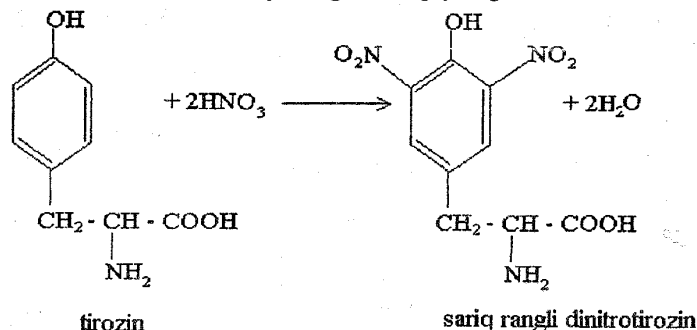
Olingan natijalar 8-jadvalga yoziladi.

16-ish. SIKLIK AMINOKISLOTALARGA O'TKAZILADIGAN KSANTOPROTEIN REAKSIYASI

Ushbu reaksiya oqsil eritmasida siklik aminokislotalar, fenilalanin, tirozin, gistidin va tpirtofan borligini isbotlaydi.

Reaksiyaning asoslanishi. Oqsil eritmasiga konsentrlangan nitrat kislota qo'shilganda benzol xalqaning nitrallanishi natijasida sariq rang hosil bo'ladi. Eritmaga ishqor qo'shilganda esa, u sarg'ish-pushti rangga o'tadi (sariq rangli nitrobirikma hosil bo'ladi).

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material. Oqsil eritmasi.

Reaktivlar: konsentrlangan nitrat kislota, natriy gidroksidning 20% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar, spirt lampasi.

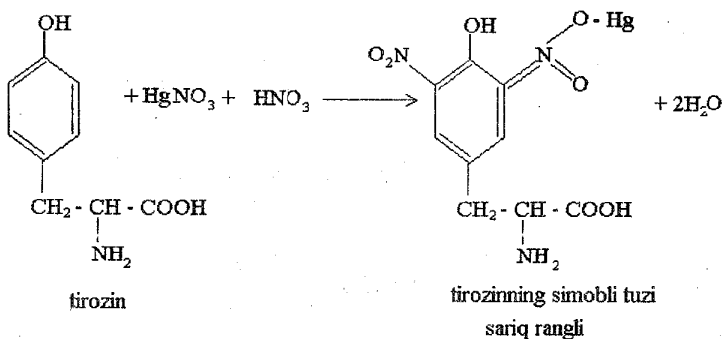
Bajariladigan ish tartibi. 4-5 tomchi oqsil eritmasiga 1-2 tomchi konsentrlangan nitrat kislota solib, ehtiyotkorlik bilan qizdiriladi. Suyuqlik dinitrotirozin hosil bo'lganligi sababli sariq tusga kiradi. Eritma ustiga 2-3 tomchi natriy gidroksid eritmasidan solinganda sarg'ish-pushti rang hosil bo'lgani kuzatiladi, chunki dinitrotirozinning natriyli tuzi hosil bo'ladi.

Olingan natija 8-jadvalga yoziladi.

**17-ish. FENILALANIN VA TIROZIN
AMINOKISLOTALARIGA O'TKAZILADIGAN
XUSUSIY SIFAT REAKSIYA (MILLON REAKSIYASI)**

Millon reaksiyasi faqat tirozin va fenilalaninga xos reaksiya hisoblanadi.

Reaksiyaning asosi. Oqsil eritmasiga Millon reaktivi (simobning nitrat kislotadagi eritmasi) qo'shilganda tirozin va fenilalaninning benzol xalqasi – dinitrotirozinning simobli tuzi hosil bo'lgani sababli u qizil rangga kiradi.



Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: Millon reaktivi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

Bajariladigan ish tartibi. 5 tomchi oqsil eritmasiga 1-2 tomchi Millon reaktivi solinib, ehtiyotkorlik bilan qizdiriladi. Qizil rang hosil bo'ladi.

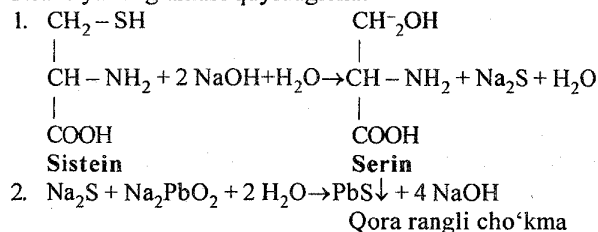
**18-ish. KUHSIZ BOG'LANGAN OLTINGUGURT
TUTUVCHI AMINOKISLOTALARGA
O'TKAZILADIGAN REAKSIYA (FOLI REAKSIYASI)**

Sistein va sistin aminokislotalarida oltingugurt juda kuchsiz bog'langan bo'lib, ularni ishqor yordamida ajratib olish mumkin.

Reaksiyaning asoslanishi. Ishqoriy gidroliz natijasida ajralgan oltingugurt qo'rg'oshin bilan birikib, qora rangli qo'rg'oshin sulfid tuzini hosil qiladi. Bu tuz eritmada cho'kma holatda bo'ladi.

Ushbu reaksiya sistin almashinuvi buzilganda aniqlanadi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: Foli reaktivi.

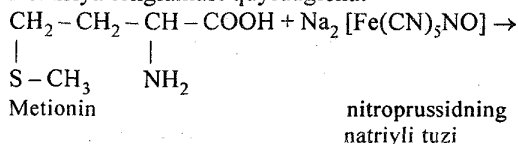
Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

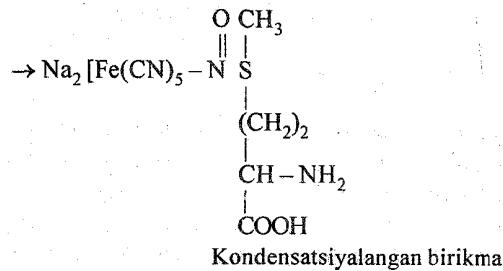
Bajariladigan ish tartibi. 5 tomchi oqsil eritmasiga shuncha miqdorda Foli reaktivi solib qizdiriladi va 1-2 daqiqaga qoldiriladi. Shunda qoramtir qo'rg'oshin sulfid cho'kmasi hosil bo'ladi.

**19-ish. METIONINGA O'TKAZILADIGAN
NITROPRUSSID REAKSIYASI**

Reaksiyaning asoslanishi. Metionin ishqoriy sharoitda natriy nitroprussid bilan qizil rangli kompleks birikma hosil qiladi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:





Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: natriy gidroksidning 20% li eritmasi, natriy nitroprussidning 5% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

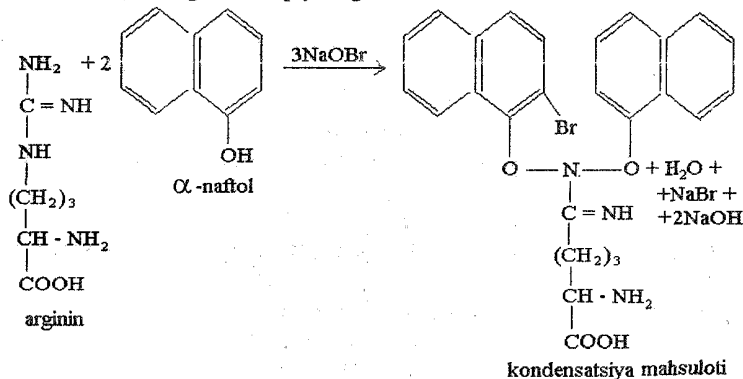
Bajariladigan ish tartibi. 5 tomchi oqsil eritmasiga 4-5 tomchi natriy gidroksidning 20% li eritmasidan solib, bir necha daqiqa qizdiriladi. Eritma sovutiladi va unga 2-3 tomchi natriy nitroprussid eritmasi tomiziladi. Suyuqlik qizil tusga kiradi.

Olingan natija 8-jadvalga yoziladi.

20-ish. ARGININGA O'TKAZILADIGAN SAKAGUTI REAKSIYASI

Reaksiyaning asoslanishi. Argininning guanidin guruhi α -naftol ishtirokida ishqoriy muhitda gipobromid bilan oksidlanib, pushti-qizg'ish rangli kondensatsiyalangan mahsulot hosil qiladi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi yoki 0,01% li arginin eritmasi.

Reaktivlar: natriy gidroksidning 10% li eritmasi, α -naftolning 0,2% li spirtli eritmasi, natriy gipobromidning 2% li eritmasi, mochevina eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

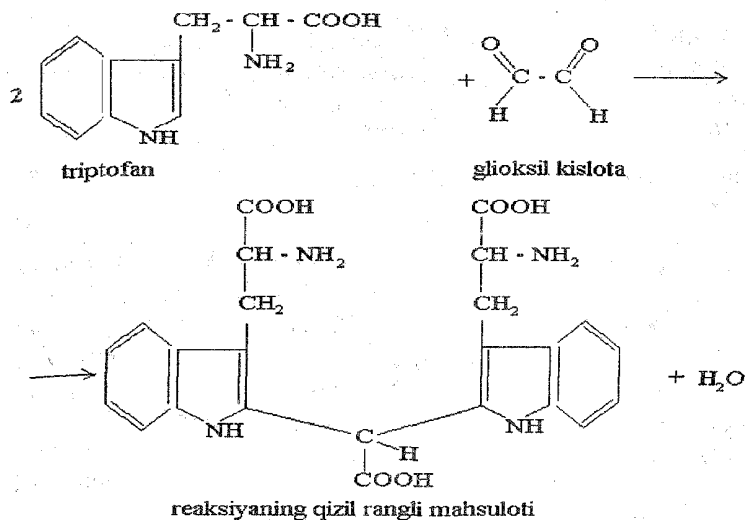
Bajariladigan ish tartibi. Probirkalarning biriga oqsil eritmasidan 10 tomchi, ikkinchisiga 0,01% li arginin eritmasidan 10 tomchi solib, ularning har biriga 10% li natriy gidroksid eritmasidan 10 tomchi va α -naftolning 2% li spirtli eritmasidan solinadi va yaxshilab aralashtiriladi. So'ng ularga natriy gipobromid eritmasidan solinadi. Eritmaga 40% li siydikchil eritmasidan 5 tomchi solinganda pushti-qizg'ish rang hosil bo'lishi tezlashadi. Eritma pushti-qizg'ish tusga kiradi.

Olingan natija 8-jadvalga yoziladi.

21-ish. TRIPTOFANGA O'TKAZILADIGAN ADAMKEVICH REAKSIYASI

Reaksiyaning asoslanishi. Triptofan gliksil kislota bilan o'zaro ta'sirlanib, qizil-binafsha rangli birikma hosil qiladi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislotasi, glioksil kislotasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

Bajariladigan ish tartibi. 5 tomchi oqsil eritmasiga 5 tomchi konsentrlangan glioksil kislotasi va 10 tomchi konsentrlangan sulfat kislotadan juda ehtiyotkorlik bilan, probirka devori bo'ylab tomiziladi. Eritmalarning aralashib ketishiga yo'l qo'yamlik kerak. Qizil-binafsha rangli xalqa hosil bo'lgani kuzatiladi.

Olingan natija 8-jadvalga yoziladi.

8-jadval

Oqsillarga o'tkazilgan rangli reaksiyalar

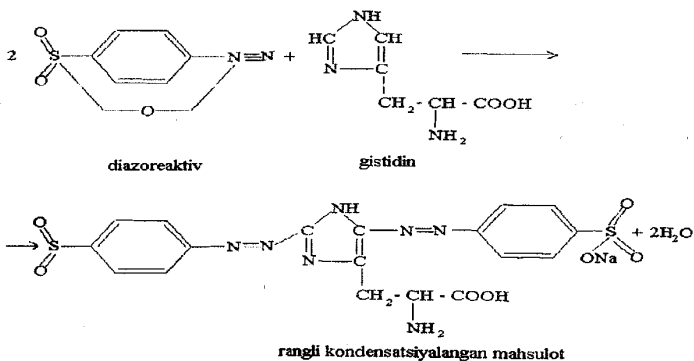
№	Reaksiyaning nomi	Ishlatilgan reaktivlar	Kuzatilgan rang	Ochilgan birikma

O'tkazilgan reaksiyalar bo'yicha xulosa.

22-ish. GISTIDINGA PAULI REAKSIYASI

Reaksiyaning asoslanishi. Tirozin, triptofan va gistidin ishqoriy muhitda diazoreaktiv bilan sarg'ish-pushti rangli kompleks birikma hosil qiladi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: Natriy karbonat eritmasi, diazoreaktiv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar va spirt lampasi.

Bajariladigan ish tartibi: 20 tomchi oqsil eritmasiga natriy karbonat eritmasidan va diazoreaktivdan 1 ml solib, rang hosil bo'lishi kuzatiladi. Bir necha daqiqa o'tgach, gistidinning diazoreaktiv bilan sarg'ish-pushti rangli kompleks birikmasi hosil bo'ladi.

5. OQSILLAR GIDROLIZI VA AMINOKISLOTALARNI FORMOL TITRLASH USULI BILAN ANIQLASH

Ko'pchilik oqsillar tibbiyotda davolash maqsadida qo'llaniladi (vaksinalar, zardoblar, gammaglobulinlar, gistoglobulinlar, fermentlar, gormonlar va h.k.). Ushbu oqsillarni sun'iy yo'l bilan olish uchun ularning tuzilishini o'rganish kerak. Oqsilni sof holda ajratish uchun uning parchalanishini, aminokislotalar tarkibini, ketma-ketligini o'rganish lozim.

Oqsillarni laboratoriya sharoitida ajratish va parchalash juda murakkab jarayon. Ularni parchalash, ya'ni gidrolizlash uchun turli xildagi katalizatorlardan foydalaniladi.

Gidroliz murakkab moddalarni quyi moddalargacha, bog'larini uzilish joyiga suv biriktirilishi bilan kechadigan parchalanish jarayonidir. Katalizatorlar ishlatilishiga ko'ra kislotali, ishqorli va fermentli gidroliz turlariga tafovut qilinadi. Oqsil gidrolizining oxirgi mahsuloti aminokislotalardir. Organizmda oqsil gidrolizi doimo ovqat hazm bo'lish vaqtida ro'y beradi. Shuningdek, hujayra faoliyatida ham proteolitik fermentlar ta'sirida hujayra oqsillarining gidrolizi kuzatiladi. Kislotali gidroliz jarayonida ayrim aminokislotalarning parchalanishi kuzatiladi: triptofan to'liq parchalanadi, serin, treonin, tirozin, fenilalanin esa qisman parchalanadi.

Gidrolizlangan oqsil aralashmalari ishlov berilgandan so'ng turli kasalliklarda, gipoproteinemiya holatlarida davolash uchun yo'g'on ichak orqali organizmga yuboriladi.

23-ish. ODDIY OQSILLARNING KISLOTALI GIDROLIZI

Oqsillar kislotali gidrolizi jarayonida yuqori molekulari peptidlarga, quyi molekulari, oddiy peptidlarga, dipeptid va aminokislotalarga parchalanadi. Oqsillarning to'liq gidrolizi uzoq vaqt davom etadi. Buning uchun oqsil eritmasi havo sovitgich o'rnatilgan dumaloq tubli kolbada kislotaga ishtirokida qaynatiladi (5-rasm).

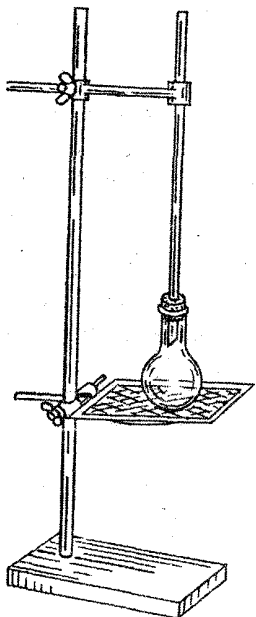
Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar. Konsentrlangan xlorid kislotasi, natriy gidroksidning 1,10% li eritmasi, sirka kislotaning 1% li eritmasi, neytral formalinning 20% li eritmasi (formalin uzoq saqlanganda havo kislorodi bilan oksidlanib, chumoli kislotasini hosil qiladi. Shuning uchun ishlatishdan oldin bu eritma nitrallanishi kerak. Buning uchun 10 ml formalin eritmasi 0,05 n ishqor eritmasi bilan fenolftalein indikatorini ishtirokida och pushti rangga kirguncha titrlanadi), fenolftaleinning 0,5% li eritmasi shu usuli 307-betda ko'rsatilgan 0,05n natriy gidroksid eritmasi (tayyorlanishi 306-betda), lakmus, indikator qog'ozchalari, maydalangan pista ko'mir.

Kerakli anjomlar. Havo sovitgichi o'rnatilgan dumaloq tubli kolba, shisha tayoqchalar, titrlash uchun kimyoviy stakanlar yoki kolbachalar, 1,2 ml li o'lchov pipetkalari, mikro va makroburetka, 25 ml li o'lchov silindrlari.

Bajariladigan ish tartibi. Dumaloq tubli kolbaga oqsil eritmasidan 20 ml va konsentrlangan xlorid kislotadan 5 ml (nisbiy zichligi 1,19 bo'lgan) solib kolba shisha nay bilan biriktirilib, asbest to'rli shtativga o'rnatiladi (5-rasm).

Kolbadagi aralashma 45 yoki 90 daqiqa (o'qituvchi nazoratida) tortgich shkafda qaynatiladi. Oqsillarning kislotali gidrolizi jarayonida aminokislotalardan tashqari ammiak, vodorod sulfid, gidrolizning bo'yalgan mahsulotlari, gumin moddalar va boshqalar hosil bo'ladi. Shuning uchun gidrolizatga pista ko'mir solib, keraksiz



5-rasm. Oqsil gidrolizi uchun ishlatiladigan, havo sovitgichi bilan biriktirilgan dumaloq tubli kolba

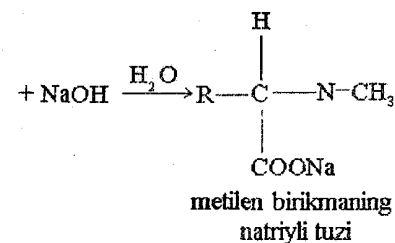
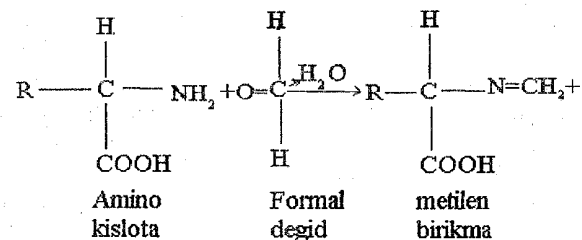
mahsulotlar adsorbsiyalanadi va eritma filtdan o'tkaziladi. So'ng eritma indikator yordamida neytrallanadi.

24-ish. SERENSEN USULI BILAN FORMOL TITRLASH

Oqsilning gidrolizlanish jarayonida peptid bog'larning uzilishidan karboksil va aminoguruhlar soniga teng miqdorda ortib boradi. Aminoguruhlar soni o'lchash yo'li bilan oqsillarning gidrolizlanish darajasi va azot soniga qarab oqsil miqdorini ham o'lchash mumkin.

Usulning asoslanishi. Gidrolizatga qo'shilishib formaldegid α -aminoguruhni bog'lab, metilen birikma hosil qiladi (metilenamiokislotaga). Erkin holdagi karboksil guruh esa ishqor yordamida titrlanadi.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Bajariladigan ish tartibi. 1. Gidrolizlanmagan oqsil eritmasidagi karboksil guruh miqdorini o'lchash. 1 ml oqsil eritmasiga 5 tomchi neytral formalin eritmasi va 3 tomchi fenolftalein solib, mikroburetka 0,05 n natriy gidroksid eritmasi bilan turg'un och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. Titrlash uchun sarflangan natriy gidroksid miqdori jadvalga yoziladi.

**25-ish. OQSIL GIDROLIZATI –
AMINOKISLOTALAR ARALASHMASINI
XROMATOGRAFIYA USULI BILAN AJRATISH**

2. 45 va 90 daqiqa gidrolizlangan oqsil gidrolizatidagi karboksil guruh miqdorini o'lchash. 45 va 90 daqiqa qaynatilgan oqsil eritmasiga bir chimdim pista ko'mir solib, yana 5 daqiqa qaynatiladi. Qoramtir rang oqaradi. Shundan so'ng gidrolizat 25 ml li o'lchov silindriga olinib, hajmi 25 ml ga yetkaziladi va filtdan o'tkaziladi. Filtdan o'tgan gidrolizatdan 1,25 ml olib, ustiga uch tomchi fenolftalein tomiziladi va 10% li natriy gidroksid bilan mikroburetka orqali och pushti rangga kirguncha titrlanadi (20 ml oqsil eritmasiga 25 ml gidrolizat to'g'ri keladi, 1 ml oqsil eritmasiga ega 1,25 ml gidrolizat to'g'ri keladi). Ushbu titrlash reaksiyasi xlorid kislotani neytrallash uchun o'tkaziladi, ishqor miqdori hisobga olinmaydi.

Neytrallangan gidrolizatdan olib (gidrolizlanmagan oqsil eritmasidagi karboksil guruh miqdorini o'lchash kabi), yuqoridagidek karboksil guruh miqdori o'lchanadi va olingan natija jadvalga yoziladi.

Aminoguruh miqdoriga ko'ra uning azotni hisoblashda gidroliz jarayonida karboksil va aminoguruhlar soni ekvivalent ravishda ortishini e'tiborga olib, karboksil guruhni neytrallash uchun ketgan ishqor miqdoridan foydalaniladi. Ishqor eritmasining 1 litriga 14 g azot, 1 ml ga 14 mg azot to'g'ri keladi. 1 ml 0,05 n ishqor eritmasiga esa 0,07 mg azot to'g'ri keladi.

Gidrolizlanmagan oqsil eritmasi, 45 va 90 daqiqa gidrolizlangandan so'ng topilgan gidrolizator tarkibidagi azot miqdori bo'yicha qilingan hisoblar jadvalga yoziladi, azot miqdoriga qarab egri chiziq chiziladi.

Oqsilning oraliq parchalanish mahsulotlarini Biuret reaksiyasi yordamida aniqlash. Neytrallangan gidrolizat bilan Biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

Olingan natija 9-jadvalga yoziladi.

9-jadval

Oqsil eritmasi va uning gidrolizatini formol usul bilan titrlash hamda oraliq mahsulotlarini aniqlash

Titrlash uchun olingan eritma	Titrlash uchun ketgan 0,05 n NaOH miqdori	Aminoguruhdagi azotni NaOH bo'yicha hisoblash	Biuret reaksiya natijasi
Gidrolizlanmagan oqsil eritmasi			
45 daqiqa qaynatilgan gidrolizat			
90 daqiqa qaynatilgan gidrolizat			

O'tkazilgan tajriba bo'yicha xulosa.

Gidrolizat tarkibidagi aminokislotalar aralashmasini ajratish va ayrim aminokislotalarning sifat va miqdorini aniqlashda qog'ozda o'tkaziladigan taqsimlovchi xromatografiya usuli keng qo'llaniladi. Bu usul M.S.Svetning 1903-yilda taklif qilgan xromatografiya analizining o'zgartirilgan ko'rinishidir.

Aminokislotalarni ajratish ularni ikkita aralashmaydigan eritmada (biri suv, ikkinchisi suv bilan to'yintirilgan organik eritma) erish xususiyatini aniqlash orqali amalga oshiriladi. Hozirgi vaqtda xromatografiya usulining quyidagi xillari mavjud: adsorbtsion usul aminokislotalarning turli adsorbentlarda adsorbtsiyalanishiga bog'liq; ion almashtiruvchi xromatografiya usuli aminokislotalarning zaryadiga qarab kationit yoki anionitlardan foydalaniladi. Afin xromatografiya – xususiy bog'lanish holatiga ega bo'lgan fermentlar, immunoglobulinlar, retseptor va gormonlardan foydalanib tegishli birkmalar ajratiladi.

Aminokislotalar aralashmasini qog'oz xromatografiya usuli bilan ajratish. Ushbu usul maxsus tayyorlangan xromatografiya – filtr qog'ozida o'tkaziladi. Namlangan kameraga joylashtirilgan xromatografiya qog'ozi 20-22% suvni ushlab qolish xususiyatiga ega. Demak, suv harakatlanmaydigan faza, chunki u qog'ozga shimilgan, harakatlanuvchi faza sifatida organik erituvchilardan foydalaniladi. Ularga suv bilan to'yintirilgan izopropil, izobutil, butil spirtlari, fenol va boshqalar kiradi. Xromatografiya qog'oziga bir tomchi aminokislota aralashmasidan tomiziladi, qog'ozning ikkinchi uchi tegishli organik erituvchiga tushiriladi. Erituvchi qog'oz bo'lakchasi bo'ylab shimila boshlaydi va erigan aminokislota o'zi bilan birga yo'naltiradi. Aminokislotalarning qog'oz bo'lakchasidagi harakatlanish tezligi uning eruvchanligiga bog'liq. Aminokislota suvda qancha yaxshi erisa, organik erituvchida shuncha yomon eriydi va organik erituvchiga nisbatan harakatlanish tezligi sust bo'ladi. Shu yo'l bilan aminokislotalar turli masofada taqsimlanadi.

Aminokislotalarni xromatografiya qog'ozida harakatlanishiga qarab; yuqoriga, pastga va doira bo'ylab harakatlanuvchi xromatografiya turlari tafovut qilinadi.

Aminokislotalarning xromatografiya qog'ozida taqsimlanish masofalari α -aminokislotalar uchun o'tkaziladigan ningidrin reaksiyasi

yordamida aniqlanadi. Aralashmadagi muayyan aminokislotalarni aniqlash uchun xromatografiya qog'oziga guvoh aminokislotalar tomiziladi va shu aminokislotalarning masofasiga ko'ra tegishli aminokislotalar taqsimlanish koeffitsiyenti R_f ga ko'ra aniqlanishi mumkin.

$R_f = a/b$. Bunda a aminokislotalarning tomizilgan joydan o'tgan masofasi, b — eritmaning o'tgan masofasi. Masofalar mm da o'lchanadi.

Koeffitsiyent R_f har qanday aminokislotalar uchun tajriba o'tkazilayotgan sharoitda xususiy kattalikdir.

Tekshiriluvchi material: gidrolizlangan aminokislotalar aralashmasi.

Reaktivlar: tirozinning 0,4% li eritmasi, glutamin kislotaning 0,6% li eritmasi, leysinning 0,5% li eritmasi, ningidrinning atsetondagi 0,2% li eritmasi va yuqoridagi aminokislotalar aralashmasi, erituvchi sistemalari 15:15:10 nisbatda olingan butil spirti, sirka kislotasi va suv aralashmasi.

Kerakli anjomlar: xromatografiya filtr qog'ozini, Petri kosachasi, xromatogrammalarni ilish uchun moslama, purkagich, 105°C li quritgich shkaf, qaychi, skalpellar, shisha tomizgichlar, qalin nina.

Bajariladigan ish tartibi. Xromatografiya usuli bilan aminokislotalarni ajratish uchun ishlatiladigan kameralar 6-rasmda keltirilgan (yuqoriga, pastga va aylana harakatlanadigan aminokislotalar xromatografiyasi).

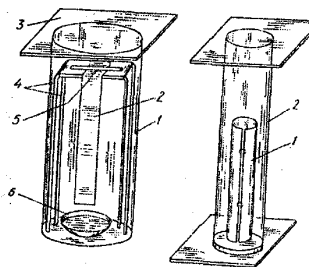
1. Xromatografiya filtr qog'ozidan 11x11 sm li to'rtburchaklar yasalanadi. To'rtburchak oddiy qora qalam bilan to'rt qismga bo'linadi. Chiziqlar kesishgan nuqtadan radiusi 10 mm bo'lgan aylana chiziladi. To'rtburchakning tomonlari tartib raqamlari bilan belgilanadi. Shundan so'ng xromatografiya qog'ozini Petri kosachasiga (7-rasmdagi kabi) o'rnatiladi. Uning chetlari Petri kosachasining ustida bo'lishi kerak.

2. Har qaysi bo'linmaga ingichka tomizgich yordamida sinama aminokislotalar va ularning aralashmasi ehtiyotkorlik bilan tomiziladi (8-rasm). Erituvchilarning shimilishi uchun xromatografiya qog'ozining o'rtasidagi teshikchaga filtr ustunchasi o'rnatiladi. Xromatografiya kamerasiga shu teshikcha orqali qalin nina bilan 10-15ml erituvchi solinadi. Idishning tubi erituvchi bilan to'ldirilgan bo'lishi kerak. Kamera qopqoq bilan berkitiladi. Filtr orqali erituvchi sekin-asta xromatografiya qog'ozining yuqorisiga qarab yo'naladi. Erituvchi xromatogramma chegarasiga yaqinlashganda jarayon tugatiladi, erituvchi yetgan chegara qalam bilan belgilanadi. Shundan keyin xromatogramma maxsus moslamaga joylashtirilib, 100-120°C li

quritilgich shkafda quritiladi, shunda ajratilgan aminokislotalar qog'ozga o'rnatiladi. Quritish jarayoni 5-10 daqiqaga, ya'ni erituvchining hidi atrofga tarqalguncha davom ettiriladi. Quritilgan xromatogramma aminokislotalarni aniqlash uchun ningidrin eritmasi purkaladi va yana quritiladi. Natijada aminokislotalar o'rnatilgan joyda bog' hosil bo'ladi (6-rasm).

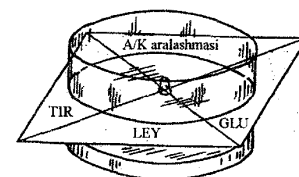
3. Har qaysi aminokislotalarning « R_f » si topiladi va sinama aminokislotalar bilan aralashmadagi aminokislotalar solishtiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Xromatografiya usulining asoslanishini, turini hamda olingan natijalarni daftarga yozib, tegishli xulosa chiqarib. Aminokislotalarni aniqlashning ahamiyatini eslab qoling.

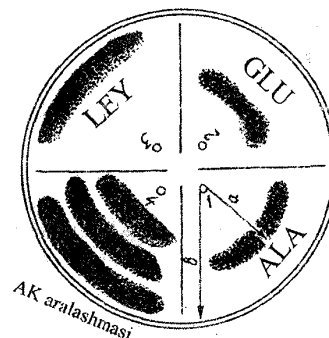


6-rasm. Pastga (a) va yuqoriga (b) yo'naltirilgan xromatografiya kameralari

- a) 1-kamera; 2-qog'oz;
- 3-kameraning qopqog'i; 4-kemacha uchun moslama; 5-kemacha;
- 6-eritma solingan idish.
- b) 1-qog'oz; 2-kamera



7-rasm. Aylana xromatogramma uchun kamera



8-rasm. Aminokislotalarning aylana (doira) xromatogrammasi

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Hayvon va odam oqsillariga qaysi aminokislotalar misol bo'ladi?
2. Oqsil molekulasidagi aminokislotalar qanday bog' bilan bog'langan?
3. α -aminokislotalar qanday reaksiya bilan ochiladi? Ushbu reaksiyaning asosi va kimyoviy tenglamasi qanday?
4. Oqsillarga o'tkaziladigan rangli reaksiyalar nimaga asoslangan?
5. Aromatik aminokislotalar qanday reaksiya bilan ochiladi? Uning asosi va kimyoviy tenglamasi qanday?
6. Kuchsiz va mustahkam bog'langan oltingugurt tutuvchi aminokislotalar qanday reaksiya bilan ochiladi? Uning ahamiyati va kimyoviy tenglamasi qanday?
7. Oqsil gidrolizi nima? Oqsil gidrolizi uchun qanday sharoitlar kerak? Oqsil gidrolizining sxemasini tuzing.
8. Oqsil gidrolizatidagi aminokislotalar aralashmasi qaysi usul bilan ajratiladi? Usulning ahamiyati qanday? Usulning turlarini ayting.
9. Xromatografiya filtri qog'ozida o'tkaziladigan usulning ahamiyati nimadan iborat?

6. QON ZARDOBIDAGI OQSIL MIQDORINI ANIQLASH

Qon zardobi va boshqa biologik suyuqliklar tarkibidagi oqsil miqdorini aniqlash tibbiyotda va biologiyada katta ahamiyatga ega. Qon zardobi oqsillarining miqdori turli yoshda turlicha bo'ladi.

Qon zardobidagi oqsil miqdorining kamayishi gipoproteanemiya deyiladi. Gipoproteanemiya oqsil yetishmovchiligida, oqsillarning so'rilishi buzilganda, ularning sintezlanishi pasayganda, kimyoviy moddalar bilan zaharlanganda, xavfli o'smalarda, qalqonsimon bez giperfunksiyasida va boshqa hollarda kuzatiladi.

Qon zardobi tarkibida oqsil miqdorining ortib ketishi giperproteanemiya deyiladi. Bu holat organizmning ko'p miqdorda suv yo'qotishi natijasida, ya'ni qon quyulashganda kuzatiladi.

Gipoproteinemiya asosan gipoalbuminemiya bilan bog'liq bo'lsa, giperproteinemiya – giperglobulinemiya bog'liq bo'ladi.

Shuning uchun biologik suyuqliklar tarkibidagi oqsil miqdorini aniqlash amaliy ahamiyatga ega.

Qon zardobidagi oqsilning yoshga bog'liqligi

Yosh	Oqsil miqdori	
	g %	g/l
Yangi tug'ilganlarda	5,1	51
1 oygacha	-/-	-/-
1 oylik	4,8	48
2 oylik	5,3	53
5 oylik	6,1	61
1 yosh	6,5	65
3-4 yosh	6,9	69
5-7 yosh	7,0	70
8-14 yosh	7,4	74
katta yoshdagilarda	6,5-8,0	65-80

26-ish. OQSIL MIQDORINI BIURET USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Barcha oqsillar ishqoriy muhitda mis (II) sulfat eritmasi bilan binafsha rangli birikma hosil qiladi. Eritmaning rangi oqsil miqdoriga to'g'ri proporsional. Bo'yalgan eritma kolorimetrlanadi, topilgan eritma zichligiga ko'ra avvaldan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan oqsil miqdori topiladi.

Tekshiriluvchi material: 0,5; 1,0; 1,5% li va konsentratsiyasi noma'lum bo'lgan oqsil eritmasi.

Reaktivlar: Biuret reaktivi (tayyorlanishi 299-betda).

Kerakli anjomlar: Probirkalar, shtativlar, buretkalar. Fotoelektrokolorimetr (FEK), qalinligi 1 sm bo'lgan kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. To'rtta quruq probirka olib uning birinchisiga 0,5% li, ikkinchisiga 1,0% li, uchinchisiga 1,5% li oqsil eritmasi solinadi. Ushbu eritmalar o'lchov egri chizig'ini tayyorlash uchun kerak bo'ladi. To'rtinchi probirkaga miqdori noma'lum bo'lgan oqsil eritmasidan solinadi. Maqsad ana shu probirkadagi oqsil miqdorini aniqlash hisoblanadi.

2. Har qaysi probirkaga 4 ml dan Biuret reaktivi quyiladi, yaxshilab aralashtirilgach, xona haroratida 20 daqiqaga qoldiriladi. Shunda eritma asta-sekin rangga kiradi. Rangli eritmaning zichligi yashil nur

filtri qarshisida (FEK ning 540 nm to'liqin uzunligida) 1 sm qalinlikdagi kuvetada o'ldanadi. Nazorat sifatida Biuret reaktividan foydalaniladi.

3. Birinchi uchta probirkadan olingan natija bo'yicha o'ldhov egri chizig'i chiziladi. Ordinata o'ldiga optik zichlik natijalari, absissa o'ldiga esa konsentratsiyasi ma'lum bo'lgan doimiy eritma natijalari keltiriladi.

Miqdori noma'lum bo'lgan oqsil eritmasi zichligini bilgan holda o'ldhov egri chizig'idan foydalanib, izlangan oqsil miqdori topiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, o'ldhov egri chizig'ini va topilgan oqsil miqdorini daftaringizga yozib, tegishli xulosa chiqaring.

27-ish. OQSIL MIQDORINI LOURI USULI BILAN ANIQLASH

Ushbu usul bilan juda kam miqdordagi oqsilni aniqlash mumkin.

Usulning asosi. Usul ko'k rangga bo'yalgan mahsulotlarning hosil bo'lishiga asoslangan. Oqsil ishqoriy sharoitda mis ionlari bilan Biuret reaksiyasi va molibdenfosfat tuzlarini, volframfosfat tuzlari bilan qaytarilib ko'k rangni hosil qiladi. Rangning och-to'qligi oqsil miqdoriga bog'liq.

Tekshiriluvchi material: oqsilning 1% li va 50,100 marta suyultirilgan eritmaları.

Reaktivlar: «S» va «E» reaktivlari.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, 1 ml li o'ldhov pipetkasi, buretkalar, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Bir qator probirkalarga jadvalga muvofiq oqsil eritmaları va tegishli reaktivlar solinadi.

Eritma solingan probirkalar yaxshilab aralashtiriladi va xona haroratida 30 daqiqa qoldiriladi. Probirkadagi eritmalar oqsil miqdoriga bog'liq holda bo'yaladi. Probirkadagi eritmalar vaqt o'tgandan so'ng (670 nm to'liqin uzunligida) qizil nur filtrida, 1 sm qalinlikdagi kuvetada fotoelektrokolorimetrlanadi yoki 660 nm to'liqin uzunligida spektrofotometr lanadi. 3-6-probirkalarga oqsil miqdori bo'yicha o'ldhov egri chizig'i chiziladi va undan foydalanib tekshirilayotgan oqsil miqdori topiladi.

Probirkalar-ning tartibi	Oqsil eritmasi	Suv	E reaktivi	S reaktivi	Optik zichlik
1	--	1 ml	5 ml	0,5 ml	
2	--	1 ml	5 ml	0,5 ml	
3	0,15	0,85 ml	5 ml	0,5 ml	
4	0,2	0,8 ml	5 ml	0,5 ml	
5	0,3	0,7 ml	5 ml	0,5 ml	
6	0,5	0,5 ml	5 ml	0,5 ml	

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosi, o'ldhov egri chizig'i va noma'lum oqsil miqdori daftarga yoziladi, tegishli xulosa chiqariladi.

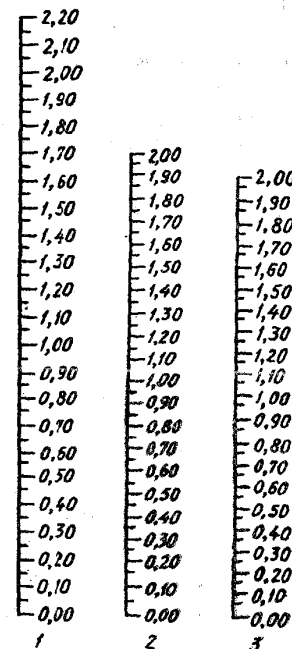
28-ish. OQSIL MIQDORINI SPEKTROFOTOMETRIK USUL BILAN ANIQLASH

Oqsil tarkibiga kiruvchi aminokislotalardan triptofan, tirozin, fenilalanin ultrabinafsha nurlarni (kamroq darajada) yutish qobiliyatiga ega. 280 nm to'liqin uzunligidagi oqsil eritmalarining zichligi yuqoridagi aminokislotalar miqdoriga to'g'ri proporsional. Ushbu usul oqsil aralashmasining turli miqdorini o'ldchashda yaxshi natija beradi.

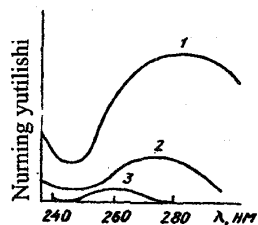
Tekshiriluvchi material: oqsil eritmasi.

Reaktivlar: triptofan, tirozin va oqsil eritmaları.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, o'ldhovli pipetkalar, spektrofotometr.



9-rasm. Oqsil miqdorini aniqlash nomogrammasi



9a-rasm Triptofan(1); tirozin (2); fenilalanin (3); Aminokislotalarning nur yutishi

Bajariladigan ish tartibi.
Rangsiz va tiniq triptofan, tirozin va oqsil eritmalari navbati bilan 280 nm to'liq uzunligidagi va 1 sm qalinlikdagi kuvetada spektrofotometrda o'tkaziladi, so'ngra eritmalarning optik zichligi topiladi. Topilgan zichlik bo'yicha oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan foydalanib tegishli miqdorlar aniqlanadi. Oqsil miqdori Adams nomogrammasidan topilishi mumkin (9, 9a-rasm).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Spektrofotometrik usulning asosini, olingan natijalarni daftaringizga yozib, xulosa chiqaring.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Oqsil miqdorini qanday usullar bilan aniqlash mumkin?
2. Biuret, Louri, spektrofotometrik usullar qanday reaksiyalarga asoslangan? Ushbu usullarning qaysi biri orqali oqsilning eng kam miqdorini o'lchash mumkin?
3. Biologik suyuqlikdagi oqsil miqdori 15 mg/l ni tashkil qilsa, qanday usuldan foydalanish ma'qulroq bo'ladi?

Oqsillarning tuzilishi va xossalariga oid savollar

1. Oqsil eritmasini 80-90°C gacha qizdirilganda oqsil molekulasida qanday o'zgarishlar sodir bo'ladi?
2. Oqsil eritmasini kislotali yoki ishqoriy muhitda uzoq vaqt davomida qaynatilganda qanday o'zgarish kuzatiladi? O'zgarishlarni qanday usul bilan o'rganish mumkin?
3. Oqsil molekulasida oltingugurt tutuvchi aminokislotalar borligini qanday yo'l bilan aniqlash mumkin?
4. Oqsilning tabiati birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi, to'rtlamchi tuzilishiga bog'liq. To'g'ri javobni topib, izohlab bering.
5. Oqsil eritmasiga oz miqdorda kislotaga qo'shib qizdirilganda cho'kmaga tushadi. Buning sababini qanday tushuntirish mumkin?

6. Oqsilning aminokislotalar tarkibi o'rganilganda uning tarkibida ko'p miqdorda asosiy xossaga ega bo'lgan aminokislotalar borligi aniqlanadi. Ushbu oqsillar elektr maydonida qaysi zaryad tomon harakatlanadi? Nordon-kislotali aminokislotalar bo'lsa-chi?
7. Oqsil gidrolizati tarkibida triptofan, gistidin, fenilalanin va tirozin aminokislotalarning borligini qanday aniqlash mumkin?
8. Kasalxonalaridagi biokimyo laboratoriyalarida biologik suyuqliklar tarkibidagi oqsillarni aniqlash uchun qo'shimcha konsentrlangan nitrat kislotadan foydalaniladi. Buning sababi nimada? Nima uchun boshqa mineral kislotalarga nisbatan nitrat kislotaga ko'proq ishlatiladi?
9. a) Oqsilning fazoviy tuzilishi uning birlamchi tuzilishi bilan belgilanadi; b) oqsillarning biologik faoliyati uning fazoviy tuzilishi bilan belgilanadi, degan tushunchalarni qanday izohlash mumkin?
10. Mioglobin va gemoglobin protomerlari (HbA, HbA₂, HbF) ning birlamchi tuzilishlari bir xil. Qanday qilib biologik evolutsiya jarayonida qardosh oila oqsillari kelib chiqqan?
11. Oqsillarning asosiy biologik faoliyati ligandlar bilan xususiy bog'lanish xossasidir, chunki oqsillarning birlamchi tuzilishi ko'pchilik oqsillarni aniqlaydi. Ushbu fikrni to'g'ri yoki noto'g'ri ekanligini izohlab bering.
12. Ko'pchilik dorivor moddalar organizmdagi oqsillar bilan birikadi, chunki ular tabiiy ligandlarning o'xshash turlaridir. Ushbu tushunchani izohlab bering.
13. O'roqsimon hujayra kamqonligi bilan og'rigan bemorda surunkali kislorod yetishmovchiligi (gipoksiya holati) rivojlanadi va bemorni o'limga olib keladi. Buning sababini va kasallikning asosiy mexanizmini tushuntirib bering.
14. O'roqsimon hujayra kamqonligi bilan og'rigan bemorning gimoglobini elektroforezda qaysi tomonga («anod», «katod») harakatlanadi? Sog'lom kishilarning gemoglobini-chi?

**MURAKKAB OQSILLARNING TUZILISHI
(PROTEIDLAR)**

Murakkab oqsillar prostetiklar guruhi hisoblangan oqsil va oqsil bo'lmagan birikmalardir. Ularga nukleoproteidlar (tarkibida nuklein kislota turuvchi), xromoproteidlar (gem va flavon tutuvchi), fosfoproteidlar (fosfor kislota tutuvchi), glikoproteidlar (karbonsuv tutuvchi), lipoproteidlar (yog' tutuvchi), metalloproteidlar (metall tutuvchi oqsillar) misol bo'ladi. Murakkab oqsillar – fermentlar ham mavjud.

1. NUKLEOPROTEIDLAR

Nukleoprotidlar barcha tirik organizmlarning yadro oqsilidir. Ushbu oqsillar (protaminlar va gistonlar) tarkibida ko'p miqdorda lizin, gistidin, arginin kabi aminokislotalar bo'lganligi uchun ular asos xossasiga ega. Shunday xossasi borligi tufayli ular nuklein kislotalar bilan birika oladi. Nukleoproteidlarning asosiy qismi xromatinlar (dezoksiribonukleoprotein) va ribosomal (ribonukleoproteinlar) dan tashkil topgan. Xromatin massasining 3/2 qismini oqsillar, 3/1 qismini DNK tashkil qiladi. Xromatin tarkibida 10%gacha RNK bor. Ularning yarmidan ko'pi gistonlardir.

Har qanday tirik hujayra tarkibida uch xil ribonuklein kislota bo'ladi, ribosomal (r RNK – 80%), transport (t RNK – 15%), informatsion (axborot o'tkazuvchi) (i RNK – 5%). Nuklein kislotalar (DNK, RNK) oqsil kabi birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi va to'rtlamchi tuzumga ega. Nuklein kislotalarning biologik ahamiyati juda katta. Ular hujayralarning (yadro va sitoplazmalari) tarkibiy qismi bo'lish bilan bir qatorda juda muhim vazifalarni bajaradi. Hujayraning bo'linishi, irsiy belgilarning nasldan-naslga o'tkazilishi, oqsil biosintezi nukleoproteidlariga bog'liq.

Turli irsiy kasalliklarning kelib chiqish sabablarini bilish, irsiy kasalliklarga moyillik, ulardagi o'zgaruvchanlik hamda organizm immunologik to'qimalarining (transplantatsion) qarama-qarshilik holatlarini o'rganishda nuklein kislotalarning tuzilishini, irsiy belgilarni o'tkazish mexanizmini, ularning turli ta'sirlar natijasida o'zgarishini (mutatsion o'zgarishlar) bilish juda zarur.

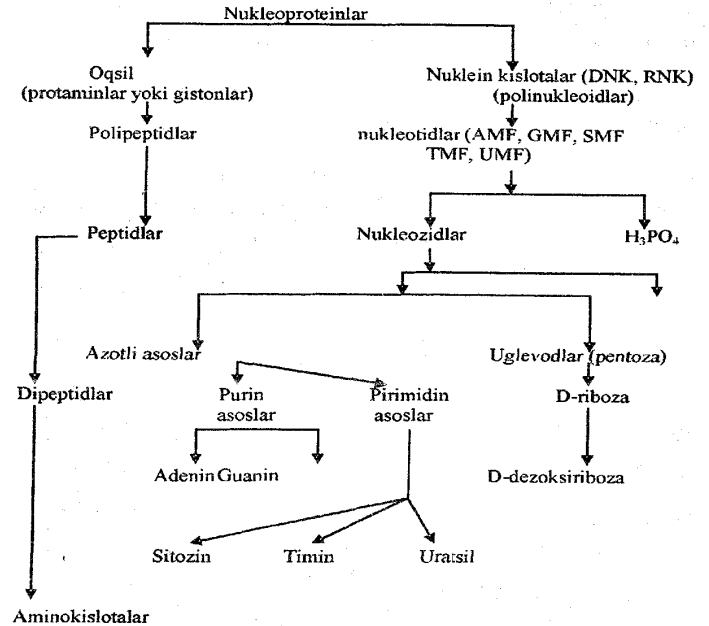
Bo'limning maqsadi:

1. DNK va RNK larning tuzilishini tushunish va genetik axborotni nasldan-naslga o'tkazishning molekular mexanizmlarini bilish maqsadida nuklein kislotalarni ajratish usullari, ularning tuzilishi va xossalari o'rganish.

2. DNK va RNKning tarkibiy qismlarini, bog'lanishini, farqi va o'xshashliklarini bilish maqsadida sifat va miqdoriy aniqlash usullari bilan tanishtirish.

29-ish. NUKLEOPROTEINLARNING TARKIBIY QISMIGA SIFAT REAKSIYA

Nukleoproteinlar qisman gidrolizlaganda ular oqsil va nuklein kislotalarga parchalanadi. To'liq gidroliz natijasida nuklein kislotalar quyidagi tarkibiy qismlarga parchalanadi:



Gidroliz mahsulotlar rangli reaksiyalar yordamida aniqlanadi:

Tekshiriluvchi material: yangi xamirturush (achitqi).

Reaktivlar: sulfat kislolaning 10% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% va 30% li eritmasi. Mis (II) sulfatning 1% li va 7% li eritmasi, ammiakning konsentrlangan eritmasi, kumush nitratning 1% li eritmasi, molibden reaktivi.

Kerakli anjomlar: qaytar muzlatgich o'rnatilgan keng probirkalar, asbest to'rlar yoki kumush hammomlar, voronkalar, filtrlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Gidroliz. Keng probirkaga 0,5 g xamirturush (achitqi), ustiga 4 ml 10% li sulfat kislota solinadi va probikli qaytar muzlatgich bilan birlashtiriladi (25-30 sm uzunlikdagi shisha nay). Moslama asbest to'ri isitgichda yoki qum hammomida bir soat davomida qaynatiladi.

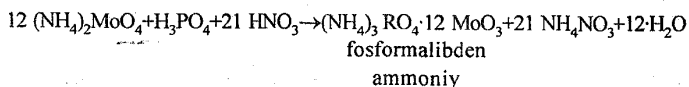
Bir ozdan so'ng gidroliz to'xtatiladi, suyuqlik sovutiladi va filtr qog'oz orqali o'tkaziladi. Filtrdan o'tgan suyuqlik tarkibidagi gidroliz mahsulotlari sifat reaksiyalar yordamida aniqlanadi.

2. Polipeptidlarni aniqlash uchun Biuret reaksiyasi, 5 tomchi gidrolizatga 10 tomchi 10% li natriy gidroksid eritmasi va bir tomchi mis sulfat eritmasi solinadi. Suyuqlik binafsha tusga kiradi.

3. Purin asoslariga kumush sinamasi, 10 tomchi gidrolizat bir tomchi konsentrlangan ammiak eritmasi bilan neytrallanadi. So'ng unga 5 tomchi 1% li kumush nitrat eritmasi solinadi. 3-5 daqiqa o'tgach, purin asoslarining (adenin va guanin) kumushli birikmalari ipir-ipir cho'kmaga tushadi. Cho'kma qoramtir tusga kiradi.

4. Riboza va dezoksiribozaga Tromer reaksiyasi. 5 tomchi gidrolizatga 10 tomchi 30% li natriy gidroksid va 1-3 tomchi 7% li mis sulfat eritmasi solinadi. Eritmalar aralashirilib, uning yuqori qismi qizdiriladi. Eritma qaynashi bilan qizil rangli mis (I) oksid hosil bo'ladi. Bu cho'kma ribozaning oksidlanishi va mis (II) gidroksidning qaytarilishi oqibatida mis (I) oksid hosil bo'lishiga bog'liq.

5. Fosfor kislota molibden reaksiyasi. 5 tomchi gidrolizatga 20 tomchi molibden reaktividan solib, bir necha daqiqa alanga yuzasida qaynatiladi. Gidrolizat tarkibida fosfor kislota bo'lgani uchun eritma och rangli fosfor-molibden kompleks birikmasi cho'kmaga tushadi.



Olingan natijalar quyidagi jadvalga binoan rasmiylashtiriladi.

Reaksiyaning nomi	Ochiladigan birikma nomi	Ishlatilgan reaktivlar	Reaksiya mahsuloti	Reaksiyaning asoslanishi

30-ish. BUQOQ BEZI YOKI QORA TALOQ TO'QIMA DEZOKSIRIBONUKLEOPROTEINI AJRATISH

Dezoksiribonukleoproteinni buqoq bezi to'qimasidan ajratib olish, uning ishqoriy va tuzli eritmalarida yaxshi erib, suvda erimasligi va shuning uchun ishqoriy eritmalarini neytrallaganda yoki tuzli eritmalarini suyultirilganda DNP cho'kmaga tushishiga bog'liq. Dezoksiribonukleoprotein (DNP) tarkibidagi DNK ni dezoksiribozani ochadigan sifat reaksiya orqali topish mumkin. Buning uchun DNP kislota difenilamin reaktivi bilan qizdiriladi. Natijada DNP gidrolizlanib, dezoksiriboza ajraladi va difenil reaktivi bilan ko'k rang hosil qiladi. DNP tarkibidagi oqsil esa Biuret reaksiyasi yordamida ochiladi.

Tekshiriluvchi material: buqoq bezi yoki qora taloq to'qimasi.

Reaktivlar: natriy xloridning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,4 va 10% li eritmaları, mis (II) sulfatning 1% li eritmasi, difenilamin reaktivi (tayyorlanishi 302-betda), distillangan suv, shisha kukuni.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, chinni hovonchalar, voronkalar, shisha tayoqchalar, 100-150 ml li kimyoviy stakan, doka filtrlar, suv hammomi, tarozi, qadoq toshlari. 25 va 100 ml li o'lchov silindrlar.

Bajariladigan ish tartibi. DNP ni ajratish. Buqoq bezi yoki qora taloqdan 0,5 g olib 100 mg shisha kukun qo'shiladi va 15 ml 5% li natriy xlorid eritmasidan ohistalik bilan chinni hovonchaga solib ishqalanadi. Bir xil holatga keltirilgan aralashma doka filtrdan o'tkaziladi. So'ngra stakanga shisha tayoqchasi bilan asta-sekin aralashirilgan holda 80-90 ml filtrdan o'tkazilgan suyuqlik solinadi. Suvda erimaydigan DNP cho'kmaga tushadi, uning cho'kma-ipchalari shisha tayoqchaga o'raladi va toza probirkaga shisha tayoqcha orqali asta o'tkaziladi.

DNP ipchalari 1-2 ml 0,4% li natriy gidroksid eritmasi bilan eritiladi (DNP ipchalarini to'liq erishini kuzating).

2. DNK ni aniqlash. 5-10 tomchi DNP eritmasiga ikki marta ko'p hajmda difenilamin reaktivi solinadi va probirka 5-10 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga quyiladi. Eritma sekin-asta ko'k rangga kiradi, chunki difenilamin dezoksiriboza bilan reaksiyaga kirishadi.

3. DNP tarkibidagi oqsilni aniqlash. 5-10 tomchi DNP eritmasiga 10 tomchi 10% li natriy gidroksid eritmasi va 1 tomchi 1% li mis sulfat eritmasi solib Biuret reaksiyasi o'tkaziladi. Ko'kimtir-binafsha rang hosil bo'lishi oqsil borligini isbotlaydi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. DNP ajratish usulini, DNP ning tarkibiy qismi va aniqlash reaksiyalari natijasini daftaringizga yozing.

31-ish. DNK MIQDORINI KALORIMETRIK USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. DNK tarkibidagi dezoksiriboza difenilamin bilan ko'k rang hosil qiladi. Rangning zichligi DNK miqdoriga to'g'ri proporsionalligidan, fotoelektrokolorimetrdan foydalaniladi.

Tekshiriluvchi material: DNK ning suvli eritmasi.

Reaktivlar: difenilamin reaktivi (tayyorlanishi 302-betda) distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, 1-2 ml li o'lchov pipetkalari, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Bitta tekshiruv va bitta nazorat probirkasi tayyorlanadi. Birinchisiga DNK ning suvli eritmasidan 1 ml, ikkinchisiga 1 ml distillangan suv solinadi. Har ikkala probirkaga 2 ml dan difenilamin reaktivi solib, 10 daqiqa suv hammomida ushlab turiladi. Bir ozdan so'ng probirkalardagi suyuqliklar sovutiladi va FEK ning qizil nur filtrida nazorat suyuqligi qarshisida ko'riladi. Tekshiriluvchi DNK ning optik zichligini topgach, o'lchov egri chizig'idan uning miqdori aniqlanadi.

O'lchov ergi chizig'ini tayyorlash. 3 ta probirkaga konsentratsiyasi turlicha bo'lgan (50, 100, 200 mkg/ml) DNK eritmasidan 1 ml va difenilamin reaktividan 2 ml solib, 10 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi. Eritma sovutilgach, yuqoridagidek fotoelektrokolorimetrlanadi. Topilgan optik zichlik va

DNK miqdoridan o'lchov egri chizig'i tuziladi. Absissa o'qiga DNK miqdori, ordinata o'qiga optik zichliklar keltiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga o'lchov egri chizig'ini chizing. Usulning asosini va topilgan DNK miqdorini daftaringizga yozing.

32-ish. KOLORIMETRIK USUL BILAN RNK MIQDORINI ANIQLASH

Usulning asosi. RNK tarkibidagi pentoza orsin reaktivi bilan rangli birikma hosil qiladi. Rangning optik zichligi kolorimetrdan o'lchanadi va o'lchov egri chizig'idan RNK miqdori topiladi.

Tekshiriluvchi material: RNK ning suvli eritmasi.

Reaktivlar: orsin reaktivi (tayyorlanishi 308-betda) distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuveta.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Tekshiruv tajriba probirkasiga 1 ml RNK eritmasi va 2 ml orsin reaktivi solinadi. Nazorat probirkasiga esa 1 ml distillangan suv va 2 ml orsin reaktivi solinadi. Ikkala probirka suv hammomida 20 daqiqa tutib turiladi. Bir ozdan so'ng eritmalar sovutilib, FEK ning qizil nur filtrida nazorat probirkasi qarshisida optik zichlik topiladi. RNK ning miqdori o'lchov egri chizig'idan aniqlanadi.

2. O'lchov egri chizig'ini tayyorlash. 3 ta probirkaga 1 ml dan 50, 100, 200 mkg/ml RNK eritmasi suv hammomida qizdiriladi. 20 daqiqa o'tgach, eritmalar sovutilib, FEK da ularning optik zichligi aniqlanadi. Absissa o'qiga RNK ning miqdori, ordinata o'qiga optik zichlik keltirilib, o'lchov egri chizig'i tuziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosini, o'lchov egri chizig'ini va aniqlangan RNK miqdorini yozing.

2. FOSFOPROTEIDLAR

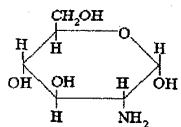
Murakkab oqsillar – fosfoproteidlar tarkibida fosfor kislotasi qoldig'i (0,5-0,9%) mavjud. Ular oqsil molekulasiga serin va treonin aminokislotalarining gidroksil guruhi orqali birikadi.

Fosfoproteidlar vakiliga sut kazeini, tuxum oqsili – vitelin, baliq tuxumi oqsili – ixtulin va ayrim fermentlar – fosforilaza, fosfoglukomutaza, pepsin va boshqalar kiradi. Fosfoproteidlar embrion taraqqiyoti va organizm uchun zarur ozuqa mahsuloti hisoblanadi. Sut kazeini tarkibida barcha oʻrmini almashtirib boʻlmaydigan aminokislotalar va suyak toʻqimalarining oʻsishi va rivojlanishi uchun zarur boʻlgan fosfor va kalsiy bor, ular toʻla sifatli oqsillar qatoriga kiradi.

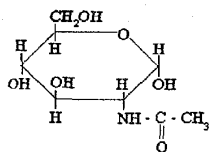
Kazein oqsilini sutdan ajratish va tarkibiy qismlarini aniqlash (2-ishda keltirilgan) bilan siz oqsillarni biologik suyuqliklardan ajratish boʻlimida tanishgansiz.

3. GLIKOPROTEIDLAR

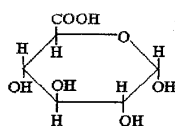
Glikoproteidlar – oqsil va oqsil boʻlmagan neytral va nordon glikozaminglikanlardan tashkil topgan murakkab oqsil hisoblanadi. Karbonsuv tarkibiga geksozalar, geksozaminlar (glukozamin, galaktozamin, mannozamin), glukuron, sial kislotalar, sirka, sulfat, neytramin kislota va L-fukozalar kiradi.



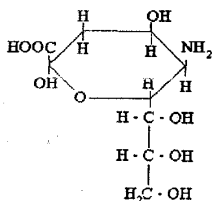
D-glukozamin



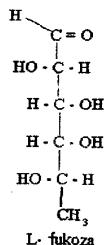
asetil-N-glukozamin



glukuron kislota



neytramin kislota



L-fukoza

Glikoproteidlar tarkibida 85-95% gacha uglevodlar boʻlganda, ular uglevod xossasini namoyon qiladi va aksincha, 85-95% oqsil boʻlganda, oqsil tabiatiga ega boʻladi.

Uglevod tabiatli glikoproteidlar glukozaminglikanlar deyiladi. Shunday nordon glukozaminglikanlarga gialuron, xondriotinsulfatlar va geparin kiradi. Neytral glikozaminlar tarkibiga neytral shakarlar (galaktoza, mannoza, L-fukozalar) va sial kislota kiradi.

Gialuron kislota biriktiruvchi toʻqima, koʻz qorachigʻi, sariq tana, kindik tizimchasi, yurak klapanlari tarkibiga kiradi. Gialuron kislota glukuron, atsetil glukozamin va disaxaridlarning polimeridir. Ularning nisbiy molekular massasi milliarddan ortiq. Xondriotin sulfat kislota togʻay va biriktiruvchi toʻqimalar, geparin esa jigar va oʻpka toʻqimalari tarkibiga kiradi.

Neytral glukozaminglikanlar soʻlak, meʼda shirasi, bachadon oʻsimtalari, qon plazmasi, qon guruhini aniqlovchi moddalar, gormonlar, fermentlar (seruloplazmin, transferin, xolinesteraza) tarkibida boʻladi. Glukozaminglikanlarni organizm toʻqimalaridagi suyuqliklar tarkibida erkin holda uchratish mumkin.

Glikoproteidlar organizmda tayanch-himoya vazifasini bajaradi. Ular hujayralararo va toʻqimalararo moddalar tarkibiga kirib qovushtiruvchi taʼsir koʻrsatadi, boʻgʻimlarni bogʻlovchi vosita hisoblanadi.

33-ish. SOʻLAK TARKIBIDAGI MUTSINNI AJRATISH

Tuxum oqsili va mutsin tarkibidagi uglevodlarni Molish reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: tuxum oqsilining 10% li eritmasi, soʻlak.

Reaktivlar: sirka kislolaning konsentrlangan eritmasi, sulfat kislolaning konsentrlangan eritmasi, timolning 1% li spirtli eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, pipetkalar, shisha tayoqchalar, filtr qogʻozi.

Bajariladigan ish tartibi. 1-2 ml soʻlak probirkaga yigʻiladi va unga 10-20 tomchi sirka kislota tomchilab solinadi. Mutsin choʻkmaga tushgach, choʻkma ustidagi suyuqlik asta-sekinlik bilan toʻkib tashlanadi, quyqa esa filtr qogʻozda quritiladi. Mutsin quyqasi bilan molish reaksiyasi oʻtkaziladi.

Molish reaksiyasi. 10 tomchi mutsin eritmasiga 3 tomchi timolning 1% li spirtli eritmasi solinadi va aralashtiriladi. Soʻngra probirka devori

bo'ylab ehtiyotkorlik bilan 20-30 tomchi sulfat kislotaning konsentrlangan eritmasi quyiladi. Eritma silkitilganda probirka tubida furfurolning timol bilan hosil qilgan qizil rangli kondensatsiya mahsuloti ko'rinadi.

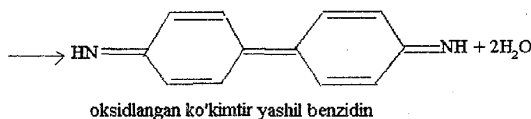
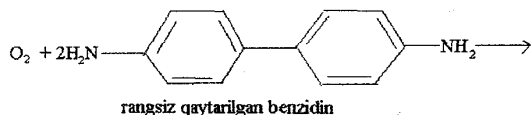
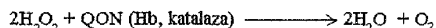
Olingan natijani rasmiylashtirish. Daftaringizga mutsinni ajratish va Molish reaksiyasi asosini hamda uning natijasini yozing.

4. XROMOPROTEIDLAR

Xromoproteidlar tarkibiga oqsil va bo'yovchi moddalar kiradi. Bo'yovchi moddalar qatoriga gem, vitamin B₂ (riboflavin), karotinlarni kiritish mumkin. Xromoproteidlarga esa qon gemoglobini, mushak mioglobini, fermentlardan katalaza, sitoxromlar, peroksidaza, sariq tana fermenti va boshqa misol bo'ladi. Xromoproteidlar muhim biologik vazifani bajaradi. Ular kislorod tashish va oksidlanish-qaytarilish jarayonlarida ishtirok etadi.

34-ish. GEMOGLOBINNING GEMIN GURUHINI ANIQLASH UCHUN SIFAT REAKSIYASI

Usulning asosi. Gemoglobin vodorod peroksid ta'sirida benzidinni oksidlaydi, oqibatda eritma ko'k rangga kiradi, turganda esa u qizaradi. Ushbu reaksiya juda katta sezgirlikka ega. Shuning uchun biologik suyuqliklardagi (me'da va o'n ikki barmoq ichak shirasi) juda kam miqdordagi qonni aniqlashga imkon beradi va adliya tibbiyotida ham keng qo'llaniladi.



Reaktivlar: Vodorod peroksidning 3% li eritmasi, benzidinning 1% li eritmasi, ammoniy yoki kaliy rodonid tuzining 1% li eritmasi, nitrat kislotaning konsentrlangan eritmasi, vodorod xlorid kislotaning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar. Probirkalar va tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Benzidin reaksiyasi. Birinchi probirkaga 5 tomchi suyultirilgan qon, ikkinchi probirkaga 5 tomchi suv solib, har qaysisiga 5 tomchi 1% li benzidin eritmasi va 5 tomchi vodorod peroksidning 3% li eritmasi quyiladi. Shunda probirkalarning biridagi suyuqlik ko'k-rangga kiradi.

2. Temirni aniqlash. Haroratga chidamli chinni idishchaga 1-2 tomchi qon va 2-4 tomchi nitrat kislotaning konsentrlangan eritmasidan solib quruq qoldiq qolguncha qizdiriladi. So'ngra uning ustiga vodorod xloridning 10% li eritmasidan solib eritilib, Fe³⁺ ga sifat reaksiya o'tkaziladi. Buning uchun eritmaga 1-2 tomchi ammoniy yoki kaliy rodonid eritmasi solinadi. Suyuqlik qizil yoki pushti rangga kiradi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Qonning gemin guruhini, temirni aniqlash sifat reaksiyasining asosini va natijasini daftaringizga yozing. Ushbu usulning qo'llanilishini ayting.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Murakkab oqsillar klassifikatsiyasi. Oddiy va murakkab oqsillarning farqi nimada?
2. DNK ning nukleotidlar tarkibi va vazifasi qanday?
3. RNK ning nukleotidlar tarkibi va vazifasi qanday?
4. Nuklein kislotalarning birlamchi, ikkilamchi, uchlamchi tuzilishi va ularning biologik ahamiyati qanday?
5. DNK ning denaturatsiyasi va renaktivatsiyasi. DNK – DNK, DNK – RNK gibridlari.
6. DNK replikatsiyasining mexanizmi va ahamiyati, reaksiyada ishtirok etuvchi fermentlarning o'ziga xos xususiyati qanday?
7. Transkripsiya jarayoni va biologik kod nima?
8. Translatsiya jarayonining ketma-ketligi, unda ishtirok etadigan fermentlar va oqsil omillari qanday?
9. Transkripsiya, translatsiya jarayonlarini susaytiruvchi inhibitorlarni ayting. Ularni tibbiyotda qo'llanilishi qanday?

10. Xromoproteidlarning tarkibiy qismi va biologik vazifasi qanday?
11. Fosfor va glikoproteid vakillarini ayting. Ularning biologik ahamiyati qanday?
12. Nukleoproteidlarning tarkibiy qismini qanday sifat reaksiyalar bilan ochish mumkin? Fosfoproteidlar, glikoproteidlarni-chi?
13. Amino, oksi, metilpirimidinlar DNK va RNK molekulalari tarkibiga kiradimi? Bu birikmalar RNK va DNK faoliyatiga qanday ta'sir qiladi?
14. Qanday birikmalar DNK molekulasi o'zgarishiga – mutatsiyaga olib keladi?
15. Mutatsiya natijasida DNK molekulasida adeninning yoki guaninning dezaminlanishi kuzatildi. Bunday o'zgarish qanday oqibatga olib keladi?
16. Mutatsiya natijasida biror nukleotidning tushib qolishi kuzatiladi. Buning oqibati qanday o'zgarishlarga olib keladi?
17. i-RNK to'rtta sistrondan iborat bo'lsa, oqsil molekulasining polipeptid zanjirlari soni nechtaga teng bo'ladi?
18. Bemor organizmida yallig'lanish jarayoni avj olmoqda, buni to'xtatish uchun antibiotiklardan foydalanildi. Ular qanday ta'sir ko'rsatadi?
19. Oqsil polipeptid tarkibiga 300 ta aminokislota kirgan bo'lsa, kod soni nechtaga teng bo'ladi? Javobingizni izohlab bering.
20. DNK molekulasi ikki zanjirli va RNK molekulasi bir zanjirli bo'lishi kerak, degan tushuncha qanday fikr va izoh bilan tasdiqlanadi?
21. Hujayra tarkibida bir necha xil i-RNK va t-RNK topilgan. Buni qanday tushuntirish mumkin?
22. Hujayraga tushgan kuchli kimyoviy birikma ta'sirida DNK zanjirining bir tomonidagi azotli asos tushib qolgani kuzatiladi. Bunday o'zgarishni reparatsiya sistemalari tuzatish mumkinmi? Azot asoslari ikkala zanjirdan barobar tushib qolgan bo'lsa-chi?

FERMENTLAR

Fermentlar (enzimlar) oqsillarning yuqori darajada ixtisoslashgan sinfidir. Ular organizmdagi kimyoviy jarayonlarning tezligini oshirish va ularni boshqarish vazifasini bajaradi.

Fermentlar oddiy va murakkab tuzilishga ega. Oddiy fermentlar faqat aminokislotalardan tashkil topgan bo'lsa, murakkablari oqsil bo'lmagan qismlardan iborat bo'ladi. Fermentning oqsil qismi apoferment (haroratga chidamsiz), oqsil bo'lmagan qismi (apofermentdan oson ajraladigan qismi) koferment va ajralmaydigan qismi kofaktor qism deyiladi. Ikkala qismning yig'indisi xoloferment deyiladi. Apoferment – substratni tanlash, koferment esa «faol markaz» vazifasini bajarish uchun kerak. Fermentlar ta'siriga uchraydigan moddalar «substrat» deyiladi. Ferment shu substrat nomiga «aza» qo'shimchasi qo'shish orqali yoki ta'sir ko'rsatadigan fermentativ reaksiya nomi bilan yuritiladi. Masalan, amilum (kraxmal) amilaza fermenti ta'sirida parchalanadi. Fermentlarning substratlarga ta'siri maxsus «faol markaz» tomonidan amalga oshiriladi. Oddiy fermentlarda bu vazifani ayrim aminokislotalarning funksional guruhlari: metionin – CH₃, sistein – SH, treonin – OH, arginin – NH₂, glutamin – COOH, gistidin – imidazol xalqasi yoki bir nechta aminokislotalarning yig'indisi bajaradi. Murakkab fermentlarda esa «faol markaz» vazifasini natriy, kaliy, magniy, kalsiy, temir, marganets, mis, rux ionlari (kofaktorlar) bajaradi. Kofermentlar sifatida ko'pincha vitaminlar: tiamindifosfat, riboflavin, fosfopiridoksal, nikotin kislota, biotin va boshqalar hamda vitamin tutuvchi nukleotidlar: flavinmononukleotid (FMN), flavinadenindinukleotid (FAD), nikotinamid dinukleotid (NAD), nikotinamid dinukleotidfosfat (NADF) kabi birikmalar xizmat qiladi.

Barcha fermentlar katalizlaydigan reaksiya turiga ko'ra 6 sinfga bo'linadi. Ular o'z navbatida yana sinfchalarga bo'linadi.

1. *Oksidoredktazalar.* Oksidlanish-qaytarilish jarayonini tezlatadi. Ular donordan akseptorga elektron o'tkazish reaksiyasini katalizlaydi.

2. *Transferazalar.* Bir substratdan ikkinchisiga muayyan funksional guruhlarni: amin, atsetil, metil, atsil va hokazo o'tkazish reaksiyasini tezlatadi.

3. *Gidrolazalar.* Muayyan kimyoviy bog'larni suv ishtirokida parchalaydi. Me'da-ichakdagi hazm jarayonida qatnashadi.

4. *Liazalar.* Suvsiz sharoitda organik birikmalardagi C – C bog'larining parchalanish reaksiyalari tezligini oshiradi.

5. *Izomerazalar.* Izomerlanish reaksiyalarni katalizlaydi. Aldozalarni ketozalarga, «sis» konfiguratsiyani «trans» shaklga o'tishi va aksincha reaksiyalarda ishtirok etadi.

6. *Ligazalar.* ATF energiyasi hisobiga amalga oshiriladigan sintezlanish reaksiyalari tezligini oshiradi.

Har qanday ferment 4 ta sondan iborat bo'lgan o'z «shift»iga ega. Masalan, pepsin fermentining klassifikatsiya shifri KF 3.4 4.1. Shiftning birinchi soni «3» gidrolazalar sinfiga mansub ekanligini, ikkinchi soni «4» sinfning kichik sinfi – peptidazalar ekanligini, uchinchi son «4» peptidazalar sinfining kichik sinfchasi bo'lmish – endopeptidazalarga mansub ekanligi va to'rtinchi son «1» fermentning tartib nomerini ko'rsatadi.

Fermentlar organizmda hujayra ichida va hujayradan tashqarida joylashadi. Hujayra ichidagi fermentlar bajaradigan vazifasiga ko'ra qat'iy differensiyalangan: hujayra membranasida, sitoplazmasida, mitoxondriyasida, ribosomasida, lizosomasida va hokazo organoidlarda joylashadi. Ushbu fermentlar qon va boshqa suyuqliklarda odatda uchramaydi, uchrasa ham juda kam miqdorda bo'ladi.

Turli kasalliklarda (gepatit, infarkt) hujayralarning yemirilishi natijasida fermentlar tashqariga – qonga chiqib, ularning miqdori oshadi. Shu tufayli ular aniqlovchi (indikator) fermentlar bo'lib, kasallik turini, darajasini aniqlashda katta ahamiyatga ega.

Umuman fermentlar uch yo'nalishda o'rganiladi.

1. Kasallik va uning turini aniqlash (tashxis qo'yish va differensiyatsiya qilish maqsadida fermentlar miqdori aniqlanadi).

2. Fermentlarning sintezlanishi buzilishi oqibatida kelib chiqadigan ferment yetishmovchiligi va uning asoratlari bilan bog'liq bo'lgan kasalliklar o'rganiladi.

3. Turli kasalliklarni davolashda fermentlarning dori sifatida qo'llanilishi bilan bog'liq bo'lgan yo'llanmalar o'rganiladi.

Yuqorida aytilganlarni hisobga olgan holda fermentlarning umumiy xususiyatlarini va xossalarni o'rganish, uning miqdorini aniqlash shifokor uchun juda muhim vazifa hisoblanadi.

Bo'limning maqsadi:

1. To'qima va biologik suyuqliklar tarkibidagi fermentlarni aniqlash va ularning miqdorini o'lchash usullari bilan tanishtirish. Olingan bilimlardan kelajakdagi ish faoliyatida ferment vazifasining buzilishidan kelib chiqqan kasalliklarni nazorat qilish maqsadida foydalana olish.

2. Fermentativ katalizning o'ziga xos xususiyatlarini tushunish uchun fermentlarning tuzilishi va xususiyatlari bilan tanishtirish.

3. Fermentlarning ta'sir mexanizmi bilan tanishtirish. Olingan bilimlarni moddalar almashinuvi jarayoni va ularning boshqarilishini o'rganishda, ferment yetishmovchiligidan kelib chiqqan kasalliklarda kuzatiladigan o'zgarishlarni bilishda va fermentlarni davolash maqsadida qo'llash tadbirlarini tatbiq eta olish.

FERMENTLARNING UMUMIY XUSUSIYATINI O'RGANISH

Fermentlar barcha oqsillarga taalluqli bo'lgan fizik-kimyoviy xususiyatlarni namoyon qilish bilan birga faqat o'ziga xos bo'lgan xususiyatlarni ham namoyon qila oladi. Ular yuqori faollikka ega bo'lib, substrat va kimyoviy reaksiyalarga tanlab ta'sir ko'rsatadi va har qanday ta'sirga juda sezgir bo'ladi. Fermentativ reaksiyalarning tezligi bir qancha sharoitlarga bog'liq. Masalan, reaksiya aralashmadagi ferment va substrat miqdori aktivator yoki ingibitorlar, kofaktorlar, kofermentlar, ion miqdori, optimal muhim (pH) va harorat me'yorida bo'lishi zarur.

1. FERMENTLAR FAOLLIGINING MUHITGA BOG'LIQLIGI

Har qanday ferment o'ziga xos muayyan muhitda (pH) yuqori faollikka ega bo'ladi. Shu muhit o'zgarishi bilan fermentning faolligi

ham susayadi. Bunga sabab shuki, fermentning ionlanuvchi guruhlari muhit o'zgarishi bilan o'z fazoviy holatini o'zgartiradi, ferment faolligiga ta'sir ko'rsatadi. Ko'pgina substratlar elektrolitlar kabi ionlashgan yoki ionlashgan holatda reaksiyaga kirishadi.

Quyidagi jadvalda ayrim gidrolitik fermentlarning optimal muhiti (pH) keltirilgan.

13-jadval

Ferment	Substrat	Optimal muhit (pH)			
		1-2 oylik	1 yosh	4-11 yosh	kattalarda
Pepsin	Tuxum, sut oqsili	5,8	3,4	2,5-2,0	1,5
Tripsin	Tuxum, sut oqsili	5,8	3,4	2,0-2,5	1,5 (7,8)
Ureaza	Siydikchil	-	-	-	6,4-6,9
-amilaza	Kraxmal	-	-	-	7,2
Arginaza	Arginin	-	-	-	9,5
Ishqoriy fosfataza	- glitserin fosfat	-	-	-	9,0-10,0
Nordon fosfotaza	- glitsin fosfat	-	-	-	4,5-5,0

35-ish. AMILAZA FAOLLIGIGA MUHITNING (pH) TA'SIRI

Tekshiriluvchi material: 10 marta suyultirilgan so'lak amilazasi.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, yodning kaliy yoddagi eritmasi, 0,07 mol/l li fosfat buferning pH i turlicha (5,4-8,0) bo'lgan eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, shisha oynachalar.

Bajariladigan ish tartibi. Amilazaga ta'sir qiladigan optimal muhitni amilazaning kraxmalga ko'rsatgan ta'siridan bilish mumkin. Optimal muhitda amilaza kraxmalni to'liq parchalaydi. Optimal muhitdan siljigan vaqtda esa kraxmalning parchalanishi susayadi. Kraxmalga yod eritmasini tomizganda u ko'k rangga kiradi. Kraxmal parchalanganda esa rang hosil bo'lmaydi.

1. Ishni boshlashdan oldin 1 ml so'lakka 9 ml distillangan suv qo'shib amilaza eritmasi tayyorlanadi. So'ng probirkaga 1 ml 1% kraxmal eritmasidan va 1:10 suyultirilgan amilazadan 0,5 ml olib aralashtiriladi, 36-40°C da o'n daqiqa ushlanadi. Vaqti-vaqti bilan eritmadan bir necha tomchi olib (shisha oynachaga) yod eritmasidan

tomiziladi. Kraxmal parchalanganini sariq rang hosil bo'lganligidan bilish mumkin. 10 daqiqa ichida kraxmal to'liq parchalanadi.

2. Amilazaning optimal muhitini topish uchun qator probirkalarga turli muhitli fosfat buferi solinadi.

14-jadval

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8
0,07 mol/l fosfat buferi pH i.	5,4	5,8	6,2	6,6	6,8	7,0	7,4	8,0
M1	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
Kraxmalning 1% li eritmasi, ml	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
1:10 suyultirilgan so'lak 10 daqiqa ichida kraxmalni parchalaydi	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 10 daqiqaga 38-40°C li hammomiga qo'yiladi. Bir ozdan so'ng har bir probirkaga yod eritmasi tomiziladi. Probirkalardagi rangning o'zgarishi kuzatiladi.

Olingan natijalar quyidagi jadvalga binoan rasmiylashtiriladi.

15-jadval

Probirkalar	1	2	3	4	5	6	7	8
Probirkadagi pH muhit	5,4	5,8	6,2	6,6	6,8	7,0	7,4	8,0
Kuzatilgan rang	5,4	5,8	6,2	6,6	6,8	7,0	7,4	8,0

Amilazaga ta'sir qiladigan optimal muhitni aniqlab, tegishli xulosa chiqaring.

36-ish. PEPSINNING FAOLLIGIGA MUHITNING (pH) TA'SIRI

Optimal muhitda (pH) pepsin vaqt birligi ichida fibrin oqsilini to'liq parchalaydi (eritadi).

Tekshiriluvchi material: me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotadagi 0,1% li pepsin eritmasi.

Reaktivlar: fibrin yoki pishirilgan tuxum oqsili bo'lakchalari, pH i 1,5-0,5 gacha bo'lgan fosfat-sitrat bufer tayyorlanish usuli (300- betda) yoki tris-NSI bufer.

Kerak anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, suv hammomi yoki termostat.

Bajariladigan ish tartibi. 5 ta probirkaga turli muhitli bufer eritmadan 1 ml dan solinadi.

Probirkalar	1	2	3	4	5
Bufer eritmaning pH i	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0

Probirkalarning har qaysisiga 0,5 ml dan pepsinning 0,2% li xlorid kislotadagi 0,1% li eritmasi va fibrin yoki pishirilgan tuxum oqsili bo'lakchasi olinadi. Probirkadagi mahsulotlar yaxshilab aralashtiriladi va 38-40°C suv hammomiga yoki termostatga 40-50 daqiqa qo'yiladi. Bir ozdan so'ng oqsil bo'lakchalarining erish darajasi aniqlanadi. Optimal muhitda oqsil bo'lakchalari to'liq erib, muhit siljigan probirkalarda esa erimaganligi kuzatiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijani, optimal muhitni aniqlab daftaringizga yozing va tegishli xulosa chiqaring. Natija jadvalda keltirilishi mumkin.

16-jadval

Probirkalar	1	2	3	4	5
Probirkadagi muhit pH i	1,5	2,0	3,0	4,0	5,0

Oqsil bo'lakchalarining erish darajasini «+» yoki «-» ishoralari bilan belgilang.

37-ish. TRIPSIN FAOLLIGI UCHUN OPTIMAL MUHIT (pH)INI ANIQLASH

Optimal muhitda tripsin ta'sirida oqsil parchalanishidan tirozin hosil bo'ladi. Uning miqdori tripsin faolligiga to'g'ri proporsionaldir.

Tekshiriluvchi material: me'da osti bezi shirasi yoki tripsin kristallari.

Reaktivlar: Kazeinning 1% li eritmasi, pH i 5,4-8 gacha bo'lgan 0,07M fosfat bufer, uchxlorsirka kislotaning (UXSK) 5% li eritmasi, tripsinning 0,005 mol/l xlorid kislotadagi 0,0005% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,5 mol/l eritmasi, fenol reaktivi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar, buretkalar, voronka va filtrlar, termostat yoki suv hammomi, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuveta.

Bajariladigan ish tartibi. To'rtta probirkaga pH i 5,4; 6,2; 7,0; 8,0 bo'lgan fosfat bufer eritmasidan 1 ml dan solinadi.

Probirkalar	1	2	3	4
Bufer eritma pH i	5,4	6,2	7,0	8,0

Probirkalarning har qaysisiga 1 ml dan kazein eritmasi va 0,5 ml tripsin eritmasidan solib aralashtiriladi. Probirkalar 40°C li suv hammomiga yoki termostatga 15 daqiqaga qo'yiladi.

2. Bir ozdan so'ng reaksiya 2,5 ml UXSK eritmasidan probirkalarga quyish bilan tugatiladi. Suyuqliklar filtrdan o'tkaziladi. Filtr ostidagi suyuqlik tarkibidagi tirozin miqdori aniqlanadi.

3. Tirozinni aniqlash uchun 4 ta probirkadagi suyuqlikning 2,5 ml si alohida 4 ta probirkaga olinadi va ularning ustiga 0,5 ml dan fenol reaktivi solib aralashtiriladi. 20 daqiqa o'tgach, rivojlangan rang zichligi FEK (qizil nur filtri qarshisida) aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi, so'ngra egri chiziq chiziladi. Absissa o'qiga pH, ordinata o'qiga reaksiya tezligi (mmol/min) yoki reaksiya tezligiga to'g'ri proporsional bo'lgan optik zichlik keltiriladi.

17-jadval

Probirkalar	1	2	3	4
pH muhiti, optik zichlik	5,4	6,2	7,0	8,0

Muhitning (pH) tripsin faolligiga ta'siri tushuntiriladi, tegishli optimal muhit belgilanadi va xulosa chiqariladi.

2. FERMENTATIV REAKSIYA TEZLIGIGA HARORATNING TA'SIRI

Odatda harorat ortishi bilan fermentativ reaksiya tezligi ham bir necha marta ortadi. Ammo ferment oqsil tabiatiga ega bo'lganligi uchun yuqori haroratda denaturatsiya holati yuz berib, ferment aktivligi susayadi. Har qanday ferment o'ziga xos optimal darajadagi haroratni talab qiladi. Shu optimal haroratning pasayishi yoki ortishi ferment aktivligiga ta'sir ko'rsatadi. Ferment aktivligini o'lchashda albatta optimal harorat bo'lishi shart. Shu bois fermentning aktivligi 25°C yoki 37°C da o'lchanadi.

38-ish. AMILAZA FAOLLIGIGA HARORATNING TA'SIRI

Turli darajadagi haroratda amilazaning faolligi, kraxmalning parchalanishini yod reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: so'lak amilazasi.

Reaktivlar: I₂; 1% li KI eritmasi; kraxmal; 1% li eritma; distillangan suv.

Kerakli anjomlar: shtativ va pipetkalar; probirkalar; termostat (40°C); suvli hammom; muzli hammom; buyum oynachalari.

Bajariladigan ish tartibi. 1. 4 juft probirka tayyorlanadi. Uning to'rttasiga kraxmalning 1% li eritmasidan 0,5 ml va to'rttasiga suyultirilgan so'lak amilazasidan 0,5 ml solinadi.

2. Birinchi juft probirkaning (biri kraxmalli, ikkinchisi amilazali) birini muz solingan hammomda; ikkinchisi xona haroratiga, uchinchisini 40°C li suv hammomiga yoki termostatga va to'rtinchisini qaynab turgan suv hammomiga 10 daqiqaga qo'yiladi.

3. Bir ozdan so'ng probirkalardagi suyuqliklar aralashtiriladi va yuqoridagi sharoitda yana 10 daqiqa ushlanadi.

4. Bir ozdan so'ng uchinchi juft probirkadagi suyuqlikdan uch tomchi shisha oynachaga olib yod bilan reaksiya o'tkaziladi. Agar suyuqlik ko'k rang bersa, probirkalar yana 10 daqiqa o'sha sharoitda ushlanadi. So'ng har qaysi probirkaga ikki tomchi yod eritmasi tomiziladi. Kraxmalning yod bilan hosil qilgan rangi kuzatiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar jadvalga yoziladi, turli sharoitda o'tkazilgan tajriba probirkalardagi rang solishtiriladi.

18-jadval

Probirkalar	1	2	3	4
Harorat, °C	0	20	400	100
Kraxmalning yod bilan hosil qilgan rangi				

Optimal harorat belgilanib, tegishli xulosa chiqariladi.

39-ish. ARGINAZA FAOLLIGIGA HARORATNING TA'SIRI

Arginazaning faolligiga haroratning ta'sirini o'rganish uchun arginning arginaza ta'sirida parchalanishidan hosil bo'lgan siydikchil miqdori aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: jigar ekstrakti.

Reaktivlar: pH i 9,5 bo'lgan gliitsin bufer eritmasi, 0,007 mol/l arginin eritmasi, siydikchilning 0,02 mg/ml doimiy eritmasi, UXSK ning 5% li eritmasi, siydikchilni aniqlash uchun rangli reaktiv.

Kerakli anjomlar: 1-2 ml li o'lchov pipetkalari, mikrobutretkalar, shtativ va probirkalar, muz va suv hammomi, voronkalar, filtrlar, termostat, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Uchta probirka tayyorlanadi. Uning har qaysisiga 0,2 ml arginaza fermenti tutuvchi jigar ekstrakti, 1,6 ml gliitsin bufer eritmasi, 0,2 ml arginin eritmasi solib aralashtiriladi. To'rtinchi probirkaga (nazorat uchun) 2 ml UXSK va yuqoridagi eritmalarning hammasidan solib aralashtiriladi.

2. Birinchi probirka muz solingan hammomda (4°C), ikkinchisi xona haroratida (20°C), uchinchisi suv hammomi yoki termostatda (40°C) 15 daqiqa saqlanadi. Bir oz vaqt o'tgandan keyin fermentativ reaksiya har qaysi probirkaga 2 ml 5% li UXSK dan solib o'tatiladi va so'ng filtrlanadi.

3. Filtrdan o'tkazilgan suyuqliklarning har qaysisidan 2 ml dan olib tarkibidagi siydikchil miqdori aniqlanadi. Buning uchun 2 ml filtratga 2 ml rangli reaktiv (mochevinani aniqlaydigan) solinadi, aralashtirilib 15 daqiqa qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi.

4. 15 daqiqadan so'ng probirkadagi suyuqliklar sovitiladi va hosil bo'lgan rangning optik zichligi FEK ning yashil (540-560 nm) nur filtrining nazorat suyuqligi qarshisida topiladi.

Olingan natijalar rasmiylashtirish. Olingan natijalar jadvalga yozilib, so'ng egri chiziq chiziladi.

19-jadval

Probirkalar	Kerakli harorat, °C da	Topilgan optik zichlik
1	4	
2	20	
3	40	

Absissa o'qiga optik zichlik, ordinata o'qiga esa harorat darajasi keltirilib, egri chiziq chiziladi, arginaza fermenti uchun optimal harorat belgilanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

3. FERMENTATIV REAKSIYA TEZLIGINI OSHIRISH VA SUSAYTIRISH

Fermentativ reaksiya tezligi harorat, muhitdan tashqari shu reaksiya sistema tarkibida boshqa moddalarning bo'lishi ham ta'sir ko'rsatadi. Ferment faolligini oshiruvchi moddalar aktivatorlar, susaytiruvchi moddalar esa ingibitorlar deyiladi. Fermentlarning faolligiga turli moddalarning turlicha ta'sir etishi amaliy ahamiyatga ega va fermentlarning ta'sir etish mexanizmlarini tushunish uchun ham kerak. Turli dorilarning ta'sir etishi, ishlatilishi ularning ferment faolligini oshirishiga yoki susaytirishiga asoslangandir.

40-ish. PEPSINOGEN FAOLLIGINING OSHISHIGA AKTIVATORLARNING VA SUSAYISHIGA INGIBITORLARNING TA'SIRI

Me'da shilliq qavatidagi bezlardan faol bo'lmagan pepsinogen ajraladi. Me'da shirasiga ajralgan ferment xlorid kislotasi ta'sirida (pH i 1,5-2,5) faol holatga o'tadi. Pepsinogen pepsinga aylanadi. Faol bo'lmagan fermentni faol holatga o'tganligini fibrinning erishidan bilish mumkin.

Tekshiriluvchi material: me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotada tayyorlangan pepsinning 0,1% li eritmasi.

Reaktivlar: Xlorid kislotaning 2% li eritmasi, natriy karbonatning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, fibrin.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, pipetkalar, suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 4 ta probirka tayyorlanadi. Uning birinchisiga 0,5 ml suv, ikkinchisiga 0,5 ml 2% li xlorid kislotasi eritmasi, uchinchisiga 0,5 ml 10% li natriy gidroksid eritmasi, to'rtinchisiga esa natriy karbonatning 1% li eritmasi solinadi. To'rttala probirkaga 1 ml dan me'da shirasi yoki pepsinning xlorid kislotada tayyorlangan 0,1% li eritmasidan quyib, suyuqliklar aralashtiriladi va lakmus qog'oz bilan ularning muhiti aniqlanadi. So'ng har qaysi probirkaga 1,0-1,5 sm uzunlikdagi fibrin tolasidan solib, 20-30 daqiqa 37-40°C li termostatga yoki suv hammomiga joylashtiriladi. Birozdan so'ng har qaysi probirkadagi fibrinning erish darajasi aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar quyidagi jadvalga yoziladi. Fibrinning erish darajasi «+», erimagan «-» bilan belgilanadi.

20-jadval

Probirkalar	Eritma muhiti	Ishlatilgan aktivator va ingibitorlar	Fibrinning erish darajasi
1			
2			
3			
4			

Fibrinning qanday muhitda eriganligini va aktivator nomini belgilab, tegishli xulosa chiqaring.

41-ish. AMILAZA FAOLLIGIGA AKTIVATOR VA INGIBITORLARNING TA'SIRI

Aktivator va ingibitorlarni amilaza aktivligiga ta'siri kraxmalning parchalanishi va yod bilan hosil qilgan rangidan aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: so'lak amilazasi.

Reaktivlar: NaCl ning 1% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% li eritmasi, kraxmalning 1% li eritmasi, kaliy yodida tayyorlangan yodning 1% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar va 10 ml o'lchov silindrlari, suv hammomi yoki termostat.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Probirkalarning birinchisiga 10 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 8 tomchi suv va 2 tomchi NaCl ning 1% li eritmasi, uchinchisiga 8 tomchi suv va 2 tomchi mis (II) sulfatning 1% li eritmasi solinadi.

2. Har qaysi probirkaga (1:10) suyultirilgan so'lak amilazasidan 20 tomchi va kraxmalning 1% li eritmasidan 20 tomchi solib aralashtirilib, 5 daqiqa xona haroratida qoldiriladi.

3. 1 ml suv solingan 3 ta probirka tayyorlanadi. Probirkadagi suv yod eritmasi bilan bo'yaladi. Shu probirkalarga yuqoridagi tajriba probirkalardagi suyuqlikdan 2-3 tomchi solib kraxmalni amilaza ta'sirida parchalanishidan hosil bo'lgan bo'yoq kuzatiladi. Birinchi probirka

binafsha yoki qoramtir qizil rangga, ikkinchi (NaCl solingan) sariq rangga va uchinchi probirka (mis (II) sulfat solingan) esa ko'k rangga bo'yalganligi kuzatiladi. Agar aytilgan rang kuzatilmasa, 10-15 daqiqadan so'ng qaytariladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi, natriy xlorid va mis (II) sulfatning ta'siri aniqlanadi.

21-jadval

Ferment	Substrat	Ferment ta'sir qilgan vaqt	Yod bilan hosil bo'lgan rang		
			Proba 1 (H ₂ O)	Proba 2 (NaCl)	Proba 3 (CuSO ₄)
Amilaza	Kraxmal	5			
		10			
		15			

Amilaza uchun aktivator aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

42-ish. TRIPSIN FAOLLIGINI TRASILOL BILAN SUSAYTIRISH

Trasilol – tripsin, fibrinolizin, ximotripsin kabi qator proteolitik fermentlar faolligini susaytiruvchi polipeptid tabiatga ega bo'lgan modda. Ushbu modda me'da osti bezi yallig'langanda va hujayralari nobud bo'lganda (pankreatonekroz va surunkali pankreatit kasalliklari) ularni davolash maqsadida qo'llanadi. Me'da osti bezidan ajralgan fermentlar faol bo'lmaydi, ular ichak shirasiga tushgandan so'ng faol holatga o'tadi. Ammo kasalliklarda ushbu fermentlar faol holda ajraladi va me'da osti bezi to'qimalarini parchalashi mumkin. Shu bois to'qimalar o'z-o'zini parchalashining oldini olish maqsadida trasiloldan foydalaniladi.

Tekshiriluvchi material: 0,005 mol/l xlorid kislotada tayyorlangan 5□10⁻⁴% li tripsin eritmasi.

Reaktivlar: kazeinning 1% li eritmasi, 0,1 mol/l fosfat bufer eritmasi, UXSK ning 10% li eritmasi, trasilolning 100 TB ml li eritmasi, natriy gidroksidning 0,5 mol/l eritmasi.

Kerakli anjomlar: 1, 2, 5 ml li pipetkalar, probirkalar, voronkalar, filtrlar, termostat yoki suv hammomi, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Jadvalga muvofiq 3 ta probirkada aralashma tayyorlanadi.

Tajriba probirkalaridagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va 37°C li termostatga yoki suv hammomiga 20 daqiqaga joylashtiriladi. So'ng birinchi-ikkinchi probirkaga 3 ml UXSK eritmasidan solinadi va aralashtiriladi. 5-10 daqiqadan so'ng suyuqliklar filtrlanadi.

22-jadval

Probirkalar	1	2	3
Kazein eritmasi, ml	1,0	1,0	1,0
Fosfat bufer, ml	1,5	1,5	1,5
Trasilol eritmasi, ml	–	1,0	–
UXSK eritmasi, ml	–	–	3,0
Tripsin eritmasi, ml	0,5	0,5	0,5

2. Alohida 3 ta probirkaga 5 ml natriy gidroksid eritmasi, 2,5 ml filtrat va 0,5 ml fenol reaktivi solib aralashtiriladi. Ko'k rang hosil bo'ladi. Rangning optik zichligi 630-690 nm to'lqin uzunligidagi (qizil nur filtri) FEK da aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi va tegishli xulosa chiqariladi.

23-jadval

Tajribaning turi	FEK ko'rsatkichi	Xulosa
Ingibitorli tajriba		
Ingibitorsiz tajriba		
Nazorat probirka		

43-ish. ARGINAZANI M_n²⁺ IONLARI BILAN FAOLLASH VA UNING ORTIQCHA MIQDORI BILAN REAKSIYA TEZLIGINI SUSAYTIRISH

Arginaza tabiati jihatidan metall tutuvchi fermentlar qatoriga kiradi va ta'sir ko'rsatish uchun M_n²⁺ ionlari – kofaktor bo'lishini talab qiladi. ionlarining optimal miqdori 2·10⁻⁴ ga teng. Bundan ortig'i arginaza faolligiga salbiy ta'sir ko'rsatadi, ya'ni reaksiya tezligini susaytiradi.

Tekshiriluvchi material: toza holda ajratilgan arginaza fermenti.

Reaktivlar: pH i 9,5 bo'lgan glitsin bufer eritmasi, MnCl ning 0,002 va 0,2 mol/l, UXSK ning 5% li, argininning 0,007 mol/l eritmasi siydikchil miqdorini o'lchash uchun rangli reaktiv, siydikchilning doimiy eritmasi (0,02 mg/ml).

Kerakli anjomlar: 1,2 ml sig'imli pipetkalar, makroburet kalar, probirkalar, voronkalar, filtrlar, suv hammomi, termostat, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 24-jadvalda keltirilgan eritmalardan aralashma tayyorlanadi.

Aralashma solingan probirkalar chayqatilib, 15 daqiqaga qoldiriladi (probirkalar 37°C li termostatga joylashtiriladi). Bir oz vaqt o'tgach, reaksiyani to'xtatish uchun har bir probirkaga 2 ml UXSK dan solinadi, aralashtiriladi va filtdan o'tkaziladi.

24-jadval

Ishlatiladigan eritmalar	Probirkalar		
	1	2	3
Arginaza fermenti, ml	0,2	0,2	0,2
Glitsin buferi, ml	1,6	1,4	1,4
MnCl ₂ ning 0,002 mol/l eritmasi	-	0,2	-
MnCl ₂ ning 0,2 mol/l eritmasi	-	-	0,2
Arginin eritmasi, ml	0,2	0,2	0,2

2. Filtdan o'tgan suyuqlik tarkibidagi siydikchilni aniqlash uchun 2 ml filtratga 2 ml rangli reaktiv qo'shiladi, aralashtiriladi va 15 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.

3. Probirkalardagi aralashma sovutilgach, hosil bo'lgan rangning optik zichligi FEK ning yashil nur filtrida, distillangan suv qarshisida aniqlanadi (yashil nur filtrining to'liq uzunligi 520-540 nm).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. FEK ko'rsatkichlariga ko'ra tajriba natijalari taqqoslanadi va MnCl₂ ning turli miqdorining ta'siri aniqlanadi. Arginaza faolligini qanday miqdordagi MnCl₂ oshirishi va susaytirishi belgilanib, tegishli xulosa chiqariladi.

44-ish. ARGINAZA FAOLLIGINI SUBSTRAT ANALOGI – GUANIDIN BILAN SUSAYTIRISH

Tekshiriluvchi material: jigardan ajratilgan arginaza.

Reaktivlar: pH i 9,5 bo'lgan glitsin bufer eritmasi, UXSK ning 5% li eritmasi, argininning 0,007 mol/l eritmasi, guanidinning 2% li eritmasi, siydikchil miqdorini o'lchash uchun rangli reaktiv (rangli reaktiv: 30 ml

0,05% FeCl₃ ga 20 ml distillangan suv, 1 ml 2,5% li diatetsilmonooksim va 0,5% 0,25% miosemikarbozid aralashmasi tajribadan oldin tayyorlanadi), siydikchilning doimiy eritmasi (0,02 mg/ml).

Kerakli anjomlar: o'lchov pipetkalar, makroburet kalar, probirkalar, voronkalar, filtrlar, suv hammomi, termostat, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. To'rtta probirkada 25-jadvalga muvofiq aralashma tayyorlanadi.

25-jadval

Ishlatiladigan eritmalar	Ingibitorsiz tajriba	Ingibitorli tajriba	Nazorat, 1	Tajriba, 2
Arginaza fermenti, ml	0,2	0,2	0,2	0,2
UXSK eritmasi, ml	-	-	2,0	2,0
Glitsin buferi, ml	1,6	1,4	1,6	1,4
Arginin eritmasi, ml	0,2	0,2	0,2	0,2
Guanidin eritmasi, ml	-	0,2	-	0,2

Eritma yaxshilab aralashtiriladi va 20 daqiqa termostatga qo'yiladi. Fermentativ reaksiya tajriba probirkalariga 2 ml UXSK eritmasi solish bilan to'xtatiladi, suyuqliklar aralashtirilib, filtrlanadi. Filtrat tarkibidagi siydikchil FEK usuli bilan aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalarni daftarga yozib, tegishli xulosa chiqaring.

4. FERMENTLARNING O'ZIGA XOSLIGI, SUBSTRATGA NISBATAN TANLANUVCHANLIGI

Har qanday ferment faqat o'ziga xos kimyoviy reaksiya tezligini oshirish qobiliyatini namoyon qiladi. Tanlanuvchanlik uch turga tafovut qilinadi: nisbiy, mutloq steriokimyoviy. Nisbiy tanlanuvchanlik xossasini me'da-ichakda joylashgan proteolitik, lipolitik, amilolitik fermentlar namoyon qiladi. Pepsin, tripsin, ximotripsin, aminopeptidaza, karboksipeptidaza kabi fermentlar guruhi oqshil molekulasidagi peptid bog'ini (CO - NH) parchalash reaksiyalarini katalizlaydi. Ammo yuqoridagi fermentlar peptid bog'ining qaysi aminokislotalar orasida hosil bo'lishiga qarab ta'sir ko'rsatadi.

Ayrim fermentlar yagona bir substrat yoki fermentativ reaksiyaga ta'sir ko'rsata oladi. Masalan, ureaza faqat siydikchilning parchalanish

reaksiyasini katalizlaydi, arginaza esa faqat arginning siydikchil va orningacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi va hokazo.

Ayrim fermentlar substratning steriokimyoviy konfiguratsiyasiga ham sezgirlik ko'rsatadi. Sis shakldagi substratga ta'sir ko'rsatuvchi ferment trans shaklga ta'sir ko'rsata olmaydi va aksincha. Substratning alfa yoki betta shakli, Z yoki D optik izomerlariga ham turli xildagi fermentlar ta'sir ko'rsatadi. Bu guruh fermentlar steriokimyoviy tanlanuvchanlik xossasiga ega.

45-ish. AMILAZA FERMENTNING TANLANUVCHANLIGINI ANIQLASH

So'lak amilazasining substratga nisbatan tanlanuvchanligini turli xil substratga (saxaroza, amilaza) ko'rsatgan ta'siridan bilish mumkin. Amilaza kraxmalni maltoza holatigacha parchalaydi. Uning oraliq mahsulotlari dekstrinlardir. Kraxmalning parchalanish darajasini kraxmalni yod bilan hosil qilgan rangli reaksiyasidan aniqlash mumkin. Kraxmal yod bilan ko'k rang, dekstrinlar esa binafsha yoki qoramtir qizil rang hosil qiladi. Kraxmalning oxirgi parchalanish mahsulotlari – maltoza yoki glukoza yod bilan rang hosil qilmaydi.

Maltoza yoki glukozani Trommer reaksiyasi yordamida aniqlash mumkin. Ushbu reaksiya glukoza, maltoza tarkibidagi aldegid guruhini aniqlashga asoslangan. Kraxmalda esa aldegid guruh yo'q va shuning uchun kraxmal Trommer reaksiyasini bermaydi.

Tekshiriluvchi material: 1:10 suyultirilgan so'lak amilazasi.

Reaktivlar: Kraxmalning 1% li eritmasi, saxarozaning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% li eritmasi, kaliy yodda tayyorlangan yodning 1% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, termostat yoki suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. Uchta probirka tayyorlanadi. Uning har biriga suyultirilgan so'lak amilazasidan 1 ml dan solinadi. So'ng birinchi probirkaga 1 ml kraxmal, ikkinchisiga 1 ml saxaroza va uchinchisiga 1 ml distillangan suv solib, suyuqliklar aralashirilgach, 10-15 daqiqa 37°C li termostat yoki suv hammomiga qo'yiladi.

Ishlatiladigan reaktivlar	1-tajriba	2-tajriba	3-nazorat
So'lak amilazasi, ml	1,0	1,0	1,0
Kraxmal eritmasi, ml	1,0	–	–
Saxaroza eritmasi, ml	–	1,0	–
Distillangan suv, ml	–	–	1,0
37°C da 15 daqiqa ushlanadi			

Kraxmalning yod bilan rangli reaksiyasi («+», «-»)

Trommer reaksiyasi («+», «-»)

2. Probirkadagi suyuqliklar bilan yod va Trommer reaksiyalari o'tkaziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 26-jadvalga yoziladi, amilaza qaysi substratni parchalaganini aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

46-ish. SAXAROZANING TANLANUVCHANLIGINI ANIQLASH

Saxaroza saxarozani glukoza va fruktozaga parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Reaksiya natijasida hosil bo'lgan glukozani Trommer reaksiyasi bilan aniqlash mumkin. Saxaroza Trommer reaksiyasini bermaydi, chunki u glukozadagi poluatsetalhidroksil fruktoza bilan bog'langan.

Tekshiriluvchi material: quritilgan xamirturushdan ajratilgan saxaroza.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, saxarozaning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, chinni hovoncha, voronkalar, filtrlar, termostat yoki suv hammomi, tarozi va qadoqlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. 0,5 g quritilgan xamirturush chinni hovonchada yaxshilab eziladi. So'ng uning ustiga 5 ml distillangan suv solib yana eziladi. Olingan aralashma filtrdan o'tkaziladi. Filtrdan o'tgan suyuqlik saxaroza fermentini tutadi.

25-jadvalga muvofiq fermentga ta'sir qiluvchi aralashma – suyuqlik tayyorlanadi. Tayyorlangan aralashmalar 38°C li suv hammomi yoki termostatda 15 daqiqa ushlanadi.

27-jadval

Ishlatiladigan reaktivlar	1-tajriba	2-tajriba	3-nazorat
Saxaroza fermenti, ml	1,0	1,0	1,0
Saxaroza eritmasi, ml	1,0	-	-
Kraxmal eritmasi, ml	-	1,0	-
Distillangan suv, ml	-	-	1,0
38°C da 15 daqiqa ushlanadi			

Trommer reaksiyasi («+», «-»)

3. Trommer reaksiyasi. 5 tomchi aralashmaga 10% li natriy gidroksid eritmasidan 10 tomchi va mis (II) sulfatning 1% li eritmasidan 1-3 tomchi solib aralastirilgach, qaynaguncha qizdiriladi. Qizil rangli mis (II) gidroksid yoki mis (I) oksid cho'kmasi hosil bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Yuqoridagi jadvalga olingan natijalar yoziladi. Saxaroza uchun tegishli substrat aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

47-ish. UREAZA FERMENTINING TANLANUVCHANLIGINI ANIQLASH

Ureaza siydikchilni ammiak va karbonat anhidrid (CO_2) ga parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Reaksiya natijasida hosil bo'lgan ammiak (NH_3) fenoltalein bilan aniqlanishi mumkin.

Tekshiriluvchi material: ureaza fermenti.

Reaktivlar: siydikchilning 1% li eritmasi, tiomochevina (tiosiydikchil)ning 1% li eritmasi, fenoltalein eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar va pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkalarning biriga 1 ml siydikchil, ikkinchisiga 1 ml tiomochevina eritmasi solinadi. Ikkala probirkaga (10-20 mg) loviya uni yoki 1 ml loviya unidan ajratilgan ureaza eritmasi va 2-3 tomchi fenoltalein eritmasi solib aralastiriladi, bir necha daqiqa xona haroratida qoldiriladi. Siydikchil eritmasi solingan probirkada och pushti rang hosil bo'ladi. Ikkinchisida esa rang hosil bo'lmaydi.

Tajriba jadvalga muvofiq ravishda bajariladi.

28-jadval

Tajriba	Ureaza, ml	Siydikchil eritmasi, ml	Tiomochevina eritmasi, ml	Fenoltalein, ml	Reaksiya natijasi
1	10-20	1,0	-	2-3 tomchi	
2	10-20	-	1,0	2-3 tomchi	

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natija jadvalga yoziladi. Ureazaning tanlagan substrati aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

48-ish. ARGINAZA FERMENTINING SUBSTRAT TANLASHINI ANIQLASH

Arginaza yagona substrat – argininning parchalanish reaksiyasini katalizlaydi va mutloq tanlash xossasini namoyon qiladi. Arginin ushbu ferment ta'sirida ornitin va siydikchilga parchalanadi. Argininning tuzilishiga o'xshash bo'lgan guanidin va kreatin ferment ta'siriga uchramaydi.

Tekshiriluvchi material: jigardan ajratilgan arginaza.

Reaktivlar: Argininning 0,007 mol/l eritmasi, kreatinning 0,01 mol/l eritmasi, guanidinning 0,01 mol/l eritmasi, pH i 9,5 bo'lgan glitsin bufer eritmasi, UXSK ning 5% li eritmasi, siydikchilni aniqlash uchun rangli reaktiv (tayyorlanishi ish № 44-ga qarang) siydikchilning 0,02 mg doimiy eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, pipetkalar, makroburetka, suv hammomi, termostat, voronkalar, filtrlar, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Turli substratlar solingan uchta probirka tayyorlanadi. Ish tartibi 27-jadvalga muvofiq bajariladi.

29-jadval

Tajribalar	Glitsin buferi, ml	Arginaza eritmasi, ml	Arginin eritmasi, ml	Kreatin eritmasi, ml	Guanidin eritmasi, ml
1	1,4	0,4	0,2	-	-
2	1,4	0,4	-	0,2	-
3	1,4	0,4	-	-	0,2

2. Uchta nazorat tajriba probirkalari tayyorlanadi. Buning uchun uchala probirkaga 2 ml UXSK eritmasi hamda tajriba uchun olingan

eritmalarining barchasidan solinadi va aralashtiriladi. UXSK reaksiya tezligini susaytiradi.

3. Barcha probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va 37°C li termostatda yoki suv hammomida 15 daqiqa saqlanadi. Bir ozdan so'ng tekshiruv tajriba probirkalariga 2 ml UXSK eritmasi solinadi. Suyuqliklar aralashtirilib, har qaysi probirka alohida filtrlanadi.

4. Siydikchil miqdorini o'lchash uchun har qaysi filtratdan 2 ml olinib, ustiga 2 ml rangli reaktiv solinadi, aralashtiriladi va qaynab turgan suv hammomida 15 daqiqa qizdiriladi.

5. Suyuqliklar sovitilgach, tekshiruv va nazorat tajriba suyuqliklar distillangan suv qarshisida FEK ning 540-560 nm to'liq uzunligi (yashil nur filtri)da optik zichliklari topiladi. Siydikchilning miqdori siydikchilning doimiy eritmasiga nisbatan hisoblanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Arginaza fermentining tanlagan substrati aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

5. FERMENT MIQDORINING REAKSIYA TEZLIGIGA TA'SIRI

Fermentativ reaksiyaning boshlang'ich tezligi substrat miqdorining ortiqcha bo'lishi sharti bilan ferment miqdoriga to'g'ri proporsionaldir. $V=RE$, bunda R – reaksiya tezligi konstantasi, E – ferment miqdori. Ushbu bog'liqlikni grafik ifodalashda to'g'ri chiziq hosil bo'ladi.

Turli ferment preparatlari faolligini taqqoslash yo'li bilan ushbu preparatlardagi fermentlar miqdorini aniqlash mumkin.

49-ish. AMILAZA MIQDORINING KRAKMAL PARCHALANISHI TEZLIGIGA TA'SIRI

Tekshiriluvchi material: 1:10 suyultirilgan so'lak amilazasi.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, kaliy yodda tayyorlangan yodning 1% li eritmasi, distillangan suv, natriy xloridning 0,85% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar, termostat yoki suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. Ish tartibi jadvalga muvofiq bajariladi.

Tajriba probirkalar	Natriy xlorid eritmasi, ml	Kraxmal eritmasi, ml	Distillangan suv, ml	Amilaza, ml
1	0,5	1,0	0,9	0,1
2	0,5	1,0	0,7	0,3
3	0,5	1,0	0,5	0,5
4	0,5	1,0	0,3	0,7

Probirkadagi eritmalar aralashtiriladi va 38°C li termostat yoki suv hammomida 15 daqiqa ushlanadi. Bir ozdan so'ng kraxmalning turli ferment miqdori ta'sirida parchalanish darajasi kraxmalning yod bilan bergan rangli reaksiyasi yordamida aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi. Fermentning qanday miqdori kraxmalni parchalashi aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

50-ish. REAKSIYA TEZLIGIGA ARGINAZA MIQDORINING TA'SIRI

Tekshiriluvchi material: jigar arginazasi.

Reaktivlar: pH i 9,5 bo'lgan glitsin bufer eritmasi, arginning 0,007 mol/l eritmasi, UXSK ning 5% li eritmasi, siydikchilni aniqlash uchun rangli reaktiv, Biuret reaktivi, siydikchilning 0,02 mg ml li doimiy eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, makroburet kalar, suv hammomi, voronkalar, filtrlar, termostat, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar, suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 5 ta probirkada jadvalga muvofiq eritmalar aralashmasi tayyorlanadi.

Tajriba probirkalar	Arginaza eritmasi, ml	Glitsin bufer, ml	Ferment miqdori, mkg/ml oqsilga	Optik zichlik	Siydikchilning mk mol/ml miqdori
1	0,1	1,5			
2	0,2	1,4			
3	0,3	1,3			
4	0,4	1,2			
5	0,5	1,1			

Eritmalar aralastirilgach, ustiga 0,2 ml arginin eritmasi solinadi.

2. Barcha probirkalar 40°C li termostat yoki suv hammomida 20 daqiqa ushlanadi. Bir ozdan so'ng fermentativ reaksiya tezligi har qaysi probirkaga 2 ml 5% li UXSK eritmasi solish bilan to'xtatiladi. Suyuqliklar aralastirilgach, filtdan o'tkaziladi.

3. Reaksiya natijasida hosil bo'lgan siydikchilni aniqlash uchun 2 ml filtratga 2 ml rangli reaktiv qo'shib aralastiriladi va qaynab turgan suv hammomida rosa 20 daqiqa qizdiriladi. Rivojlangan rangning zichligi FEK ning 540-560 nm to'lqin uzunligida (yashil nur filtri) distillangan suv qarshisida o'lchanadi. Siydikchil miqdori 1 ml tajriba eritmasining doimiy siydikchil eritmasiga nisbati bo'yicha hisoblanadi.

4. Ferment preparatidagi oqsil miqdorini o'lchash uchun 1 ml ferment preparatiga 4 ml Biuret reaktividan solib aralastiriladi va 20 daqiqa o'tgach, rang zichligi fotoelektrokolorimertlanadi (nazorat tajribasini tayyorlash uchun 1 ml distillangan suvga 4 ml Biuret reaktivi solinadi). Rangli eritma zichligi 540-560 nm to'lqin uzunligida (yashil nur filtrida) nazorat eritma qarshisida o'lchanadi. Oqsil miqdori o'ichov egri chizig'idan topiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar jadvalga yoziladi va ferment miqdori o'zgarishining reaksiya tezligiga ta'siri egri chiziq bilan ifodalandi. Ordinata o'qiga reaksiya tezligi (m mol/daqiqa) yoki optik zichlik birligi, absissa o'qiga esa ferment miqdori (m kg/ml) keltiriladi. Ish bo'yicha tegishli xulosa chiqariladi.

51-ish. PROTEOLITIK REAKSIYA TEZLIGIGA TRIPSIN MIQDORINING TA'SIRI

Tekshiriluvchi material: tripsin fermenti.

Reaktivlar: kazeinning 1% li eritmasi, pH i 8,0 bo'lgan fosfat bufer eritmasi (0,1 mol/l), UXSK ning 5% li eritmasi, tripsinning 5×10^{-4} miqdordagi eritmasi 0,005 mol/l xlorid kisloata eritmasida tayyorlanadi, natriy gidroksidning 0,5 mol/l eritmasi, fenol reaktivi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, o'ichovli pipetkalar, voronkalar, filtrlar, termostat yoki suv hammomi, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Jadvalga muvofiq reaksiya aralashma tayyorlanadi. Tripsin eritmasi iloji boricha probirkalarga tezlik bilan solinadi. Ferment solingach, suyuqliklar aralastiriladi va 40°C li suv hammomi yoki termostatga 15 daqiqaga qo'yiladi.

2. Reaksiya tezligi tajriba probirkalariga 3 ml UXSK ning 5% li eritmasidan solib to'xtatiladi. Suyuqliklar aralastirilib, filtdan o'tkaziladi.

3. Filtrat tarkibidagi reaksiya mahsuloti – tirozin miqdori aniqlanadi. 2,5 ml filtratga 0,5 ml fenol reaktivi solinadi va 20 daqiqadan so'ng rivojlangan rang zichligi o'lchanadi. FEK ning 630-690 nm to'lqin uzunligi (qizil nur filtri) da nazorat eritmasi qarshisida o'lchanadi. Tirozinning miqdori o'lchov egri chizig'idan topiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi va grafik ravishda ifodalaniadi. Ordinata o'qiga reaksiya tezligi (yoki optik zichlik birligi), absissa o'qiga ferment miqdori keltiriladi. Ferment miqdorining reaksiya tezligiga bog'liqligi aniqlanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

32-jadval

Tajriba probirkalari	Kazein eritmasi, ml	Fosfat bufer eritmasi, ml	Tripsin eritmasi, ml	Ferment miqdori oqsilga nisbatan mkg/ml hisobida	Optik zichlik	Reaksiya tezligi mkmol/daqiqa
1	1,0	1,9	0,1			
2	1,0	1,7	0,3			
3	1,0	1,5	0,5			
4	1,0	1,2	0,8			

6. SUBSTRAT MIQDORINING FERMENTATIV REAKSIYA TEZLIGIGA TA'SIRI

Fermentativ reaksiya tezligi substrat miqdoriga bog'liq. Chunki substrat miqdori kam bo'lsa, reaksiya tezligi pasayadi. Substrat miqdori ortib borishi bilan reaksiya tezligi ham ortib boradi. Ammo substrat miqdori juda yuqori bo'lganda reaksiya tezligi susaya boshlaydi. Demak, tegishli ferment ortiqcha substrat miqdori bilan to'yinadi va fermentning faolligini susaytiradi. Substrat miqdorining fermentativ reaksiya tezligiga bog'liqligini Mixaelis – Menten tenglamasi va egri chizig'idan tushunish mumkin. $K_M - 1/2V$ max.

Fermentativ reaksiyaning maksimal tezligi sarflangan substratning yarmiga teng bo'lgan ko'rsatkich Mixaelis konstantasi deyiladi va

miqdor birligi qilib mol/l olinadi. Mixaelis konstantasi fermentning substratga nisbatan moyilligini ko'rsatadi. Ushbu birlik qanchalik katta bo'lsa, fermentning substratga nisbatan moyilligi ham shuncha katta bo'ladi.

52-ish. ARGININ MIQDORINING FERMENTATIV REAKSIYA TEZLIGIGA TA'SIRI

Tekshiriluvchi material: jigar arginazasi.

Reaktivlar: pH i 9,5 bo'lgan glitsin eritmasi, 0,007 mol/l arginin eritmasi, 5% li UXSK eritmasi, siydikchilni aniqlash uchun rangli reaktiv, siydikchilning 0,02mg/ml li doimiy eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, shtativlar, o'lchovli pipetkalar, makroburetka, voronkalar, filtrlar, termostat, suv hammomi, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 33-jadvalga muvofiq reaksiyon eritma aralashmalari tayyorlanadi. Arginin eritmasi tartib bilan va iloji boricha tezlik bilan probirkalarga solinadi.

33-jadval

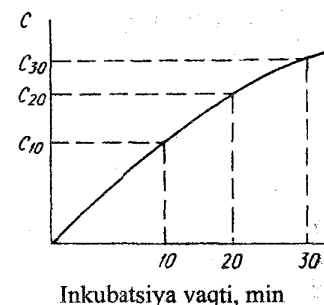
Tajribalar tartibi	Ferment eritmasi, ml	Glitsin bufer eritmasi, ml	Arginin eritmasi, ml	Substrat miqdori, mkmol/ml	Reaksiya tezligi, mkmol/ml
1	0,1	1,6	0,1		
2	0,1	1,5	0,2		
3	0,1	1,4	0,3		
4	0,1	1,3	0,4		
5	0,1	1,2	0,5		

2. Probirkadagi suyuqliklar aralastirilib, 40°C li termostat yoki suv hammomida 20 daqiqa ushlanadi. Reaksiya tezligi 2 ml 5% li UXSK eritmasini qo'shish bilan to'xtatiladi. Eritmalar aralastirilib, filtdan o'tkaziladi.

3. Filtrat tarkibidagi reaksiya mahsuloti – siydikchil miqdori FEK usuli bilan aniqlanadi (yuqoriga qarang).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi. Fermentativ reaksiya tezligining substrat miqdoriga bog'liqligi grafikda ifodalangan. Ordinata o'qiga reaksiya tezligi, absissa o'qiga esa arginin miqdori keltiriladi. Natijalar bo'yicha tegishli xulosa chiqariladi.

Arginaza katalizlaydigan reaksiya uchun Mixaelis konstantasini K_M hisoblash mumkin. Egri chiziq bo'yicha reaksiyaning maksimal tezligi juda aniq bo'lmasada, quyidagicha hisoblanishi mumkin. Birinchidan, bog'liqlik chizig'i to'g'ri bo'lishi kerak. Buning uchun ordinata o'qiga 1 nisbati, absissa o'qiga esa 1/1 keltiriladi. To'g'ri chiziq hosil bo'ladi. $1/K_M$ – teskari kattalik. To'g'ri chiziq absissa chizig'i bilan kesishguncha davom ettiriladi va $1/K_M$ ning kattaligi topiladi (10a-rasm).



10a-rasm. Siydikchil miqdorining ferment bilan inkubatsiya qilingan vaqtga bog'liqligi

53-ish. SUBSTRAT MIQDORINING TRIPSIN KATALIZLAYDIGAN REAKSIYA TEZLIGIGA TA'SIRI

Tekshiriluvchi material: kristallangan tripsin.

Reaktivlar: kazeinning 1% li eritmasi, pH i 8,0 bo'lgan 0,1 mol/l fosfat bufer eritmasi, UXSK ning 5% li eritmasi, 0,005 mol/l xlorid kislotada tayyorlangan 5.10⁻⁴% li tripsin eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, o'lchovli pipetkalar, voronkalar, filtrlar, termostat yoki suv hammomi, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Jadvalga muvofiq eritma aralashmalari tayyorlanadi.

34-jadval

Tajriba probirkalar	Kazein eritmasi, ml	Fosfat bufer eritmasi, ml	Tripsin eritmasi, ml	Substrat miqdori, mkmol/ml	Fermentativ reaksiya, mkmol/l
1	0,2	2,3	0,5		
2	0,4	2,1	0,5		
3	0,6	1,9	0,5		
4	0,8	1,7	0,5		

Eritmalar aralastirilgach, 15 daqiqa 37°C li suv hammomi yoki termostatga qo'yiladi. Reaksiya tezligini to'xtatish uchun 3 ml 5% li UXSK eritmasi qo'yiladi, aralastiriladi va filtrlanadi.

qiymanadi. Gomogenizatsiyalash 2 marta qaytariladi va gomogenat (qiyma) glitsin buferi bilan 1:10 suyultiriladi (1 g jigarga 10 ml glitsin bufer solinadi). Suyultirilgan qiyma ikki qavatli dokadan o'tkaziladi.

2. Jigarning atsetonli kukunidan fermentni ajratish. 200 mg atseton kukuniga 15 ml glitsin buferidan solib, 37°C li termostatda 20 daqiqa ushlab turiladi. So'ngra aralashma filtrlanadi va filtrat tarkibidagi ferment ishlatiladi.

3. Fermentning substratli inkubatsiyasini tayyorlash. Ish jarayoni 35-jadvalga muvofiq bajariladi. Tajribaning biri tekshirish, ikkinchisi nazorat hisoblanadi. Reaktivlarning qo'shilish navbatiga rioya qilinadi.

35-jadval

Tajribalar	Glitsin bufer, ml	Arginin eritmasi, ml	UXSK eritmasi, ml	Arginaza eritmasi, ml
Tekshiruv	1,4	0,2	-	0,4
Nazorat	1,4	0,2	2,0	0,4

Tekshiruv va nazorat probirkalaridagi eritmalar aralastirilib, 37°C li termostatga joylashtiriladi.

Birozdan so'ng tekshiruv probirkasiga 2 ml 5% li UXSK eritmasidan solib aralastiriladi. Ikkala probirkadagi eritma filtrlanadi. Filtrat tarkibidagi siydikchil aniqlanadi.

4. Siydikchil miqdorini o'lchash. Birinchi probirkaga tekshiruv, ikkinchi probirkaga nazorat filtratlaridan olinadi (2 ml dan). Ikkala probirkaga rangli reaktivdan 2 ml solinadi. Eritmalar aralastirilib, qaynab turgan suv hammomiga 15 daqiqaga qo'yiladi. Vaqt o'tgach, eritmalar sovitilib, hosil bo'lgan rang zichligi FEK ning 540-560 nm uzunligida (yashil nur filtri) distillangan suv qarshisida o'lchanadi. 1 sm qalinlikdagi kuvetalar ishlatiladi. Hosil bo'lgan rang tezda yo'qoladi. Shuning uchun optik zichlik 20 daqiqa ichida o'lchanishi kerak. Tajriba sinama ko'rsatkichidan nazorat sinama ko'rsatkichi ayiriladi. Topilgan sondan siydikchil miqdorini hisoblashda foydalaniladi. Siydikchil miqdori doimiy siydikchil miqdoriga nisbatan hisoblab topiladi. Doimiy siydikchil miqdorini aniqlash uchun 2 ml doimiy eritmaga 2 ml rangli eritma qo'shib, 15 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qaynatiladi, sovitiladi va kolorimetrlanadi.

Hisoblash. 1 ml inkubatsion aralashma tarkibidagi siydikchil miqdorini doimiy siydikchil eritmasiga nisbatan aniqlash uchun quyidagi tenglamadan foydalaniladi.

$$X = \frac{E_{\text{tekshiruv}}}{E_{\text{doimiy}}} \cdot 0,02$$

$E_{\text{tekshiruv}}$ – tajriba uchun olingan aralashmaning optik zichligi
 E_{doimiy} – doimiy zichligi 0,02 mg/ml – doimiy siydikchil eritmasidagi siydikchil miqdori.

Siydikchil miqdori mkmol/ml birligida hisoblanadi. Agar $X=12$ mg/ml bo'lsa, bu vaqtda:

$$X_1 = \frac{12000}{60} = 200 \text{ mkmol/ml bo'ladi.}$$

60 – siydikchilning molar massasi.

Fermentning solishtirma faolligini aniqlash. Ferment preparati oqsili 2 mg ga teng. 1 ml ferment eritmasi tarkibidagi oqsil miqdori topiladi. Fermentning substrat bilan reaksiyaga kirgan davri 15 daqiqa bo'lsa, u vaqtda fermentning solishtirma faolligi

$$\frac{\text{solishtirma}}{\text{aktivlik}} = \frac{200}{15:1,8} = 7,4 \text{ mkmol/mg min.}$$

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Tekshiruv, nazorat va doimiy siydikchil eritmaları uchun FEK ning optik zichliklari bo'yicha arginaza faolligi hisoblanadi.

55-ish. TRIPSINNING PROTEOLITIK FAOLLIGINI ANIQLASH

Tripsinning proteolitik faolligini aniqlash kazein oqsilining parchalanish mahsuloti – tirozin aminokislotasini aniqlashga asoslangan. Tirozin fenol reaktivi bilan ko'k rang hosil qiladi. Uning zichligi FEK da o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: tripsinning 0,005 mol/l xlorid kislotada tayyorlangan 5·10⁻⁴ li eritmasi.

Reaktivlar: kazeinning 1% li eritmasi, pH i 8,0 bo'lgan fosfat bufer eritmasining 0,1% li, UXSK ning 10% li, natriy gidroksidning 0,5 mol/l eritmasi, fenol reaktivi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, tomizgichlar, voronkalar, buretkalar, filtrlar, termostat, suv hammomi, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Jadvalga muvofiq reaksiyon aralashma tayyorlanadi.

Tajribalar	Kazein eritmasi, ml	Fosfat bufer eritmasi, ml	UXSK eritmasi, ml	Tripsin eritmasi, ml
Tekshiruv	1,0	1,5	–	0,5
Nazorat	1,0	1,5	3,0	0,5

Aralashmalar 37°C li termostat yoki suv hammomiga 20 daqiqaga qo'yiladi. Reaksiyani to'xtatish uchun tekshiruv probirkasiga 3 ml 10% li UXSK eritmasi solinadi. 5-10 daqiqadan so'ng probirkadagi suyuqlik filtdan o'tkaziladi.

2. Tirozin miqdorini aniqlash. Ikkita probirkaga 0,5 mol/l li natriy gidroksid eritmasidan 5 ml, uning birinchisiga tekshiruv probirkasidagi filtrat, ikkinchisiga nazorat filtratidan 2,5 ml solib aralashtiriladi. Uning ustiga 0,5 ml fenol reaktividan qo'shib yana aralashtiriladi. Ko'k rang hosil bo'ladi. 20 daqiqa o'tgach, suyuqliklar FEK ning 630-690 nm to'lqin uzunligida kolorimetrlanadi. Tekshiruv va nazorat suyuqliklarining optik zichliklari farqlanadi. So'ngra o'lchov egri chizig'i bo'yicha fermentativ reaksiya jarayonida tirozinning ko'payishi aniqlanadi.

3. Tripsinning faolligini hisoblash. Tripsinning faolligi 1 ml ferment eritmasi uchun olingan birlikda ifodalanadi. Solishtirma faollikni aniqlash 1 mg oqsil hisobida amalga oshiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga topilgan optik zichliklar, ferment faolligi, tirozin miqdorini yozing va tegishli xulosa chiqaring.

56-ish. JIGAR UROKANINAZASINING FAOLLIGINI ANIQLASH

Urokaninaza jigarga xos ferment – urokanin kislotaning glutamin kislotasi va boshqa mahsulotlargacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Kasalliklarni bir-biridan ajratishda va jigar, o't yo'llari kasalliklarini oldindan aniqlashda qon urokaninazasi faolligini aniqlash katta ahamiyatga ega.

Ferment faolligi, urokanin kislotaning reaksiyadan oldingi va keyingi miqdori o'zgarishi kolorimetrik usul bilan aniqlanadi. Urokanin kislotasi ishqoriy sharoitda sulfanil kislotasi bilan bo'yalgan birikmani hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: jigar ekstrakti.

Reaktivlar: 0,01 mol/l urokanin kislotasi eritmasi, pH i 7,2 bo'lgan 0,02 mol/l kaliy fosfat bufer eritmasi, pH i 4,8 bo'lgan 3 mol/l atsetat bufer eritmasi, natriy karbonatning to'yingan eritmasi, 86% li etil spirti, 0,5% li sulfanil kislotasi eritmasi, natriy nitritning 0,5% li eritmasi (ishlatishdan oldin tayyorlanadi).

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, voronkalar, filtr qog'ozi, muz hammomi, suvli hammom, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Ferment preparatini tayyorlash. 1-2 g jigar gomogenizatorida maydalanadi yoki chinni hovonchada shisha tuygich bilan ishqlanadi. Ishqlash 2-3 ml 0,02 mol/l kaliy fosfat buferida amalga oshiriladi. So'ng gomogenat shu bufer bilan 1:20 nisbatda (jigar og'irligiga qarab) suyultiriladi. To'qima bo'lakchalari va parchalanmagan hujayralardan gomogenatni sentrifugalash yoki filtrlash bilan xoli bo'lish mumkin. Ajratilgan ekstrakt – 4-8°C li sovutgichda 1-2 kun saqlanishi mumkin.

2. Urokaninaza faolligini aniqlash. 37-jadvalga muvofiq 3 ta probirkada inkubatsion aralashma tayyorlanadi.

Tajribalar	Kaliy fosfat buferi, ml	Urokanin kislotasi, ml	Ferment preparati, ml
Tekshiruv	1,7	0,15	0,15
1-nazorat	1,85	–	0,15
2-nazorat	1,7	–	0,15

Tajriba probirkalar 37°C li termostatda yoki suv hammomida 20 daqiqa ushlanadi. So'ngra nazorat probirkasiga 0,15 ml 0,01 mol/l urokanin kislotasidan va uchala probirkaga zudlik bilan oqsillarni cho'ktirish uchun 0,6 ml 3 mol/l atsetat bufer eritmasidan solinadi.

Barcha probirkalardagi suyuqliklar aralashtirilib, 3 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi. Oqsil cho'kmasi filtrlash bilan olib tashlanadi.

Barcha probirkalardagi filtratlarga 0,5 ml to'yingan natriy karbonat eritmasi, 0,5 ml etil spirti, 0,6 ml yangi tayyorlangan diazoreaktiv (sulfanil kislotasi va natriy nitrit kislotasi 1:2 nisbatda aralashtiriladi) solinadi. Eritma muz hammomida aralashtiriladi. Diazoreaktiv solingandan so'ng sarg'ish-pushti rang hosil bo'ladi. Bu rang spirt qo'shilgani uchun bir necha soat davomida saqlanadi. Tekshiruv va

2-nazorat probirkalaridagi rangli eritmalarning optik zichligi 1-nazorat suyuqligi qarshisida FEK ning (450-480 nm to'liq uzunligida) ko'k nur filtrida o'lchanadi. 2-nazorat probirkaga substrat fermentativ reaksiyani to'xtatishdan oldin solinadi (oqsilni cho'ktirishdan oldin). Tekshiruv va nazorat suyuqliklari tarkibidagi urokanin kislotaga va nazorat suyuqliklari tarkibidagi urokanin kislotaga miqdori o'lchov egri chizig'idan topiladi.

3. Ferment faolligini hisoblash. Ferment faolligini tekshiruv va nazorat probirkalaridagi urokanin kislotaga ayirmasiga nisbatan aniqlanadi. Urokaninaga faolligi ferment preparatidagi 1 mg oqsilga nisbatan hisoblanadi va bir daqiqada urokanin kislotaning parchalanish darajasi aniqlanadi. Urokaninaga nmol/daqiqqa birligi bilan ifodalanadi.

Misol. 2-nazorat eritmaning optik zichligi 0,60, o'lchov egri chizig'idagi urokanin kislotaga miqdori 82 nmol ga teng (substratning boshlang'ich miqdori). Tekshiruvchi eritmaning optik zichligi esa 0,36, 49 nmolga to'g'ri keladi (fermentativ reaksiyadan so'ng qolgan substrat miqdori). 0,15 ml ferment preparati tarkibidagi oqsil miqdori 0,8 mg. Demak, fermentning solishtirma faolligi quyidagicha:

Fermentning solishtirma faolligi:

$$\frac{82\text{nmol} - 49\text{nmol}}{0,8\text{mg} \cdot 20\text{daqiqqa}} = 2,1\text{nmol} \cdot \text{mg} \cdot \text{daqiqqa}$$

57-ish. SO'LAK AMILAZASI FAOLLIGINI ANIQLASH

So'lak va me'da osti bezi shirasi tarkibidagi α -amilaza kraxmalni dekstrinagacha va maltozagacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi.

Til osti, quloq oldi va so'lak bezining turli kasalliklarida (yallig'lanish, o'sma va boshqa kasalliklarida) so'lak amilazasi faolligini aniqlash katta ahamiyatga ega.

Amilazaning faolligi 1 ml so'lak ta'sirida 30 daqiqada ichida 37°C da 1% li kraxmalning 1 ml si parchalanishi bilan o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: so'lak amilazasi.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, kaliy yodda tayyorlangan yodning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, suv hammomi, termostat.

Bajariladigan ish tartibi. O'nta probirkaga tartib bilan 1 ml dan distillangan suv solinadi. Birinchi probirkaga 1:10 suyultirilgan so'lakdan 1 ml solib aralastiriladi. Uning bir xil ml si ikkinchisiga va undan 1 ml si uchinchisiga va shu tarzda davom ettirilib aralastiriladi. Oxirgi probirkadagi 1 ml so'lak aralashmasi olib tashlanadi. Natijada probirkalarda so'lakning turli darajada suyultirilgan eritmasi tayyorlanadi.

Probirkalar	1:	2:	3:	4:5:	6:	7:	8:	9:	10
Amilazaning suyultirilish darajasi	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	va h.k.

Barcha probirkalarga 2 ml 1% li kraxmal eritmasidan solib aralastiriladi va 38-40°C li termostat yoki suv hammomiga 30 daqiqaga joylashtiriladi. Vaqt o'tgach, probirkalardagi aralashma sovutiladi va ularning ustiga 1-2 tomchidan yod eritmasi tomizib aralastiriladi. Eritmalar turli rangga bo'yaladi. Ko'k rang kraxmal parchalanganligini, sariq rang esa kraxmalning maltozagacha parchalanganligini ko'rsatadi. Amilaza faolligini aniqlash uchun kraxmalning to'liq parchalangan sariq rangli eritmasining suyultirilgan darajasi topiladi.

Misol. Sariq rang 5-probirkada kuzatilgan bo'lsa, uning suyultirilgan darajasi 1:320 ga teng. Amilazaning shu suyultirilgan darajasi, 30 daqiqada 1 ml kraxmalni parchalash tezligini topish uchun quyidagi hisoblash usulidan foydalaniladi.

$$\begin{array}{l} 1:320 \text{ ————— } 2 \text{ ml} \\ 1 \text{ ————— } X \end{array}$$

$$X = \frac{2\text{ml} \cdot 1}{1/320} = 640\text{ml}$$

Demak, 1 ml suyultirilgan amilaza 30 daqiqada 640 ml 1% li kraxmal eritmasini parchalaydi. Amilaza faolligini xalqaro birlikka o'tkazish uchun 100 ml ————— 1 g.

$$X = \frac{640}{100} = 6,4\text{g} \cdot 1000 = 640\text{mg} \quad 640 \text{ ml} \text{ ————— } X \text{ g}$$

Sog'lom odamlarda so'lak amilazasining faolligi 12-32 mg/sek yoki 12-32 g (sek/l).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Suyultirilgan amilaza darajasini, hisoblashni daftaringizga yozib, tegishli xulosa chiqaring.

58-ish. JIGAR GISTIDAZASI FAOLLIGINI ANIQLASH

Gistidaza (gistidin – ammiak – liaza) jigarga xos ferment hisoblangan gistidin aminokislotasini molekulararo dezaminlash reaksiyasini katalizlaydi. Fermentativ reaksiya jarayonida ammiak va urakain kislota hosil bo'ladi. Fermentning faolligi urokanat kislota miqdori bilan o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: jigar ekstrakti – gistidazasi.

Reaktivlar: pH i 8,5-9,0 bo'lgan 0,1M gistidin eritmasi, pH i 9,2 bo'lgan 0,1M kaliy fosfat buferi eritmasi, pH i 4,8 bo'lgan 3M atsetat buferi, 0,001M natriy urokanat eritmasi, diazoreaktiv, etil spirti.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, voronkalar, filtr qog'ozlar, termostat, suv hammomi, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Ferment manbaini tayyorlash. 1-2 g hayvon jigari yaxshilab qondan tozalanadi va kinni hovonchada shisha qum bilan eziladi. Qiymaga 1:20 nisbatda suyultirilgan kaliy fosfat buferidan 2 ml solinadi. Ekstrakt yaxshilab aralashtirib, filtdan o'tkaziladi. Filtr ostidagi suyuqlik ferment manbai sifatida ishlatiladi.

2. Fermentativ reaksiya o'tkazish. Uchta probirkada 38-jadvalga muvofiq inkubatsion aralashma tayyorlanadi.

38-jadval

Tajriba probirkalari	Kaliy fosfat buferi, ml	Gistidin eritmasi, ml	Ferment manbai, ml
Tekshiruv	1,7	0,5	0,15
1-nazorat	1,85	–	0,15
2-nazorat	1,7	–	0,15

Probirkalardagi suyuqliklar aralashtirilib, 20 daqiqa 37°C li termostat yoki suv hammomiga qo'yiladi. Bir oz vaqt o'tgach, ikkinchi nazorat probirkasiga 0,15 ml gistidin eritmasi solinadi. Fermentativ reaksiyani to'xtatish uchun barcha probirkalarga 0,6 ml atsetat bufer eritmasi solib aralashtiriladi va probirkalar qaynab turgan suv

hammomiga 5-10 daqiqaga joylashtiriladi. So'ngra probirkalardagi suyuqliklar filtdan o'tkaziladi.

3. Ferment faolligini o'lchash. Har qaysi tajriba probirkalaridan alohida-alohida 0,5 ml dan filtrat olib, ustiga 0,5 ml etil spirti va 0,6 ml diazoreaktiv solinadi, so'ngra eritmalar aralashtiriladi. Sariq-qovoq rang hosil bo'ladi. Uning zichligi FEK ning 450-480 nm to'lqin uzunligida (ko'k nur filtri) ikkinchi nazorat eritmasi qarshisida o'lchanadi.

4. Gistidaza faolligini hisoblash. Topilgan optik zichlik bo'yicha gistidinning miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi. O'lchov egri chizig'i gistidinning turli miqdori uchun optik zichlik topilishi bilan tuziladi. Ordinata o'qiga gistidinning nmol da ifodalangan miqdori, absissaga – optik zichlik keltiriladi.

O'lchov egri chizig'i urakanin kislotaning turli miqdori uchun ham tuzilishi mumkin.

Ferment faolligini hisoblash uchun namuna: nazorat probirkada substrat kam yoki mutloq parchalanmay qoladi. Fermentativ reaksiya o'tkazilgan tekshiruvda esa substratning ma'lum miqdori parchalangan. Demak, nazorat ko'rsatkichidan tekshiruv ko'rsatkichining ayirmasi topiladi. Masalan, nazorat tajribaning optik zichligi 0,50, o'lchov egri chizig'i bo'yicha u 72 nmol gistidina teng bo'lsa, tekshiruv tajribaning optik zichligi 0,30, u 45 nmolga teng. Demak, uning ayirmasi 27 nmolga teng. Fermentning solishtirma faolligini aniqlash uchun shu ferment tarkibidagi oqsil miqdori topiladi va oqsil mg hisobida olinadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, o'lchov egri chizig'ini, ferment faolligini hisoblang va uning natijasini daftaringizga yozing. Ushbu fermentning faolligini aniqlashning ahamiyati haqida tegishli xulosa chiqaring va daftaringizga yozing.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Fermentlarning ta'sir qilish nazariyalari haqida nimalarni bilasiz?
2. Biokatalizdagi energetik to'siq va faollanish energiyasining ahamiyati nimada?
3. Kofermentlar, metall ionlari va kofaktorlarning fermentativ reaksiyalardagi ahamiyati nimadan iborat?
4. Fermentlarning faol markazi va ularning biologik vazifalari haqida aytib bering.
5. Fermentlarning o'ziga xosligi – substratga nisbatan tanlanuvchanligi, turlari va ularning ahamiyati nimadan iborat?
6. Fermentlarning faolligiga ta'sir qiluvchi omillar: pH muhit, harorat, ion kuchi, aktivator va ingibitorlar, substrat va ferment miqdori to'g'risida aytib bering.
7. Ferment faolligining qaytar, qaytmas, raqobatli, raqobatsiz holda susayishi (ingibitorlanishi) haqida nimalarni bilasiz?
8. Ferment faolligini o'lchash birliklari qaysilar?
9. Fermentlarning sinflanishi, katalizlaydigan reaksiyalari nimalardan iborat?
10. Multimolekular fermentlar sistemasi (piruvatdegidrogenaza, sitratsintetaza, glutamatdegidrogenaza va hokazo)larni aytib bering.
11. Fermentlarning a'zolarga xosligi. Turli kasalliklarda ular faolligining qon zardobida o'zgarishi va kasalliklarni aniqlashdagi ahamiyati nima?
12. Birlamchi enzimopatiyalar; fermentlarning irsiy yetishmovchiligi haqida nimalarni bilasiz?
13. Fermentlar yetishmovchiligida vitaminlar, nukleotidlar, gem va metallarning ahamiyati qanday?
14. Fermentlar faolligining boshqarilishi, allosterik boshqarilish, boshqarilishning o'zga yo'llari haqida nimalarni bilasiz?
15. Izofermentlar va ularning ahamiyati nimada?
16. Fermentlar va ularning ingibitorlaridan tibbiyotda qanday foydalaniladi?
17. Suyuqlik tarkibida amilaza, pepsin va tripsin fermentlari bor. Ushbu fermentlarni qayday qilib aniqlash mumkin?

18. Oqsillarni, karbonsuvlarni, yog'larni oddiy moddalargacha parchalash uchun qanday fermentlardan foydalanish mumkin? Fermentlarning ta'sir mexanizmini tushuntiring.
19. Me'da shirasi tarkibida xlorid kislotasi kamaygan bemorga (anatsid, gipotsid, gastrit) tuzlangan karam, pomidor, bodring, sirka essensiyasini iste'mol qilish tavsiya qilinadi. Buning sababini tushuntiring.
20. Bemor jigar kasalligi bilan og'rikan deb gumonsiragan shifokor qanday yo'l bilan fikrini tasdiqlashi mumkin?
21. Shifoxonada davolanayotgan bemor qonida laktatdegidrogenaza (LDG) fermentining faolligi oshganligi aniqlanadi. Bu jigar, yurak, buyrak xastaliklari uchun xos. Kasallikni aniqlash uchun qanday zamonaviy usullardan foydalanish mumkin?
22. O'rina yoshli kishining yuragi atrofida qattiq og'riq paydo bo'ldi. U shifoxonaga keltirildi. Miokard infarkti kasalligini aniqlash uchun xastalikning birinchi soatlarida qanday ferment aniqlanishi mumkin?
23. Bemor siydigida amilaza fermentining faolligi birmuncha oshganligi aniqlandi. Buni qanday izohlash va qanday kasallik to'g'risida fikr yuritish mumkin?
24. Shifoxonada davolanayotgan bemor siydigida transaminaza fermenti oshganligi kuzatiladi. Buni qanday izohlash va qanday kasallik haqida fikr yuritish mumkin?
25. Me'da osti bezi yallig'langan (pankreatit) bemorga trasilol berildi. Bu qanday dori, uning ta'siri qanday?
26. Bemor qon zardobida arginaza va gistidaza fermentlarining faolligi oshganligi ma'lum bo'ldi. Shifokor qanday kasallik to'g'risida fikr yuritishi kerak?

VITAMINLAR BIOKIMYOSI

VITAMINLAR VA VITAMINLI MODDALAR

Vitaminlar organizmning o'sib rivojlanishi, yashashi uchun muhim bo'lgan moddalardir. Ular asosan organizmga ovqat bilan tushadi, kimyoviy jarayonlarda, moddalar almashinuvida qatnashadi. Vitaminlar yetishmovchiligida gipovitaminoz, avitaminoz kelib chiqadi, bunday kasalliklar qadimdan ma'lum bo'lgan.

Gipovitaminozlarning asosiy sabablari: iste'mol qilinayotgan oziq-ovqatlarda vitaminlarning yetishmoqchiligi bir xil va sifatsiz ovqatlanish, ro'za davrida ovqatni chegaralash, homiladorlik, emizish davrida o'sish va hokazolarda vitaminlarga ortiq talab, vitaminning so'rilishi va o'zlashtirilishini buzuvchi har xil kasalliklar, vitaminlarni tashuvchi oqsillar sintezining buzilishi, kofermentlar hosil bo'lishining buzilishi.

Vitaminlar haddan tashqari ko'p iste'mol qilinganda organizmning intoksikatsiyasi ro'y beradi, bu gipervitaminoz deb ataladi.

Vitaminlar fizik, kimyoviy tuzilishi jihatidan ikki guruhga bo'linadi:

1. Suvda eriydigan vitaminlar: vitamin B majmuasi, vitamin C, vitamin PP va boshqalar.
2. Yog'da eriydigan vitaminlar: vitamin A, D, E, K, F.

39-jadval

59-65-ishlarning natijalarini rasmiylashtirish uchun jadval

Vitamin	Vitaminning kimyoviy tuzilishi	Koferment shakli	Reaksiya nomi

SUVDA ERIYDIGAN VITAMINLAR

59-ish. NIATSIN (VITAMIN PP, NIKOTINAT KISLOTA, NIKOTINAMID) REAKSIYASI

Niatsinning biologik funksiyasi, oksidlanish qaytarilish reaksiyalarda qatnashuvchi NAD⁺ va NADD⁺ kofermentlarning faol qismiga kirishidan iborat.

PP avitaminozida tananing simmetrik qismlarida dermatit, oshqozon-ichak va nerv tizimlarida buzilishlar kelib chiqadi.

Nikotinat kislotasi mis atsetat bilan qizdirilganda yomon eruvchi mis tuzining ko'k cho'kmasini hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: niatsin.

Reaktivlar: tiamin kukuni, 10% li sirka kislotasi, 5% li mis atsetat.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar, spirtovka.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 0,01 g nikotinat kislotasi va 20 tomchi 10% li sirka kislotasi eritmasi qo'shiladi. Qaynaguncha qizdiriladi va teng hajmda 5% li mis atsetat eritmasi qo'shiladi. Eritma asta-sekin sovitsa, nikotinat kislotasi va misli kompleks tuzning ko'k cho'kmasi tushadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

60-ish. SIANKOBALAMIN (VITAMIN B₁₂) NI ANIQLASH

Vitaminning biologik ahamiyati DNK, adrenalin, kreatin sintezi uchun metil guruhni tashish, qon yaratilishi protsesslarini, oqsil, siydikchil, fosfolipidlar sintezining boshqarilishini stimullashdan, folat kislotani aktivlashdan iborat.

Mazkur reaksiya vitamin tarkibiga kiruvchi kobaltning tiomochevina bilan o'zaro reaksiyaga kirishi, qizdirilganda yashil rangda kobalt rodanidni hosil qilish xususiyatiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: Vitamin B₁₂ ning mineralizati: probirkaga 1 ta ampuladagi vitamin V₁₂ va 3-5 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi

solinadi, uni teskari muzlatgichli probka bilan berkitiladi, biroz qiyshaytirib shtativga o'rnatiladi va so'rib oluvchi shkafga eritma rangsizlanguncha kuydiriladi. Mineralizatsiya tugagandan keyin 1 ml distillangan suv doimiy aralashtirib turilgan holda oz-ozdan qo'shiladi.

Reaktivlar: 10% li tiomochevina.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar, spirtovka, kulsiz filtr.

Bajariladigan ish tartibi. Kulsiz filtrga 2-3 tomchi 10% li tiomochevina eritmasi tomiziladi va spirtovka ustida quritiladi. So'ngra filtrga 1-2 tomchi vitamin mineralizatidan qo'shiladi va qaytadan quritiladi. Filtrda (ko'pincha dog' chekkalarida) yashil rang hosil bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

61-ish. PIRIDOKSIN (VITAMIN B₆) NI ANIQLASH

Piridoksinning aktiv formasi – fosfopiridoksamin va fosfopiridoksal – oqsillar, yog'lar va hokazolarning almashinuvini katalizlovchi katta guruh fermentlarining kofermentidir.

Vitaminning temir xlorid bilan reaksiyaga kirishishi natijasida temir fenolat tipidagi kompleks tuz paydo bo'lishi hisobiga qizil rangli birikma hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: piridoksin.

Reaktivlar: 5% li temir xloridi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkada 5 tomchi 5% li piridoksin va 1 tomchi 5% li temir xlorid eritmasi aralashtirilib, chayqatiladi. Aralashma qizil rangga kiradi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

YOG'DA ERUVCHI VITAMINLAR

62-ish. BALIQ MOYIDA RETINOL (VITAMIN A) NI ANIQLASH

Kimyoviy tuzilishi bo'yicha vitamin A – to'yinmagan bir atomli spirt. Uning biologik ta'siri jinsiy hujayralarning differentsiatsiyasini boshqarish, epitelial to'qimalar muguzlanishining oldini olish, oqsillar, nuklein kislotalar, ayrim gormonlar almashinuvida oksidlanish va boshqa jarayonlarda ishtirok etishdan iborat.

Vitamin A li baliq moyining xloroformli eritmasi bilan konsentrlangan sulfat kislotaning o'zaro reaksiyasi natijasida spetsifik rangga o'tadi. Sulfat kislotaning suvli qobig'i buzilishi natijasida vitaminning bir necha molekulasidan rangli kompleks hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: baliq moyi.

Reaktivlar: xloroform, konsentrlangan sulfat kislota.

Kerakli anjomlar: soat oynasi.

Bajariladigan ish tartibi. Quruq soat oynasida 1 tomchi baliq moyini 5 tomchi xloroform va 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislota bilan aralashtiriladi. Tezda qo'ng'ir rangga o'tuvchi qizil-binafsha rang paydo bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

63-ish. BALIQ MOYIDA XOLEKALSIFEROL (VITAMIN D) NI ANIQLASH

Vitamin D ning bir necha turlari bor, bulardan asosiysi D₂ – ergokalsiferol, D₃ – xolekalsiferol hisoblanadi. Raxitga qarshi vitaminlar, kalsiy va fosfor almashinuvini boshqarib turadi, ularning qonga so'rilishini va o'sayotgan suyaklarga o'tishini ta'minlaydi.

Bromxloroform probasi. Baliq moyi tarkibidagi vitamin D bromxloroform eritmasi reaksiyaga kirishib ko'k-yashil rang beradi.

Tekshiriluvchi material: baliq moyi.

Reaktivlar: bromning xloroformdagi eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Quruq probirkaga 2-3 tomchi baliq moyidan yoki vitamin D konsentratidan solinadi. Unga 2-4 tomchi bromning xloroformdagi (1:50) eritmasidan qo'shiladi. Natijada ko'k-yashil rang hosil bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

64-ish. TIAMIN(B₁)GA DIAZOREAKSIYASI

Ozuqa tarkibida Vitamin B₁ yetishmovchiligi nerv, yurak, qon-tomir va oshqozon-ichak trakti tizimlari shikastlanishi bilan kechadigan beriberi kasalligiga olib keladi.

Tiaminning biologik ahamiyati yaxshi o'rganilgan – timin pirofosfat shaklida 2- ketokislotalarning dikarboksidlanishi va ketolaza reaksiyalarida kofermentlik vazifasini bajaradi.

Tiamin eritmasiga diazoreaktiv va ishqor qo'shish natijasida qovoq yoki qizil rang hosil bo'ladi. Rang tiaminni diazobenzosulfo kislota bilan murakkab birikmani hosil bo'lishiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: tiamin (kukini).

Reaktivlar: sulfanil kislotaning 1% eritmasi, natriy nitritning 5% eritmasi, natriy karbonatning 10% eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkali shtativ.

Bajariladigan ish tartibi. 5 tomchi 1% li sulfanil kislotaga 5 tomchi 5% li natriy nitriti qo'shib, diazoreaktiv tayyorlanadi. Diazoreaktivga oz miqdorda tiamin kukuni va 5-7 tomchi 10% li natriy karbonati qo'shiladi. Eritma qovoq yoki qizil rangda bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

65-ish. RIBOFLAVINGA QAYTARILISH REAKSIYASI

Riboflavin oksidlanish-qaytarilish xususiyatiga ega. Riboflavin oksidofeduktazalar sinfiga taalluqli fermentlarning FAD va FMN kofermentlari tarkibiga kiradi.

Reaksiya ajralib chiqadigan monovodorod ta'sirida riboflovinni rodoflavinga (qizil rangli oraliq modda), keyinchalik rangsiz leyko shakliga qaytarilishiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: Riboflavinning 0,025% suvli eritmasi.

Reaktivlar: metallik sink granulari, konsentrlangan xlorid kislota.

Kerakli anjomlar: probirkali shtativ

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 10 tomchi riboflavin eritmasi solinadi, 5 tomchi konsentrlangan xlorid kislota va bir granula metallik sink qo'shiladi. Reaksiya natijasida ajralib chiqqan vodorod riboflavin bilan ta'sirlashadi: eritma pushti rangga bo'yalib, keyinchalik rangsizlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar 39-jadvalga to'ldiriladi.

SUT BIOKIMYOSI

SUTNING AYRIM BIOKIMYOVIIY KO'RSATKICHLARI

Sutning ajralib chiqishi laktatsiya deb nomlanadi.

Laktatsiya ko'pgina omillarga: ona sog'ligining holati, kun tartibi, uning mehnati va dam olishining shart-sharoitlariga bog'liqdir. Laktatsiyaning miqdoriga va sut tarkibining sifatli bo'lishiga onaning homiladorlik vaqtidagi va emizish davridagi ovqatlanishi katta ta'sir ko'rsatadi. Emizuvchi onaning ovqatlanishi turli-tuman bo'lishi kerak, tarkibida to'la qimmatli oqsillar, yog'lar, fermentlar, gormonlar, mineral tuzlar, mikroelementlar, vitaminlar bo'lishi kerak. Ayniqsa, ona organizmiga oqsilning yetarli miqdorda kirishi katta ahamiyatga ega, chunki u sut oqsilining sintezi, shuningdek fermentlar, gormonlar, immun tanachalar hosil bo'lishining manbai bo'lib hisoblanadi.

Bola tug'ilgandan so'ng dastlabki 2-3 kun ichida onaning sut bezi sarg'imir rangli suyuqlik – og'iz suti ajratadi.

Og'iz sutida yetilgan sutga nisbatan laktoza, yog'lar, suvda eruvchi vitaminlar kamroq, lekin oqsil, mineral moddalar ko'proq bo'ladi. Og'iz sutida oqsillar miqdori 20% bo'lsa, sut tarkibida esa faqat 4% ni tashkil qiladi. Oqsillarning asosiy qismini immunoglobulinlar tashkil qiladi. Ular yangi tug'ilgan chaqaloqlarning yetilmagan ichak yuzasini qoplab, himoya qatlamini hosil qilib, uni bakteriya, virus, parazit va boshqa patogenlar ta'siridan himoya qiladi.

Laktatsiyaning 4-7 kunlarida oraliq sut, 2-4 haftadan boshlab yetilgan sut ishlab chiqariladi.

Ona suti bola uchun bebaho ozuqa. Ona suti suyuq, yengil hazm bo'ladigan va kalloriyasi yetarli, turli mikroblardan xoli, pishirishni va isitishni talab qilmaydigan tayyor oziqdir. Yangi tug'ilgan chaqaloq organizmi fiziologik jihatdan to'la yetilmagan, hazm qilish va moddalar almashinuvi yaxshi takomillashmagan bo'lgani uchun, unga faqat ona suti mos keladi. Ona sutida 100 dan ortiq turli oziq moddalar

bo'ladi, bu sut faqat miqdor jihatidan bola ehtiyojini qoplamay, sifat jihatidan ham bolaning yoshiga, sog'lig'iga mos keladi. U o'z tarkibida hamma kerakli oziq moddalar – oqsillar, yog'lar, uglevodlar, vitaminlar, tuzlar va mikroelementlarni tez o'suvchi bola organizmining ehtiyojini to'la qondira oladigan miqdorda saqlaydi, ular yengil hazm bo'ladigan nisbatda, tarkibi bola to'qimasiga yaqin bo'ladi. Shu jihatlari bilan sigir sutidan tubdan farq qiladi.

Sut tarkibidagi oziq moddalarning sifati va miqdori bilan o'sayotgan organizmni to'la qondira olishiga hamda tarkibida turli xil biologik aktiv va himoya faktorlarning bo'lishiga qaramasdan, ona suti bilan boqilayotgan bolalarning orasida vazni yetishmayotgan va yomon rivojlanayotgan bolalar uchraydi. Bunday hollarda vrach-pediatr bola ovqat bilan qabul qilayotgan asosiy oziq moddalarni (oqsil, yog', uglevodlarni) hisoblab, uni qabul qilishi kerak bo'lgan oziq moddalar bilan taqqoslaydi. Ona suti o'zgaruvchan bo'lib, bir qator ekzo va endogen faktorlarga bog'liq. Bu esa ona sutining tarkibidagi asosiy oziq moddalarni aniqlash uchun tekshirish zarurligini talab qiladi, chunki bolaga kundalik beriladigan ovqat tarkibiga ona suti ham kiradi.

Sut tarkibidagi oqsil, yog', uglevodlarni aniqlash usullari ma'lum, bunda oqsil albuminometr yoki K'eldal metodi bo'yicha aniqlanadi. Yog' – butirometrlash yoki sentrifugalash bilan, uglevodlar – Benedik eritmasi bilan titrlanib aniqlanadi. Bu usullarning kamchiligi shundaki, ular yuqori spetsifik va aniq emas, shu bilan birga ko'p mehnat talab qiladi va ko'p miqdorda sut kerak bo'ladi.

Sut tarkibidagi oqsilni aniqlashning Biuret metodi ham bor.

Bunda sutga Biuret reaktivi qo'shiladi va hosil bo'lgan rangli eritmani koloritrik usuli yordamida o'lchanadi. Ammo reaksiyaning bunday borishida Biuret reaktivi bilan nafaqat oqsil, balki sut tarkibidagi ko'p miqdorda yog' kislotalari ham ta'sirlashadi, tekshirish natijalari ortib ketadi. Sutdagi oqsil, yog', uglevodlarni aniqlashning qulay usuli mavjud bo'lib, bunda yuqori spetsifik reaksiyalardan foydalaniladi va bu usulni har bir davolash-profilaktika muassasalarida amalga oshirsa bo'ladi. Tekshirish uchun kerak bo'ladigan ona sutining oz hajmini ham tekshirishni bolaga shikast yetkazmagan holda ko'p marta amalga oshirish imkonini beradi. Bu esa laktatsiyaga kirishayotgan paytda va gipolaktatsiyada muhim ahamiyatga ega.

66-ish. SUT TARKIBIDA OQSILNI ANIQLASH

Tekshiriluvchi material: sut.

Reaktivlar: Folch eritmasi, Biuret reaktivi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, pipetkalar, FEK, sentrifuga.

Bajariladigan ish tartibi. 4,5 ml Folch eritmasi bo'lgan probirkaga 0,05 ml ona suti solinadi. 300 ob/min tezlikda 5 daqiqa davomida sentrifugalanadi va supernatant to'kib yuboriladi. Hosil bo'lgan cho'kmaga 1 ml Biuret reaktivi qo'shiladi, yaxshilab aralashtiriladi va reaksiyaning amalga oshishi uchun xona haroratida 30 daqiqaga qoldiriladi. Namuna Biuret reaktiviga qarshi fotoelektrokolorimetrdagi yashil nur filtr bilan fotometrlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Sutning tekshirilayotgan namunasidagi oqsillarning miqdorini hisoblash uchun kolibrash grafiklaridan foydalaniladi. U etalon eritmasida ko'rsatilgan moddalarni yuqoridagi usullar bilan aniqlash asosida tuzilgan.

67-ish. SUT TARKIBIDA YOG'NI ANIQLASH

Tekshiriluvchi material: sut.

Reaktivlar: Konsentrlangan sulfat kislota (Saval), fosfovanilin reaktivi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, pipetkalar, FEK.

Bajariladigan ish tartibi. Ichida 4 ml Savalga binoan konsentrlangan sulfat kislota bo'lgan probirkaga 0,01 ml sut solinadi. Yaxshilab aralashtirilib, 20 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi, keyin vodoprovod suvi bilan sovitiladi. Hosil bo'lgan gidrolizatsidan 0,2 ml olib, yog'sizlantirilgan quruq probirkaga solinadi, unga 2 ml fosfovanilin reaktivi qo'shilib, 1 soatga qoldiriladi. Tekshiriladigan namunani kontrol namunaga qarshi yashil svetofiltrda kalorimetrlanadi, kontrol namunani xuddi tajriba namunasiga o'xshab tayyorlanadi, lekin 0,01 ml sut o'rniga 0,01 ml distillangan suv olinadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Sutning tekshirilayotgan namunasidagi yog'larning miqdorini hisoblash uchun kolibrash grafiklaridan foydalaniladi. U etalon eritmasida ko'rsatilgan moddalarni yuqoridagi usullar bilan aniqlash asosida tuzilgan.

68-ish. SUT TARKIBIDA UGLEVODNI ANIQLASH

Tekshiriluvchi material: sut.

Reaktivlar: distillangan suv, antron reaktivi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, pipetkalar, FEK, suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 0,1 ml distillangan suv bo'lgan probirkaga 0,01 ml sut quyiladi va yaxshilab aralashtiriladi. Suyultirilgan sutdan 0,2 ml olinib, boshqa probirkaga solinadi va 2,3 antron reaktivi quyilib aralashtiriladi, 15 daqiqaga qaynagan suv hammomiga qo'yiladi. Keyin vodoprovod suvida sovitiladi. Hosil bo'lgan tajriba namunasi kontrol namunasiga qarshi qizil nur filtrda kolorimetrlanadi. Kontrol namunasini tayyorlash uchun 0,2 ml distillangan suvga 2,3 ml antron reaktivi solinib, tajriba namunasiga o'xshab isitilib, sovitiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Sutning tekshirilayotgan namunasidagi uglevodlarning miqdorini hisoblash uchun kolibrash grafiklaridan foydalaniladi. U etalon eritmasida ko'rsatilgan moddalarni yuqoridagi usullar bilan aniqlash asosida tuzilgan.

69-ish. SUTNING SOLISHTIRMA ZICHLIGINI ANIQLASH

Tekshiriluvchi material: sut.

Kerakli anjomlar: Areometr.

Bajariladigan ish tartibi. Analiz uchun sutning ma'lum miqdori silindrga quyiladi va ustiga areometr solinadi. Areometrning cho'kish darajasiga qarab sutning solishtirma zichligi aniqlanadi. Normada:

Ayollar sutining zichligi – 1,026;

Sigir sutining zichligi – 1,028.

70-ish. SUTNING KISLOTALILIGINI TITRLASH USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asoslanishi. Sutning titratsion kislotaliligi fenolftalein yordamida 100 ml sutni titrlash uchun ishlatilgan 0,1N natriy ishqorining miqdori hisoblanadi.

Tekshiriluvchi material: sut.

Reaktivlar: fenoltalein, 0,1N NaOH.

Kerakli anjomlar: kolbalar, mikroburetk.

Bajariladigan ish tartibi. 2 ta kolbaga 10 ml dan sut quyiladi. So'ngra har biriga 2-3 tomchidan fenoltalein eritmasi solinadi. Kolbalardan bittasini olib, undagi eritma och pushti rangga kirguncha 0,1N NaOH bilan mikroburetkada titrlanadi. Bu rangning hosil bo'lishini kuzatishda 2-kolbadagi sut rangi bilan solishtiriladi.

Natija quyidagi proporsiya bilan hisoblanadi:

a-10 ml, x – 100 ml, $x = (a \times 100) / 10$

Bu yerda: a – titrlash uchun ketgan NaOH miqdori (ml),

x – titratsion kislotalik.

Ayollar sutining kislotaliligi – 5-9 titratsion birlik;

Sigir sutining kislotaliligi – 17-18 titratsion birlik.

MODDA VA ENERGIYA ALMASHINUVI, MODDALAR ALMASHINUVINING UMUMIY YO'LLARI

Modda va energiya almashinuvi tirik organizmning yashashi, o'zidan ko'payishi, saqlanishi va faoliyati uchun yo'naltirilgan qonuniy jarayondir. Tirik organizm uni o'rab turgan tashqi muhit bilan chambarchas bog'liqdir. Tashqi muhitdan olingan ozuqa mahsulotlar – oqsillar, yog'lar, karbonsuvlar, mineral tuzlar organizmda kislorod ishtirokida oraliq va oxirgi mahsulotlargacha parchalanib energiya hosil qiladi. Bunday kimyoviy jarayon katabolizm yoki dissimilatsiya deb nomlanadi. Bir vaqtda parchalanish mahsulotlari va energiya organizm (organ, hujayra) uchun kerak bo'lgan o'ziga xos murakkab organik moddalarning sintezlanishi uchun ishlatiladi. Bu jarayon anabolizm yoki assimilatsiya deb nomlanadi. Katabolizm va anabolizm jarayonlari bir-biri bilan chambarchas bog'langan jarayonlardir. Ularning yig'indisi metabolizm yoki moddalar almashinuvi deb yuritiladi.

Katabolizm jarayoni va energiya ajralishi bosqichma-bosqich amalga oshiriladi.

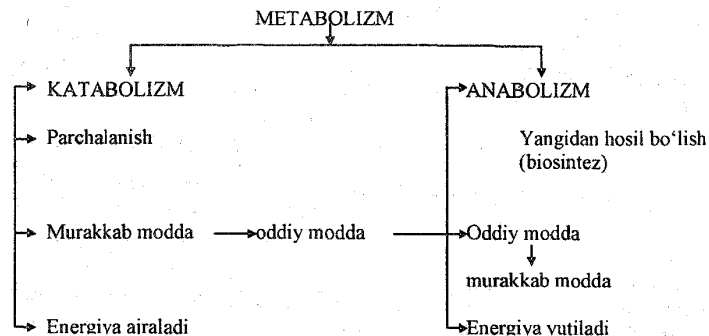
Birinchi bosqichda iste'mol qilingan oqsillar, karbonsuvlar, yog'lar me'da-ichak sistemasida maxsus fermentlar ta'sirida tegishli aminokislotalar, geksozalar, glitserin va yog' kislotalarigacha parchalanib, so'riladi. Ushbu oddiy moddalar to'qima hujayralariga yetkaziladi.

Ikkinchi bosqichda hujayra sitoplazmasida aminokislotalar, monosaxaridlar, glitserin va yog' kislotalar o'ziga xos yo'l bilan maxsus fermentlar ishtirokida yanada kichik molekulalarga parchalanadi (piruvat, α -ketoglutarat, oksaloatsetatlar hosil bo'ladi).

Uchinchi bosqich mitoxondriyada boradi. Bunga piruvatdan va yog' kislotalardan maxsus yo'llar bilan fermentlar ta'sirida bir xil mahsulot – atsetil-KoA (sirka kislotaning faol shakli) $CH_3 - CO - S$

– KoA hosil bo‘ladi. Bu mahsulot mitoxondriya matrikchida fermentlar ishtirokida oksidlanib, tegishli substratlarni hosil qiladi. Bu jarayonda 3-karbon kislota (limon kislota) hosil bo‘ladi. Shuning uchun bu yo‘l 3-karbon kislota yoki Krebs xalqasi nomi bilan ataladi. Bu xalqada: izotsitrat, α -ketoglutarat, malat, suksinatlar hosil bo‘ladi. Ushbu substratlardan NAD ga yoki FADga bog‘liq dehidrogenazalar vodorodni olib, mitoxondriyaning ichki membranasiga uzatadi. Ichki membranada vodorod elektronlari to‘qima nafas olish zanjiri fermentlar yordamida ketma-ket (NAD-FAD-KoQ-sitoxromlar orqali) kislorodga uzatiladi. Natijada ichki suv hosil bo‘ladi. Bu yo‘l elektronlarni o‘tkazish zanjiri deyiladi. Ushbu yo‘l NAD kofermentidan boshlanib FAD, sitoxromlardan kislorodgacha, ya‘ni suv hosil bo‘lguncha davom etsa, uzun yo‘l deyiladi. FAD dan kislorodgacha bosib o‘tilgan yo‘l qisqartirilgan yo‘l deyiladi. Boshqa substratlar – askorbin kislota, glutatsion va hokazodan elektronlar, sitoxrom orqali kislorodgacha uzatiladigan yo‘l qo‘shimcha yo‘l deyiladi. Elektronlarni o‘tkazish zanjirida redoks potentsiallarni 0,16V dan ortiqroq o‘zgarishi ADF dan ATF hosil bo‘lishiga olib keladi. Uzaytirilgan yo‘lda 3 ta ATF, qisqartirilgan yo‘lda 2 ta ATF va qo‘shimcha yo‘lda 1 ta ATF hosil bo‘lishiga olib keladi. Shunday qilib, Krebs xalqasida hosil bo‘lgan izotsitratdan 3 ATF, olma kislota – malatdan 3-ATF, ketoglutaratdan 3 ATF va suksinatdan 2 ATF hosil bo‘lishiga imkon yaratiladi. Demak, Krebs xalqasida bir molekula faollashgan sirka kislotaning oksidlanishi natijasida 12 ATF hosil bo‘ladi. Krebs xalqasida suv, CO_2 , ya‘ni oxirgi mahsulotlar hosil bo‘ladi. Parchalanish jarayonining birinchi bosqichida 0,6-1,0% energiya ajraladi. Ammo bu energiya so‘rilish jarayonlari uchun sarflanadi. Ikkinchi bosqichda 30% energiya ajraladi. Uchinchi bosqichda esa 60-70% energiya ajraladi. Ajralgan energiyaning 60% i issiqlik shaklida tarqaladi. 40-50% i esa ATF molekulasiga bog‘lanadi. Shu energiya hisobiga hujayralarning ishlashi va ATF-ADF-xalqa faolligi amalga oshiriladi. Parchalanish jarayonida hosil bo‘lgan aminokislotalar, monosaxaridlar, glitserin va yog‘ kislotalar organizmga xos bo‘lgan murakkab moddalarni sintezlash uchun ishlatiladi. Har qanday anabolizm jarayoni energiya sarflanishi bilan amalga oshiriladi.

Katabolizm va anabolizm jarayonlarining o‘ziga xosligi



Sog‘lom, katta yoshdagi odamlarda katabolizm va anabolizm jarayonlari bir-biriga teng bo‘ladi.

Uzoq muddat och qolish, to‘yib ovqat yemaslik, harorat ko‘tarilishi va titrash holatlarida katabolizm anabolizmdan ustun keladi. Bu holda organizm o‘zining zaxira energiyasini sarflaydi va natijada odam keskin ozib ketadi, hatto o‘lim yuz berishi mumkin. Kasallikdan tuzalish, homiladorlik, emizish va bolaning o‘sish davrlarida aksincha, anabolizm katabolizmdan ustunlik qiladi. Ammo bu ustunlik haddan tashqari yuqori bo‘lsa, u odamni ortiqcha semirishga, gigantizmga, ya‘ni kasallikka olib kelishi mumkin. Shuning uchun modda va energiya almashinuvi qonunlarini bilish va uni boshqarish yo‘llarini o‘rganish amaliy va nazariy jihatdan katta ahamiyatga ega.

Bo‘limning maqsadi:

1. Suksinatdehidrogenaza va sitoxromoksidaza fermentlari faolligini aniqlash yo‘li bilan ularning hujayralarda joylashishi va elektron tashish zanjiridagi molekular mexanizmlarni tushunish va olingan bilimlarni yanada mustahkamlash.
2. Adenozin trifosfatning tuzilishini, sintezlanishini va organizmda asosiy makroergik birikma ekanligini o‘rganib, uning tarkibidagi yengil bog‘langan fosfatni aniqlash.
3. ATF-aza fermenti faolligini aniqlash, uning amaliy ahamiyatini o‘rganish.
4. Kreatinkinaza fermentining faolligini aniqlash va uning amaliy ahamiyatini bilish, shifoxonalarda qo‘llash.

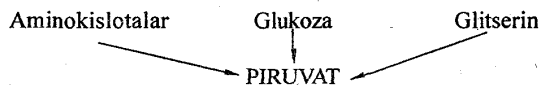
5. Qon tarkibidagi katalaza fermenti faolligini aniqlash va uning amaliy ahamiyatini bilish va shifoxonalarda qo'llash.

6. Qon zardobi va siydik tarkibidagi almashinuv jarayonining oraliq mahsuloti hisoblangan piruvatni aniqlash, uning ahamiyatini o'rganish va undan foydalanish.

71-ish. QON ZARDOBI VA SIYDIK TARKIBIDAGI PIROUZUM KISLOTA MIQDORINI ANIQLASH

Murakkab moddalar me'da va ichaklarda fermentlar ta'sirida parchalanganda aminokislotalar, monosaxaridlar, glitserin va yog' kislotalar hosil bo'ladi. Ular to'qima hujayralariga tushgandan so'ng hujayra sitoplazmasida o'ziga xos yo'llar bilan fermentlar ta'sirida parchalanishni davom ettiradi.

Ayrim aminokislota (alanin, serin va h.k.) lardan va glukozaning parchalanishidan oraliq mahsulot – pirouzum kislota hosil bo'ladi.



Pirouzum kislolaning navbatdagi oksidlanishi hujayralardagi ATF/ADF miqdoriga bog'liq bo'ladi. ATF miqdorining kamayishi, ADFning ortishi piruvatdegidrogenaza kompleksi faolligining amalga oshishiga olib keladi. Bu jarayon kislorod bo'lishini talab qiladi. Kislorod yetishmovchiligida esa piruvat sut kislotagacha oksidlanadi (anaerob oksidlanish). Aerob sharoitda piruvatdegidrogenaza, atsetiltransferaza va degidrolipoatdegidrogenaza fermentlari hamda (TPF) tiaminpirofosfat, oksidlangan lipoat, KoA, NAD, FAD kofermentlari qatnashadi. Piruvatdegidrogenaza kompleksining mol massasi 7-10 mln. bo'lib, uning tarkibiga 30 molekulagacha birinchi ferment, ikkinchi ferment va 10 molekulagacha 3-ferment kiradi. Piruvatning oksidlanishi ketma-ket, bosqichma-bosqich amalga oshiriladi va reaksiya mahsuloti – CH₃CO – S – KoA hosil bo'ladi. Pirouzum kislolaning oksidlanishida qatnashadigan kofermentlar tarkibiga B₁, B₂, PP, pantoten va lipoat vitaminlari kiradi. Shu vitaminlar yetishmovchiligida, qandli diabet kasalligida, yurak faoliyati susayganda, gipofizar-adrenal sistema faolligi ortganda va ayrim

dorilar ta'sirida (kamfora, strixnin, adrenal narkotik moddalar) qon zardobi va siydik tarkibida pirouzum kislota miqdori ortadi yoki kamayadi.

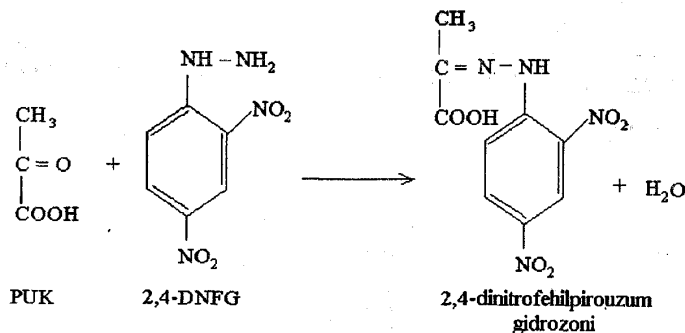
Pirouzumdegidrogenaza kompleksi mitoxondriyada joylashadi, shuning uchun piruvat mitoxondriya matricsida oksidlanadi. Pirouzum karboksillanib, oksaloatsetatga aylanadi. Oksaloatsetat Krebs xalqasida sirka kislolaning faol turining sitratga aylanishida asosiy substrat hisoblanadi. U yetishmaganda Krebs xalqasining faolligi susayadi va degidrat substratlari hosil bo'lmayligiga va ATF yetishmasligiga sabab bo'ladi. Shuning uchun pirouzum kislota miqdorini aniqlash amaliy ahamiyatga ega. Kichik yoshdagi bolalar organizmida pirouzumning anaerob yo'l bilan sut kislotagacha oksidlanishi ustun turadi. Bola o'sishi bilan bu ustunlik ham kamayib boradi.

Sog'lom odam qonida pirouzum kislota miqdori 0,4 dan 1,2 mg/dl da (0,05-0,14 mmol/l), siydikda esa 10 dan 25 mg gacha sutkalik diurezda bo'ladi.

Qandli diabetda jigarning parenximatov kasalliklarida, yurak xastaliklarida, jismoniy zo'riqishlarda va vitamin B₁ yetishmovchiligida qonda piruvat miqdori 3-4 barobar oshadi. Piruvatning ko'payishi organizmga toksik ta'sir ko'rsatadi.

Usulning asoslanishi. Piruvat 2,4-dinitrofenilgidrozini bilan ishqoriy shiroitda qizil-qo'ng'ir rangli 2,4 dinitrofenilgidrozinni hosil qiladi. Rangning zichligi pirouzum kislota miqdoriga to'g'ri keladi. Rangning zichligi fotoelektrokolorimetrdan o'lchanadi.

Kimyoviy tenglama quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: qon zardobi, siydik.

Reaktivlar: 2,4-dinitrofenilgidrozinning 1% li eritmasi, xlorid kislotaning konsentrlangan eritmasi, kaliy gidroksidning spirtidagi 2,5% li eritmasi, toluol, pirouzum kislotaning doimiy (standart) eritmasi (6,25 mg piruvat 100 ml distillangan suvda eritiladi).

Kerakli anjomlar: Probirka va shtativlar, 10 ml li silindr, 1,2 ml li o'lchov pipetkalar, termostat, suv hammomi, FEK va 1 sm kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. To'rtta probirka olinadi. Uning birinchisiga 1 ml siydik (tekshiriluvchi tajriba) va uchinchi, to'rtinchi probirkalarga 1 ml dan distillangan suv solinadi. DNFG ning 1% li eritmasidan solib aralashiriladi.

2. Bir oz vaqt o'tgach, probirkalarga 3 ml toluol solinadi, ular zarli berkitgichlar bilan yopilib, 3 daqiqa chayqatiladi va yana 2-3 daqiqaga qoldiriladi. Suyuqliklar ikki qavatga ajraladi. Uning yuqorisidagi toluol qavati asta-sekin so'rib olinadi.

3. Suyuqliklarning pastki qavati boshqa quruq probirkaga o'tkaziladi va ustiga kaliy gidroksid eritmasidan 2 ml solinadi.

10 daqiqa o'tgach, rivojlangan rang zichligi FEK ning 4-nur filtri qarshisida o'lchanadi.

Pirouzum kislotaning miqdorini hisoblash. Pirouzum kislota miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi. Topilgan miqdor bir sutkada ajratilgan siydik miqdori (1200-1500 ml) ga ko'paytiriladi. Qon zardobi tarkibidagi pirouzum kislota miqdori esa 1000 ml qon zardobi uchun hisoblanadi. O'lchov egri chizig'idan topilgan miqdor 1000 ga ko'paytiriladi.

x-a. 3.1500. Bunda a – mkg da o'lchangan pirouzum kislota miqdori, 3 – suyultirish darajasi, 100 bir sutkalik siydik miqdori.

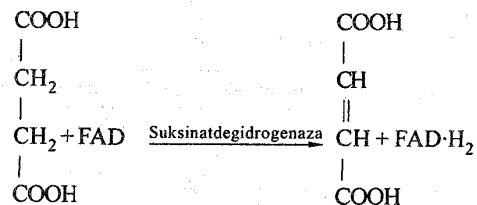
Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosini, pirouzum kislotaning qon zardobi va siydik tarkibidagi o'rtacha miqdorini, olingan natijani yozib solishtiring. Pirouzum kislota miqdori qaysi kasalliklarda o'zgarishini aytning.

72-ish. MUSHAK SUKSINATDEGIDROGENAZA FAOLLIGINI ANIQLASH

Biologik oksidlanish jarayonida tabiati jihatidan uch xil ferment ishtirok etadi. Bularga NAD va FAD ga bog'liq bo'lgan degidrogenaza fermentlari va gem tutuvchi fermentlar – sitoxromlar kiradi.

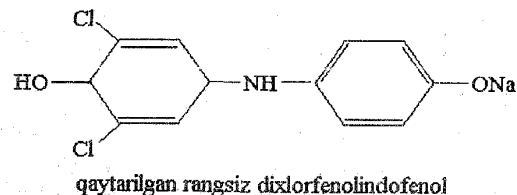
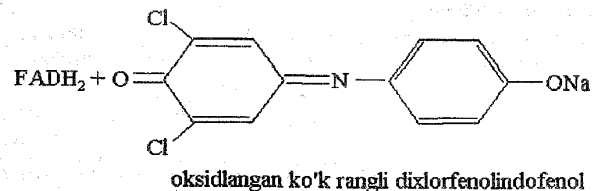
Suksinatdegidrogenaza (SDG) – temir flavoproteid fermentlar turkumiga kirib, hujayra mitoxondriyasida joylashadi.

Usulning asoslanishi. Suksinatdegidrogenaza fermenti FAD kofermentiga bog'liq. FAD suksinatni oksidlab (uning vodorodini o'ziga tortib oladi), o'zi qaytariladi. Qaytarilgan FADH₂ boshqa oksidlangan akseptorga dixlorfenolindofenolga vodorod elektronlarini uzatadi. Ko'k rangdagi oksidlangan dixlorfenolindofenol qaytarilganda rangsizlanadi va mushak tarkibidagi SDG faolligini tasdiqlab beradi.



Qahrabo kislota

Fumarat kislota qaytarilgan FAD



Tekshiriluvchi material: muskul to'qimasi qiymasi.

Reaktivlar: Qahrabo kislotaning 1% li eritmasi, dixlorfenolindofenolning 0,1% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, voronkalar, shisha tayoqchalar, chinni hovoncha, doka filtrlar, suv hammomi yoki termostat.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Fermentni ajratish. 1-2 g yangi mushak to'qimasi qaychi yordamida maydalanadi va chinni hovonchada suv bilan eziladi. Hosil bo'lgan mushak qiymasi ikki qavatli doka orqali voronkadan o'tkaziladi. Qiyma 25 ml suvda yuvilgan mushak qiymasi toza probirkaga olinadi va ustiga 4 ml suv solib shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi. Probirkadagi aralashma uch qismga bo'linadi. Birinchi probirkadagi mushak fermentining faolligi qaynatish yo'li bilan yo'qotiladi (noaktivlanadi).

2. Ferment faolligini aniqlash. Quyidagi jadvalga binoan reaksiyon aralashma tayyorlanadi.

40-jadval

Probirkalar	Suksinat, ml	Distillangan suv, ml	Dixlorfenolindofenol
1	1,0	0,5	2 tomchi
2	1,0	0,5	2 tomchi
3	—	1,5	2 tomchi

Probirkadagi suyuqlik aralashtirilib, 15 daqiqa 37°C li termostat yoki suv hammomida ushlanadi. Dixlorfenolindofenolning rangsizlanishini kuzatamiz.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar quyidagi jadvalga binoan rasmiylashtiriladi. Ferment faolligini aniqlash reaksiyasini asoslab bering.

41-jadval

Fermentning nomi.	Kofermenti	Elektron beruvchi (donor)		Elektron oluvchi (akseptor)		Reaksiya natijasi
		To'qimada	Tajribada	To'qimada	Tajribada	

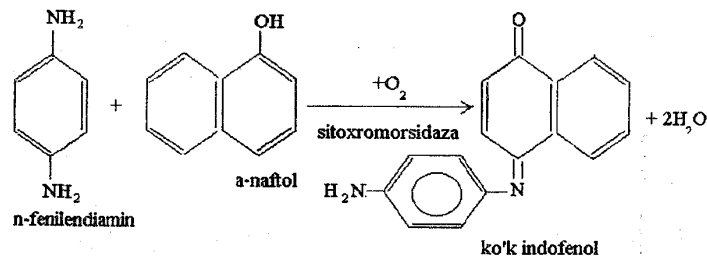
**73-ish. MUSHAK TARKIBIDAGI
SITOXROMOKSIDAZA FERMENTINI (SXO)
ANIQLASH**

Sitoxromoksidaza fermenti to'qima nafas olish zanjirida, elektronlarni kislorodga o'tkazish jarayonida ishtirok etadi. Ushbu jarayonning mahsuloti sifatida ichki suv hosil bo'ladi. SXO tabiati

jihatan mis, temir tutuvchi oqsillardir (metalloproteid). Ferment mitoxondriya bilan mustahkam bog'langan.

Usulning asoslanishi. Sitoxromoksidaza fermenti ishtirokida fenilendiamin, a-naftol va kislorod bilan, oksidlangan indofenol ko'k birikmasini hosil qilishdan iborat.

Reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: mushak qiymasi.

Reaktivlar: n-fenilendiaminning 1% li eritmasi, a-naftolning 1% li spirtidagi eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar va shtativlar, chinni hovonchalar, qog'oz filtrlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Mushakdan fermentni ajratish. 0.3-0.5 g yangi mushak 1:20 nisbatda distillangan suv bilan chinni hovonchada eziladi. Qiyma filtr qog'oz varaqlari orasiga solib suvdan ajratiladi.

2. Yuvilgan va tozalangan mushak qiymasi ikki qismga ajratiladi. Uning bir qismi filtr qog'ozga, ikkinchi qismi 1 ml distillangan suv solingan probirkaga solib qaynatiladi. Suyuqlik sovutildandan so'ng suvi asta-sekin to'kib tashlanadi. Probirka tubida qolgan shisha tayoqcha bilan filtr qog'ozga olinadi.

3. Filtr qog'oz ustidagi har ikkala mushak qiymasiga 1-2 tomchi «Nadi» indofenol reaktivi tomiziladi. 5-10 daqiqa o'tgach, mushak qiymasining biri ko'kimir-binafsha rangga bo'yaladi. Ushbu rang sitoxromoksidaza fermentining n-fenilendiamin va a-naftolni oksidlangan idofenol birikmasini hosil bo'lish reaksiyasini tezlatganini isbotlaydi. Qaynatilgan mushak qiymasida ferment faolligi to'xtatilgan. Shu bois mushakning bu qismida reaksiya sodir bo'lmaydi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar oldingi ishda berilgan jadvalga muvofiq rasmiylashtiriladi.

**74-ish. YURAK MUSHAKLARIDAN AJRATILGAN
OKSIDLANGAN VA QAYTARILGAN SITOXROM S
SPEKTRLARINI ANIQLASH**

Elektronlarning o'tkazish zanjirida 5 turdagi sitoxrom ishtirok etadi (B, C, C₁, A va A₃). Ular temir tutuvchi oqsillar bo'lgani uchun nur yutishiga ko'ra aniqlanadi. Qaytarilgan sitoxrom S sarg'ish-yashil nur uzunligida (550 nm) aniqlanadi. Oksidlangan sitoxrom esa bu uzunlikda bo'lmaydi.

Tekshiriluvchi material: yurak mushagidan ajratilgan sitoxrom S.

Reaktivlar: geksatsianoferrat (II) kaliyning 0,1 mol/l eritmasi, natriy gidrosulfat tuzi (quruq kukuni).

Kerakli anjomlar: 0,6-0,8 sm diametrlil probirkalar, spektroskop.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Bir ml sitoxrom solingan probirkaga eritmadagi barcha ferment molekularini oksidlash uchun 0,01 mol/l kaliy (III) geksatsianoferrat eritmasidan 0,3 ml solinadi. Eritmaning spektri spektroskop yordamida aniqlanadi. Spekrtning sarg'ish-yashil qismida nur yutilishi kuzatilmaydi.

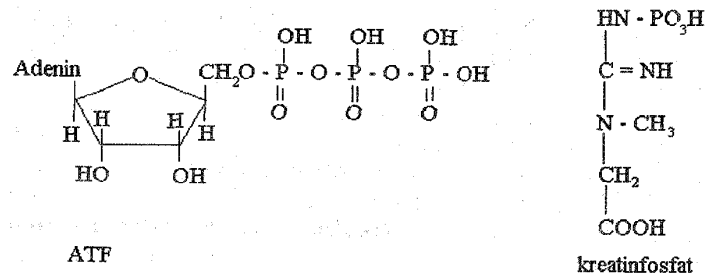
2. Xuddi shu probirkadagi eritmaga bir necha dona natriy gidrosulfat kukuni solinadi. Sitoxrom S qaytariladi. Spektroskopda ikkita nur yutish yo'li ko'rinadi. Ularning biri sarg'ish-yashil (540 nm) qismida, ikkinchisi – yashil qismida (520 nm).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini va sitoxrom S ning oksidlangan va qaytarilgan shakllarini, nur yutgan qismini daftaringizga chizing.

**75-ish. MUSHAKDAGI MAKROERGİK
BIRIKMALARNING MIQDORI (ATF VA
KREATINFOSFAT)NI ANIQLASH**

Mushak to'qimalarida ikki xil makroergik birikma uchraydi. Ular ATF va kreatinfosfatdir. Ular muskullarning qisqarishi uchun kerak darajadagi energiya bilan ta'minlaydi.

ATF hosil bo'lishining asosiy yo'li to'qimalarning nafas olish jarayonida bo'ladigan oksidlovchi fosforlanishidir. Kreatinfosfat esa ATF ishtirokida hosil bo'lib, tinch holatda qo'shimcha makroergik (energiya tutuvchi) manba va mushaklar faoliyati oshganda ADF dan ATF hosil bo'lishini tezlatuvchi omildir.



Usulning asoslanishi. ATF va kreatinfosfat tarkibidagi fosfor qoldig'i kislotali gidrolizlanganda oson ajraladi. Nazorat tajribada (gidrolizgacha bo'lgan) fosfor miqdori va gidrolizat so'ng aniqlangan fosfor (tekshiriluvchi tajriba) miqdorini solishtirish yo'li bilan kuchsiz bog'langan fosfor miqdorini o'lchash mumkin. Ajralgan fosfor miqdori ammoniy molibdatning askorbin kislota ishtirokida bergan rangli reaksiyasi asosida aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: yangi olingan mushak to'qimasi.

Reaktivlar: uchxlorsirka kislotalaning (UXSK) 2,5 li eritmasi, xlorid kislotalaning 1 mol/l eritmasi, natriy gidroksidning 1 mol/l eritmasi, ammoniy molibdatning 1% li eritmasi, askorbin kislotalaning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, voronkalar, filtr qog'oz, 10 ml li o'lchov probirkasi yoki silindr, muz yoki suv hammomi, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. 0,5 g mushak qiymasi solingan probirka muz hammomiga qo'yiladi, ustiga sovutilgan UXSK eritmasidan 5 ml solinadi. Probirkadagi suyuqlik shisha tayoqcha bilan ATF ni ajratib olish uchun aralashtiriladi. Bunday usul bilan kreatinfosfat ham ajraladi. Suyuqlik 5 daqiqa davomida aralashtiriladi. Olingan aralashma muzga joylashtirilgan probirkada filtrlanadi.

Qolgan mushak qiymasiga yana 5 ml distillangan suv solib, past haroratda 5 daqiqa davomida makroergik birikmalarni ajratish davom ettiriladi. Olingan ekstrakt suyuqlik hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi.

2. Ikkita probirkaga oqsilsiz filtratdan 0,5 ml solinadi. Uning biri nazorat tajriba, ikkinchisi tekshiriluvchi tajribadir.

Tekshiriluvchi probirkaga vodorod xloridning 1 mol/l eritmasidan 1 ml solib, usti zar qog'oz bilan berkitiladi va fosfor bog'larini uzish

maqsadida qaynab turgan suv hammomida 10 daqiqa qizdiriladi. Suyuqlik sovutilgandan so'ng natriy gidroksidning 1 mol/l eritmasidan 1 ml solinadi. Nazorat probirkasiga esa suyuqlikni qaynatmay turib, vodorod xlorid va natriy gidroksid eritmalaridan 1 ml dan solinadi.

Tekshiriluvchi va nazorat probirkalariga suyuqliklarning hajmi 10 ml ga yetguncha distillangan suv solinadi (7,5 ml).

3. Keyingi ishlar tekshiriluvchi va nazorat tajribalar uchun bir vaqtda olib boriladi. Ikkala probirkadan 5 ml dan suyuqlik olib, boshqa probirkalarga solinadi. Ularning har biriga ammoniy molibdat eritmasidan 0,5 ml, askorbin kislotadan 0,5 ml va 2 ml distillangan suv solinadi. Suyuqliklar aralashtirilib, 10 daqiqaga uy haroratida qoldiriladi.

4. Nazorat va tekshiriluvchi suyuqliklar FEK ning qizil nur filtrida (670 nm to'liq uzunligida) ko'riladi. Tekshiriluvchi probirkada aniqlanayotgan anorganik fosfat (gidrolizdan keyin) bo'sh bog'langan fosfat kislotaga va fosfat tuzlarining yig'indisi hisoblanib, nazorat tuzlaridan iboratdir.

5. Tekshiriluvchi suyuqlik uchun topilgan optik zichlik ko'rsatkichidan nazorat uchun topilgan optik zichlik ko'rsatkichi ayriladi. Bo'sh bog'langan anorganik fosfatning tekshiriluvchi tajriba uchun olingan miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi.

Hisoblash: Bo'sh bog'langan fosfat miqdori 100 g mushak uchun mg da suyultirish e'tiborga olingan holda hisoblanadi.

$$x = A \cdot 3,3 \cdot 400 \cdot 100$$

Bunda x – 100 g to'qima uchun 1 mg ATF hisobida olingan makroergik birikmalarning miqdori (mg 100 g), A – 3,3.400 – suyuqlikning suyultirilgan darajasi hisobga olingan holda 1 g to'qima uchun hisoblash koeffitsiyenti.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosi va natijasi daftarga yoziladi va tegishli xulosa chiqariladi.

76-ish. QON TARKIBIDAGI ATF-AZA FAOLLIGINI ANIQLASH

Adenozin trifosfataza (ATF-aza) fermenti ATF ni suv ishtirokida parchalab, energiya ajralishini tezlatadigan reaksiyani katalizlaydi.

Usulning asosi. Yorilgan eritrotsitlar tarkibidagi ATF-aza ATF ni ADF va anorganik fosfatgacha parchalaydi. Ajralgan anorganik fosfat esa ammoniy molibdat bilan rangli mahsulot hosil qiladi. Rangning zichligi ATF miqdoriga to'g'ri keladi.

ATF-aza fermentining faolligi yangi tug'ilgan bolalarda kuzatiladigan gemolitik anemiyada, leykozda, bronxial astmada, nafas yo'llarining yallig'lanishi va raxit kasalliklarida odatdagidan bir necha barobar ortib ketadi.

42-jadval

ATF-aza faolligining yoshga nisbatan o'zgarishi (mkg R/1 ml eritrotsit hisobida)

Yangi tug'ilgan bolalarda	1 yoshgacha	3 yoshgacha	4-7 yoshgacha	11-13 yoshda	14-16 yoshda	17 yoshdan yuqori
308	196	166	128	147	108	108

Tekshiriluvchi material: qon eritrotsitlari.

Reaktivlar: UXSK ning 2,5% li eritmasi, vodorod xloridning 1 mol/l eritmasi, natriy gidroksidning 1 mol/l eritmasi, ammoniy molibdatning 1% li eritmasi, askorbin kislotaning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ, probirkalar, 1-2 ml li pipetkalar, FEK, termostat yoki suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. Ikki probirkaning biriga eritrotsitlari yorilgan (gemolizlangan) qondan 1 ml, ikkinchisiga distillangan suvdan 1 ml solinadi. Ularga 0,1 mol/l li ATF eritmasidan 1 ml dan solinadi. Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, bir soat 37°C li termostatda yoki suv hammomida saqlanadi. Bir ozdan so'ng oqsillarni cho'ktrirish uchun probirkalarga 0,5 ml UXSK eritmasidan solinadi va suyuqliklar filtrlanadi. Filtr ostidagi suyuqlikka 1 ml ammoniy molibdat eritmasi quyiladi va aralashma 10-20 daqiqa termostat yoki suv hammomiga joylashtiriladi. Hosil bo'lgan rang zichligi FEK ning qizil nur filtri qarshisida o'lchanadi. Tekshiriluvchi va nazorat tajribalar uchun topilgan optik zichlik ko'rsatkichlarining farqi aniqlanadi. Ferment faolligining darajasi oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi. O'lchov egri chizig'ini tayyorlash uchun turli miqdordagi ATF eritmasidan foydalaniladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalarni daftaringizga yozib, tegishli xulosa chiqaring.

77-ish. KREATINKINAZA FERMENTI FAOLLIGINI ANIQLASH

Kreatinkinaza fermenti asosan mushak to'qimalarida joylashgan bo'lib, yengil qaytar reaksiya: ATF dagi fosfat qoldiqni kreatinga va kreatinfosfatdan ADF ga o'tkazishni katalizlaydi. Kreatinfosfatning parchalanishidan hosil bo'lgan fosfat ioni oqsildan tozalangach, sariq rangli fosfor ammoniy molibden kompleks birikmasi shaklida aniqlanadi, chunki ushbu ferment kreatinfosfatdagi fosforni ADF ga yengil o'tkaza oladi.

ATF + kreatin = ADF + kreatinfosfat

Kreatinkinaza organizmda mushaklar qisqarishni energiya bilan ta'minlashda ishtirok etadi, ayniqsa mushaklarning faol qisqarishi jarayonida energiyaga bo'lgan talab ortadi.

Mushaklar faol ishlaganda, isitmalaganda, uzoq muddat och qolganda, qandli diabetda, vitamin E yetishmasligida, mushaklar shikastlanganda, gipoteroizda, markaziy nerv sistemasi kasalliklarida, yurak infarktida qon zardobida kreatinkinaza fermentining faolligi birmuncha ortadi. Mushaklar faoliyati susayganda (miopatiya, mushaklar distrofiyasida) ferment faolligi susayadi. Chaqaloqlar va kichik yoshdagi bolalar qon zardobi tarkibidagi kreatinkinaza fermentining faolligi turli yoshda turlicha bo'ladi.

43-jadval

Bolalar qon zardobi tarkibidagi kreatinkinaza fermentining yoshga qarab o'zgarishi

Bolalarning yoshi	Qon zardobidagi kreatinkinaza faolligi	
	Mkmol/min l	Mkmol l ⁻¹ - C ⁻¹
Yangi tug'ilgan bolalarda	180	3,0
3 haftadan 3 oygacha	91	1,5
3 oydan 1 yoshgacha	66	1,1
3-6 yoshlarda	62-59	1,03-0,98
Kattalarda	46	0,77

Kreatinkinaza fermenti faolligini aniqlash shifokorlarning amaliy ishida katta ahamiyatga ega. Ferment faolligi turli usullar bilan aniqlanadi. Berilayotgan usul tayyor reaktivlar yig'indisi bilan ishlashga asoslangan.

Usulning asosi. Kreatinfosfatning parchalanishidan hosil bo'lgan fosfat kislotaning kompleks birikmasi aniqlanishiga asoslangan. Birikma sariq rang hosil qiladi. Uning zichligi ferment faolligiga to'g'ri keladi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: Tayyor reaktivlar yig'indisidan foydalaniladi:

1. Idishdagi 0,670 g substrat 80°C gacha isitilgan bidistillangan suvning 10 ml ida eritiladi. Eritma sovitilgach, yana 15 ml bidistillangan suv solinadi va aralashtiriladi. Eritma sovuqda saqlanadi. Eritmaning xiralanishi ferment faolligiga ta'sir ko'rsatadi. Shuning uchun eritma filtrlanishi kerak.

2. Bufer eritma – 0,450 g bufer aralashmasi substrat tayyorlagandek tayyorlanadi va saqlanadi.

3. Aktivator – 45 mg sisteinlorid 5 ml bidistillangan suvda eritiladi. Sovuqda saqlanadi. Eritma ikki kun ichida sarflanishi kerak.

4. ATF eritmasi. 40 mg ATF 2,1 ml bidistillangan suvda eritiladi. Eritma dcimo yangitdan tayyorlanadi.

5. Reaktiv tayyorlash. Ammoniy vannadiy eritmasi va ammoniy molibden eritmalari aralashtiriladi.

Kerakli anjomlar. Shtativ va probirkalar, pipetkalar, termostat yoki suv hammomi, voronkalar, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Ferment faolligini aniqlash jadvalda ko'rsatilgan tartibda olib boriladi.

44-jadval

	Probirkalar			
	1	2	3	4
Substrat eritmasi	0,50	–	0,50	–
Bufer eritmasi	–	0,50	–	0,50
Etalon eritmasi	–	–	0,05	–
Aktivator eritmasi	0,20	–	–	–
Qon zardobi	0,05	0,05	–	–
Bidistillangan suv	–	0,20	0,20	0,25

Barcha probirkalardagi suyuqliklar aralashtiriladi va 5 daqiqa 37°C li suv hammomida yoki termostatda ushlanadi.

ATF eritmasi	0,10	0,10	0,10	0,10
--------------	------	------	------	------

Suyuqliklar aralashtirilib, 37°C da bir soat ushlanadi va ularga UXSK eritmasidan 0,3 ml dan solinadi.

UXSK eritmasi	0,30	0,30	0,30	0,30
---------------	------	------	------	------

Suyuqliklar aralashtirilib, 5 daqiqa o'tgach, oqsili sentrifugada cho'ktiriladi yoki filtr qog'ozdan o'tkaziladi.

Oqsilsiz suyuqlik (filtrat)	0,60	0,60	0,60	0,60
Reaktiv aralashmasi	0,80	0,80	0,80	0,80

Suyuqliklar aralashtirilib, 5 daqiqa o'tgach, fotoelektrokolrimetrlanadi (400 nm to'lqin uzunligida). 1 sm qalinlikdagi kuveta ishlatiladi. Suyuqlikning zichligi spektrofotometrda o'lchanishi ham mumkin.

Ferment faolligini hisoblash: $X = \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4} \cdot 20$; Kreatinkinaza faolligi

E/l qon zardobi uchun hisoblanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalarni daftaringizga yozing. Tegishli xulosa chiqaring.

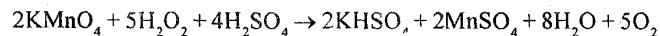
78-ish. KATALAZA FERMENTI FAOLLIGINI ANIQLASH

Katalaza organizmning barcha to'qimalarida, oksidlanish-qaytarilish jarayonlarida hosil bo'lgan vodorod peroksidni suv va kislorodgacha parchalanish reaksiyasini katalizlaydi. Kimyoviy tabiati jihatdan ushbu ferment gem tutuvchi fermentlar qatoriga kiradi.

Katalaza fermentining faolligi turli kasalliklarda pasayadi va organizmning vodorod peroksid bilan zaharlanishi kuzatiladi. Turli xildagi kamqonlik holatlarida, temir yetishmovchiligida va surunkali kasalliklarda katalazaning faolligi o'zgaradi. Shifoxonalarda bu ferment faolligini aniqlash amaliy ahamiyatga ega.

Usulning asosi. Reaksiyaga kirishmay (parchalanmay) qolgan vodorod peroksid va parchalangan peroksidning farqini topish yo'li bilan ferment faolligi aniqlanadi.

Usulning kimyoviy tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: qon.

Reaktivlar: vodorod peroksidning 10% li va 1% li eritmasi, kaliy permanganatning 0,1 n eritmasi, sulfat kislotaning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, pipetkalar, stakanchalar yoki kolbalar.

Bajariladigan ish tartibi. 10-15 ml distillangan suvga barmoqdan olingan 0,1 ml qon solinadi va aralashtiriladi. Suyuqlikning umumiy hajmi distillangan suv bilan 100 ml ga yetkaziladi. Suyuqlik 30 daqiqaga qoldiriladi. Bu vaqtda eritrotsitlar yoriladi va ichidagi ferment tashqariga chiqadi. Ushbu suyultirilgan va gemolizlangan qondan 1 ml dan olib, 10 ml distillangan suv solingan ikkita kolbaga solinadi. Kolbalarining biri 3-5 daqiqa qaynatiladi. Katalaza fermenti faolligini yo'qotadi. So'ng har ikkala kolbaga 2 ml dan vodorod peroksidning 1% li eritmasidan solib, 30 daqiqa qoldiriladi. Reaksiya 5 ml sulfat kislotaning 10% li eritmasi qo'shish bilan to'xtatiladi. Vodorod peroksidning parchalanish darajasi permanganat kaliyning 0,1 n eritmasi bilan titrlash orqali aniqlanadi. Tekshiriluvchi (qaynatilmagan) va nazorat (qaynatilgan) tajribalar uchun ketgan kaliy permanganat miqdorining farqi topiladi.

Ferment faolligini hisoblash. Ferment faolligi katalaza soni bilan ifodalanadi. Vodorod peroksidning mg miqdori 1 mkl qondagi katalaza bilan parchalanishi katalaza soni deyiladi. Sog'lom odamlarda uning o'rtacha miqdori 12-20 TB ga teng.

$X = (A_2 - A_1) \cdot 1,7$. Bunda A_2 – nazorat tajriba eritmasini titrlash uchun ketgan kaliy permanganat miqdori, A_1 – tekshiriluvchi tajriba uchun ketgan kaliy permanganat miqdori, $1,7 - 0,1$ n. H_2O_2 gramm ekvivalenti.

Olingan natijalarni daftaringizga yozib, rasmiylashtiring.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Modda va energiya almashinuvining ahamiyati.
2. Katabolizm va uning bosqichlari, ahamiyati.
3. Anabolizm va uning ahamiyati.

4. Katabolizm va anabolizm jarayonlarining bir-biriga bog'liqligi.
5. Ekzoergik va endoergik reaksiyalar.
6. Makroergik birikmalar (ATF, GTF, STF, UTF, TTF, kreatinfosfat, atsetil-KoA va hokazolar).
7. ADF – ATF xalqasi.
8. NAD ga bog'liq degidrogenazalar, tuzilishi, biologik ahamiyati.
9. NAD kofermentiga bog'liq bo'lgan substratlar.
10. FAD ga bog'liq degidrogenazalar, FMN-degidrogenazalar, ularning tuzilishi va biologik ahamiyati.
11. FMN, FAD kofermentlarining substratlari.
12. Sitoxromlar, ularning turlari, tuzilishi, biologik ahamiyati.
13. Pirouzum kislotaning oksidlanish yo'li bilan dekarboksillanishi, reaksiyaning ketma-ketligi, ishtirok etadigan kofermentlari, ahamiyati.
14. Krebs (uch karbon kislotalar) xalqasi, reaksiyaning ketma-ketligi, ishtirok etadigan fermentlar va kofermentlar.
15. Krebs xalqasida hosil bo'ladigan substratlar.
16. Hosil bo'lgan substratlarning degidratlanishi, kofermentlari.
17. Nafas olish zanjirida kofermentlarning ketma-ket joylashishi.
18. Uzun, qisqartirilgan, qo'shimcha nafas olish zanjiri (elektronlarni o'tkazish zanjiri).
19. Oksidlanish-qaytarilish potentsiallari, ularning o'zgarishi.
20. Oksidlovchi fosforlanish (nafas olish zanjiriga bog'liq bo'lgan fosforlanish), uning nazariyalari, hosil bo'lgan ATF miqdori.
21. Substratli fosforlanish.
22. Krebs xalqasining (nafas olish zanjiri) elektron o'tkazish zanjiri bilan bog'liqligi.
23. Krebs xalqasi va (EO'Z) elektron o'tkazish zanjirining boshqarilishi.
24. Kislorod yetishmovchiligi (gipoksiya) holatlarida nafas olish zanjirining o'zgarishi.
25. Mitoxondriya suspenziyasiga izotsitrat va ADF solinib, 37°C da bir necha daqiqa ushlansa, qanday o'zgarish sodir bo'ladi? Qanday moddalar hosil bo'ladi? Reaksiyani qanday fermentlar katalizlaydi? R/O qiymati nechaga tengligini aniqlang.
26. Mitoxondriya suspenziyasiga laktat, ADF va 2,4-dinitrofenol solib, 37°C da bir necha daqiqa ushlanadi. Kuzatiladigan o'zgarishlarni izohlab bering. Qanday moddalar hosil bo'ladi? R/O qiymati qanday bo'ladi?

27. Mitoxondriya suspenziyasiga suksinat, ADF solib 37°C da bir necha daqiqa ushlansa, ushbu moddalar miqdori qanday o'zgaradi. Reaksiya R/O qiymati nechaga teng bo'ladi? R/O qiymati nechaga teng bo'ladi? Reaksiyani qanday ferment katalizlaydi?
28. Qaltirashning biologik ahamiyati qanday? Tana harorati qanday qilib qaltirash bilan ushlab turiladi? Qalin kiyinishning sababi nima?
29. Vitamin PP, B₁, B₆, B₁₂ larning qaysilari NAD ga, FAD ga bog'liq va qaysilari piruvatdegidrogenaza kompleksi tarkibiga kiradi?
30. Shifoxonada kamqonlik xastaligidan davolanayotgan bemorning qon tarkibidagi fermenti aniqlandi. Qanday ferment aniqlandi, uning ahamiyati qanday ekanligini ayting.
31. Bemorning qon tarkibida katalaza fermentining faolligi keskin pasayganligi aniqlandi. Bemorning hayoti xavf ostida ekanligini tushungan shifokor qanday tadbirlarni qo'llamog'i lozim?

KARBONSUVLAR ALMASHINUVI

Karbonsuvlar odam va hayvon organizmida murakkab, ko'p qirrali vazifalarni bajarib, muhim hayotiy ahamiyatga ega. Ular barcha biologik jarayonlar uchun asosiy energiya manbai bo'lib hisoblanadi. Chunki organizm faoliyati uchun sarflanadigan umumiy energiyaning 60-70 foizi karbonsuvlarning oksidlanishidan hosil bo'ladi. Karbonsuvlar oqsillardan farqli o'laroq to'qimalar (jigar, mushak)da to'planadi va organizmda manba vazifasini o'taydi. Karbonsuvlar hujayra devori va membranasi tarkibiga kirib, hujayralararo munosabatlarni hosil qiladi. Tayanch, qoplovchi, biriktiruvchi to'qimalar tarkibida himoya vazifasini, immunitet reaksiyalarida ishtirok etuvchi, qon guruhini aniqlovchi, qon ivishini susaytiruvchi omillar tarkibiga kirib, xususiy vazifani bajaradi. Ular ion almashinuvida, nerv impulslerini o'tkazishda, moddalarni tashishda ishtirok etadi. Karbonsuvlar nukleoproteidlar, glikolipidlar, glikoproteidlar, nukleotid kofermentlar, oqsillar, yog'lar hosil bo'lishida ishtirok etadi. Karbonsuv yetishmovchiligida yog'lar va oqsillarning almashinuvi buziladi.

Odam va hayvon organizmi karbonsuvlarni sintezlamaydi, shuning uchun ularni tayyor holda o'simlik va hayvonlardan oladi. Katta yoshdagilar uchun karbonsuvlarga bo'lgan bir kunlik ehtiyoj 450-500 gramni tashkil qiladi. 7 yoshgacha bo'lgan bolalar uchun esa ularning har bir kilogramm vazniga 10-15 gramm karbonsuv to'g'ri keladi. Maktab yoshidan boshlab karbonsuvga ehtiyoj 15 gramdan ortadi.

Karbonsuvlar asosan o'simliklar tarkibida bo'lib, 85-90 foizni tashkil qiladi, ammo selluloza, ksilan va pektinlar me'da-ichak yo'lida, hujayralarda parchalanmaydi. Ular axlat massasi hosil bo'lishida ishtirok etadi. Asosiy karbonsuvlar kraxmal, glikogen, saxaroza, laktoza, fruktoza va glukozaga shaklida iste'mol qilinadi.

Iste'mol qilingan karbonsuvlar me'da-ichak sistemasida fermentlar ta'sirida monosaxaridlargacha parchalanadi. Karbonsuvlar asosan glukozaga shaklida o'zlashtiriladi va ichak devorida ferment ta'sirida

galaktoza va fruktoza glukozaga aylanadi. Glukozaning ortiqcha miqdori jigarda ushlanib, glikogenga aylanadi. Shu tufayli qondagi qand miqdori 100-120 mg% yoki 3,3-5,5 mmol/l ni tashkil qiladi. Yangi tug'ilgan bolaning qonidagi qand miqdori onaning qonidagi qand miqdoriga to'g'ri keladi. Bola tug'ilgandan 3-6 soat o'tgach, uning qonidagi qand 3,5 mmol/l gacha kamayadi. Bunday holat fiziologik gipoglikemiya holati deyiladi. Hayotining ikkinchi kunidan boshlab qand miqdori asta-sekin ko'tariladi va 5-6-kunlarga borib, haqiqiy qand miqdoriga tenglashadi (4,5 mmol/l). Bola 14, 15 yoshga yetganda esa katta yoshdagilarning qand miqdoriga tenglashadi. Hujayralarda glukozaga kislorodli sharoitda (dixotomik) ikkiga bo'linish yo'li bilan to'g'ri apotomik (fruktoza hosil qilish) yo'l bilan parchalanadi.

Bo'limning maqsadi. 1. Amaliy mashg'ulotda karbonsuvlar almashinuvidan hosil bo'lgan mahsulotlarni ajratish, ularning miqdorini o'lchash va aniqlash yo'li bilan glukozaning to'qimada oksidlanish yo'llarini o'rganish va olingan bilimlarni mustahkamlash.

2. Qon tarkibidagi qand miqdorini o'lchash usullari bilan tanishish va uni amaliyotda qo'llash. Usullarning afzalliklari va kamchiliklarini bilgan holda muayyan sharoitda kerakli usuldan foydalanishni o'rgatish.

3. Qondagi qand miqdorining bir me'yorda boshqarilishini o'rganish, amaliy tajribada olingan natijalar asosida glukozaga almashinuvining buzilishi natijasida sodir bo'ladigan kasalliklarning kelib chiqish sabablarini va davolash yo'llarini o'rganish, kelajakda olingan bilimlarni tadbiq qilish.

1. KARBONSUV ALMASHINUVI

79-ish. KARBONSUVLARNING ME'DA-ICHAK YO'LLARIDA PARCHALANISHI

Karbonsuvlarning parchalanishi so'lak, me'da osti bezi shirasi, ichak shirasi, ichak shirasi fermentlari ta'sirida amalga oshiriladi. Bu fermentlar amilo fermentlar bo'lib, ularga alfa, betta, gamma amilazalar, laktozalar, saxarozalar va maltazalar kiradi.

Tekshiriluvchi material: meda, me'da osti bezi shirasining 5% li eritmasi, so'lak.

Reaktivlar: kraxmalning 1% li eritmasi, sellulozaning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar. Shtativlar, pipetkalar, probirkalar, buretkalar, 37°C li termostat yoki suv hammomi, gaz gorelkasi.

Bajariladigan ish tartibi. Quyidagi jadvalga muvofiq tajriba probirkalari tayyorlanadi.

Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 37°C li termostatga 30 daqiqaga joylashtiriladi. Bir ozdan so'ng probirkalarga solingan polisaxaridlarning parchalangani hosil bo'lgan mahsulotlarga Tromer reaksiyasi o'tkazish bilan aniqlanadi. Buning uchun har qaysi probirkaga 10% li natriy gidroksid va mis (II) sulfat eritmasidan 5 tomchidan solib, bir daqiqa davomida asta-sekin qizdiriladi. Eritmaning qizil rangga kirishi mis (I) oksid hosil bo'lganini ko'rsatadi va kraxmalning maltozgacha parchalanganini isbotlaydi (trommer reaksiyasini o'tkazish uchun probirkadagi eritmalarga natriy gidroksid va mis (II) sulfat eritmasidan 5 tomchi solinadi va qizdiriladi.

45-jadval

Probirkalar eritmasi, ml	Kraxmal eritmasi, ml	Selluloza ml	So'lak, shirasi, ml	Me'da bezi shirasi, ml	Me'da osti
1	1,0	-	1,0	-	-
2	-	1,0	1,0	-	-
3	1,0	-	-	1,0	-
4	-	1,0	-	1,0	-
5	1,0	-	1,0	1,0	-
6	-	1,0	1,0	1,0	-
7	1,0	-	-	-	2,0
8	-	1,0	-	-	2,0

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar quyidagi jadvalga yozib rasmiylashtiriladi.

46-jadval

Probirkalar	Substrat nomi	Reaksiya mahsuloti	Fermentning nomi	Ferment manbai	Me'da ichak qismi	Natija

80-ish. JIGAR GLIKOGENINI AJRATISH

Glikogen oqsilga o'xshab gidrofillik (suvni sevish) xossasiga ega. Uning shu xossasidan foydalanib, ishqoriy va ishqoriy-yer metall tuzlari yordamida tuzlash usuli bilan yoki og'ir metall tuzlari hamda spirt ta'sirida cho'ktirib, glikogenning suvli eritmasini ajratish mumkin.

O'rtacha ovqatlanadigan odam jigarida 80-120 g glikogen yig'iladi. Bir kun och qolgan odamning barcha glikogeni parchalanib, odatdagi sifat reaksiyalar bilan glikogeni aniqlab bo'lmaydi.

Tekshiriluvchi material: bir kun och qolgan va och qolmagan hayvon jigari.

Reaktivlar: Uchxlorsirka kislotaning (UXSK) 5% li eritmasi, etil spirti, ammoniy sulfat tuzi kukuni, qo'rg'oshin atsetatning 10% li eritmasi, yodning kaliy yodda tayyorlangan 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: Dorixona tarozisi va qadoqlari, shtativ va probirkalar, voronkalar, shisha tayog'chalar, qog'oz filtrlar, chinni hovoncha, kimyoviy stakanlar, gaz gorelkasi.

Usulning asosi. Ushbu usul glikogeni suvda yaxshi erishi va kuchsiz kislotali sharoitda turg'un bo'lishiga asoslangan. Glikogeni ajratish to'qimani mexanik ravishda parchalab, 5% li UXSK eritmasi yordamida ekstraksiyalash (glikogeni eritmaga chiqarish)dan iborat. Bu sharoitda oqsillar denaturatsiyalanib, cho'kmaga tushadi. Cho'kma eritmadan filtrlash yo'li bilan olib tashlanadi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Tajriba uchun bir kun och qoldirilgan va ovqat berilgan hayvon jigari olinadi. O'ldirilgan hayvon jigari tezlik bilan ajratiladi, qondan tozalanadi, qaychi bilan mayda bo'lakchalarga bo'linadi va stakanda qaynab turgan fiziologik eritmaga solinib, fosforilaza fermenti kuchsizlantiriladi. 10-15 daqiqadan so'ng jigar bo'lakchalari stakandan olinadi.

2. Jigar bo'lakchasi 0,5 g qilib tortib olinadi va chinni hovonchaga solinadi. Uning ustiga UXSK ning 5% li eritmasidan 3 ml solib, o'n daqiqa davomida yaxshilab eziladi. So'ngra ustiga 3 ml distillangan suv solib yaxshilab aralashtiriladi va ho'llangan filtr qog'oz orqali toza probirkaga o'tkaziladi.

3. Ajratilgan glikogen sifat reaksiyasi bilan aniqlanadi.

a) Birinchi probirkaga 10 l distillangan suv, ikkinchi va uchinchi probirkalarga 1 ml glikogen filtrati solinadi va uchala probirkaga 1-3 tomchi yod eritmasi tomiziladi. Probirkalardagi eritmalarning rangi solishtiriladi.

b) Uchta probirkaga to'yib ovqatlangan hayvon jigaridan tayyorlangan filtratdan 10 tomchi solinadi. So'ngra birinchi probirkaga 10 tomchi etil spirti, ikkinchisiga qo'rg'oshin atsetat eritmasidan 10 tomchi, uchinchisiga esa ammoniy sulfat tuzidan to'yunguncha solinadi. Probirkalarda cho'kma hosil bo'lishi kuzatiladi. Och qolgan hayvon jigari filtrati bilan ham xuddi shunday tajriba o'tkaziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Tajriba natijalari quyidagi jadvalga yoziladi. To'q va och qoldirilgan hayvon jigari bilan o'tkazilgan tajriba natijalari solishtiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

47-jadval

Glikogen manbai	Ishlatiladigan reaktivlar		
	Spirt	Qo'rg'oshin atsetat	Ammoniy sulfat
To'q hayvon jigari Och qolgan hayvon jigari			

**81-ish. GLUKOZANING MUSHAK TO'QIMASIDA
KISLORODSIZ SHAROITDA OKSIDLANISHI
(GLIKOLIZ)**

Glukozaning to'qimalarda kislorodsiz sharoitda oksidlanishi glikoliz deyiladi. Oksidlanish substrati glikogen bo'lsa – glikogenoliz deyiladi. Ushbu oksidlanish reaksiyasi teginlamasi quyidagicha:



To'qima va a'zolar yetarli darajada kislorod bilan ta'minlana olmagan sharoitda glikoliz va glikogenoliz organizmning fiziologik vazifalarini bajarishga imkon yaratadi. Bunday jarayon ko'proq mushak to'qimalarida amalga oshgani uchun glikolizni o'rganishda mushak to'qimalaridan foydalanish qulay.

Glikoliz jarayonida bir qancha oraliq mahsulotlar hosil bo'ladi. Jumladan, glukoz-6-fosfat, fruktoza-1,6-difosfat, fosfotrioazalar, fosfoenolpirouzum, pirouzum va oxirigi mahsulot hisoblangan sut kislotasi. Mushaklarda glikoliz jarayoni ketishini isbotlash uchun mushak qiymasi fermentlari ta'sirida glukozani achitib, hosil bo'lgan sut kislotani aniqlash mumkin.

Usulning asosi. Sut kislotasi sulfat kislotasi ta'sirida sirka aldegidga aylantirilgach, veratrol (pirakateksinning dimetil efiri) bilan o'zaro reaksiyaga kirib, rangli birikma hosil qilishidan iborat.

Tekshiriluvchi material: mushak qiymasining suyultirilgan aralashmasi.

Reaktivlar. pH i 8,0 bo'lgan fosfat bufer eritmasi, glukoz eritmasi, uchxlorosirka kislotaning 10% li eritmasi, mis sulfatning yarim to'yintirilgan eritmasi, kalsiy gidroksid tuzi, konsentrlangan sulfat kislotasi, veratrolning 0,1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar. Shtativ va probirkalar, 10 ml li o'lchov silindri, buretkalar, shisha voronkalar, filtr qog'oz, berkitgichlar (probirkalar), shisha tayoqchalar, suv va muz hammomi, 37°C li termostat, texnik tarozi va qadoqlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Achitish uchun eritma tayyorlash. Tekshiruv va nazorat tajriba probirkalariga pH i 8,0 bo'lgan fosfat bufer eritmasidan 3 ml va glukozaning 1% li eritmasidan 1 ml dan solib aralashiriladi. Ikkinchi probirkaga fermentativ reaksiyani to'xtatish uchun 1 ml 10% li UXSK eritmasi solinadi. Eritmalar ustiga mushak qiymasidan 1 g solinadi. Eritmalar aralashiriladi va uning kislorod bilan ta'sirlanishini cheklash uchun 10 tomchi vazelin bilan qoplanib, 37°C li termostatga rosa 1,5 soatga joylashtiriladi.

2. **Oqsilni cho'ktirish.** Probirkalar termostatdan olinadi va reaksiyani o'tkazish uchun birinchi nazorat eritmasiga 1 ml 10% li UXSK eritmasi solinadi. Natijada oqsillar cho'kmaga tushadi. Eritmalar boshqa toza probirkaga filtrlanadi.

3. **Karbonsuvlarni cho'ktirish.** Oqsildan xoli qilingan karbonsuv filtratiga mis sulfatning yarim to'yintirilgan eritmasidan 1 ml va kalsiy gidroksid tuzidan 0,5 g solinadi. Probirkalar qopqoq bilan zich qilib berkitiladi va 15 daqiqa chayqatiladi. So'ngra eritmalar ho'llangan filtr qog'ozdan olib tashlanadi.

4. **Sut kislotani aniqlash.** Filtrat solingan probirkalar muz hammomida sovutiladi va unga asta-sekin konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi. Tomizish vaqtida probirkalar chayqatib turiladi. Aralashmaning isishiga yo'l qo'ymaslik kerak. Sut kislotaning oksidlanishini tezlatish uchun probirkalar qaynab turgan suv hammomiga 4 daqiqaga qo'yiladi. Vaqt o'tgach, probirkalar muz hammomida sovutiladi. Sovutilgan aralashmaga veratrolning 0,1% li spirtli eritmasidan 1-2 tomchi solib, bir necha daqiqa asta chayqatiladi. Birinchi probirkada mushak fermentlari ta'sirida glikoliz reaksiyasi

o'tganligidan sut kislota to'q pushti rang hosil qiladi. Nazorat probirkada esa tajriba boshlanguncha bo'lgan sut kislota och pushti rangga kiradi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Tajriba natijalari quyidagi jadvalga yozib rasmiylashtiriladi. Tekshiruv va nazorat eritmalarining rangi solishtirilib, tegishli xulosa chiqariladi.

48-jadval

Substrat	Glikoliz fermentlari manbai	Probirkalardagi rang	
		Tekshiruv probirka	Nazorat probirka

82-ish. MUSHAK TO'QIMALARIDAGI FOSFOTRIOZALARNI ANIQLASH

Glikoliz jarayonida oraliq mahsulotlar – glitseroaldegidfosfat, dioksiatsetonfosfat triozalar hosil bo'ladi.

Usulning asosi. Xona haroratidagi ishqorli muhitda fosfotriozalardan anorganik fosfat oson ajraladi. Tekshiruv va nazorat tajribalaridan hosil bo'lgan triozalar miqdorini taqqoslash yo'li bilan aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: mushak to'qimasi qiymasi.

Reaktivlar: UXSK ning 2,5% li eritmasi, natriy gidroksidning 2 mmol/l eritmasi, xlorid kislotaning 2 mmol/l eritmasi, askorbin kislotaning 1% li eritmasi (eritma ishlatilishdan oldin tayyorlanadi), ammoniy molibdatning 0,025 mol/l sulfat kislotada tayyorlangan 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, buretkalar, shisha tayoqchalar, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar, voronkalar, qog'oz filtrlar, 10 ml li o'lchov probirkalari, silindrlar, muz hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 1,5 ml sovutilgan UXSK eritmasi solingan probirkaga 0,5 g mushak to'qimasi qiymasi solinadi. Aralashma 10 daqiqa davomida muz hammomida shisha tayoqcha bilan aralastirib turiladi. Bu vaqtda fosfotriozalar ajraladi. So'ng aralashmaga 5 ml distillangan suv solinib, qog'oz filtrdan o'tkaziladi.

2. Birinchi tekshiruv probirkasiga 1 ml oqsilsiz filtrat, 1 ml natriy gidroksid eritmasi solib aralastiriladi va 20 daqiqa xona haroratida

qoldiriladi. Bir ozdan so'ng eritma 1 ml xlorid kislota eritmasi bilan neytrallanadi. Ikkinchi nazorat probirkasiga esa 1 ml natriy gidroksid eritmasi va 1 ml vodorod xlorid kislota eritmasi solib aralastiriladi. So'ngra uning ustiga oqsilsiz filtrat solinadi.

3. Ikkala probirkaga ammoniy molibdat eritmasidan 0,5 ml, askorbin kislotadan 0,5 ml solib, eritmalarining hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi va 10 daqiqa xona haroratida qoldiriladi. Hosil bo'lgan rangning zichligi 670 nm (qizil rang) to'lqin uzunligida 1 sm qalinlikka ega bo'lgan kuvetalarda kolorimetrlanadi. Tekshiriluvchi eritma nazorat eritmasi qarshisida ko'riladi. Fosfotriozalarning miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi. O'lchov egri chizig'ini tayyorlash uchun fosfotriozalarning doimiy – standart eritmasining turli miqdordagi eritmalaridan foydalaniladi.

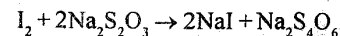
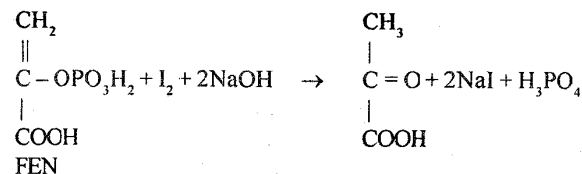
Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Fosfotriozalarni aniqlashning asosi, olingan natijalar hisobi daftarga yoziladi. Fosfotriozalarning miqdori 100 g to'qima uchun topiladi. Suyultirish darajasi hisobga olinadi.

83-ish. MUSHAK TO'QIMALARIDAGI FOSFOENOL PIROUZUM KISLOTA MIQDORINI ANIQLASH

Mushak to'qimalarida kechadigan glikoliz jarayonida oraliq mahsulot – fosfoenolpiruvat hosil bo'ladi.

Usulning asosi. Fosfoenolpiruvatni ishqoriy sharoitda yod bilan oksidlangan anorganik fosfat ajraladi. Ajralgan yod giposulfit bilan titrlab aniqlanadi.

Usulning kimyoviy tenglamasi quyidagicha:



Ajralgan yod va fosfat kislota miqdori teng bo'lganligi uchun fosfoenolpiruvat miqdoriga ham to'g'ri keladi.

Tekshiriluvchi material: mushak to'qimasi qiymasi.

Reaktivlar: UXSK ning 2,5% li, yodning 0,1 mol/l, giposulfidning 0,05 mol/l eritmasi, ammoniy molibdatning 0,025 mol/l sulfat kislotada tayyorlangan 1% li eritmasi, vodorod xloridning 2 mol/l eritmasi.

Kerakli anjomlar. Shtativ va probirkalar, pipetkalar, o'lchov silindrlar, voronkalar, filtr qog'oz, shisha tayoqchalar, muz hammomi, FEK va 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Muz hammomiga joylashtirilgan 5 ml UXSK tutuvchi probirkaga 0,5 g mushak to'qimasi qiymasidan solib, 10 daqiqa davomida shisha tayoqcha bilan aralashtirib turiladi. So'ngra probirkaga 5 ml suv solib, boshqa probirkaga filtr qog'oz orqali o'tkaziladi.

2. Tekshiruv probirkaga 2 ml filtrat, 1 ml natriy gidroksid eritmasi va 1 ml yod eritmasidan navbatma-navbat solinadi. Eritmalar aralashtirilib, xona haroratida 15 daqiqa qoldiriladi. Probirkaga qo'ng'ir rang hosil bo'lguncha vodorod xlorid eritmasidan tomchilab 1-2 ml solinadi. Reaksiyaga kirishmagan yodning ortiqcha miqdori natriy giposulfid eritmasi bilan qo'ng'ir rang rangsizlanguncha titrlanadi. Buning uchun 0,2-0,3 ml giposulfid eritmasi yetarli. Eritmaning umumiy hajmi distillangan suv bilan 10 ml gacha yetkaziladi. Probirkadagi eritma yaxshilab aralashtiriladi.

3. Nazorat probirkasiga 2 ml filtrat, 1 ml HCl eritmasi solib, uning umumiy hajmi distillangan suv bilan 10 ml gacha yetkaziladi. Eritma yaxshilab aralashtiriladi. To'qimadagi anorganik fosfatni hisobga olish uchun yuqoridagi tekshirish yana qayta o'tkaziladi.

4. Tekshiruv va nazorat probirkadagi 2 ml eritma boshqa probirkalarga o'tkaziladi va har qaysi probirkaga 0,5 ml ammoniy molibdat eritmasi, 0,5 ml askorbin kislotasi solib, eritmalarning umumiy hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi. Probirkalar xona haroratida 10 daqiqa saqlanadi. Bir ozdan so'ng probirkadagi eritmalarning optik zichligi aniqlanadi. FEK ning 670 nm to'lqin uzunligi (qizil rang) ishlatiladi. Tekshiruv nazorat eritmasi qarshisida 1 sm qalinlikdagi kuvetada kolorimetrlanadi. Fosforning miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'i ko'rsatkichlariga muvofiq aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Fosfoenolpiruvatni aniqlash usulining asosi va suyultirilishini hisobga olgan holda topilgan fosfor miqdori 100 g to'qima uchun hisoblanadi. Natijalar daftarga yoziladi va tegishli xulosa chiqariladi.

84-ish. BIJG'ISH JARAYONIDA ANORGANIK FOSFATNING ISHLATILISHINI ANIQLASH

Usulning asosi. Glukoza ning oksidlanish jarayonida oraliq mahsulotlar – glikozal va triozalarning fosforlangan birikmalari hamda ATF hosil bo'ladi. Fosforlanish anorganik fosfatning bog'lanish bilan bog'liq bo'lgani tufayli uning eritmadagi miqdori kamayadi. Anorganik fosfor miqdorini fosfor molibdat kompleksi hosil bo'lishi va uni molibden tuzigacha qaytarish yo'li bilan aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: fosfatlardan tozalangan va quritilgan xamirturush.

Reaktivlar: saxaroza yoki glukoza, fosfat eritmasi (6 g natriy gidrofosfatning 2 molekulyar kristallangan tuzi va 2 g kaliy digidrofosfat tuzi 1 l suvda eritiladi). UXSK ning 10% li eritmasi 2,5 mol/l sulfat kislotaning 0,5% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, chinni hovoncha, o'lchovli pipetkalar, voronkalar, qog'oz filtrlar, tarozi va qadoqlar, 37°C li termostat.

Bajariladigan ish tartibi. 1 g yuvilgan va quritilgan xamirturush 1 g saxaroza yoki glukoza, 5 ml suv bilan aralashtirilib, maydalanadi. Maydalangan aralashma probirkaga olinadi va unga 5 ml fosfat eritmasidan solib, yana aralashtiriladi. Aralashmadan 1 ml olib, 1 ml UXSK eritmasi solingan probirkaga o'tkaziladi (bu tekshiruv probirka hisoblanadi). Qolgan aralashma 37°C li termostatga qo'yiladi. Alohida uchta probirkaga 1 ml dan UXSK eritmasi solib, unga termostatdagi achitqi aralashmadan vaqti-vaqti bilan solinadi. Birinchi probirkaga 30, ikkinchisiga 60, uchinchisiga esa 90 daqiqadan so'ng 1 ml achitqi solinadi. To'rtinchi probirkaga ham 1 ml achitqi solinadi. Achitqi oqsillari cho'kmaga tushgach, har qaysi probirkadagi eritma filtr qog'ozdan o'tkaziladi. Oqsilsiz filtrat tarkibidagi anorganik fosfat aniqlanadi.

ANORGANIK FOSFATNI ANIQLASH

Yuqoridagi oqsilsiz filtratning har qaysisidan 0,5 ml dan toza probirkalarga olinadi va unga 1 ml ammoniy molibdat eritmasidan 1 ml solinadi. Eritmalar ustiga 8 ml distillangan suv solib, yaxshilab aralashtiriladi va xona haroratida rang hosil bo'lguncha 15 daqiqa saqlanadi. Probirkadagi eritmalarning rangi bir-biri bilan solishtiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar jadvalga yozilib rasmiylashtiriladi. Tegishli xulosa chiqariladi.

49-jadval

Substrat	Achtqi fermentlar manbai	Anorganik fosfat manbai	Ranglarning och-to'qligi			
			Probirkalar			
			I	II	III	IV

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Nima uchun so'lak amilazasi me'da shirasi ishtirokida ta'sir etmaydi?
2. Ovqat tarkibidagi karbonsuvlarning qaysilari me'da-ichak sistemasida parchalanmaydi?
3. Glikogenni eritmadan cho'ktirib olishda uning qanday xususiyatidan foydalaniladi?
4. Glikoliz jarayoni oraliq va oxirgi mahsulotlarining nomini ayting.
5. Anorganik fosfat qanday jarayonlarda ishlatiladi?
6. Glikoliz jarayonida hosil bo'ladigan fosforli birikmalarni ayting.

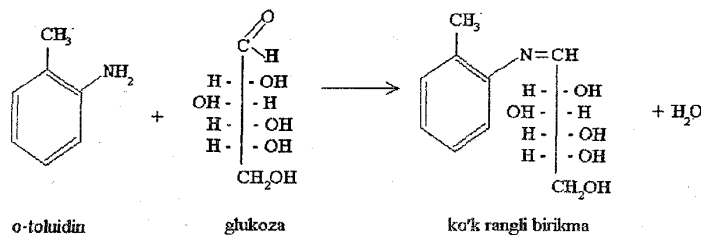
2. KARBONSUVLAR ALMASHINUVI MAHSULOTLARI MIQDORINI ANIQLASH

To'qima va hujayralarda glukozaning doimo sarflanib turishiga va oziqlangandan so'ng ichaklardan so'rilishiga qaramay qon tarkibida glukozaning miqdori bir me'yorda saqlanadi (3,3-5,5 mmol/l, 60-100 mg/dl). Qon tarkibidagi qand miqdorining deyarli o'zgarmas miqdorda saqlanishi murakkab boshqarish mexanizmlariga asoslangan. Bu mexanizmlar markaziy nerv (MNS) va endokrin sistemasi tomonidan amalga oshiriladi. Bu o'rinda jigarning faoliyati muhim ahamiyatga ega. Ayrim kasalliklarda (qandli diabet) qondagi qand miqdori me'yoridan 2-3 barobar ortadi. Bunday holatni giperglukozemiya deyiladi. Qand miqdorining me'yoridan kamayishi gipoglikemiya holati deyiladi. Qand miqdori o'zgarганиni bilish kasallikni aniqlashda amaliy ahamiyatga ega.

85-ish. QONDAGI QAND MIQDORINI O-TOLUIDIN RANGLI REAKSIYASI USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asosi glukozaning sirka kislotasi ishtirokida o-toluidin bilan rangli eritma hosil qilishi va uning optik zichligi o'lchanishiga asoslangan. Rangning zichligi glukozaning miqdoriga to'g'ri keladi. Glukozani aniqlash uchun qon oqsillardan tozalanishi kerak. Ushbu usul bilan faqat haqiqiy glukozaning miqdori aniqlanadi, chunki o-toluidin glukozaga o'xshash moddalar bilan (glutation, glukuron, askorbin kislotalar) rangli birikma hosil qilmaydi.

Usulning kimyoviy tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: yangi olingan qon.

Reaktivlar: O-toluidin reaktivi, UXSK ning 3% li eritmasi, glukozaning 5,5 mmol/l li doimiy eritmasi. Ishchi eritma suyultirish bilan tayyorlanadi.

Kerakli anjomlar: kimyoviy idishlar, filtr qog'oz, sentrifuga tarozisi, FEK, kuvetalar va zar qog'oz.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Bitta sentrifuga probirkasi va ikkita oddiy probirkaga 1,8 ml 3% li UXSK eritmasi solinadi. Birinchi probirkaga 0,2 ml qon, ikkinchisiga 0,2 ml glukozaning doimiy eritmasi, uchinchisiga 0,2 ml suv solib aralashtiriladi. Qon solingan probirkaga 10 daqiqa davomida daqiqasiga 2500-3000 marta aylanadigan sentrifugada aylantiriladi. Cho'kma yuqorisidagi suyuqlik boshqa probirkaga olinadi. Oqsil cho'kmasini filtrlash ham mumkin. Shuningdek ikkinchi va uchinchi probirkalardagi suyuqlik ham toza probirkalarga olinadi.

2. 0,5 ml oqsilsiz suyuqlik solingan probirkalarga 4,5 ml o-toluidin eritmasi solinadi va probirkalar zar qog'oz bilan berkitilib, qaynab turgan suv hammomiga 8 daqiqaga joylashtiriladi. Qaynash jarayonida

eritmalar rangli tus oladi. Bir oz vaqt o'tgach, probirkalar suv hammomidan olinib, suv oqimida sovitiladi. Ko'k rangli eritmalar 670 nm to'lqin uzunligida fotoelektrokolorimetrlanadi. 1 sm qalinlikdagi kuvetalar ishlatiladi. Tekshiruvchi eritma nazorat eritma qarshisida ko'riladi. FEK ko'rsatkichlari quyidagi tenglamaga qo'yilib, glukoza miqdori topiladi:

$$S_{qon} = s_{doim} \frac{E_{tajriba (qon)}}{E_{doim}}$$

S_{qon} – qondagi qand miqdori mmol/l birligida;

S_{doim} – doimiy eritmadagi glukoza miqdori;

E_{qon} – tekshiruvchi (qon) eritmaning optik zichligi;

E_{doim} – doimiy eritma zichligi.

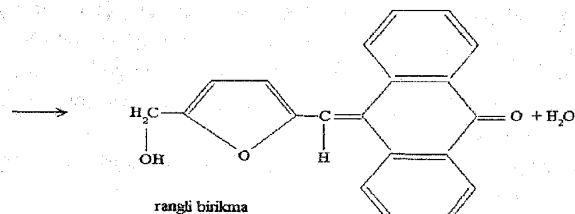
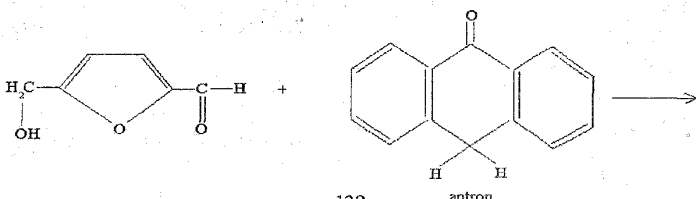
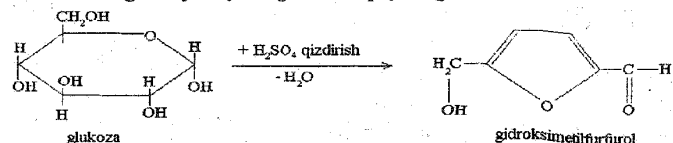
Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, kimyoviy tenglamani, FEK ko'rsatkichlarini va hisoblangan natijani daftaringizga yozib, tegishli xulosa chiqaring.

86-ish. QONDAGI QAND MIQDORINI ANTRON USULI BILAN ANIQLASH

Antron usuli bilan qon tarkibidagi «haqiqiy qandlarni» va poliglukoziidlarni aniqlash mumkin. Bu usul 60-100 mg/dl, 3,3-5,5 mmol/l ga teng bo'lgan qand miqdorini aniqlashga imkon beradi.

Usulning asosi. Glukoza konsentrlangan sulfat kislota ta'sirida hosil bo'lgan gidroksimetilfurfural antron bilan kislotali sharoitda qizdirilganda yengil kondensatsiyalanadi va ko'kimtir-yashil rangli birikma hosil qiladi. Rangning zichligi glukoza miqdoriga to'g'ri keladi.

Usulning kimyoviy tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: yangi olingan qon.

Reaktivlar: UXSK ning 5% li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota, antron reaktivi, yodning spirtli eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, mikropipetkalar, buretkalar, 10 ml sig'imli o'lchov silindr, suv hammomi, FEK va 0,5 sm li kuvetalar, sentrifuga probirkalari, sentrifuga tarozisi, sentrifuga, zar qog'oz.

Bajariladigan ish tartibi. 1. 1,8 ml UXSK eritmasi solingan to'rtta probirkaning ikkitasiga 0,2 ml qon (tekshiruvchi), ikkitasiga 0,2 ml distillangan suv (nazorat) solinadi.

2. Tekshiruv probirkalari oqsilni cho'ktirish uchun daqiqasiga 3000 marta aylanadigan sentrifugaga joylashtirilib, 10 daqiqa aylantiriladi. So'ngra cho'kma yuqorisidan suyuqlik boshqa probirkalarga olinadi. Oqsillarni filtrlash yo'li bilan ham olib tashlash mumkin.

3. Ikkitta probirkaga tekshiruv eritmasidan 0,5 ml, ikkitasiga nazorat eritmasidan 0,5 ml olinib, ustiga asta-sekin 1 ml konsentrlangan sulfat kislota va 2 ml antron reaktivi solinadi. Eritmalar asta-sekin aralashtiriladi. Eritmalar qiziydi. So'ng probirkalar zar bilan berkitilib, qaynab turgan suv hammomida 10 daqiqa qizdiriladi.

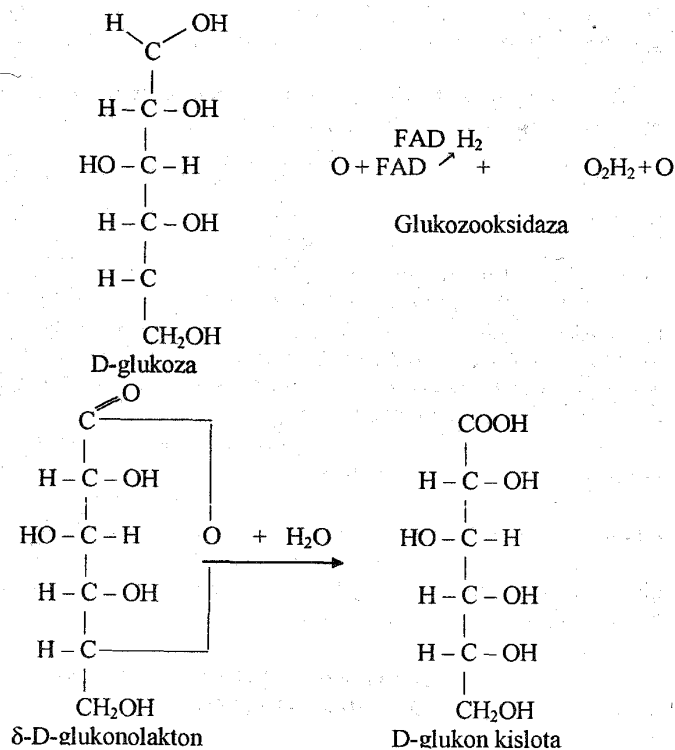
4. Probirkalar suv hammomidan olinib, sovitiladi. So'ng tekshiruv eritmalar nazorat eritmalar qarshisida FEK ning 670 nm to'lqin uzunligida (qizil rang) kolorimetrlanadi. Glukozaning mmol/l birligidagi miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'idan topiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosi, topilgan glukoza miqdori daftarga yoziladi. Natija glukozaning me'yor miqdori bilan solishtiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

87-ish. QONDAGI QAND MIQDORINI FERMENT YORDAMIDA ANIQLASH

Usulning asosi. Glukozooksidaza fermenti ta'sirida glukoza o'ziga xos holda oksidlanadi. Ushbu ferment D-glukozaga nisbatan yuqori

tanuvchanlik xossasini namoyon qiladi. Glukoooksidaza (KF I. 1.3.4) – murakkab ikki qismli ferment bo‘lib, uning faol markazi vazifasini FAD koferment o‘taydi. U FAD glukozaning birinchi uglerod atomidan ikkita vodorodni olib, kislorodga uzatadi va glukozaga ekvimolekular miqdorda vodorod peroksidni hosil qiladi. Natijada glukoza D-glukonolaktonga aylanadi. Hosil bo‘lgan H_2O_2 o‘simlik peroksidazasi ishtirokida o-toluidinni oksidlab, o‘zi qaytariladi va ikki molekula suvga parchalanadi. Qaytarilgan o-toluidin rangsiz, oksidlangani esa och-ko‘kimgir rangli bo‘ladi. Demak, hosil bo‘lgan rangning zichligi glukoza miqdoriga to‘g‘ri keladi. Rangning zichligi FEK da o‘lchanadi.



Tekshiriluvchi material: Yangi olingan qon.

Reaktivlar: Natriy xloridning 0,9% li eritmasi, rux sulfatning 5% li eritmasi, natriy gidroksidning 0,3 mmol/l eritmasi, o-toluidinning 80°C da isitilgan 96% li etil spirtida tayyorlangan 1% li eritmasi, pH i 8,0 bo‘lgan atsetat-sirka bufer eritmasining 0,25 mmol/l miqdori, glukozani aniqlaydigan ishchi reaktiv: pH i – 4,8 bo‘lgan 80 ml 0,25 n sirka bufer eritmasiga 2 mg glukozoooksidaza, 1 mg quruq peroksidaza solingach, 1 ml absolut etil spirtida eritilgan 1% li o-toluidin quyiladi va uning hajmi sirka buferi bilan 100 ml ga yetkaziladi. Eritma qora idishda muzlatgichda saqlanadi. Fermentlar ish boshlanganda qo‘shiladi. Reaktiv xona haroratigacha keltiriladi.

Glukoza 0,5; 1,0; 1,5; g/l (50, 100, 150 mg) miqdori doimiy eritmaları tayyorlanadi. Eritmalar to‘yingan benzooy kislotada tayyorlanadi (to‘yingan benzooy kislotasi 100 mg benzooy kislotani 100 mg suvda eritish bilan tayyorlanadi).

Kerakli anjomlar. 1,0 ml li mikropipetkalar, 1, 2, 5 ml li pipetkalar, shtativ va probirkalar, FEK va 1,0 sm li kuvetalar sentrifuga yoki filtr qog‘ozlar, suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Qon oqsilini cho‘ktirish. Ikkita sentrifuga probirkasiga 0,9% li natriy xlorid eritmasidan 1,0 ml, rux sulfatning 5% li eritmasidan 1,0 ml, natriy gidroksid eritmasidan 0,4 ml solib aralashtiriladi va ustiga 0,1 ml qon quyiladi. Eritmalar yaxshilab chayqatiladi. 10 daqiqadan so‘ng oqsillar daqiqasiga 2500-3000 marta aylanadigan sentrifugada cho‘ktiriladi. Cho‘ktirish jarayoni 10 daqiqaga davom etadi.

2. Toza va quruq probirkaning birinчисiga (tekshiruv) 1,0 ml oqsilsiz qon eritmasi, ikkinчисiga 1,0 ml distillangan suv (nazorat) solinadi. Unga xona haroratida ichitilgan ishchi reaktivdan 3,0 ml solib, probirkalar xona haroratida 15 daqiqa saqlanadi. Bu vaqtda reaksiya natijasida eritmalar rangli tusga kirishadi. Eritmalar ranglarining zichligi 670 nm to‘lqin uzunligida FEK da o‘lchanadi. Tekshiruv eritma nazorat eritmasi qarshisida ko‘riladi. Glukoza miqdori oldindan tayyorlangan o‘lchov egri chizig‘idan topiladi.

O‘lchov egri chizig‘ini tayyorlash. 37°C da quritilgan kimyoviy toza (to‘yintirilgan benzooy kislotada 500 mg glukozasi eritiladi) 1,0 ml doimiy eritma tarkibida 5 mg glukozasi bo‘ladi. Turli miqdordagi glukozasi eritmalarini tayyorlash uchun qator probirkalarga 0,1; 0,5; 1,0; 1,5 ml asosiy glukozasi eritmasi solinadi. Ularning hajmi distillangan suv bilan tenglashtiriladi. Glukoza miqdorini aniqlash yuqorida berilgan ish tartibi asosida olib boriladi. So‘ngra har bir glukozasi eritmasi uchun optik zichlik aniqlanadi. Optik zichlik «E» ordinata o‘qig‘a, glukozaning miqdori absissa o‘qig‘a yoziladi. Tutashgan nuqtalar bo‘yicha chiziq o‘tkaziladi. Shu chiziq o‘lchov egri chizig‘i hisoblanadi.

Ushbu usul qondagi qand miqdorini 3,1-5,2 mmol/l (56-94 mg) qon zardobi va plazmasini 3,05-5,55 mmol/l (55-100 mg), orqa miya suyuqligidagi qand miqdorini, 2,77-3,88 mmol/l (50-70 mg) gacha aniqlashga imkon beradi.

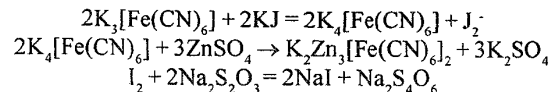
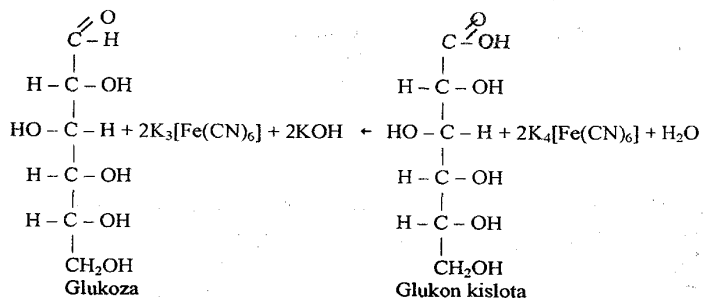
Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, o'lov egri chizig'i tayyorlashni va o'lov egri chizig'i hamda topilgan glukoza miqdorini daftaringizga yozing. Usulning ustunligi nimadan iborat ekanligini ayting.

88-ish. QONDAGI QAND MIQDORINI TITRLASH (XAGEDORN – YENSEN) USULI BILAN ANIQLASH

Xagedorn-Yensen usuli birmuncha kamchiliklarga ega bo'lsada, ushbu usul ayrim biokimyoviy laboratoriyalarida hamon ishlatilmoqda. Usulning kamchiligi shundaki, qon tarkibidagi karbonsuv bo'lmagan moddalar ham glukoza kabi qaytarilishi mumkin, shuning bilan birga glukozaning haqiqiy miqdorini oshirib ko'rsatishi mumkin. Ammo aniqlangan glukoza miqdorining haqiqiy glukoza miqdoridan farqi shundaki, qand kasalligi bilan og'rikan bemorda glukoza ko'rsatkichi o'zgarib turadi, shuning uchun bu usuldan foydalanish mumkin.

Usulning asosi: oqsildan tozalangan, karbonsuv tutuvchi qon eritmasiga ishqoriy sharoitda qizil qon tuzi ta'sir ettirilganda glukozaning birinchi aldegid guruhi oksidlanadi va qizil qon tuzi sariq qon tuziga aylanadi. Reaksiyaga kirishmagan qizil qon tuzi ortiqcha miqdorining kaliy yod bilan o'zaro ta'sirlanishidan yod ajraladi. Ajralgan yod miqdori glukoza miqdoriga to'g'ri keladi. Yod esa giposulfat yordamida titrlanadi.

Usulning kimyoviy tenglamasi quyidagicha:



Qondagi qand miqdori yod bilan titrlash natijasida oldindan xuddi shu sharoitda turli qand miqdorlari bilan o'tkazilgan tajribalar asosida tuzilgan jadvaldan topiladi.

Tekshiriluvchi material: qon.

Reaktivlar: 0,45% li rux sulfat eritmasi; 0,1 mol/l natriy ishqori; 0,005 mol/l qizil qon tuzining ishqoriy eritmasi; (1,65 g), kimyoviy toza qizil qon tuzi distillangan suvda eritilib, 1 l li o'lov kolbasiga o'tkaziladi va 10,6 g oldindan qizdirilgan natriy karbonat tuzidan solinadi hamda distillangan suv bilan bir o'lov gacha yetkaziladi. Eritma qora idishda saqlanadi, xlor-rux-yodli uchlamchi eritma; 50 g rux sulfat; taxminan 250 g natriy xloridda eritilib, 1 l li o'lov kolbasiga o'tkaziladi va distillangan suv bilan o'lov gacha yetkaziladi. So'ngra eritma filtrlanadi. Ritma ishlatilishidan oldin shu eritmada 2,5% li kaliy yod eritiladi; 3% li sirka kisloata eritmasi; kraxmalning to'yingan natriy xloriddagi 1% li eritmasi; 0,005 mol/l giposulfat eritmasi, etil spirti.

Kerakli anjomlar: 0,1 ml li mikropipetkalar, 1, 2, 5 ml li pipetkalar, stakanchalar, kolbachalar, 3-4 sm li voronkalar, mikrobutetka, qaynatilgan ninalar, paxta, suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. To'rtta probirkaga 5 ml dan rux sulfat eritmasi, 1 ml natriy gidroksid eritmasi solinadi. Uning ikkitasiga yangi olingan qondan 0,1 ml (tekshiruv tajriba)dan solinadi. Probirkalar yaxshilab chayqatiladi-da, suv hammomiga 3 daqiqaga qaynatish uchun qo'yiladi. Probirkalar suv hammomidan olinib, toza, quruq probirkalarga ho'langan paxta solingan voronkalar orqali filtrlanadi. Har qaysi probirka distillangan suv bilan bir necha marta chayqatib yuviladi. Shunda probirkalarda qand qolmaydi.

2. Oqsilsiz karbon suv tutuvchi probirkalarning har qaysisiga 2 ml dan titri aniq bo'lgan qon tuzi eritmasi solinadi va qaynab turgan suv hammomida rosa 15 daqiqa davomida qaynatiladi. Shunda qandning aldegid guruhi oksidlanadi.

3. Probirkalar suv hammomidan olinib, sovitiladi. To'rtta stakancha va kolbacha tayyorlanadi. Ularga 3 ml dan uchlamchi eritma, 2 ml sirka kisloata va 2 tomchi kraxmal eritmasi solinadi. Ustiga probirkalardagi oqsilsiz, oksidlangan karbon suv eritmasidan solinib, har qaysi stakan oq qog'oz ustida ko'k rang yo'qolguncha natriy giposulfit eritmasi bilan titrlanadi. Olingan natijalar jadvalga muvofiq hisoblanadi.

Xagedorn-Yensen usuli bo'yicha qand miqdorini aniqlash

Gipo-sulfit	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,258	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,097	0,095	0,093	0,092	0,090
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

89-ish. QON ZARDOBIDAGI SIAL KISLOTA MIQDORINI YANGICHA USUL BILAN ANIQLASH

N-atsetil neyramin kislota unumi bo'lgan sial kislota organizmda muhim ahamiyatga ega bo'lib, u polisaxaridlarning tarkibiy qismi hisoblanadi. Sial kislota glikoproteinlar tarkibiga kiruvchi polisaxaridlarning oxirgi qismiga joylashgan. Glikoproteinlar organizmda himoya va qoplovchi vosita sifatida qo'llaniladi. Ayrim kasalliklarda, jumladan yallig'lanish jarayonlarida birlashtiruvchi to'qimalarni yemirilishga olib keluvchi kasalliklarda (revmatizm, ayrim o'sma kasalliklarida) qon zardobi tarkibida va to'qimalarda sial kislota miqdori o'zgaradi. Shu bois qon zardobi tarkibidagi sial kislota miqdorini aniqlash kasallikning kechishini aniqlovchi ko'rsatkich bo'la oladi. Sog'lom odam qon zardobida sial kislota

miqdorining o'rtacha ko'rsatkichi 0,62-0,73 g/l (62-73 mg/dl) ni tashkil qiladi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: sirka-sulfat reaktivi (95 g sirka kislota va 5 g konsentrlangan sulfat kislota aralashmasi), 10% li sirka sulfat kislota eritmasi; N-atsetil neyramin kislolaning doimiy eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, sentrifuga probirkalari, 1,2 ml li pipetkalar, 10 ml li o'lchov silindrlari, suv hammomi, sentrifuga.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Quruq sentrifuga probirkasiga 1 ml qon zardobi, 1 ml UXSK solinadi va aralashiriladi, probirka usti zar qog'oz bilan berkitilib, qaynab turgan suv hammomiga rosa 5 daqiqaga neyramin kislolaning ajratish uchun qo'yiladi. Probirkalar suv hammomidan olingach, aralashma sentrifugalangani yoki ehtiyotkorlik bilan filtrlanadi.

2. Birinchi (tekshiruv) probirkaga 0,4 ml sentrifugalangan yoki filtrlangan eritma, ikkinchisiga (nazorat) esa 0,4 ml distillangan suv solinadi. Har ikkala probirkaga sirka sulfat reaktividan 5 ml dan solib, usti zar qog'oz bilan berkitiladida, qaynab turgan suv hammomida rosa 30 daqiqa qaynatiladi. Probirkalar suv hammomidan olinib sovitiladi va hosil bo'lgan rangli eritma yashil rangli filtr qarshisida (540 nm to'lqin uzunligida), 1 sm qalinlikdagi kuvetalarda, tekshiruv va nazorat eritmalari fotoelektrokolorimetrda solishtiriladi. Eritmalarning zichligini bilgan holda o'lchov egri chizig'i bo'yicha sial kislota miqdori aniqlanadi.

3. Sial kislotalarni aniqlash uchun o'lchov egri chizig'ini tayyorlash. 0,5 mg 1 ml li doimiy eritmadan 0,05; 0,1; 0,2; 0,3 ml tutuvchi eritmalarning umumiy hajmini distillangan suv bilan 0,4 gacha yetkaziladi. Barcha probirkalarga sulfat – sirka kislota reaktividan 5 ml dan solinib, yuqorida aytilgan yo'l bilan sial kislolaning doimiy eritmalaridagi miqdori aniqlanadi va ko'rsatkichlarga muvofiq o'lchov egri chizig'i tuziladi. Ordinata o'qiga optik zichlik, absissa o'qiga doimiy eritmalardagi sial kislolaning miqdori qo'yiladi. Kesishgan nuqtalar bo'yicha chiziq o'tkaziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Sial kislota miqdori hisoblanadi va sog'lom odam qon zardobi tarkibi bilan solishtiriladi. Sial kislota miqdorini aniqlashning ahamiyatini yoritish.

O'tkazilgan tajribalarga asoslanib quyidagi savollarga javob bering:

1. *Qon va qon zardobidagi oqsil qaysi reaktivlar bilan ajratiladi? Qondagi qand miqdorini aniqlash uchun uni oqsildan tozalashning sababini ayting.*
2. *Qondagi qand miqdori antron, o-toluidin, fermentativ va Xagedorn-Yensen usullari bo'yicha aniqlashning asoslanishini ayting. Nima uchun antron va o-toluidin usuli bo'yicha «haqiqiy glukoza» aniqlanadi, deb hisoblanadi?*
3. *Qondagi qand miqdorini aniqlashning diagnostik ahamiyatini ayting.*
4. *Qondagi qand miqdorini aniqlash usullarining kamchiliklarini va ustunliklarini, usulning qo'llanilishidagi qulayliklar nimadan iborat ekanligini ayting.*
5. *Sial kislota miqdorini aniqlashning ahamiyati nimadan iborat?*

3. KARBONSUV ALMASHINUVIGA GORMONLARNING TA'SIRI

Qondagi qand miqdori markaziy nerv sistemasi (MNS) va endokrin sistemasi tomonidan boshqariladi. Qondagi qand miqdori vaqtincha o'zgarib tursada, uning miqdori me'yorida saqlanadi. Qisqa vaqt qand miqdorining ortishi – giperglukozemiya hayajonlanish, kuchli og'riq natijasida ro'y beradi. Qand miqdorining ortishi qonga adrenalin va kortikotropin gormonlari ajralishi bilan bog'liq. Karbonsuvlarga boy bo'lgan mahsulotlar iste'mol qilinganda ham vaqtincha fiziologik giperglukozemiya kuzatiladi. Turg'un giperglukozemiya holati me'da osti bezining Langergans orolchalarining β -hujayralari shikastlanishi tufayli hosil bo'lgan insulin yetishmovchiligining natijasidir. Qondagi qand miqdorining me'yorida kamayishi gipoglukozemiya holati deyiladi. Bunday holat insulinning me'yorida ko'proq ajralishi (giperinsulinemiya), buyrak usti po'stloq qismining vazifasi (glukokortikoid gormonlarning ajralish) buzilishi natijasida, Addison kasalligida va miyaning qand markazi joylashgan qismida bo'lgan o'sma natijasida ro'y beradi.

90-ish. QONDAGI QAND MIQDORIGA INSULINNING TA'SIRI

Langergans orolchalaridan ishlab chiqariladigan insulin gormoni moddalar almashinuvida katta o'rin tutadi. Insulin hujayra membranasi glukoza va aminokislotalar uchun o'tkazuvchanligini oshiradi. Glukozaning hujayrada, mushaklarda, yog' to'qimasida, jigarda o'zlashtirilishini amalga oshiradi. Insulin qondagi qand miqdorini me'yorga solib turadi. Qandni glukogenga aylanishini tezlashtirib, glikogen parchalanishini susaytiradi. Glukozadan yog' hosil bo'lishini kuchaytiradi. Yog' kislotalarining parchalanishini va aminokislotalardan glukoza hosil bo'lishini susaytiradi. Tajriba hayvonlariga insulin yuborilganda qon tarkibida qand miqdori kamayganligi kuzatiladi.

Tekshiriluvchi material: insulin yuborilishidan oldin va yuborilgandan keyin olingan quyon qoni.

Reaktivlar: tibbiyotda ishlatiladigan insulin (1 ml eritmada 40 TB insulin bo'lishi kerak), sterillangan fiziologik eritma, glukozaning 40% li eritmasi, natriy oksalat tuzi, glukozani aniqlash uchun tanlangan usullardan biriga reaksiyalar.

Kerakli anjomlar: 1,0; 10,0 ml li shpritslar, qon yig'ish uchun idishlar, paxta, qaychi, glukozani aniqlash uchun tanlangan usul bo'yicha kerakli anjomlar.

Bajariladigan ish tartibi. Qon olish. Quyon sochiqqa o'raladi va qon olinadigan qulog'i tuklardan tozalanadi. Nina sanchiladigan joy etil spirti bilan dezinfeksiyalanadi. Qonni ivishdan saqlash uchun 100 ml qonga 0,1 ml natriy oksalat tuzi ishlatiladi. Venada qon ko'proq to'planishi uchun qon olinadigan joyning yuqorisi siqib turiladi va nina venaga kiritilib qon tortib olinadi yoki nina shpritsdan ajratiladi. Tomchilab oqqan qon oksalat tuzi solingan probirkaga yig'iladi. Hammasi bo'lib 4-5 ml qon yig'iladi. Qon natriy oksalat eritmasi bilan ajratib turiladi. Qon olish tugatilgach, nina o'rni spirt bilan artiladi.

Insulin yuborish. Quyon vaznining 1 kg iga 1,5 xalqaro birlikda (ME) insulin eritmasi tayyorlanadi. Odatda 1 ml insulin tarkibida 20-40 birlik insulin bo'ladi. Agar quyonning vazni ortiqcha bo'lsa, 1,5 ME quyon og'irligiga ko'paytiriladi (masalan, quyonning og'irligi 2,5 kg bo'lsa, 1,5x2,5 (ya'ni taxminan 0,1 ml insulin yuboriladi).

Insulin solingan idishning qopqog'i spirt bilan artilgandan so'ng insulin steril shpritsga tortib olinadi. Insulin kukun holatda berilsa, u steril fiziologik eritmada eritiladi. Shpritsdagi havо chiqarilgandan keyin va tuklardan tozalab dezinfeksiyalangandan keyin insulin kerakli joyga yuboriladi. Buning uchun teri chap qo'l bilan ko'tariladi va teri ostiga astagina preparat yuboriladi. Insulin yuborilgan joy spirt bilan artib tashlanadi.

Qondagi qand miqdorini aniqlash uchun tajribaga olingan quyon bir soatga o'z katagida qoldiriladi. Bu vaqtda insulin yuborilguncha olingan qon tarkibidagi qand miqdori aniqlanadi. Qand miqdorini aniqlash uchun ikkita tekshiruv va ikkita nazorat probirkasi olinadi. Bir ozdan so'ng quyohga insulin yuborib, so'ngra qoni olinadi va tarkibidagi qand miqdori aniqlanadi. Insulin yuborilguncha va insulin yuborilgandan keyingi qand miqdori bir-biri bilan solishtiriladi.

Quyondan ikkinchi marta qon olingandan keyin 10 ml 40% li glukoza eritmasi uning terisi ostiga yuboriladi va shuncha eritma rezina naycha orqali ichiriladi. Insulin keragidan ortiqcha yuborilgan bo'lsa, «insulin shoki» (kuchli tirishish alomati) yuzaga keladi. Bu vaqtda quyon venasiga 1 ml adrenalin (1:1000) yoki 40% li glukoza eritmasidan 10 ml yuboriladi.

Natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yozib rasmiylashtiriladi. Natijalar solishtiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

51-jadval

Quyoning vazni	Yuborilgan insulin miqdori, ml	Qondagi qand miqdori, mmol/l	
		Gormon yuborilguncha	Gormon yuborilgandan keyin

91-ish. QONDAGI QAND MIQDORIGA ADRENALIN TA'SIRI

Adrenalin buyrak usti bezidan ajraladigan gormon. Adrenalin glikogenning parchalanishini tezlatadi va hosil bo'lgan glukoza qonga o'tib, qon tarkibidagi qand miqdorini ko'paytiradi. Adrenalin jigaridagi faol bo'lmagan fosforilaza «v» ni faol fosforilaza «a» ga aylanishini va glikogenning parchalanishini tezlatadi. Adrenalin glikogen sintezini susaytiradi.

Tekshiriluvchi material: gormon yuborilguncha va yuborilgandan keyin olingan quyon qoni.

Reaktivlar: adrenalinning 0,1% li steril eritmasi, steril fiziologik eritma, etil spirti, natriy oksalat, tanlangan usul bo'yicha glukozani aniqlash uchun kerakli barcha reaktivlar.

Kerakli anjomlar: qaychi, 2 ml li shprits, qon yig'ish uchun probirka, mikropipetkalar, paxta, qandni aniqlash uchun kerakli asboblار.

Bajariladigan ish tartibi: Ishning borishi insulin bilan o'tkazilgan tajribadagi kabi quyonning 1 kg vaznga 0,37 ml 1:1000 adrenalin yuboriladi. Qon adrenalin yuborilgandan 30 daqiqa o'tgach olinadi va uning tarkibidagi qand miqdori aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi va gormon yuborilguncha hamda yuborilgandan keyingi qand miqdori biri-biri bilan solishtiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

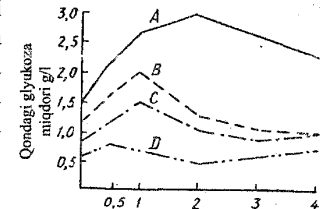
52-jadval

Quyoning vazni	Adrenalin miqdori, ml	Qondagi qand miqdori, mmol/l	
		Gormon yuborilguncha	Gormon yuborilgandan keyin

92-ish. QONDAGI QAND MIQDORINI QO'SHIMCHA QAND BERGANDA O'ZGARISHINI KUZATISH

Karbonsuvlar almashinuvi buzilishini aniqlashda qo'shimcha qand ta'sirini o'rganish katta ahamiyatga ega. Sog'lom organizmga 50-100 g glukoza yuborish natijasida qondagi qand miqdori ortadi. Ammo vaqt o'tishi bilan qon tarkibidagi qand yana o'z holatiga qaytadi.

Qandli diabetning yashirin turida qo'shimcha qand yuborilgandan keyingi giperglukozemiya holati ancha vaqtgacha yuqoriligicha



10-rasm. Ortiqcha qand berilganda qand egri chizig'i.

A - qandli diabet; B - gipertireoz; S - me'yor; 0 - Addison kasalligi, giiotireoz yoki giperinsulinsiya

turadi. Bunga sabab glukozaning glikogenga aylanishga ulgurmaganligidir. Demak, glukozaning qondagi miqdori ortishiga javoban insulin gormoni ishlab chiqarilishi buziladi. Odatda glukozaning qondagi ortiqcha miqdori 90-120 daqiqa ichida o'z xoliga keladi. Lekin ayrim kasalliklarda, masalan, qandli diabetda, akromegaliya, gipertiroz, gepatit, jigar sirrozi va glikogen kasalliklarida qondagi qand miqdori keskin ko'tarilgan bo'lsa (22,2 mmol/l), uning asli xoliga qaytishi ancha susayadi.

Tekshiriluvchi material: qo'shimcha qand bermasdan va qand berilgandan 30, 60, 90, 120, daqiqa o'tgach olingan qon.

Reaktivlar: tanlangan glukozani aniqlash usuliga reaktivlar.

Kerakli anjomlar: tanlangan usulga oid asbob-uskunalar.

Bajariladigan ish tartibi: 1. Qon barmoqdan nahorga olinadi. So'ngra 100 g shakar eritilib, bemorga ichiriladi yoki 1 kg vazniga 1,0-1,5 g hisobidan glukozaga eritmasi venaga yuboriladi. Qo'shimcha qand yuborilgandan so'ng qon har 30, 60, 90, 120 daqiqada aniqlaniladi. Olingan natija asosida egri chiziq chiziladi. Buning uchun absissa o'qiga qon olingan vaqt, ordinata o'qiga esa topilgan qon miqdori mmol/l hisobida yoziladi. Tutashgan nuqtalar orasidan chiziq o'tkaziladi. Bu chiziq «qand egri chizig'i» deyiladi. Qand egri chizig'ini analiz qilishda: a) boshlang'ich qand miqdori; b) qon tarkibidagi qand miqdorini oshish tezligi va uning maksimal ko'tarilish darajasi; g) giperglukozemiyaning davomiyliги va pasayish tezliklari e'tiborga olinadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar asosida «qand egri chizig'i» ni chizing. Aytilgan o'zgarishlarga tegishli xulosa chiqaring. Kitobda berilgan qand egri chizig'iga e'tibor bering (10-rasm).

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Qand egri chizig'i qanday tuziladi?
2. Nima uchun qand miqdorini aniqlash uchun parallel tajribalar o'tkaziladi?
3. Sog'lom va bemor odamda «qand egri chizig'i» qanday farqlanadi?
4. Insulin yuborilgandan keyin qon tarkibidagi qand miqdorining kamayishi qanday tushuntiriladi?
5. Adrenalin yuborilgandan keyin qon tarkibidagi qand miqdorining ortishi qanday tushuntiriladi?

4. KARBONSUVLAR ALMASHUVINING OXIRGI MAHSULOTLARINI ANIQLASH

Karbonsuvlar yuqorida qayd etilganidek anaerob sharoitda sut kislotagacha parchalanadi. Aerob sharoitda esa to'liq parchalanadi. Bunda glukozaga ikkita triozaga parchalangani uchun bu yo'l dixotomik parchalanish deyiladi. Dixotomik yo'l asosan uch bosqichda amalga oshadi. 1-bosqichda glukozaga fosforlangandan so'ng triozalarga va pirouzum kislotagacha parchalanadi. 2-bosqichda hosil bo'lgan pirouzum kislotaga va faol sirka kislotaga atsetil-KoA ($\text{CH}_3\text{CO} - \text{S KoA}$) ga aylanadi. 3-bosqichda esa atsetil KoA Krebs xalqasida CO_2 , H_2O va nafas olish zanjiri uchun substratlarini hosil qiladi. 3-bosqich hujayra mitoxondriyasida amalga oshiriladi. Ayrim kasalliklarda oraliq mahsulot – PUK ning miqdori keskin ortishi kuzatiladi. Bu holat PUK ni atsetil KoA ga aylanishida kofermentlik vazifasini o'tovchi vitaminlar yetishmovchiligida kuzatiladi. PUK miya to'qima va hujayralarida ko'p to'planib, MNS ga zaharli ta'sir ko'rsatadi. Shuningdek, PUK miqdori qandli diabet kasalligida, yurak faoliyati susayishida (beri-beri) polinevitrida, gipofiz-adrenalin sistemasi faolligi ortishida (giperfunksiya) kuzatiladi. Ayrim dorilar ta'sirida ham PUK ning miqdori keskin ortadi. Masalan, kamfora va strixinin shunday ta'sir ko'rsatadi. Narkoz ta'sirida esa, aksincha, qon tarkibidagi PUK ning miqdori kamayadi. PUK ning qondagi miqdorining ortishi siydik bilan ajraladigan PUK miqdori ortishi bilan birga kechish mumkin. Bir kunlik siydik tarkibida 113,7-283,9 mkmol/l (10-25 mg) PUK ajraladi. PUK ning qon va siydik tarkibidagi miqdorni aniqlash amaliy va nazariy ahamiyatiga ega.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Pirouzum kislotaga miqdorini aniqlash uchun qanday usullardan foydalanish mumkin?
2. Usullarning asosini va kimyoviy tenglamasini yozing.
3. Pirouzum kislotaga miqdorini o'lchash qanday ahamiyatga ega ekanligini tushuntiring.
4. Pirouzum kislotaning atsetil-KoA ga aylanishida qanday ferment va kofermentlar ishtirok etadi? Reaksiyalarning ketma-ketligini yozing.

Quyidagi masalalarni yeching:

1. Qandli diabet kasalligini aniqlash uchun 6-7 yoshdagi bola qoni tarkibidagi qand miqdorini o'lchang. Qon olishdan oldin bola juda bezovtalanib, yig'laydi. Tekshirilganda bola qonidagi qand miqdori me'yoridan ortiq ekan. Ushbu ko'rsatkichga asoslanib, bola qandli diabet bilan og'rigan degan xulosa chiqarish mumkinmi? Xulosangizni izohlab bering.
2. Yaqqol ifodalangan qandli diabet bilan og'rigan keksa yoshdagi odam to'satdan hushidan ketdi (diabet komasi vujudga kelgan). Laboratoriya ko'rsatkichisiz shifokor komani qanday ta'riflashi mumkin?
3. Qandli diabet bilan og'rigan bemorga karbonsuvlarga boy mahsulotlarni kamroq iste'mol qilish tayinlandi. Ma'lum vaqt o'tgach, uning qonidagi qand miqdori me'yoriga kelgani aniqlandi. Karbonsuvlar kam miqdorda iste'mol qilinganda qanday qilib qon tarkibidagi qand miqdori me'yorida saqlandi?
4. Semirishga moyil bo'lgan odamga karbonsuvlarni kamroq iste'mol qilish va jismoniy mashg'ulot bilan shug'ullanish tavsiya qilindi. Buning sababini tushuntiring.
5. Bemorning qonidan fruktoza-1-fosfat aldoza fermenti topildi.
 - a) Qon tarkibida fruktoza-1-fosfat aldoza topilishi jigarning qanday kasallik bilan og'riganligini bildirishi mumkin;
 - b) Fruktoza-1,6-difosfat aldoza va fruktoza-V-fosfat aldolaza fermentlari ta'sirining farqi qanday?
6. Shifoxonaga davolanish uchun joylashtirilgan bola ko'z kataraktasi bilan og'rigan. Unda ovqatlanish tartibi buzilgan va u yetarlicha ovqatlanmagan. Sut iste'mol qila olmaydi. Aqliy jihatdan zaifligi aniqlandi. Qon va siydigi tarkibida galaktoza borligi, siydik bilan aminokislotalar va oqsil ajralishi kuzatildi.
 - a) Bunday o'zgarishlarni qanday tushuntirish mumkin?
 - b) Bemorga qanday yordam ko'rsatish mumkun?
7. Birlamchi revmatizm bilan og'rigan bola shifoxonaga yotqizildi. Biokimyoviy analiz uning qon zardobidagi glukoza-6-fosfotaza fermenti faolligi birmuncha ortganini ko'rsatdi.
 - a) Sog'lom odamda bu ferment qanday faollikka ega?
 - b) Qaysi a'zolarida bu fermentning faolligi yuqori darajada bo'ladi?
 - d) Nima uchun bolaning qonida bu ferment paydo bo'ladi?

8. Bemorning siydigida pirouzum kislota miqdori ortganligi aniqlandi. Bemor qanday kasallik bilan og'rigan? Nima uchun uning siydigida pirouzum kislota miqdori ortdi?
 - a) PUK miqdori ortishga sabab nima?
 - b) PUK ni atsetil KoA ga aylanishda qanday kofermentlar ishtirok etadi? Bu kofermentlar tarkibiga qanday fermentlar kiradi?
 - d) Vitamin B, qo'llanilishiga sabab nima?
9. Shifoxonaga yotqizilgan bemorning qonida sial kislota me'yoridan ortganligi aniqlandi. Buning sababini qanday tushuntirish mumkun va qanday kasallik haqida fikr yuritish kerak?
10. Shifoxonaga joylashtirilgan bemor og'ir kamqonlik holatida edi. Uning qoni tarkibidagi glukoza-6-fosfat digidrogenaza fermentining faolligi birmuncha kamayganligi aniqlandi. Bu ferment qanday reaksiyani katalizlaydi? Bemorda kamqonlik rivojlanishiga sabab nima?

YOG' ALMASHINUVI

Yog'lar (lipidlar) odam organizmining zarur tarkibiy qismi hisoblanadi. Ularga neytral yog'lar – triasilgliceridlar va yog'simon moddalar (lipidlar), fosfolipidlar, steroidlar, prostoglandinlar kiradi.

Yog'lar organizmda juda ko'p muhim vazifalarni bajaradi. Eng oddiy tuzilishga ega bo'lgan yog' kislotalar organizmda yog'lar parchalanishi va sintezda ishtirok etuvchi oraliq mahsulotdir. Ular asosiy energiya manbai hisoblanadi. Neytral yog'lar asosiy energiya manbai bo'libgina qolmay, balki himoya vazifasini ham bajaradi.

Fosfolipidlar va glikolipidlar hujayra membranasi tarkibiga kiradi. Ular retseptorlik vazifasini bajaradi. Nerv impulsini o'tkazishda qatnashadi va immunitet holatini ta'minlaydi.

Steroidlar vakili hisoblangan xolesterin hujayra membranasi tarkibiga kiradi. Ulardan o't kislotalar, steroid gormonlar, vitamin D₃ hosil bo'ladi. Prostoglandinlar yog' kislota mahsuloti bo'lib, moddalar almashinuvini boshqarishda ishtirok etadi.

Yog'lar ayrim vitaminlarni (A, D, E, K) organizmga yetkazib beradi. Yog'lar tarkibidagi o'rnini almashtirib bo'lmaydigan, yog' kislotalar (linol, linolen va arahidon) vitaminlik xossasini namoyon qiladi. Ular vitamin «F» nomi bilan yuritiladi.

Katta yoshdagi odam bir kunda 80-100 g hayvon yoki o'simlik yog'i iste'mol qilishi kerak. Keksa va kamharakat odamlarning yog'ga bo'lgan ehtiyoji birmuncha kam. Muddatdan oldin tug'ilgan chaqaloqlarning yog'ga bo'lgan ehtiyoji o'z vaqtida tug'ilgan chaqaloqlarniki bilan bir xil (5,0-6,5), lekin ularning to'yingan yog'larga bo'lgan talabi cheklangan. Bu me'da osti bezi va jigar tashqi sekretor funksiyasining nisbiy yetishmovchiligiga bog'liq. Bolaning yog'ga bo'lgan ehtiyoji 1 g vazniga 0,80-1,50 g ni tashkil qiladi.

Uzoq muddat och qolgan, qandli diabet kasalligida yog' almashinuvining buzilishi kuzatiladi. Shu tufayli yog'lar va ularning oraliq mahsulotlarini o'rganish katta amaliy va nazariy ahamiyatga ega.

Bo'limning maqsadi

1. Yog'larning organizmda bajaradigan vazifasi, o'ziga xos xususiyatini tushunish uchun ularning tuzilishi va xossalarini o'rganish.
2. Jigar va o't yo'llari kasalliklarining kelib chiqish sabablarini aniqlash uchun yog'larning organizmga singishini o'rganish.
3. Ayrim kasalliklarni aniqlash maqsadida yog' almashinuvi, qondagi yog' miqdorini o'lchash usullari bilan tanishtirish.

YOG'LARNING TUZILISHI, PARCHALANISHI VA SO'RILISHI

Yog'lar suvda erimaydigan, ammo organik moddalarda yaxshi eriydigan birikmadir. Yog'larning singishida o't kislotalarning natriyli tuzi muhim ahamiyatga ega. Ular yog' va suv orasida sirt tarangligini kamaytiradi va ularning mayda zarrachalarga aylanishini amalga oshiradi. Faol bo'lmagan lipazani faol lipazaga aylantiradi. Uzun zanjirli, yuqori yog' kislotalari so'rilishini osonlashtiradi.

O't kislotalar ikki turga bo'linadi.

1. Toq o't kislotalar. Ular xolat, dezoksixolat, xenodezoksixolat kislotalardir.
2. Juft o't kislotalar – glikoxolat, glikodezoksixolat, glikoxenodezoksixolat, tauroxolat, taurodezoksixolat, va tauroxenodezoksixolat kislotalardir.

93-ish. O'T KISLOTALARGA SIFAT REAKSIYA

Tekshiriluvchi material: o't

Reaktivlar: oltingugurt kukuni, sulfat kislolaning konsentrlangan eritmasi, yangi tayyorlangan saxarozaning 10% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, shtativlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Suvning sirt tarangligiga o'tning ta'siri. 1-2 ml suv solingan probirkaga bir chimdim oltingugurt solinadi. Kukun suv bilan aralashmay, suv yuzasida qoladi. Ikkinchi probirkadagi 1-2 ml suvga 5-10 o't suyuqligi tomizilib aralastiriladi,

so'ngra bir chimdim oltingugurt kukuni solinsa, u cho'kadi. Bu o't suyuqligi tarkibidagi o't kislota tuzlarining suv tarangligi susayganligini ko'rsatadi. Demak, o't kislotalari yog'-suv orasidagi sirt tarangligini kamaytiradi va yog'larning suvda erishini osonlashtiradi. O't suyuqligiga ho'llangan filtr qog'ozdan yog' yaxshi o'tadi, o't kislotalariga ho'llanmagan qog'ozdan esa yog' o'ta olmaydi.

2. O't kislotalariga Peten-Kofer reaksiyasi. Probirkaga solingan 10-20 tomchi konsentrlangan sulfat kislota o't suyuqligi (bir tomchi yangi tayyorlangan shakar eritmasi bilan o't aralashtirib olinadi) solinadi. Eritmalar oralig'ida (bo'linish chegarasida) qizil-binafsha xalqa hosil bo'ladi (bu o't kislota cho'kmasidir).

Ikkala suyuqlik asta-sekin (eritmalar o'z-o'zidan qiziydi, uning 70°C dan ortiq qizishiga yo'l qo'ymaslik kerak) aralashtirilganda olcha-qizil rangga kiradi. Kuzatilgan rang saxarozaning sulfat kislota bilan ta'sirlanib oksimetilfurfuroлга aylanishi va xolat kislota bilan o'zaro ta'sirlanishi natijasidir.

Eslatma. 70°C dan ortiq qizdirilganda ko'mirlanish hodisasi ro'y beradi va eritmaning rangi qorayadi.

94-ish. TUXUM SARIG'IDAN LETSITIN VA KEFALINNI AJRATIB OLISH VA ULARNING TARKIBIY QISMLARIGA SIFAT REAKSIYALARINI O'TKAZISH

Fosfatidilholin va fosfatidiletanolaminlar tuxum sarig'idan spirt yordamida eritib olinadi. So'ng ular gidrolizlanadi. Gidrolizat tarkibidagi mahsulotlar sifat reaksiya yordamida aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: tuxum sarig'i

Reaktivlar: quruq tuxum sarig'i (kukuni), etil spirti, atsetonning 10% li eritmasi, kaliy yod eritmasida eritilgan yod, sirka kislota ning konsentrlangan eritmasi, temir (II) sulfat tuzi, vodorod perioksidning 15% li eritmasi, nitrat kislota da tayyorlangan ammoniy molibdat eritmasi.

Kerakli anjomlar: qaytar sovitgich o'rnatilgan probirkalar, pipetkalar, buyum va qoplagich oynachalar, chinni idishlar, tarozi va mikroskop.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Letsetin va kefinlarni tuxum sarig'idan ajratish. Havoda quritilgan 1 g tuxum sarig'i qaytar sovitgich

o'rnatilgan probirkaga solinadi. Uning ustiga 5 ml etil spirti quyib 70-75°C gacha isitilgan suv hammomiga joylashtiriladi. Probirkadagi suyuqlik qaynagandan boshlab, vaqti-vaqti bilan 10 daqiqa davomida chayqatib turiladi. Bu jarayonda tuxum sarig'i letsetinlari, kefalinlari va qisman pigmentlari erigan holatga o'tadi. Spirtli eritma sariq rangga bo'yaladi, tuxum sarig'i esa rangsizlanadi (spirtning bug'langan qismi to'ldirib turiladi). Ya'ni hajm bir me'yorda saqlanadi. Probirkadagi eritma buklangan qog'oz filtri orqali toza probirkaga o'tkaziladi. Filtrat tiniq bo'lishi kerak.

2. Letsetin va kefalinlarni parchalash (gidrolizlash) hamda ularning tarkibiy qismlariga sifat reaksiyalari o'tkazish 1-2 ml spirtli ekstraktga shuncha miqdorda sulfat kislota eritmasi quyib, 10-15 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi. Letsetin tarkibiy qismlarga parchalanadi. Bunda erkin xolin, yog' kislota, fosfat kislota va glitserin hosil bo'ladi. Vaqt o'tgach, probirka suv hammomidan olinib, sovitiladi. Uning yuzasida yog' tomchilari qalqib yuradi. Bular yog' kislota dir.

a) Gidrolizat tarkibidagi xolinni aniqlash uchun shisha oynachaga kichik gidrolizat tomchisi olinadi va ustiga kaliy yod eritmasida eritilgan yoddan kichik tomchi tomiziladi. Tomchilar qoplagich oynacha bilan qoplanadi. Mikroskop ostida qo'ng'ir rangli xolin kristallari hosil bo'ladi.

b) Qolgan ekstrakt chinni kosachaga solinib, suv hammomida bug'latiladi. Qolgan quruq qismi konsentrlangan sirka kislota ning bir nehca tomchisida eritiladi. Uning ustiga temir (II) sulfat kristallari qo'shiladi. Eritmaga 1 ml vodorod peroksid solib, ozgina qizdiriladi. Bunda fosfat kislota ajraladi. Ekstrakt filtrlanadi. Fosfat kislota ni aniqlash uchun bir tomchi filtrga 1 ml konsentrlangan nitrat kislota va ortiqcha miqdordagi (5-6 ml) ammoniy molibdatning nitrat kislota da tayyorlangan eritmasidan solib qizdiriladi. Bunda ammoniy fosfomolibdatning sariq rangli cho'kmasi hosil bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga o't kislota ning nomini, bajaradigan vazifasi hamda reaksiya natijasini yozing.

Letsetinni ajratish usuli va tarkibiy qismlarga sifat reaksiyalar jadvalga muvofiq rasmiylashtiriladi.

Gidroliz mahsulotlari	Ishlatilgan reaktivlar	Reaksiya mahsuloti	Reaksiyaning asosi

95-ish. MIYA XOLESTERININI AJRATISH VA UNGA SIFAT REAKSIYALARI O'TKAZISH

Vazni 70 kg bo'lgan odam organizmida 140 g xolesterin bo'ladi, ya'ni y 0,2% ni tashkil qiladi. Xolesterin hujayra va to'qimalarning muhim tarkibiy qismidir. To'qimalarda erkin xolesterin va uning yog' kislotalar bilan hosil qilgan efirlar – oleixolesterin uchraydi. Bir kunda odam oziq-ovqat mahsulotlari bilan o'rtacha 0,4-0,5 g xolesterin iste'mol qiladi. Ammo xolesterinning ko'proq qismi organizmida sintezlanadi (kuniga 0,7- 1,0 g). Ayniqsa, miya to'qimalar xolesteringa boy bo'ladi.

Xolesterin asosan hujayra membranasi tarkibiga kiradi va membrananing qattiq yumshoqligini ta'minlaydi. Hujayra membranalarining organik eritmalar bilan ishlov berilishi natijasida xolesterin eritmaga o'tadi, ya'ni ekstraksiyanadi. Xolesterinni aniqlash uchun konsentrlangan sulfat kislotadan foydalaniladi, ya'ni ular to'yinmagan uglevodorodlarga aylantiriladi. Hosilalar sulfat kilsota va sirka angidrid bilan rangli birikma hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: miya to'qimasi.

Reaktivlar: mis (II) sulfat tuzi, xloroform, konsentrlangan sulfat kislotaga, konsentrlangan sirka kislotaga, sirka angidridi.

Kerakli anjomlar: quruq probirkalar va shtativlar, voronkalar, pipetkalar, shisha tayoqchalar, shisha oynachalar, filtrlar, skalpei filtrlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1g miya to'qimasi 2-3 g mis (II) sulfat bilan chinni hovonchada quyuq qiyma hosil bo'lguncha eziladi. Hosil bo'lgan qiyma skalpel yordamida shisha oynacha ustiga ingichka qatlam qilib yoyiladi va 60°C da quritiladi. Shisha oynacha alangadan ancha yuqorida tutilishi kerak. Mis sulfat bilan quritilgan miya to'qimasi skalpel bilan asta-sekin qirib olinadi va probirkaga solinadi. Uning ustiga 5 ml xloroform quyiladi. Xolesterin xona haroratida 5 daqiqa ekstraksiyanadi. Ekstrakt quruq probirkaga filtrlanadi va ikki qismga bo'linadi, ularga sifat reaksiyalari o'tkaziladi.

Zalkov reaksiyasi. 1 ml miya ekstraktiga shuncha miqdorda konsentrlangan sulfat kislotaga solib aralashtiriladi. Eritma bir oz tingandan keyin suyuqliklarning yuqori xloroformli qavati qizil rangga, pastki sulfat kislotaga qavati esa sariq qizg'ish, yashil fluorissensiyalovchi rangga bo'yalganligi kuzatiladi. Suyuqlikning yuqori qismi olib tashlangach, pastki qismga konsentrlangan sulfat kislotaga quyilsa, eritma pushti- qizil rangga bo'yaladi, flurissensiya hosil bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini va olingan natijani jadvalga mufoviq rasmiylashtiring.

Sifat reaksiya	Ishlatilgan reaktivlar	Kuzatilgan rang	Xulosa

96-ish. ME'DA OSTI LIPAZASI TA'SIRINI TEKSHIRISH. LIPAZA FAOLIYATINING O'T SUYUQLIGIGA BOG'LIQLIGI

Yog'larning parchalanishi asosan ingichka ichakda, me'da osti bezidan ajralgan lipolitik fermentlar ta'sirida amalga oshiriladi. Lipazalarning turlari bir necha xil. Ularning biri triatsilglitseridning alfa holatidagi efir bog'lariga bog'liq, qolganlari esa eta holatidagi efir bog'larining parchalanishini tezlatadi. Triatsilglitseridlarning parchalanishi bosqichma-bosqich boradi; avvalo ferment alfa, va alfa bog'larini, so'ngra ancha sekinlik bilan betta monoatsil glitserin bog'larini parchalaydi. Hosil bo'lgan mahsulotlar; monatsil, diatsilglitseridlar, glitserin va yog' kislotalari ingichka ichak devorlariga so'riladi.

Yog'larning singishida va so'rilishida o't kislotalar muhim ahamiyatga ega. Ular yog'larni emulsiya holatiga, faol bo'lmagan lipazani faol holatga o'tkazadi, so'rilmaydigan yog' kislotalarning so'rilishini osonlashtiradi.

Lipaza ta'sirini kuzatish uchun yangi muzlatilgan me'da osti bezining suvli yoki glitserinli eritmasi ishlatiladi. Lipaza ta'sirini tekshirish uchun lipazaning yog'li aralashmasi tayyorlanadi. Tajriba davomida yog'ning parchalanishi natijasida hosil bo'lgan yog' kislotaga

miqdori aniqlanadi. Yog' kislotasi miqdori fenolftalein ishtirokida 0,01 mol/l natriy gidroksid eritmasi bilan neytrallangan (titrlash) da aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: me'da osti bezidan olingan lipazaning glitserinli ekstrakti yoki maydalangan me'da osti bezi.

Reaktivlar: o'n marta (1:10) suyultirilgan sut yoki o'simlik yog'i, o't suyuqligi, fenolftalein, 0,01 mol/l natriy gidroksid eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: 25 ml li kolbalar, 10 ml li o'ichov silindrlari, probirkalar, pipetkalar, stakanchalar, buretkalar, mikroburetkalar, 38-40°C li termostat yoki suv-hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 3 ta probirkaga tayyorlanadi. Ularning 2 tasi tekshiruv, 1 tasi nazorat tajriba uchun ishlatiladi. Ish tartibi jadvalga binoan o'tkaziladi.

55-jadval

Suyuqlik aralashmalari	1-tajriba	2-tajriba	Nazorat
1:10 suyultirilgan sut, ml	10,0	10,0	10,0
Me'da osti bezining glitserinli eritmasi, ml	1,0	1,0	1,0
O't suyuqligi, ml	-	1,0	1,0
Distillangan suv, ml	1,0	-	1,0

2. Tayyorlangan inkubatsion aralashma suyuqliklari yaxshilab aralashtiriladi. So'ngra har qaysi probirkadan 2 ml aralashma titrlash uchun stakanchalarga olinadi. Ularga 1-2 tomchi fenolftalein eritmasi qo'shib och pushti rang hosil bo'lguncha natriy gidroksid eritmasida titrlanadi.

3. Probirkada qolgan aralashma 38-40°C li termostatga joylashtiriladi va har 15, 30, 90 daqiqada aralashmalardan 2 ml stakanga olinib, natriy gidroksid eritmasi bilan titrlanadi. Titrlash vaqti va sarflangan natriy gidroksid miqdori jadvalga yoziladi.

Lipazaning ta'siri boshlanishidan oldin olingan birinchi titrlashning natijasidan ayriladi.

4. Olingan natijalar asosida egri chiziq chiziladi, absissa o'qiga vaqt (daqiqa), ordinata o'qiga esa sarflangan natriy gidroksid miqdori bilan ifodalangan lipaza faolligi keltiriladi. O't ishtirokida va o't suyuqligisiz aniqlangan lipaza faolliklari solishtiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosini, egri chiziqni va xulosangizni yozing.

56-jadval

Inkubatsion vaqti, daqiqalarda	Titrlash uchun sarflangan natriy gidroksid, ml		
	1- tekshiruv o't suyuqligisiz	2- tekshiruv o't suyuqligi bilan	Nazorat
15			
30			
90			

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Yog'larning organizmda bajaradigan vazifasi va ahamiyatini ayting.
2. Yog'larning singishi uchun qanday shart-sharoitlar talab qilinadi?
3. O't kislotalarining yog'larning singishidagi va so'rilishidagi ishtiroki, qanday o't kislotalarini bilasiz?
4. O't kislotalarining organizmda aylanshini tushuntiring.
5. Qaysi kasalliklarda yog'larning parchalanishi va so'rilishi buziladi, bunga sabab nima?
6. Yog'larning singishida qaysi fermentlar ishtirok etadi?
7. Yog'larning so'rilishi va ichak devorida qayta sintezlanishi.
8. Xolesterinlig organizmdagi vazifasi.

YOG'LARNING ORALIQ ALMASHINUVI

97-ish. QON ZARDOBIDAGI ERKIN YOG' KISLOTALARINI ANIQLASH

Qon tarkibida 640-880 mg/dl (640-880 mkg ekv/l) erkin yog' kislotalari bo'ladi. Yangi tug'ilgan chaqaloqlar organizmidagi yog'lar (triatsilglitserid) tarkibida ko'pincha palmitin va palmitoolein kislotasi bo'ladi, linolen kislotasi esa kamroq bo'ladi. Shu bilan katta yoshdagi odam yog'laridan farqlanadi. Chaqaloqlar qon zarbobida bir yoshdan oshgan bolalar va kattalarga nisbatan erkin yog' kislotalari miqdori ko'proq bo'ladi. Bu esa ulardagi yog'larning parchalanishi va organizmning energiyasiga bo'lgan ehtiyojini qondiradi.

Chaqaloqlar va katta yoshdagi odam organizmidagi yog'larning tarkibi, xususiyati

Yog' tarkibi	chaqaloqlarda	kattalarda
Olein kislota	68,0	90,0
Palmintin kislota	29,0	8,0
Stearin kislota	3,0	2,0
Yog'larning erish nuqtasi, °C	43,0	17,5
Yod miqdori	43,4	65,0

Qandli diabet kasalligida, organizmga adrenalin yuborilgandan keyin va uzoq muddat och qolganda erkin yog' kislotalar miqdori me'yoridan ortiq bo'lishi kuzatiladi. Erkin yog' kislotalar albuminlar bilan bog'langan holda tashiladi. Qonda glukoza va insulin miqdori ortganda, u kamayadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: palmintin kislolaning doimiy eritmasi (25,6 mg palmintin kislota xloroformda eritilib, hajmi 100 ml gacha yetkaziladi. 1 ml eritma tarkibida 0,256 mg palmintin kislota bo'ladi) xloroform, mis reaktivi (reaktivlarning tayyorlanishiga qarang) natriy dietilokarbomatning (butanolda haydalgan) 0,1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: sentrifuga, FEK va kuvetalar, 1 va 5 ml li o'lchov pipetkalari, shisha tayoqchlar.

Bajariladigan ish tartibi. Qopqog'i zich berkiladigan probirkalarning biriga 0,5 ml qon zardobi, ikkinchisiga 1 ml xloroformda eritilgan palmitin kislota eritmasi solingan probirkaga esa 4,5 ml xloroform solib, barcha probirkalarga 2,5 ml dan mis reaktivi qo'yiladi. 5 ml xloroformga 2,5 ml mis reaktivi solinadi. Probirkalar berkitilib, 3 daqiqa chayqatiladi. So'ngra eritmalar sentrifuga probirkalariga o'tkaziladi va daqiqasiga 3000 marta aylanadigan sentrifugada 15 daqiqa aylantiriladi. Probirkalardagi suyuqliklar 3 qavatga ajraladi: xloroform, oqsil va suv. Yuqoridagi suv qavat (faza) mis reaktivining ortiqcha miqdorini tutadi. Bu qavat asta-sekin olib tashlanadi. Oqsil parda devor tomon suriladi, xloroform qismi esa boshqa probirkalarga olinadi. Shu xloroform qavatida yog' kislotalar erigan bo'ladi. Xloroform tutgan probirkalarga 0,5 ml 0,1 % li dietilokarbomatning natriyli tuzidan va butanoldagi eritmasidan quyiladi va aralashtiriladi. Tekshiruv va doimiy – standart eritmalar yashil nur filtri qarshisida 5

mm li kuvetlarda nazorat eritmalar bilan solishtirilgan holda kolorimetrlanadi.

Erkin yog' kislota miqdori quyidagi tenglamaga binoan hisoblanadi.

$$x = \frac{E_{\text{tekshiruv}} \cdot 1000}{E_{\text{doimiy}} \cdot 0,5} \text{ mkmol/l}$$

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar daftarga yoziladi va tegishli xulosa chiqariladi.

98-ish. QON ZARDOBI TARKIBIDAGI YOG'LARNI ANIQLASH

Ba'zi kasalliklarda yog' almashinuvining buzilishiga xos bo'lgan xususiyatlarni aniqlashda yog'larning oraliq mahsulotlari miqdorini o'rganish va bilish katta ahamiyatga ega. To'qimalarda uchraydigan barcha yog' fraksiyalari qonda ham bo'ladi. Qo'shimcha laboratoriya diagnostikasi uchun qon tarkibidagi umumiy yog'lar, triatsilglitseidlar, yog' kislotalar, xolesterin va uning efirlari va boshqa ko'rsatkichlari aniqlanadi.

Bolalarning qon zardobi tarkibidagi yog'lar kattalarnikidan sifati va miqdori bilan farq qiladi.

58-jadval

Qon zardobidagi yog'larning yoshiga qarab o'zgarishi

Yog' fraksiyalari	Yangi tug'ilgan bolalarda	Kichik yoshdagi bolalarda	Katta yoshdagi bolalarda
Umumiy yog'lar, g/l	2700-4700	4000-6000	4500-7000
Neytral yog'lar, g/l	900-1500	1700	500-3000
Erkin yog' kislotalar, mekv/l	1,2	0,6	0,6
Fosfatidlarning fosfori, g/l	30-50	50-75	65-900
Fosfatidlar, g/l	750-1250	1250-1900	1600-2250
Letsetin, g/l	600-1000	1000-1500	130-1800
Umumiy xolesterin, mg	40-130	100-180	120-200
Xolesterin efiri % hisobida	35-60	65	70
Erkin xolesterin % hisobida	65-40	35	30
Xolesterin fosfatidlar nisbati	0,7-1,0	taxmin, 1,0	taxmin, 1,0

Katta yoshdagi sog'lom odam qon zardobida umumiy yog' miqdori 400-800 mg/dl orasida bo'ladi. Qon plazmasidagi yog'lar asosan lipoproteinlar ko'rinishda (ya'ni oqsillar bilan birikkan holda) uchraydi. Qon zardobida lipoproteinlar miqdorining ortishi giperlipoproteinemiya deyiladi. Giperlipoproteinemiya holati ovqat iste'mol qilgandan (4-5 soat o'tgach) keyin kuzatiladi. Bu fiziolojik holat (alimentlar giperlipoproteinemiya) 12-16 soat o'tgach, ro'y beradi va lipoproteinlarning o'rtacha holatga yetishi bilan yakunlanadi. Doimiy giperlipoproteinemiya mexanik va parenximatoz sariq kasalligida, diabetda, buyrak kasalliklarda, ichkilikbozlikda va boshqa kasalliklarda kuzatiladi. Irsiy giperlipoproteinemiya holatlari ham kuzatiladi. Qandli diabet kasalligida yog'ning jigarga tashilishi bilan bog'liq.

Usulning asosi. Yog'larni aniqlash uchun qon zardobiga konsentrlangan sulfat kislotaga qo'shiladi. Sulfat kislotaga yog'larni gidrolizlaydi. Parchalanishdan hosil bo'lgan mahsulot sulfanilamid reaktivi bilan rangli birikma hosil qiladi. Hosil bo'lgan rang zichligidan yog' miqdori hisoblab topiladi. Rang zichligi kolorimetrdan o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi (muzlatilgan holda 5-6 kun saqlanishi mumkin).

Reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislotaga, fosforvanilin aralashmasi (4 qism konsentrlangan fosfor kislotaga va 1 qism 0,6%li vanilin kislotaga).

Kerakli anjomlar. Quruq probirkalar, pipetkalar, suv hammomi, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Tekshiruv va nazorat tajriba probirkalari jadvalga binoan tayyorlanadi (butun guruh uchun bitta nazorat tajribasi yetarli bo'ladi). Sulfat kislotaga silindrda o'lchanadi.

59-jadval

Probirkalar	Qon zardobi, ml	Distillangan suv, ml	Sulfat kislotaga
Tekshiruv	0,1	—	5,0
nazorat	—	0,1	5,0

1. Probirkalardagi suyuqliklar yaxshilab aralashtiriladi va gidrolizlash uchun qaynab turgan suv hammomiga 10 daqiqa joylashtiriladi. Tajriba probirkalari oqib turgan suv tagida xona haroratigacha sovitiladi. So'ngra 0,2 ml gidrolizat quruq probirkaga

olinadi va ustiga 3 ml fosforvanilin aralashmasidan solib aralashtirilib, 45 daqiqa xona haroratida qoldiriladi.

2. Hosil bo'lgan rangli eritmaning zichligi nazorat eritmasi qarshisida yashil nur filtrda kalorimetrlanadi.

3. Yog'larning umumiy miqdori o'lchov egri chizig'i bo'yicha hisoblanadi. Natija birligi qilib 100 ml qon tarkibidagi yog' miqdori (mg da) olinadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, berilgan o'lchov egri chizig'ini va topilgan umumiy yog' miqdorini daftaringizga yozib, tegishli xulosa chiqaring.

99-ish. QON ZARDOBIDAGI FOSFOLIPIDLARNI ANIQLASH

Fosfolipidlar yog'lar guruhiga kirib, tarkibida fosfor bo'ladi. Fosfolipidlar tarkibiga ko'p atomli spirt – sfingozin yoki glitserin, yog' kislotalari, fosfor kislotaga, shuningdek xolin, etanolamin, serin yoki boshqa azot tutuvchi birikmalar kiradi. Qon tarkibidagi fosfolipidlar lipoproteinlar kompleksida uchraydi. Sog'lom odam qon zardobining 100 mlda 150-380 mg fosfolipid bo'ladi. Yangi tug'ilgan bolalarning qon zardobida fosfolipid ko'rsatkichi kamroq bo'ladi.

Usulning asosi. Fosfolipidlarning umumiy miqdori yog'lardagi fosfor miqdoriga qarab aniqlanadi. Ma'lumki, fosfolipidning taxminan 4% ini fosfor tashkil qiladi. Shu sababli tajribadan topilgan yog' tarkibidagi fosfor miqdori 25 ga ko'paytiriladi. Fosfolipidlar qon zardobidagi oqsillarning uchxlorsirka kislotaga bilan hosil qilgan cho'kmasida aniqlanadi. Cho'kmadagi fosforni kolorimetrik yo'l bilan, fosfor molibdatni esa ammoniy va askorbin kislotaga bilan hosil qilgan rangli reaksiyadan foydalangan holda aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: uchxlorsirka kislotaning 10% li eritmasi, xlorat kislotaning (HClO_4) 56% li eritmasi, askorbin kislotaning (yangi tayyorlangan), 0,5% li eritmasi, ammoniy molibdatning 2,5 mol/l sulfat kislotada tayyorlangan eritmasi, natriy gidroksidning 50% li eritmasi, kaliy digidrofosfatning doimiy eritmasi (1 ml eritmasi tarkibida 1 mg fosfor bo'lishi kerak). Ishchi eritma doimiy eritmani 100 marta suyultirish bilan tayyorlanadi).

Kerakli anjomlar. Probirkalar, pipetkalar, shisha tayoqchalar, qum hammomi, sentrifuga, FEK va 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

100-ish. QON ZARDOBI TARKIBIDAGI UMUMIY XOLESTERINNI ILKA USULI BILAN ANIQLASH

Bajariladigan ish tartibi. Tekshiruv, doimiy va nazorat tajribalar uchun 3 ta probirka tayyorlanadi (bitta guruh talabalari uchun 1 yoki 2 ta doimiy va nazorat tajriba yetarli bo'ladi).

1. Tekshiruv tajriba probirkasiga 0,2 ml qon zardobi va 3 ml 10% li UXSK eritmasi tomiziladi (suyuqliklar aralashtirib turiladi). Probirkadagi suyuqliklar daqiqasiga 3000 marta aylanadigan sentrifugada 5 daqiqa aylantiriladi. Cho'kma ustidagi suyuqlik olib tashlanadi. Cho'kmaga 1 ml 56% li xlorat kislota solinadi va 50-60 daqiqa davomida qum hammomida rangsizlanguncha qizdiriladi. So'ngra eritma sovitiladi va unga 6 ml distillangan suv va 12 tomchi natriy gidroksid eritmasi (neytrallash uchun), 1 ml ammoniy molibdat, 1 ml askorbin kislota solinadi.

2. Nazorat tajriba probirkasiga 1 ml xlorat kislota, 6 ml distillangan suv, 12 tomchi natriy gidroksid eritmasi, 1 ml ammoniy molibdat solinadi.

3. Doimiy eritma solingan probirkaga 1 ml xlorat kislota, 2 ml kaliy digidrofosfatning ishchi eritmasi, 4 ml distillangan suv, 12 tomchi natriy gidroksid eritmasi, 1 ml ammoniy molibdat va 1 ml askorbin kislota eritmasi solinadi.

4. 20-30 daqiqa o'tgach, tekshiruv va doimiy eritma solingan tajriba probirkalarida hosil bo'lgan rang zichligi nazorat eritma qarshisida, qizil nur filtri ostida, 630 nm to'lqin uzunligidagi FEK da kolorimetrlanadi. Yog' tarkibidagi fosfor miqdori (x, mg/dl) quyidagi tenglamada hisoblanadi.

$$x = \frac{E_{\text{tekshiruv}} \cdot 0,02 \cdot 100}{E_{\text{doimiy}} \cdot 0,2} = \frac{E_{\text{teksh}}}{E_{\text{doim}}} \cdot 10$$

Bunda 0,92 – doimiy eritmadagi fosfor miqdori, mg;
0,2 – tekshirish uchun olingan qon zardobi miqdori, ml;
100- fosforning mg/dl ga o'tkazish koeffitsiyenti.

Sog'lom odam qon zardobidagi fosfor odatda 6,1-14,5 mg/dl gacha bo'ladi. Umumiy fosfolipidlarni aniqlash uchun yog' tarkibidagi fosforni 25 ga ko'paytirish kerak.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, kolorimetrlash natijasini, hisoblash natijasini daftaringizga yozib, xulosa chiqaring.

Sog'lom odam qon zardobi tarkibidagi umumiy xolesterin miqdori 150-250 mg/dl atrofida. Xolesterin efilari va yog' kislotalar umumiy xolesterining 50-70 foizini, erkin xolesterinning efilangan xolesteringa bo'lgan nisbati doimiy kattalikdir. Yangi tug'ilgan bolalarda xolesterin va uning bog'langan shakli kam miqdorda bo'ladi. Bola o'sgan sari bu ko'rsatkichlar kattalarnikiga yaqinlashadi. Qon plazmasi tarkibidagi xolesterin miqdorining ortishi (giperxolesterinemiya) miksidema, meningit, diabet, ateroskleroz va jigarning ayrim kasalliklarida kuzatiladi. Oilaviy giperxolesterinemiya holatlari haqida ham ma'lumotlar bor.

Reaktivlar	Eritmalar				
	A	B	D	E	F
HCl, ml	48	—	—	—	—
Tris, ml	36,6	—	—	—	—
TEMED, ml	0,23	—	—	—	—
Akrilamid, g	—	28	10	—	—
MBA, g	—	0,735	2,5	—	—
Ammoniy peroksoulfat	—	—	—	0,14	—
Saxaroza, g	—	—	—	—	40
H ₂ O	Jami 10 ml gacha				

Qon plazmasidagi xolesterin miqdorining kamayishi (gopoxolesterinemiya) surunkali yurak yetishmovchiligi holatlarida, o'tkir yuqumli kasalliklarda, o'tkir poliartritlarda va gipertireozlarda kuzatiladi.

Usulning asosi. Xolesterin sirka angidrid ishtirokida sirka va sulfat aralashmalar bilan rangli mahsulot hosil qiladi. Rang zichligi kolorimetrdan o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: ishchi reaktiv (tajriba o'tkazilishidan oldin 1 qism konsentrlangan sirka kislota, 5 qism sirka angidrid va 1 qism konsentrlangan sulfat kislota ehtiyotkorlik bilan isishga yo'l qo'ymagan holda aralashtirib turiladi).

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, termostat, FEK ba kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. Quruq va toza probirkaga 2 ml ishchi reaktiv va 0,1 ml gemolizlangan qon zardobi solinadi. Qon zardobi

devor bo'ylab solinishi kerak. Probirkadagi suyuqlik 10-12 marta chayqatiladi va 37°C li termostatga 20 daqiqa joylashtiriladi.

Nazorat tajribasini tayyorlash uchun (bitta guruhdagi talabalar uchun 1-2 nazorat tajriba yetarli) quruq probirkaga 2 ml ishchi reaktiv solinadi. Qolgan ish tartibi yuqoridagidek. Eritmaning rang zichligi nazorat tajriba qarshisida, qizil nur filtr to'liq uzunligidagi FEK da ko'riladi.

Xolesterin miqdori o'lchov egri chizig'iga binoan aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, kolorimetr ko'rsatkichini, hisob natijasini va xulosangizni daftaringizga yozing.

101- ish. QON ZARDOBI LIPOPROTEINLARINI POLIAKRILAMID GEL ELEKTROFOREZI USULI BILAN AJRATISH

Lipoproteinlar (LP) oqsil va yog'lardan tashkil topgan murakkab zarrachalardir. Qon zardobidagi lipoproteinlar tarkibi erkin va efilangan xolesterin, fosfolipidlar, triatsilglitserinlardan iborat. Lipoproteinlarning 4 turi tafovut qilinadi. Yuqori zichlikka ega bo'lgan lipoproteinlar (YUZLP) yoki alfa lipoproteinlar oqsil va fosfolipidlarga boy, sog'lom odam qon zardobida bo'ladi. Past zichlikka ega bo'lgan lipoproteinlar yoki betta lipoproteinlar ko'p miqdordagi xolesterinni tashiydi. Juda past zichlikka ega bo'lgan lipoproteinlar yoki prebeta lipoproteinlar jigarda hosil bo'lib, endogen triglitseridlarni tashiydi.

Xilomikronlar XM ichak devorida ekzogen ozuqa triglitserinlarning qayta sintezlanishida va xolesterindan hosil bo'ladi. XM juda ko'p miqdorda triglitseridlarni va kam miqdorda oqsillarni tutganligi tufayli elektroforezlashda startda qoladi. Efilanmagan yog' kislotalar (erkin yog' kislotalar), qon plazmasida albuminlar bilan bog'langan bo'ladi. Ular umumiy yog' kislotalarning kam miqdorini tashkil qiladi.

Yangi tug'ilgan bolalarning lipoproteinlari o'ziga xos. Alfa lipoproteinlar miqdori betta va gamma lipoproteinlarga nisbatan ortiqroq bo'ladi. Bola 4 oylik bo'lganda bu nisbat o'zgarib, kattalarnikiga yaqinlashadi.

Usulning asosi. Oldindan qora sudan bo'yog'i bilan bo'yalgan qon zardobi lipoproteinlari elektr maydonida, ularning zaryadlariga va massasiga bog'liq holda fraksiyalarga ajraladi. Lipoproteinlarning

alohida fraksiyalari foizini aniqlash qator kasalliklarda diagnostik ko'rsatkich bo'la oladi. Masalan, diabet, semirib ketish ateroskleroz, qon tomirlarining torayishi (ishemiya) va boshqa kasalliklarda kuzatiladi. Elektroforez usuli bilan olingan lipoproteingrammalar barcha kasalliklarga xos ko'rsatkich hisoblanadi. Poliakrilamid gel elektroforezi lipoproteid fraksiyalarni aniqlash uchun zamonaviy, birdan-bir qulay usuldur.

Elektroforez uchun ishlatiladigan poliakrilamid gel akrilamid va metilen bis- akrilamid (MBA) monomerlarini katalizator ishtirokida polimerlash yo'li bilan olinadi. Katalizator ammoniy persulfat va N, N, N, N'-tetrametiletildiamin eritmalari aralashmasidan iborat. Bunda poliakrilamidning chiziqli zanjirlari metilen ko'prikchalari bilan tashiladi.

Gelning tuzilishida to'g'ri navbatlashgan amid guruhlari bo'lganligi tufayli, yaqqol ifodalangan gidrofilik xossasini namoyon qiladi.

Monometr eritmalar va katalizatorlar (pH-8,9) bufer eritmada tayyorlanib, shisha naychalarda polimerlanadi.

Qon zardobi lipoproteinlarini ajratish uchun 3 qavat akrilamidli differensial elektroforez qo'llaniladi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi (uni 5-6 kungacha sovitgichda saqlash mumkin).

Reaktivlar. Tric (trioksimetileneminimetanxloridrat), N, N'- (TEMED), xlorid kislotaning 1 mol/l eritmasi, ammoniy perioksidi sulfatning 140 mg/dl eritmasi, saxaroza, qora sudan «V» ning etil spirtida tayyorlangan to'yingan eritmasi (100 mg qora sudan «V» 5 ml spirtida eritiladi). pH i 8,8 bo'lgan tris-glitserin bufer eritmasi.

Kerakli anjomlar. Elektroforez uchun asbob, shisha naychalar, paster pipetkalari, shpitslar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Elektroforez o'tkazishga tayyorlanish. O'tkazuvchanligi bilan farqlanadigan 3 qavatli gel tayyorlanadi. 2. Ushbu eritmalarni ishlatishdan oldin sovitgichdan olinadi va xona haroratigacha isitiladi. Tozalab yuvilgan shisha naychalar vertikal holda shtativga o'rnatiladi. Shisha naychalarining pastki qismi rezina qopqoq bilan berkitiladi.

3. Pastki 10% li gel eritmasi, 1 hajm A; 2,8 hajm B, 02 hajm H₂O va 4 hajm ammoniy perokso-sulfat eritmalarini aralashtirish yo'li bilan tayyorlanadi. Tayyorlangan eritma Paster pipetkasi yordamida asta-

sekin shisha nayning 200 ml balandligigacha (naychanning pastki o'Ichov belgisigacha) solinadi. So'ngra har qaysi naychanning gel yuqorisiga ikki gel orasida belgi hosil bo'lmasligi uchun devor bo'ylab distillangan suv qavatlanadi (gel aralashmasiga kerak). Gellar polimerlanishi uchun naychalar xona haroratida 15-20 daqiqa saqlanadi.

4. Navbatdagi (5%) gelni tayyorlash uchun, 1 hajm A; 1,36 hajm B; 1,64 hajm suv va 4 hajm ammoniy perokso-sulfat aralastiriladi. Bu eritma naychaga Paster pipetkasi yordamida 15 ml balandlikda solinadi (naychanning ikkinchi o'Ichov belgisi). Uning ustiga devor bo'ylab suv solinadi. Gelning ikkala qavati xona haroratida 30 daqiqa davomida polimerlanadi. So'ngra suv chayqatish yo'li bilan olib tashlanadi. Ikkala gel kichik teshikchali bo'ladi.

5. 3% li gel qavatlanadi. Buning uchun 1-hajm A; 2-hajm B; 1-hajm D; 4-hajm G eritmaları aralastiriladi. Bu eritma shisha naychaga solinadi. Bu qavatning balandligi 20 mm. Gel yuqorisidan suv qavatlanadi. Gel xona haroratida 30 daqiqa polimerlanadi. Suv yuqoridagidek chayqatish yo'li bilan olib tashlanadi.

Qon zardobini tayyorlash va gelga quyish. Zardob taxminan etil spirtida to'yintirilgan qora sudan bilan bo'yaladi. Buning uchun 0,3 ml qon zardobiga 0,15 ml qora sudan B eritmasi va 0,5 ml E eritma qo'shiladi. Eritmalar xona haroratida bo'lishi kerak.

Tayyorlangan tajriba xona haroratida, qorong'i joyda bir soat qoldiriladi. So'ngra 0,05 ml (ikki tomchi) bo'yalgan qon zardobi gel yuqorisiga qo'yiladi.

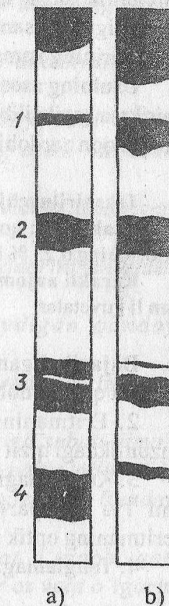
Elektroforez. 1. Elektroforez asbobi ikki kameradan iborat bo'lib, ular bir-birining ustiga joylashtirilgan. Kameraning yuqori qismiga gel solingan naychalar pastki kameraga tushib turishi kerak. Naychanning rezina tiqini olib tashlanadi va shprints yordamida elektrod bufer bilan ho'llaniladi. Naychalar buffer eritmaga 1-2 sm cho'kib turadigan qilib pastki kameraga qo'yiladi. Naychalarning yuqoriga kirish qismida havo pufakchalari bo'lmasligi kerak. Shundan so'ng naychalarning usti bekilguncha buffer eritma bilan to'ldiriladi. Kamera markaziga elektrodlar o'rnatiladi: yuqoriga (-) katod, pastki qismga (+) anod.

2. Asbob tokka ulaniladi, elektrodlar (EOB – elektrodning ozuqa bloki) to'g'ri ulanishi zarur.

3. Elektroforez EOB chetki chap holatga keltiriladi, «Set» tumblari o'chiriladi.

11-rasm. Qon zardobi lipoproteinlarining ajralgan fraksiyalari.

- 1) Sog'lom odamlarda; 2) Ateroskleroz kasalliklarida. a) Pre-beta-lipoproteinlar; b) Beta-lipoproteinlar; d) Alfa-lipoproteinlar; e) Albuminlar efirilmagan yog' kislotalar



4. EOB 220 V kuchlanishli tokka ulanadi.
5. Elektroforez – ta'minlovchi «EOB elektroforez» holatiga kiritiladi. «Ishlash tartibi» 25-50 mA ga qo'yiladi. «O'lchash» esa 1 mA ga qo'yiladi.

6. Asbobning «Set» tumblari ishga tushiriladi. EOB da signal tugmachasi yonadi.

7. «Elektroforez» qo'l soati strelkasi bo'ylab, o'lcho'v asbobi tok 2 mA ga yetguncha buraladi (10 ta naychaga 20 mA beriladi), 5 daqiqa o'tgach, tok kuchi har bir naychaga 5-6 mA gacha oshiriladi va elektroforez jaroyoni tugaguncha shunday holatda ushlanadi.

8. Elektroforez qorong'ilashtirilgan xonada 60-75 daqiqa davomida o'tkaziladi. Shu vaqt davomida qon zardobi lipoproteinlari ma'lum fraksiyalarga ajraladi.

9. Kameraning yuqori qismidagi buffer bir idishga, pastki qismidagi esa kolbaga solinadi. Ushbu bufferlar 10 martagacha ishlatilishi mumkin.

10. Elektroforez tugagach «Set» tumblari o'chiriladi. Kamera EOB dan ajratiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosi yoziladi, ajralgan fraksiyalarning rasmini chizib, turli zardoblarning bo'yalgan lipoprotein fraksiyalari solishtiriladi. Quyidagi rasmda sog'lom va ateroskleroz bilan og'rikan bemorlar qon zardobi lipoproteinlarining fraksiyalarga ajralishi ko'rsatilgan.

102-ish. QON ZARDOBINING PAST ZICHLIKKA EGA BO'LGAN LIPOPROTEINLARINI (PZL) ANIQLASH

PZL – (beta-lipoproteinlar)ning qondagi miqdori yoshga qarab 3-4,5 g/l orasida bo'ladi. LNP miqdorining ortishi aterosklerozda,

mexanik sariq kasalligida, o'tkir hepatitlarda, diabet, glikogen kasalligida, ksantomatoz va semirish holatlarida kuzatiladi. LNP miqdorining kamayishi esa plazmositomadada aniqlangan.

Usulning asosi: PZL – kalsiy xlorid ta'sirida geparin bilan kompleks birikma hosil qilib, cho'kmaga tushadi. Eritmaning xiralanish darajasiga ko'ra qon zardobidagi PZL miqdori o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: qon zardobi (geparinli qon zardobi ishlatilmaydi), kalsiy xloridning 0,23 % li eritmasi, geparinning 1 % li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, mikropipetkalar, FEK, 0,5 sm li kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi: 1. Probirkaga 2 ml kalsiy xlorid eritmasi, 0,2 ml qon zardobi solinadi va aralashtiriladi.

2. Eritmaning (E_1) optik zichligi FEK ning 630 nm to'liq uzunlikdagi qizil nurda o'lchaniladi.

3. Kuvetadagi eritma probirkaga quyilib, mikropipetka bilan 0,04 ml 1% li geparin eritmasi solinadi. 4 daqiqa o'tgach, qaytadan eritmaning optik zichligi (E_2) yuqoridagidek sharoitda o'lchanadi.

4. Tenglamaga binoan LNP ning miqdori (s, g/l) hisoblanadi.

$$c = (E_2 - E_1) \cdot 10$$

10 – empirik koeffitsiyent.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish: Daftarga usulning asosini, natijasini yozing. Olingan natijalar sog'lom ko'rsatkichlar bilan solishtiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Qon zardobidagi umumiy yog' miqdori qanday aniqlanadi?
2. Qon zardobidagi umumiy yog' miqdorini aniqlashning diagnostik ahamiyati nimadan iborat?
3. Giperlipoproteinemiya nima va u qanday kasalliklarda kelib chiqadi?
4. Yog' almashinuvida fosfatidlarning ahamiyati nimadan iborat?
5. Qon zardobidagi fosfatidlarni aniqlash usulining asosi nimadan iborat?
6. Qon zardobidagi fosfatidlar miqdorini aniqlash qanday diagnostik ahamiyatga ega?

7. Qon zardobida xolesterin miqdorini aniqlash usulining asosi nimadan iborat?
8. Xolesterin miqdorini aniqlashning diagnostik ahamiyati.
9. Qon zardobida qanday lipoproteinlar bor?
10. Qon zardobidagi lipoproteinlarni qanday usul bilan fraksiyalarga ajratish mumkin? Bu usulning asosi nimadan iborat?
11. Lipoprotein fraksiyalarining yog' almashinuvidagi ahamiyati qanday?
12. Qon zardobidagi lipoprotein fraksiyalari miqdorini aniqlash qanday diagnostik ahamiyatga ega?
13. Organizmda yog' almashinuvini aniqlaydigan qanday zamonaviy usullarni bilasiz?
14. Nima sababdan o't pufagi yallig'langan bemorga yog'siz ovqat iste'mol qilish tavsiya etiladi?
15. O't pufagi va o't yo'llarida tosh hosil bo'lishiga sabab nima? Bunday bemorlarga qanday dori-darmonlar tavsiya qilinadi?
16. Qanday holatlarda bemor axlati bilan yog' ajraladi? Bunday jarayonni qanday izohlash mumkin?
17. Yog'li ovqat iste'mol qilingandan 1-2 soat o'tgach, qon zardobining xiralashgani kuzatiladi. Ammo bir oz vaqt o'tgach, qon qaytadan tiniqlashadi. Bunday jarayonda qanday ferment ishtirok etadi?
18. Yog'ning parchalanishi va so'rilishining buzilishi bilan vitamin E, K, D, A lar yetishmovchiligi orasida qanday bog'liqlik bor?
19. Ateroskleroz kasalligi bor deb gumon qilayotgan vrach bemor qonida qanday ko'rsatkichlarni aniqlomog'i lozim? Javobingizni izohlang.
20. Oilaviy ateroskleroz kasalligining kelib chiqishiga sabab nima?
21. Letsetinxolesterinatsiltransferaza (LXAT) fermentining kasallikni aniqlashdagi ahamiyati qanday? Javobingizni izohlang.
22. Bemorning qonidagi erkin, efilangan va umumiy xolesterinni aniqlashdan maqsad nima? Xolesterinning organizmda tutgan o'rni qanday?
23. Qon tarkibida umumiy lipoproteinlar, fosfolipidlarni aniqlash sababini tushuntirib bering.

24. Bola ovqat tarkibidagi yog' miqdorini o'zgartirmagan holda uglevodlar miqdori kamaytiriladi. Bunday tadbir qanday o'zgarishlarga olib kelishi mumkin?
25. Uglevodlar va yog' balansining buzilishi, ularning almashinuvini buzilishiga olib keladi. Bunday holatda ketonemiya va atsidoz kuzatiladi. Bunday biokimyoviy o'zgarishlarni tushuntiring va izohlang.
26. Ateroskleroz bilan og'rigan bemorga past kaloriyalı parhez tavsiya qilinadi. Bunda uglevodlar va hayvon yog'lari miqdori kamaytiriladi, ammo vitamin va kletchatka miqdori orttiriladi. Bunga sabab nima? Javobingizni izohlang.
27. Ateroskleroz kasalligida organizmdan xolesterinni chiqarish tadbirlari ko'riladi. Buning sababini tushuntiring.
28. Yosh ulg'aygan sari odam semirishga moyil bo'ladi. Nima uchun, sababini tushuntiring.
29. Xolesterin, yuqori zichlikka ega bo'lgan lipoproteinlar va jinsiy gormonlar orasida qanday bog'liqlik bor? Javobingizni izohlang.
30. Atsetil-S-KoA karbonsuv almashinuvini va xolesterin sintezining oraliq mahsulotlaridir. Energiyaga ehtiyoj pasayganda va ortganda qanday o'zgarishlar kuzatiladi?
31. Nima sababdan ateroskleroz kasalligida vrachni alfa va beta lipoproteinlar miqdori qiziqtiriladi?

OQSIL VA AMINOKISLOTALAR ALMASHINUVI

Oqsil almashinuvini murakkab jarayon bo'lib, bir nechta bosqichda amalga oshiriladi. Oqsil almashinuvining birinchi bosqichi me'da-ichak sistemasida amalga oshiriladi. Proteolitik fermentlar – pepsin, tripsin, xemotripsin, aminopeptidazalar, karboksipeptidazalar va dipeptidazalar ta'sirida oqsillar aminokislotalargacha parchalanadi. Hosil bo'lgan aminokislotalar qonga so'rilib, hujayralarga yetkaziladi va asosan oqsillar, peptidlar, peptid tabiatiga ega bo'lmagan moddalar (gem, purin, pirimidinlar), xolin, taurin, biogen aminlar, tiroksin, adrenalin gormonlari va boshqa ko'pgina birikmalar sintezi uchun ishlatiladi. Ozuqa oqsillarining biologik qiymati aminokislotalar tarkibi bilan o'lchanibgina qolmay, balki shu oqsillarning singish darajasi bilan ham o'lchanadi. Ma'lumki, ozuqa oqsillar organizmga almashtirib bo'lmaydigan aminokislotalar (fenilalanin, gistidin, triptofan, valin, leysin, izoleysin, metionin, treonin, lizin va arginin)ni yetkazib beradi. Aytilgan aminokislotalarning birortasi yetishmaganda oqsillar sintezi buziladi. Oqsillarning ko'pchilik qismi go'sht, baliq, tuxum, pishloq orqali organizmga tushadi. O'simlik mahsulotlaridan loviya, no'xat, mosh kabi dukkaklilar ham oqsillarga boy.

Organizmda 30 g erkin aminokislota bo'lib, qon tarkibida uning miqdori 35-65 mg/dl ni tashkil qiladi. Aminokislotalarning asosiy qismi oqsillar tarkibiga kiradi. Katta kishilar organizmida 15 kg oqsil bo'ladi. 400 g gacha oqsil bir sutkada parchalanib, qayta sintezlanadi. Oqsil almashinuvini azot tengligi bilan o'lchanadi, ya'ni ozuqa oqsillari bilan tushgan azot va organizmdan chiqarilgan azotning farqi topiladi. O'suvchi organizmda homiladorlik davrida, surunkali og'ir kasallikdan tuzalish davrida chiqarilayotgan azot miqdori organizmga tushayotgan azotdan kamroq bo'ladi. Bunday holat musbat azot tengligi deyiladi. Aksincha, uzoq muddat surunkali kasallik bilan kasallanganda, och qolganda, qarilikda, o'sma kasalliklarida organizmdan chiqarilayotgan azot miqdori organizmga tushayotgan azot miqdoridan ko'proq bo'ladi. Bu manfiy azot tengligi deyiladi. O'rta yoshdagi sog'lom odamlarda chiqarilayotgan va organizmga

tushayotgan azot miqdori teng bo'ladi. Bunday holat azot tengligi (azot muvozanati) deyiladi. Oqsillar almashinuvining ikkinchi bosqichi hujayra sitoplazmasida va mitoxondriyasida amalga oshiriladi. Bunda aminokislotalar parchalanib, ulardan ammiak, CO₂, H₂O va ATF, azotsiz uglevodli birikmalar, biogen aminlar hosil bo'ladi. Aminokislotalarning dezaminlanishidan hosil bo'lgan ammiak jigarda siydikchilga aylanadi va oxirgi mahsulot sifatida siydik bilan tashqariga chiqariladi.

Sutkalik azot tengligini saqlash uchun odam 30-50 g oqsil iste'mol qilishi kerak. Ammo bu miqdor inson sog'lig'i va ishlash qobiliyatini saqlash uchun yetarli emas. Bir sutkalik o'rtacha fiziologik qobiliyatni saqlash uchun odam yoshiga va vazniga qarab turli miqdorda, 100 g gacha oqsil iste'mol qilishi mumkin (60-jadvalga qarang). Oqsil almashinuvi yoshga va kasalliklarga qarab turlicha o'zgaradi. Shu bois oqsillar almashinuvini o'rganish shifokor uchun amaliy ahamiyatga ega.

Bo'limning maqsadi:

1. O'qituvchilarni me'da shirasi tarkibini aniqlash usullari bilan tanishtirish, ularga me'da va ichak proteolitik fermentlari, faolligini o'lchash usullarini o'rgatish. Olingan bilimlardan kelajakda me'da-ichak kasalliklarini aniqlashda va davolashda foydalanish yo'llarini o'rgatish.

2. Aminokislotalarning transaminlanishi, dekarboksillanishi bo'yicha bajarilgan amaliy ishlarga qarab oqsillarning to'qimalarda almashinuv yo'llarini o'rganish, bilimlarni boyitish va mustahkamlash.

3. Siydik tarkibidagi oqsillar almashinuvidan hosil bo'lgan oxirgi mahsulotlarni (siydikchil, siydik kislota, kreatin) aniqlash va olingan bilimlarni amalda qo'llashni o'rganish.

ME'DA VA ME'DA OSTI BEZI SHIRASI TARKIBINI ANIQLASH

Oqsillarning me'dada hazm bo'lishi pepsin ta'sirida amalga oshiriladi. Bunda me'da shirasi tarkibidagi xlorid kislota katta ahamiyatga ega. Xlorid kislota me'da bezlarini qoplovchi hujayralarda hosil bo'lib, me'daga ajraladi. Shuning uchun katta yoshli odamlarning me'da shirasi kuchli nordon xossaga ega. Uning pH i 1-2 ga teng bo'ladi. Me'da bezlarining asosiy hujayralarida faol bo'lmagan ferment - pepsinogen ishlab chiqariladi. Xlorid kislota ta'sirida (nordon

muhitda) pepsinogen faol pepsinga aylanadi. Pepsinogenning N-uchidan 42 ta aminokislota (18%) (5 neytral, 1 ishqoriy peptid) ajralib, pepsin hosil bo'ladi. Bundan tashqari, nordon sharoitda oqsillar denaturatsiyalanadi va ularning pepsin ta'sirida parchalanishi osonlashadi. Xlorid kislota ta'sirida me'daga tushgan mikroorganizmlar halok bo'ladi. Chaqaloqlar me'da shirasining pH i o'sish jarayonida o'zgarib boradi (60-jadvalga qarang). Chaqaloqlar me'da shirasi tarkibida sut oqsilini ivitadigan renin fermenti bor. U Ca²⁺ ionlari ishtirokida erigan sut kazeinini erimaydigan turiga aylantiradi. Katta yoshdagi odamlarning me'da shirasida renin bo'lmaydi. Sut oqsillari pepsin va xlorid kislotaning birgalikda ta'siri natijasida iviydi.

Ko'pincha me'da-ichak kasalliklarida xlorid kislota va pepsinogen ishlab chiqarilishi buziladi. Bu vaqtda xlorid kislota miqdori yoki ko'payadi, yoki kamayadi. Xlorid kislota va pepsinogen ishlab chiqarilishining batamom buzilishi odatda bir vaqtda sodir bo'ladi.

Oshqozon-ichak kasalliklar, me'da bezlari faoliyatini aniqlash maqsadida me'da shirasi tarkibidagi xlorid kislota miqdori tekshirib ko'riladi. Buning uchun zond yordamida me'da shirasi olinadi. Me'da bezlari faoliyatini aniqlash uchun teri ostiga gistamin yuboriladi va har 15 daqiqada me'da shirasi tortib olinib tekshiriladi.

60-jadval

*Me'da shirasi kislotaliligining yoshga bog'liqligi
(100 ml me'da shirasini neytrallashtirish uchun sarflangan 0,1~H natriy gidroksidning ml miqdori)*

Yangi tug'ilganlarda	1-2 oylikda	1 yoshda	4-7 yoshda	7-11 yoshda	Kattalarda	
pH	7,0	5,8	3,4	2,5	2,0	1,5-2,0
Erkin HCl	0,5	0,8-4,5	6-10	10-15	15-20	20-40
Umumiy kislotalilik	2,8	3,6-10	12-21	30-35	40-60	40-60
Pepsinning nisbiy birligi	-	2,8	16-32	16-32	16-32	-
Renin(ximozin)	-	16-32	216-512	512	512	-

Sog'lom odamlarga gistamin yuborilgandan bir soat o'tgach, xlorid kislota miqdori 100 mmol/l ga yetadi, ya'ni u yuqori darajada bo'ladi. Me'da va 12 barmoq ichak yaralarida, giperatsid gastritda xlorid kislota

miqdori yuqori bo'ladi. Gipoatsid gastritda esa xlorid kislotasi miqdori kamayadi. Atrofiya holatlarida xlorid kislotasi, pepsin mutloq bo'lmaydi. Bu ko'pincha kamqonlikda kuzatiladi. Bunga sabab Kalsa omilining bo'lmashligi natijasida vitamin B₁₂ ning so'rilmashligidir.

1. ME'DA SHIRASI KISLOTALILIGINI ANIQLASH

Katta yoshdagi odam bir sutkada 1,5 l gacha me'da shirasi ajratadi. Me'da shirasi rangsiz kuchli kislotalilikka ega bo'lib, uning tarkibi quyidagicha:

1. Solishtirma og'irligi	1,006-1,009
2. pH i	0,92-1,58
3. H ₂ O	99,5%
4. Quruq qoldiq	0,5-0,6%
5. Organik moddalar	0,4-0,5%
6. Anorganik moddalar	0,1%
7. Xlorid kislotasi:	
a) umumiy miqdori	0,45-0,6%
b) erkin xlorid kislotasi	0,4-0,5%
8. Xloridlar	0,5-0,6%

Me'da shirasi tarkibida pepsin, gastriksin, renin kabi fermentlar, gastrin gormoni, Kalsa omili (vitamin B₁₂ ning so'rinishini osonlashtiradi), glikoproteinlar – mutsinlar va kislotali muhit yaratuvchi fosfatlar va boshqa moddalar uchraydi. Me'da shirasi tarkibidagi xlorid kislotasi miqdori keskin kamayishi natijasida sut kislotasi paydo bo'ladi. Ayrim kasallik holatlarda me'da shirasi tarkibida qon va o't kislotalar, o't pigmentlari paydo bo'ladi.

103-ish. ME'DA SHIRASI TARKIBIDAGI ERKIN XLORID KISLOTAGA O'TKAZILADIGAN SIFAT REAKSIYA

Tekshiriluvchi material: me'yordagi me'da shirasi, qon tutuvchi me'da shirasi, sut kislotasi tutuvchi me'da shirasi.

Reaktivlar: 0,2% li vodorod xlorid eritmasi, 2,4-dimetilaminoazobenzolning spirtidagi 0,5% li eritmasi (indikatorning rangga o'tish pH i 2,9-4,0), kongo indikator qog'oz (3,0-5,2), fenolning 2% li eritmasi, temir (III) xloridning 1% li eritmasi, vodorod peroksidning 1% li eritmasi, benzidinning spirtidagi 0,2% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shisha oynachalar, shisha tayoqchalar, buretkalar, probirkalar va shtativlar.

Bajariladigan ish tartibi. a) Kongo indikator qog'oziga shisha tayoqcha yordamida bir tomchi 0,2% li xlorid kislotasi eritmasi tomiziladi. Qog'oz ko'karadi. Ushbu ish me'da shirasi bilan qaytariladi. Me'da shirasi tomizilgan joyda ko'k rangning hosil bo'lishi uning tarkibida erkin xlorid kislotasi borligini isbotlaydi.

b) Ikkita probirkaning biriga 0,2% li xlorid kislotasi eritmasi, ikkinchisiga me'da shirasidan 10 tomchi solib, ularning ustiga 1-2 tomchi dimetilaminoazobenzol eritmasi tomiziladi. Har ikkala probirkadagi suyuqlikning rangi o'zgarishi, ya'ni qizg'ish-olcha rang paydo bo'lishi kuzatiladi.

d) Me'da shirasi tarkibidagi sut kislotaga o'tkaziladigan sifat reaksiya (Uffelman reaksiyasi). Ushbu reaksiya uch valentli temir tuzlarining sut kislotasi bilan hosil qiladigan temir (III) laktatning sariq-yashil tusga kirishiga asoslangan. Bu birikma xlorid kislotasi ta'sirida tezda parchalanadi.

e) Me'da shirasi tarkibidagi qonni benzidin reaksiyasi bilan aniqlash. Qon gemoglobini vodorod peroksidni suv va kislorodga parchalash xossasiga ega. Hosil bo'lgan kislorod esa benzidinni oksidlaydi va uning rangini o'zgartiradi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Ikkita probirkaga fenolning 2% li eritmasidan 20 tomchi solib, ustiga temir (III) xloridning 1% li eritmasi binafsha rang hosil bo'lguncha tomiziladi.

2. Probirkadagi suyuqliklarning biriga kislotaliligi kamaygan, sut kislotasi tutuvchi me'da shirasidan 1-3 tomchi solinadi, ikkinchi probirkaga esa kislotaliligi o'rtacha me'da shirasidan 1-3 tomchi solinadi.

3. Birinchi probirkadagi binafsha rangli suyuqlik sariq-yashil rangga kiradi. Ikkinchi probirkadagi binafsha rang me'da shirasi tarkibidagi xlorid kislotasi ta'sirida rangsizlanadi.

Bajariladigan ish tartibi. Ikkita probirkaga 1% li vodorod peroksid eritmasidan 5 tomchi va 0,2% li benzidinning spirtidagi 0,2% li eritmasidan 4-5 tomchi solib, ularning biriga qon tutuvchi, ikkinchisiga qonsiz me'da shirasidan 20 tomchi tomiziladi va aralashtiriladi. Qon tutuvchi me'da shirasi solingan probirkadagi suyuqlik benzidinni oksidlagani uchun ko'karadi. Ikkinchisida qon bo'lmagani uchun rang o'zgarishi kuzatilmaydi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. O'tkazilgan sifat reaksiya natijalarini quyidagi jadvalda keltiring.

Aniqlanayotgan tarkibiy qism	Ishlatilgan reaktivlar	Me'da shirasi		
		Me'yorda	Sut kislotali	Qonli
Erkin HCl	Kongo qizili			
Sut kislota	dimetilaminoazobenzol			
Qon	Temir (III) fenolati			
	Benzidin			

104-ish. ME'DA SHIRASI KISLOTALILIGINI O'LCHASH

Me'da shirasi tarkibida 4 xil kislotalilik tafovut qilinadi. Hech qaysi birikma bilan bog'lanmagan vodorod xlorid kislota (erkin HCl); oqsil bilan bog'langan (bog'langan HCl); erkin va bog'langan vodorod xlorid kislotaning yig'indisi (umumiy HCl); erkin, bog'langan va umumiy HCl ning yig'indisi hamda me'da shirasidagi kislotali muhit yarata oladigan boshqa nordon moddalarning yig'indisi (umumiy kislotalilik).

Me'da shirasining ushbu kislotaliliklari indikator ishtirokida natriy gidroksidning 0,1 mol/l eritmasi bilan titrlash yo'li orqali aniqlanishi mumkin.

Umumiy kislotalilik fenolftalein indikatorida (pH ning o'tish chegarasi 8.2-10) 1000 ml me'da shirasini titrlash uchun (HCl va boshqa kislotalik xususiyatiga ega bo'lgan moddalarni neytrallash uchun) sarflangan 0,1 mol/l natriy gidroksid miqdori bilan o'lchanadi. Umumiy kislotalilikning o'rtacha miqdori 40-60 mol/l ga teng.

Erkin xlorid kislota dimetilaminoazobenzol indikatorida (pH i 1,0-3,0) 100 ml me'da shirasini neytrallash uchun sarflangan 0,1 mol/l natriy gidroksid miqdori bilan o'lchanadi. Uning o'rtacha miqdori 20-40 mol/l ga teng.

Bog'langan xlorid kislota yuqoridagidek alizaringidrosulfonat natriy indikatorida (pH i 4,3-6,3) yoki fenolftalein va dimetilaminoazobenzol indikatorida yordamida aniqlangan umumiy kislotalilikni erkin kislotalilikdan ayirish yo'li bilan topiladi. Uning o'rtacha miqdori 10-20 mol/l.

Tekshiriluvchi material: me'da shirasi.

Reaktivlar: natriy gidroksidning 0,1 mol/l eritmasi, fenolftaleinning spirtidagi 1% li eritmasi, dimetilaminoazobenzolning spirtidagi 0,5% li eritmasi, alizaringidrosulfonat natriyning (qizil alizarin) 1% li suvdagi eritmasi.

Kerakli anjomlar: 50-100 ml li kolbalar, buretkalar, probirkalar va shtativlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Uchta kolbaga 5 ml me'da shirasi solinadi. Ularning birinchisiga 1-2 tomchi fenolftalein, ikkinchisiga 1-2 tomchi dimetilaminoazobenzol, uchinchisiga 1-2 tomchi alizarin qizil indikator solib aralashtiriladi. So'ngra har qaysi kolba alohida 0,1 mol/l natriy gidroksid eritmasi bilan titrlanadi. Titrlash jarayonida suyuqliklarning rangi o'zgaradi. Kolbalarning tagiga oq qog'oz qo'yiladi. Titrlash jarayonida juda ehtiyot bo'lish kerak. Titrlash tugagach, kislotalilik miqdori hisoblanadi.

2. Barcha kislotalilikni bitta kolbada aniqlash.

Kolbaga 5 ml me'da shirasi, 1-2 tomchi dimetilaminoazobenzol va 1-2 tomchi fenolftalein tomiziladi. Kislotali sharoitda fenolftalein rangsiz, dimetilaminoazobenzol esa qizil rangga bo'yaladi. Titrlash juda ohistalik bilan o'tkaziladi. Buretka solingan natriy gidroksidning titrlash uchun sarflangan miqdori ma'lum belgisidan boshlab hisobga olinadi. Masalan, me'da shirasi qizil rangining sarg'ish-qizg'ish tusga o'tishi uchun natriy gidroksid eritmasidan 1,5 ml sarflanadi. Titrlash och sariq rang hosil bo'lguncha davom ettiriladi. Me'da shirasi och sariq rangga kirishi uchun natriy gidroksidning «O» dan sarflangan miqdori 2,0 ml ni tashkil qiladi. Bu ikkinchi belgi. Och sariq rangni och pushti rangga o'tguncha titrlash uchun 2,5 ml natriy gidroksid sarflanadi. Me'da shirasining qizil rangdan sariq-qizg'ish (sariq rang) rangga o'tishida dimetilaminoazobenzol indikatorining pH i 1-3 gacha o'zgarganligi ma'lum bo'ldi. Demak, erkin xlorid kislota to'liq neytrallanadi. Ikkinchi (sariq-qizg'ish rangning och sariq rangga o'tishi) belgi umumiy va bog'langan xlorid kislotani topish uchun ishlatiladi. Oxirgi och pushti rangning hosil bo'lishi (uchinchi belgi) umumiy kislotalilik ko'rsatkichidir.

Hisoblash uchun misol: 100 ml me'da shirasi tarkibidagi kislotani neytrallash uchun sarflangan natriy gidroksid miqdori quyidagicha: 1. Birinchi belgigacha sarflangan natriy gidroksid miqdori 1,5 ml. 20-30 erkin xlorid kislota (mol/l). 2. Umumiy kislotalilik. Uchinchi belgigacha sarflangan natriy gidroksid miqdori 2,5.20=50 titrl. birl. (mol/l). 3. Ikkinchi va uchinchi belgilar uchun sarflangan natriy gidroksid yig'indisining o'rtacha arifmetik qiymati umumiy xlorid kislota ko'rsatkichi hisoblanadi. $2,0-2,5-4,5/2-2,25 \cdot 20=45$ (mol/l).

Umumiy xlorid kislota ko'rsatkichidan erkin xlorid kislota ko'rsatkichini ayirsak bog'langan xlorid kislota miqdorini topgan bo'lamiz. 50-30-20. Katta yoshdagi sog'lom odamlar me'da shirasining kislotaliligi o'rtacha quyidagicha: Erkin HCl – 20 – 40 titr birligiga; bog'langan HCl – 10 – 20 titr birligiga; umumiy xlorid kislota 40 – 60 titr birligiga (mol/l) teng. Erkin xlorid kislota miqdorining ortib ketishi gipotsid gastrit, me'da va 12 barmoq ichak yaralarida kuzatiladi. To'qimalar yallig'langanda qon yoki o't pigmentlari me'da shirasiga o'tishi mumkin. Kislota miqdorining odatdagidan kamayishi gipotsid gastritda kuzatiladi. Kislotalilikning yo'qolib ketishi anotsid gastritda kuzatiladi. Bu holda mikroorganizmlar ko'payib, bijg'ish alomati yuzaga keladi va me'da shirasi tarkibida sut kislota paydo bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalarni quyidagi jadvalga yozing. O'rtacha ko'rsatkich bilan taqqoslang va tegishli xulosa chiqaring.

62-jadval

Titrlash uchun olingan me'da shirasi, ml	Titrlash uchun sarflangan natriy gidroksid, ml	100 ml me'da shirasi uchun titrlash birligi
Xulosa	Olingan natija	O'rtacha ko'rsatkich
Erkin HCl		
Bog'langan HCl		
Umumiy HCl		
Umumiy kislotalilik		

105-ish. PEPSIN TA'SIRIDA OQSILLAR PARCHALANISHINI ANIQLASH

Pepsin ichki peptid bog'larning parchalanish jarayonini tezlatadi. Bir gramm pepsin 25 kg tuxum oqsilini 1 soatda parchalaydi. Pepsin Tir – X, Glu – Ley, Val – Ley orasidagi peptid bog'ni parchalaydi. Pepsin ta'sirida katta bo'lakli peptidlar – albuminlar hosil bo'ladi.

Pepsin ta'sirini, erimaydigan oqsillarni fibrinning erishini kuzatish bilan aniqlash mumkin. Erigan oqsil Biuret reaksiyasini beradi va eritmada peptidlar hosil bo'lganligini isbotlaydi.

Tekshiriluvchi material: me'da shirasi yoki pepsinning 0,2% li xlorid kislotadagi 0,1% li eritmasi.

Reaktivlar: pishgan tuxum oqsili yoki fibrin bo'lakchalari, natriy gidrokarbonat tuzining 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, buretkalar, pipetkalar, 37-40°C li termostat yoki suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Uchta probirkaga 1 ml dan pepsin eritmasi yoki me'da shirasi solinadi. Birinchi probirkadagi eritma ikki daqiqa qaynatiladi va sovuq suv ostida sovutiladi. Ikkinchi probirkadagi eritma 10% li natriy gidrokarbonat eritmasi bilan (3-4 tomchi) neytrallanadi. Uchinchi probirkadagi eritma o'zgartirilmaydi.

2. Uchala probirkaga fibrin yoki tuxum oqsilining kichik bo'lakchasi solinadi va 37-40°C li termostatga 35-45 daqiqaga joylashtiriladi. Bir ozdan so'ng probirkalar termostatdan olinib, eritmaları aralashtiriladi. Probirkaga solingan oqsil bo'lakchalari erigan probirkada Biuret reaksiyasi o'tkaziladi (26-ishga qarang).

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalar quyidagi jadvalda keltiriladi va tegishli xulosa chiqariladi.

63-jadval

Probirkalar	Substrat	Ferment	Eritma muhiti	Kuzatilgan o'zgarishlar	Biuret reaksiyasi	Xulosa

106-ish. ME'DA OSTI BEZI SHIRASI FERMENTLARI TA'SIRIDA OQSILLARNING PARCHALANISHI

Oqsillar va hosil bo'lgan albumozlarning parchalanishi 12 barmoqli ichakda davom etadi. Parchalanish jarayoni me'da osti bezi shirasi tarkibidagi tripsin, ximotripsin ta'sirida amalga oshiriladi. Ular ta'sirida kichik bo'lakli peptidlar va kam miqdorda erkin aminokislota hosil bo'ladi. Ushbu fermentlarning ta'sirini aniqlash uchun ferment manbai sifatida pankreatinning 0,5% li natriy karbonatdagi 2% li eritmasi yoki me'da osti bezining glitserinli ajratmasidan foydalaniladi. Substrat sifatida pishirilgan tuxum yoki fibrin bo'lakchalari ishlatiladi.

Tekshiriluvchi material: 0,5% li natriy karbonatda tayyorlangan pankreatinning 2% li eritmasi yoki me'da osti bezining glitserinli ajratmasi.

Reaktivlar: fibrin yoki pishirilgan tuxum bo'lakchalari, sirka kislotaning 1% li eritmasi, ko'k lakmus qog'oz.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar 40°C li termostat yoki suv hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. Uchta probirkaga pankreatin eritmasi yoki pankreatin ajratmasidan 1 ml solinadi. Birinchi probirkadagi eritma bir necha daqiqa qaynatiladi va suv tagida sovutiladi. Ikkinchi probirkadagi eritmaning muhiti (lakmus qog'uzi yordamida) 1% li sirka kislota bilan nordonlashtiriladi. Uchta probirkaning har biriga fibrin oqsili bo'lakchalari solinadi va 37-40°C li termostatga joylashtiriladi.

40-60 daqiqadan so'ng probirkalar termostatdan olinadi va eritmalar aralashtiriladi. Oqsil bo'lakchalari bilan bo'lgan o'zgarishlar kuzatiladi va barcha probirkadagi eritmalar bilan Biuret reaksiyasi o'tkaziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalar jadvalga yoziladi va tegishli xulosa chiqariladi.

64-jadval

Eritma yoki reaktiv	Probirkalar		
	1	2	3
Substrat			
Ferment			
Eritma muhiti			
Kuzatilgan o'zgarishlar			
Biuret reaksiyasi			

107-ish. ME'DA SHIRASI TARKIBIDAGI PEPSIN VA SIYDIK TARKIBIDAGI UROPEPSIN FAOLLIGINI MIQDORIY ANIQLASH

Usulning asosi. Me'da shirasi tarkibidagi pepsin sut oqsili – kazeinogenni ivitish xossasiga ega. pH i 4,9.25°C da sut-atsetat aralashmasining pepsin ta'sirida ivishi oqsilning singish vaqtiga to'g'ri keladi. Pepsinning faollik birligi qilib 5 li sut-atsetat aralashmasining 60 daqiqada ivitadigan miqdori olinadi (ushbu nisbiy birlik 0,010 mg kristall pepsinga to'g'ri keladi). Me'da shirasining 1 ml ida 40-60 pepsin birligi bor.

Siydik tarkibidagi uropepsinning faolligi yuqoridagidek aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: me'da shirasi yoki tekshiriluvchi pepsin eritmasi, siydik.

Reaktivlar: pH i 4,9 bo'lgan atsetat bufer eritmasi (tayyorlanishi 298-betda), sut-atsetat aralashmasi (tayyorlanishi 298-betda). Vodorod xloridning 2M eritmasi, pepsinning doimiy standart eritmasi (100 mg kristall pepsin 100 ml 0,2% li vodorod xloridda eritiladi).

Kerakli anjomlar: Termostat, suv hammomi, sekundomer, mikropipetkalar, termometr, probirkalar va shtativlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Probirkaga 0,1 ml me'da shirasi, ustiga 5 ml sut-atsetat aralashmasi solinadi. Ikkala probirka 25°C gacha isitilgan suv hammomiga 5 daqiqaga qo'yiladi. So'ng sut-atsetat aralashmasi tezda me'da shirasi solingan probirkaga olinadi va sekundomyerda o'lchanadi, probirkadagi eritmalar silkitiladi. Aralashmali probirka etilgan holda suv hammomida ushlanadi va probirka devorida kazein ivitmasi hosil bo'lishi kuzatiladi. Iviq hosil bo'lgan zahoti sekundomer to'xtatiladi va iviq hosil bo'lgan vaqt yozib olinadi.

Hisoblash. 1 ml me'da shirasi tarkibidagi pepsin faolligini hisoblash uchun 60 soni topilgan vaqt soniga bo'linadi. Shu yo'l bilan 0,1 ml me'da shirasi tarkibidagi pepsinning miqdor birligi topiladi. Shu son 10 ga ko'paytirilganda 1 ml me'da shirasi uchun pepsin faolligi topiladi. Masalan, sut-atsetat aralashmasida birinchi iviq hosil bo'lishi 15 daqiqada aniqlandi. Demak, 60:15=4,0 birlik. 1 ml uchun esa 4,0x10=40,0 yoki bu 4,0,01 mg=0,4 mg kristallik pepsin faolligiga to'g'ri keladi.

2. Uropepsinni aniqlash. Probirkaga bir sutkada yig'ilgan 0,5 ml siydik o'lchab olinadi. Siydik tarkibidagi uropepsinni faollash uchun pH i 3,0 ga teng bo'lgan 0,1 ml 2M vodorod xlorid eritmasi solinadi. Kongo qizili ko'k-binafsha rangga kirguncha ushlab turiladi. Probirkadagi aralashma 37°C li termostatga bir soatga joylashtiriladi.

3. 25°C gacha isitilgan suv hammomiga faol uropepsin va 5 ml sut-atsetat aralashmasi solingan probirka joylashtiriladi. Probirkalar 5 daqiqa ushlanadi. Uropepsinning faolligi yuqoridagidek aniqlanadi.

Hisoblash. Uropepsin faolligini hisoblash uchun 60 soni ivish boshlangan vaqtga bo'linadi va bu son 2 ga va bir sutkada ajratilgan siydik miqdoriga ko'paytiriladi. Demak, bir sutkalik siydik uchun uropepsinning faol miqdori topiladi. O'rtacha siydik bilan 150-300 uropepsinogen birligi yoki 1,5-3,0 mg ajratiladi.

Axiliya holatlarida me'da shirasida va siydikda fermentlar bo'lmasligi kuzatiladi. Yara kasalliklarida pepsin faolligi odatdagidan birmuncha yuqori bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Natijalarni daftaringizga yozib, xulosa chiqaring.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. *Me'dada oqsillarning singishida xlorid kislotaning ahamiyati qanday?*
2. *Me'dada oqsillar parchalanishi uchun qanday sharoitlar talab qilinadi?*
3. *Me'da shirasi tarkibida qanday kislotaliliklar tafovut qilinadi? Ular qaysi usul bilan aniqlanadi? Kislotalilikni aniqlashning qanday amaliy ahamiyati bor?*
4. *Oqsilni parchalovchi fermentlarning faol bo'lmagan holda ishlab chiqarilishining ahamiyati qanday? Ushbu fermentlar qanday qilib faol holatga o'tadi?*
5. *12 barmoqli ichakda oqsillarning – peptidlarning parchalanishi uchun qanday sharoitlar talab qilinadi? Qanday fermentlar oqsillarning parchalanishida ishtirok etadi? Fermentlar qanday yo'l bilan faol holatga o'tadi?*
6. *Fermentlarni aniqlash usuli nimaga asoslangan? Ularning faolligini aniqlash qanday ahamiyatga ega?*
7. *Ingichka ichakda oqsillarni parchalashda qanday fermentlar ishtirok etadi? Ularning faol holatga o'tishi qanday amalga oshiriladi?*
8. *Oqsillar parchalanishini bosqichma-bosqich amalga oshirilishining ahamiyati qanday?*

2. AMINOKISLOTALAR ALMASHINUVI

Organizmدا oqsillarning parchalanishi va hosil bo'lishi bir-biri bilan chambarchas bog'liq. Vaznning va oqsil tarkibining doimiyliqi anabolizm va katabolizm nisbati tengligidan darak beradi. Tanada oqsillarning yangilanishi uchun ozuqa oqsillarining parchalanishidan hosil bo'lgan aminokislotalar ularning umumiy manbaini hosil qiladi. Aminokislotalar miqdori taxminan 500 g ga to'g'ri keladi.

Aminokislotalarning asosiy qismi xususiy oqsillar, gem, purin, pirimidin asoslari va shu kabi birikmalar hosil bo'lishi uchun sarflanadi. Anabolizm jarayonida qatnashmagan aminokislotalar (100 g ga yaqin) organizm to'qima va hujayralarida parchalanadi. Ularning o'rni to'ldirish uchun ozuqa qabul qilishi kerak.

Ular hujayra sitoplazmasida aminokislotalarga xos bo'lgan yo'l bilan parchalanadi. Bularga aminokislotalarning aminoguruhini yo'qotishi – dezaminlanish misol bo'ladi. Dezaminlanish jarayoni 4 xil bo'ladi: qaytarilish (bu yo'l bilan sistein va asparagin aminokislotalar dezaminlanadi), gidroliz (serin, treonin), molekula ichida dezaminlanish va oksidlanish yo'li bilan (qolgan aminokislotalar) dezaminlanish. Bu vaqtda organizm uchun zaharli ammiak hosil bo'ladi. Ammiakning zaharsizlanishida α -ketoglutarat kislotaga aylanadi va jigarga tushadi. Jigarda glutamin kislotaga aylanadi va jigarga tushadi. Jigarda glutamin kislotaga yana dezaminlanib, ammiak hosil qiladi. Bu qayta jarayon glutamiddegidrogenaza fermenti ishtirokida amalga oshiriladi. Jigarga tushgan ammiak u yerda siydikchilga aylanadi (ornitin xalqasida). Siydikchil siydik orqali chiqariladi. Siydikchil miqdorini qon zardobida va siydikda aniqlash katta amaliy ahamiyatga ega, chunki u aminokislotalarning parchalanish tezligi ko'rsatkichi hisoblanadi (siydikchil miqdorini aniqlash qon va siydik bo'limida keltirilgan).

Hujayra sitoplazmasida aminokislotalar o'z aminoguruhlarini ammiak hosil qilmay ketokislotalarga beradi. Natijada yangi aminokislota va yangi ketokislota hosil bo'ladi. Bu jarayon transaminlanish deb ataladi. Bu reaksiyani transaminaza fermenti katalizlaydi. Bu jarayonning ahamiyati almashtirib bo'ladigan aminokislotalar hosil qilishdan iborat. Transferaza – aminotransferaza fermentlari hujayra sitoplazmasida joylashgan bo'lib, qon zardobida juda kam miqdorda uchraydi. Ammo ayrim kasalliklarda hujayra membranasining yallig'lanishi natijasida uning o'tkazuvchanligi ortadi va ferment qon zardobi tarkibida ko'payadi. Shu bois ushbu ferment faolligini qon zardobida aniqlash katta ahamiyatga ega.

Aminokislotalarning ayrimlari o'ziga xos yo'l bilan parchalanishi mumkin. Ularning oxirgi mahsulotlari $\text{CH}_3\text{CO-S-KoA}$ hosil bo'ladi – bular ketogen aminokislotalardir. Atsetil KoA dan yog'lar, xolesterin, keton tanachalar hosil bo'lishi mumkin. Energiyaga muhtojlik ortganda, bu birikma Krebs xalqasiga kirib, tegishli substratlarni hosil qiladi. Substratlardan vodorod ajralib, nafas olish zanjirida ATF sintezlanishiga olib keladi. Ayrim aminokislotalardan pirouzum kislotasi (PUK) hosil bo'ladi. Bular glukogen aminokislotalardir. PUK glikoneogenez yo'li bilan glukozaga hosil bo'lishida va glikogen to'planishida ishtirok etishi mumkin. Ayrim aminokislotalar kerakli birikmalar hosil bo'lishida ishtirok etadi. Masalan, glitsin, arginin va metionin kreatinfosfat, makroergik

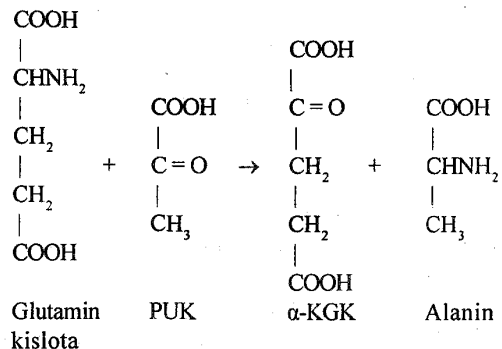
birikma hosil bo'lishida ishtirok etadi. Kreatinfosfatning parchalanishidan kreatin hosil bo'ladi va siydik bilan oxirgi mahsulot sifatida ajraladi. Uning miqdorini aniqlash ayrim kasalliklarni bilish uchun amaliy ahamiyatga ega (Kreatininni aniqlash usuli siydik va qon bo'limida keltirilgan). Shuningdek, siydik bilan murakkab oqsillar almashinuvidan hosil bo'lgan oxirgi mahsulotlar – siydik kislota, bilirubin kabi birikmalar ajratiladi (siydik va qon bo'limida keltirilgan).

Ayrim kasalliklarda oqsillar almashinuvining o'zgarishi kuzatiladi. Shu tufayli aminokislotalar almashinuvini bilish, almashinuv natijasida hosil bo'ladigan oxirgi va oraliq mahsulotlarni aniqlash, kasallikni aniqlashda va uni davolashda bo'lg'usi shifokor uchun katta ahamiyatga ega.

108-ish. AMINOKISLOTALARNING TRANSAMINLANISHINI O'RGANISH

Usulning asosi. Mushak to'qima hujayralarida transaminlanish reaksiyasi borishini o'rganish uchun substrat sifatida glutamin va pirouzum kislotalardan foydalaniladi.

Reaksiya tenglamasi:



Ushbu reaksiyani aminotransferaza fermenti katalizlaydi. Uning kofermenti vitamin B₆ ning faol turi hisoblangan fosfopiridoksaldir. Hosil bo'lgan yangi aminokislota alanin xromatografiya usuli bilan aniqlanishi mumkin.

Tekshiriluvchi material: mushak qiymasi.

Reaktivlar: pH i 7,4 bo'lgan fosfat buferida tayyorlangan glutamin kislolaning 1% li eritmasi, pirouzum kislolaning 1% li eritmasi, monobromsirk kislolaning 0,025% li eritmasi, kaliy gidrokarbonatning 0,1% li, sirka kislolaning 2% li eritmalari, erituvchilar sistemasi, ningidrinning atsetonda tayyorlangan 0,2% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirka va shtativlar, voronkalar, qog'oz filtrlar, buretkalar, pipetkalar, Petri kosachasi, pinsetlar, purkagichlar, xromatogrammalar uchun osmalar, quritgich shkaflar, termostat.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Ikkita probirkaga (biri tekshiriluvchi, biri nazorat) 0,5 ml dan pirouzum kislota va glutamin kislota solinadi. Ularga 1 ml kaliy gidrokarbonat eritmasi, 0,2 ml monobromsirk kislota (glikoliz reaksiyasi ketmasligi uchun) solinadi.

2. Ikkala probirkaga 0,5 g dan yangi tayyorlangan mushak qiymasi solinadi. Nazorat probirkaga shu zahoti 0,3 ml sirka kislota solib, fermentlarni faolsizlantirish uchun 2-3 daqiqa qaynatiladi.

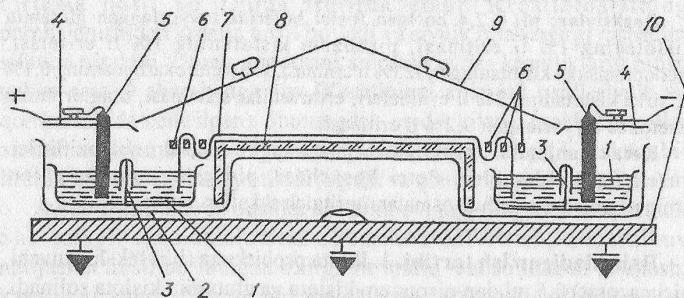
3. Probirkalar 1,5 soatga termostatga joylashtiriladi. Vaqti-vaqti bilan aralashtirib turiladi. Bir ozdan so'ng probirkalar termostatdan olinadi. Tekshiriluvchi probirkaga 0,3 ml sirka kislota solib, 2-3 daqiqa qaynatiladi. Eritmalarning har biri alohida toza probirkaga qog'oz filtr yordamida o'tkaziladi.

4. Xromatografiya 25-ishdagidek o'tkaziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, transaminlanish reaksiyasini, Rf ni hisoblashni daftaringizga yozing. Xromatogrammani daftaringizga yopishtirib qo'ying. Tegishli xulosa chiqaring. Transaminlanish reaksiyasining ahamiyatini eslab qoling.

109-ish. AMINOKISLOTALARNING DEKARBOKSILLANISHINI O'RGANISH

Aminokislotalarning karboksil guruhi CO₂ holatida yo'qotishi dekarboksillanish deyiladi. Ushbu jarayon dekarboksilaza fermentlari tomonidan katalizlanadi. Fermentlarning kofermenti, vitamin B₆ ning faol shakli fosfopiridoksaldir. Ko'pincha aminokislotalarning dekarboksillanishi natijasida biogen aminlar hosil bo'ladi. Biogen aminlar farmakologik faol moddalar sifatida organizmga turlicha ta'sir ko'rsatadi. Masalan, gistamin, tiramin, triptamin, sistamin, serotonin, gamma aminomoy kislota va hokazo.



12-rasm. Qog'ozda o'tkaziladigan elektroforez EFA-1 asbobi.

1—Elektrod uchun ariqchalar; 2—vanna; 3—to'siq;

4—elektrodlar o'rnatilgan moslama; 5—ko'mir elektrodlari; qog'oz lenta o'rnatiladigan moslama; 8—qog'oz lentalarini ushlab turuvchi ramka;

9—shisha qopqoq; 10—vanna uchun moslama

Dekarboksillanish jarayoni mikroorganizmlarda juda shiddatli ketadi, shuning uchun ularni ferment manbai sifatida ishlatish mumkin.

Usulning asosi. Glutamin kislotasi ichak mikroorganizmi *E. coli* bilan biroz ushlab turilganda gamma moy kislotasi hosil bo'ladi. Hosil bo'lgan birikmani elektroforez usuli bilan aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: *E. coli* bakteriyasi.

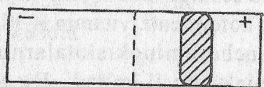
Reaktivlar: pH i 8,6 bo'lgan veronal bufer eritmasi, pH i 6 bo'lgan fosfat bufer eritmasi, glutamin kislotaning 0,5% li eritmasi, fenolning 5,0% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: elektroforez o'tkazish uchun maxsus asbob, sentrifuga, sentrifuga probirkalari, probirkalarni tenglashtirish tarozisi,

pipetkalar, mikropipetkalar yoki kapillarlar, 100°C li quritgich shkaf, 37°C li termostat.



a)



b)

13-rasm. Glutamin kislotaning dekarboksillanish mahsuloti;

a—tajriba; b—kuzatish

Bajariladigan ish tartibi. 1.

Dekarboksillanish reaksiyasini o'tkazish. Bakterial massa cho'kmasining 1 ml iga pH i 6,0 bo'lgan bufer eritmasida tayyorlangan glutamin kislotaning 1 ml ini solib aralashtiriladi va bir soatga 37°C li termostatga joylashtiriladi.

Inkubatsion aralashma sentrifuga probirkalariga solinib tarozida tenglashtirilgach, 5 daqiqa davomida daqiqasiga 2500 marta aylanadigan sentrifugada aylantiriladi. Cho'kma ustidagi eritma toza probirkaga olinadi.

2. Qog'oz elektroforezini o'tkazish. Elektroforez asbobi ikki qismdan iborat bo'lib, uning biri — elektrodlar o'rnatilgan kuveta, ikkinchisi doimiy tok beruvchi stabilizatoridan iborat. Elektrodlar o'rnatilgan kuvetaning ariqchalariga bufer eritma solinadi va namlangan elektroforegrammaning uchi ikki tomonga tushirib qo'yiladi. Elektroforegrammaning manfiy «-» tomonidan tekshiriluvchi eritma tomiziladi. Ikkinchi xromatogrammaga ega glutamin kislotasi tomiziladi. Eritmalar 0,05 ml dan ishlatiladi (12-rasm) (elektroforez usuli 127-ishda keltirilgan).

200-300 V, 1,5-2,0 mA tok kuchida 1-1,5 soat davomida elektroforez o'tkaziladi. Bir ozdan so'ng asbob tokdan o'chiriladi, kuveta qopqog'i ochilib, elektroforegrammalar maxsus moslamaga olinadi va 100°C da quritiladi. Quritilgan elektroforegrammaga 0,1% li ningidrin eritmasi purkaladi. Ikkita dog' hosil bo'lgani kuzatiladi. Ularning biri glutamin kislotaning, ikkinchisi gamma moy kislotaning dog'idir (13-rasmga qarang).

Ishlatilgan barcha idishlar (pipetkalar, probirkalar) 5% li fenol eritmasida bir necha daqiqa dezinfeksiyalanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga dekarboksillanish reaksiyasini, hosil bo'lgan biogen aminlarni, ularning biologik ta'sirini, usulning asosini yozing. Tegishli xulosa chiqaring. Elektroforegrammani daftaringizga yopishtirib qo'ying.

110-ish. TIROZINAZA TA'SIRINI O'RGANISH

Tirozin malanotsitlar oksidlanganda melanin hosil bo'ladi. Tuzilishi jihatidan ular polimer bo'lib, hali yaxshi o'rganilmagan. Shu pigmentlarning miqdori soch, teri, ko'z gavhari rangini aniqlaydi. Melaninlarning hosil bo'lishida ishtirok etadigan fermentlardan biri tirozinazadir. Ushbu ferment mis tutuvchi metalloproteinlar guruhiga kiradi. Tirozinaza fermenti substratlarini havo kislorodi ishtirokida oksidlaydigan oksidazalarga kiradi. Ular o'simlik organizmida ko'p bo'lgani uchun o'simliklardan ferment manbai sifatida foydalanish mumkin.

Tekshiriluvchi material: kartoshka tuganaklari.

Reaktivlar: tirozinning 0,1% li eritmasi, distillangan suv.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar, skalpellar, chinni hovonchalar, 37-40°C li termostat, doka yoki filtr qog'ozi, tarozi va qadoq toshlari.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Ferment manbaini tayyorlash.

Po'stidan tozalangan kartoshka tuganaklari (2,0-4,0 g) parrak-parrak qilib chinni hovonchaga solinadi. Unga 10 ml distillangan suv solib eziladi. Hosil bo'lgan aralashma filtrdan o'tkaziladi.

Olingan filtrat 1 ml dan qilib ikkita probirkaga solinadi.

Polbirkalarning biri 1-2 daqiqa davomida qaynatiladi va oqib turgan suvda sovutiladi. Ikkala probirkaga tirozinning 0,1% li eritmasidan 1,0 ml dan solinadi. Probirkadagi suyuqliklar aralashtirilib, 37-40°C li temostatga joylashtiriladi. Vaqti-vaqti bilan probirkalardagi eritmalar aralashtirib turiladi. Probirkalardagi eritmalarining biri tirozinaza ta'sirida qorayadi. Ushbu probirkadagi tirozin havo va tirozinaza ta'sirida melanin o'xshash mahsulot hosil qiladi. Nazorat probirkadagi tirozin o'zgarmaydi, chunki kuchsiz ferment unga ta'sir ko'rsatmaydi va eritma rangi qoraymaydi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Tajriba natijalari va xulosa daftarga yoziladi.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. *Glutamin kislota va mushak qiymasi inkubatsiyalanganidan so'ng xromatogrammada aniqlangan yangi aminokislota dog'lari hosil bo'lishini qanday tushuntirish mumkin?*
2. *Glutamin aminokislota dekarboksillanganini qanday tushuntirish va aniqlash mumkin?*
3. *Tirozinaza ta'sirini qanday aniqlash mumkin?*
4. *Dezaminlanish va transaminlanish reaksiyalarining farqi qanday? Dekarboksillanish reaksiyasini tushuntiring.*
5. *Oqsillarning singishi. Proteolitik fermentlar, ularning o'ziga xos xususiyati.*
6. *Aminokislotalarning so'rilishi va organizmdagi vazifasi.*
7. *Transaminlanish reaksiyalari. Transaminazalar. Ularning ahamiyati.*
8. *Dezaminlanish reaksiyasi va ularning turlari.*
9. *Transdezaminlanish reaksiyasi, ularning fermentlari, biologik ahamiyati.*

10. *Organizmda almashtirib bo'ladigan aminokislotalarning hosil bo'lishi.*

11. *Aminokislotalardan glukoza hosil bo'lishi, ularning ahamiyati.*

12. *Aminokislotalarning dezaminlanishidan hosil bo'lgan ammiakni zararsizlantirish yo'llari.*

13. *Siydikchilning sintezlanish reaksiyasi va uning ketma-ketligi, ishtirok etadigan fermentlari.*

14. *Siydikchilning sintezlanishi buzilishi.*

15. *Giperammonemiya holatlari. Siydikchilning qondagi va siydikdagi o'rtacha miqdori.*

16. *Serin, gliitsin, metionin aminokislotalarining kreatin, xolin, glutatston hosil bo'lishdagi ishtiroki, ularning katabolizmi va o'zaro bog'lanishlari.*

17. *Fenilalanin va tirozin aminokislotalarini tiroksin, katexolamin va melanin biosintezidagi ishtiroki, anabolizm jarayonlarida qatnashishi.*

18. *Fenilalanin va tirozinlarning parchalanishi. Ularning almashinuvida kuzatiladigan patologik holatlar. Fenilketonuriya, gomogentzinuriya, albinizm va hokazo.*

19. *Aminokislotalarning dekarboksillanishi. Biogen aminlar – gomogistamin, serotonin gamma-aminomoy kislotalar hosil bo'lishi.*

20. *Biogen aminlarning biologik ahamiyati va ularning nerv sinapslarida impuls o'tkazishi.*

21. *Biogen aminlarning parchalanishi.*

22. *Nuklein kislotalar almashinuvi: purin va pirdin asoslari sintezida ishtirok etuvchi birikmalar va fermentlar.*

23. *Siydik kislota hosil bo'lishi. Podagra kasalligi, uni davolash yo'llari.*

24. *Siydikchil va siydik kislotalari siydik tarkibida aniqlash usullari. Ular miqdorini aniqlashning ahamiyati.*

25. *Bemorning me'da shirasi quyidagi ko'rsatkichlarga ega: pH i 6,0; umumiy kislotaliligi 20 mmol/l; HCl ning erkin kislotaliligi 8 mmol/l; birikkan HCl 3 mol/l. Bu ko'rsatkichlarga qarab shifokor qanday xulosa chiqaradi va uni davolash rejalarini qanday belgilaydi?*

26. *Bemorning me'da shirasi tarkibida xlorid kislota va pepsin yo'qligi aniqlandi. Shifokor qanday kasallik haqida fikr yuritishi kerak? U davolash rejalarini qanday belgilashi lozim?*

27. Bemorning me'da shirasi tarkibida qon borligi aniqlandi. Qanday kasallik to'g'risida fikr yuritish va qanday davolash rejalarini tuzish kerak?
28. Bemor bolaning ishtahasi yo'q. Ovqatning hazm bo'lishi qiyinlashib, u yegan ovqatini qayt qilib tashlayapti. Shifokor qanday mulohaza yuritishi va qanday qilib bolani bu holatdan chiqarishi mumkin?
29. Ovqat mahsulot tarkibida asparagin aminokislota deyarli yo'q. Bu holat organizmni o'zgarishiga olib keladimi? Moddalar almashinuvi qanday bo'lishini ayting.
30. Bolaning siydigi tarkibida fenilpirouzum kislota miqdori ko'paygan. Fenilketonuriya holati yuzaga kelgan. Bu holatni qanday tushuntirish mumkin va qanday davolash rejalarini tuzish kerak?
31. Bolaning siydigi bir oz turganda qoraydi. Nima uchun bunday holat yuzaga keldi. Bu holatdan qanday qilib chiqish mumkin?
32. Bemorning qoni tarkibida ammoniy ionlari miqdori ko'payganligi, siydikchil miqdori esa kamayganligi aniqlanadi. Bunday holatni aniqlagan shifokor qanday fikr yuritishi kerak? Bunday holatning yuzaga kelishiga sabab nima? Bunday bemorni davolash mumkinmi?
33. Tajriba uchun olingan mushuklarning bir guruhiga faqat arginin va ornitindan iborat bo'lgan sun'iy oqsil berilgan. Ikkinchi guruhiga esa faqat ornitindan iborat oqsil berildi. Birinchi guruh hayvonlari 4,5-5 soatdan so'ng nobud bo'lgan. Ikkinchi guruhdagi hayvonlar esa tirik qolgan. Buning sababi nima? Bu holatni qanday tushuntirish mumkin?
34. Faqat bir turdagi oqsillar bilan oziqlanadigan organizmda oqsil almashinuvining buzilishi kuzatiladi, turli xildagi oqsillar bilan oziqlangan organizmda esa moddalar almashinuvi jarayoni me'yorida ekanligi aniqlanadi. Buning sabablarini tushuntiring.
35. Ozuqa oqsillari tarkibida metionin aminokislotalari yetishmasligi ma'lum bo'ldi. Shu oqsillar bilan oziqlangan kishi organizmida qanday o'zgarishlar bo'lishi mumkin?

GORMONLAR

Gormonlar odam va hayvonlarning a'zolaridagi maxsus bezlardan ishlanib chiqib, bevosita qon oqimiga quyiladi. Gormon yunoncha «horman» so'zidan olingan bo'lib, «qo'zg'otaman, uyg'otaman» degan ma'noni anglatadi. Ular to'qima, a'zolar va butun organizmda kechadigan moddalar almashinuvi, ko'payish, o'sish kabi funksional holatlarni bir me'yorga solib turadigan faol organik moddalardir. Ichki endokrin bez faoliyati markaziy nerv sistemasi (MNS) tomonidan boshqarib turiladi.

Gormonlar kimyoviy tabiati jihatidan shartli ravishda quyidagi guruhlarga bo'linadi.

1. Oqsil va peptid tabiatli gormonlar. Bularga gipotalamus gormonlari (tiroliberin, luliberin, samotastatin va boshqalar), gipofiz gormonlari (o'sish gormonlari, follikulalarni jadallashtiruvchi gormon, prolaktin, tireotrop, adrenokortikotrop, gonadotrop, melanotrop gormonlari, vazopressin va oksitotsin), me'da osti bezi gormonlari (insulin, glukagon), qalqonsimon bez oldi gormoni (paratgormon), qalqonsimon bez gormoni (kalsitonin) kiradi.

2. Aminokislota mahsuli bo'lgan gormonlar. Bularga buyrak usti bezining mag'iz qismidan ajraluvchi gormonlar (adrenalin, noradrenalin) va qalqonsimon bez gormonlari (troksin, triodtironin) kiradi.

3. Steroid gormonlar. Bu guruhga buyrak usti bezining po'stloq qismidan ajratuvchi gormonlar (glukokortikoidlar, mineralkortikoidlar), jinsiy bez gormonlari (androgenlar, ekstrojenlar) kiradi.

4. Gormonoid moddalar. Ayrim to'qima va hujayralarda gormonlarga o'xshash moddalar prostaglandinlar, gistamin, serotonin va hokazo ishlab chiqariladi. Ular mahalliy ta'sir ko'rsatadi.

Maxsus hujayralarda, ichki sekretsiya bezlarida hosil bo'lgan gormonlar yig'ilmasdan bevosita qon oqimiga quyiladi va qon plazmasi oqsillari yoki qon elementlari bilan birikadi. Bunday shaklda bog'langan gormonlar uncha faol bo'lmaydi. Ular qon oqimi bilan muayyan hujayralarga yetkaziladi va tegishli retseptorlar bilan kompleks birikma hosil qilib, qator murakkab biokimyoviy o'zgarishlarni sodir qiladi.

Retseptorlar tabiati jihatdan oqsil, ko'pincha glukoproteid bo'lib, u hujayra membranasida yoki sitoplazmasida joylashgan. Gormon retseptorlari maxsus tanlanuvchanlik xossasiga ega bo'lib, biokimyoviy o'zgarishlarga sababchi bo'ladi. Retseptor va gormonlarning o'zaro birikishi qaytar bo'lishi mumkin. Gormonlar retseptor bilan o'zaro ta'sirlanishiga ko'ra ikki guruhga bo'linadi.

1. Hujayraga kirolmaydigan, protoplazma membranasining tashqi qismidagi retseptor bilan o'zaro ta'sirlanadigan gormonlar. Bularga barcha oqsil, peptid tabiatga ega bo'lgan gormonlar va katexolaminlar kiradi. Ushbu gormonlar ayrim moddalar – gluukoza va aminokislotalar uchun hujayra membranasini o'tkazuvchanligini oshiradi. Allosterik ta'sir ko'rsatish yo'li bilan ferment faolligini boshqaradi.

2. Hujayra ichiga kira oladigan, sitoplazma retseptorlari bilan o'zaro ta'sirlanadigan gormonlarga tireoidlar va steroidlar kiradi. Bunday gormonlar hujayra yadrosining genetik apparatiga ta'sir ko'rsatib, fermentlarning sintezini, ularning oqsil qismi va kofermentlarini (yoki fermentlarning parchalanishini) boshqarib turadi.

Shuni esda tutish kerakki, ichki sekretsiya bezlarining rivojlanishi va faoliyatining shakllanishi uzoq vaqt davom etadi. Bu turli yoshdagi bolalarda turlicha kechadi. Bola tug'ilgandan keyingi birinchi kunlarda o'sish gormoni, insulin va katexolaminlarning miqdori nisbatan yuqori bo'lib, kortikosteroidlarning miqdori kamroq ekanligi aniqlangan. Bola emiziklik davrida uning qalqonsimon va buqoq bezlari juda tez rivojlanadi va u 6-7 yoshga kirguncha davom etadi. 7 yoshdan 16 yoshgacha jinsiy bezlar faoliyati rivojlanadi. Bu vaqtda gipofizning faolligi oshib, gonadotrop gormonlarning ishlab chiqarilishi kuchayadi. Buyrak usti bezining po'stloq qismidan esa androgen, kortikosteroidlarning ishlab chiqarilishi ortadi.

Gormonlarning ta'siri maxsus mexanizmlar orqali to'xtatiladi. Ular gormon retseptorning qayta birikishini ta'minlaydi. Gormonlarning parchalanishi esa jigar hujayralarida amalga oshiriladi.

Ichki sekretsiya bezlari faoliyatining oshishi (giperfunksiya), kamayishi (gipofunksiya), gormonlar parchalanishining jadallashuvi yoki retseptorlar faoliyatining buzilishi natijasida organizmda fiziologik o'zgarishlar sodir bo'ladi. Biror bez faoliyatining buzilishi boshqa bezlarning ham faoliyati buzilishiga olib keladi. Gormonlar u yoki bu moddalar almashinuviga ta'siri jihatdan ma'lum nisbatda (antagonist yoki sinergist) bo'lishi tufayli, ularning nisbatlari o'zgarishi natijasida kasallik (patologik) holati sodir bo'ladi.

Ko'pchilik gormonlar hozirgi vaqtda endokrin va endokrin bo'lmagan kasalliklarni davolashda qo'llaniladi.

Bo'limning maqsadi:

1. Gormonlarning modda almashinuv jarayonlarini boshqarishdagi o'rni va ta'sir mexanizmini tushuntirish.

2. Endokrin kasalliklarining kelib chiqish sabablari va mexanizmlarini tushuntirish. Kasallikni aniqlashda qo'llaniladigan usullar va ulardan foydalanishda gormonlarning tuzilishi bilan tanishtirish.

3. Gormonlarni ochish va miqdorini o'lchash usullarini o'rgatish va kelajakda undan foydalana olish yo'llarini tushuntirish.

4. Endokrin va boshqa kasalliklarda gormonlardan foydalanish yo'llarini o'rgatish.

GORMONLARDA O'TKAZILADIGAN SIFAT REAKSIYALAR VA ULARNING MIQDORINI O'LCHASH

Gormonlarni o'rganishda va aniqlashda ikki xil yo'ldan foydalaniladi: biologik (hayvonlarda o'tkaziladigan tajribalar bilan), kimyoviy (u yoki bu gormonda o'tkaziladigan rangli reaksiya yordamida).

Gormonlarni ochadigan sifat reaksiyalar o'tkazishdan oldin quyidagi jadvalni to'ldiring.

65-jadval

Ichki sekretsiya bezlari va ularning gormonlari

Ichki sekretsiya bezlarining nomi	Ajratiladigan gormonning nomi	Gormonning kimyoviy tabiati	Retseptorning joylashishi	Ko'rsatiladigan ta'siri	Aniqlanadigan reaksiya nomi

1. ME'DA OSTI BEZI GORMONI – INSULIN

Me'da osti bezining Langergans orolchalaridagi β -hujayralaridan ishlanib chiqqan proinsulindan insulin hosil bo'ladi. Bu gormon oqsil

tabiatiga ega bo'lib, ikkita polipeptid zanjiridan iborat. Birinchi polipeptid zanjir 21 ta, ikkinchisi 30 ta aminokislotadan tashkil topgan. Polipeptid zanjirlari oltingugurt (disulfid) ko'priklarini orqali bog'langan.

Insulin modda almashinuviga ta'siri turlicha. Uning ahamiyati uglevod almashinuviga, ayniqsa, kattadir. Insulin glukoza va aminokislotalarni hujayraga o'tishi uchun membranalarining o'tkazuvchanligini oshiradi. Qon tarkibidagi qand miqdorini me'yorida ushlab turilishini ta'minlaydi. Glukozani faol holatga – glukoza-6-fosfatga aylanishida ishtirok etuvchi glukokinaza (geksokinaza) fermenti faolligini oshiradi. Jigar va mushaklarda glikogen sintezini jadallashtiradi. Uglevodlardan yog' hosil bo'lishini (lipogenez), glukoza-6-fosfatni apotomik yo'lga kirib oksidlanishini va NADPH dan yog' kislotalari hosil bo'lishini hamda aylana yo'l bilan oksidlovchi fosforlanishni tezlatishda foydalaniladi.

Insulin adrenalinning antagonistidir. Mineral tuzlar almashinuviga qon tarkibidagi fosfatlarni va kaliyni kamaytirib, hujayralarni kaliy bilan boyitadi. Insulin yetishmovchiligi qandli diabet kasalligiga olib keladi.

Insulin ichakda proteolitik fermentlar ta'sirida tez parchalanadi. Shuning uchun insulin teri ostiga yuboriladi. Qandli diabet kasalligini davolashda insulin keng ko'lamda qo'llaniladi.

Insulinni aniqlashda uning oqsil tabiatidan foydalaniladi. Oqsillarga xos bo'lgan reaksiya insulin uchun ham xosdir.

III-ish. INSULINNING OQSIL TABIATINI TASDIQLOVCHI SIFAT REAKSIYALAR

Tekshiriluvchi material: insulin eritmasi.

Reaktivlar: natriy gidroksidning 10% li eritmasi, mis (II) sulfatning 1% li eritmasi, Millon reaktivi, qo'rg'oshin atsetatning 5% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Biuret reaksiyasi. 1 ml insulin eritmasiga 5-6 tomchi natriy gidroksid eritmasi va 1-2 tomchi mis (II) sulfat eritmasidan solib aralashtiriladi. Eritma pushti-siyoh rangga kiradi.

2. Millon reaksiyasi. 5-10 tomchi insulin eritmasiga 2-3 tomchi Millon reaktividan solib, asta-sekin qizdiriladi. Qizil rangli cho'kma hosil bo'ladi.

3. Foli reaksiyasi. 5-10 tomchi insulin eritmasiga 2-3 ml natriy gidroksid eritmasidan va 2-3 tomchi 5% li qo'rg'oshin atsetatdan solib, past haroratda 10 daqiqa qizdiriladi. Eritma sovitilgach, 1-2 tomchi natriy gidroksid eritmasidan qo'shiladi. Eritma sariq rangga kiradi.

4. Geller reaksiyasi. 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi solingan probirkaga barobar hajmda (10 tomchi) insulin eritmasi devor bo'ylab solinadi. Probirka 45° ga egilgan holatda ushlanadi. Ikki eritma oralig'ida oq (uzuk kabi) xalqa hosil bo'lganligi kuzatiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Kuzatilgan natijalar quyidagi jadvalga yoziladi va tegishli xulosa chiqariladi.

66-jadval

Tajribaning nomi	Ochiladigan reaktiv	Ishlatilgan reaktivlar	Kuzatilgan rang	Xulosa

2. QALQONSIMON BEZ GORMONLARI

Qalqonsimon bez kuchli gormonal faollikka ega bo'lgan tiroksinni ishlab chiqaradi. Uning tarkibida 70% dan ortiq yod saqlanadi. Ushbu bez 0,2-0,9% yod tutgan, gormonal faollikka ega bo'lgan oqsil tabiatli modda – yodtiroglobulin, uch yodtironin va ikki yodtironinlarni kam miqdorda ajratadi. Yodtiroglobulin qon tarkibida uchramaydi. Ular qalqonsimon bezining proteolitik fermentlari ta'sirida parchalanganidan so'ng tiroksin va uch yodtironin shakliga qonga tushadi.

Qalqonsimon bez faoliyatining ortishi yoki susayishi (giper, gipofunksiya) organizmda asosiy modda almashinuvining o'zgarishiga sabab bo'ladi.

Qalqonsimon bez faolligining pasayishi yodtironinning miqdori kamayishiga, asosiy modda almashinuvining va tana haroratining pasayishiga olib keladi. Gipofunksiya yoshlikdan boshlansa, bolaning o'sishi susayadi va tana rivojlanishining mutanosibligi buziladi. Bunday kasallik kretinizm deb ataladi. Katta yoshdagilarda esa miksedema kuzatiladi. Yodtironin yetishmasligining yana bir turi endemik buqoqdir. Bu holat yod yetishmasligidan sodir bo'ladi.

Kasallik asosiy modda almashinuvi jarayonining pasayishi bilan ifodalanadi.

Qalqonsimon bezning giperfunksiyasi keng tarqalgan bazedov kasalligini sodir qiladi. Bunda qalqonsimon bezning kattalashishi, yodtiroglobulinning sintezi ortishi, qon tarkibidagi yodtiroglobulinlar miqdorining 2-5 marta ortishi kuzatiladi. Bu kasalliklarda ham parchalanish (katabolizm), ham sintezlanish (anabolizm) jarayonlarining baravar ravishda kuchayishi kuzatiladi. Katabolizm anabolizmga nisbatan ustunlik qiladi. Bemorning vazni kamayadi. Yodtironinlar turli a'zo hujayralaridagi ayrim genlar transkripsiyasini jadallashtirishi tufayli oqsil sintezini oshiradi. Bunday holat ma'lum darajada energiya sarflanishiga sabab bo'ladi. Natriy, kaliyga bog'liq ATF-azalarning miqdori ortadi. ATF sarflanishining ortishi natijasida ozuqa mahsulotlarini parchalanish jarayoni jadallashadi va ATF sintezining kuchayishiga sabab bo'ladi. Tireotoksikoz bilan og'rigan bemorlarning asosiy modda almashinuvi sog'lom kishilarga nisbatan 30-60% ga oshgan bo'ladi.

Qalqonsimon bez – tireokalsitonin qonda kalsiy miqdorini kamaytiruvchi gormonni ham ishlab chiqaradi. Qalqonsimon bez gormonlari tibbiyotda bemorlarni davolashda keng qo'llaniladi.

112-ish. TIREOIDIN TARKIBIDAGI YODNI ANIQLASH

Tiropsinni ishqoriy muhitda gidrolizlash natijasida kaliy yodid hosil bo'ladi. Unga kaliy yodid ta'sir ettirilganda yod ajraladi. Ajralgan yodni kraxmal ta'sirida hosil bo'lgan ko'k rangdan bilish mumkin.

Ushbu kimyoviy reaksiya tenglamasi quyidagicha:

- $5KI + KIO_3 + 6HCl \rightarrow 3I_2 + 6KCl + 3H_2O$
- $I_2 + \text{kraxmal} \rightarrow \text{ko'krang}$

Tekshiriluvchi material: tireoid tabletkalari.

Reaktivlar: kaliy karbonatning 10% li eritmasi, sulfat kislotaning 10% li eritmasi, kraxmalning 1% li eritmasi, kaliy yodidning (KIO_3) 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar va shtativlar, pipetkalar, chinni hovoncha, qum hammomi, lakmus qog'ozi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Tireoidning bitta tabletkasi chinni hovonchada eziladi. Kukun probirkaga olinib, ustiga 3 ml kaliy karbonat

eritmasi solinadi va aralastiriladi. So'ngra probirkaning ustini yopib, qum hammomida 10-15 daqiqa qaynatiladi. Tiropsin gidrolizlangandan keyin gidrolizat sovitiladi va sulfat kislotaga bilan neytrallanadi.

2. Gidrolizat lakmus bo'yicha kuchsiz kislotali holatga keltiriladi. Unga bir tomchi kraxmal eritmasi, 1-2 tomchi kaliy yodid eritmasidan solib aralastiriladi. Suyuqlik yod ajralgan taqdiridagina ko'k rangga kiradi.

Olingan natijani rasmiylashtirish. Tiropsin tarkibidagi yodni aniqlash usulining nimaga asoslanishini va qanday kasalliklarda uning miqdori o'zgarishini, olingan natijani daftaringizga yozing.

3. BUYRAK USTI BEZINING MAG'IZ QISMI GORMONLARI, ADRENALIN VA NORADRENALIN

Adrenalin va noradrenalin buyrak usti bezining mag'iz qismida fenilalanin va tirozin aminokislotalaridan hosil bo'lib, xromaffin pufakchalarida to'planadi. Noradrenalin simpatik nerv tolalari uchida ajralib, postsinaptik hujayralarga ta'sir qiluvchi neyromediatoridir. Adrenalin gipotalamusdagi nerv uchlarida sekretsiya qilinadi. Bu gormonlar qon tomirlarini qisqartirib, qon bosimini ko'tarish va yurak urishini tezlatish xususiyatiga ega. Ular ta'sirida organizm odatdan tashqari qo'zg'algan holatga kelishi mumkin.

Adrenalin gipofizning old bo'lagicdan ajraladigan AKTG, me'da osti bezining α - hujayralaridan ajraladigan glukagon gormonlari kabi muskullardagi glikogenning parchalanishini tezlatib, qonda glukozamuskullarda sut kislotaga miqdorini oshiradi. Adrenalinning karbonsuv almashinuviga ta'siri tez amalga oshiriladi. Shu bilan u yuqoridagi gormonlardan farq qiladi.

AKTG (gipofizning old bo'lagi gormoni) glikogen parchalanishini jadallashtiradi. Uning ta'sirini jigar, mushak, buyrak usti bezining faolsiz fosforilaza «v» ni faol fosforilaza «a» ga aylantirishdan iborat. Ushbu fermentlarning faollanishi adenilatsiklaza sistemasi orqali amalga oshiriladi.

Sog'lom odam venasidagi qonda adrenalin 0,04 mkg%, noradrenalin 0,2 mkg% ni tashkil qiladi. Katta yoshdagi kishilar siyidigining sutkalik miqdorida 13,3 mkg adrenalin va 79,8 mkg gacha noradrenalin bo'ladi. Yosh bolalarda esa 0,6-2,1 mkg adrenalin va 3,8-19,3 mkg noradrenalin bo'lishi kuzatiladi.

Ayrim kasalliklarda, masalan, fenilpirouzum oligofreniyasida (fenilalanin tirozinga aylanmay fenilpirouzum kislota holatida siydik bilan ajraladi) katexolaminlarning qondagi miqdori sog'lom kishilarnikiga nisbatan kamayadi.

Mushaklar me'yoridan ortiq ishlaganda, insulin gipoglikemiyasida, gipertireoz holatida, Itsenko-Kushing sindromida (kortizon miqdorining ortishi), buyrak kasalliklarida katexolaminlarning miqdori nisbatan ortadi.

Feoxromotsitoma – buyrak usti bezining mag'iz qismi o'smasi kasalligida bemorning siydigi tarkibida katexolaminlarning miqdori keskin ortadi. Adrenalin me'da ichak fermentlari ta'sirida tez parchalanadi. Shuning uchun davolash maqsadida adrenalin teri osti yoki mushak orasiga yuboriladi.

113-ish. ADRENALINGA O'TKAZILADIGAN SIFAT REAKSIYALAR

Adrenalin va noradrenalinlarning pirakatexin xalqasi temir (III) xlorid ionlari bilan fenolyat birikmalarini hosil qilishi natijasida yashil rang paydo bo'ladi. Shuningdek, adrenalin va noradrenalin diazoreaktiv bilan azobo'yoq hosil qilib rangining o'zgarishiga olib keladi.

Tekshiriluvchi material: 1:1000 adrenalin eritmasi.

Reaktivlar: Temir (III) xloridning 1% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi, kaliy yodidning 10% li eritmasi sirka kislotaning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, shtativlar va pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Temir (III) xlorid bilan o'tkaziladigan reaksiya. Probirkaga 3 tomchi adrenalin, bir tomchi temir (III) xlorid eritmasi solib aralashtiriladi. Eritma yashil rangga kiradi. Bir tomchi natriy gidroksid eritmasi tomizilganda eritma qizaradi.

2. Adrenalin o'tkaziladigan diazoreaksiya. Probirkaga 2-3 tomchi adrenalin eritmasi, 2 tomchi kaliy yodid va 2 tomchi sirka kislota solib aralashtiriladi va bir oz qizdiriladi. Shunda suyuqlik qizg'ish binafsha rangga kiradi.

Olingan natijani rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asoslanishini va natijasini yozing. Qaysi kasalliklarda adrenalin va noradrenalinning miqdori o'zgaradi.

114-ish. OKSIDLANGAN ADRENALINNING FUORESSENSIYASI

Usulning asoslanishi. Adrenalin havo kislorodi ta'sirida oksidlanadi va ishqor ta'sirida fluoressensiyalangan mahsulotlarni hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: 0,1% li adrenalin eritmasi.

Reaktivlar: 10% li natriy gidroksid eritmasi.

Kerakli anjomlar: fluroskop, pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga o'n tomchi suv, 6 tomchi 10% li natriy gidroksid va 6 tomchi adrenalin eritmasi solib aralashtiriladi. Hosil bo'lgan yashil rangli mahsulot fluroskopda ko'riladi.

Olingan natijani rasmiylashtiring.

115-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI ADRENALIN VA NORADRENALIN MIQDORINI ANIQLASH

Usulning asoslanishi. Ayrim moddalar ultrabinafsha nur ta'sirida nurlanib, o'zi nur tarata boshlaydi (fluoressensiyalanadi), ya'ni u nurlanishning yangi manbai bo'lib qoladi. Bu maxsus asbob – fluoremetr orqali aniqlanadi. Fluoressensiyaning shiddatli moddaning eritmadagi miqdoriga to'g'ri proporsional bo'lib, aniqlanayotgan moddaning miqdori fluoressensiya qiymati bilan o'lchanadi. Usulni bajarishdan maqsad adrenalin va noradrenalinni alumin oksid bilan (pH 8,4) adsorbisyalab, sirka kislota bilan ajratiladi va kaliy ferrotsionid ta'sirida adrenoxrom bilan oksidlanib noradrenoxromga aylanadi. Adrenoxrom va noradrenoxrom ishqor va askorbin kislota bilan qaytariladi va fluoressensiyalanuvchi moddalar (lutinlar) hosil bo'ladi. Doimiy (standart) va tekshiruv tajribalar uchun bir xil ishqor qo'llaniladi. Har xil ishqor qo'llanilganda turlicha fluoressensiyalanish holatlari kuzatilishi mumkin. Adrenolutin va noradrenolutin orasidagi fluoressensiyalanish ular eng yuqori qo'zg'alganda kuzatiladi. pH – 4,2 da eluatdagi adrenalin, pH – 6,2 da esa adrenalin va noradrenalinlar aniqlanadi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: trilon B ning 0,5 va 1% li eritmasi, ammiak eritmasi (5 ml distillangan suvga bir tomchi 0,5% li ammiak, 8,0 gacha pH qo'shiladi),

natriy gidroksidning 5% li eritmasi, sirka kislotaning 0,25% li eritmasi (konsentrlangan sirka kislotadan tayyorlanadi), pH i 4,2 va 6,2 bo'lgan 0,1M li fosfat bufer eritmasi, kaliy ferrotsionidning ($K_3[Fe(CN)_6]$) 0,25% li eritmasi, 0,2% li askorbin kislotasi eritmasi, alumin oksidning kaliy xlorid bilan ishlov berilgan shakli, bitartarat adrenalin va noradrenalin kristallari, natriy tiosulfat va natriy florid tuzlari.

Kerakli anjomlar. EF – 3M fluorimetri, sezuvchanligini o'n barobar oshiradigan asbob, birlamchi nur filtri $B_1 - 1$, o'tkazish maksimumi 436 nm ikkilamchi nur filtri $B_2 - 2$, o'tkazuvchanlik maksimumi 530 nm xromatografiya ustuni, 50, 100 ml li o'lchov kolbalari, 50 ml li Erlenmeer kolbachalari, 10 ml li sentrifuga probirkalari, oddiy probirkalar, pH i 7,4-8,8 bo'lgan «Rifan» indikator, universal indikatorlar, daqiqasiga 4000 marta aylanadigan sentrifuga, filtr qog'ozlar.

Bajariladigan ish tartibi. Yangi yig'ilgan siydikka (katexolaminlarni oksidlanishdan saqlash uchun) 200 mg tiosulfat va 2:1 nisbatda natriy florid solinadi. So'ngra 50 ml li kolbaga 17,5 ml siydik o'lchab solinadi va qaynash darajasiga kelguncha qizdiriladi. Aralashma quruq kolbaga filtdan o'tkaziladi. Unga 250 mg trilon B dan (oksidlanishdan saqlash uchun) solib, eriguncha aralashtiriladi. Eritmaning pH muhiti 1 n. ammiak eritmasi tomizish bilan 8,2-8,4 ga yetkaziladi. Muhit «Rifan» indikator yordamida aniqlanadi. Buning uchun aralashma shisha tayoqcha yordamida indikatorga tomiziladi. Katexolaminning alumin oksid bilan adsorbsiyalanishi uchun odatda maxsus berkitgichli shisha ustundan foydalaniladi (shliflangan kolonka). Amaliy mashg'ulotlar uchun esa shisha ustunlar o'rniga alumin oksid solingan keng probirkalar ishlatilishi mumkin.

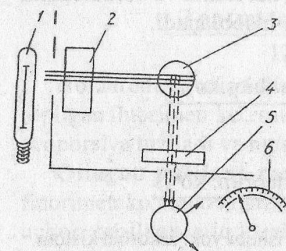
2. Shisha ustunlarni tayyorlash. Adrenalin va noradrenalinni adsorbsiyalash. Shisha ustun tubiga shisha paxta qo'yiladi va ustunning jo'mragi berk turgan holda 1 g alumin oksid (Al_2O_3) solinadi va ustunning uchi kolbaga tushiriladi. Alumin oksiddan oldin 10 ml bidistillangan suv, so'ngra pH muhiti 8,2 ga yetkazilgan siydik o'tkaziladi. 1-2 ml siydikning bir daqiqa ichida ustunchadan o'tish tezligi jo'mrak bilan suv orqali boshqariladi. Siydik ustundan o'tkazilgach, adsorbent 5ml ammiakli suv bilan (2,5ml dan) ikki marta yuviladi. Xuddi shu suv bilan neytrallangan siydik filtrati solingan kolba chayiladi. Ustun ichida qolgan suv qoldiqlari filtr qog'oz bo'lakchalari yordamida olib tashlanadi.

3. Adrenalin va noradrenalinni alumin oksiddan ajratish (eluatsiyalash). Adrenalin va noradrenalinni alumin oksiddan ajratish

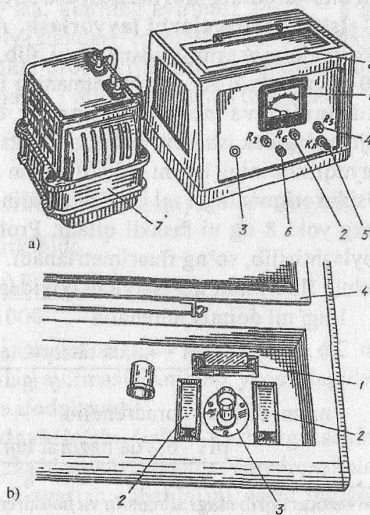
uchun 0,25 n sirka kislotaning 3,5 ml si ikkiga bo'lib ishlatiladi. Avval ustunning jo'mragi yopiq holda sirka kislotasi ustunga solinadi va shisha tayoqcha bilan alumin oksidga aralashtiriladi va cho'ktiriladi. Cho'kma tushgandan (3-5 daqiqadan) so'ng ustunning jo'mragi ochilib, ajralma (eluat) sentrifuga probirkasiga yig'iladi. Sirka kislotaning ikkinchi qismi ustundan o'tkazilganda alumin oksid bilan aralashtirilmaydi. Ajratilayotgan ajralma (eluat), birinchi ajralgan eluat ustiga yig'iladi. Eluatning umumiy miqdori 0,25 n sirka kislotasi bilan 7 ml ga yetkaziladi.

4. Lutenlarning hosil bo'lishi (adrenolutin va noradrenolutin).

Yig'ilgan eluatning muhiti (sovuq haroratda) pH i 1 n ammoniy gidroksid bilan 4,2 ga yetkaziladi. Muhit mayda bo'lakchalarga qirqilgan universal indikator yordamida tekshiriladi. Shundan so'ng tajriba uchun ikkita tekshiruv va ikkita nazorat probirkalari tayyorlanadi. Ularga pH i 4,2 bo'lgan fosfat buferidan solinadi va ustiga 1 ml dan neytrallangan eluat quyiladi. Qolgan eluat pH muhiti 6,2 ga ammoniy gidroksid bilan yetkaziladi-da, yuqoridagidek tekshiruv va nazorat probirkalariga 1 ml dan solinadi. 1 ml eluatni neytrallash uchun sarflangan ammoniy gidroksid miqdorini hisobga oling. pH i 6,2 bo'lgan eluat tarkibidagi adrenalin va noradrenalin miqdorini aniqlang. Ish davomida ikkita tekshiruv probirkasiga 0,25% li kaliy ferrotsionid eritmasidan 0,1 ml dan solib aralashtiriladi va to'rt daqiqa qoldiriladi. Shundan so'ng to'rtta (tekshiruv va nazorat)



14-rasm



15-rasm

probirkaga 0,25% li askorbin kislotadan 1 ml solib aralashtiriladi-da, yana 4 daqiqa qoldiriladi. Barcha probirkalardagi suyuqliklarning hajmi bidistillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi, nazorat tajriba probirkalariga 0,25% li kaliy ferrotsionid¹ eritmasidan 0,1 ml dan solinadi. Probirkalar muz solingan suvli idishga joylashtiriladi va ikki daqiqa o'tgandan so'ng fluorimetrlanadi (14, 15-rasmlar). Shuni eslatish kerakki, 30 daqiqadan so'ng fluoressensiya darajasi pasayadi.

Doimiy (standart) eritmalar. Adrenalin va noradrenalinning asosiy doimiy eritmasi 1:200 tayyorlanadi (eritmalar past haroratda), sovitgichda bir oygacha o'z faolligini saqlaydi.

Adrenalin yoki noradrenalinning doimiy eritmasi 25 ml da 5 mg tutishi kerak (1 ml eritmada 200 mg adrenalin yoki noradrenalin erigan bo'lishi kerak). Buning uchun adrenalin bitartaratning 9,1 ml, noradrenalin bitartaratning 10 mg i vodorod loridning 4 tomchi 1 n eritmasida eritilib, hajmi bidistillangan suv bilan 25 ml ga yetkaziladi (adrenalin va noradrenalin alohida tayyorlanadi). 1. Asosiy eritmalaridan ishchi eritmalar tayyorlanadi.

1. Adrenalinning molar massasi 183, adrenalin bitartaratning molar massasi esa 354; noradrenalinning molar massasi 168, noradrenalin bitartaratning mol massasi esa 339, 2 ga teng.

Ishchi eritmalarini tayyorlash. Adrenalin va noradrenalinning asosiy doimiy eritmasidan 0,2 ml olib, hajmi bidistillangan suv bilan 50 ml ga yetkaziladi. Ishchi eritmaning 1 ml ida 0,8 mkg gormon bo'ladi. Adrenalin va noradrenalinning doimiy (standart) eritmasi tajribadagidek ishqoriy muhitda ferrotsionid bilan oksidlanadi. Tajriba suyuqliklarining hajmi bidistillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi. Ushbu eritmaning 1 ml idagi adrenalin va noradrenalin miqdori 0,008 mkg yoki 8 ng ni tashkil qiladi. Probirkalar 2 daqiqa muzli suvga joylashtirilib, so'ng fluorimetrlanadi. 1 ng adrenalin va noradrenalin uchun fluorimetr ko'rsatkichi quyidagicha hisoblanadi.

1 ng/ml doimiy adrenalin

$$= \frac{\text{pH} - 4,2 \text{ da nazorat tajriba fluor. ko'rs}}{8}$$

1 ng/ml doimiy noradrenalin

$$= \frac{\text{pH} - 6,2 \text{ da nazorat tajriba fluorim. ko'rs}}{8}$$

¹ Nazorat tajribadagi adrenalin va noradrenalin ishqor yoki askorbin kislota ishtirokida oksidlanmaydi.

Hisoblash. Tekshiruv tajribalarning fluoressensiyasi va nazorat tajriba fluoressensiyalari o'lchanib, tekshiruv ko'rsatkichidan nazorat ko'rsatkichining ayirmasi topilgandan so'ng adrenalinning pH i 4,2 va pH i 6,2 dagi miqdori hamda noradrenalinning pH i 6,2 dagi miqdori topiladi. Bir sutkalik siydik tarkibidagi mikrogramm bilan o'lchanadigan adrenalin va noradrenalin miqdori quyidagi tenglamadan topiladi.

Bir sutkalik siydik tarkibidagi adrenalin (noradrenalin) ning mkg dagi miqdori.

$$\frac{A(H).10.7.24.\text{soatlik siydik miqdori:}}{12,5 \cdot 1000}$$

$$12,5 \cdot 1000$$

A(H) tajribadagi nanogrammlarda ifodalangan adrenalin va noradrenalinning miqdori.

10 – tajriba qilinayotgan eritmalarining hajmi, ml.

7 – eluatning (ajralma) hajmi, ml;

12,5 – tekshirish uchun olingan siydik miqdori (24 soatlik siydik miqdori 1200 yoki 1500 ml ni tashkil qiladi).

1000 – nanogrammi mikrogrammga aylantirish koeffitsiyenti (1 ng – 0,001 mkg yoki 0,001 g ga teng). **Misol:** pH – 4,2 da adrenalin uchun topilgan fluorimetr ko'rsatkichi: nazorat tajriba uchun 16, tekshiruv tajriba uchun 24 bo'lsa, ularning ayirmasi 24-16 = 8 ga teng: Agar adrenalinning doimiy (standart) eritmasi uchun 1 ng mkg ga 4 bo'linma to'g'ri kelsa, u holda proporsiya tuzilib, adrenalinning nanogrammda ifodalangan miqdori 1 ml tajriba uchun topiladi.

$$1 \text{ ng} \text{ ————— } 4 \text{ bo'linma}$$

$$x \text{ ————— } 8 \text{ (tekshiruv tajriba uchun) } X = \frac{8}{4} = 2 \text{ ng/ml,}$$

bundan, 24 soatlik siydik tarkibida

$$\frac{2 \text{ ng (ml tajriba)} \cdot 7.10.1200}{12,5 \cdot 1000} = 13,4 \text{ mkg}$$

Noradrenalin miqdorini topish uchun pH – 4,2 va pH – 6,2 da topilgan fluorimetr ko'rsatkichlari ayirmasini aniqlab, yuqoridagidek proporsiya tuziladi va ng/ml da ifodalanadi.

Olingan natijani rasmiylashtirish. Ushbu usulning asosini fluorimetr ko'rsatkichlari bo'yicha hisoblab adrenalin, noradrenalinlar uchun topilgan miqdorni va o'zgarish sabablarini daftaringizga yozing.

4. BUYRAK USTI BEZINING PO'STLOQ QISMI GORMONLARI

Buyrak usti bezining po'stloq qavatidan 46 ta dan ortiq steroid moddalar ajratib olingan. Ularning barchasi kortikosteroidlar deb nomlanadi. Ushbu gormonlar ta'sir ko'rsatish turiga ko'ra shartli ravishda quyidagilarga bo'linadi: glukokortikoidlar (uglevod, oqsil, yog', nuklein kislotalar almashinuviga ta'sir ko'rsatadi), mineralokortikoidlar (suv va mineral tuzlar almashinuviga ta'sir ko'rsatadi).

Birinchi guruhga kortikosteron, kortizon, gidrokortizon (kortizol), 11-dizoksikortizol va 11-digidrokortikosteronlar kiradi.

Ikkinchi guruhga ega dezoksikortikosteronlar, aldosteron va 18-oksidezoksikortikosteronlar kiradi. Bu gormonlar xolesterin unumlari bo'lib, gipofiz AKTG tomonidan boshqariladi. Kortikosteroidlar transkripsiya jarayonlarini jadallashtiradi va oqsil-kofermentlar sintezini amalga oshiradi. Glukokortikoidlar hujayra membranalarini o'tkazuvchanligini susaytiradi va shu bilan glukoza va aminokislotalarning hujayraga o'tishini kamaytiradi. Ammo jigarda qarama-qarshi holat kuzatiladi. Glukokortikoidlar glikoneogenez (uglevod bo'lmagan birikmalardan glukoza hosil qilish) jarayoniga ta'sir etib, giperglikemiya holatini rivojlantiradi. Shu bilan birga mushaklarda glikogen sintezini, to'qimalarda glukozaning oksidlanishini pasaytirib, yog'larning parchalanishini kuchaytiradi.

Mineralokortikoidlar asosan natriy, kaliy, xlor va suv almashinuvini boshqaradi. Ular natriy, xlor ionlarini organizmda ushlab, kaliy ionlarini siydik bilan chiqarilishida ishtirok etadi. Shifoxonalarda 11-oksikortikosteroidlarning (erkin, bog'langan shakllarini va umumiy miqdorini) ko'rsatkichlarini bilish kasalliklarni aniqlashda amaliy ahamiyatga ega. Homiladorlik davrida, ayniqsa, AKTG gormoni organizmga yuborilganda ushbu gormonlarning umumiy miqdori ortadi. Ayollarda bu gormonning o'rtacha ko'rsatkichi erkaklarnikiga nisbatan yuqori bo'ladi. Keksa odamlarda esa kortikosteroidlarning miqdori birmuncha kamayadi.

Addison kasalligida qon tarkibidagi kortikosteroidlar batamom yo'qoladi. Itsenko-Kushing sindromi bilan og'rigan bemorlar qonida kortikosteroidlarning miqdori 2-3 marta ortadi. Operatsiyadan keyingi davrda kortikosteroidlar miqdorining 3-5 marta ortishi va bir necha kun davomida o'zgarasligi kuzatiladi.

Kortikosteroidlarning yashash vaqti 70-90 daqiqa davom etadi. Ularning biologik faolligi (aktivligi) 17-uglerod atomidan yon zanjirining

uzilishi bilan yo'qoladi. Faolsizlangan gormonlar 17-ketosteroidlar nomi bilan oxirgi mahsulot sifatida siydik orqali tashqariga chiqariladi. Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlar miqdorini aniqlash muhim ahamiyatga ega.

Sog'lom erkaklarning 24 soatlik siydigi bilan 44,5 mkmol (yoki bir sutkalik siydikda 12,8 mg), ayollar siydigi bilan 36,8 mkmol (10,6 mg) 17-kortikosteroidlar ajraladi. 6 yoshgacha bo'lgan bolalarning sutkalik siydigi bilan 10,41-13,86 mkmol (3-4 mg) gacha; 12 yashar qizlarda 17,33-34,67 mkmol (5-10 mg), o'g'il bolalarda miqdori ko'proq 17-kortikosteroidlar ajraladi. 25 yoshlarga kelib yuqoridagi ko'rsatkichlar soni ortadi va yosh ulg'aygan sari ko'rsatkichlar sekin-asta kamayib boradi. Uyqu vaqti siydik bilan ajraladigan 17-ketosteroidlar miqdori harakatlanish davriga nisbatan ko'proq bo'ladi. Kuchli hayajonlanganda qon va siydikdagi 17-ketosteroidlar miqdori ancha ortadi. Buyrak usti bezi faoliyati kamaygan va ortganda 17-ketosteroidlar miqdori o'zgaradi. Addison kasalligida (faoliyatning susayishi – gipofunksiya holati) 17-ketosteroidlarning chiqarilishi sog'lom kishilardagi ko'rsatkichning 1/3-1/5 qismini tashkil qiladi: 17-ketosteroidlar miqdorining kamayishi, shuningdek gipertireoz va jigar kasalliklarining og'ir turida (sirroz) kuzatiladi. Simmonds (pangipopituitarizm) kasalligida, gipofizar pakanalikda 17-ketosteroidlarning miqdori yo'q darajaga keladi. Buyrak usti bezi o'smalarida – Itsenko-Kushing yoki adrenogenital sindromda siydik tarkibida 17-ketosteroidlar miqdorining ortishi kuzatiladi. Ikkala jinsga bog'liq tug'ma giperplaziya (ko'proq qizlarda uchraydi) kasalligida ham 17-ketosteroidlar va kortikosteroidlarning paydo bo'lishi buziladi.

116-ish. KORTIZOLGA O'TKAZILADIGAN SIFAT REAKSIYA

Usulning asoslanishi. Barcha kortikosteroidlar ko'k tetrazol bilan rangli reaksiya beradi. Buning natijasida siklopentangidrofenantren xalqasi 17-uglerod atomining oxirgi guruhi qaytariladi.

Tekshiriluvchi material: kortizol.

Reaktivlar: Kortizolning spirtli eritmasi, 10% li gidroksidtetrametilning ammoniyli eritmasi, ko'k tetrozoliyning 95% li etanoldagi 5% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, shtativlar, pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Kortizolning spirtli eritmasining 1 ml ga gidroksidtetrametilammoniyning 0,25 ml va ko'k tetrozoliydan 0,25

ml solib aralashtirilib, 25 daqiqa qorong'i joyda qoldiriladi. Suyuqlik pushti rangga kiradi. Biologik suyuqliklar tarkibidagi kortikosteroidlar miqdori kolorimetrik usul bilan aniqlanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Quyidagi jadvalni to'ldiring va tegishli xulosa chiqaring.

67-jadval

Gormon	Sintezlanish joyi	Kimyoviy tuzilishi	Sifat reaksiya	Kuzatiladigan rang	Reaksiya mexanizmi
Insulin					
Tiroksin					
Adrenalin					
Kortizol					

117-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI 17-KETOSTEROIDLARGA SIFAT REAKSIYA

Usulning asoslanishi. Ushbu usul 17-ketosteroidlarning M-dinitrobenzol bilan ta'sirlanib, ishqoriy muhitda kondensatsiyalangan pushti-binafsha rangli mahsulotga aylanishiga asoslangan.

Tekshiriluvchi material: yangi olingan siydik.

Reaktivlar: M-dinitrobenzolning spirtidagi 2% li eritmasi, natriy gidroksidning spirtidagi 8 mol/l eritmasi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 20 tomchi siydik va 30 tomchi M-dinitrobenzol eritmasi solinadi (M-dinitrobenzol sekin devor bo'ylab solinadi). Probirkani silkitmaslik kerak. Xuddi shu yo'l bilan 6 tomchi natriy gidroksid solinadi. Suyuqlikning yuqori qavati pushti-binafsha rangga bo'yalganligi kuzatiladi.

Olingan natijani rasmiylashtirish. Kuzatilgan rangni daftaringizga yozib, reaksiyaning asosini eslang.

118-ish. QON PLAZMASI TARKIBIDAGI 11-OXSIKORTIKOSTEROIDLAR MIQDORINI ANIQLASH

Usulning asoslanishi. Qon plazmasidan ajratib olingan kortikosteroidlar, 11- va 21-uglerod atomlarida gidroksil guruhni va

4-3 ketoguruhni A xalqasida tutgani uchun, konsentrlangan sulfat kislota – etil spirt aralashmasi bilan ishlov berilgandan so'ng fluoressensiyalanadi.

Tekshiriluvchi material: qon

Reaktivlar: deflegmator yordamida 2 marta haydalgan geksan, tozalangan metilenslorid (xloroform), natriy karbonatning 0,2 n eritmasi, ikki marta haydalgan etil spirti, Savil reaksiyasini beruvchi konsentrlangan sulfat kislota, kortikosteroidlarni fluoressensiyalovchi reaktiv (3:1 nisbatda tayyorlangan sulfat kislota va etil spirt aralashmasi), gormonlarning doimiy (standart) eritmalar: gidrokortizon va kortikosteronlar miqdori va ularning bir-biriga eritmalar: gidrokortizon va kortikosteronlar miqdori va ularning bir-biriga nisbati qon zarobiga yaqin bo'lishi kerak. Ikki xil doimiy eritmadan foydalaniladi: 1) 20 mkg gidrokortizon va 5 mkg kortikosteron 100 ml eritmada tayyorlanadi; 2) 40 mkg gidrokortizon va 10 mkg kortikosteron 100 ml eritma tayyorlanadi. Doimiy (standart) eritmalar quyidagicha tayyorlanadi: tortib olingan kortikosteroidlar bir necha tomchi (10-15) spirtida eritiladi, uning hajmi kerakli konsentratsiyaga keltiriladi va eritma sovitgichda saqlanadi.

Kerakli anjomlar: interferensiyon nur filtri FM-1 yoki IF-1 markali fluorimetrlar: birlamchi nur o'tkazishning yuqori darajasi 475 nm to'liq uzunlik va 540-550 nm to'liq uzunlikdagi ikkilamchi nur filtrlar, suv hammomi, suv (nasosi) tortqich, 20-25 ml li zich berkitgichli probirkalar, paster pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Geparin solingan probirkalarga 2,0-2,5 ml qon yig'iladi. Qon plazmasini ajratish uchun probirkalar daqiqasiga 3000 marta aylanadigan sentrifugada 20 daqiqa aylantiriladi. Shundan so'ng o'lchov probirkalariga qon plazmasidan 1 ml va ustiga 3 ml geksan solinadi. Probirka qopqoq bilan zich qilib berkitiladi va bir daqiqa yaxshilab chayqatiladi. Probirkalardagi geksan suvga ulangan tortqich (nasos) yordamida tortib olinadi. Qoigan geksan esa 40°C li suv hammomida vakuum bilan haydaladi. Plazmaga 10 ml metilenslorid solinadi va bir daqiqa chayqatildandan keyin plazma geksan kabi paster pipetkasi o'rnatilgan suv tortgich yordamida tortib olinadi. Olingan ajralma (ekstrakt) oldin 0,5 ml 0,2 n natriy karbonat eritmasida, so'ngra 0,5 ml distillangan suvda bir daqiqa davomida yuviladi. Bu suyuqliklar ham vakuum nasosiga ulangan paster pipetkasi yordamida so'rib olinadi. Shundan so'ng 8 ml metilensloridli ekstrakt 15-20 ml sig'imli toza probirkaga o'tkaziladi va unga 2,5 ml konsentrlangan sulfat kislota va etil spirt (3:1) aralashmasi quyiladi (aralashma ishlatishdan oldin tayyorlanadi). Probirkadagi suyuqliklar bir daqiqa

davomida chayqatilgandan keyin metilxlorid olib tashlanadi. Tajriba probirkalar bir soatdan keyin fluoremetrlanadi. Nazorat tajriba uchun sulfat kislota – etil spirt aralashmasi ishlatiladi.

Fluorimetriya. Ishlov berilgan yuqori miqdorga ega bo'lgan kortikosteroidlarning doimiy eritmasi kuvetaga solinib, fluorimetrlarning maxsus uyasiga joylashtiriladi. Asbobning ko'rsatkichi boshqaruvchi dasta yordamida 85-90 ga keltiriladi. So'ng xuddi shunday kuvetaga sulfat kislota – etil spirt aralashmasidan solib, asbobga joylashtiriladi va «O» ko'rsatuvchi boshqaruvchi dasta bilan ko'rsatkich «O» ga keltiriladi. Shundan so'ng tartib bilan doimiy (standart) va tekshiriluvchi suyuqliklarning fluoressensiyasi o'lchanadi.

Quyidagi tenglama asosida kortikosteroidlarning miqdori

hisoblanadi: $X = \frac{E \cdot C_{st}}{E_{st}}$, bunda x – qon plazmasidagi aniqlanayotgan

kortikosteroidlarning miqdori, mkg/100 ml; E – asbob ko'rsatkichidan olingan tekshiriluvchi eritmaning fluoressensiyasi. S_{st} – doimiy (standart) tajribadagi kortikosteroidlar miqdori mkg/100 ml; E_{st} – doimiy miqdor tutuvchi (standart) eritmaning fluoressensiya ko'rsatkichi. Barcha aniqlangan doimiy eritmalarning o'rtacha qiymatidan S_{st}/E_{st} kattaligi topiladi.

11-oksidokortikosteroidlarning qon plazmasi tarkibidagi o'rtacha miqdori 130-230 mkg/l (13-23 mkg/100 ml) ni tashkil qiladi.

119-ISH. SIYDIK TARKIBIDAGI 17-KETOSTEROIDLAR MIQDORINI ANIQLASH

Usulning asoslanishi. 17-ketosteroidlar m-diritrobenzol bilan ta'sirlanib, ishqoriy muhitda binafsha-pushti rangga kiradi. Rangning och-to'qligi 17-ketosteroidlar miqdoriga bog'liq.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: vodorod xloridning konsentrlangan kislotasi, konsentrlangan sirka kislota, narkoz uchun ishlatiladigan efir yoki xloroform, natriy gidroksidning 10 va 30% li eritmasi, 96% li etil spirt, kaliy gidroksidning me:anolda tayyorlangan 5 n eritmasi, formaldegid (formalinning 40% li eritmasi 1:5 nisbatda distillangan suv bilan aralashiriladi), m-dinitrobenzolning spirtida tayyorlangan 2% li eritmasi, ketosteroidlarning doimiy (standart) eritmalari: digidroepiandrosteron va androsteronlar bir ml

da 100 mkg qilib tayyorlanadi (100 mkg/ml). Shu doimiy eritmaning 5 mg i 50 ml absolut etil spirtida eritiladi (eritmalar qopqog'i zich berkiladigan idishda, muzlatgichda saqlanadi).

Kerakli anjomlar: Kichik stakanhalar, voronkalar, zich berkiladigan ajratuvchi voronka, sentrifuga probirkalari, suv hammomi, tomizgichlar, o'lchov pipetkalari, FEK va kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Glukoronidlarni gidrolizlash. 17-ketosteroidlar glukuron kislotaga bilan kompleks holda uchraganligi uchun kislotali gidroliz yo'li bilan sof holda ajratib olinadi. Buning uchun ikkita quruq stakanga sutkalik siydikdan 20 ml olinadi va unga konsentrlangan vodorod xlorididan 3 ml, konsentrlangan sirka kislotadan 1 ml, 40% li formalindan 0,2 ml solinadi. Suyuqliklar aralashirilib (chayqatilib), stakanlar voronka bilan berkitiladi va qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi. Suv qaynashga boshlagandan rosa 15 daqiqa o'tgach, suyuqliklar gidrolizlanadi. Gidroliz tugagach, stakanlar sovuq suv tagida sovitiladi va har qaysi stakandagi suyuqlik alohida ajratuvchi voronkalarga o'tkaziladi.

2. 17-ketosteroidlarni ekstraksiya qilish va tozalash. Gidrolizat 10 ml efir bilan 2 marta ekstraksiyalanadi va suyuqliklar ajratuvchi voronkada 1,0-1,5 daqiqa davomida chayqatiladi. Suyuqliklar qatlamlarga ajralishi bilan yuqorisidagi efir tutuvchi qatlam boshqa quruq kolbaga olinadi, tagidagi qatlam esa gidrolizlangan stakanga qaytadan olinadi va ustiga yana 10 ml efir solib aralashiriladi. Suyuqliklar ikki qatlamga ajralguncha ajratuvchi voronkada chayqatiladi (1-2 daqiqa). Yuqori qatlamdagi suyuqlik oldingi suyuqlikka qo'shiladi. Efir tutuvchi suyuqlik – ekstrakt 10 ml 10% li natriy gidroksid bilan uch marta ajratuvchi voronkada yuviladi. Nordon moddalar va estrogen tutuvchi ishqoriy qatlam olib tashlanib, efir ekstrakti 10 ml distillangan suv bilan yuviladi. Pastki suv tutuvchi qatlam to'liq tortib olinadi. Ketosteroidlar tutuvchi efir ekstrakti esa oz-ozdan sentrifuga probirkalariga o'tkaziladi.

3. Efirli ekstraktni bug'latish. Efirli ekstrakt solingan sentrifugali probirka shtativga o'rnatiladi va 50-55°C li suv hammomiga quruq qoldiq qolguncha bug'latiladi. Quritilgan ekstrakt rangsiz bo'lishi kerak. Mana shu bosqichdan so'ng tajribalar keyingi kungacha sovitgichda qoldirilishi mumkin. Probirkalar paxta bilan berkitiladi.

5. JINSIY BEZ GORMONLARI

Jinsiy gormonlar – erkaklarning va ayollarning jinsiy bezlarida, bachadonda va qisman buyrak usti bezlarida hosil bo'ladi. Ayollarning jinsiy bezlaridan uch xil gormon ishlab chiqariladi: ekstrojenlar, progesteronlar, relaksin (polipeptid) va homiladorlik davrida yo'ldoshning o'zidan ko'p miqdorda estrogen, progestin (asosan progesteron) va o'ziga xos gormongonadotropin (xoriogonodotropin – oqsil tabiatiga ega) ishlab chiqariladi.

Ayollar jinsiy gormonlari – estragenlar – estran unumlaridir. Tabiiy estrogenlarga estradiol, estran va sariq tana gormoni – progesteronlar kiradi. Ushbu gormonlarning asosiy vazifasi, voyaga yetgan ayol organizmini o'zidan ko'payishga tayyorlashdan iboratdir. Bu gormonlar ikkilamchi jinsiy belgilarni rivojlantirish va tuxum hujayralarning ovulatsiyadan so'ng chatishishiga qulay sharoit yaratadi. Progesteron o'z navbatida qator o'ziga xos vazifalarni bajaradi: bachadon shilliq qavatini tuxum hujayrasini (chatishish yuzaga kelgan holda) qabul qilishga tayyorlaydi, homiladorlik davrida homilani saqlash va ko'krak bezi to'qimalarini rivojlantirishdan va ovulatsiyadan saqlashdan iborat. Estrogenlar oqsil sintezini jadallashtirish bilan organizmga anabolik ta'sir ko'rsatadi. Estrogenlar jigarda parchalanadi va siydik orqali sulfat yoki glukuron kislota bilan birikkan holda ajraladi.

Davolash maqsadida tabiiy gormonlardan tashqari estrogen faolligiga ega bo'lgan sun'iy dorilar, sinestrol, stilestrollar ham ishlatiladi. Ushbu dorilar, ayniqsa, o'sma kasalliklarini davolashda prostata bezi rakining rivojlanishini susaytiruvchi vosita sifatida qo'llaniladi.

Erkaklar jinsiy bezlaridan androgenlar ishlab chiqariladi. Erkak jinsiy gormonlaridan eng ahamiyatli tetosteron urug'donning interstitsial hujayralarida (Leydig hujayralarida) hosil bo'ladi. Ushbu gormonning hosil bo'lishi gipotalamo-gipofizar sistema tomonidan boshqariladi. Testosteron spermatozoid epiteliylarini differensiyalaydi (bir-biridan ajratadi).

Spermatogenez va ikkilamchi jinsiy belgilarni rivojlantirishdagi androgenlarning faoliyati molekular jihatdan hali to'liq o'rganilmagan. Ammo ular ta'sirida DNK, RNK, oqsil, yog'lar tarkibi va polisaxaridlar sintezining kuchayishi, tana vaznining ortishi kabi anabolik tarkibida 27,76 nmol/l (0,8 mkg), ayollarda 2.42 nmol/l (0,07 mkg) testosteron

4. Fotometrash. Ekstraktning (rangsiz) quruq qoldig'iga 96% li etil spirtidan 0,2 ml, m–dinitrobenzolning 2% li spirtli eritmasidan 0,2 ml va kaliy gidroksidning 5 n eritmasidan 0,2 ml solinadi. Suyuqliklar ehtiyotkorlik bilan aralashtiriladi va rang rivojlanishi uchun xona haroratida qorong'i joyda bir soatga qoldiriladi. Bir ozdan so'ng suyuqliklarga 50% li etil spirtidan 3 ml va xloroformdan 2 ml solib chayqatiladi. Binafsha-pushti rangga bo'yalgan mahsulot pastki qatlamga o'tadi. Yuqoridagi spirtli qatlamda sarg'ish-jigar rang bo'yoq qoladi. 1-2 daqiqadan so'ng bu qatlam suv tortgichga ulangan Paster pipetkasi yordamida juda sekinlik bilan tortib olinadi. Xloroformli qavatning pipetkaga so'rilishidan saqlanish kerak. Qolgan xloroformli qavatga 96% li etil spirtidan 1 ml solinadi va aralashtiriladi. Hosil bo'lgan rang bir soat saqlanadi. Rangning zichligi FEK ning 530 nm to'liq uzunligida (yashil nur filtri), 5mm li kuvetada nazorat tajriba suyuqligi qarshisida yoki suv qarshisida o'lchanadi.

Nazorat tajriba suyuqliklarini tayyorlash. Ikkita probirkaga 96% li etil spirtidan 0,2 ml, m–dinitrobenzolning spirtli eritmasidan 0,2 ml va metanolda tayyorlangan kaliy gidroksidning 5 n eritmasidan 0,2 ml solib aralashtiriladi. Qolgan ish tartibi tekshiruv tajribadagidek o'tkaziladi.

Hisoblash. 17-ketosteroidlarning miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chiziq yoki quyidagi tenglama bo'yicha aniqlanadi. Tenglama bo'yicha hisoblash:

$$X = \frac{E_{\text{teksh.}} \cdot D}{1,45 \cdot 20}$$

Bunda x – bir sutkada yig'ilgan siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlar miqdori, mg bir sutkalik siydik miqdori (sutkalik miqdor), $E_{\text{teksh.}}$ – tekshiruv tajribaning optik zichligi, D – bir sutkalik siydik miqdori, ml, 1,45 – hisoblash qiymati, 20 – aniqlash uchun olingan siydik miqdori, ml.

Bir sutkada ajratilgan 17-ketosteroidlarning siydikdagi miqdori erkaklar uchun 44,48-2,27 mkmol/sut (12,83-0,8 mg/sut), ayollar uchun 36,78-2,38 mkmol/sut (10,6120, 66 mg/sut) ni tashkil qiladi. Bu miqdor turli kasalliklarda turlicha o'zgarishi mumkin.

bo'ladi. Tinch holatda bir sutkada 35 mg ga yaqin testosteron hosil bo'ladi.

Testosteronning parchalanish davri bir necha o'n daqiqani tashkil qilib, 17-ketosteroid shaklida siydik bilan ajraladi.

Ayrim kasalliklarda androgenlarning gidroksillangan shaklini bemor siydigi bilan ajralishi ortadi va shu qatorda 17-ketosteroidlarning siydikdagi miqdori ekvivalent ravishda kamayadi. Shuni aytib o'tish kerakki, ayollar organizmida testosteroidal 17-ketosteroid hosil bo'lishi mumkin. Ko'krak bezi raki bilan og'riyan ayollar siydigida ko'pincha 17-ketosteroidlar miqdori kamayganligi aniqlanadi.

Testosteron va ularning sun'iy analoglari ko'krak bezi rakini davolashda yaxshi natija bermoqda.

120-ish. FOLLIKULINGA SIFAT REAKSIYA

Usulning asoslanishi. Reaksiya konsentrlangan sulfat kislota bilan o'tkazilib, follikulinning (estronning) och sarg'ish rangli tuslanuvchi efir birikmalarini hosil qilishdan iborat.

Tekshiriluvchi material: follikulinning spirtli yoki yog'li eritmasi.

Reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislota, natriy gidroksidning 30% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: fluoroskop (833 model) M-RTU-42. Probirkalar, pipetkalar va shtativlar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Konsentrlangan sulfat kislota bilan o'tkaziladigan reaksiya. Spirtidan xoli bo'lish uchun 20-30 tomchi follikulinning spirtli eritmasi 5-10 daqiqa suv hammomida qaynatiladi. Probirkada qolgan spirtsiz follikulinga 20 tomchi konsentrlangan sulfat kislota solib, qaytadan 5-10 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi. Probirkadagi suyuqlik asta-sekin och sarg'ish tusga kirib, qizdirilganda to'q qovoq rangga kirayotgani (fluoresseksiyalanishi) kuzatiladi. Follikulinning yog'li eritmasi bilan xona haroratida reaksiya o'tkazish mumkin. Buning uchun 2 tomchi follikulinning yog'dagi eritmasiga 30 tomchi konsentrlangan sulfat kislota qo'shilganda asta-sekin och sarg'ish rang hosil bo'ladi.

2. Fenol guruhlarga Folin reaksiyasi, 2 tomchi follikulinga bir tomchi 30% li natriy gidroksid eritmasi va bir tomchi Foli reaktivi

solinadi. Ko'k rang hosil bo'lishi fenol guruhi borligini isbotlaydi. Olingan natijalar daftaringizga yozib, rasmiylashtiring.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Qanday moddalar gormonlar deyiladi?
2. Oqsil tabiatli gormonlarni qayd eting.
3. Aminokislota unumlari bo'lgan gormonlarini ayting.
4. Steroid tuzilishga ega bo'lgan gormonlarni ayting.
5. Gormonlarning ta'sir mexanizmi qanday?
6. Membranaga bog'liq bo'lgan gormonlarning ta'sir mexanizmi qanday?
7. Sitoplazma gormonlarining ta'sir mexanizmi qanday?
8. Oqsil tabiatiga ega bo'lgan gormonlar qanday aniqlanadi?
9. Adrenalin, tiroksin va kortizol qanday sifat reaksiya bilan ochiladi?
10. Gormonlarni ochish uchun sifat reaksiyalari qanday xossaga asoslangan?
11. Gormonlar miqdorini aniqlashning tibbiyotdagi ahamiyati qanday?
12. Gormonlar faolligining o'zgarishi qanday kasalliklarga olib kelishi mumkin? Misollar keltiring.
13. Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlarni aniqlashning ahamiyati qanday?
14. Qaysi gormon faoliyatining buzilishi qandali diabet kasalligiga olib keladi? Kasallikni davolash uchun qanday tadbirlar qo'llaniladi? Bemor qoni tarkibidagi insulin yetarli miqdorda ekanligi aniqlanadi, ammo qon tarkibidagi qand miqdori me'yoridan ancha ortiq. Nima uchun bunday holat yuz berdi? Siz qanday fikrdasiz?
15. Qandali diabet kasalligini davolash uchun insulinini ichishga emas, balki mushak ichiga yuborish buyuriladi. Buning sababi nima?
16. Bemor insulin bilan davolandi. Ushbu dorining karbonsuvlarga, yog'larga, fosfor va kaliy almashinuviga ta'siri qanday ekanligini tushuntirib bering.
17. Bemorning xulqi uning asli tabiatiga zid, u juda jahldor, ko'pchilik bilan til topisha olmaydi. Buning sababi nima? Shifokor qaysi gormon faoliyati o'zgariganligi haqida fikr yuritishi kerak?

QON BIOKIMYOSI

18. Adrenalin va glukagon qon tarkibidagi qand miqdorini oshiradi. Nima uchun bu jarayon ikki gormon orqali amalga oshiriladi? Gormonlarning ta'sir qilishdagi farqi qanday?
19. Organizmga kortizon gormoni yuborilganda, qon tarkibidagi qand miqdori birmuncha ortadi. Nima uchun? Javobingizni izchlang.
20. Tireotoksikoz bilan og'rikan bemor qalqonsimon bezining bir bo'lari olib tashlandi. Operatsiyadan so'ng tireotoksikoz alomatlari yo'qoladi, ammo tuz almashinuvida o'zgarish sodir bo'ldi. Buning sababini tushuntirib bering.
21. Bemorning organizmi juda zaiflashgan, undagi moddalar almashinuvi jarayonini oshirish uchun (adrenal) adenilat-siklaza sistemasi orqali ta'sir qilish ko'zda tutilgan. Sizga ma'lum bo'lgan biologik faol moddalarning qaysilari bu sistemani faollashtiradi, qaysilari susaytiradi?
22. Hiqildoq raki bilan og'rikan bemor bo'ynining yumshoq to'qimalari olib tashlandi. Bir necha oy o'tgach bemorda miksedema kasalligi belgilari paydo bo'ldi. Buni qanday tushuntirish mumkin?
23. Me'da devori yarasi (yazva jeludka) bilan shifoxonada yotgan bemor uzoq muddat steroid gormonlar bilan davolanadi. Sizing fikringiz qanday? Shifokor to'g'ri qilganmi? Aksincha bo'lsa, nima uchun? Fikringizni tushuntirib bering. Steroid gormonlar biriktiruvchi to'qimalarga qanday ta'sir ko'rsatishini tushuntiring.
24. Bemorda qalqonsimon bezning faoliyati oshgan, deb faraz qilgan shifokor o'z fikrini qanday biokimyoviy ko'rsatkichlar asosida tasdiqlamog'i lozim?
25. Bemorning tana harorati, harakat faolligi birmuncha ortgan, qo'llari qaltiraydi. Shifokor bunday holatni qaysi ichki sekretsiya bezi faoliyati o'zgarishi bilan bog'lamoq' kerak?
26. Bemor sariq kasalligi bilan og'rikan. Uning qoni va siydigi tarkibida steroid gormonlarning miqdori kamayganligi aniqlandi. Shifokor bu holatni qaysi ichki sekretsiya bezi faoliyati buzilishi bilan bog'lashi kerak?
27. Yoshi ulg'aygan, organizmi zaiflashgan bemorga operatsiyadan oldin qoni va siydigi tarkibidagi steroid gormonlarni aniqlash kerakligi aytili. Bunga sabab nima? Nima uchun steroid gormonlarning qon va siydik tarkibidagi miqdori shifokorni qiziqitirdi?

Qon organizmning asosiy ichki muhiti va eritmasi hisoblanadi. Tashqi muhitdagi moddalar, hujayra, to'qimaning almashinuvi mahsulotlari doimo qonga tushib turadi. Qon qizil rangli, yopishqoq, kuchsiz ishqoriy muhitga ega. Kattalarda uning pH i 7,36-7,4, yangi tug'ilgan bolalarda esa 7,2-7,3, solishtirma og'irligi 1,050-1,060, chaqaloqlarda 1,060-1,080 ga teng geterogen modda.

Yangi tug'ilgan bola qonning umumiy miqdori 0,7 l ni tashkil qilsa, 5 yoshda 1,3, 10 yoshda 2,5, 15 yoshda 4,5 va kattalarda 5,0-5,5 l ni tashkil qiladi. Katta yoshdagilarda qon tana vaznining 7 % ini tashkil qilsa, kichik yoshdagi bolalarda bu ko'rsatkich 2-3 marta ortiq.

Qon sentrifugalanganda uning tanachalari (eritrositlar, leykotsitlar, trombotsitlar) cho'kmaga tushadi. Cho'kma yuqorisida och-sarg'ish tiniq suyuqlik - qon plazmasi qoladi. Plazma tarkibida 7% ga yaqin oqsil hamda turli molekulyar moddalar bo'ladi. Plazma bir necha daqiqa ichida iviydi, ya'ni quyqa hosil bo'ladi. Shu iviq qisqarishi natijasida qon zardobi ajraladi. Qon zardobi tarkibida fibrinogen oqsili bo'lmazligi bilan plazmadan farqlanadi. Plazma iviganda fibrinogen erimaydigan fibringa aylanadi. Iviqni aynan fibrin hosil qiladi. Qon moddalar almashinuvi jarayoni bilan chambarchas bog'liq holda muhim vazifalarni bajaradi.

1. Qon o'pkadagi kislorodni to'qimalarga va aksincha to'qimalarda hosil bo'lgan uglerod (IV) oksid (CO₂) ni o'pkaga tashish bilan nafas olish va nafas chiqarish vazifalarini bajaradi. Shu vazifasi bilan qon to'qimalarda oksidlanish - qaytarilish jarayonlarini va energiya almashinuvini boshqaradi.

2. Me'da-ichak sistemasi ovqat hazm bo'lishi natijasida hosil bo'lgan mahsulotlarni turli a'zolariga yetkazib berishi, glukoza, keton tanachalarini jigardan muskullarga, yog'larni jigardan yog' to'qimalariga, sut kislotani muskullardan jigarga, yog' kislotani yog' to'qimalaridan turli a'zolariga o'tkazib berish bilan oziqlantirish vazifasini bajaradi.

3. To'qimalarda hosil bo'lgan zaharli moddalar (ammiak, bilirubin va hokazo), qon orqali jigarga keltirilgan va u yerda zaharsizlantirilgan

birikmalar buyrak orqali tashqariga chiqariladi. Shu bilan qon ajratish vazifasini bajaradi.

4. Qon orqali kimyoviy signallar – gormonlar va boshqa organizm uchun zarur birikmalar to‘qima hujayralariga yetkazilib, moddalar almashinuvi jarayonini bajarishda qatnashadi.

5. Qon leykotsitlar va antitelalar yordamida himoya vazifasini bajaradi. Suv- tuz, kislota-ishqor muvozanatlarini bir me’yorda saqlaydi, tana harorati saqlanishi kabi qator muhim vazifalarni bajaradi.

Qon tarkibiga qon hujayralari – eritrotsitlar, leykotsitlar, trombotsitdan tashqari, organik va anorganik birikmalar ham kiradi. Organik birikmalardan eng muhimi oqsillar, yog‘lar, karbonsuvlar, gormonlar, fermentlar, vitaminlardir. Qon tarkibida, shuningdek moddalar almashinuvi jarayonlarining oraliq va oxirgi mahsulotlari hamda mineral tuzlar uchraydi.

Turli moddalarning tinimsiz qonga tushib turishi va undan chiqib ketishiga qaramay qonning me’yordagi morfologik va kimyoviy tarkibining doimiyliigi nisbatan o‘zgarmaydi. Sog‘lom odam qonidagi vaqtinchalik o‘zgarishlar tezda to‘g‘rilanadi. Ammo ko‘pchilik kasalliklarda, ayniqsa, jigar, yurak, buyrak, me‘da osti bezi, o‘pka kasalliklarida funksional holatning buzilishi natijasida qonning kimyoviy tarkibi o‘zgarganligini kuzatish mumkin.

Qon odam organizmi holati o‘zgarganligining asosiy ko‘rsatkichidir. Qonning biokimyoviy ko‘rsatkichlarini o‘rganish, odam organizmining moddalar almashinuvi darajasini bilish, kasallikni aniqlashda va uni davolashda muhim ahamiyatga ega.

Bo‘limning maqsadi:

1. *Qonning kislorod tashishi buzilishi bilan bog‘liq bo‘lgan kasalliklar sababini tushunish maqsadida qon tarkibidagi gemoglobin unumlarini topish usullari bilan tanishtirish.*
2. *Kelajakda kasalliklarni aniqlash maqsadida qonni biokimyoviy analiz qila olish uchun qon tarkibidagi mahsulotlarning miqdorini o‘lchash usullari bilan tanishtirish.*
3. *Qon tarkibidagi ayrim fermentlar faolligini o‘lchash usullarini o‘rganish va undan kelajakda kasalliklarni aniqlash, davolashda undan foydalana olish.*
4. *Ayrim kasalliklarning kelib chiqish sabablarini tushunish maqsadida qonning mineral tarkibini o‘rganish usullari bilan tanishtirish.*

1. QONNING OQSILLI VA OQSILSIZ QISMLARI TARKIBINI ANIQLASH

Qonning oqsil bo‘lmagan qismi azot tutuvchi va azotsiz moddalarga bo‘linadi.

Azotsiz moddalarga glukoza, yog‘lar, yog‘ kislotalarining almashinuv mahsulotlari, pirouzum va sut kislotalari kiradi.

Azot tutuvchi moddalarga esa azot qoldiqlarining fraksiyalari (oddiy va murakkab oqsillar almashinuvining oraliq va oxirgi mahsulotlari, siydikchil, siydik kislota, kreatin, ammiak, indikan, bilirubin, polipeptidlar, aminokislotalar va hokazo kiradi. Ushbu moddalarning azoti azot qoldiqlari deyiladi, chunki ular oqsil cho‘ktirilgan filtrda qoladi. Shuningdek, qon tarkibida makro va mikroelementlar ham bo‘ladi.

121- ish. QON GEMOGLOBININI ANIQLASH

Qonga rang beruvchi tanacha eritrotsitlarning oqsilli gemoglobindir. Gemoglobin murakkab oqsillar – xromoproteidlar vakili hisoblanadi. U globin oqsili va oqsil bo‘lmagan qism – gemdan iborat.

Yangi tug‘ilgan bolalar qonidagi gemoglobin miqdori kattalarnikiga nisbatan birmuncha yuqoriroq (170-180 g/l) bo‘ladi. Yashash davrining birinchi soatlarida bu ko‘rsatkich 200-250 g/l gacha ortadi. Hayotining 2-3 kunidan boshlab esa gemoglobinning miqdori sekin pasaya boradi va birinchi oyning oxiriga kelib kattalar qonining gemoglobini bilan tenglashadi (160 g/l). Gemoglobin miqdori pasayishi go‘dak bir yoshga yetguncha davom etadi va bu ko‘rsatkich 105-110 g/l ga yetadi. Ikki yoshdan boshlab bu ko‘rsatkich yanada orta boradi va voyaga yetish davrida kattalar gemoglobininga o‘xshash bo‘ladi.

Odamning gemoglobini faqat miqdor o‘zgarishi bilan farqlanib qolmay, balki sifati bilan ham farqlanadi. Homila rivojlanishining 7 va 14-haftalarida embrion qonida juda oddiy – primitiv gemoglobin topiladi, u 2 ta fraksiyadan tuzilgan bo‘lib, tezda homila gemoglobini (fetal gemoglobin) bilan almashinadi. Bu gemoglobin odatda tug‘ilish davriga kelib yo‘qoladi. Fetal Hb homilaning 3-oyida rivojlanadi va tug‘ilish davriga kelib, uning miqdori barcha gemoglobinning 80-90% ini tashkil qiladi.

Karboksigemoglobin va metgemoglobin miqdorining yoshga qarab o'zgarishi (umumiy gemoglobinga nisbatan foiz hisobida)

Bolaning yoshi	Karboksigemoglobin	Metgemoglobin
Yangi tug'ilgan bolada	1,50	6,22
1-7 kunlik	1,65	2,93
8-21 kunlik	1,60	2,86
1-3 oylik	1,50	2,21
3-6 oylik	1,38	1,47
1-3 yoshda	1,27	1,13
3-7 yoshda	1,21	1,10
7-14 yoshda	1,17	1,08

Gemoglobin unumlari (met Hb, Hb - CO₂) bolaning yoshiga qarab turlicha bo'lishi mumkin.

122-ish. BENZINDIN REAKSIYASI

Reaksiyaning asoslanishi. Qon gemoglobini vodorod peroksidni suv va atomar kislorodgacha parchalash xossasiga ega. Atomar kislorod esa oksidlovchidir. Shu kislorod ta'sirida benzidin oksidlanadi va ko'kmtir-yashil tusga kiradi.

Tekshiriluvchi material: fibrindan tozalangan va suvda suyultirilgan qon.

Reaktivlar: konsentrlangan sirka kislotada yangi tayyorlangan bezidinning 5 % li eritmasi, vodorod peroksidning 3 % li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga fibrindan tozalangan va suyultirilgan qon, benzidin eritmasi va H₂O₂ dan 5 tomchi solinadi. Suyuqlikning ko'kmtir-yashil tusga kirishi kuzatiladi.

123- ish. GVOYAK REAKSIYASI

Reaksiyaning asoslanishi. Vodorod peroksid qon gemoglobini (katalazasi) ta'sirida suv va atomar kislorodgacha parchalanadi.

Bola rivojlanishining birinchi yilida fetal Hb keskin kamayadi va u bir yoshga yetganda 1-4% ni tashkil qiladi. Kattalar gemoglobini esa homilaning dastlabki taraqqiyoti davrida paydo bo'ladi va keyinchalik asosiy gemoglobin bo'lib qoladi.

Kattalar va homila gemoglobini miqdorining turli davrlardagi o'zgarishi quyidagi jadvalda berilgan.

68-jadval

Kattalar va homila gemoglobini miqdorining turli yoshdagi o'zgarishi

Bolaning yoshi	Homila Hb	Kattalar Eb	A ₂ gemoglobin
Yangi tug'ilgan bolada	75,0	25,0	0,00
1-7 kunlik	71,0	29,0	0,00
8-21 kunlik	65,0	34,6	0,00
22-30 kunlik	60,0	40,0	0,00
1-2 oylik	56,1	43,4	0,50
2-3 oylik	38,3	60,9	0,80
3-5 oylik	22,5	75,3	2,20
6-9 oylik	9,1	88,2	2,7
9-12 oylik	4,3	92,8	2,9
1-3 yoshda	1,6	94,9	3,5
3-7 yoshda	0,8	94,9	4,3
7-14 yoshda	0,7	94,9	4,4

Kattalar va homila gemoglobini tuzilish jihatidan bir-biridan farqlanadi. Kattalar gemoglobini 2 alfa, 2 beta polipeptid zanjiridan iborat, homila gemoglobini esa 2 alfa, 2 gamma zanjiridan tashkil topgan. Ushbu gemoglobinlar eruvchanligi bilan farqlanadi. Bu ularning faoliyatida ahamiyatga ega. Ko'pincha bolalar kasalligida gemoglobin biosintezi buzilishi kuzatiladi. Bunday o'zgarish, gemoglobin komponentlari muvozanatining o'zgarishi ko'pincha homila gemoglobinining ortishi (yoki embrional gemoglobin sintezi tomonga so'rilishi) ga olib keladi. Butunlay o'zgaragan anomal - gomotetramer gemoglobini (beta) va Barta gemoglobini (gamma₄) bo'lishi mumkin.

Kislorod esa Gvoyak mumini ozonidgacha oksidlaydi. Natijada ko'kintir rang hosil bo'ladi. Ushbu usul qon 1:10000 suyultirilgan ham juda sezgir. Shifoxonalarda, adliya tabbiyotida shu usuldan foydalanish juda qulaylik tug'diradi.

Tekshiriluvchi material: fibrindan tozalangan va suvda suyultirilgan qon.

Reaktivlar: gvoyak mum kislotasining spirtli eritmasi (1-2 gvoyak mumi 100 ml 95% li etil spirtida suyultiriladi), H_2O_2 ning 3% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, tomizg'ichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkadagi fibrindan tozalangan va suyultirilgan bir tomchi qonga 5 ml suv solib aralashtiriladi. Uning ustiga bir ml Gvoyak mumining spirtidagi eritmasi va bir tomchi vodorod peroksidning 3% li eritmasi solinadi. Paydo bo'lgan ko'kintir rang Gvoyak mumi ozonidi hosil bo'lganini ko'rsatadi.

124- ish. QON GEMOGLOBININING SPEKTRAL ANALIZI

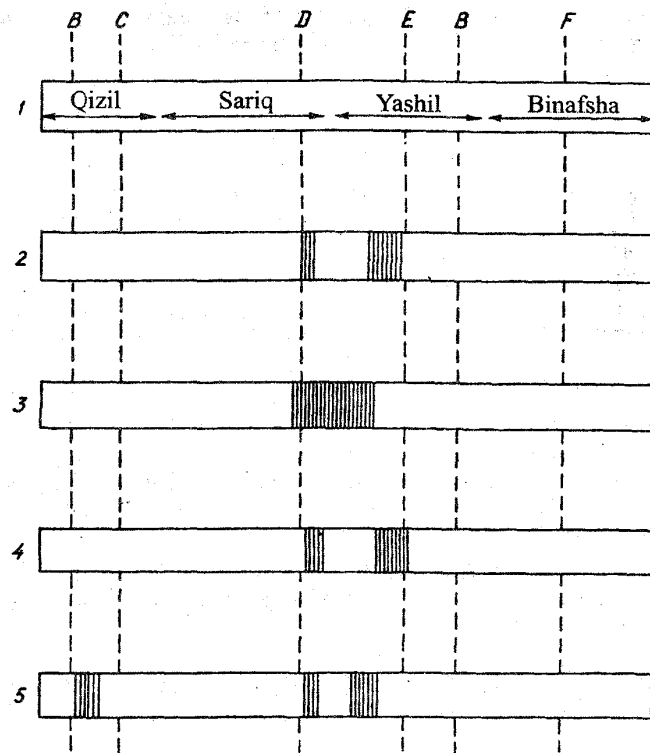
Gemoglobin havo kislorodi bilan oson birikib, oksigemoglobinga aylanadi. Qon tarkibidagi gemoglobinning asosiy qismi shunday birikkan holda uchraydi. Is gazi (CO) bilan nafas olganda qonda oksigemoglobindan ham mustahkamroq bog'langan zaharli karboksigemoglobin (Hb-CO) hosil bo'ladi. Qonga tirli oksidlovchilar ta'sir etganda, gemoglobin gemining ikki valentli temiri uch valentlikkacha oksidlanadi va gemoglobin karboksigemoglobinga o'xshash kislorodni biriktira olmaydigan metgemoglobinga (met-Hb) aylanadi. Gemoglobin va uning hosilalari turli to'liq uzunlikdagi nurlarni yutish qobiliyatiga ega va o'ziga xos yutish spektrlarini aniqlash turli kasalliklarda, organizm zaharlanganda, korxonaning zararlilik darajasini belgilashda, adliya tabbiyotida katta ahamiyatga ega.

Tekshiriluvchi material: qon.

Reaktivlar: Stoks reaktivi: qizil qon tuzining yangi tayyorlangan eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, tomizg'ichlar, spektroskop.

Usulning asoslanishi. Nur manbai bilan spektroskop orasiga gemoglobin yoki uning hosilalarning suvli eritmaları joylashtirilsa, ushbu eritmalar muayyan uzunlikdagi nurlarning bir qismini yutish natijasida shu joyda qora dog'lar hosil bo'ladi (16- rasm).



16-rasm. Nur yutish spektrlari.

1-Quyosh spektri; 2-oksigemoglobin; 3-gemoglobin;
4-karboksigemoglobin; 5-metgemoglobin

Qon pigmentlarining spektral analizi cho'ntak spektroskop yordamida o'lchaniladi.

1. Hb-O₂ ning spektral analizi: probirkadagi bir tomchi qonga 2 ml distillangan suv quyiladi va olingan sarg'ish-pushti tusli eritma nur manbai va spektroskop orasiga joylashtiriladi. Oksigemoglobin eritmasi sarg'ish-yashil spektr D va E fraunhofer, ya'ni 578,1 va 541,7 nm to'liq uzunlikdagi qismda ikkita ingichka qora dog'larni hosil qiladi.

2. Gemoglobinning spektr yutishi. Oksigemoglobin eritmasiga 5-8 tomchi yangi tayyorlangan Stoks eritmasi (vino kislotaning temirli tuzining ammiakda tayyorlangan eritmasi) tomiziladi. Stoks reaktivi tarkibidagi ikki valentli temir bu sharoitda oksidlanadi, ya'ni uch valentli temirga aylanadi va oksigemoglobindan gemoglobin hosil bo'lishiga imkon yaratadi. Och pushti rangli eritma qorayib, to'q binafsha tusga kiradi. D va E chiziqlar orasida keng yo'lli dog' paydo bo'ladi. Uning to'qroq qismi 555-558 nm ga to'g'ri keladi.

3. Met-Hb ning spektr yutishi. Oksigemoglobin eritmasiga 5-7 tomchi yangi tayyorlangan qizil qon tuzining 5% li eritmasidan solib chayqatiladi. Eritma qo'ng'ir rangga kiradi. Spekrda uchta yutish yo'li ko'rinadi: ikkitasi D va E chiziqlarning sarg'ish - yashil qismi orasidagi ingichka yo'l, uchinchi esa S va D chiziqlar orasidagi spektrning qizil qismida, ya'ni 630 nm to'lqin uzunligida ko'rinadi.

4. Hb-CO ning spektr yutishi. Suyultirilgan qon solingan probirkaga gaz gorelkasiga ulangan rezina nay bilan biriktirilgan pipetka tushiriladi va havo tortuvchi shkafda (ishlab turgan holatida) 5-10 daqiqa gaz yuboriladi. Gaz tarkibidagi is gazi ta'sirida eritmada karboksigemoglobin (HbCO) hosil bo'ladi. Uning spektri ikki yo'ldan iborat bo'lib, ular D va E (572, 573 nm to'lqin uzunligida) chiziqlarning binafsha qismida ko'rinadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natijalarni quyidagi jadvalga muvofiq rasmiylashtiring va tegishli xulosa chiqaring. Hb ga o'tkazilgan sifat reaksiyalarning asosini ham daftarga yozing.

70- jadval

Tekshirilgan birikmalar	Spektr hosil yo'llari	Spektrdagi yutish yo'llari

**125- ish. QON ZARDOBI BILIRUBININI
YENDRASHEK VA KLEGGORN USULI BO'YICHA
ANIQLASH**

Eritrotsit gemoglobinning yashash davri 110-130 kunni tashkil qiladi. Vaqt o'tgach, suyak iligi, jigar, qora taloqning retikuloen-

dotelial sistemasida gemoglobin parchalanadi. Uning parchalanish jarayonida undan temir va globin oqsili ajraladi, yashil rangli o't pigmenti (biliverdin) hosil bo'ladi. Bileverdin qaytarilib sariq-qizg'ish rangli bilirubinga aylanadi. Bilirubin gemning parchalanish mahsulotidir. Bilirubin qonga quyiladi va qon albuminlari bilan bog'lanib jigarga yetkaziladi. Qon zardobi tarkibida ikki xil bilirubin mavjud:

1. Erkin bilirubin. Suvda erimaydi, zaharli, buyrak filtridan o'ta olmaydi. O't va siydik orqali chiqa olmaydi. Erkin bilirubin xloroform va boshqa organik eritmalarda eritilgandan keyin diazoreaktiv bilan o'zaro ta'sirlashadi (to'g'ri bo'lmagan diazoreaksiya). Shuning uchun bunday bilirubin to'g'ri bo'lmagan bilirubin deb nomlanadi.

Zaharli, erkin, to'g'ri bo'lmagan bilirubin jigarda glukuron kislotaga bilan bog'lanib zaharsizlantiriladi. Glukuron kislotaga faol UDF glukuron kislotaga holida uchraydi. Glukuron kislotaga bilirubinga glukuron transferaza fermenti orqali o'tkaziladi. Bunday bog'langan bilirubin diglukuronid ancha zaharsiz, suvda yaxshi eriydi. U buyrak filtridan, hujayra membranasidan o't kapillariga, undan ingichka ichakka o'ta oladi. Ichakdagi qaytarilish jarayoni natijasida bog'langan bilirubin mezobilirubin, urobilinogen, sterokobilinogenlarda hosil bo'ladi. Odam axlati bilan bir sutkada 300 mg sterokobilin ajratadi. Sterokobilinogenning bir qismi gemoroidal venalar orqali jigarga o'tadi. U yerda urobilinogen sirrol birikmalarigacha parchalanadi va qisman o't tarkibiga kiradi. Jigar faoliyatining buzilishi natijasida urobilinogen umumiy qon oqimiga tushadi va siydik bilan uning patologik elementi sifatida chiqariladi.

71- jadval

Qon bilirubining yoshga qarab o'zgarishi

Yoshi	Umumiy bilirubin, mg%	Bog'langan bilirubin (glukuronid), mg%	Erkin bilirubin, mg%
Yangi tug'ilgan bolalarda	1,35	0,51	0,84
Ikkinchi kuni	3,17	0,51	2,66
To'rtinchi kuni	5,27	0,46	4,81
Oltinchi kuni	4,21	0,51	3,70
To'qqizinchi kuni	3,1	0,51	2,59
Birinchi oyda	0,65	0,15	0,50
Kattalarda	0,65	0,15	0,50

Yangi tug'ilgan, ayniqsa, chala tug'ilgan bolalar qonida bilirubin miqdori yuqori bo'lishi kuzatiladi. Fiziologik sariq kasalligida bilirubin miqdori erkin bilirubin hisobiga bir necha marta ortganligi kuzatiladi.

Bu jigar UDF-glukuriniltransferaza fermentining yetarli emasligidan, bilirubin bog'langan diglukuronidga aylana olmasligidan darak beradi.

Sog'lom odamlar siydigida bilirubin bo'lmaydi. Bilirubin almashinuvining buzilishi ko'pincha sariq kasalligining rivojlanishi bilan bog'liq. Shu jihatdan qon zardobi bilirubinning turi va miqdorini aniqlash sariq kasalligini farqlashda muhim ahamiyatga ega.

Sog'lom odamlar qon zardobidagi umumiy bilirubin miqdori 1,7-20,5 mk mol/l (0,1-1,2 mg 100 ml), erkin bilirubin 1,7-17,1 mk mol/l (0,1-1,0 mg 100 ml), bog'langan bilirubin 0,86-4,3 mk mol/l (0,05-0,25 mg 100 ml). Yosh bolalardagi bilirubin miqdori jadvalda keltirilgan.

Usul: bilirubinning diazoreaktiv bilan hosil qilgan rangli mahsulotini kolorimetrlashga asoslangan. Bu mahsulot to'q qizil rangga bo'yalgan. Diglukuronidbilirubin diazoreaktiv bilan to'g'ridan-to'g'ri ta'sirlanadi. Erkin oqsillar bilan bog'langan bilirubin esa oqsil dissotsilangandan so'nggina diazoaralshma bilan reaksiyaga kirishadi. Oqsilni dissotsilash qon zardobiga kofein reaktivi qo'shish bilan amalga oshadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: sulfanil kislotaning 0,5 % li eritmasi, natriy nitratning 0,5 % li eritmasi, kofein reaktivi, natriy gidroksidning 30 % li eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, buretkalar, FEK, 1 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariadigan ish tartibi. Bitta tekshiruv, bitta nazorat probirkalari tayyorlanadi. Jadvalga binoan reaksiya aralashmasi tayyorlanadi.

72-jadval

Tajriba	Qon zardobi, ml	Kofein reaktivi, ml	Distillangan suv, ml	Diazoaralashma, ml
Tekshiruv	1	3,5	-	0,5
Kontrol	-	3,5	1	0,5

Diazoaralashma (guruhdagi talabalarga yetarli miqdorda tayyorlaniladi) sulfanil kislotaning 5 % li eritmasi 10 ml olib, 0,3 ml 0,5 % li natriy nitrat eritmasi bilan aralashtiriladi.

Tekshiruv va nazorat eritmaları yaxshilab aralashtirilib, 20 daqiqa qorong'i joyga qo'yiladi. So'ng yashil nur filtri (500-560 nm to'lqin uzunligidagi) qarshisida kolorimetrlanadi. Agar hosil bo'lgan rang och bo'lsa, kolorimetrlashdan oldin ikkala probirkaga 3 tomchi 30% li natriy gidroksid eritmasi solinadi. Bu holda rang yashil tusga, bilirubin miqdori juda ko'p bo'lsa, ko'k tusga kiradi, ko'pincha eritma tiniqlashadi. Bu vaqtda eritma FEK ning qizil nur filtrda kolorimetrlanadi. Uning miqdori o'lchov egri chizig'i bo'yicha hisoblanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asoslanishini, kolorimetr ko'rsatkichi va hisob natijalarni yozing. Bilirubinning o'rtacha ko'rsatkichini ko'rsating va tegishli xulosa chiqaring.

O'lchov egri chizig'ini tayyorlash. Bilirubinning 8 marta suyultirilgan doimiy (80 mg 100 ml) eritmasidan 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 ml dan qilib qator probirkalarga solinadi va natriy xloridning izotonik eritmasi bilan probirkalardagi eritmalarining hajmi 0,5 ml ga yetkaziladi. Ushbu probirkalardagi bilirubinning miqdori (mg) 0,5 ml dan 0,005; 0,01; 0,020 va 0,025 ni tashkil qiladi. Uning konsentratsiyasi esa (100 mg/ml) 1, 2, 3, 4, 5 ga teng. Ish tartibi tajribaga o'xshash.

2. QON PLAZMASI OQSILLARI

9-10% qondagi quruq plazmaning 6,5-8,5 % i oqsillarga to'g'ri keladi. Qon plazmasi oqsillarini 3 guruhga bo'lish mumkin: albuminlar, globulinlar, fibrinogen. Qon plazmasida albuminlar 20-30 g/l, fibrinogen 2-4 g/l ni tashkil qiladi. Yangi tug'ilgan chaqaloqlarda bu ko'rsatkich kattalarnikidan pastroq. Bola hayotining birinchi oyida oqsil miqdori yanada kamayadi (45-55 g/l gacha), keyinchalik esa sekin-asta ko'tarila boshlaydi va 7 yoshdan o'tganda kattalar oqsili bilan tenglashadi.

Qon plazmasining oqsillari ko'proq jigarda va retikuloendotelial sistemada sintezlanadi. Qon plazmasi oqsillarning fiziologik ahamiyati juda katta.

1. Oqsillar qon yopishqoqligini ta'minlaydi, qonning yopishqoqligi eritrotsitlarni bir me'yorida taqsimlanishi, leykotsitlarning harakatlanishi, qonning qon tomirlari bo'ylab oqishini va kapillar devorlaridan o'tishini bir me'yorga solib turadi.

2. Oqsillar, gidrofil, kolloid bo'lganligi uchun ma'lum miqdordagi suvni bog'lab, qon oqimida ularni saqlab turadi. Shu xossasiga ko'ra oqsil kolloid – osmotik (onkotik) bosimni sozlab turadi va qon hajmini o'zgartirmaydi. Bu jihatdan, ayniqsa, albuminlarning ahamiyati katta.

3. Oqsillar turli moddalarni (ionlar, yog'lar, pigmentlar, vitaminlar, gormonlar, dorilar va hokazo) tashishda ishtirok etadi. Ular shu moddalar bilan qaytar kompleks hosil qilib, ularni to'qimalarga yetkazadi. Bu jarayonni boshqarishda albuminlarning ahamiyati katta. Ammo plazmada shunday oqsillar borki, ular faqat tanlangan birikmalarni tashiy oladi.

Masalan, transferin – temir tashuvchi, seruloplazmin – mis tashuvchi, gaptoglobulinlar faqat gemoglobulinlar bilan birikadi.

4. Plazma oqsillari oqsil bufer sistemalarini hosil qilib, qonning doimiy muhitini saqlashda ishtirok etadi.

5. Ionlar bilan nisbiy bog'lanib, qondagi kationlar doimiyligini ushlaydi, temir, mis, magniyning ko'p qismi va 40-50 % qon plazmasi oqsillari bilan bog'langan.

6. Plazmaning ayrim oqsillari – (fibrinogen, protrombin va boshqalar) qon ivishida qatnashadi va (immunoglobulinlar) ni tashiydi, shu bilan u himoya vazifasini bajaradi.

7. Oqsillar aminokislota rezervlari hisoblanadi.

73-jadval

Turli yoshdagi bolalarning qon plazma oqsillari

Yosh	Oqsii miqdori	
	g%	g/l
Yangi tug'ilganlarda	5,6 (4,7-6,5)	56,0
Chala tug'ilganlarda	5,1 (4,4-5,8)	51,0
1 oylik	4,8 (4,1-5,5)	48,0
2 oylik	5,3 (4,7-5,9)	53,0
6 oylik	6,1 (6,4-6,8)	61,0
1 yoshda	6,5 (5,7-7,3)	65,0
3-4 yoshda	6,9 (5,9-7,9)	69,0
7 yoshda	7,0 (6,2-7,8)	70,0
12 yoshda	7,4 (6,8-8,0)	74,0

Oqsillar ishqoriy muhitda o'tkizilgan qog'oz elektroforezda 5 fraksiyaga bo'linadi: albuminlar, alfa, alfa, betta va gamma globulinlar. Bu fraksiyalarning nisbati rivojlanish jarayonida o'zgaradi.

Yangi tug'ilgan bolalar qon plazmasi gamma globulinlarning yuqori miqdori bilan ifodalanaadi. Keyinchalik bu miqdor pasaya boradi va bola 3 yoshga yetganda kattalar gamma globulini bilan tenglashadi. Shuningdek, yangi tug'ilgan bolalarda fibrinogen oqsili kattalarnikiga nisbatan past bo'lib, bola bir oylik bo'lganda u me'yoridan 2,0-4,0 g/l ga yetadi.

Ayrim oqsillar – gaptoglobulinlar yangi tug'ilgan bolalar qonida odatda uchramaydi. U bola bir oylikka yetganda paydo bo'ladi va 6 oyga yetganda kattalarnikiga o'xshash bo'ladi, 6 oydan oshganda 100-120 mg % ga yetadi.

74-jadval

Yosh	Albumin	Globulinlar			
		α	α	β	γ
Yangi tug'ilganlarda	65,6	5,2	7,1	7,5	14,6
3 oygacha	61,5	6,1	11,5	10,3	10,6
6 oygacha	62,7	5,5	11,9	9,8	10,2
9 oygacha	60,7	5,7	11,9	10,9	10,8
1 yoshgacha	62,1	5,3	11,5	10,2	10,9
1,5 yoshgacha	62,4	5,2	11,8	10,1	10,7
3 yoshgacha	62,4	5,2	10,8	9,5	12,3
6 yoshgacha	61,9	5,0	8,9	9,9	14,3
7 yoshdan 14 yoshgacha	63,3	5,6	6,7	9,4	15,1

Bolalarning ayrim kasalliklarida oqsilning ko'payish (giperproteinemiya) yoki kamayishi (gipoproteinemiya) kuzatiladi. Giperproteinemiya ko'pincha bolalar noto'g'ri ovqatlanirilganda, suyuqlikni kam ichganida, ich ketganida va boshqalar natijasida yuzaga keladi.

Qon plazmasi fraksiyalarining birmuncha o'zgarishi, anomal oqsillarning paydo bo'lishi paraproteinemiya deyiladi. Paraproteinemiya mieloma kasalligida kuzatilib, bunda bitta yoki bir nechta globulin fraksiyalari keskin oshadi.

Umumiy oqsil miqdori 100-160 g/l ga yetadi. Patologik makroglobulinlar Valdenshtrem kasalligida uchraydi. Ayrim holatlarda yosh bolalar plazmasida oqsillarning kamayishi yoki butunlay bo'lmisligi kuzatiladi. Oqsil fraksiyalaridan birining juda kamayishi defektoroteinemiya deb ataladi. Bularga analbumemiya, afibrinogenemiya, agamma va gipogammaglobulinemiya kiradi.

Gipoproteinemiya – oqsil miqdorining kamayishi, buyrak kasalligi – nefrit, xavfli o'smalar, alimantar distrofiyalarda kuzatiladi.

Revmatizmning surunkali bosqichida alfa, betta globulinlar miqdori ortadi. Yuqumli kasalliklarda gammaglobulinlarning ortganligi, jigar sirrozida albuminlar miqdorining keskin pasayishi va gammaglobulinlar ortganligi, buyrak kasalliklarida (nefrit, yog'li nefronlarda, homiladorlik toksikozi va boshqalarda) albumin fraksiyalarining ko'payishi kuzatiladi. Yuqoridagi turli patologik holatlarda qon plazmasi oqsil fraksiyalarining o'zgarish darajasi va xususiyatini o'rganish kasalliklarni aniqlashda katta ahamiyatga ega.

126- ish. UMUMIY OQSIL MIQDORINI REFROMETRIK USUL BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Refraktometrik usulning asosini moddalarning nur o'tkazish va sindirish xususiyati tashkil qiladi.

Nur sindirish ko'rsatkichi (koeffitsiyenti) burchak tushish sinusining sindirish burchagi sinusiga bo'lgan nisbati hisoblanadi. Nur sindirish koeffitsiyentini aniqlash uchun maxsus asbob – refraktometrda foydalaniladi. Refraktometrning tuzilish sxemasi va ko'rinishi 15, 16-rasmlarda ko'rsatilgan.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: suv.

Kerakli anjomlar: IRF- 22 refraktometri, filtr qog'ozi.

Hisoblash. Nur sindirish ko'rsatkichi aniqlangach, jadvaldan aniqlanuvchi oqsilning % miqdori topiladi.

Izoh. 1. Asbobning sezgirligi uncha yuqori emas (0,5-1%);

2. Usulning xatosi 10 % atrofida.

Oqsilning % miqdorini nur sindirish ko'rsatkichiga binoan hisoblash

Nur sindirish ko'rsatkichi (refraksiya)	Qon zardobi oqsili, %	Nur sindirish ko'rsatkichi (refraksiya)	Qon zardobi oqsili, %
1,33705	0,63	1,34575	3,68
1,33743	0,86	1,34612	5,90
1,33781	1,08	1,34650	6,12
1,33820	1,30	1,34687	6,34
1,33853	1,52	1,34724	6,55
1,33896	1,74	1,34761	6,77
1,33934	1,96	1,34798	6,98
1,33972	2,18	1,34876	7,20
1,34000	2,40	1,34870	7,42
1,34048	2,62	1,34910	7,63
1,34086	2,84	1,34947	7,85
1,34124	3,06	1,34984	8,06
1,34162	3,28	1,35021	8,28
1,34199	3,50	1,35058	8,49
1,34237	3,72	1,35095	8,71
1,34275	3,94	1,35132	8,92
1,34313	4,16	1,35169	9,14
1,34350	4,38	1,35205	9,35
1,34388	4,60	1,35242	9,57
1,34426	4,81	1,35279	9,78
1,34463	5,03	1,35316	9,99
1,34500	5,25	1,35352	10,20
1,34537	5,47	1,35388	10,41

127- ish. QON ZARDOBI OQSILLARINI QOG'OZDA O'TKAZILADIGAN ELEKTROFOREZ USULI BILAN FRAKSIYALARGA AJRATISH

Usulning asosi. Oqsillarning elektr maydonida harakatlanishi pH muhitiga bog'liq. Oqsillar amfoter elektrolitlar bo'lib, kislotali muhitda musbat zaryadlanib, katod tomon harakatlanadi, ishqoriy muhitda

esa manfiy zaryadlanib anod tomon harakatlanadi. Qon zardobi oqsillari pH i 8,6-8,9 bo'lgan bufer eritmada ajratiladi. Elektr zaryadiga ega bo'lgan oqsillar doimiy elektr maydoni ta'sirida buffer eritma bilan namlangan xromatografik qog'ozda anod tomon harakatlanadi.

Harakatlanish tezligi oqsil zaryadining kattaligi va zarrachalarning nisbiy molekular massasiga bog'liq bo'ladi. Unda ko'proq tezlik bilan albuminlar, alfa, alfa₂, beta va nihoyat gamma-globulinlar harakatlanadi.

Ushbu qog'oz elektroforez yordamida qon zardobi oqsillarini 5-9 fraksiyaga (ayrim oqsillarga) ajratib, ularning har qaysisi nisbiy miqdorini o'lchash mumkin.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: pH i 8,6 barbital buffer eritmasi, pH I 8,9 tris buffer (60,5 g tris, 6 g etilendiamin tetrasirka va 4,6 g borat kislotada 1 l distillangan suvda eritiladi), elektroforegrammalarni bo'yash uchun bo'yoq (bromfenol ko'k va qora amid bo'yoqlar), elektroforegrammalarni bo'yash uchun bo'yoq (bromfenol ko'k va qora amid bo'yoqlar), sirka kislotaning 2% li eritmasi, natriy atsetatning 10% li sirka kislotada tayyorlangan 2% li eritmasi, natriy ishqorining 0,01 m eritmasi (1 l eritmada yangi tayyorlangan).

Kerakli anjomlar: 40x3,5 sm li xromatografiya qog'oz, sust harakatlanuvchi Leningrad turi, odatdagi filtr qog'ozlarining varaqlari, elektroforez asbobi, mikropipetkalar, FEK va 5 ml li kuveta, quritgich shkaf, pipetkalar, tomizgichlar, sifon, bo'yoq uchun idish (kuveta), elektroforegrammalarni quritish uchun yog'och ramka, qaychilar.

Bajariladigan ish tartibi. Gorizontall elektroforez asbobi, kamera va stabilizatoridan (kameraga doimiy kerakli kuchlanishda) tok berib turuvchi to'g'rilagich (17- rasm).

1. Kamerani tayyorlash. Elektroforez kamerasi gorizontall holda joylashtiriladi. Kamera kuvetalariga joylashtirigan elektrod plastinkalari undan ajratiladi va kuveta (pH i 8,6- 8,9) buffer eritma bilan bir xil hajmda to'ldiriladi (1 l dan). Eritma kuveta devori chegarasidan pastroqda bo'lishi kerak. So'ng kuvetaga elektrodlar joylashtiriladi. 3,5x40 sm yoki 4x45 sm li qog'oz tasmaning katod tarafidan 12 sm masofada oddiy qora qalam bilan qon zardobi tomiziladigan joy mo'ljallanadi.

2. Elektroforez o'tkazish. Elektroforez uchun olingan qog'oz tasma buffer eritma bilan ho'llaniladi va quruq filtr qog'ozda nam holatgacha quritiladi. So'ng qog'oz tasmaning ikki uchi elektrod solingan kuvetalarga

tegib turadigan darajada joylashtiriladi. Ularning uchi buffer eritmada bo'lishi kerak. Shundan keyin qalam bilan mo'ljallangan joyga asta-seken (0,01-0,015) 0,005 ml yangi olingan gemolizlanmagan qon zardobi kichik tomchilar tomiziladi. Qon zardobi mikropipetka bilan qog'oz tasmaning eni bo'yab chegaradan beriroqqa tomiziladi. Agar bir nechta qog'oz tasma kuvetaga joylashtirilgan bo'lsa, ular bir-biriga tegmasligi kerak. Kameraga dumaloq teshikchali plastmassa plastinka joylashtiriladi, uning ustiga vanna hajmida filtr qog'oz qo'yiladi. Kamera zich berkiladigan qopqoq bilan berkitiladi. Elektrodning klemmalari to'g'rilagich bilan ulaniladi va stabilizator 220 V li tokka ulaniladi. Har bir qog'oz tasmaning har 1 sm iga tok kuchi 0,1-0,3 mA dan oshmasligi kerak (eni 4 sm bo'lgan tasmaga 0,4-1,2 mA to'g'ri keladi).

Elektroforez uchun odatda 0,05 ion kuchiga ega bo'lgan barbital buffer ishlatiladi; agar ion kuchi 0,1 ga ega bo'lgan buffer ishlatilsa, qog'oz tasmaning eni 5 sm gacha qirg'iladi va elektroforez birmuncha kam vaqtda (6 soatda) o'tkaziladi.

180-200 V kuchlanishda elektroforez 18-20 soat, 320 V esa 6 soat davom etadi. Elektroforez tugatilgach, stabilizator tokdan o'chiriladi, kamera qopqog'i olinib, pinset yordamida elektroforegrammalar olinadi.

3. Elektroforegrammalarni turg'unlashtirish va bo'yash. Elektroforezdan so'ng qog'oz tasmaning uchi kesib tashlanadi va ularni gorizontall holatda, bir tekisda yog'och ramkalariga tortilib, 100-150°C dagi quritgich shkafga 20 daqiqaga oqsillarning turg'unligi oshishi uchun qo'yiladi.

Quritilgan elektroforegrammalar bo'yoq bilan to'ldirilgan emallangan kuvetalarning tubiga yoyiq holda joylashtirilib, 30 daqiqa davomida bo'yaladi. So'ngra bo'yoq ishlatish uchun boshqa idishga olinadi; elektroforegrammalar 3-4 marta 2% li sirka kislotada eritmasi bilan 5-10 daqiqa davomida yuviladi. Oqsildan xoli bo'lgan qog'oz qismlari rangsizlanadi. Elektroforegrammalarining bo'yalgan mahsulotlarini qog'ozga yanada o'rtnashishi uchun 2 daqiqa 2% li natriy atsetat eritmasiga solinadi. Shundan so'ng elektroforegrammalar havo tortgich ostida, qorong'ilikda, xona haroratida quritiladi.

4. Ayrim oqsil fraksiyalarning nisbatini aniqlash. Elektroforegrammalarda hosil bo'lgan 5 ta bo'yalgan yo'llar alohida bo'laklarga bo'linadi, har qaysi 3-5 mm li mayda bo'lakchalarga qirg'iladi va shu onda alohida tartiblangan probirkalarga solinadi: albuminlar, alfa, alfa₂, beta, gammaglobulinlar va nazorat probirkasi qog'oz tasmaning bo'yalmagan qismi 3-10 mm qilib maydalanib solinadi.

Oqsillar bilan bog'langan bo'yoqlarni ajratish uchun har qaysi probirkaga, jumladan, nazorat probirkasiga 0,01M natriy gidroksid eritmasidan 3 ml dan, albuminli probirkaga esa 9 ml dan solinadi. Probirkadagi eritmalar aralashtiriladi va bo'yoqlarni oqsillardan ajratish uchun 30 daqiqa qoldiriladi. Ishqor eritmasi FEK ning yashil nur filtrida (500-560 nm to'liq uzunligidagi) 5 mm li kuvetada nazorat uchun olingan eritma qarshisida ko'riladi. Agar (-500 nm) 2-nur filtrlri fotokolorimetrdan foydalinsa, har qaysi oqsil fraksiyasi va nazorat probirkasining nur o'tkazish koeffitsiyenti topiladi. Jadvaldan E-optik zichlik aniqlanadi. $E_{\text{tajir}} - E_{\text{rek}} = E$. («Fermentlar» ga qarang).

Hisoblash. Oqsil fraksiyalarning miqdori absolut va nisbiy kattaliklarda hisoblanadi. Bir nisbiy miqdorning foizini topish uchun aluminlarning optik zichligi uchga ko'paytiriladi va qolgan globulinlar miqdorining yig'indisi qo'shiladi. Barcha fraksiyalar ko'rsatkichining umumiy yig'indisi 100 % deb olinadi, har qaysi fraksiya uchun foiz miqdori hisoblanadi.

Masalan, agar barcha fraksiyalar uchun optik zichlik yig'indisi 0,84, albuminlar uchun esa 0,52 bo'lsa, ushbu fraksiyalarning nisbiy miqdori quyidagi proporsiya yordamida hisoblanadi:

$$0,84 \text{ ————— } 100\%$$

$$0,52 \text{ ————— } X X=61,9\%$$

Qolgan oqsil fraksiyalarning nisbiy miqdori shu yo'l bilan hisoblanadi.

1) Qon zardobi oqsilning umumiy miqdori refraktrometrlil yoki Biuretik usul bilan topilgach, har qaysi fraksiya uchun ml/mol/l l (gramm – foiz) hisobida aniqlanadi.

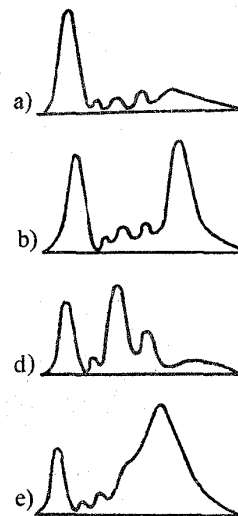
Masalan, qon zardobi tarkibida 70 g/l (7,0 g%) oqsil bo'lsa, albuminning miqdori quyidagicha:

$$7,0 \text{ ————— } 100\%$$

$$x \text{ ————— } 61,0 X=43,3 \text{ g/l (4,33 g 5)}$$

61,9% – tekshirilayotgan qon zardobi tarkibidagi albuminning nisbiy miqdori.

Olingan natijalarni m/mol/l hisobiga o'tkazish uchun gramm-foizi 0,154 hisoblash koeffitsiyentiga ko'chirish kerak;



16a-rasm. Qon zardobi oqsillarining densitogrammasi.

a-sog'lom odam qon zardobi;
b-plazmatstimoma; d-nefroz; e-jngar sirrozi

2) Albuminlarning va globulinlarning umumiy miqdorini bilgan holda albumin-globulin koeffitsiyenti (A/G) hisoblanadi. O'rtacha miqdor A/G 1,3 –2,0 ga teng.

Sog'lom odam qon zardobining qog'oz elektroforez yordamida aniqlangan oqsil fraksiyalari miqdori quyidagicha:

Albuminlar – 52,65,0 5 yoki 3,2- 5,6 g/100 ml, 0,49 – 0,86 mmol/l alfa, globulinlar – 2,5– 5,0 % yoki 0,1 –0,4 g/100 ml, 1,0 –4,0 g/l alfa, globulinlar –7,1- 13,0 % yoki 0,4- 1,2 g/100 ml, 4,0 –12,0 g/l beta globulinlar – 12-22,0 % yoki 0,5 –1,6 g/100 ml, 5,0 –16,0 g/l.

Densitometrdan foydalangan holda oqsil fraksiyalarning nisbati densitogramma orqali topiladi. Densitometrda elektroforegramma orqali nur to'plami o'tkaziladi, ularning yutilishi bo'yalgan oqsil fraksiyalarning zichligiga bog'liq bo'ladi.

Elektroforegrammalardan o'tgach, nur fotoelementda tutiladi va elektr tokiga aylanadi. Hosil bo'lgan tok to'liqlari qog'oz tasimga egri chiziqlar holida yoziladi. Hosil bo'lgan har qanday cho'qqili chiziq oqsil fraksiyasini ifodalaydi – albuminlar, alfa₁, alfa₂, beta va gamma globulinlar (16a-rasmga qarang).

Ushbu oqsil reaksiyalarining miqdoriy nisbatlari cho'qqi maydoniga bog'liq bo'ladi. Bu cho'qqilarni alohida 5 bo'lakka bo'lib, har qaysisi tarozida tortish yo'li bilan miqdori aniqlanadi yoki bo'lmasa maxsus asbob – planimetrdan aniqlanadi. Oqsil fraksiyalarning miqdoriy nisbatlari turli kasalliklarda turlicha o'zgaradi va kasallikni aniqlash, ularni farqlash, davolash, nazorat qilishda katta ahamiyatga ega.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asoslanishi, uni aniqlash yo'llari, qon zardobi oqsillarining miqdoriy nisbatlari va ularning kasalliklarda o'zgarishini, fraksiyalar ko'rsatkichini daftaringizga yozing va xulosa chiqaring.

128- ish. AZOT QOLDIG'I MIQDORINI O'LCHASH

Qonning azot qoldiqlari asosini 50% siydikchil, 25% aminokislota azoti va boshqa azot tutuvchi birikmalar tashkil qiladi. Sog'lom odam qonida azot qoldig'i 14,3 –25,0 mmol/l (20–40 mg/100 ml), yangi tug'ilganlarda 42,84 –71,40 mmol/l (60–100 mg/ 100 ml) bo'ladi. Chaqaloq 10–12 kunlik bo'lganda, bu ko'rsatkich kattalarnikiga yaqinlashadi. Qon tarkibidagi azot qoldig'i va uning fraksiyalarini aniqlash amaliy ahamiyatga ega, ayniqsa u buyrakning ajratuvchanlik faoliyati buzilishini aniqlashda yaxshi ko'rsatkich hisoblanadi.

Qon tarkibidagi azot qoldiqlari miqdorining oshishi «azotemiya» deb ataladi. Azotemiya ikki xil bo'ladi: absolut (azot qoldiqlari komponentlarining qonda yig'ilishi va nisbiy (qusish yoki ich ketish natijasida organizmning suvsizlanishi, bu ayniqsa, yosh bolalarda kuzatiladi). Absolut azotemiya sabablari ikki xil: retension (buyrak bilan bog'liq) va produksion (buyrak bilan bog'liq bo'lmagan). Retension azotemiya o'rtacha miqdordagi azot chiqindilari yig'ilishi natijasi bo'lib, buyrak ajratuvchanlik faoliyati buzilishidan, masalan, o'tkir va surunkali buyrak yallig'lanishi va qondagi siydikchil miqdorining ko'payishidan kelib chiqadi. Surunkali nefritlarda turg'un azotemiya buyrak yetishmovchiligidan dalolat beradi. Produksion azotemiya esa oqsillarning parchalanishining ortishi va aminokislotalar miqdorining ko'payishi bilan bog'liq bo'lib, xavfli o'sma kasalliklarida kuzatiladi. Giperazotemiya o'smaga bog'liq bo'lmagan holda haddan tashqari ozish (kaxeksiya), sil, diabet, jigar sirrozi, o'pkaning krupoz yallig'lanishi, jigar atrofiyasi, yurak faoliyatining susayishi, buyrak usti bezi gipofunksiyasi, ayrim yuqimli kasalliklarda, skarlatina, difteriyalarda kuzatiladi. Chala tug'ilgan bolalarda azotemiya yaqqol namoyon bo'ladi, bu ularning buyragi to'liq rivojlanmaganligi va to'qima oqsillarining shiddatli parchalanishi natijasidir.

Azot qoldiqlari miqdorining kamayishi vaqtida to'yib ovqat yemaslik va homiladorlikda kuzatiladi.

Usulning asosi. Qonning azot qoldiqlari qon oqsillari turli cho'ktiruvchilar yordamida (uchxlor kislota, volframat) cho'ktirilgandan so'ng oqsilsiz filtratni konsentrlangan sulfat kislota bilan mineralashtirish yo'li bilan aniqlanadi. Barcha o'rganilayotgan fraksiyalardagi azot ammiak holatida sulfat kislota bilan bog'laniladi va hosil bo'lgan ammoniy sulfat Nessler reaktivi bilan sariq-qizg'ish rangli birikma hosil qiladi. Uning och to'qligi ammiak miqdoriga to'g'ri keladi, demak, azot miqdoriga proporsionaldir. Azot miqdori oldindan tayyorlangan o'lchov egri chizig'iga binoan topiladi.

Tekshiriluvchi material: qon.

Reaktivlar: natriy volframat yoki uchxlor kislota 10% li eritmasi, konsentrlangan sulfat kislota 0,23 M eritmasi, pergolol, natriy ishqorining 50% li eritmasi, Nessler reaktivi (10 g kaliy yodid 15 ml suvda eritilgan va unga 15 g simob yodid (HCl₂) qo'shib, yaxshilab aralastiriladi. So'ng natriy gidroksidning 50% li eritmasidan 80 ml qo'shiladi, «karbonatlar bo'lmasligi kerak»). Eritmaning umumiy hajmi 500 ml ga yetkaziladi. Oradan 24 soat o'tgach, shisha filtdan o'tkaziladi. Eritma tiniq bo'lishi kerak. Bu eritma qora idishda (yaxshi berkitilgan holda) saqlanadi, ammoniy sulfatning doimiy eritmasi.

Kerakli anjomlar: mikropipetkalar, FEK, Keldal kolbasi yoki issiqlikka chidamli probirkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Oqsilsiz filtratni olish. Quruq probirkaga 1,8 ml suv, ustiga esa 0,2 ml qon solinadi. Pipetkada qolgan qon suv bilan yuviladi. Probirkaga 0,3 ml natriy volframat eritmasi va 0,23M li sulfat kislota eritmasidan 0,2 ml solinadi. Aralashma yaxshilab aralastiriladi va 15 daqiqaga qoldiriladi. Bir ozdan so'ng aralashma quruq probirkaga filtrlanadi. Agar uchxlorli kislota eritmasi ishlatilgan bo'lsa, 1,8 ml suv quyiladi (0,2 ml qonga 1 ml uchxlorli kislota 10% li eritmasidan solinadi).

2. Kuydirish. Issiqlikka chidamli probirkaga yoki Keldal kolbasiga 1 ml oqsilsiz filtrat solinadi, ustiga 3 ml konsentrlangan sulfat kislota va 3 tomchi vodorod peroksid solib qizdiriladi. Suyuqlik asta-sekin bug'latiladi va rangsiz mineral holga kelguncha qizdirib kuydiriladi.

3. Fotometrlash. Olingan mineral holdagi mahsulot sovitilgach, unga 10 ml suv solinadi, kislota neytrallash uchun 6 tomchi 50% li natriy gidroksid eritmasi qo'shiladi (lakmus rangi o'zgarishiga qarab) va 0,5 ml Nessler reaktivi solinadi. Tekshiruv va nazorat tajriba eritmaları tayyorlanadi: buning uchun 10 ml suvga 6 tomchi 50% li natriy gidroksid eritmasi, bir tomchi konsentrlangan sulfat kislota va 0,5 ml Nessler reaktivi aralastiriladi va nazorat tajriba eritmasi qarshisida, 5 mm li kuvetada FEK ning egri chizig'idan azotning miqdori fotokolorimetrlanadi. Tayyor o'lchov egri chizig'idan azotning miqdori topiladi va quyidagi tenglama bo'yicha hisoblanadi:

$$\text{qonning azot qoldig'i} = \frac{a \cdot y \cdot 100}{1,0,2} \text{ mg/100ml}$$

a – azot miqdori, aniqlanayotgan eritmaning mg/ml o'lchov egri chizig'idan topilgan.

y – oqsil cho'ktirilgandan so'ng olingan qonning umumiy hajmi (2,5 ml ga teng).

0,2 – analiz uchun olingan qon miqdori, ml. Xalqaro o'lchov birligiga o'tkazish koeffitsiyenti SI (mmol/l) 0,714 ga teng.

O'lchov egri chizig'ini tayyorlash. Ammoniy sulfatning doimiy (asosiy eritmasi 1 ml da 0,1 mg tutadi) qatoridan 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,1 m yoki 10 dan 100 mkg gacha 10 ml da azot tutuvchi eritma tayyorlanadi. Buning uchun bir ml ammoniy sulfatning asosiy eritmasiga 9 ml suv, 6 tomchi 50% li natriy gidroksid eritmasi, 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi va 0,5 ml Nessler reaktivi aralashiriladi. Unga 8 ml suv qo'shilgan 2 ml ammoniy sulfatning doimiy eritmasi, 6 tomchi 50% li natriy gidroksid eritmasi, 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi va 0,5 ml Nessler reaktivi aralashiriladi. Har bir eritma uchun optik zichlik aniqlanadi. Shundan so'ng o'lchov egri chizig'ini tayyorlashga kirishadi.

129-ish. QON ZARDOBIDAGI SIYDIKCHILNI KOLORIMETRIK USUL BILAN ANIQLASH

Sog'lom odam qon zardobida 3,33-8,32 mmol/l (20-50 mg%) siydikchil bo'ladi. U oqsilsiz azot qoldig'ining 50% ini tashkil qiladi.

Usulning asosi. Siydikchil kuchli kislotali muhitda diatsetilmonooksim bilan tiosemikarbozid va temir tuzlari ishtirokida qizdirilgan pushti-qizil rangli kompleks birikma hosil qiladi. Rangning och-to'qligi qon zardobidagi siydikchil miqdoriga to'g'ri keladi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Kerakli reaktivlar: uchxlorcirka kislotaning 10% li eritmasi, siydikchilning doimiy standart eritmasi, 100 mg/100 ml da (eritma suvda yoki 0,2% li benzoy kislotasi eritmasida tayyorlanadi), temir (III) xloridning 5% li eritmasi asosiy eritma: 5 g temir (III) xloridga hajm 100 ml ga yetguncha suv qo'shib eritiladi, shundan keyin 1 ml konsentrlangan sulfat kislotasi bilan kislotali muhitga o'tkaziladi, ishchi eritma asosiy eritmadan tayyorlanadi. 1 ml asosiy eritma hajmi distillangan suv qo'shib 100 ml ga yetkaziladi, 8 ml konsentrlangan sulfat kislotasi va 1 ml 85% i ortofosfat kislotasi solinadi. Eritma qora idishda saqlaniladi. Diatsetilmonooksimning 2,5% li suvli eritmasi, tiosemikarbomidning 0,25 li eritmasi (yoki 0,32 li tiosemikarbomidning suvli eritmasi qora idishda saqlaniladi), xloridning 30 ml ishchi reaktiviga 20 ml distillangan suv, 1 ml 2,5% li diatsetilmonooksim eritmasidan va 0,25 ml 0,25% li tiosemikarbozid eritmasidan solinadi.

Kerakli anjomlar: sentrifuga probirkalari.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Oqsillarni cho'ktirish.

Sentrifuga probirkasiga 0,8 ml suv, 0,2 ml qon zardobi va 1 ml 10% li uchxlorcirka kislotasi solib aralashiriladi. Ikkinchi probirkaga qon

zardobi o'rni siydikchilning doimiy standart eritmasi solinadi. 15 daqiqa o'tgach, qon zardobi solingan probirka 10 daqiqa davomida sentrifugalani yoki filtrlanadi (daqiqasiga 1500 marta aylanadigan sentrifuga). Shundan so'ng birinchi probirkaga 0,5 ml cho'kindi ustidagi eritmadan, ikkinchisiga esa 0,5 ml siydikchilning doimiy standart eritmasidan solinadi. Har qaysi probirkaga 5 ml rangli eritma solib aralashiriladi. Probirkalar qaynab turgan suv hammomiga 20 daqiqaga qo'yiladi, so'ngra oqib turgan suv tagida 2-3 daqiqa sovutiladi.

Tajriba va standart tajribalar yashil nur filtrida nazorat eritma qarshisida 10 mm li kuvetada fotokolorimetrlanadi. Nazorat tajriba haqiqiy tajribadek o'tkaziladi, faqat cho'kindi ustidagi eritma o'rni 0,5 ml distillangan suv olinadi.

Siydikchil miqdori quyidagi tenglamaga binoan hisoblanadi:

$$X = \frac{E_{\text{teksh}} \cdot 0,2 \cdot 20 \cdot 1000}{E_{\text{doim.st.}}}$$

X – siydikchil miqdori mmol/l.

E_{teksh} – tajribaning optik zichligi.

E_{doim} – doimiy standart eritmaning optik zichligi.

1000 – siydikchilning doimiy koeffitsiyenti

0,2 – standart eritmadagi siydikchil

20 – suyultirish koeffitsiyenti sistemasi birligiga o'tkazish koeffitsiyenti (mmol/l 0,1665 ga teng).

Siydikchil miqdoring kamayishi, parenhimatoz gepatit, jigar sirrozi (jigarning siydikchil hosil qilish faoliyati keskin kamaygan holatlarda, homiladorlikda, eklampsiya vaqtida kuzatiladi).

Siydikchil miqdoring ortishi, nefrit, istima, sepsis, buyrak sili xastaliklarida kuzatiladi.

3. QON ZARDOBINING FERMENTLAR FAOLLIGINI ANIQLASH

Qon zardobi tarkibidagi qator fermentlar faolligini o'lchash (laktatdegidrogenaza, aminotransferaza, ishqoriy fosfataza va hokazo) kasalliklarni aniqlashda muhim ahamiyatga ega. Qon tarkibida 59 ga yaqin ferment bo'lib, ayrimlarining faolligi qon tarkibida birmuncha past, ammo kasalliklarda bu fermentlarning faolligi yuqori darajaga ko'tariladi (giperfermentemiya), ba'zan juda pasayadi (gipofermentemiya). Ayrim a'zolar hujayra membranasi o'tkazuvchanligining

buzilishi bilan o'tadigan kasalliklar ko'pincha qondagi u yoki bu ferment faolligi tasodifan ko'tarilishiga olib keladi.

Jigar (yallig'lanishi) kasalligida alanin aminotransferaza fermenti faolligi keskin ko'tarilgani kuzatiladi. Yurak muskuli shikastlanganda aspartataminotransferaza faolligi va laktatdegidrogenaza fermenti faolligi oshgani kuzatiladi.

Yangi tug'ilgan bolalarda qon zardobining ishqoriy fosfotaza fermenti faolligi kattalarnikiga nisbatan ikki barobar ortiq. Bu fermentning o'rtacha faolligi (Bodanskiy birligida) yangi tug'ilganlarda 4,5 TB, emizikli bolalarda 9,5 TB, 2-14 yashar bolalarda 7,5 TB, kattalarda esa 3,5 TB ga teng. Raxitning klinik ko'rinishlari yuzaga chiqishdan oldin ishqoriy fosfataza fermenti faolligi 30 dan 150 TB ga ko'tarilgani kuzatiladi.

76-jadval

Qon zardobi ayrim fermentlari faolligining yoshga qarab o'zgarishi (xalqaro birlikda)

Yosh	Aspartatamino-transferaza	Alaninamino-transferaza	Aldolaza
Yangi tug'ilganlarda	32	15	7,5
1 oylik	31	19	8,0
12 oylik	29	15	4,7
2 yashar	2	13	4,3
5 yashar	23	12	3,6
14 yashar	15	12	3,4
Kattalarda	22	20	2,0

77-jadval

Yosh	Fosfogekso-izmeraza	Malatdede-gidrogenaza	Izositratde-gidrogenaza	Glutatsion-reduktaza
Yangi tug'ilganlarda	105	110	8,1	39
1 oylik	80	76	7,7	53
12 oylik	95	74	5,5	57
2 yashar	64	72	5,3	59
5 yashar	66	71	4,4	58
14 yashar	67	63	5,5	59
Kattalarda	63	43	5,2	52

130-ish. LAKTATDEGIDROGENAZA FERMENTI FAOLLIGINI ANIQLASH

Usulning asosi. Sut kislotaning pirouzum kislotaga aylanish reaksiyasi tezligini o'lchash, pH 10 da reaksiya muvozanati laktatni pirouzum kislotaga aylanish tomon suriladi. Ferment faolligi o'chovi 340 nm da E tezligi oshishga bog'liq, chunki oksidlangan va qaytarilgan NAD⁺ ning spektr yutishi turlicha bo'ladi. Laktatdegidrogenaza faolligi birligi qilib (DE) optik zichligining 0,001 ga nisbatan oshganligi olinadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: inkubatsion aralashma: 0,1 ml qon zardobi, 0,1ml NAD⁺, 0,02M; 2 ml gliitsin buferi 0,1 M (pH i 10,0), 0,5 ml 0,5M D1- laktat eritmasi va 1 ml distillangan suv.

Kerakli anjomlar: SF- 6 markali spektrofotometr.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga inkubatsion aralashma solib, 30 daqiqa davomida 37°C da saqlanadi. Probirkalarning qaynab turgan suvga 3 daqiqa qo'yish bilan reaksiya tugatiladi. Tekshiruv probirkasi bilan bir qatorda nazorat probirkasi ham qo'yiladi. Bunda 0,1 l qon zardobi o'rniga 0,1 ml suv olinadi. 340 nm da tajriba va tekshiruv probirkalarni solishtirish bilan boshlanishi hisobga olinadi va har 30 sekundda 3 daqiqa davomida E zichligi va NADH (H⁺) hosil bo'lishi natijasida uning optik zichligi oshib borishi yozib boriladi.

Ferment faolligi quyidagi tenglama asosida hisoblanadi.

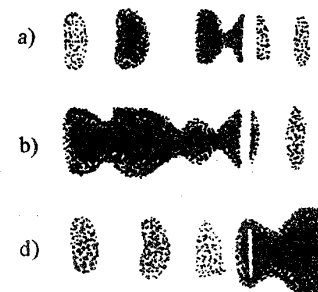
$$E = \frac{E \cdot 100}{T}$$

E – zichlikning nisbiy birlikda ifodalangan ferment faolligi.

E – optik zichlikning 5 daqiqa ichidagi yig'indisi, nazorat probirkasiga nisbatan har 1 daqiqa o'lchaniladi.

T – inkubatsion vaqt.

1000-100 ml qon zardobiga o'tkazish koeffitsiyenti.



17-rasm. Laktatdegidrogenaza izoferment spektrlari (F.Sh. Komarov, B.F. Korovkin, V.V. Menshikovlar)

Sog'lom odamlarda laktatdegidrogenaza faolligi 80-250 ga, o'rta hisobda 180 TB ga teng. Ferment faolligi hosil bo'lgan NADH (H⁺) ni mmol/10 ml qon zardobi hisoblash mumkin.

Laktatdegidrogenaza faolligi miokard jarohatlanganda, leykozlarda, buyrak kasalliklarida, gemolitik o'roqsimon hujayra anemiyasida, trombositopeniyalarda, yuqumli mononukleozlarda, shiddatli mushak distrofiyalarida ortadi. To'qima nekroziga uchragan barcha kasallik (miokard infarkti, buyrakning nekrozlanishi, sariq kasalligi – gepatit, pankreatit (me'da osti bezining yallig'lanishi), o'smalar odatda qon zardobi laktatdegidrogenazasining faolligi oshishiga olib keladi. Kuzatishlar shuni ko'rsatdiki, miokard infarkti xuruji boshlangandan 8-10 soat o'tgach, LDG₁ faolligi ortadi va 23-48 soat o'tgach, u maksimal darajaga yetadi. Yuqori darajaga ko'tarilgan ferment birinchi hafta davomida saqlanadi, kasallikning sakkizinchi kuniga kelib esa u me'yoriga keladi. O'tkir sariq kasalligining birinchi haftasida laktatdegidrogenaza faolligi ortadi. Uning faolligi kasallikning kechishiga bog'liq. Ushbu ferment fraksiyalarini o'lchash, kasallikni aniqlash, ularni farqlash kasallikning darajasini aniqlashda katta ahamiyatga ega.

131-ish. LAKTATDEGIDROGENAZA IZOSHAKLLARINI AGAR GELDA O'TKAZILGAN ELEKTROFOREZ BILAN AJRATISH

Usulning asosi. Qon zardobi fermentlarini izoshakllarga ajratish plastinkalardagi 1% li agar eritmasi va pH i 8,6 ion kuchlanishi 0,06 bo'lgan barbital buferda o'tkaziladi. Elektroforez suv bug'lanmasligi uchun olidindan sovitilgan bufer eritmada va past haroratda amalga oshiriladi. Elektroforez kamerasi mustahkam berkitilgan bo'lishi, suv tomchilari agar geliga tushmasligi kerak.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: agarning 1% li eritmasi, barbital buferi, qora amidatsetat 10 – B, qora amid 10-B, B 0,5 g, simob atsetati 5,8 g, konsentrlangan sirka kislotada 5 ml, distillangan suv 100 ml (qora idishda saqlanadi), sirka kislotaning 5 va 7% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: elektroforetik kamera stabilizatori (to'g'rilagichi) bilan agar plastinkasida teshikchalar hosil qilish uchun shtamp, uchi qayrilgan nayli va mundshukli Paster tomizg'ichi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Elektroforez.

Qon zardobi tomizish uchun agar plastinkasining o'rtasida ko'ndalang teshikcha hosil qilinadi. Buyum oynasida tayyorlangan agar plastinkalar 0,5 n. pH i 6 bo'lgan barbital buferi bilan to'ldirilgan elektroforetik kameraga joylashtiriladi. Ikki tomonidagi bufer eritma filtr qog'ozidan tayyorlangan ko'pricha bilan bog'lanadi. Agar plastinka o'ymachalariga (0,01ml) qon zardobining bufer eritmasi bilan 2-4 marta suyuqtilirilgan eritma tomiziladi. Elektroforegrammaga 100-300 mkg oqsil tomiziladi. Gelga oqsil tomizilgach, elektroforez kuchlanishi 200-300V bo'lgan tokka ulaniladi (1 sm va 7-19 V kuchlanish beriladi). Elektroforez 2-3 yoki 4 soat davomida o'tkaziladi.

2. Elektroforez tokdan o'chiriladi. Gelli agar plastinka tezda olinib, u 5-10 daqiqa 7% li sirka kislotada eritmasida qoldiriladi. Bo'lingan oqsil fraksiyalarining oq dog'lari paydo bo'ladi.

3. Oqsillarni bo'yash uchun plastinkalar 5% li sirka kislotada eritmasida 30 daqiqa davomida qoldiriladi, so'ng har qaysi plastinka filtr qog'oz bilan berkitiladi (u 5% li sirka kislotada ho'llangan bo'lishi kerak). Ushbu plastinkalar xona haroratida yoki 37°C li termostatda bir kecha-kunduz, ya'ni quriguncha saqlanadi. So'ngra filtr qog'oz sekin suvga ho'llab olinadi. Bo'yashdan oldin agar maydoni batamom quritilgan va tiniq bo'lishi kerak. Quritilgan agar yopishqoq shisha plastinka bo'yoq beruvchi qora amid 10 – B eritmasiga solinadi. Oqsil bilan bog'lanmagan bo'yoq elektroforegrammalarda 5% li sirka kislotada eritmasi yordamida 30 daqiqa davomida yuviladi. Sirka kislotada eritmasi 5-6 marta, tiniq rang hosil bo'lguncha aralashtiriladi. Yuvilgan elektroforegrammalar 37°C da quritiladi. Elektroforegrammalar rasmga tushiriladi yoki surati olinadi.

Jigar va yurak mushaklarning laktatdegidrogenaza izofermentlari (LDG₁-LDG₃) 17-rasmda ko'rsatilgan. Laktatdegidrogenaza izofermentlari 4 ta subbirlik polipeptiddan tuzilgan (polipeptidning ikki turi H va M dan tashkil topgan). Yurak mushaklari 4 «H» subbirlikdan tuzilgan LDG₁, izoshakl faolligini namoyon qiladi. Skelet mushaklari esa 4 «M» subbirlikdan tuzilgan LDG₃ ko'proq faollikka ega. Izofermentlarning kombinatsiyalangan shakllari ham mavjud LDG₂ (H₂M), LDG₃ (H₂M₂), LDG₄ (HM₃). Miokard infarktida LDG₁ va LDG₃ izoshakllarning faolligi ortadi. LDG₂ izofermentining faolligi kamayadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, natijalarini daftaringizga yozib, xulosa chiqaring.

132-ish. AMINOTRANSFERAZA FAOLLIGINI ANIQLASH

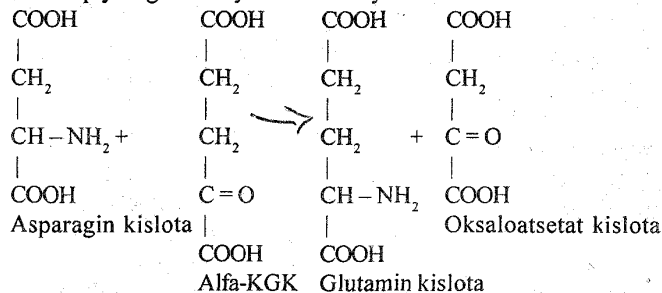
Aminotransferazalar yoki transferazalar murakkab ferment bo'lib, tarkibida koferment sifatida vitamin B₆ faol holati bo'lmish fosfopiridoksal va fosfopiridoksamin bo'ladi. Bu ferment aminokislotalardagi aminoguruhlarini qaytar ravishda α-aminokislotalarga o'tkazadi.

Transaminaza faolligini aniqlash, aminokislotalarning transaminlanishidan hosil bo'lgan α-ketokislotalar miqdorini o'lchashga asoslangan. Qon zardobi –aminotransferaza faolligi ikki usul bilan aniqlanadi: 1) spektrofotometrik; 2) kolorimetrik.

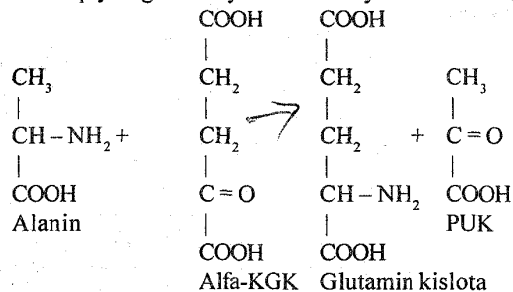
Spektrofotometrik usulda Vargburgning optik testidan foydalaniladi. Kolorimetrik usul transaminlash reaksiyasi mahsuli bo'lgan pirouzum kislotaning dinitrofenilgidrozin bilan rangli birikma hosil qilishi natijasida amalga oshiriladi. Ikkita ferment-aspartataminotransferaza (AsAT) va alaninaminotransferaza (AlAT) lar faolligini o'lchash muhim ahamiyatga ega, chunki bu fermentlar katta katalitik faollikni namoyon qiladi.

Ushbu ferment turli a'zo va to'qimalarda: jigarda, yurak mushaklarida uchraydi. Ammo bu fermentlarning to'qimalardagi miqdori har xil. Masalan: jigardagi alaninaminotransferaza miqdorni yurak to'qimalaridagiga nisbatan birmuncha ortiq, aspartataminotransferaza jigardagi va yurak mushaklarida ko'p miqdorda uchraydi.

AsAT quyidagi reaksiyani katalizlaydi:



AlAT quyidagi reaksiyani katalizlaydi:



Usulning asosi. AsAT ta'siridagi transaminlanish natijasida asparagin aminokislota sirka atsetat kislotaga, AlAT ta'sirida esa alanin pirouzum kislotaga aylanadi. Sirka atsetat kislotaga fermentativ reaksiya jarayonida pirouzum kislotaga aylanadi. Nordon 2,4 dinitrofenolgidrozin hosil bo'ladi.

Pirouzum kislotaga gidrozin ishqoriy muhitda qizg'ish-jigar rangni hosil qiladi, uning och-to'qligi hosil bo'lgan pirouzum kislotaga miqdoriga to'g'ri proporsionaldir. Shunday qilib, hosil bo'lgan pirouzum kislotaga miqdoriga qarab ferment faolligini aniqlash mumkin. Aminotransferaza faolligi 1ml qon zardobining 37°C da bir soat davomida inkubatsiya qilinishidan hosil bo'lgan pirouzum kislotaning mikromol birligida ifodalanadi.

Sog'lom odam qon zardobining aminotransferaza faolligi uncha katta emas. U AsAT uchun 0,1-0,45 mkmol/soat ml, AlAT uchun 0,1-0,68 mkmol/soat ml, pirouzum kislotaning bir soat inkubatsiyada hosil bo'lgan miqdoridir.

Tekshiriluvchi material: yangi qon zardobi.

Reaktivlar: fosfat buferi, 0,1 M (pH 7,4) eritmada; 14,2 natriy gidrofosfat 1 l distillangan suvda eritiladi (0,1M); 13,6 g kaliy digidrofosfat 1 l distillangan suvda eritiladi (0,1M); bufer eritma tayyorlash uchun 840 ml 0,1 M natriy gidrofosfat va 160 ml 0,1M kaliy digidrofosfat eritmalari aralastiriladi.

AsATni aniqlash uchun substrat aralashma: 29,2 ml alfa-ketoglutarat kislotasi va 2,66 g alfa-asparagin kislotasi 10 ml fosfat buferida eritiladi va u natriy gidroksid eritmasi bilan pH i 7,4 ga yetkaziladi, pH bromtimol ko'k yordamida aniqlanadi. Substrat aralashma yashil rangda bo'lsa, 1 n natriy gidroksid eritmasi tomchilanadi, ushbu eritma 100 ml li o'lchov kolbasiga

o'tkazilib, o'lchov belgigacha bufer eritma quyiladi. Aralashma sovitgichda muzlagan holda saqlanadi.

Kerakli anjomlar: FEK, mikropipetkalar, termostat.

AIAT ni aniqlash uchun substrat aralashma: 29,2 ml alfa-ketoglutarat kislota va 1,78 g alfa-alanin (yoki 0,89 g alfa-alanin) yuqoridagidek tayyorlanadi.

2,4-dinitrofenilgidrozin (2,4-DFG): 20 mg 2,4-DFG 1 n xlorid kislota eritmasining oz miqdorida, suv hammomida eritiladi. Sovitilgan eritma hajmi xlorid kislota bilan 100 ml ga yetkaziladi, ikki kun o'tgach, eritma filtrlanadi, eritma sovitgichda, qora idishda 1 oy saqlanishi mumkin.

1 n natriy gidroksid eritmasi substrat aralashma pH ini - 7,4 ga yetkazish uchun ishlatiladi, 0,4 n natriy gidroksid eritmasi, 0,01 g ishlatilayotgan indikator 0,2 ml 0,2% li natriy gidroksid eritmasida eritiladi va hajmi suv bilan 25 ml ga yetkaziladi.

Pirouzum kislotaning asosiy standart eritmasi: 100 ml li o'lchov kolbasida 11 mg natriy pirouzum tuzi eritilib, hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi (1 ml eritmada 110 mkg natriy piruvat bo'ladi, bu 88 mkg pirouzum kislotaga to'g'ri keladi).

Bajariladigan ish tartibi. 1 AsAT faolligini aniqlash (KF 2,6, 1,1). Bitta nazorat va bitta tekshiruv probirkasiga 0,5 ml substrat quyiladi (asparagin va alfa- KGK, yangi eritilgan aralashma) va 37°C li suv hammomiga 5 daqiqaga qo'yiladi. So'ngra tarjiba probirkasiga 0,1 ml qon zardobi, tekshiruv probirkasiga 0,1 ml distillangan suv va 0,5 ml 2,4-dinitrofenilgidrozin eritmasidan ikkala probirkaga solinadi. Probirkalar 37°C li termostatdan olinadi va tajriba probirkasiga 0,5 ml 2,4- DFG eritmasi solib aralastiriladi. Reaksiya ketishi uchun xona haroratida 20 daqiqa qoldiriladi.

So'ngra har qaysi probirkaga 0,4 n natriy gidroksid eritmasidan 5 ml dan solinib, yaxshilab aralastiriladi va xona haroratida rang hosil bo'lishi uchun 10 daqiqa qoldiriladi. Uning optik zichligi 10ml li kuvetada FEK ning yashil nur filtri (500-560 nm), tekshiruv aralashma qarshisida o'lchanadi. Ferment faolligi tayyor o'lchov egri chizig'iga binoan hisoblanadi. Ferment faolligi bir ml qon zardobi uchun nisbiy birlikda ifodalanadi.

AsAT ning bir birligi fermentning muayyan sharoitda bir mkg pirouzum kislota hosil qila oladigan faolligiga to'g'ri keladi. Ferment faolligini o'lchashda qon zardobining suyultirilgan darajasi hisobga olinishi kerak:

$$x = a \cdot 10$$

x – ferment birligi.

10 – bir ml hisobga o'tkazish. 0,1 ml qon zardobidagi o'lchov egri chizig'idan topilgan pirouzum kislotaning mkg dagi miqdor.

Ushbu usul bilan aniqlangan sog'lom odam qon zardobidagi aminotransferaza faolligi 8 dan 40 gacha. Bir ml qon zardobini 37°C da 1 soat davomida inkubatsiyalash natijasida hosil bo'lgan pirouzum kislotaning mikromolda ifodalangan ferment faolligi quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$AsAT = \frac{ax10}{88}$$

x – 0,1 ml qon zardobining o'lchov egri chizig'idan topilgan miqdori, a – PUKning grafikdan topilgan miqdori MKG, 88 – bir mkmol pirouzum kislotaning og'irligi, AsAT ning 37°C da bir soatda aniqlangan koeffitsiyenti, 10–bir ml qon zardobiga o'tkazish uchun hisoblash koeffitsiyenti.

O'lchov egri chizig'ini tuzish. Berilgan jadvalga binoan probirkalarga natriy piruvatning doimiy eritmasi solinadi. Probirkalardagi eritmalar aralastiriladi va 0,5 ml 2,4-dinitrofenilgidrozin solinadi. 20 daqiqa o'tgach, 0,4 n natriy gidroksid eritmasidan 5,0 ml solinadi va xona haroratida qoldiriladi. Aminotransferaza faolligini aniqlash uchun o'lchov egri chizig'i chiziladi.

78-jadval

Probirkalar	Natriy piruvat, doimiy eritma			Distillangan suv, ml	1 ml qon zardobini 1 soat 37°C da saqlanganda hosil bo'lgan pirouzum kislota miqdori	
	ml	Pirouzum kislota miqdori			AsAT	AIAT
		mkg	mkmol			
1	0,05	4,4	0,05	0,55	0,5	1,0
2	0,10	8,8	0,10	0,50	1,0	2,0
3	0,15	13,2	0,15	0,45	1,5	3,0
4	0,20	17,7	0,20	0,40	2,0	4,0
5	0,25	22,0	0,25	0,35	2,5	5,0
6	0,30	26,4	0,30	0,30	3,0	6,0

10 daqiqa o'tgach, probirkadagi eritmalar yashil nur filtrida (530 nm) 10 mm qalinlikdagi kuvetalarda tekshiruv eritmasi qarshisida fotometrlanadi. Tekshiruv probirkaga pirouzum eritmasi o'rniga suv

quyiladi. O'lov egri chizig'ini chizishda ordinata o'qiga topilgan opit zichliklar va absissa o'qiga unga mos bo'lgan pirouzum kislotaning mkg yoki mkmoldagi miqdori qo'yiladi (bu holda olingan natijalar 10 ga ko'paytiriladi).

2. AsAT faolligini aniqlash (KF 2,6, 1,2). Ikki probirkaga (tekshiruv va nazorat) 0,5 ml dan substrat aralashmasi (alanin va alfa-KGK) solib, ularni 37°C li suv hammomiga 5 daqiqaga qo'yiladi. So'ngra tekshiruv probirkasiga 0,1 ml qon zardobi, nazorat probirkasiga esa 0,1 ml suv va 0,5 ml 2,4-DFG solinadi. Probirkalar 37°C li termostatga 30 daqiqaga qo'yiladi.

Probirkalar termostatdan olinadi va tekshiruv tajribaga 0,5 ml 2,4-DFG eritmasi solinadi. So'ngra 0,4 n natriy gidroksid eritmasidan 5 ml dan har qaysi probirkaga solinib, yaxshilab aralashiriladi va xona haroratida 10 daqiqa saqlanadi. Shundan so'ng eritmalar yuqoridagi kabi fotometrlanadi. Ferment faolligini hisoblashdan hosil bo'lgan pirouzum kislotani mikromolda ifodalash uchun AsAT faolligini topish formulasidan foydalaniladi. Fermentning ta'sir birligi tajriba o'tkazilgan sharoitda bir mkg pirouzum kislotaga hosil qilish faolligiga to'g'ri keladi. Ushbu usul bilan aniqlangan sog'lom odam qon zardobining AlAT faolligi 5-30 TB ga teng.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosi, olingan natijalarni yozib, xulosa chiqaring.

133-ish. QON ZARDOBI ISHQORIY FOSFATAZASI FAOLLIGINI BESIYA VA LOURI USULI BILAN ANIQLASH

Ishqoriy fosfataza (fosfomonoesteraza) mavjud efilardan fosfat kislotaga ajralishini katalizlaydi.

Ushbu ferment optimal 8,6-10,1 pH da yuqori faollikka ega. Ishqoriy fosfataza ko'proq suyak to'qimalarida, ingichka ichak shilliq qavatida, buyrak va jigarda uchraydi.

Qon zardobi ishqoriy fosfatazasi raxit, osteomalatsiya, osteosarkoma (suyak raki), jigar kasalliklarida (mexanik sariqlik, biliar sirroz) yuqori faolligining ortish jigarning xavfli o'smasi borligini ko'rsatadi. Gepatitda esa bu ferment uncha faol bo'lmaydi.

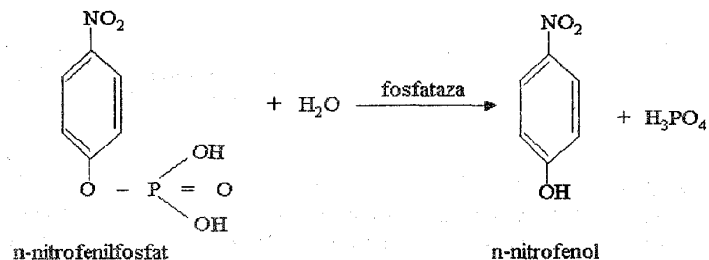
Usulning asosi. Laboratoriyada ishqoriy fosfataza faolligini aniqlashda turli substratlar: beta-glitserofosfat, beta-naftilfosfat,

n-nitrofenilfosfat, adenozinmonofosfat va h.k ishlatiladi. Ular n-nitrofosfatni boshqa substratlarga nisbatan 3 marta terzoq parchalaydi, shuning uchun laboratoriyalarda ko'proq ishlatiladi.

Ishqoriy fosfataza faolligi birligi qilib, ferment ta'sirida n-nitrofenilfosfatning parchalanishidan hosil bo'lgan n-nitrofenol olinadi.

n-nitrofenol ishqoriy sharoitda sariq rangga kiradi. Shu rangning och-to'qligi kolorimetrdan o'lchanadi.

Kimyoviy reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: qon zardobi (gemolizlanmagan bo'lishi kerak, sulfanilamid va antibiotiklar bilan davolanish ferment faolligini o'lchashga xalaqit beradi).

Reaktivlar: n-nitrofenilfosfatning natriyli tuzi; 0,001 mol/l xlorid kislotadagi 0,4% li eritmasi, glitsin buferi: 0,05 mol/l (10 mg/dl) xlorid magniy katalizatorini tutuvchi eritma; 10,5 pH li substrat-buferi eritmasi I va II eritmalarini barobar miqdorda aralashtirish yo'li bilan tayyorlanadi. 0,02 m/l natriy gidroksid eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, termostat, FEK, 10 mm qalinlikdagi kuvetalar, muz hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Bitta tekshiruv, bitta nazorat tajriba probirkasiga substrat-bufer eritmasidan bir ml solinadi va 5 daqiqa 37°C li termostatga qo'yiladi. So'ngra tekshiruv probirkasiga 0,1 ml gemolizlanmagan qon zardobi solinadi va yaxshilab chayqatiladi. Probirkalar 37°C li termostatda 30 daqiqa saqlanadi, keyin ular muz hammomiga o'tkaziladi. Sovitilgan nazorat probirkaga 0,1 ml qon zardobi solinadi va ikkala probirkaga 10 ml natriy gidroksid eritmasi qo'yiladi.

2. 5 daqiqa o'tgach, probirkadagi bo'yalgan eritmalar binafsha nur filtrida (400-420 to'liqin uzunlikda) FEK da ko'riladi.

3. Ferment faolligi tayyor o'lov egri chizig'i (grafigi)ga asosan hisoblanadi. Ferment faolligi bir ml qon zardobini 37°C da bir soat davomida saqlanishi natijasida hosil bo'lgan nitrofenolning mikromolida ifodalanadi (Besiya-Louri-Brok birligi). Sog'lom odam qon zardobining ishqoriy fosfataza faolligi 1,0-4,0 mkmol (ml x soat) ga teng. Ushbu ferment faolligi 16,7 mE (xalqaro birlik) ga to'g'ri keladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosini, tarjiba (reaksiyasini) sxemasini hisoblashni va uning amaliy ahamiyatini yozing.

134-ish. QON ZARDOBIDAGI XOLINESTERAZA FAOLLIGINI KOLORIMETRIK USUL BILAN ANIQLASH

Odam organizmida ikki xil xolinesteraza tafovut qilinadi:

1. Atsetilxolinesteraza (AXE), ko'pincha miya, eritrotsitlar, mushak, nervlarda uchraydi. Ushbu ferment atsetilxolinin xolin va sirka kislotaga suv ishtirokida parchalanishini katalizlaydi.

2. Xolinesteraza (XE) asosan jigarda, me'da osti bezida, qon plazmasida uchraydi. Ushbu ferment AXE ga nisbatan keng ko'lamdagi substratlarga ta'sir qiladi, ya'ni u atsetilxolin va xolinning boshqa efilari parchalanishini katalizlaydi.

Amaliy-tashxisiy izlanishlarda zardobning atsetilxolinesterazasi aniqlanadi. Zardob xolinesterazasi yuqori molekullari glikoprotein tuzilishiga ega. Qonda u albumin fraksiyalari bilan bog'langan holda uchraydi. Bu fermentning bajaradigan vazifasi to'liq o'rganilmagan. Olimlarning fikricha, XE faolligi qonda himoya vositasi hisoblanadi, chunki bu ferment atsetilxolin ko'payib, qonga turshganda to'qimalarga tarqalishdan saqlaydi. Odatda XE faolligi keng chegaralangan: 160-340 mkmol (ml soat). Ko'pincha kasallik holatlarida XE faolligi pasayadi. Ferment faolligining birmuncha pasayishi gipotireoz, bronxial astma, bo'g'im revmatizmi, miokard infarkti, kuyganda, turli fosfororganik moddalardan zaharlanganda kuzatiladi. Zaxarlanish belgilari paydo bo'lishidan bir oz oldin XE faolligi susayganligini ko'rish mumkin.

Usulning asosi. Atsetilxolin xloridni zardob xolinesterazasi katalizlaydigan ferment ishtirokidagi reaksiyada hosil bo'lgan sirka kislotasi miqdorini aniqlashdan iborat. Sirka kislotasi inkubatsion

aralashma pH ini o'zgartiradi va bu o'zgarish indikator yordamida aniqlanadi. Miqdori kolorimetrik usul bilan o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi (gemolizlanmagan bo'lishi kerak, sulfanilamid va antibiotiklar bilan davolanish ferment faolligini o'lchashga xalaqit beradi).

Reaktivlar: n-nitrofenilfosfatning natriyli tuzi; 0,001 mol/l xlorid kislotadagi 0,4% li eritmasi, gliksin buferi: 0,05 mol/l (10 mg/dl) xlorid magniy katalizatorini tutuvchi eritma; 10,5 pH li substrat-bufer eritmasi (I va II eritmalarni barobar miqdorda aralashtirish yo'li bilan tayyorlanadi) 0,02 m/l natriy gidroksid eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, pipetkalar, termostat, EfK, 10 mm qalinlikdagi kuvetalar, muz hammomi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Bitta tekshiruv, bitta nazorat tajriba probirkasiga substrat-bufer eritmasidan bir ml solinadi va 5 daqiqa 37°C li termostatga qo'yiladi. So'ngra tekshiruv probirkasiga 0,1 ml gemolizlanmagan qon zardobi solinadi va yaxshilab chayqatiladi. Probirkalar 37°C li termostatda 30 daqiqa saqlanadi, keyin ular muz hammomiga o'tkaziladi. Sovitilgan nazorat probirkaga 0,1 ml qon zardobi solinadi va ikkala probirkaga 10 ml natriy gidroksid eritmasi qo'yiladi.

2. 5 daqiqa o'tgach, probirkadagi bo'yalgan eritmalar binafsha nur filtrida (400-420 to'liq uzunlikda) FEK da ko'riladi.

3. Ferment faolligi tayyor o'lov egri chizig'i (grafigi)ga asosan hisoblanadi. Ferment faolligi bir ml qon zardobini 37°C da bir soat davomida saqlanishi natijasida hosil bo'lgan nitrofenolning mikromolida ifodalanadi (Besiya-Louri-Brok birligi). Sog'lom odamda qon zardobining ishqoriy fosfataza faolligi 1,0-4,0 mkmol (ml x soat) ga teng. Ushbu ferment faolligi 16,7 mE (xalqaro birlik) ga to'g'ri keladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosini, tarjiba (reaksiyasini) sxemasini hisoblashni va uning amaliy ahamiyatini yozing.

4. QON ZARDOBI MINERALLARINI ANIQLASH

Organizmida boradigan fiziologik va biokimyoviy jarayonlarda minerallarning ahamiyati katta. O'suvchi organizmida mineral moddalar suyak to'qimalarining takomillashuvida, gemoglobin, gormonlar va fermentlar sintezida muhim ahamiyatga ega.

Yosh ulg'aygan sari mineral moddalarga bo'lgan absolut ehtiyoj ortib boradi, nisbiy ehtiyoj esa kamayadi (tana vaznining bir kg i hisobida).

Ko'krak yoshidagi bolalarda mineral moddalarga bo'lgan ehtiyoj orqali ta'minlanadi. Ammo bir necha oydan so'ng o'suvchi organizmga qo'shimcha kalsiy, fosfor, kaliy kabi moddalarni ovqat bilan kiritish ehtiyoji tug'iladi. Bola organizmida kalsiyning 97% i suyak to'qimasi bilan oqlangan holda va faqat 3%i erkin holda to'qima, qonda uchraydi. Yosh bolalarning kalsiyga bo'lgan kundalik ehtiyoji 0,15-0,18 g ni tashkil etadi. Uning ko'payishi maktab yoshiga yetganda 1,0 g ga yetadi. Bola bir yoshga yetguncha uning kalsiyga bo'lgan ehtiyoji 2-3 yasharliligiga nisbatan 8-13 marta ortiq bo'ladi. Kalsiy to'qimalarning o'sishi, nerv sistemasining tarangligi ushlab turilishida, qon ivishida, fermentlar faolligini aniqlashda juda zarur. Kalsiy almashinuvu fosfat almashinuvu bilan chambarchas bog'liq. Kalsiy va fosfor nisbati 1:1,5 bo'lganda, ular ichakda yaxshi so'riladi. Fosfor skeletning tuzilishi, makroergik birikmalar, nuklein kislota, murakkab oqsillar, fosfatidlar hosil bo'lishi va kislota-ishqor muvozanatini saqlashda zarur vosita.

Vitamin D yetishmaganda raxit kasalligi rivojlanadi. Bu kasallik kalsiy va fosfor almashinuvining buzilishi bilan ifodalanadi. Shu tufayli raxitda suyak to'qimasining rivojlanishi buziladi. Shuningdek, organizmning temir bilan ta'minlanishi katta ahamiyatga ega. Temir globin va oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarida ishtirok etuvchi fermentlar tarkibiga kiradi. Temir yetishmovchiligi alimentar kamqonlik kasalligini yuzaga keltiradi.

Mineral moddalarning yoshga qarab o'zgarishi va unga bo'lgan ehtiyoj jadvalda keltirilgan.

79- jadval

Ovqatlanirish	Mineral moddalar		
	Kiritilgan/g	g	%
Tabiiy ovqatlanirish	1,07-1,52	0,37-0,70	33-48
Sun'iy ovqatlanirish	2,46-5,80	0,80-3,80	24-65
Aralash ovqatlanirish	2,33-3,90	1,12-1,30	33-48

Qon zardobi tarkibidagi ayrim mineral moddalar (elementlar)ni aniqlash kasallikning rivojlanish mexanizmini aniqlash, uning oldini olish, davolash uchun ko'rsatkich bo'la oladi.

80-jadval

Odam organizmining ayrim minerallarga bo'lgan ehtiyoji, mg

Yoshi	Kalsiy	Fosfor	Magniy
Bolalar			
1 yosh	1000	1500	-
1-3	1000	1500	140
4-6	1000	1500	220
7-10	1200	2000	360
11-13	1500	2500	400
14-17	1400	2000	530
Emizadigan ayollar	800	1600	500
Homilador ayollar	1500	3000	925

Ona suti bilan organizmga tushadigan minerallar bu kattalikka kirmaydi.

81-jadval

Bolalar qoni tarkibidagi mineral moddalar

Mineral moddalar	Yoshi	Miqdori	
		mg/l	mmol/l
Umumiy (natriy, kaliy, kalsiy, magniy)			150-155
Natriy	2 oy - 14	315-330	137-143
Kaliy	2 oy - 6	16,0-21,5	4,1-5,5
	7-14	14,0-21,0	3,5-5,3
Ionlangan kalsiy	14	10,5-11,5	2,6-2,8
	1-14	5,0-5,5	1,2-1,4
Qon zardobi eritrotsitlari	1-9	2,16	0,9
Magniy	1-9	2,0-4,0	0,5-1,0
Anorganik fosfor	1-14	2,0-5,0	0,6-1,6
Neytral olingugurt	0,14	1,7-3,5	0,5-1,0
Anorganik sulfatlar	0,14	2,5-5,0	0,3-0,5
Xlor	0,14	340-380	97-108

Turli yoshdagi odam qon zardobidagi temir miqdori

Bolaning yoshi	O'rtacha temir miqori (mkg/l)
Kindik qonida	1780
15-30 kunlik chaqaloqda	1230
1-3 oylikda	760
4-12 oylikda	730
13-18 oylikda	1110
2-6 yoshda	1120
7-13 yoshda	1140
Erkaklarda	1200
Ayollarda	800

135-ish. QON ZARDOBI TARKIBIDAGI KALSIYNI MOYDIN VA ZAKA USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Organik birikmalar – komplekslar – kalsiy ionini bilan o'zaro ta'sirlanishidan iborat. Komplekslar sifatida trilon B (EDTA yoki etilendiamintetraatsetat) ishlatiladi. Indikator mureksidning taxminan bog'langan kalsiy ionini trilon B bilan titrlanadi. Kalsiy ionini bilan trilon B ning to'liq bog'langan vaqti mureksid rangi o'zgarishidan bilinadi (kalsiy ionini bilan mureksid hosil qilgan kompleks pushti-qizg'ish rangga kiradi, kalsiydan bo'shalgan mureksid esa binafsha-ko'k rang beradi).

Kalsiy trilon B bilan hosil qilgan kompleksi mureksid kompleksiga nisbatan mustahkamroq bo'ladi. Titrlashga ketgan trilon B ning hajmi va miqdorini bilgan holda kalsiy miqdori topiladi. Me'yordagi qon zardobida kalsiy miqdori 9-11 mg/dl (2,25-2,64 mmol/l) ni tashkil qiladi).

Gipokalsiemiya holati D avitaminozida (raxit kasalligida) homilador ayollarda, qalqonsimon oldi bezi faoliyati susayganda, buyrak kasalliklarida, floridlar bilan zaharlanganda kuzatiladi. Giperkalsiemiya (giperparatireoidizm – qalqonsimon oldi bez faoliyati kuchayib ketganda, o'simtalar, suyak to'qimalari tuzilishining o'zgarishi, leykozlarda uchraydi).

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: 86% li natriy gidroksid eritmasi, 0,1 mol/l trilon B eritmasi, indikator (mureksidning natriy xlorid bilan 1:100 dagi aralashmasi).

Kerakli anjomlar: 100 ml li kolbalar, o'lchov silindrlari, 100 ml li Xagedorn probirkalari, makro- va mikro-buretalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Guruhdagi barcha talabalar uchun mureksid eritmasi tayyorlanadi. Buning uchun kolbaga 0,8 ml natriy gidroksid eritmasi va 100 ml suv solib aralastiriladi. Olingan eritmaga tiniq binafsha rang hosil bo'lguncha mureksid aralashmasi solinadi. Shu eritma bilan makroburetalar to'ldiriladi.

2. Mikroburetka trilon B eritmasi bilan to'ldiriladi.

3. Ikkita keng Xagedorn probirkasiga (tekshirish va nazorat uchun) 5 ml mureksid eritmasi quyiladi. Tekshirish uchun 0,2 ml qon zardobi solinadi (eritma pushti tusga kiradi). Makroburetkaardagi trilon B eritmasi (bilan tezda) pushti rangdan binafsha rang hosil bo'lguncha titrlanadi (titrlanish tabiiy nurda o'tkazilgani ma'qul), rang nazorat eritma bilan solishtiriladi.

Hisoblash. Bir ml 0,1 mol/l trilon B eritmasi 0,12 mg kalsiyga (ekivalent) to'g'ri kelishidan hisoblanadi. Qon zardobidagi kalsiy miqdori mg/dl da ifodalanadi.

$$X = y \cdot 0,12 \cdot 100$$

y – tekshiruvni titrlash uchun ketgan trilon B hajmi, ml.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftarga usulning asosi, titrlashga sarf bo'lgan trilon B hajmi, hisoblash va xulosasi yoziladi.

136-ish. QON ZARDOBIDAGI TEMIR MIQDORINI ANIQLASH

Usulning asosi. Qon zardobi mineralizatsiyalanganidan so'ng organik birikmalardan ajralgan temir kalii tiotsionidi bilan nordon muhitda pushti-qizil rangli birikma hosil qiladi. Rangli eritma kolorimetrlanadi. Sog'lom odam qon zardobi 80-160 mg/dl temir tutadi.

Pernitsioz kamqonlikda qon plazmasida temir miqdori ortadi. Gipoxrom kamqonlikda esa kamayadi.

Tekshiriluvchi material: qon zardobi.

Reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislota, perxlorat kislota eritmasi, 8% li kaliy peroksodi sulfatning to'yingan eritmasi (cho'kma ustidagi eritma ishlatiladi), 25% li natriy tiotsionat eritmasi, amil spirti.

Kerakli anjomlar: yuqori haroratga chidamli probirkalar, pipetkalar, FEK, bir sm qalinlikdagi kuveta.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Tekshiruv tajriba va doimiy eritma uchun ikkita haroratga chidamli probirka tayyorlanadi. Tekshirishga 0,5 ml zardob va 0,4 ml konsentrlangan sulfat kislota solinadi. Ikkinchi probirkaga esa 0,5 ml distillangan suv va 0,5 ml temirning doimiy eritmasi solinadi.

2. Ikkala probirka o'rtacha issiqlikda qizdirilgan qum hammomiga joylashtirilib, bug' chiqishi tugaguncha (taxminan 10-15 daqiqa) mineral holatga o'tkaziladi. So'ngra probirkalarga 0,5 ml perxlorat kislota solinib, eritma tiniqlanguncha qizdirish davom ettiriladi.

3. Shundan so'ng ikkala probirkaga 0,5 ml dan distillangan suv va 0,2 ml kaliy tiosulfat eritmasi solinadi (bunda Fe^{2+} Fe^{3+} ga aylanadi) va xona haroratigacha sovitiladi. Sovitilgan probirkalarga bir ml 25% li natriy tiosulfat eritmasi solib yaxshilab aralashtiriladi.

4. Ikkala probirkaga 3 ml dan tamil spirti quyilib, aralashtiriladi. Bo'yalgan yuqori qavatdagi eritma ko'k nur filtri (490-520 nm) da FEK da kolorimetrlanadi. Doimiy eritma bir MGK temir tutishi sababli tekshiruv tajribadagi temir miqdori hisoblanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftarga usulning asosi, hisobi, xulosa yoziladi.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Qonning ahamiyati va bajaradigan vazifalari nimadan iborat?
2. Qon plazmasi, zardobi qanday olinadi?
3. Qon tarkibi, organik va anorganik birikmalarni ayting.
4. Qon oqsillari, ularning vazifalari, organizmdagi o'rtacha miqdori, kasalliklarda o'zgarishi qanday usullar yordamida aniqlanadi?
5. Elektroforez usuli nimaga asoslangan. Bu usul yordamida qonning qanday oqsil fraksiyalari aniqlanadi? Aniqlash sabablari.

6. Qon tarkibidagi fermentlar. Indikator fermentlar nima? Ularning miqdorini o'lchashdan maqsad nima? Qo'llaniladigan usullarda ularning ahamiyati qanday?
7. Qonning «Azot qoldiqlari» ga qanday birikmalar kiritiladi? Qanday holatlarda ularning miqdori ortadi? Ularni aniqlashning ahamiyati.
8. Bilirubin nima? Uning zaharsizlantirilishi va organizmdan chiqarish yo'llarini ayting. Erkin va bog'langan bilirubin qanday farqlanadi? Qanday kasalliklarda ularning miqdori ortadi? Qaysi usul bilan ularni aniqlash mumkin?
9. Qon zardobi minerallari, ularning ahamiyati, kasalliklarda o'zgarishi, ularni aniqlash usullarining asosi va qo'llanilishi.
10. Gemoglobin spektral analizining qo'llanilishi. Gemoglobin miqdorining turli holatlarda o'zgarishi, gemoglobinning turlari.
11. Bemor qonining analizi, qonning solishtirma og'irligi 1,052, plazmasi 1,022 va qon plazmasi oqsili 5,2% ekanligini ko'rsatdi. Shu ko'rsatkichlarga ko'ra gemoglobin miqdorini aniqlash mumkinmi? Shu natijalardan foydalanib davolash usulini tuzish mumkinmi?
12. Bemor qonining miqdori kamaygan. Kasallikni aniqlashda bu natijalarga asoslanish mumkinmi? Shu ko'rsatkichdan foydalanib to'ldiruvchi davo sxemasi tuzish mumkinmi?
13. Bemor qonining gemoglobini kamaygan. Unga o'roqsimon hujayrali kamqonlik deb tashxis qo'yish mumkinmi?
14. Bola tug'ilganidan 5-10 kun o'tgach, sarg'ayib ketgan. Buning sababi nima? Bola sariq kasali bilan og'ridi, deyish mumkinmi? Buni qanday yo'l bilan tasdiqlash mumkin?
15. Bemor sariq kasalligi bilan og'rigan. Sariq kasalligini biokimyoviy yo'l bilan aniqlash usuli qanday? Bu kasallikning kelib chiqishi, biokimyoviy mexanizmi qanday?
16. Kasalxonalaridagi biokimyoviy laboratoriyalarda bemor qon zardobi oqsillarini elektroforezda harakatlanishi o'rganiladi. Nima uchun? Uning mohiyati nimada?
17. Bemorning qon zardobida α -globulin miqdori keskin kamayganligi aniqlanadi. U qanday kasallik bilan kasallangan deyish mumkin? Bu holni tuzatish mumkinmi?
18. Faol revmatizm tashxisi bilan bemor shifoxonaga tushdi. Qon zardobining qanday oqsil fraksiyalari o'zgaradi?

SIYDIK BIOKIMYOSI

19. Bemorning oyoqlari sezilarli darajada shishgan. Bemor qon zardobidagi oqsillarning qaysi biri o'zgargan? Bunday bemorga albumin quyish mumkinmi?
20. Bemorning qonida azot qoldiqlari 0,8 g/l ni tashkil qiladi. Shu ko'rsatkichga asosan bemorning buyragi kasallangan deyish mumkinmi? Javobingizni izohlab bering.
21. Ichki kasalliklar bo'limiga tushgan bemorning buyragi holatini bilish zarurati tug'ildi. Ammo laboratoriyada azot qoldiqlarini aniqlashga imkon yo'q. Bunday vaziyatdan chiqish uchun qanday ko'rsatkichdan foydalanish mumkin?
22. Dizentiriya bilan og'rikan bemor shifoxonada davolanayapti. Bemorning tez-tez qusayotgani va ichi ketayotganini hisobga olgan shifokor qon zardobidagi qanday ko'rsatkichlarni aniqlamog'i kerak? Nima uchun?
23. Shifokor oldiga kelgan bemor kundan-kunga kuchsizlanayotgani, ko'ngli ayniyotgani, bosh og'rig'i bezovta qilayotganini aytadi. Qanday kasallik boshlanayotganligini shifokor qaysi yo'l bilan bilishi mumkin? U qanday ko'rsatkichlardan foydalanishi mumkin?
24. Bemorning qon zardobida alaninaminotransferaza fermenti faolligi 3,2 mkmol/soat ml bo'ldi. Shu ko'rsatkichdan shifokor qanday xulosa chiqarishi mumkin?
25. Bemor yuragi sanchib og'riyotgani va og'riq yelka tomonga ham tarqalayotganini shifokorga aytdi. Shifokor elektrokardiogramma qildirmay, bemorning qon zardobi aspartataminotransferazasini aniqlash uchun bioximiya laboratoriyasiga yubordi. Shifokor to'g'ri yo'l tutdimi? Javobingizni tushuntirib bering.
26. Bemorning qon zardobida laktatdegidrogenazaning birlamchi va ikkilamchi shakli yuqori darajada olinganligi ma'lum bo'ldi. Bu ko'rsatkich orqali qaysi a'zo kasallangan va u qanday kasallik ekanini bilish mumkinmi? Shu fermentning 4-5-izoshakli ortgan bo'lsa-chi?
27. Bolaning tishi chiqishi kechikkanligi, tana rivojlanishdan orqada qolgani – vazni kamayganini shifokor qanday biokimyoviy usul bilan aniqlamog'i va yuqoridagi holatlarni yo'qotish uchun qanday davolash rejasini qo'llashi mumkin?

Siydik buyrak mahsulidir. Buyrakning bajaradigan vazifasi xilma-xil bo'lib, shulardan asosiy moddalar almashinuvi jarayonining oxiri mahsulotlarini tashqariga chiqarish va qonning doimiy tarkibini saqlashdan iborat. Bir sutka davomida buyrak orqali 1000 l qon o'tqazilib, 180 l birlamchi siydik hosil bo'ladi. Buyrak filtrlangan siydikning faqat bir foizigina haqiqiy siydikka aylanadi, qolgan suyuqlik esa unda erigan moddalar bilan birga buyrakning proksimal naychalari orqali qaytadan so'riladi (reabsorbsiya). Bir kechakunduzda ayollar o'rtacha 1200 ml va erkaklar 1500 ml siydik ajratadi. Bir kunlik siydik miqdori bolalarda yoshiga qarab o'zgaradi.

83-jadval

Tana vazniga nisbatan bir kunda oshiriladigan siydik miqdori, ml

Yoshi	Tananing o'rtacha vazni	Bir kechakunduzda ajralgan siydik, ml	Bir kechakunduzda vaznga nisbatan ajralgan sutkalik siydik, ml
1 kunlik	3,0	21,0	7,0
1 xaftalik	3,0	235,0	76,0
1 oylik	4,0	320,0	80,0
1-2 yashar	10,0	450,0	45,0
2-5	13,0	520,0	40,0
5-8	19,0	684,0	36,0
8-11	25,0	850,0	34,0
11-15	37,0	1073,0	29,0
15-18	52,0	1144,0	22,0
kattalarda	65,0	1200,0	18,5

Jadvaldan ko'rinib turibdiki, bola hayotining birinchi kuni bir kg tana vazniga 7 ml siydik to'g'ri kelsa, u keyinchalik bir necha barobar ortadi. Bola hayotining dastlabki kunlarida siydik miqdori ajralishining ortishi (poliuriya) ko'pincha ko'p miqdorda suyuqlik ichishga bog'liq. Poliuriya shishlarning so'rilishi va isitmalashdan keyingi tuzalish davrida ham kuzatiladi.

Bir kunda ajraladigan siydik miqdorining kamayishi bola hayotining dastlabki davrida organizmga kam miqdorda suyuqlik tushganda, ich ketganda, qusish, zaharlanishda kuzatiladi.

Siydik hosil bo'lishi va ajralishi ko'pincha markaziy nerv sistemasi, miya po'stlog'i va impulslari tomonidan yoki gipofiz gormonlari orqali boshqariladi. Gipofiz bezining orqa bo'lagidan ajraladigan ADG (antidiuretik gormon) yoki vazopressin siydik ajralashini susaytiradi.

Bir kunlik siydik tarkibida o'rta 40 g organik va taxminan 20 g noorganik modda bo'ladi. Siydikdagi mineral moddalar miqdori iste'mol qilingan ozuqalarga bog'liq. Siydik orqali 150 ga yaqin turli mahsulotlar ajraladi. Masalan, gormonlarning parchalanishidan hosil bo'lgan juft sulfat yoki juvt glukuron kislotalar, dorivor birikmalar, vitaminlar va boshqalar.

Siydik organizmdan vaqti-vaqti bilan ajraladi va bir kunda ajralgan siydik proporsiyalarining kimyoviy tarkibi, nisbiy zichligi va kislotaliligi turlicha bo'ladi. Shu tufayli siydikning miqdoriy analizi uchun muayyan vaqtlarda ajralgan odatdagi sutkalik siydik olinadi. Tez parchalanadigan moddalarni (askorbin kislota, atsetosirka kislota, diastazda) aniqlash uchun yangi siydik ishlatiladi.

Odatda siydik sog'lom va patologik bo'lishi mumkin. Siydikni analiz qilishda uning fizik-kimyoviy xossalari: nisbiy zichligi, rangi, hidi, bir kunlik miqdori, kislotaliligi hamda organik va anorganik tarkibiy qismlar o'rganiladi.

Ajraladigan siydik miqdori kamaygan (oliguriya), ko'paygan (poliuriya), butunlay to'xtagan (anuriya) bo'lishi mumkin.

Siydikning rangi odatda turlicha bo'ladi: sariq, och sariq, qizg'ish-sariq. Buning tarkibidagi pigmentlar miqdoriga bog'liq. Uroxrom pigmenti (to'q sariq rangli), urobilin (och pushti), uroeritrin (qizg'ish) ranglarni beradi. Ovqat orqali tushadigan ayrim mahsulotlar (lavlagi), turli dorivorlar (amidopirin) siydikni pushti-qizg'ish tusga kirgizadi.

Qon pigmentlari siydik rangini pushti yoki jigar ranggacha, o't pigmentlari yashil yoki sariq-jigar ranggacha o'zgartiradi, siydikda yiring paydo bo'lishi natijasida u turlanadi, alkaptanuriya – nasil kasalligida siydik qorayadi. Bu siydikni ishqoriy muhitga o'tishi va gomogentizin kislotaning almashinuv mahsuloti bo'lgan melanin kabi to'q bo'lishi pigmentlarning paydo bo'lishiga bog'liq. Qon, yiring, oqsil siydikning tiniqligi o'zgarishiga, uning loyqalanishiga olib keladi va buyrak hamda siydik yo'llarida patologik o'zgarish borligidan dalolat beradi.

Yangi siydik kuchsiz xushbo'y hidga ega. Turib qolgan siydikda yoqimsiz o'tkir ammiak hidi bo'ladi. Ko'pchilik kasalliklarda siydikning sifat va miqdor tarkibi o'zgarishi kuzatiladi. Siydik tarkibini va miqdorini bilish kasalliklarni aniqlashda muhim ahamiyat kasb etadi.

Bo'limning maqsadi:

1. Siydikning fizik-kimyoviy xossalari va tarkibini o'lchash usullari bilan tanishtirish. Olingan natijalar bilan kasalliklarni aniqlashda qo'llashni o'rganish.
2. Siydikning patologik tarkibini topish va aniqlash usullari bilan tanishtirish. Muayyan modda almashinuv jarayonlari buzilishida siydikda turli patologik mahsulotlar paydo bo'lishini izohlashni o'rganish.
3. Shu bo'lim o'rganilgandan so'ng siydikning klinik analizini o'tkaza olish.

1. SIYDIKNING FIZIK-KIMYOVIY XOSSALARI

137-ish. SIYDIKNING NISBIY ZICHLIGINI ANIQLASH

Siydikning nisbiy zichligi unda erigan moddalarning miqdoriga va ajralayotgan siydik miqdoriga uzviy bog'liq.

Organizmga kiritilgan va undan chiqarilgan axlat, teri orqali ajralgan ter (suyuqlik) miqdoriga qarab siydikning nisbiy zichligi o'zgaradi. Odatda siydik qancha ko'p ajralsa, uning nisbiy zichligi shuncha kamayadi. Sog'lom odam siydigining 15°C da o'lchangan nisbiy zichligi 1,010-1,025 kg/l gacha bo'lib, odatda 1,017-1,020 kg/l ni tashkil qiladi.

Bola hayotining dastlabki kunlarida siydikning nisbiy zichligi kattalarnikiga nisbatan ancha kichik bo'ladi, chunki ularning tarkibida qattiq moddalar kam (1,002-1,020 kg/l). Uch yashar bola siydigining nisbiy zichligi 1,020 kg/l dan oshmaydi. Sekin-asta bu ko'rsatkich kattalarnikiga yaqinlashadi.

Qandli diabet bilan og'rikan bemor siydigining nisbiy zichligi ajralgan siydik miqdoriga to'g'ri kelmaydi. Bu kasallikda siydik miqdori bir necha bor oshganligiga qaramay uning nisbiy zichligi yuqori darajada bo'ladi.

Qandsiz diabet kasalligida siydikning nisbiy zichligi keskin kamayadi. Isitmalash holatlarida, umumiy venoz turg'unlikda siydik kam ajraladi, uning nisbiy zichligi yuqori bo'ladi. Ko'pchilik patologik holatlarda siydikning nisbiy zichligini o'lchash katta amaliy ahamiyatga ega.

Siydikning nisbiy zichligi maxsus kichik urometrlarda o'lchanadi. Urometrlar ikki xil bo'ladi: birinchisi – normal va past nisbiy zichlikni o'lchash uchun (1,000-1,030 gacha bo'lmalarga bo'lingan), ikkinchisi – yuqori zichlikka ega bo'lgan siydikni o'lchash uchun (1,030-1,060 gacha) mo'ljallangan.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Kerakli anjomlar: 1. 50,100 ml li silindrlar. 2. Urometrlar: a) 1,000 dan 1,030 gacha bo'limli; b) 1,030 dan 1,060 gacha bo'limli. 3. Termometr. 4. Siydik uchun stakan. 5. Filtr qog'ozi.

Bajariladigan ish tartibi. Urometr bilan suzib yura oladigan silindrga asta-sekin stakan devori bo'ylab siydik solinadi.

Ko'pik hosil bo'lmasligi kerak. Ko'pik hosil bo'lsa, u filtr qog'oz yordamida olinadi. Siydik solingan silindrga asta urometr tushiriladi. Urometrdan aniqlangan chiziqqa (suyuqlikning pastki chegarasiga qarab) binoan o'lchov ko'rsatkichi yozib olinadi. Agar nisbiy zichlik yuqori bo'lsa, 1,030-1,060 li urometr ishlatiladi. Urometr ko'rsatkichlari 15°C da o'lchanganligi uchun barcha aniqlashlar shu haroratda o'tkaziladi. Siydik harorati o'zgacha bo'lsa, uning 15°C dan oshgan har qaysi 3°C ga 0,001 sonini qo'shish, shu haroratdan past bo'lsa, 0,001 ni urometr ko'rsatkichlaridan olib tashlash kerak.

138-ish. SIYDIKNING KISLOTALILIGINI (pH) ANIQLASH

Siydikning kislotalilik sig'imi iste'mol qilingan oziq-ovqat mahsulotlari turiga bog'liq. O'rtacha ovqatlanadigan odamning siydigi kislotalik yoki neytral muhitga (pH i 5-7) ega. Ovqatlanganda go'sht mahsulotlarini ko'proq iste'mol qilish siydik muhitni kislota tomonga, o'simlik mahsulotlarini iste'mol qilish esa ishqoriy tomonga siljitadi.

Yangi tug'ilgan chaqaloq siydigining pH muhiti 5,4-5,9 ga teng. Kattalarga nisbatan siydik muhitining kislota tomon surilishi chaqaloq

buyragining takomillashmaganligidir. Hayotining ikkinchi, to'rtinchi kundan boshlab siydik pH i ortib boradi va ona suti bilan oziqlanish davrida 6,9-7,8 ga yetadi. Emizikli bola siydigining kuchsiz ishqoriy muhiti ona suti bilan ishqoriy moddalar kirayotganligini ko'rsatadi. Bola aralash ovqatlanishga o'tkazilganda siydik muhiti kattalarnikiga yaqinlashadi. Sun'iy ovqatlanadigan bola siydigining muhiti birmuncha kislotali bo'lib, u 5,4-6,9 ga teng bo'ladi.

Chala tug'ilganlarning siydik muhiti kislota tomonga siljigan (pH i 4,8-5,4) bo'ladi.

Siydik muhiti turli kasalliklarda o'zgarishi mumkin. Masalan, qandli diabet, podagra da u kislota tomonga siljiydi. Siydik pufagining yallig'lanishi natijasida muhit ishqoriy tomonga suriladi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Buyum oynasiga ko'k va qizil lakmus qog'oz qo'yiladi. Uning ustiga shisha tayoqcha bilan kichik tomchi siydik tomiziladi. Rang o'zgarishi kuzatiladi.

2. «Rifan» indikator qog'oziga yuqoridagidek siydik tomiziladi. Rang o'zgarishi tekshiruv indikator qog'oz kesimlari bilan solishtiriladi va siydik pH i aniqlanadi.

Shuningdek, siydikning tiniqligi, rangi, hidi e'tiborga olinadi. Olingan natijalar jadvalda yozib rasmiylashtiriladi. Siydikning fizik-kimyoviy ko'rsatkichlari yoziladi va xulosa chiqariladi.

84-jadval

Yoshi	Siydikning bir kunlik miqdori, ml	Siydikning solishtirma og'irligi	Siydikning tiniqligi	Siydikning hidi	Siydikning rangi	Siydikning muhiti
Erkklarda						
Ayollarda						
1 kunlik bolalarda						
1 haftalik bolalarda						
1 yashar bolalarda						

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Siydikni tekshirishning mohiyati nimadan iborat?
2. Qanday fizik-kimyoviy ko'rsatkichlarni aniqlash kerak? Ularni aniqlash sababini ayting.
3. Oliguriya, poliuriya, anuriyalar nima?

4. *Sog'lom odam siydigining hidi, iste'mol qilingan ovqat mahsulotlariga bog'liqligi qanday va qanday kasallik holatlarida siydikning hidi o'zgaradi?*
5. *Sog'lom odam siydigining muhiti iste'mol qilingan ovqat turiga bog'liqmi? Qanday kasalliklarda siydik muhiti o'zgaradi? Siydik muhitini aniqlash uchun qanday usullardan foydalaniladi?*
6. *Sog'lom odam bir sutkada necha ml siydik ajratadi (erkaklar, ayollar, bolalar)?*
7. *Siydikning solishtirma og'irligi (sog'lom odamda, bolalarda) qanday ko'rsatkichlarga ega. Qanday holatlarda sog'lom ko'rsatkichlar o'zgaradi? Siydikning solishtirma og'irligini qanday usullar bilan aniqlash mumkin?*
8. *Siydik tarkibiga qanday minerallar kiradi; ular qanday holatda bo'ladi?*
9. *Organizmada xloridning ushlanib qolish sabablari qanday? Xloridlarni aniqlash usulining asosi nimada?*
10. *Qanday holatlarda siydikda fosfat ajralish (buzilishi) o'zgaradi? Fosfatlar qanday usul bilan aniqlanadi?*
11. *Siydik tarkibidagi kalsiy va magniy ionlarini aniqlash usuli qanday? Qaysi kasalliklarda ularning o'zgarishi kuzatiladi?*

2. SIYDIK MINERALLARINI ANIQLASH

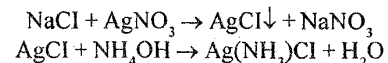
Bir kunlik siydikda 12-25 g mineral modda bo'ladi. Ular anionlardan xlorid, sulfat (digidrofosfat, gidrofosfat) karbonat va kationlardan kaliy, natriy, kalsiy va hokazolar holida bo'ladi. Kalsiy va magniy tuzlari erigan va erimagan holda uchraydi. Siydikdagi fosfor birinchi o'rinni olgan natriy digidrofosfat, natriy gidrofosfat, kalsiy digidrofosfat holida ajratiladi.

Bolalar siydigining mineral tarkibi kattalarnikidan deyarli farq qilmaydi. Ayrim kasalliklarda (harorat ko'tarilganda, rak kasalligida, ozib ketish – kaxeksiya) xloridlarning organizmida ushlanib qolishi va boshqa o'zgarishlar kuzatiladi.

139-ish. XLORIDLARGA SIFAT REAKSIYA

Usulning asosi. Azot kislotasi bilan nordonlashtirilgan siydikka kumush nitrat ta'sir ettirilganda yorug'likda qorayadigan kumush

xlorid cho'kmasi hosil bo'ladi. U ammiakda erib, kompleks birikma hosil qiladi.



Tekshiriluvchi material: siydik

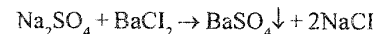
Reaktivlar: 1% li kumush nitrat eritmasi, 10% li nitrat kislotasi eritmasi.

Kerakli anjomlar: tomizgichlar, probirkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Bir ml siydikka 2-5 tomchi 1%li kumush nitrat eritmasi va 2 tomchi 10%li azot kislotasi solinadi. Oq ipir-ipir cho'kma hosil bo'ladi.

140-ish. SIYDIKDAGI SULFAT IONLARINI ANIQLASH

Usulning asosi. Siydik sulfatlarini aniqlash uchun siydikka ozgina vodorod xlorid kislotasi solib nordonlashtiriladi va unga bariy xlorid eritmasi solinadi. Kislotasi va ishqorda erimaydigan bariy sulfat cho'kmasi hosil bo'ladi.



Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: 10% li xlorid kislotasi eritmasi, 5% li bariy xlorid eritmasi.

Kerakli anjomlar: qog'oz filtrlar, suv hammomi, kolbalar.

Bajariladigan ish tartibi. 20 tomchi siydikka 5 tomchi 10% li xlorid kislotasi eritmasi va bariy xloridning 5% li eritmasi tomiziladi. U to'liq cho'kмага tushgach, bariy sulfat filtr qog'ozdan o'tkaziladi.

141-ish. SIYDIK FOSFATLARIGA SIFAT REAKSIYA

Usulning asosi. Molibden reaktiviga (ishlatishdan oldin ozgina qizdirilgan) siydik quyilganda sariq kristall cho'kma-ammoniyning fosfor molibdenli cho'kmasi hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: siydik

Reaktivlar: ammoniy fosfomolibden reaktivi (7,5 g ammoniy molibdat 100 ml suvda eritilib, 100 ml azot kislotadan (solishtirma og'irligi 1,2) qo'shiladi.

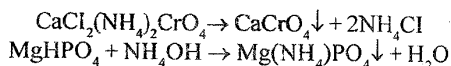
Kerakli anjomlar: probirkalar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. 2-3 tomchi molibden reaktivi qaynaguncha qizdiriladi va unga bir necha tomchi siydik tomiziladi, sariq kristall cho'kma hosil bo'ladi.

142-ish. SIYDIK TARTIBIDAGI MAGNIY VA KALSIYNI SIFAT REAKSIYA BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Siydikka ammoniy oksalat eritmasi ta'sir ettirilganda kalsiy oksalat cho'kmaga tushadi.

Cho'kma filtrlanadi, filtrat ammiak bilan ishqorlanganda yirik cho'kmaning kristall paydo bo'ladi. Bu ammiak magneziumning fosforli birikmasidir.



Tekshiriluvchi material: siydik

Reaktivlar: 5% li ammoniy oksalat eritmasi, 10% li sirka kislotasi eritmasi, 10% li ammiak eritmasi.

Kerakli anjomlar: probirkalar, tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. A) 20 tomchi (1 ml) siydikka 1-2 tomchi 10% li sirka kislotasi eritmasi va 2-3 tomchi 5% li ammoniy oksalat eritmasi solinadi. Kalsiy oksalat cho'kmasi hosil bo'ladi.

B) eritma filtrlanadi. Filtratga 4-5 tomchi 10% li ammiak eritmasi (lakmus bo'yicha ishqoriy muhit hosil bo'lguncha) solinadi. Bir ozdan so'ng ammiak magneziumning fosforli kristallari paydo bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Jadvalga binoan natijalar rasmiylashtiriladi.

85-jadval

Aniqlanayotgan materiallar	Ishlatiladigan reaktivlar	Kuzatilgan hodisalar

3. AZOT ALMASHINUVINING OXIRGI MAHSULOTLARI

Ichakdan so'rilgan aminokislotalar a'zo to'qimalarida turli o'zgarishlarga uchraydi. Ularning bir qismi a'zo va to'qima oqsillarini, ayrim gormonlarni, gem, kreatin va hokazolarni sintezlaydi va uglerod (II) oksidgacha parchalaydi.

Ammiakning asosiy qismi siydikchilga aylanadi, u 85-90% ni tashkil qiladi. Shuni aytish kerakki, siydik tarkibidagi azot birikmalarining absolut miqdori yoshga qarab ko'tariladi (86-jadval).

Bundan tashqari ammiak, ammoniy tuzlari hamda kreatin tarkibida siydik kislotasi indikan holidasi va o'ziga qismi erkin aminokislotalar holidasi siydik bilan tashqariga chiqariladi. Erkin aminokislotalardan tashqari yuqorida aytilgan birikmalarning barchasi organizmda azot almashinuvining oxirgi mahsulotlari hisoblanadi.

86-jadval

Turli yoshdagi odamlarda azot komponentlarining 1 kunlik miqdori

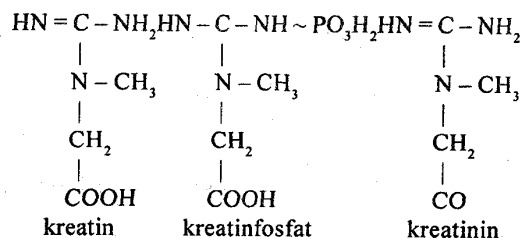
Azot komponentlari	Yangi tug'ilganlarda	1 oylik	1 yashar	4-7 yashar	9-14 yashar	Kattalarda
Umumiy azot	0,3	0,6	0,3	6,0	10,0	10-18
Siydikchil	izlar	1,0	5,0	14,0	20,0	20-35
Siydik kislotasi	0,04	0,1	0,2	0,3	0,6	1,0
Ammiak	izlar	0,1	0,2	0,6	0,6	1,0
Aminokislota	0,01	0,05	0,06	0,08	0,08	0,1
Kreatinin	0,01	0,04	0,08	0,3	0,7	1,5
Kreatin	izlar	0,01	0,05	0,06	0,2	-

Shifoxonalarda azot tutuvchi birikmalar miqdorini siydikka o'lichash qator kasalliklarni aniqlashda, tashxis qo'yishda katta ahamiyatga ega. Undan buyrak, jigar kabi a'zolar funksiyasining buzilishi bilan bog'liq kasalliklarni aniqlashda foydalaniladi.

143-ish. SIYDIK KREATININI ANIQLASH

Kreatinin kreatin fosfatdan hosil bo'lib, siydikning doimiy tarkibini tashkil qiladi. Bir sutkada kattalarda siydik bilan 0,5-2,0 g (4,4-17,6 mmol/sut), yangi tug'ilganlarda 0,01 g, bir yoshgacha bo'lgan

bolalarda 0,04-0,08 g, 4-7 yoshlarda 0,3 g kreatinin hosil bo'ladi va 9-14 yoshga kelib bu ko'rsatkich kattalarnikiga yaqinlashadi. Siydik bilan ajraladigan kreatinin umumiy azot tutuvchi birikmalarning 2-7% ini tashkil qiladi. Ajraladigan kreatinin miqdori organizm to'qima oqsillarining parchalanish tezligiga va iste'mol qilingan ovqat tarkibidagi kreatin miqdoriga (go'shtli mahsulotlarda ko'p) bog'liq.



O'tkir yuqumli kasalliklarda, harorat ko'tarilganda, qandli va qandsiz diabetda siydikdagi kreatinin miqdori ortadi. Sog'lom odam siydigida kreatinin bo'lmaydi. Uning siydikda paydo bo'lishi to'g'ri mushaklar faoliyati buzilganini (miosteniya, mushak distrofiyasi) ko'rsatadi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: 10% li natriy gidroksid eritmasi, pikrin kislotaning to'yingan eritmasi, natriy nitroprussid, yangi tayyorlangan 3% li eritma, sirka kislotaning 5% li eritmasi, kreatinin, xlorid kislotaning 0,1mol/l doimiy standart eritmasi

Kerakli anjomlar: shtativlar, probirkalar, o'lchov kolbalari, 100 ml FEK, qalinligi 1 sm li kuvetkalar.

Kreatininga sifat reaksiya.

1. Veyl reaksiyasi. 2 ml siydikka 2-3 tomchi yangi tayyorlangan natriy nitroprussid eritmasi solinadi va aralashma sariq rangga kurguncha unga 10% li natriy gidroksid eritmasi tomiziladi. Eritmaning kislotaliligi sirka kislotaga qo'shib aniqlanganda uning sariq rangga o'tish vaqti qisqaradi. Shu xossasiga ko'ra bu reaksiya atsetonga o'tkaziladigan reaksiyadan farq qiladi.

2. Yaffe reaksiyasi. 2 ml siydikka bir necha tomchi to'yingan pikrin kislotaning suvli eritmasidan solib, natriy gidroksid bilan ishqorlanadi; qizg'ish rang hosil bo'ladi. Bu pikrat kreatinning qizil tautomeri hosil bo'lishiga asoslangan.

144-ish. SIYDIK KREATININING MIQDORINI FOLIN USULI BILAN ANIQLASH

Kreatinin siydikning doimiy tarkibiy qismi bo'lib, kreatinfosfatdan hosil bo'ladi. 1 sutkada siydik bilan 0,5-2,4 g (4,4-17,6 mmol/sut) kreatinin ajraladi, bu siydikdagi barcha azot tutuvchi moddalarning 2-7% ini tashkil qiladi. Siydik bilan ajralib chiqadigan kreatinin miqdori ovqat bilan organizmga tushgan kreatinin miqdoriga va organizmda oqsillarning parchalanish jarayonining jadalligiga bog'liq bo'ladi. O'tkir infeksiyalarda, bezgak holatlarida, qandli va qandsiz diabetda siydikda kreatinin miqdori oshadi. Sog'lom odam siydigida kreatin bo'lmaydi. Uni siydik bilan ajralishi ko'ndalang-targ'il mushaklar patologiyasi (miosteniya, mushak distrofiyasi) to'g'risida dalolat beradi.

Usulning asosi. Bu usul pikrin kislotaga bilan o'tkazilgan Yaffe reaksiyasiga asoslangan bo'lib, hosil bo'lgan rangning och-to'qligini FEK (yashil nur filtri)da kolorimetrlashdan iborat. Kreatinin miqdori o'lchov egri chizig'idan topiladi.

Bajariladigan ish tartibi. O'lchov kolbasining biriga 0,5 ml siydik, ikkinchisiga 0,5 ml distillangan suv solinadi (nazorat). Ikkala kolbaga 3 ml dan to'yingan pikrin kislotaga eritmasi solinadi. Eritma aralastiriladi va 0,2 ml 10% li natriy gidroksid eritmasidan solib, suv bilan hajmi 100 ml ga yetkaziladi. Kolbadagi eritmalar aralastiriladi va 10 daqiqa xona haroratida ushlanadi. Tajriba qarshisida 1 sm qalinlikdagi kuvetalarda, yashil nur filtrida (540 nm to'liq uzunligidagi), FEK da ko'riladi.

Tekshiruv eritmasining optik zichligini bilgan holda o'lchov egri chizig'idan kreatinning miqdori topiladi va bir kunlik siydik bilan ajralgan kreatinin hisoblanadi.

O'lchov egri chizig'ini tuzish. Kreatinning doimiy standart (1,13 g/l) eritmasidan jadvalga binoan suyuqliklar tayyorlanadi.

87-jadval

Probirkalar	Doimiy eritma hajmi, ml	Kreatinin miqdori		Optik zichlik
		ml	mmol	
1	0,1	0,113	0,001	
2	0,2	0,226	0,002	
3	0,3	0,339	0,003	
4	0,4	0,452	0,004	
5	0,5	0,565	0,005	

Abssissa o'qiga tekshiruvdagi kreatinin miqdori (m/mmol), ordinata o'qiga optik zichlik ko'rsatkichlari yoziladi.

Bir sutkada siydik bilan ajralgan kreatinin miqdori quyidagi tenglamaga asosan hisoblanadi:

$$x = \frac{a \cdot V_{\text{sut}}}{V}$$

Bunda, a – siydik bilan o'tkazilgan tajriba kreatininining miqdori, o'lchov egri chizig'idan topilgan m/mmol;

V – tekshirish uchun olingan siydik miqdori;

V_{sut} – bir kunlik siydik miqdori, ml.

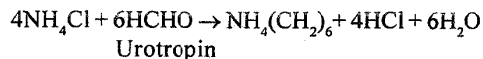
Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, o'lchov egri chizig'ini va topilgan kreatinin miqdorini daftaringizga yozib, o'rtacha ko'rsatkich bilan solishtiring, xulosangizni chiqaring.

145-ish. Malfatti usuli bilan siydik tarkibidagi ammiak miqdorini aniqlash

Sog'lom odamning bir kecha-kunduzlik siydigi 0,6-1,3 g ammiak bo'ladi, ammo ayrim kasalliklarda, masalan, qandli diabetda, ammoniy tuzlarining siydikdagi miqdori keskin ortadi.

Usulning asosi. Ammoniy tuziga formalin ta'sir ettirilganda urotropin va xlorid kislota hosil bo'ladi, uning miqdori eritmadagi ammoniy tuzi miqdoriga ekvivalentdir.

Usulning kimyoviy tenglamasi:



Hosil bo'lgan xlorid kislota 0,1 mmol/l natriy gidroksid eritmasi bilan titrlanadi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Siydik, formalin (bir qism formalin, ikki qism suv), 0,1 mmol/l natriy gidroksid eritmasi (fenoltalein ishtirokida och pushti ranggacha neytrallangan), fenoltaleinning 1% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: 100 ml li kolbalar, buretkalar, 10 ml li pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Kolbaga 10 ml siydik, 50 ml distillangan suv, 2 tomchi fenoltalein solinadi. Eritma aralashtiriladi. Kolba tagiga oq qog'oz qo'yib, buretkadagi 0,1 mmol/l natriy gidroksid eritmasidan och pushti rang hosil bo'lguncha solinadi. Siydikdagi kislotali mahsulotlar neytrallanadi.

2. Kolbaga 5 ml formol solib aralashtiriladi. Tuzlarning parchalanishi va kislota hosil bo'lishi och pushti rang yo'qolishiga sabab bo'ladi. 5 daqiqa o'tgach, aralashma 0,1 mmol/l natriy gidroksid eritmasi bilan och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi. Rang 30 sekundda yo'qoladi.

Bir sutkada siydik bilan ajralgan ammiak miqdori quyidagi formulaga binoan hisoblanadi.

$$x \cdot y = 0,0017 \cdot 150$$

Bunda, x – bir kunlik siydik bilan ajralgan ammiak miqdori, g hisobida.

y – titrlash uchun ketgan 0,1 mmol/l natriy gidroksid eritmasi, ml.

1500 – bir kunlik siydik hisobiga o'tkazish soni, aniqlash uchun siydik 10 ml hisobida olinadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, hisoblash usuli va natijasini daftaringizga yozing va xulosa chiqaring.

146-ish. Siydik tarkibidagi umumiy azot miqdorini kolorimetrik usul bilan aniqlash

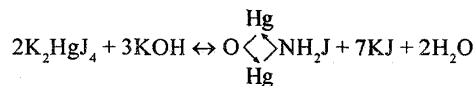
Siydik tarkibidagi umumiy azot miqdorini aniqlash ham nazariy, ham amaliy jihatdan katta ahamiyatga ega. Umumiy azotni aniqlash bilan organizmdagi oqsil almashinuvi tezligini va parchalangan oqsil miqdorini bilish mumkin. Buning uchun topilgan umumiy azot koeffitsiyenti 6,25 ga ko'paytiriladi (oqsil tarkibidagi barcha elementlarni 100% deb olsak, shundan azot miqdori 16% ni tashkil qiladi. Shu umumiy elementlar tarkibining azotga bo'lgan nisbati 100:16-6,25 azot koeffitsiyentidir).

Buyrak kasalliklarida buyrakning ajratuvchilik faoliyati buzilishidan siydik tarkibidagi umumiy azot miqdori kamayadi. Organizmda azotning ushlanib qolishi jigar, qon-tomir sistemasi

kasalliklarida kuzatiladi va u shish hamda ekssudat, transsudatlar borligi bilan bog'liq bo'ladi.

Siydikda umumiy azot miqdori ko'payishi, oqsillar parchalashining kuchayganligi (manfiy azot balansi), diabet, ekssudat va transsudatlarning so'rilishida, fosfor bilan surunkali zaharlanganda ko'riladi. Umumiy azot ko'rsatkichlarining o'zgarganligiga qarab alohida azot tutuvchi moddalar; siydikchil (mochevina), kreatinin, siydik kislotani aniqlash mumkin.

Usulning asosi. Siydik tarkibidagi organik birikmalar konsentrlangan sulfat kislotasi bilan qizdirilganda (minerallanganda) barcha fraksiyalarning ammiak holatidagi azoti sulfat kislotasi bilan bog'lanib, ammoniy sulfatni hosil qiladi. Ammoniy sulfat ishqoriy muhitda (pH i 12) Nessler reaktivi bilan sariq-qizg'ish rangli birikma hosil qiladi. Bu rangli birikma kolorimetrlanadi. Rangning och-to'qligi ammiak miqdoriga va siydik azotiga to'g'ri proporsional. Ushbu reaksiya tenglamasi quyidagicha:



Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislotasi, Nessler reaktivi (tayyor), ammoniy sulfatning doimiy (standart) eritmasi, natriy gidroksidning 50% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: qizdirish uchun issiqlikka chidamli kolba, FEK.

Bajariladigan ish tartibi: 1. **Qizdirish:** 10 marta suyultirilgan siydikning 1 ml i Nessler kolbasiga quyiladi. Nazorat tajriba uchun 1 ml suv olinadi. Ikkala kolbaga 1 ml dan konsentrlangan sulfat kislotasi, 1-2 tomchi pergidrol (N₂O₂) solib, oq mineralizat hosil bo'lguncha qizdiriladi (Kolba tubida oq parda hosil bo'ladi). Mineralizat sovutilgach, ustiga lakmus bo'yicha neytral muhit hosil bo'lguncha 6 tomchi 50% li natriy gidroksid eritmasi solinadi (Eritma shisha tayyoqcha bilan aralastiriladi). Mineralizat o'lchov silindriga o'tkaziladi, kolba 2 marta 3 ml distillangan suv bilan chayiladi, mineralizat hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi. 100 marta suyultirilgan siydik mineralizati olinadi. Eritmalarning ketma-ket quyilishiga qat'iy rioya qilinadi. Eritma doimo shisha tayyoqcha bilan aralastirib turilishi shart.

2. **Fotometrlash.** 0,5 ml mineralizatga 6,5 ml suv solib aralastiriladi va unga 0,5 ml Nessler reaktivi quyiladi; sariq-qizg'ish rang hosil bo'ladi. Nazorat kolbaga 7 ml suv, 0,5 ml Nessler reaktivi solib aralastiriladi. Fotometrlash ko'k li kuvetada o'tkaziladi.

O'lchov egri chizig'idan azot miqdori topilib, quyidagi tenglama asosida hisoblanadi:

$$x = \frac{C \cdot B \cdot \text{bir kunlik siydik}}{0,5 \cdot 1000}$$

Bir kunlik siydikdagi umumiy azot miqdori, g/sut.

C – o'lchov egri chizig'idan topilgan azot miqdori.

B – 100 marta suyultirilgan siydik.

0,5 – aniqlash uchun olingan mineralizat miqdori.

1000 – mg ni g ga aylantirish koeffitsiyenti, SI birligiga o'tkazish koeffitsiyenti (mmol/sut) 71,39 ga teng.

O'lchov egri chizig'ini tayyorlash. Asosiy doimiy (1 ml da 0,2 mg azot tutuvchi) eritmada qator ishchi eritmalar tayyorlanadi: 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 mg azot 1ml eritmada. Har qaysi ishchi eritmada 0,5 ml olib, unga 6,5 ml suv va 0,5 ml Nessler reaktivi solinadi va fotometrlanadi. Har qaysi eritma uchun optik zichlik ko'rsatkichlari topiladi. Ordinata o'qiga optik zichlik ko'rsatkichlari, absissa o'qiga 0,025; 0,05; 0,75; 0,10 mg 0,5 ml hajmdagi azot miqdori yoziladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usul asosini, o'lchov egri chizig'ini va natijalarni daftaringizga yozing.

147-ISH. SIYDIK TARKIBIDAGI UMUMIY AZOTNI KONVEY USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Siydik qizdirilishi natijasida hosil bo'lgan ammoniy sulfat kuchli ishqor bilan siqib chiqariladi va titrlangan sulfat kislotasi eritmasi yordamida yutiladi. Ushbu kislotasi ishqor bilan titrlanib (neytrallanib), undagi ammiak miqdori hisoblab topiladi.

Ammoniy tuzlarini parchalash maqsadida o'tkaziladigan izotermik haydash va ammiakni yuttirish uchun maxsus asboblari, Konvey idishlari ishlatiladi. Shakli jihatidan Konvey idishi past devorli kristallizatorni eslatadi. Uning markaziy qismiga silindro'ratilgan, idish shisha qopqoq bilan mustahkam berkitiladi. U tashqi kameraga

yaxshilab shliflangan bo'lishi kerak. Idish qopqoq bilan mustahkam shlif hosil qilishi uchun lanolin yoki mum aralashmasi bilan moylanadi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: konsentrlangan sulfat kislotasi 0,01 n, sulfat kislotasi eritmasi 0,01 n, natriy gidroksid eritmasi, 30% li natriy gidroksid eritmasi, Tashiro indikator, moy.

Kerakli anjomlar: Konvey idishlari, mikroburetka, 15 ml li o'lchov silindri, skalpel, 2 ml li pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Siydik va uning tarkibidagi organik moddalarni kuydirish (minerallas).

2. Ammoniyini haydash. Avvalo Konvey kosachasining yopiladigan qismi moylanadi. Konvey kamerasiga 2 ml 0,01 n sulfat kislotasi eritmasi va 2 tomchi Tashiro indikator solinadi. Kislotali muhit (pH i 4,4)da eritma rangi binafsha, ishqoriy muhit (pH i 6,2)da esa yashil tusli bo'ladi.

Konvey idishining tashqi qismiga 1,5 ml mineralizat solinadi va qopqoq bilan berkitiladi. Qopqoq tirqishidan 1,5 ml 30% li natriy gidroksid eritmasi solinib, tirqish tezda qopqoq bilan berkitiladi va uning mustahkam berkitilganiga ishonch hosil qilingan tashqi kameradagi eritmalar (idishni aylana bo'ylab harakatlantirish yo'li bilan) aralashiriladi. Shu bilan bir qatorda nazorat tajribasi o'tkaziladi. Mineralizat o'rniga suv olinadi. Konvey idishi 37°C li termostatga 2 soatga qo'yiladi yoki xona haroratida 24 soat qoldiriladi.

Eritmalar 0,01 n natriy gidroksid bilan titrlanadi. Tekshiruv va nazorat tajribalari uchun ketgan ishqor miqdorining ayirmasiga ko'ra siydikdagi ammiak miqdori hisoblanadi.

1 ml 0,01 n sulfat kislotasi eritmasi 0,14 mg azotni birlashtirishi hisobga olinadi va quyidagi tenglamaga binoan hisoblanadi:

$$x = \frac{(A - B) \cdot 0,14 \cdot 100 \cdot D}{1,5 \pm 1000}$$

Bir kunlik siydikning umumiy azoti g/sut yoki mmol/sut.

A – nazorat tajribasini titrlash uchun ketgan 0,01 n ishqor eritmasining miqdori, ml.

B – tekshiruv tajribasini titrlash uchun ketgan 0,01 n ishqor eritmasining miqdori, ml

D – siydikning bir kunlik miqdori, ml (sutkalik diurez).

100 – suyultirilgan siydik mineralizati.

1,5 – tajriba uchun olingan mineralizat miqdori, ml.

A-B - ammiak bilan bog'langan 0,01 n sulfat kislotasi miqdori.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usul asosini, hisoblash tenglamasini va natijani daftaringizga yozing.

148-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI SIYDIKCHILNI (MOCHEVINA) ANIQLASH

Bir sutkada sog'lom odam siydigi bilan 20-35 g yoki 333-583 mmol/l siydikchil ajratadi. Siydikchil jigarda ammiakni zaharsizlantirishidan hosil bo'lgan mahsulot hisoblanadi. Nefrit, atsidoz, parenximatoz sariqlikda, jigar sirrozida, uremiyada siydikchil miqdori kamayadi. Ovqat tarkibida oqsil yetishmaganda, xavfli anemiyada, harorat ko'tarilganda organizmda oqsillar parchalanishining kamayishi natijasida, salitsilatlar iste'mol qilinganda va fosfor bilan zaharlanganda siydikchil miqdori ortadi.

Usulning asosi. Aminoguruh tutuvchi siydikchil paradimetilaminobenzaldegid bilan kislotali muhitda sariq rangli kompleks birikma hosil qiladi. Rangning och-to'qiligi aniqlanayotgan eritma tarkibidagi siydikchil miqdoriga to'g'ri proporsional bo'lib, u fotometrlash bilan o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Paradimetilaminobenzaldegidning 2% li eritmasi (50 ml suvga paradimetilaminobenzaldegid qo'shiladi va eriguncha 150 ml konsentrlangan sirka kislotadan umumiy hajmi 200 ml ga yetguncha quyiladi, qora idishda saqlanadi, 2,5% li siydikchil (qaytadan kristallangan)ning doimiy eritmasi (2,5 g si 100 ml suvda eritiladi).

Kerakli anjomlar: FEK, 3 mm li kuvetalar, quruq probirkalar, mikropipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Pipetka va probirkalar quruq bo'lishi kerak. Probirkaga solingan 0,2 ml siydikka 1,2 ml 2% li paradimetilaminobenzaldegid eritmasi quyiladi va yaxshilab aralashiriladi. 15 daqiqa o'tgach, probirkadagi eritma kolcrimetrlanadi. Optik sig'im ko'k nur filtrida suv qarshisida o'lchanadi (tekshirish uchun E-0,08 teng ekanligi hisoblanadi). FEK ning o'ng barabanidagi bo'yalgan eritma turg'un. Hisoblashda o'lchov egri chizig'idan foydalaniladi. SI sistemasi birligiga o'tkazish uchun (mmol/sut) 16,65 koeffitsiyentidan foydalaniladi.

O'lchov egri chizig'ini tayyorlashda 100 ml da 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 g siydikchil bo'lgan eritmalarning har qaysisidan 0,2 ml olinadi. Qolgan ish tartibi siydikchil bilan o'tkazilgandek bo'ladi.

149-ish. SIYDIK VA QON ZARDOBI TARKIBIDAGI SIYDIKCHILNI BIO-TEST YORDAMIDA ANIQLASH

Usulning asosi. Siydikchil tiosemikarbozid va Fe³⁺ ionlari ishtirokida kuchli kislotali muhitda diatsetilmiooqsil bilan qizil birikma hosil qiladi. Rangli eritmaning optik zichligi FEK da o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: siydik va qon zardobi.

Reaktivlar: reaktiv (zaharli tiosemikarbozid tutadi) 4-etanol eritma (mochevina 16,65 mmol/sut).

Kerakli anjomlar: 0,01 ml li mikropipetka.

Ishchi eritmalarni tayyorlash: 30 ml distillangan suv solingan 50 ml li kolbaga tiosemikarbozid solinadi va kolba asta-sekin o'rtacha haroratda qizdiriladi. Tiiosemikarbozid erigach, eritma sovitiladi va uning hajmi suv bilan o'lchov chizig'igacha yetkaziladi. Oz miqdordagi cho'kma aniqlashga xalaqit bermaydi. Ushbu eritma xona haroratida bir necha hafta saqlanishi mumkin.

Reaktivlar quruq, harorati 0, +5°C bo'lgan toza joyda saqlanadi.

Sulfat kislotasi eritmasi. 250 ml li o'lchov kolbasiga 150 ml suv solinadi va uning 25 ml iga 96% li sulfat kislotadan asta-sekin kolba devori bo'ylab qo'shiladi (eritma qizib ketmasligi kerak). Uning miqdori suv bilan 250 ml ga yetkaziladi. Eritma uzoq muddat saqlana oladi.

Ishchi eritma bir qism reaktiv bilan bir qism sulfat kislotasi eritmasi aralashtirish yo'li bilan tayyorlanadi, ishchi eritma yangi tayyorlanishi kerak.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 0,01 ml aniqlanuvchi eritma (qon zardobi yoki suyultirilgan siydik) solinadi. Unga 2,0 ml ishchi eritmasi solib aralashtiriladi. Probirka alumin qog'ozdan tayyorlangan qopqoq bilan berkitiladi va rosa 10 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi. Shundan so'ng 2-3 daqiqa davomida oqib turgan suv tagida sovitiladi. Hosil bo'lgan rang solishtiruvchi eritma qarshisida kolorimetrlanadi. Solishtirma eritma aniqlanuvchi eritma o'rniga 2,0 ml ishchi reaktiv ishlatilib yuqoridagidek aniqlaniladi.

Eritma sovitilgach, 15 daqiqa orasida optik zichlik 1 sm qalinlikdagi kuvetada (490-540 nm to'lqin uzunlikda) o'lchaniladi. Shu qatorda ikkita parallel probirkalarda siydikchilning 0,01 ml etanol eritmasi va 2,0 ml ishchi reaktiv bilan tekshirish o'tkaziladi. Qon zardobi tarkibida siydikchil 23,3 mmol/l dan oshsa, qon zardobi distillangan suv bilan suyultiriladi va natijada 2 ga ko'paytiriladi. Oqsillar 5% li uchxlor kislotaning 1:10 (0,1 ml qon zardobi 1 ml UXSK) nisbatida cho'ktiriladi. Analiz uchun 0,1 ml siydikchilning etalon eritmasi bir xilda suyultirilgan holda olinadi.

Siydikchilni aniqlash uchun siydik 1:50 yoki 1:100 nisbatda suyultirilgan bo'lishi kerak. Olingan natija suyultirilgan (koeffitsiyentiga) siydik soniga ko'paytirilishi kerak.

88-jadval

Ish tartibi sxemasi

Tekshiriluvchi material	Aniqlanuvchi eritma	Etalin	Solishtiruvchi eritma
Suyultirilgan qon zardobi			
Siydik, ml	0,01	-	-
Ishchi eritma, ml	2,0	2,0	2,0
Etalon eritma, ml	-	0,01	-
Distillangan suv, ml	-	-	0,1

Rosa 10 daqiqa qaynab turgan suv hammomida qizdiriladi, sovitiladi, 15 daqiqa orasida aniqlanuvchi va etalon eritmalar zichligi solishtiruvchi eritma qarshisida 1 sm li kuvetada 525 nm da o'lchaniladi.

Natijalarni hisoblash va ifodalash. A va B etalonlar uchun olingan optik zichlik kattaliklariga binoan siydikchil miqdori (x) mmol/l da topiladi.

$$x = \frac{A}{B} \cdot 16,65$$

mmol/l 0,1665 mg/100 ml, mg/100 ml – 6,006 mmol/l. Aniqlanuvchi eritma suyultirilgan taqdirda shu songa ko'paytiriladi. Siydikchilni siydikchil azotiga otkazish uchun 0,466 ga ko'paytirish kerak.

Usulning qo'llanilishi 4-5 % ni tashkil qiladi.

O'rtacha kattaliklar

Qon zardobi (2,50-8,32) mmol/l

Siydik (333-583) mmol/24 soat
Oqsil ko'p ovqat iste'mol qilinganda siydikchil yuqori ko'rsatkichga yetadi.

Kerakli anjomlar: 490-540 nm li spektrofotometr yoki fotometr (2 sm qalinlikdagi 2-3 ml li kuvetalar bilan birgalikda).

Izoh: yuqorida keltirilgan usulda o'lchovi eritmalarning miqdorini oshirish yoki kamaytirish mumkin. Ayni etalon eritmasining 1:1 suyultirish bilan 0,5 g/l gacha yetkazish mumkin. Bu holda suyultirilgan siydikchil (etalon eritmasi) qon zardobining yuqori chegaradagi ko'rsatkichining optik zichligiga to'g'ri keldi. Demak, formuladagi 16,65 ni 8,33 ga almashtirish lozim.

Siydikchilni aniqlash reaktividan foydalanishda zaharli moddalar bilan ishlash qoidasiga rioya qilish kerak, chunki tabletkada zaharli tiosemika bozid bor.

Zaharlanish sodir bo'lganda ko'rsatiladigan birinchi yordam. Organizmga tushgan dorini chiqarish uchun 0,5l suv ichib, tomoqni qitiqlash bilan qayt qilish lozim.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usul asosini, olingan natijani va uning amaliy ahamiyatini daftaringizga yozing.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Siydik tarkibiga qanday organik moddalar kiradi?
2. Oqsil bo'lmagan azot birikmalariga kiruvchi moddalarni ayting.
3. Turli yoshda siydikning azot birikmalari qanday o'zgaradi?
4. Keratin va kreatininlar qanday birikma? Siydikdagi kreatinin miqdori ortadi va qachon kamayadi? Buni aniqlash uchun qanday usullardan foydalaniladi?
5. Siydikdagi ammoniyni aniqlash qanday ahamiyatga ega va bu qaysi usul bilan aniqlanadi?
6. Siydikdagi umumiy azot miqdori qanday usullar bilan aniqlanadi? Aniqlash usullari nimaga asoslangan? Qanday holatlarda siydikda umumiy azot miqdori ko'payishiga sabab bo'ladi?
7. Sog'lom odamdagi siydikchil ko'rsatkichlari qanday? Qanday kasallik holatlarida ularning miqdori o'zgaradi? Buni aniqlash uchun qanday usullar qo'llaniladi?

SIYDIKNING PATOLOGIK KOMPONENTLARINI ANIQLASH

Har bir kasallikni aniqlashda siydikni tekshirish katta tashxisiy ahamiyatga ega.

Odatda, sog'lom odam siydigi tarkibida oqsil, shakar, keton tanalari, o't, qon bo'lmaydi. Bunday holat biror a'zoning funksional holati va moddalar almashinuvi buzilishi natijasida paydo bo'ladi. Shu sababli kasallikni aniqlash va dori-darmonlar ta'sirini tekshirish maqsadida siydik tekshiriladi.

150-ish. OQSILGA O'TKAZILADIGAN SIFAT REAKSIYA

Normal siydik tarkibida oqsil izlari bo'lishi mumkin. Ammo ular odatdagi reaksiyalar bilan ochilmaydi. Neyritda – buyrak yallig'langanda, ya'ni ularning o'tkazuvchanligi ortganda, yurak dekompensatsiyasida, arterial bosim ko'tarilishining ayrim turlarida, goho homiladorlikda siydikda oqsil paydo bo'ladi.

Ayrim kasalliklarda bir kunlik siydikda sezilarli darajada oqsil ajraladi. Siydikda oqsilning paydo bo'lishi proteinuriya, albuminuriya (chunki siydikda paydo bo'lgan oqsillarning ko'p qismini qon zardobidagi albuminlar va oz miqdorini globulinlar tashkil qiladi) deyiladi. Chin va soxta proteinuriyada oqsil siydikka buyraklar orqali o'tadi.

Soxta yoki tasodifiy proteinuriya siydikdagi shilliq, qon, yiringlarni buyrakdan tashqaridagi siydik o'tkazuvchi yo'llar orqali o'tganligini ko'rsatadi. Siydikdagi oqsilni ochish uchun azot va sulfasalitsin kislotalar yordamidagi cho'ktirish reaksiyasidan foydalaniladi. Sulfasalitsin kislota juda sezgir.

Tekshiriluvchi material: O'rtacha va oqsil tutuvchi siydik.

Reaktivlar: sulfasalitsil kislotaning 20% li eritmasi, azot kislotaning 50% li eritmasi yoki Larionova reaktivi.

Kerakli anjomlar: Probirkalar, shtativlar.

Bajariladigan ish tartibi. A) 25 g natriy xlorid 100 ml isitilgan distillangan suvda eritiladi va uning 99 ml iga 1 ml konsentrlangan azot kislota qo'shiladi.

B) Tajriba: sulfasalitsin reaksiyasini bajarish uchun probirkaga oqsil tutuvchi siydikdan 3 tomchi, 20% li sulfasalitsil kislotadan 5 tomchi solinadi (yangi tayyorlangani). Siydikda oq cho'kma hosil bo'lishi oqsil miqdoriga bog'liq bo'ladi.

D) Geller reaksiyasi. 1 ml azot kislotaga solingan probirkaga 45°C li burchakka og'dirilgan holda devori bo'ylab asta-sekin siydik solinadi. Ikkita eritma orasida oq xalqa paydo bo'ladi.

Xalqa qalinligi oqsil miqdoriga bog'liq.

151-ish. OQSIL MIQDORINI BRANDBERG-ROBERTS-STOLNIKOV USULI BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Azot kislotaga siydik solinganda 2-3 daqiqa ichida ikkita eritma orasida ingichka oq xalqa hosil bo'ladi. Bu taxminan 0,033 g/l oqsil tutganligini ko'rsatadi. Oqsilning shu miqdorini topish uchun siydik bir necha marta suyultiriladi: 2, 4, 8, 10, 20 va hokazo.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Azot kislotasining 50% li eritmasi yoki Larionova reaktivi, sulfasalitsil kislotaning 3% li eritmasi, natriy xloridning 0,9% li eritmasi, albuminning 1% li doimiy-standart eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, pipetkalar, FEK, 0,5 sm qalinlikdagi kuvetalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Suyultirilgan siydik solingan qator probirkalar tayyorlanadi. Buning uchun 5 ta probirka nomerlanadi. Har qaysisiga 2 ml distillangan suv solinadi. Birinchi probirkaga 2 ml siydik solib aralashtiriladi. Undan 2 ml olib ikkinchi probirkaga, ikkinchi probirkadan 2 ml olib uchinchisiga solinadi va shu tartibda davom ettiriladi. Oxirgi probirkadan 2 ml olib tashlanadi. Shunday qilib, siydikning 2, 4, 8, 16 va 32 marta suyultirilgan eritmalari tayyorlanadi.

2. Alohida raqamlangan 5 ta probirkaning har qaysisiga 1 ml 50% li azot kislotaga eritmasi yoki Larionova eritmasidan solinadi. So'ngra 45° burchakda ushlangan probirkalarga sekinlik bilan devor bo'ylab yuqoridagi suyultirilgan siydikdan solinadi, ya'ni qavatlanadi. Har qaysi probirkada ikki va uch daqiqa orasida oq xalqa hosil bo'lishi kuzatiladi.

3. Oqsil miqdorini aniqlash uchun 2-3 daqiqa orasida hosil bo'lgan xalqa 0,003 g/l oqsil tutganligidan ushbu siydik miqdori suyultirilish soniga ko'paytiriladi.

Masalan, 8 marta suyultirilgan siydik 2-3 daqiqa orasida ingichka oq xalqa hosil qiladi. Demak, siydik tarkibida 0,003 g/l 8-0,264 l oqsil bor ekan.

Klinik ahamiyati. Siydik tarkibidagi oqsilning miqdori nefritda, yurak yetishmovchiligida, o'tkir yuqumli kasalliklarda, homiladorlik vaqtida, zaharlanish natijasida, gipertonik kasalliklarda ortadi.

152-ish. OQSIL MIQDORINI SULFASALITSIL KISLOTA BILAN ANIQLASH

Usulning asosi. Oqsil sulfasalitsil kislotaga bilan ta'sirlanganda loyqalanadi, loyqalanish darajasi oqsil miqdoriga proporsional bo'ladi.

Bajariladigan ish tartibi. 1. Probirkaga 1,25 ml filtrlangan siydik va unga 5 ml 3% li sulfasalitsil kislotaga eritmasi solib aralashtiriladi, 5 daqiqa o'tgach, ko'k nur filtrlil (490 nm to'liq uzunligida) FEK va nazorat eritmasi qarshisida kolorimetrlanadi.

2. Nazorat eritma quyidagicha tayyorlanadi: 1,25 ml filtrlangan siydikga 5 ml natriy xlorid eritmasi solinadi. O'lchov egri chizig'idan tekshiruv tajribasidagi oqsil miqdori topiladi, so'ngra g/l birligida ifodalanadi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, topilgan oqsil miqdorini va qaysi kasalliklarda proteinuriya kuzatilishini daftaringizga yozing. Xulosa chiqaring.

153-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI QANDNI ANIQLASH

Sog'lom odam siydigida 0,2-0,4 g/l glukoza bo'ladi. Ammo buni odatdagi reaksiyalar bilan aniqlab bo'lmaydi.

Turli sabablarga ko'ra qon tarkibidagi qand miqdorining ko'payishi – giperglukozemiya siydikda qand miqdori ko'payishiga olib keladi. Karbonsuvga boy bo'lgan oziq-ovqat mahsulotlari iste'mol qilinganda qon tarkibidagi qand miqdori keskin ko'tariladi – bu

alimantar fiziologik giperglukozemiyada siydik bilan qand ham ajraladi. Bu fiziologik alimantar glukozuriya deyiladi. Bunday holat vaqtincha yuz beradi. Ammo siydikda qand miqdorining ko'payishi doimiy holatga o'tishi mumkin, bu qandli diabet kasalligida siydikdagi qand miqdori 80-100 g/l ga yetishi mumkin. Shuningdek, glukozuriya uglerod (II) oksid yetishmaganda, efir, xloroform va boshqa moddalar bilan zaharlanganda, buyraklarning o'tkazuvchanlik faoliyati buzilganda sodir bo'ladi.

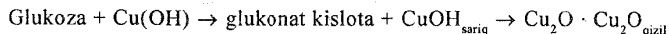
Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Gaynes reaktivi, «Glukotest»- reaktiv yig'indisi.

Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar, buretkalar, o'lchovli pipetkalar.

154-ish. MIS TUZLARINING QAYTARILISHIGA ASOSLANGAN SIFAT REAKSIYA (GAYNES REAKSIYASI)

Usul glukozani ishqoriy sharoitda qizdirilganda mis (I) gidroksidni sariq mis (I) gidroksidgacha va qizil mis (I) oksidgacha qaytarish xossasiga asoslangan.



Gaynes reaktiviga qo'shilgan glitserinning gidroksid guruhlari mis (II) gidroksidni bog'lab oladi.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 3 ml Gaynes reaktivi solib, ustiga 10-12 tomchi siydik tomiziladi va aralastiriladi. Probirkadagi suyuqlikning yuqori qismi gaz gorelkasi alangasida qaynaguncha qizdiriladi. Siydik tarkibida glukoza bo'lganda eritmaning och have rangi sariq rangga o'tadi. Suyuqlikning pastki qizdirilmagan qismi yuqoriga qizdirilgan – bo'yalgan qismi bilan solishtiriladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga usulning asosini, kuzatilgan o'zgarishlarni yozing.

155-ish. SIYDIKDAGI QANDNI «GLUKOTEST» INDIKATORI YORDAMIDA ANIQLASH

Usulning asosi: Usul glukozani glukooksidaza fermenti ta'sirida xususiy oksidlanishga asoslangan. Reaksiya mahsuloti bo'lmish

vodorod peroksid (H_2O_2) ikkinchi ferment peroksidaza ta'sirida suv va kislorodga parchalanadi. Kislorod o'z navbatida eritmadagi bo'yoqni oksidlaydi. O'zgarigan rang tayyor rangli shkala bilan solishtiriladi. Ushbu usul yordamida siydikda glukoza bor-yo'qligini va bo'lgan taqdirda uning nisbiy miqdorini 1-20 g/l gacha o'lchash mumkin bo'ladi.

Bajariladigan ish tartibi. «Glukotest» qog'oz bo'lmachalarni siydik solingan probirkalarga tushiriladi (qog'ozning bo'yalgan hamma qismi siydikka tushirilishi kerak) va qog'ozning ho'llangan tomoni bilan plastmassa plastinkaga qo'yilib, shu holatda 2 daqiqa tutiladi.

Plastmassa plastinkasidagi qog'oz bo'lakchalar «Glukotest» dagi tayyor rangli shkala bilan solishtiriladi. Siydikdagi glukoza shkaladagi muayyan rangga mos kelgan rangga nisbatan aniqlanadi. Rangli shkalada berilgan rang siydikdagi glukoza miqdoriga to'g'ri keladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini va olingan natijalarni daftaringizga yozing.

156-ish. SIYDIKDAGI GLUKOZA MIQDORINI POLARIMETIK USUL BILAN O'LCHASH

Usulning asosi. Usul glukozani qutblangan nur tekisligini o'ngga burish xususiyatidan foydalanishga asoslangan. Burish burchagini aniqlash orqali siydikdagi glukoza miqdori o'lchanadi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: 1% li sirka kislova eritmasi, ko'k lakmus.

Kerakli anjomlar: Polarimetr, voronkalar, qog'oz filtrlar.

Bajariladigan ish tartibi. Siydik tarkibidagi glukozani aniqlash uchun maxsus polyarimetr-saxarimetrlar mavjud. Bu asbobga glukozaning miqdorini o'lchash uchun o'lchov «shkala» o'rnatilgan. O'rnatilgan natriyli yoki shisha lampa monoxrom nur tarqatuvchi, ya'ni nur bilan ta'minlovchi vosita sifatida ishlatiladi. Nur maxsus moslama-polyarizatorda qutblanadi va siydik solingan naychadan o'tib, analizatorga tushadi.

1. Siydik tarkibidagi glukozani aniqlashdan oldin asbob shkalasi nolga o'rnatiladi. Buning uchun maxsus naychaga distillangan suv

solinadi va asbobga o'rnatiladi. Asbob okulari maydonni ikkiga ajratuvchi chiziq yaxshi ko'rinadigan qilib joylashtiriladi, maydon esa bir xil yorug'lik bilan ta'minlangan bo'lishi kerak.

2. Siydik tiniq bo'lishi, unda oqsillar bo'lmasligi, kislotali muhitga ega bo'lishi kerak. Buning uchun siydikka 1% li sirka kislotaga eritmasidan lakmus qog'oziga qarab qo'shiladi, so'ngra qaynatiladi, sovutiladi va filtrlanadi.

3. Polyarimetr naychasi siydik bilan to'ldiriladi, uning ikki tomoni yaxshilab artiladi va asbobga joylashtiriladi. 2-3 daqiqadan so'ng glukoza aniqlanadi.

Polyarimetr-saxarimetr naychasining uzunligi 18,94 sm. Shu uzunlikdagi shkala bo'yicha aniqlanadigan burilish burchagi son jihatdan qandning protsent miqdoriga to'g'ri keladi.

4. Siydik tarkibida glukoza bo'lgan taqdirda aylananing o'ng tomoni qorayadi. Okular maydonning ikkala tomoni bir xil yoritilmaguncha aylantiriladi va shkala bilan noniusga qaraladi. Nonius noldan shkala bo'yicha qanchalik surilgani foizlarni ifodalaydi. Shundan keyin noniusning nol holati aniq topiladi: nonius bo'linmalarini noldan o'ngga tomon, shkala bo'linmasi bilan to'g'ri kelgan holati aniqlanadi. Shu nonius bo'linmalarini noldan o'ngga surilgan son ko'rsatkichi o'qli kasr protsentini ifodalaydi.

5. O'lchash tugallanishi bilan naychani ikki tomonidagi qopqoqlari olinadi va har bir qismi tozalab yuvilib quritiladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, asbob ko'rsatkichlarini daftarga yozing. Qanday o'zgarishlar siydikka glukoza ajralishiga olib kelishini izohlang.

157-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI KETON TANACHALARNI ANIQLASH

Keton tanachalar (B-gidrooksimoy kislotaga, atsetosirka va atseton) siydik tarkibida karbonsuv va yog'larning almashinuvi buzilganda, jumladan, diabet kasalligida va och qolganda paydo bo'ladi. Sog'lom odam siydigidagi keton tanachalar odatdagi reaksiyalar bilan ochilmaydi.

Kasallikni aniqlashda, davolashni to'g'ri olib borilayotganini nazorat qilishda, diabet bilan og'rikan bemorlarga parhez tayinlashda siydik tarkibidagi keton tanachalarini aniqlash muhim ahamiyatga ega.

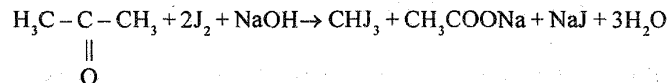
Tekshiriluvchi material: siydik

Reaktivlar: yangi tayyorlangan natriy nitroprussidning 10% li eritmasi, natriy gidroksidning 10% li eritmasi. Lyugol eritmasi, temir (III) xloridning 5% li eritmasi, konsentrlangan sirka kislotaga.

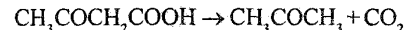
Kerakli anjomlar: shtativ va probirkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1. **Atsetonni ochish uchun Lyugol reaksiyasi.** 2 ml siydik solingan probirkaga 3-4 tomchi natriy nitroprussid eritmasi va 2-3 tomchi gidroksid eritmasi solinadi. Eritma qo'ng'ir qizil rangga bo'yaladi. Konsentrlangan sirka kislotaga qo'shilganda eritma och qizil rangga aylanadi. Siydik tarkibida atseton bo'lmasa, kislotali muhitda (sirka kislotaga qo'shilganda) qizil rang sariq rangga aylanadi.

2. **Atsetonni ochish uchun Liben reaksiyasi.** 2 ml siydikka 2-3 tomchi natriy gidroksid eritmasi va och sariq rang hosil bo'lguncha tomchilab Lyugol eritmasi solinadi. Siydik tarkibida atseton bo'lgan taqdirda o'ziga xos hidli yodoforning och sariq kristallik cho'kmasi ajralishi tufayli eritma loyqalanadi.



3. **Atsetosirka kislotani ochish uchun Gerxard reaksiyasi** 5 ml siydik solingan probirkaga temir (III) xlorid eritmasidan tomchilab solinadi, shunda temir fosfat ko'rinishidagi fosfat cho'kmasi tushadi. Siydik atsetosirka kislotaga tutgan holda temir xlorid eritmasining ortiqcha miqdordagi tomchisi och qizil rang hosil bo'lishiga olib keladi. Eritma ma'lum vaqt davomida atsetosirka kislotaning o'z-o'zidan dekarboksillanishi natijasida sekin-asta rangsizlanadi.



158-ish. QON PIGMENTLARINI OCHISH

Siydik yo'llaridagi qon tomirlarning shikastlanishi natijasida siydikka qon paydo bo'ladi. Bunday holat gematouriya deyiladi. Og'ir yuqumli kasalliklarda, zaharlanganda eritrotsitlar parchalanadi, gemoglobin qon zardobiga, undan siydikka o'tadi (gemoglobinuriya).

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: lakmus qog'oz, sirka kislotaniing 10% li eritmasi, gvoyak mumining spirtli eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativlar, probirkalar, pipetkalar.

159-ish. QON PIGMENTLARINI GVOYAK MUMI YORDAMIDA OCHISH

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 1 ml siydik solib, lakmus bo'yicha uning muhiti aniqlanadi. Agar siydikning muhiti ishqoriy bo'lsa, uni kislotali muhitga o'tkazib qaynatiladi (siydik tarkibida yiring bo'lgan taqdirda reaksiya musbat bo'ladi). Qaynatilgan siydikdan 1 ml olib, ustiga 0,5 ml Gvoyak mumining spirtli eritmasi va bir necha tomchi vodorod peroksid solinadi. Siydikdagi qon pigmenti vodorod peroksidni suv va kislorodga parchalaydi. Kislorod o'z navbatida mum kislotasini oksidlashi natijasida ko'k rangli gvoyak mum kislotasi ozonidini hosil qiladi. Qon pigmentlarini tutmagan siydik bunday reaksiyada rangli eritma hosil qilmaydi.

160-ish. SIYDIKDAGI QON PIGMENTLARINI BENZIDIN REAKSIYASI BILAN OCHISH

Usulning asosi. Siydik tarkibidagi qon pigmenti gemoglobin peroksidaza fermenti faolligiga ega bo'lgan bo'lib, vodorod peroksidni suv va atomar kislorodga parchalash qobiliyatiga ega. Atomar kislorod esa tajriba eritmasidagi benzidinni oksidlaydi.

Tekshiriluvchi material: qon tutuvchi siydik.

Reaktivlar: 10% li natriy ishqor eritmasi, yangi tayyorlangan konsentrlangan sirka kislotada eritilgan benzidinning 5% li eritmasi, 3% li vodorod peroksid eritmasi.

Kerakli anjomlar: tomizgichlar.

Bajariladigan ish tartibi. Yangi, filtrlanmagan siydikdan probirkaga solib qaynatiladi va sovutiladi. So'ngra 20 tomchi qaynatilgan siydikka shuncha miqdor sirka kislotada eritilgan benzidin va bir necha tomchi vodorod peroksid solinadi. Qon pigmentini tutuvchi siydik ko'k yoki yashil-ko'k rangga bo'yaladi.

161-ish. SIYDIKDAGI O'T PIGMENTLARINI OCHISH

O't pigmentlari – bilirubin, biliverdin va boshqalar siydikda ishqoriy tuz ko'rinishida sariq kasalligida paydo bo'ladi. Ushbu pigmentlarni tutuvchi siydikning rangi sarg'ish - jigar rang yoki yashil rangga bo'yalgan bo'ladi (sariq kasalligi uchun xos belgi).

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: Fushe reaktivi, bariy xloridning 10% li eritmasi, yodning 1% li spirtli eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativlar, probirkalar, qog'oz filtrlar va voronkalar, shisha tayyoqchalar.

1. Fushe reaktivi bilan siydik bilirubinini ochish uchun sifat reaksiya.

Usulning asosi. Bariy xlorid yordamida cho'ktirilgan bilirubin temir (III) xlorid ta'sirida oksidlanib, rangli mahsulot hosil qilishdan iborat.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkadagi 10 ml siydikka 5 ml 15% li bariy xlorid eritmasidan solib aralashtiriladi va filtrlanadi. Voronkadan olingan filtr quruq filtr qog'oziga yoziladi. Cho'kmaga 1-2 tomchi Fushe reaktivi tomiziladi. Filtrdagi bilirubin ko'kintir-yashil va havo rang dog'larini hosil qiladi. Siydik tarkibida bilirubin bo'lmagan taqdirda dog' hosil bo'lmaydi. Sog'lom odam siydigida bilirubin juda kam miqdorda bo'ladi, shuning uchun uni odatdagi reaksiyalar bilan ochib bo'lmaydi.

2. Yod eritmasi yordamida bilirubin ochish (Rozin reaksiyasi).

Usulning asosi. Ushbu usul siydikdagi bilirubinni yod ta'sirida biliverdingacha oksidlanishiga asoslangan.

Bajariladigan ish tartibi. Probirkaga 3-4 ml siydik solinadi va ustiga sekin-asta 1% li yod eritmasi qavatlanadi. Bilirubin bo'lgan taqdirda ikkala eritma orasidagi chegarada yashil xalqa hosil qiladi. Sog'lom odam siydigi bilan o'tkazilgan reaksiya manfiy bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, olingan natijalarni daftaringizga yozib tegishli xulosa chiqaring.

**162-ish. SIYDIK pH I, OQSILI, GLUKOZALI,
KETON TANACHALARI, UROBILINOGEN VA
QONNI ARALASH TEST BO'LAKCHALARI
YORDAMIDA ANIQLASH**

Aralash test bo'lakchalari yordamida siydikning oltita asosiy ko'rsatkichlarini: pH, oqsil, glukoza, keton tanachalar, urobilinogen, qonni aniqlash mumkin.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: aralash test bo'lakchalari.

Bajariladigan ish tartibi. Siydik solingan idishga test bo'lakcha tushiriladi va 1 sekund tutiladi. Siydikning ortiqcha miqdori bo'lachalardan olinadi. 30-60 sekund vaqt o'tgach, bo'yoqlar standart shkala bilan solishtiriladi. Indikatorning chetida hosil bo'lgan bo'yoq yoki 2 daqiqa o'tgach hosil bo'lgan bo'yoq tashxisiy ahamiyatga ega emas. Siydik 4 soat turgandan so'ng ishlatilmaydi.

Oqsil. Siydikda oqsil bo'lgan taqdirda test bo'lakchalar sariqdan yashil ranggacha o'zgaradi (0,3; 1,0; 5,0; g/l) 0,25 g/l oqsil tutuvchi siydik kasallangan hisoblanadi.

Glukoza 60 sekund o'tgach, qizg'ish rangdan jigar ranggacha o'zgarsa, glukoza miqdori (5,55; 16,65; 55,55 mmol/l ga teng bo'ladi). Siydik glukozasining miqdori 2,2 mmol/l ga yetganda ham rang paydo bo'ladi.

Keton tanachalari. Ijobiy reaksiya pushti rangdan binafsha ranggacha kuzatiladi. Atsetosirka kislotaga test bo'lakchalarning sezgirliги atsetonga nisbatan yuqori, betta-gidroksimoy kislotaga nisbatan esa test bo'lakchalar ta'sirsiz. Aniqlash chegaralari uchun 400 mg/i gacha; atsetosirka kislotaga uchun 100 mg/i gacha.

Urobilinogen. Pushtidan qizil ranggacha ijobiy reaksiya (aniqlash chegarasi 4 mg/l).

Qon. Eritrotsitlar va gemoglobinni aniqlash uchun alohida shkala beriladi. Zararlanmagan eritrotsitlar alohida yoki zich yig'ilgan yashil nuqtalar xolida ko'rinadi (5-10, 50, 90 erit/mkl). Bir xildagi yashil bo'yoqlar erkin gemoglobin yoki zararlangan (gemolizlangan) eritrotsitlarni yoki mioglobinni belgilaydi (50, 250 erit/mkl). Siydik tarkibida oz miqdorda qon bo'lsa yoki test bo'lakchalar uzoq muddat ho'llansa, reaksiya 1-2 daqiqa orasida sodir bo'ladi.

Boshlang'ich xatolar. Ko'p miqdorga vitamin C iste'mol qilish va ayrim dorilarni qabul qilganda xato natijalar olish mumkin.

**163-ish. INDIKANGA SIFAT REAKSIYA
(OBERMEYR TAJRIBASI)**

Indikator – indoksisulfat kislotaning kaliyli yoki natriyli tuzi. Sog'lom siydik tarkibida juda kam miqdorda izlar holida uchraydi. Uni odatdagi reaksiyalar bilan aniqlab bo'lmaydi. Oqsillarning chirish jarayoni kuchayishi-ichaklarda ko'p miqdorda chirituvchi bakteriyalar bo'lishi, ich qotishi, ichaklarning buralishi natijasida siydikda indikan miqdori ortadi. Ularni aniqlash esa davolashda katta ahamiyat kasb etadi.

Usulning asosi. Kuchli mineral kislotaga ta'sirida indikaning efir bog'lari parchalanib indoksilga aylanadi. Indoksil o'z navbatida temir (III) xlorid bilan oksidlanib, rangli birikma hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: qo'rg'oshin atsetatning 100 g/l li eritmasi, konsentrlangan xlorid kislotaga, temir (III) xlorid. Obermeyer reaktivi (0,4 g temir (III) xlorid 100 ml konsentrlangan xlorid kislotada eritiladi), xloroform, 200 g/l natriy tiosulfat eritmasi.

Kerakli anjomlar: shtativlar, probirkalar.

Bajariladigan ish tartibi. O't pigmentlarini, tuzlarni va boshqa reaksiyaga xalaqit beruvchi moddalarni cho'ktirish uchun 4 ml siydikka 0,4 ml qo'rg'oshin atsetat eritmasi solinadi. Probirkadagi eritma filtrlanadi va 1-2 ml filtrat shuncha Obermeyer reaktivi bilan aralashtiriladi. So'ngra 0,5-1 ml xloroform qo'shib asta-sekin aralashtiriladi. Xloroform qavati (pastki qavat) ko'k yoki qizil rangga bo'yalgan taqdirda uni sekin surib olib, boshqa probirkaga o'tkaziladi va ustiga bir necha tomchi natriy tiosulfat eritmasi solinadi. Agar ushbu reaksiya ijobiy bo'lsa, xloroformning rangi natriy tiosulfat ta'sirida o'zgarmaydi. Sog'lom odam siydigi eritmasida urotropin bo'lishi indikan aniqlanishiga xalaqit beradi.

164-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI SIYDIK KISLOTA MIQDORINI ANIQLASH

Murakkab oqsillar sinfining vakili – nukleoproteidlar tarkibiga kiruvchi purin asoslari almashinuvining oxirgi mahsuloti sog'lom odamlar siydigida 1,6-3,54 mmol/sut (270-600 mg/s)ga teng. Podagra, nefrit, buyrak yetishmovchiligi kasalligida siydik kislotaning siydik bilan aralashishi kamayadi. Bu gipourikuriya deyiladi. Alimenter-fiziologik leykemiya, nukleoproteidlar parchalanishining ortishida siydik kislotasining siydikdagi miqdori ortishi kuzatiladi (giperurikuriya).

Kattalarnikiga nisbatan bolalar siydigida siydik kislotasi miqdori ko'proq bo'ladi. Siydikdagi siydik kislotasi miqdori iste'mol qilingan ovqat tarkibida nuklein kislotalarning – purin asoslarining miqdoriga va ularning parchalanish tezligiga bog'liq bo'ladi.

Podagra kasalligida siydik kislotasi tuzlari (uratlar) tog'aylarda, mushaklarda va bo'g'in shilliq xaltalarida yig'iladi. Qon tarkibidagi siydik kislotasi miqdori yuqori bo'lsa-da, siydik bilan kam miqdorda ajraladi.

Usulning asosi. Ushbu usul siydik kislotasi fosfor-volfram reaktivini fosfor-volfram ko'kkacha qaytarish xossasiga asoslangan. Rangning och-to'qiligi siydik kislotasi miqdoriga to'g'ri proporsional. Fosfor-volfram ko'kning miqdori qizil qon tuzi bilan titrlash orqali aniqlanadi. Qizil qon tuzi fosfor-volfram ko'kini oksidlaydi, natijada ko'k yo'qoladi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Kerakli reaktivlar: Folin fosfor-volfram reaktivi, natriy karbonatining 20% li eritmasi, kaliy ferrotsionid (qizil qon tuzi)ning 0,01n li eritmasi, 0,5 mg 1ml bo'lgan siydik kislotaning doimiy standart eritmasi.

Kerakli anjomlar: Mikroburetkalar, titrlar uchun stakanchalar.

Bajariladigan ish tartibi. 1,5 ml siydikka 1 ml 20% li natriy karbonat eritmasi va 1 ml Folinning fosfor-volfram reaktividan solib aralashtiriladi. Aralashma 0,01 n. qizil qon tuzi eritmasi bilan eritma rangsizlanguncha titrlanadi. Siydik kislotaning siydikdagi miqdorini hisoblash uchun 1 ml qizil qon tuzi eritmasiga qancha siydik kislotasi to'g'ri kelishini bilish kerak. Masalan, 0,75 mg siydik kislotasi tutuvchi 1,5 ml doimiy eritmani titrlash uchun 0,81 ml ferrotsionid eritmasi ishlatiladi. Shundan 1 ml ferrotsional (x) quyidagicha topiladi.

$$x = \frac{0,75}{0,81} - 0,8 \text{mg siydik kislotaga to'g'ri keladi.}$$

Hisoblash. Bir kunlik siydik tarkibidagi (mg) siydik kislotasi miqdori quyidagi tenglama bo'yicha topiladi:

$$x = \frac{0,8 \cdot a \cdot b}{1,5} = \text{mg da ifodalangan siydikdagi kislotasi miqdori.}$$

Bunda 0,8 mg siydik kislotasi 1 ml qizil qon tuzi eritmasiga to'g'ri keladi.

a - titrlash uchun ketgan qizil qon tuzi eritmasining hajmi, ml

b - bir kunlik siydik miqdori, ml. SI birligiga o'tkazish koeffitsiyenti (mmol/sut) 0,0059 ga teng.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Usulning asosini, olingan natija va xulosangizni chiqarib, daftaringizga yozing.

165-ish. SIYDIK TARKIBIDAGI FENILPIROUZUM KISLOTA MIQDORINI SIFAT REAKSIYA USULI BILAN OCHISH

Bolalar jigarida tug'ma 4-fenilalaningidroksilaza fermentining bo'lmashligi fenilalanin aminokislotaning gidroksidlanish jarayoni buzilishiga va tirozinga anomal (o'zgaragan) mahsulotlari, jumladan, fenilpirouzum kislotaning qonda va to'qimalarda ko'payishi miyaning rivojlanishi buzilishiga va bola ruhiyatida og'ir o'zgarishlar sodir bo'lishiga olib keladi. Bu irsiy kasallikni tasdiqlovchi ko'rsatkich qonda fenilpirouzum kislotaning ko'payishi va siydik bilan ajralishidir. Bunday holatni oligofreniya (aqliy zaiflik) deyiladi. Feling tajribasi:

Usulning asosi. Fenilpirouzum kislotasi uch valentli temir ionlari bilan ko'k-yashil rangli kompleks birikma hosil qiladi.

Tekshiriluvchi material: siydik

Reaktivlar: temir (III) xloridning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: tomizgichlar, filtrlar, 5 ml li pipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. 2 ml yangi filtrlangan siydikka 8-10 tomchi 10% li temir xlorid eritmasi solinadi. Siydikda fenilpirouzum kislotasi bo'lganda eritma 30-60 sekunddan so'ng ko'k-yashil rangga

bo'yaladi va fenilpirouzum kislota miqdoriga qarab 5-30 daqiqadan so'ng sekin-asta rangsizlanadi.

Bu tajribani filtr qog'ozida yoki bola choyshabida ham o'tkazish mumkin. Filtr qog'oz bo'lagi siydik bilan ho'llanadi, so'ngra havoda quritiladi va 10% li temir xlorid eritmasi tomiziladi. Yuqoridan ko'k-yashil rang paydo bo'lishi tajribaning ijobiy ekanligidan dalolat beradi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Daftaringizga fenilpirouzum kislotaning ko'payish sababini, kuzatiladigan holatni, usulning asosini va natijangizni yozib xulosa chiqaring.

166-ish. MUKOPOLISAXARIDLARGA SIFAT REAKSIYA

Sog'lom odam siydigida 2,7-7,5 mg/sut (asosan A, S, xodrotrin sulfat xolidagi) mukopolisaxaridlar uchraydi. Gargoilizm kasalligida va Gunter sindromida mukopolisaxaridlarning siydik bilan ajralayotgan miqdori 30-80 mg/sut ga yetadi.

Berri va Spinandjer tajribasi.

Usulning asosi. Mukopolisaxaridlarni kislotali muhitda toluidin ko'ki bilan ta'sirlanishidan qizil rang (metoxromaziya) hosil bo'ladi.

Tekshiriluvchi material: siydik.

Reaktivlar: toluidin ko'kning pH i 2 bo'lgan atsetat bufyerdagi 0,04% li eritmasi, sirka kislotaning 10% li eritmasi.

Kerakli anjomlar: filtr qog'ozi bo'lakchalari, mikropipetkalar.

Bajariladigan ish tartibi. Filtr qog'ozi bo'lakchasiga 1 sm oralatib 0,005; 0,01; 0,025 ml siydik tomiziladi va havoda quritiladi. Shundan so'ng qog'oz bo'lakchani 0,04% li toluidin ko'ki eritmasiga solinadi. Bir daqiqa o'tg'ach, qog'oz bo'lakcha bo'yovchi eritmadan olinib, 10% li sirka kislota eritmasida yuviladi. Siydik tarkibida mukopolisaxaridlarning miqdori 10 mg/100 ml dan ortiq bo'lsa, tomizilgan siydikning biror joyida qizil rang hosil bo'ladi. Gargoilizm kasalligida bu reaksiya yuqori nisbiy darajada bo'ladi.

Olingan natijalarni rasmiylashtirish. Olingan natija va xusolangizni daftaringizga yozing.

Quyidagi savollarga javob bering:

1. Bemorning siydigida qanday patologik birikmalar paydo bo'lishi mumkin?
2. Bemor siydigi bilan ajraladigan oqsil qanday kasallik belgisi borligini bildiradi?
3. Siydik tarkibidagi oqsilni aniqlash uchun qanday usullardan foydalaniladi?
4. Qanday kasallik holatlari siydik bilan qand ajralishiga olib keladi? Siydikdagi qand qanday usullar bilan aniqlanadi?
5. Polyarimetr-saxarimetr asbobining ishlash asosi nimadan iborat? Glukotest usulining-chi, uning afzalligi nimadan iborat?
6. Siydik keton tanachalariga qanday birikmalar kiradi? Qanday kasallik ularning miqdori oshishiga olib keladi? Ularni qanday usullar bilan aniqlash mumkin?
7. Qanday kasalliklarda siydikda qon paydo bo'ladi? Ularni aniqlashda qanday sifat reaksiyalar qo'llaniladi? Aniqlash usulining asosi qanday?
8. Bemorning siydigi bilan o't pigmenti ajralsa qanday kasallik haqida fikr yuritasiz? Bu holatning biokimyoviy mexanizmini tushuntirib bering. O't pigmenti qanday usullar bilan aniqlanadi? Usulning asosi qanday?
9. Aralash test-bo'lakchalar yordamida qanday siydik birikmalari aniqlanishi mumkin? Bu usulning afzalligi nimadan iborat?
10. Siydik tarkibidagi siydik kislota qanday usullar bilan aniqlanadi? Aniqlashning ahamiyati qanday?
11. Siydik indikani nima? Qanday usullar bilan bu birikma aniqlanadi, uning ahamiyati qanday?
12. Nima uchun siydikda fenilpirouzum kislota aniqlanadi? Uning bajarilishiga sabab nima?
13. Siydikda qanday mukopolisaxaridlar ajraladi? Uni aniqlashning ahamiyati nimadan iborat?
14. Bemor bolaning siydigi to'q qo'ng'ir rangga bo'yalganini bilgan shifokor qanday kasallik yoki hodisa haqida fikr yuritishi lozim va fikrni tasdiqlash uchun qanday qo'shimcha ko'rsatkichlarni aniqlamog'i kerak?
15. Bemorning siydigi xiralashgan. Bunga qanday o'zgarishlar sabab bo'lishi mumkin? Bunday holatni shifokor qanday izohlashi kerak? Bunday o'zgarish faqat buyrak kasalliklariga bog'liqmi?

16. Bemorning siydigidan meva hidi keladi. Faqat shu belgiga asoslanib, shifokor qanday kasallik ekanligini bilishi mumkinmi? U yana qanday belgilarga e'tibor berishi kerak?
17. Qandli va qandsiz diabet kasalliklari «poliuriya» belgilari bilan ifodalanadi. Bu kasalliklarni farqlash uchun qanday fizik-kimyoviy xususiyatlar aniqlanmog'i lozim, nima uchun? Bu hodisani qanday izohlash mumkin?
18. Siydik muhiti nima uchun aniqlanmog'i kerak? Qanday muhit o'zgarishlari kuzatiladi?
19. Siydik tarkibidagi minerallarni aniqlash bilan biror kasallikni bilish mumkinmi? Misol keltiring va izohlang.
20. Siydik tarkibida kreatin va kreatininlar miqdori ortgan. Bu qanday kasallik ko'rsatkichi bo'la oladi?
21. Siydik tarkibida ammoniy tuzlari miqdori keskin ortgan. Buning sababi nima? Qanday kasalliklarda bunday holat kuzatiladi?
22. Buyraklarning ajratuvchilik faoliyati buzilganligini qanday yo'llar bilan bilish mumkin? Bunda qanday o'zgarishlar yuz beradi?
23. Bir kunlik siydik bilan 123 mmol/l siydikchil ajralganini bilgan shifokor qanday fikrga keladi? Bunday holat qanday kasalliklarga oid belgi bo'lishi mumkin? Uning miqdori 725 mmol/l bo'lsa-chi?
24. Siydikdagi umumiy azotni qanday usullar bilan aniqlash mumkin? Qanday holatlarda siydikdagi umumiy azot aniqlanadi?
25. Siydikning tiniqligi o'zgargan, xiralashgan. Uning tarkibida oqsil bor-yo'qligini laboratoriyasiz sharoitda bilish mumkinmi? Qanday tadbir qo'llaniladi?
26. Oshqozon yarasi bor, juda darmonsiz, rangi oqargan, siydigining rangi o'zgargan. Bunday bemor siydigi bilan qanday tekshirish, o'tkazish lozim? Javobingizni izohlab bering.
27. Bemor axlatining rangi oqargan, siydigi to'q jigar rangga bo'yalgan. Bu qaysi kasallik belgisi? Bunday holatda siydikning qanday patologik birikmasini aniqlash kerak?
28. Bemor bo'g'inlari shishganligini va kuchli og'riq berayotganligini shifokorga aytdi. Bu shifokorning fikri qanday biokimyoviy o'zgarishlarga yo'naltirilishi lozim? Bemor siydigida qanday birikma aniqlanmog'i kerak?

AYRIM REAKTIVLAR VA PREPARATLARNI TAYYORLASH

(Barcha reaktivlar distillangan suvda tayyorlanadi).

1. Rangli reaktivlar uchun oqsil eritmasini tayyorlash.

1) 10 g tuxum oqsili 100 ml suvda eritilib, 1% li oqsil eritmasi tayyorlanadi (10 g tuxum oqsili 1 g oqsil tutadi). Bir dona tuxum oqsili 250 ml suvda eritilib, doka filtrdan o'tkaziladi.

2) Ot qon zardobi 5 marta 0,85% li natriy xlorid eritmasida suyutiladi. Oqsil eritmalar muzlatgichda saqlanadi.

2. Gidroliz uchun oqsil eritmasini tayyorlash. 2 dona tuxum oqsili 1 l suvda eritilib, doka filtrdan o'tkaziladi, eritma muzlatgichda saqlanadi. Tuxum oqsili gidrolizatini tayyorlash uchun 8 dona tuxum oqsili 4 l suvda eritilib, dokadan o'tkaziladi va eritma havoli sovutgich bilan birlashtirilgan dumaloq tubli kolbaga solinadi. Unga bir l konsentrlangan xlorid kislova qo'shiladi. Aralashma asbest to'r ustida qaynagandan so'ng 45 daqiqa qaynatiladi, so'ng filtrlanadi. Faollangan ko'mir ishlatilmaydi.

3. Cho'ktirish reaksiyasi uchun oqsil eritmasini tayyorlash. Sarig'idan ajratilgan tuxum oqsili 19-20 barobar hajmdagi suv bilan aralashtiriladi va bir necha qavatli doka yoki qavatlangan filtr qog'ozdan o'tkaziladi. Tuzlash uchun oqsil eritma: 3 ta tuxum oqsili 700 ml suv bilan va 300 ml to'yingan natriy xlorid eritmasi bilan aralashtiriladi.

4. Sog'lom me'da shirasini tayyorlash. 37 g natriy xlorid 7 ml konsentrlangan xlorid kislova, 2 ml konsentrlangan sut kislova (40%), 12 g pepton va 1700 ml suvda eritiladi hamda 2 qavatli dokadan o'tkaziladi. Eritma muzlatgichda saqlanadi.

Kislotaligi kamaygan me'da shirasi. 1700 ml suvga 37 g natriy xlorid, 3,5 ml konsentrlangan xlorid kislova, 2 ml konsentrlangan sut kislova solib tayyorlanadi.

5. Patologik me'da shirasini tayyorlash. Xlorid kislotasiz 1 ml me'da shirasigi 1 ml sut kislova (40%) va 13,5 ml limon kislova solingan qon (har gal aniqlashdan oldin 10 tomchidan) solinadi. Ushbu eritma qora idishda, muzlatgichda saqlanadi.

6. Sut-atsetat aralashmasini ivitish uchun pepsin. 100 ml pepsin 0,1 n xlorid kislova eritmasida eritiladi va 10-20 tomchi 2 n xlorid kislova (pH i 2,5) qo'shiladi. Eritma 3-4 soat turgandan so'ng uning hajmi 0,1 n xlorid kislova bilan 100 ml ga yetkaziladi. Shunda 0,1% li pepsin eritmasi olinadi.

7. Me'da osti bezi eritmasi (pankreatin). 5g quruq pankreatin 40-50 ml 2% li natriy gidrokarbonat eritmasida eritiladi va 50-60 ml suvdan pH i 8,0 gacha qo'shiladi. Fenoltalein bilan o'tkazilgan reaksiya kuchsiz ishqoriy bo'lishi kerak. Pankreatin eritmasi har 2 kunda tayyorlanib, muzlatgichda saqlanadi

8. Me'da osti bezi preparatini tayyorlash. Qoramol yoki cho'chqa me'da osti bezi yog'lardan tozalanadi va maydalanadi, so'ngra 3 barobar hajmda atseton solib, 10-12 soat davomida yog'sizlantiriladi. Atseton to'kib tashlanadi va atseton bilan yog'sizlantirish yana 1-2 marta qaytariladi. Atseton filtrlanadi, cho'kma avval spirt bilan, so'ngra efir bilan yuviladi va filtr qog'ozlari orasida havoda quritiladi. Olingan mahsulot hovonchada maydalanadi.

9. Quruq tuxum sarig'ini tayyorlash. Tuxum sarig'i oyna plastinkasiga surtilib, xona haroratida, havoda quritiladi. Quritilgan sariqliq oyna plastinkasidan qirib olinadi va hovonchada kukun holatigacha maydalanadi.

10. Sut-atsetat aralashmasini tayyorlash. Yangi sog'ilgan sut (nisbiy zichligi 1,030) pH i 4,9 atsetat bufer eritmasi bilan 1:1 nisbatda aralashtiriladi. Bu aralashma yopiq holatda muzlatgichda 2 hafta saqlanishi mumkin. Bu aralashma kengayuvchi voronkada qoldirilib, tingan yog' oson olib tashlangan taqdirda aralashmaning ishlatilishi yanada qulay bo'ladi. Quritilgan sut kukunidan foydalanilsa, uning 2,5 osh qoshig'i bir stakan iliq suvda eritilib, qaynatiladi va yuqoridagidek 1:1 nisbatda pH i 4,9 bo'lgan atsetat buferi bilan aralashtiriladi.

11. Kumushning ammiakli eritmasi. 1-3% li kumush nitrat eritmasiga konsentrlangan ammiak eritmasidan cho'kma eriguncha qo'shiladi. Shunda kumush gidroksidning ammiakli eritmasi hosil bo'ladi.

12. Kumush nitratning 2% li eritmasi. 2g kumush nitratga 100 ml suv solib kumushning ammiakli eritmasi tayyorlanadi.

13. Kumush nitratning 0,1 n eritmasi. 16,988 g kumush nitrat 1 l li o'lchov kolbasiga solinib, suv bilan aralashtirilib, hajmi 1 l ga yetkaziladi. 0,01n eritma esa shu 0,1n eritmadan ishlatish oldidan tayyorlanadi. Uning titri 0,01 n natriy xlorid (0,585g-1 l suv) eritmasi yordamida aniqlanadi.

14. pH i 5 bo'lgan atsetat bufer eritmasi. 45g (kim.toza) natriy gidroksid avval 400-500 ml suvda eritiladi. Ushbu eritma sovitilgach, 1 l li kolbaga o'tkazilib, 115 ml muzli sirka qo'shiladi va eritmaning umumiy hajmi 1 l ga yetkaziladi.

15. pH i 4,8 bo'lgan atsetat eritmasini tayyorlash. 1) 9,1n natriy atsetat eritmasini tayyorlash uchun ushbu tuzdan 27,22g olib, 1 l hajmgacha o'lchov kolbada eritiladi.

2) 0,2 n sirka kislotasi eritmasi (fiksanoldan) tayyorlanadi. Birinchi eritmadan 480 ml va ikkinchisidan 520 ml olib aralashtiriladi va uning pH i tekshiriladi.

16. Absolut spirt. Buning uchun suvsiz mis (II) sulfatdan foydalaniladi. 220°C da qurilituvchi shkafda suvsizlantiriladi. Tuz rangsizlanguncha aralashtirilib turiladi. Suvsiz mis (II) sulfatga 95% li etil spirt solinadi va yaxshilab aralashtiriladi. Mis (II) sulfat ko'karadi, demak, spirtidagi suvni tortib oladi, ushbu jarayon mis (II) sulfat rangsiz holga kelguncha bir necha bor yangi tuz qo'shish bilan qaytariladi.

17. Benzidinning 1% li eritmasi. 1g benzidin muzli sirka kislotada eritilib, hajmi 100 ml ga yetkaziladi, qora idishda, sovitgichda saqlanadi (asosli benzidin ishlatiladi).

18. Bilirubinning asosiy eritmasi. 8 mg bilirubin 7 ml 0,1M suvsiz natriy karbonatda (1,06 g suvsiz natriy karbonat 100 ml hajmgacha eritiladi) eritilib, hajmi shu eritma bilan 10 ml ga yetkaziladi. Bilirubinning ishchi eritmasi 8 marta suyultirilgan asosiy eritmadan tayyorlanadi. Buning uchun 7 ml yangi gemolizlangan zardobga 1 ml yangi tayyorlangan bilirubinning 80% li eritmasi va 0,05 ml (1 tomchi) 4 n sirka kislotasi eritmasi (22,6 ml muzli sirka kislotasi 100 ml hajmgacha suv bilan yetkaziladi) qo'shiladi. Eritma yaxshilab aralashtiriladi. Ishchi eritma sovitgichda saqlanganda bir sutkagacha turg'un bo'ladi.

19. Molibden reaktivi. 7,5 g ammoniy molibdat tuzi 50 ml konsentrlangan azot kislotada suyultiriladi.

20. Biuret reaktivi. 1,5 g mis sulfat va 60 g kaliy tartarat 300 ml 10% li natriy gidroksid eritmasida suyultiriladi va reaktivning umumiy hajmi 1 l ga distillangan suv bilan yetkaziladi.

21. Foli reaktivi. 1,5-2 l li dumaloq tubli kolbaga 100 g natriy molibdat tuzi solib, 700 ml distillangan suvda eritiladi. Eritmaga 50 ml 80% li fosfat kislotasi eritmasi va 100 ml konsentrlangan xlorid kislotasi solinadi. Kolba qaytar sovitgich bilan biriktiriladi va 10 soat davomida qaynatiladi, so'ngra 150 g litiy sulfat, 50 ml suv va 3-4 tomchi brom qo'shiladi. Eritma xona haroratigacha sovitiladi va uning hajmi 1 l gacha suv bilan yetkazilib filtrlanadi. Eritma tiniq-sariq rangli bo'ladi. Ushbu eritma qora idishda saqlanadi va ishlatishdan oldin 1:1 nisbatda suyultiriladi.

22. Poliakrilamid gel elektroforez usuli uchun reaktivlar.

1-reaktiv. 1 mol/l xlorid kislota eritmasi – 48 ml; TRIS (trioximetileniminometanxloridrat) – 3,6 g. TMED – 0,23 ml 100 ml hajmga distillangan suv bilan yetkaziladi.

2-reaktiv. Akrlamid–30; metilen-bis-akrilamid – 0,8g; distillangan suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

3-reaktiv. 14 g ammoniy peroksidisulfat 100 ml suvda eritiladi. Tajriba oldidan tayyorlanadi.

23. Arginaza faolligini aniqlash uchun reaktiv.

1) Kalamush jigaridan ferment preparatini tayyorlash: muz ustida turgan to'qima qaychi bilan obdan maydalanib gomoginazitsiyalanadi. Oldin sovitilgan atsetonning 10 barobar hajmi bilan, so'ngra oz miqdordagi efir bilan ishlov berilib, atseton va efir filtrdan o'tkaziladi. Cho'kma Byuxner voronkasida quritiladi va mayda kukun holigacha yetkaziladi. Quruq efir atsetonli kukun muzlatgichda saqlanadi. Tajriba oldidan bu kukun 10 barobar hajmdagi glitsin bufer (pH i 9,5) bilan 20 daqiqa ekstraksiya qilinadi;

2) Glitsin buferi (pH i 9,5) 80 ml 0,1 mmol/l glitsin eritmasi 20 ml 0,01 mmol/l natriy gidroksid eritmasi bilan aralashtiriladi. 0,1 mmol/l pirofosfat (pH i 9,5) eritmasidan foydalanish mumkin;

3) Temir (III) xloridning asosiy eritmasi. 5 g temir (III) xlorid suvda eritilib, hajmi 100 ml ga yetkaziladi, unga 8 ml konsentrlangan sulfat kislota qo'shiladi.

24. Fosfat buferni tayyorlash. 11,9 g dinatriy gidrofosfat (mol. mas 178,01) va 9,1 g kaliy digidrofosfat (mol. mas 136,09) tuzlari yaxshilab qaynatilgan distillangan suvda alohida eritiladi. Har bir eritilgan tuzning hajmi (11 ga suv bilan yetkaziladi. Kerakli pH da bufer eritma tayyorlash uchun I va II eritmalar jadvalga binoan aralashtiriladi).

89-jadval

Buf er pH i	Natriy gidrofosfat, ml	Kaliy digidrofosfat, ml	Buf er pH i	Natriy gidrofosfat, ml	Kaliy digidrofosfat, ml
5,59	0,5	9,5	6,95	6,0	4,0
5,91	1,0	9,0	7,17	7,0	3,0
6,24	2,0	8,0	7,38	8,0	2,0
6,47	3,0	7,0	7,42	9,0	1,0
6,64	4,0	6,6	8,04	9,5	0,5
6,81	5,0	5,0			

25. pH i 8,6, 0,05 ion kuchlanishli veronal-barbital buferi. 10,32 natriy barbital 300 ml suvda eritiladi, unga 1,84 g barbital qo'shiladi va suv hammomida barbital eriguncha qizdiriladi, so'ngra hajmi 11 ga yetkaziladi.

26. pH i 8,6 veronal-atsetat, barbital-atsetat buferlar. 300 ml suvda 3,4 g barbital, 0,95 g natriy ishqori va 3,24 g natriy atsetat eritiladi. So'ngra eritmaga 30 ml 0,1 M xlorid kislota solib, umumiy hajmi 11 ga yetkaziladi.

27. pH i 9,0 glitserofosfat buferi. 2,15 g natriy betta-glitserofosfat va 2,15 g barbital natriy suvda eritilib, umumiy hajmi 500 ml ga yetkaziladi. Uning pH i tekshiriladi. Eritma toluol qatlami tagida muzlatgichda saqlanadi.

28. Giposulfat (tiosulfat) ning 0,005 n eritmasi. Ishlatishdan oldin 0,1 fiksanol tayyorlanadi. 5 ml 0,1 n eritma 100 ml sig'imli o'lchov kolbasiga solinib, hajmi 100 ml gacha suv bilan yetkaziladi. Fiksanol bo'lmasa, 25 g natriy tiosulfat 11 yaxshilab qaynatilgan va sovitilgan suvda eritiladi. Eritma tayyorlangandan 10 kun o'tgach, uning titri bir necha marta titrlangan KJO₃ eritmasi yordamida aniqlanadi. 0,005 n kaliy yod eritmasi 0,1782 g KJO₃ ni distillangan suvda eritish va hajmini 1 l ga yetkazish bilan tayyorlanadi. Natriy tiosulfat eritmasining titrini aniqlash uchun 2 ml KJO₃ eritmasiga 2 ml 3% li uchlamchi xlor-rux-yodli eritma, 2 tomchi kraxmal eritmasi qo'shiladi va ajralgan yod (J₂) tiosulfat eritmasi bilan rangsizlanguncha titrlanadi

29. Bilirubin miqdorni aniqlash uchun diazoreaktiv. 1-diazoreaktiv. 5 g (suvsiz toza) sulfanil kislota 300-400 ml suvda yengil qizdirish bilan (vodoprovod tagidagi) issiq suvda eritiladi va 15 ml konsentrlangan xlorid kislota qo'shiladi. To'liq erigandan va sovitilgandan so'ngra hajmi 1 l ga yetkaziladi.

2-diazoreaktiv. 0,5% li natriy nitrat ishlatishdan oldin tayyorlanadi.

Diazoaralashma. Birlirubinni aniqlashdan oldin 10 ml 1-diazoreaktiv va 0,30 ml 2-diazoreaktiv aralashtiriladi.

30. 2,4-dinitrofenilgidrozinning (2,4-DNFG) 0,1% li eritmasi va 20 ml konsentrlangan xlorid kislota 100 ml hajmga suv bilan yetkaziladi (taxminan 2 n NClO) 100 mg 2,4-DNFG ga sekin-asta to'liq eriguncha 100 ml tayyorlangan 2 n xlorid kislota eritmasi qo'shiladi. So'ngra eritma filtrlanib, muzlatgichda saqlanadi: agar 2,4-DNFG eritmasi yomon erisa, eritma yana bir sutkaga qoldiriladi, so'ngra u chayqatilib issiq suv oqimida qizdiriladi.

31. Difenilamin reaktivi. 1 g difenilamin (70% li spirt va petroliyi eferda 2 marta qayta kristallangan) 2,75 m konsentrlangan sulfat kislotada va 100 ml muzli sirka kislotada aralashmasida eritiladi.

32. 2,6-dixlorfenolindofenol (2,6-DXFIF) natriyli tuzining 0,001 n eritmasi. Bu eritmani tayyorlash uchun bufer fosfat aralashmasi (1/15M Srensen bo'yicha) ishlatiladi, chunki suvli eritmada indikator tez parchalanadi. Buning uchun 9,078 g kaliy degidrofosfat va 11,867 g natriy gidrofosfat 1 l suvda eritiladi. Eritmalar alohida saqlanadi. So'ngra ular 2:3 nisbatda pH i 6,9-7,0 bo'lguncha aralashtiriladi. 0,25 g bo'yoq tortib olinadi va unga 70 ml suv qo'shilib chayqatiladi. Unga 300 ml bufer aralashma qo'shiladi. Keyingi kuni eritma filtrlanib yaxshilab aralashtiriladi. Uning titri Mor tuzi eritmasi yordamida aniqlanadi. Buning uchun kichik kolbaga 10 ml indikator o'lchab olinadi, unga 5 ml to'yingan ammoniy oksalat eritmasi solinadi va 0,01 g sariq Mor tuzi eritmasi bilan titrlanadi. 0,01 Mor tuzi eritmasini tayyorlash uchun 3,92 g tuz 1 l 0,02 n sulfat kislotada eritmasida eritiladi. Mor tuzi eritmasining titri esa kaliy permanganatning 0,01 n eritmasi yordamida aniqlanadi.

33. Glukozani Xagedorn-Yensen usuli bilan aniqlash uchun kaliy ferrotsianidning (qizil qon tuzi) 0,005 n ishqoriy eritmasi. Tortib olingan (kimyoviy toza) 1,62 g qizil qon tuzi 1 l li kolbadagi suvda eritiladi, unga 10,6 suvsiz natriy karbonat solib, hajmi 1 l ga suv bilan yetkaziladi. Eritma qora idishda, muzlatgichda saqlanadi. Ushbu preparat uch valentli temir (Fe^{3+}) va ferrotsianid birikmalari yo'qligida tekshirilgan bo'lishi kerak. Ikkala birikmaga o'tkazilgan sifat reaksiyalar manfiy bo'lishi lozim. a) 1 ml 5% li qizil qon tuzi eritmasiga 1 tomchi 1% li sulfat kislotada va 1 tomchi 10% li kaliy ferrotsianid eritmasi solinadi. Temirning uch valentli bo'lishi eritmani ko'k rangga kiritadi. b) 1 ml 5% li qizil qon tuzi eritmasiga 2 tomchi 2% li temir (III) xlorid va 2 tomchi xlorid kislotada eritmasi solib aralashtiriladi. Kaliy ferrotsianidning eritmada bo'lishi ko'k rang hosil bo'lganidan bilinadi.

34. Siydik kislotani aniqlash uchun kaliy ferrotsianidning 0,01 n eritmasi. 3,292 g qizil qon tuzi va 2 g natriy ishqoriy 1 l suvda eritiladi. Reaktiv titri siydik kislotaga nisbatan aniqlanadi. Buning chun 1,5 ml siydik kislotaning doimiy eritmasiga 1 ml 20% li natriy arbonat va 1 ml fosfat-volfram reaktivi qo'shiladi. Hosil bo'lgan o'k rang rangsizlanguncha titrlanadi va 1 ml qizil qon tuziga qancha yidik kislotada to'g'ri kelishi topiladi. □

5. Indigokarmin eritmasi. 1 g indigokarmin chinni hovonchada eziladi, 50 ml konsentrlangan sulfat kislotada eritilib, asta-sekin hajmi 1 l ga suv bilan yetkaziladi, so'ngra filtrlanadi. Reaktiv qora idishda saqlanadi. Uning yaroqliligi 7-10 kun.

36. Tashiro indikatori (asosiy eritma). 40 ml 0,1% li metil-qizilning spirtli eritmasi va 10% li metil-ko'kning spirtli eritmasi. **Ishchi eritma.** 1 hajm asosiy eritma, 1 hajm spirt, 2 hajm suv, kislotali muhit (pH i 4,4) da, binafsha-qizil ishqoriy muhit (pH i 6,2) da yashil rang kuzatiladi.

37. Yodning asosiy eritmasi. Qon zardobi amilazasini mikroekspress usuli bilan aniqlash uchun 0,25 g yod kristallari va 0,86 kaliy yodid 20 ml suvda eritiladi.

38. Yodning ishchi eritmasi. Yodning asosiy eritmasi 50 marta 0,2 n xlorid kislotada suyultiriladi. Eritma bir soat davomida turg'un; ishlatishdan oldin tayyorlanadi.

39. Kraxmalning 0,1% li eritmasi (ishchi eritma). Qon zardobi amilazasini aniqlash uchun 100 mg eritilgan kraxmal 1 ml sovuq suvda eritiladi, so'ngra to'liq erishi uchun issiq suvga o'tkaziladi. Xona haroratida sovitilgach, hajmi 100 ml ga suv bilan yetkaziladi. Muzlatgichda 5 kungacha saqlanadi.

40. Xagedorn-Yensen usuli bilan qandni aniqlash uchun kraxmalning 1% li eritmasi. 1 g eriydigan kraxmalga 100 ml xloridning to'yingan eritmasi solinadi va kimyoviy stakanda doim aralashtirib turgan holda qizdiriladi.

41. Kofein reaktivi. 5 g toza kofein 7,5 g natriy benzoat va 12,5 natriy atsetat 70 ml suvda past haroratda qizdirish yo'li bilan (80°C gacha) eritiladi. So'ngra hajmi 10 ml ga suv bilan yetkaziladi. 2 hafta saqlash mumkin.

42. Fosforni aniqlash uchun Molibden reaktivi. Natriy benzoat va 12,5 g natriy atsetat 70 ml suvda eritilib, 500 ml konsentrlangan azot kislotada qo'shiladi.

43. Ammoniy molibdatning 2,5% li eritmasi. Blyur usuli bo'yicha «P» ni aniqlash uchun 2,5 g ammoniy molibdat 50 ml 10 n sulfat kislotada eritilib, hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

44. Mis reaktivi. 6,45% li mis nitrat uchgidrat eritmasidan 10 hajm, 1M trietanoamin (nisbiy massasi 149) eritmasidan 9 hajm va 1 n sirka kislotada 1 hajm tayyorlanadi.

45. Ortotoluidan reaktivi. 0,15 g timochevina 94 ml kimyoviy toza muz sirka kislotada eritilib, 6 ml rangsiz O-toluidin eritmasi bilan aralashtiriladi. Reaktiv deyarli turg'un holda muzlatgichda saqlanadi.

46. Pirouzum kislota. 50 mg pirouzum kislota yoki 62,5 mg pirouzum kislotaning natriyli tuzi 100 ml suvda eritiladi. Eritmaning 1 ml iga 0,5 pirouzum kislota to'g'ri keladi. Ishlatishdan oldin eritma 10 marta suyultiriladi (1 ml eritma 50 mg PUK tutadi).

47. Glukozani aniqlash uchun ishchi reaktiv. 80 ml pH i 4,8 bo'lgan 0,25 n atsetat buferga 2 mg glukooksidaza va 1 mg quruq kristallik peroksidaza qo'shiladi. So'ngra 1 ml 1% li O-toluidining absolut spirtidagi eritmasidan solib, hajmi 100 ml ga atsetat bufer bilan yetkaziladi. Eritma muzlatgichda qora idishda saqlanadi. Barcha fermentlar qo'shiladi. Ishlatishdan oldin eritma xona haroratiga keltiriladi.

48. Saxarozaning 0,25 M eritmasi. Tajribada 0,02 M (pH 7,4) tris-bufer tutuvchi eritma. 0,2M tris-bufer eritmasi (nisbiy massasi 121,14 bo'lgan oqsimetil-aminometanxloridrat tayyorlanadi). 24,33 g tris 1 l suvda eritiladi. 0,2M eritmadan 0,02M eritma tayyorlanadi. Buning uchun 10 ml 0,2M trisga 0,1 n natriy gidroksid eritmasi «Rifan» indikator ishtirokida pH i 7,4 bo'lguncha tomiziladi. So'ngra umumiy hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi. Saxarozaning (nisb. molekul. massasi 339) 0,25 M eritmasi: 84,75 g saxaroza 0,02M tris-buferga eritiladi.

49. Xromatografiya usuli uchun aminokislota eritmalari. Aminokislotalar (0,04) 1/25M miqdorda eritiladi.

10 ml suvda eritiladi:

glutamin kislota	60 mg
alanin	40 mg
leysin	50 mg

yoki quyidagi aminokislotalarning aralashmasidan foydalanish mumkin (10 ml suvda eritiladi).

1. Glutamin kislota	60 mg
glitsin	40 mg
alanin	40 mg

2. Glutamin kislota	60 mg
leysin	50 mg

3. Asparagin kislota	60 mg
serin	40 mg
leysin	60 mg

4. Asparagin kislota	60 mg
glitsin	40 mg
leysin	60 mg

Aminokislotalarning eruvchanligini oshirish uchun uni suv hammomida qizdirish mumkin.

50. Xlorid kislota bilan ishlangan aluminiy oksid. 500 g (kimyoviy toza) aluminiy oksid chinni hovonchaga solinib, ustiga 2 l 2 n xlorid kislota qo'yiladi va 30-40 daqiqa davomida shisha tayoqcha bilan doimo aralastirib turgan holda qizdiriladi. Qizdirish tugatilgach va xlorid kislota eritmasi cho'kmaga tushgach, suyuqlik olib tashlanadi. Yuqoridagi yuvish reaksiyasi yana bir bor takrorlanadi. So'ngra cho'mka ustidagi suyuqlik olib tashlanadi, uning ustiga 1 l bidistillangan suv quyiladi. Aluminiy aralashmasi Byuxner voronkasiga o'tkazilib, aluminiy oksidi yuvindi suvning pH i 6 bo'lguncha bir necha marta yuviladi. Aluminiy oksid qurituvchi shkafda 200-500°C da 4 soat davomida quritiladi. Xlorid kislota bilan ishlov berilgan aluminiy oksid xromatografiyaning ikkinchi bosqichi uchun ishlatilish mumkin.

51. Kaliy yodidagi yodning 10% li eritmasi. 20 g kaliy yodid va 10 g yod 50 ml suvda eritilib, hajmi 100 ml ga keltiriladi. Kraxmalga reaksiya o'tkazish uchun olingan eritma 10 marta suyultiriladi.

52. Gipobromid eritmasi. 5 ml brom 30% li natriy gidroksidning 100 ml ida, sovuqda havo tortgich shkafda eritiladi. Eritma ishlatilish oldidan 6 marta (1:5) 10% li natriy gidroksid eritmasi bilan suyultiriladi.

53. Millon reaktivi. 40 g simob xona haroratida 60 ml konsentrlangan azot kislotada (nisbiy zichligi 1,40) eritiladi, so'ngra eritma azotning oksidlanishidan ajralgan qo'ng'ir bug'lar tugaguncha iliq suv hammomiga joylashtiriladi va eritma aralastiriladi.

54. Feling reaktivi. Kimyoviy toza mis kuporosi issiq eritmada kristallanib, filtr qog'ozda quritiladi. Alohida 2 xil eritma tayyorlanadi: a) 200 g segnet tuzi va 150 g o'yuvchi natriy ishqoriy o'lchov kolbasida eritiladi va uning hajmi belgilangan chegaragacha yetkaziladi. b) 40 g mis kuporosi 1 l li kolbada eritiladi. Ishlatishdan oldin ikkala eritma teng hajmda aralastiriladi.

55. 0,1 n natriy gidroksid eritmasi. 50 g kimyoviy toza o'yuvchi natriy 40 mg karbonat angidridsiz suvda eritiladi va shu zahoti kauchuk probka bilan zich berkitiladi, shisha idishga solinadi. Kuchli ishqorda erimagan natriy bikarbonatning (soda) kristallari hosil bo'lguncha bir necha kun saqlanadi. 6 ml ishqor 1 l hajmga yetguncha suv bilan suyultiriladi. Eritmaning normalligi fiksonaldan tayyorlangan 0,1 n xlorid kislota bilan tekshiriladi. 0,05 n natriy gidroksid eritmasi 20 ml gacha suyultiriladi.

56. 0,1 n sulfat kislota eritmasi. 2,8 ml sulfat kislota (nisb. zichligi 1,84) suv bilan 1 l hajmga yetkaziladi. Uning titri natriy gidroksidning titrlangan eritmasi bilan aniqlanadi. 0,01 n sulfat kislota eritmasi 0,1 n eritmadan tayyorlanadi. 100 ml 0,01 n sulfat kislota bilan 1 l hajmgacha suyultiriladi.

57. «NADI» reaktivi (ishlatilishidan 1 soat oldin tayyorlanadi). Dimetilparafenilendiaminning suvdagi 1% li eritmasi alfa-naftolning spirtidagi 1% li eritmasi va natriy karbonatning 1,5% li eritmasi bilan teng hajmda aralashtiriladi. «NADI» reaktivi to'q jiggarangacha bo'yaladi, u pushti tuz bo'lmasligi kerak. NADI ning yangi tayyorlangan eritmasidan foydalaniladi, saqlanganda u tez o'zgaradi.

58. Kaliy permanganatning 1 n eritmasi. 32 g kaliy permanganat eritmasi 50 ml issiq suvda (70-80°C) eritilib, hajmi 1 l ga yetkaziladi. Uning titri fiksonaldan tayyorlangan 1 n shovul kislota bilan aniqlanadi. 0,05 n eritmadan 200 marta suyultirib tayyorlanadi.

59. Shisha kranlar uchun surtma. 1) 3 qism vazelin va 1 qism parafindan (parafinning erish harorati 55°C). 2) 500 g vazelin va 10 g tabiiy kauchuk (mayda bo'lakchalari) 100°C li suv hammomida kauchuk eriguncha qizdiriladi (taxminan 6 kun). Issiq qotishma quyilishi uchun unga bir chimdim mum solinadi. Agar surtma suyuq bo'lib qolsa, unga yana bir chimdim mum solinadi.

60. Azotni aniqlash uchun standart eritmalar. Ammoniy sulfat eksikatorida doimiy og'irlikkacha quritiladi. Analitik tarozilarda tortib olingan 0,9432 g ammoniy sulfat 1 l suvda eritiladi (1 ml eritma 0,2 mg azot tutadi (yoki 0,4716 g si 1 l suvda eritiladi) 1 ml eritma 0,1 azot tutadi).

61. Kreatininni aniqlash uchun standart eritmasi. 100 mg kreatinin 100 ml suvda eritiladi (1 ml eritmada 1 mg kreatinin bo'ladi).

62. Siydik kislotaning standart eritmasi. 0,5 g toza eksikatorida yaxshilab quritilgan siydik kislotaga 0,5 g litiy karbonat, 25 ml suv qo'shib, 50-60°C da eriguncha qizdiriladi. Eritma sovitilgach, hajmi suv bilan 1 l yetkaziladi (1 ml eritmada 0,5 siydik kislota bo'ladi).

63. Suv bilan to'yingan toluol. 250 ml toluol 250 ml suv bilan voronkada 10-15 daqiqa chayqatilib, tindiriladi, toluol qavati ehtiyotkorlik bilan ajratib olinadi.

64. Uchlamchi xlor-yod-rux eritmasi. 50 g rux sulfat va 250 g natriy xlorid 1 l kolbaga solib eritiladi va hajmi suv bilan belgilangach yetkaziladi va filtrlanadi. Faqat ishlatish oldidan eritmaning bir qismiga 2,5 g kaliy yodid qo'shiladi va hajmi yuqoridagi aralashma bilan 100 ml ga yetkaziladi.

65. Suv bilan to'yingan fenol. 100 ml fenol ayiruv voronkasiga solinadi (oldindan suv hammomida 45°C gacha qizdirilgan) va unga 25 ml suv qo'shib chayqatiladi, so'ngra yetti qismga ajralguncha qoldiriladi (fenolning pastki qavati rangsiz bo'lishi kerak). Pastki qavatdagi fenol aminokislotalar qog'oz xromatografiya usuli bilan ajratish uchun ishlatiladi. Fenol bilan ehtiyot bo'lib ishlash kerak.

66. Follikulinni aniqlash uchun Folin reaktivi. Qaytar muzlatgich o'rnatilgan kolbaga 100 g natriy volframat, 20 g fosfat molibdat kislota, 50 ml fosfat kislotaning 85% li eritmasi va 750 ml suv solinadi. Qaytar muzlatgich o'rnatilgan kolba probka bilan berkitilib, 10 soat davomida qaynatiladi, eritma sovitilgach, uning hajmi suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

67. Fenolftaleinning spirtidagi 0,5% li eritmasi. 1 g fenolftalein 100 ml spirtida eritilib, unga suv qo'shiladi.

68. pH i 6,9 bo'lgan fosfat buferning 0,03M eritmasi. 0,01M natriy gidrofosfat eritmasi va 0,1M natriy degidrofosfat eritmasi 1:1 nisbatda aralashtiriladi va 0,1M natriy xlorid eritmasi bilan 3 matra suyultiriladi. Eritma sovuqda saqlanganda 5-7 kun turg'un bo'ladi.

69. Kaliy degidrofosfat eritmasi. Kaliy fosfat 120°C da doimiy massagacha quritiladi. 1 l suvda 4,9 g kaliy fosfat eritiladi (1 ml eritmada 1 mg fosfat bor).

70. Natriy gidrofosfatning ikki uratli tuzi eritmasi. 12 molekula suvli natriy fosfat shishaga yupqa qavat qilib sepiladi va chang tushmaydigan quruq joyda 12-14 kun saqlanadi. Tuz ma'lum suvni yo'qotib, natriy gidrofosfatga aylanadi. Natriy fosfat massasining doimiy bo'lishi bug'lanish to'xtaganligini bildiradi.

71. Siydik kislotani aniqlash uchun Folin-fosfovolfram reaktivi. 100 g natriy volframatning nordon tuzi, 80 ml 85% li fosfat kislota 900 ml suv bilan aralashtiriladi va 2 soat davomida qaynatilib, sovitiladi. Shundan keyin hajmi 1 l ga yetkaziladi.

72. Fraksiyalovchi eritma. Gel filtratsiya uchun eritma uchta modda aralashmasidan iborat: riboflavin (vitamin B₂) ning to'yingan

eritmasi, gemoglobinning 20% li eritmasi, ko'k dekstrinning (100 ml suvga 50 mg dekstrin to'g'ri keladi) to'yingan eritmasi, Akroleks F-200 bilan to'ldirilgan kolonkaga 2 tomchi aralashma kirgiziladi.

73. Eykonogenning ishqoriy eritmasi (alfa-1,2,4-aminofolsulfat kislota). 100 ml suvda 30 g natriy gidrosulfid eritiladi va unga 0,5 g eykogen qo'shiladi. 6 g suvsiz natriy sulfid ozgina suvda alohida eritiladi. Ikkala eritma aralastirilib, hajmi suv bilan 250 ml ga yetkaziladi. 2-3 soatdan so'ngra eritma filtrlanadi. Ishqoriy eritma (10 ml) distillangan suvi bilan 2,5 marta suyultiriladi.

Orsin reaktivi. 1. Konsentrlangan xlorid kislota temir (III) xlorid ($FeCl_3$) ning 0,1% li eritmasi.

2. Tayyorlangan 0,1% li temir (III) xloridning 10 ml ida 100 mg orsin eritiladi.

74. Akroleks R-200 yoki R-100. Natriy xloridning izotonik eritmasi bilan gidratlanadi. Buning uchun 25 g akroleks 800 ml 0,85% li natriy xlorid eritmasi bilan to'ldiriladi va keyingi kungacha qoldiriladi. Bo'rttirilgan gomogen mahsulot hosil bo'ladi. Uning yuqorisida izotonik natriy xlorid eritmasining qavati bo'lishi kerak. Bo'rttirilgan akroleks yopiq idishda, xona haroratida bir necha kun, muzlatgichda esa ko'proq saqlanadi.

Eritmalarning nisbiy zichliklari

nisbiy zichligi	Nitrat kislota			Xlorid kislota			Ammiak			Natriy gidroksid		
	molar eritma	100 g miqdori	nisbiy zichligi	molar eritma	100 g miqdori	nisbiy zichligi	molar eritma	100 g miqdori	nisbiy zichligi	molar eritma	100 g miqdori	
1,100	2,985	17,10	1,100	6,037	20,01	0,960	5,58	9,91	1,100	2,47	8,99	
1,200	6,159	32,34	1,110	6,673	21,92	0,950	7,10	12,74	1,120	3,02	10,79	
1,300	9,795	47,48	1,120	7,371	23,82	0,940	8,63	15,63	1,140	3,59	12,59	
1,340	11,49	54,07	1,130	7,981	25,75	0,930	10,18	18,64	1,160	4,17	14,39	
1,360	12,42	57,57	1,140	8,648	27,66	0,920	11,75	21,75	1,180	4,78	16,19	
1,380	13,42	61,27	1,150	9,327	29,57	0,910	13,35	24,99	1,200	5,40	17,99	
1,440	17,06	74,68	1,160	10,03	31,52	0,900	14,97	28,33	1,220	6,04	19,80	
1,460	18,53	79,98	1,170	10,74	33,46	0,890	16,59	31,75	1,240	6,70	21,60	
1,480	20,21	86,05	1,180	11,45	35,38	0,882	18,10	34,95	1,260	7,37	23,42	
1,500	22,39	94,09	1,190	12,15	37,23				1,280	8,08	25,25	
1,510	23,50	98,10	1,200	12,87	39,11				1,300	8,79	27,07	
1,520	24,04	99,67										

91-jadval
Homilador ayollar, emizikli bolali ayollar, bolalar va o'smirlarga iste'mol qilish tavsiya etilgan vitaminlar miqdori (kun hisobida)

Yosh guruhi	VITAMINLAR									
	B ₁ mg	B ₂ mg	B ₆ mg	B ₁₂ mkg	Folatsin mkg	Niatsin ¹ mg	C mg	A ² mkg	EME	D ME
Homilador ayollar	1,7	2,0	2,0	4,0	600	19	72	1250	15	500
Emizikli bolali ayollar	1,9	2,2	2,2	4,0	600	21	80	1500	15	500
0-3 oylik bolalar	0,3	0,4	0,3	0,3	40	5	30	400 ¹	5	400
4-6 oy	0,4	0,5	0,5	0,4	40	6	35	400 ¹	5	400
7-12 oy	0,5	0,6	0,5	0,5	60	7	40	400 ¹	6	400
1-3 yosh	0,8	0,9	0,9	0,9	100	10	45	450	7	400
4-6 yosh	1,0	1,3	1,3	1,5	200	12	50	500	10	100
7-10 yosh	1,4	1,6	1,6	2,0	200	15	60	700	10	100
O'g'il bola 11-13 yosh	1,6	1,9	1,9	3,0	200	18	70	1000	12	100
Qiz bola 11-13 yosh	1,5	1,7	1,7	3,0	200	16	60	1000	10	100
O'g'il bola 14-17 yosh	1,7	2,0	2,0	3,0	200	19	75	1000	15	100
Qiz bola 14-17 yosh	1,6	1,8	1,8	3,0	200	17	65	1000	12	100

¹ niatin ekvivalentida keltirilgan

² retinol ekvivalentida keltirilgan

92-jadval
Qon plazmasi va qon zardobi biokimyoviy ko'rsatkichlarining fiziologik chegarasi

Aniqlanuvchi komponent	Tekshiriluvchi material	Normal kattaliklar		
		An'anaviy birlikda	Hisoblash koeffitsiyenti	Tavsiya qilinuvchi birlik (SI)
Adrenalin	Plazma	0,35-0,45	5,458	1,92-2,46 nmol/l
Aminli azot	Zardob yoki plazma	20-35 mkg/l	0,714	14,3-25,0 mmol/l
Ammiakli azot	Qon Plazma	25-50 mkg/l 10-30 mkg/l	0,714 0,714	17,85-35,7 7,14-21,42 mkmol/l
Qoldiqli azot	Qon	20-40 mg/100 ml	0,714	14,3-28,6 mmol/l
Tuzli fraksiyalangan albumin	Zardob	3,2-4,5 g/100 ml	10,0	32-45 g/l
	Zardob	3,2-4,6 g/100 ml	0,154	0,49-0,69 mmol/l
Elektroforez albumini	Zardob	3,2-5,6 g/100 ml	0,154	0,49-0,86 mmol/l
Alfaamino-levulin kislotasi	Zardob	0,01-0,03 mg/100 ml	76,0	0,76-2,28 mkmol/l
Alfa-antitripsin ¹	Plazma	200-400 mg/100 ml	0,1852	37,04-74,08 mkmol/l
sAMF	Plazma	0,25-1,0 mkg/100 ml	30,37	7,6-30,4 nmol/l
Atseton	Qon	0,3 mg/100 ml	172,18	0,5-6,5 mkmol/l
Umumiy oqsil		6,0-7,8 g/100 ml	10,0	60-78 g/l
Bilirubin bevosita	Zardob	0,05-0,25 mg/100 ml	17,104	0,86-4,3 mkmol
Bilvosita	-/-	0,1-1,0 mg/100 ml	17,104	1,7-17,1 mkmol
Umumiy	-/-	0,1-12 mkg/100 ml	17,104	1,7-20,5 mkmol
Vitamin A	-/-	15-60 mkg/100 ml	0,035	0,52-2,1 mkmol
Vitamin B ₁	Plazma	1,0-1,5 mkg/100 ml	0,03	0,03-0,045 mkmol
Vitamin B ₂	Qon	12 mkg/100 ml	0,275	0,033 mkmol
Vitamin B ₂	Qon	0,06-0,14 mkg/100 ml	7,367	0,44-1,03 nmol
Vitamin C	Plazma	0,6-1,6 mg/100 ml	56,776	34,1-90,8 mkmol/l
H (biotin)	Plazma	0,9-1,8 mkg/100 ml	40,93	36,8-65,5 nmol/l
H (biotin) B ₆	Plazma	1-18 mkg/100 ml	0,059	0,059-1,06 mkmol/l
Galaktoza	Zardob	2,17 mg/100 ml	55,51	111-943,7 mkml/l

Gemoglobin:	Zardob yo plazma			
Erkalarda	Qon	13,5-18,0 g/100 ml	0,155	2,09-2,79 mmol/l
Ayollarda	Qon	12,0-16,0 g/100 ml	0,155	1,86-2,48 mmol/l
Gemopeksin	Plazma	70-130 mg/100 ml	0,125	8,75-16,25 mkmol/l
Gistamin	Qon	0,2-0,8 mkg/100	89,93	17,99-71,94 nmol/l
Glikogen	Qon	1,62-3,87 mg/100 ml	10,0	16,2-38,7 mg/l
Globulinlar	Zardob	2,3-3,5 g/100 ml	10,0	23-35 g/l
Glukoza	Zardob yo plazma	70-100 mg/100 ml	0,0555	3,88-6,105 mmol/l
Glyukozaminlar:				
Kattalarda	Zardob	61-78 mg/100 ml	0,0558	3,4-4,35 mmol/l
Bolalarda	Zardob	1,2-1,3 mg/100 ml	0,0558	2,9-3,85 mmol/l
Glukuron kislota	Zardob	1,2-1,3 mg/100 ml	51,5066	61,81-66,96 mkmol
O't kislotalar	-/-	0-3,0 mg/100 ml	25,47	0,76-4 mkmol
Temir	-/-	65-175 mkg/100 ml	0,1791	44,8-80,6 mkmol
Immunoglobulin G	Plazma	800-1800 mg/100 ml	0,0625	50-112,5 mkmol
Immunoglobulinlar:				
A	Plazma	90-450 mg/100 ml	0,0625	5,62-28,12 mkmol
M	-/-	60-250 mg/100 ml	0,01	0,6-2,5 mkmol
D	-/-	5 mg/100 ml	0,0502	0,26 mkmol
E	-/-	0,006-0,6 mg/100 ml	50,0	0,3-30,0 nmol/l
Indikan	Zardob	0,03-0,08 mg/100 ml	39,79	1,19-3,18 mkmol/l
Yod:				
Bog'langan oqsil bilan	Zardob	4,0-8,0 mkg/100 ml	78,796	315,18-630,37 nmol/l
Ekstrallangan butanol	Zardob	3,5-6,5 mkg/100 ml	78,796	275,79- 512,17 nmol/l
Kaliy	Plazma	3,8-4,6 mg-ekv/l	1,0	3,8-4,6 mmol/l
	-/-	15-18 mg/100 ml	0,256	3,8-4,6 mmol/l
	Eritrotsitlar	79,8-99,3 mg-ekv/l	1,0	79,8-99,3 mmol/l
	-/-	312-388 mg/100 ml	0,256	79,8-99,3 mmol/l
Kalsiy	Zardob	4,2-5,2 mg/100 ml	0,2495	1,05-1,30 mmol/l

Ionlangan	-/-	2,1-2,6 mg-ekv/l	0,5	1,05-1,30 mmol/l
Umumiy	-/-	9,0-10,6 mg/100 ml	0,2495	2,25-2,64 mmol/l
Umumiy	-/-	4,4-5,2 mg-ekv/l	0,5	2,2-2,6 mmol/l
Bolalarda	-/-	11,0-13,0 mg/100 ml	0,2495	2,74-3,24 mmol/l
Keton tanachalar	Qon	3 mg/100 ml	10,0	30 mg/l
17-ketosteroidlar	Plazma	25-125 mkg/100 ml	0,0345	0,86-4,31 mk/mol
Kislota-ishqor muvozanati:				
Standart bikarbonat		21-25 mg-ekv/l	1,0	21-25 mmol/l
Vodorod ko'rsatkichi (pH)	Arteriya qoni	7,36-7,42	1,0	7,36-7,42
	Vena qoni	7,26-7,36	1,0	7,26-7,36
Ortiqcha ishqor (BE)	Plazma		1,0	(-2,4)-(+2,3) mmol/l
CO ₂ ning partsiyal besimi	Arteriya qoni	35,8-46,6 mm s.u.	0,133	4,76-6,2 kPa
	Vena qoni	46-58 mm s.u.	0,133	6,1-7,7 kPa
Kislorodning partsiyal besimi	Arteriya qoni	95-100 sm s.u.	0,133	12,6-13,3 kPa
	Vena qoni	40-45 mm s.u.	0,133	5,3-6,0 kPa
Umumiy karbonat angidrid	Plazma	23-33 mm/l	1,0	23-33 mmol/l
Kortizol:				
8-10 soat	Plazma	5-25 mkg/100 ml	27,5885	137,9-689,7 nmol/l
16-18 soat	Plazma	2-18 mkg/100 ml	27,5885	55,2-496,6 nmol/l
Kreatinin:				
Erkalarda	Zardob yoki plazma	0,2-0,6 mg/100 ml	76,2543	15,25-45,75 mkmol/l
Ayollarda	-/-	0,6-1,2 mg/100 ml	76,2543	45,75-76,25 mkmol/l
Kreatinin	-/-	0,6-1,2 mg/100 ml	88,4016	53,0-106,1 mkmol/l
Lizotsim	Plazma	0,5-1,5 mg/100 ml	0,6667	0,3-1,0 mkmol/l
Limon kislota	Zardob yoki plazma	0,7-3,0 mg/100 ml	52,0481	88,5-156,1 mkmol/l
Umumiy yog'lar	Zardob	400-800 mg/100 ml	0,01	4,0-8,0 g/l
Yog' kislotalar:				
Umumiy	Zardob	9,15 mm/l	1,0	9,16 mmol/l
	Plazma	640-880 mkg-ekv/l	1,0	640-880 mkmol
Ovqatlangandan so'ng	Plazma	780-1180 mkg-ekv/l	1,0	780-1180 mkmol
Triglitsridlar:	Zardob yoki plazma	50-150 mg/100 ml	0,0118	0,59-1,77 mmol/l

Fosfolipidlar				
Umumiy	Zardob	152,5-362,5 mg/100 ml	0,01	1,52-3,62 g/l
Fosfora nisbatan	Zardob	6,1-14,5 mg/100 ml	0,3223	1,97-4,68 mmol/l
Umumiy Xolesterin	Plazma	115-340 mg/100 ml	0,258	2,97-8,79 mmol/l
Alfalipoproteidlar:				
Erkaklarda	Plazma	125-425 mg/100 ml	0,01	1,25-4,25 g/l
Ayollarda	Plazma	250-650 mg/100 ml	0,01	2,5-6,5 g/l
Betta-lipoproteidlar	Plazma	300-450 mg/100 ml	0,01	3,0-4,5 g/l
Magniy	Zardob	1,5-2,5 mg-ekv/l	0,5	0,75-1,25 mmol
Alfa ₂ -makroglobulin	Plazma	150-350 mg/100 ml	0,0122	1,83-4,27 mkmol/l
Mis:				
Erkaklarda	Zardob yoki plazma	70-140 mkg/100 ml	0,1574	11,0-22,0 mkmol/l
Ayollarda	-/-	85-155 mkg/100 ml	0,1574	13,4-24,4 mkmol/l
Metgemo-globin	Qon	0,0-0,24 g/100 ml	155,0	0,0-37,2 mmol/l
Sut kislotasi	Arteriya qoni	3-7 mg/100 ml	0,111	0,33-0,78 mmol/l
	Vena qoni	5-20 mg/100 ml	0,111	0,55-2,22 mmol/l
Siydik kislotasi				
Erkaklarda	Zardob	2,1-7,8 mg/100 ml	0,0594	0,12-0,46 mmol/l
Ayollarda	Zardob	2,0-6,4 mg/100 ml	0,0594	0,12-0,38 mmol/l
Siydikchil	Qon	20-50 mg/100 ml	0,1665	3,33-8,32 mmol/l
Natriy	Plazma	134-169 mg-ekv/l	1,0	134-169 mmol/l
	Plazma	310-290 mg/100 ml	0,4345	134-169 mmol/l
	Eritrotsitlar	31-50 mg/100 ml	0,4345	13,4-21,7 mmol/l
	Eritrotsitlar	13,4-21,7 mg-ekv/l	1,0	13,4-21,7 mmol/l
Neyramin kislotasi	Zardob	65 mg/100 ml	32,3311	2101 mmol/l
Noradrenalin	Plazma	0,65-0,81 mkg/100 ml	59,11	38,42-47,88 nmol/l
11-oksikortikosteroidlar	Plazma	13-23 mkg/100 ml	10,0	130-230 mkg/l
17-oksikortikosteroidlar	Plazma			

Erkaklarda	-/-	7-19 mkg/100 ml	27,5886	193,12-524,18 nmol/l
Ayollarda	-/-	9-21 mkg/100 ml	27,5886	248,3-579,36 nmol/l
Betta-yog'-oksi kislotasi	Qon	0,14-1,9 mkg/100 ml	96,05	13,4-18,25 mkmol/l
Pirouzum kislotasi	Qon	0,3-0,9 mkg/100 ml	113,56	34,07-102,2
Plazminogen	Plazma	20-40 mkg/100 ml	0,07	1,4-2,8 mkmol/l
Prealbumin	Plazma	10-40 mkg/100 ml	0,1639	1,64-6,56 mkmol/l
Protoporfirin	Eritrotsitlar	15-50 mkg/100 ml	0,0178	0,27-0,89 mkmol/l
Qand	Qon	80-120 mg/100 ml	0,01	0,8-1,2 g/l
Alfa ₁ -seromukoid	Plazma	55-140 mg/100 ml	0,2267	12,47-31,74 mkmol/l
Sial kislotalar	Zardob	55-79 mg/100 ml	10,0	550-790 ml/l
Serotonin	Qon	5,0-30,0 mkg/100 ml	0,0568	0,3-1,7 mkmol/l
Somatotropin	Zardob	10 mg/ml	0,0465	0,47 nmol/l
Testosteron:				
Erkaklarda	Zardob yoki plazma	400-1200 mg/100 ml	0,0347	13,8-41,6 nmol/l
Tireoglobulin	Zardob	10-26 mkg/100 ml	10,0	100-260 mkg/l
Umumiy tiroksin	—«—	5-11 mkg/100 ml	12,872	64,36-141,59 nmol/l
Transferrin	Zardob	170-400 mg/100 ml	0,1136	19,3-45,4 mkmol/l
Fenilalanin:				
Kattalarda	Zardob	3 mg/100 ml	0,0605	0,18 mmol/l
Chaqaloqlarda	Zardob	1,2-3,5 mg/100 ml	0,0605	0,073-0,212 mol/l
Fibrinogen	Plazma	200-400 mg/100 ml	0,0293	5,9-11,7 mkmol/l
Noorganik fosfor:				
Kattalarda	Zardob	2-4 mg/100 ml	0,3228	0,64-1,29 mmol/l
Bolalarda	Zardob	4-7 mg/100 ml	0,3228	1,29-2,26 mmol/l
Fruktoza	Qon	0,1-0,5 mg/100 ml	55,5	5,55-27,75 mkmol/l
Fukoza	Zardob	7,7-0,9 mg/100 ml	60,9156	496,05- 548,24 mkmol/l
Xloridlar	Qon	295 mg/100 ml	0,282	83,19 mmol/l
	Zardob	95-103 mg-ekv/l	1,0	95-103 mmol/l
Seruloplazmin	Zardob	23-50 mg/100 ml	0,0662	1,52-3,31 mkmol/l

MUNDARIJA

Kirish	3
--------------	---

I BO'LIM

Oqsillarning tuzilishi va ularning xossalari

1. To'qima va biologik suyuqliklardan oqsillarni ajratish usullari	7
1-ish. Mushak to'qimalaridan oqsillarni ajratish	8
2-ish. Sut oqsili – kazeinni ajratish	9
3-ish. Tuxum oqsili – albuminni ajratish	10
4-ish. Oqsillarni issiqlik ta'sirida cho'ktirish	11
5-ish. Oqsillarni og'ir metall tuzlari ta'sirida cho'ktirish	12
6-ish. Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish	13
7-ish. Oqsillarni organik kislotalar bilan cho'ktirish	14
8-ish. Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish	14
2. Oqsillarni xona haroratida neytral tuzlar ta'sirida cho'ktirish – tuzlash	15
9-ish. Oqsillarni natriy xlorid va natriy sulfat tuzlari ta'sirida cho'ktirish	16
10-ish. Oqsil dializi	17
11-ish. Tuzlangan oqsil eritmasini gel-filtratsiya usuli bilan tuzlardan tozalash	19
3. Oqsillarning elektrokimyoviy xossalari	22
12-ish. Kazeinning izoelektrik nuqtasini aniqlash	22
13-ish. Qon zardobi oqsillarini poliakrilamid gelida elektroforez usuli bilan ajratish	23
4. Oqsillarga o'tkaziladigan sifat reaksiyalar, oqsil tarkibidagi aminokislotalarni aniqlash	26
14-ish. Oqsillarni Biuret reaksiyasi bilan aniqlash	27
15-ish. α Aminokislotalarga o'tkaziladigan ningidrin reaksiyasi	28
16-ish. Siklik aminokislotalarga o'tkaziladigan ksantoprotein reaksiyasi	29
17-ish. Fenilalanin va tirozin aminokislotalariga o'tkaziladigan xususiy sifat reaksiya (Millon reaksiyasi)	30
18-ish. Kuchsiz bog'langan oltingugurt tutuvchi aminokislotalarga o'tkaziladigan reaksiya (Foli reaksiyasi)	31
19-ish. Metioninga o'tkaziladigan nitroprussid reaksiyasi	31

20-ish. Argininga o'tkaziladigan sakaguti reaksiyasi	32
21-ish. Triptofanga o'tkaziladigan adamkevich reaksiyasi	33
22-ish. Gistidinga pauli reaksiyasi	34
5. Oqsillar gidrolizi va aminokislotalarni formol titrlash usuli bilan aniqlash	35
23-ish. Oddiy oqsillarning kislotali gidrolizi	36
24-ish. Serensen usuli bilan formol titrlash	37
25-ish. Oqsil gidrolizati – aminokislotalar aralashmasini xromatografiya usuli bilan ajratish	39
6. Qon zardobidagi oqsil miqdorini aniqlash	42
26-ish. Oqsil miqdorini Biuret usuli bilan aniqlash	43
27-ish. Oqsil miqdorini Iouri usuli bilan aniqlash	44
28-ish. Oqsil miqdorini spektrofotometrik usul bilan aniqlash	45

II BO'LIM

Murakkab oqsillarning tuzilishi (proteidlar)

1. Nukleoproteidlar	48
29-ish. Nukleoproteinlarning tarkibiy qismiga sifat reaksiya	49
30-ish. Buqoq bezi yoki qora taloq to'qima dezoksiribonukleoproteinni ajratish	51
31-ish. Dnk miqdorini kalorimetrik usuli bilan aniqlash	52
32-ish. Kolorimetrik usul bilan rnk miqdorini aniqlash	53
2. Fosfoproteidlar	53
3. Glikoproteidlar	54
33-ish. So'lak tarkibidagi mutsinni ajratish	55
4. Xromoproteidlar	56
34-ish. Gemoglobinning gemin guruhini aniqlash uchun sifat reaksiyasi	56

III BO'LIM

Fermentlar

Fermentlarning umumiy xususiyatini o'rganish	61
1. Fermentlar faolligining muhitga bog'liqligi	61
35-ish. Amilaza faolligiga muhitning (pH) ta'siri	62
36-ish. Pepsinning faolligiga muhitning (pH) ta'siri	63
37-ish. Tripsin faolligi uchun optimal muhit (pH)ini aniqlash	64
2. Fermentativ reaksiya tezligiga haroratning ta'siri	65
38-ish. Amilaza faolligiga haroratning ta'siri	66
39-ish. Arginaza faolligiga haroratning ta'siri	66

3. Fermentativ reaksiya tezligini oshirish va susaytirish	68
40-ish. Pepsinogen faolligining oshishiga aktivatorlarning va susayishiga ingibitorlarning ta'siri	68
41-ish. Amilaza faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta'siri	69
42-ish. Tripsin faolligini trasilol bilan susaytirish	70
43-ish. Arginazani M_n^{2+} ionlari bilan faollash va uning ortiqcha miqdori bilan reaksiya tezligini susaytirish	71
44-ish. Arginaza faolligini substrat analogi – guanidin bilan susaytirish	72
4. Fermentlarning o'ziga xosligi, substratga nisbatan tanlanuvchanligi	73
45-ish. Amilaza fermentining tanlanuvchanligini aniqlash	74
46-ish. Saxarozaning tanlanuvchanligini aniqlash	75
47-ish. Ureaza fermentining tanlanuvchanligini aniqlash	76
48-ish. Arginaza fermentining substrat tanlashini aniqlash	77
5. Ferment miqdorining reaksiya tezligiga ta'siri	78
49-ish. Amilaza miqdorining kraxmal parchalanishi tezligiga ta'siri	78
50-ish. Reaksiya tezligiga arginaza miqdorining ta'siri	79
51-ish. Proteolitik reaksiya tezligiga tripsin miqdorining ta'siri	80
6. Substrat miqdorining fermentativ reaksiya tezligiga ta'siri	81
52-ish. Arginin miqdorining fermentativ reaksiya tezligiga ta'siri	82
53-ish. Substrat miqdorining tripsin katalizlaydigan reaksiya tezligiga ta'siri	83
7. Fermentlar faolligini o'lchash	84
54-ish. Jigar arginazasi faolligini aniqlash	84
55-ish. Tripsinning proteolitik faolligini aniqlash	87
56-ish. Jigar urokaninazasining faolligini aniqlash	88
57-ish. So'lak amilazasi faolligini aniqlash	90
58-ish. Jigar gistidazasi faolligini aniqlash	92

IV BO'LIM

Vitaminlar biokimyosi

Vitaminlar va vitaminli moddalar	96
Suvda eriydigan vitaminlar	97
59-ish. Niatsin (vitamin PP, nikotinat kislota, nikotinamid) reaksiyasi	97
60-ish. Siankobalamin (vitamin B ₁₂) ni aniqlash	97
61-ish. Piridoksin (vitamin B ₆) ni aniqlash	98
Yog'da eruvchi vitaminlar	99
62-ish. Baliq moyida retinol (vitamin A) ni aniqlash	99

63-ish. Baliq moyida xolekalsiferol (vitamin D) ni aniqlash	99
64-ish. Tiaminga diazoreaksiyasi (B ₁)	100
65-ish. Riboflavinga qaytarilish reaksiyasi	100

V BO'LIM

Sut biokimyosi

Sutning ayrim biokimyoviy ko'rsatkichlari	102
66-ish. Sut tarkibida oqsilni aniqlash	104
67-ish. Sut tarkibida yog'ni aniqlash	104
68-ish. Sut tarkibida uglevodni aniqlash	105
69-ish. Sutning solishtirma zichligini aniqlash	105
70-ish. Sutning kislotaliligini titrlash usuli bilan aniqlash	105

VI BO'LIM

Modda va energiya almashinuvi, moddalar almashinuvining umumiy yo'llari

71-ish. Qon zardobi va siydik tarkibidagi pirouzum kislota miqdorini aniqlash	110
72-ish. Mushak suksinatdengidrogenaza faolligini aniqlash	112
73-ish. Mushak tarkibidagi sitoxromoksidaza fermentini (sxo) aniqlash	114
74-ish. Yurak mushaklaridan ajratilgan oksidlangan va qaytarilgan sitoxrom s spektrlarini aniqlash	116
75-ish. Mushakdagi makroergik birikmalarning miqdori (atf va kreatinfosfat)ni aniqlash	116
76-ish. Qon tarkibidagi atf-aza faolligini aniqlash	118
77-ish. Kreatinkinaza fermenti faolligini aniqlash	120
78-ish. Katalaza fermenti faolligini aniqlash	122

VII BO'LIM

Karbonsuvlar almashinuvi

1. Karbonsuv almashinuvi	127
79-ish. Karbonsuvlarning me'da-ichak yo'llarida parchalanishi	127
80-ish. Jigar glikogenini ajratish	129
81-ish. Glukozaning mushak to'qimasida kislorodsiz sharoitda oksidlanishi (glikoliz)	130
82-ish. Mushak to'qimalaridagi fosfotrioalarni aniqlash	132
83-ish. Mushak to'qimalaridagi fosfoenol pirouzum kislota miqdorini aniqlash	133

84-ish. Bijg'ish jarayonida anorganik fosfatning ishlatilishini aniqlash	135
Anorganik fosfatni aniqlash	135
2. Karbonsuvlar almashinuvi mahsulotlari miqdorini aniqlash	136
85-ish. Qondagi qand miqdorini o-toluidin rangli reaksiyasi usuli bilan aniqlash	137
86-ish. Qondagi qand miqdorini antron usuli bilan aniqlash	138
87-ish. Qondagi qand miqdorini ferment yordamida aniqlash	139
88-ish. Qondagi qand miqdorini titrlash (xagedorn – yensen) usuli bilan aniqlash	142
89-ish. Qon zardobidagi sial kislota miqdorini yangicha usul bilan aniqlash	144
3. Karbonsuv almashinuviga gormonlarning ta'siri	146
90-ish. Qondagi qand miqdoriga insulinning ta'siri	147
91-ish. Qondagi qand miqdoriga adrenalin ta'siri	148
92-ish. Qondagi qand miqdorini qo'shimcha qand berganda o'zgarishini kuzatish	149
4. Karbonsuvlar almashuvining oxirgi mahsulotlarini aniqlash	151

VIII BO'LIM

Yog' almashinuvi

Yog'larning tuzilishi, parchalanishi va so'rilishi	155
93-ish. O't kislotalarga sifat reaksiya	155
94-ish. Tuxum sarig'idan letsitin va kefalinni ajratib olish va ularning tarkibiy qismlariga sifat reaksiyalarini o'tkazish	156
95-ish. Miya xolesterinini ajratish va unga sifat reaksiyalari o'tkazish	158
96-ish. Me'da osti lipazasi ta'sirini tekshirish. Lipaza faoliyatining o't suyuqligiga bog'liqligi	159
Yog'larning oraliq almashinuvi	161
97-ish. Qon zardobidagi erkin yog' kislotalarni aniqlash	161
98-ish. Qon zardobi tarkibidagi yog'larni aniqlash	163
99-ish. Qon zardobidagi fosfolipidlarni aniqlash	165
100-ish. Qon zardobi tarkibidagi umumiy xolesterinni ilka usuli bilan aniqlash	167
101-ish. Qon zardobi lipoproteinlarini poliakrilamid gel elektroforezi usuli bilan ajratish	168
102-ish. Qon zardobining past zichlikka ega bo'lgan lipoproteinlarini (pzl) aniqlash	171

IX BO'LIM

Oqsil va aminokislotalar almashinuvi

Me'da va me'da osti bezi shirasi tarkibini aniqlash	176
1. Me'da shirasi kislotaliligini aniqlash	178
103-ish. Me'da shirasi tarkibidagi erkin xlorid kislotaga o'tkaziladigan sifat reaksiya	178
104-ish. Me'da shirasi kislotaliligini o'lchash	180
105-ish. Pepsin ta'sirida oqsillar parchalanishini aniqlash	182
106-ish. Me'da osti bezi shirasi fermentlari ta'sirida oqsillarning parchalanishi	183
107-ish. Me'da shirasi tarkibidagi pepsin va siydik tarkibidagi uropepsin faolligini miqdoriy aniqlash	184
2. Aminokislotalar almashinuvi	186
108-ish. Aminokislotalarning transaminlanishini o'rganish	188
109-ish. Aminokislotalarning dekarboksillanishini o'rganish	189
110-ish. Tirozinaza ta'sirini o'rganish	191

X BO'LIM

Gormonlar

Gormonlarda o'tkaziladigan sifat reaksiyalar va ularning miqdorini o'lchash	197
1. Me'da osti bezi gormoni – insulin	197
111-ish. Insulinning oqsil tabiatini tasdiqlovchi sifat reaksiyalar	198
2. Qalqonsimon bez gormonlari	199
112-ish. Tireoidin tarkibidagi yodni aniqlash	200
3. Buyrak usti bezining mag'iz qismi gormonlari, adrenalini va noradrenalin	201
113-ish. Adrenalinga o'tkaziladigan sifat reaksiyalar	202
114-ish. Oksidlangan adrenalinning fuoressensiyasi	203
115-ish. Siydik tarkibidagi adrenalini va noradrenalin miqdorini aniqlash	203
4. Buyrak usti bezining po'stloq qismi gormonlari	208
116-ish. Kortizolga o'tkaziladigan sifat reaksiya	209
117-ish. Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlarga sifat reaksiya	210
118-ish. Qon plazmasi tarkibidagi 11-oksikortikosteroidlar miqdorini aniqlash	210
119-ish. Siydik tarkibidagi 17-ketosteroidlar miqdorini aniqlash	212
5. Jinsiy bez gormonlari	215
120-ish. Follikulininga sifat reaksiya	216

XI BO'LIM

Qon biokimyosi

1. Qonning oqsilli va oqsilsiz qismlari tarkibini aniqlash	221
121- ish. Qon gemoglobini aniqlash	221
122- ish. Benzindin reaksiyasi	223
123- ish. Gvoyak reaksiyasi	223
124- ish. Qon gemoglobining spektral analizi	224
125- ish. Qon zardobi bilirubinini yendrashek va kleggorn usuli bo'yicha aniqlash	226
2. Qon plazmasi oqsillari	229
126- ish. Umumiy oqsil miqdorini refrimetrik usul bilan aniqlash	232
127- ish. Qon zardobi oqsillarini qog'ozda o'tkaziladigan elektroforez usuli bilan fraksiyalarga ajratish	233
128- ish. Azot qoldig'i miqdorini o'lchash	237
129- ish. Qon zardobidagi siydikchilni kolorimetrik usul bilan aniqlash	240
3. Qon zardobining fermentlar faolligini aniqlash	241
130- ish. Laktatdegidrogenaza fermenti faolligini aniqlash	243
131- ish. Laktatdegidrogenaza izoshakllarini agar gelda o'tkazilgan elektroforez bilan ajratish	244
132- ish. Aminottransferaza faolligini aniqlash	246
133- ish. Qon zardobi ishqoriy fosfatazasi faolligini besiya va louri usuli bilan aniqlash	250
134- ish. Qon zardobidagi xolinesteraza faolligini kolorimetrik usul bilan aniqlash	252
4. Qon zardobi minerallarini aniqlash	253
135- ish. Qon zardobi tarkibidagi kalsiyni moydin va zaka usuli bilan aniqlash	256
136- ish. Qon zardobidagi temir miqdorini aniqlash	257

XII BO'LIM

Siydik biokimyosi

1. Siydikning fizik-kimyoviy xossalari	263
137- ish. Siydikning nisbiy zichligini aniqlash	263
138- ish. Siydikning kislotaliligini (pH) aniqlash	264
2. Siydik minerallarini aniqlash	266
139- ish. Xloridlarga sifat reaksiya	266
140- ish. Siydikdagi sulfat ionlarini aniqlash	267
141- ish. Siydik fosfatlariga sifat reaksiya	267

142- ish. Siydik tartibidagi magniy va kalsiyni sifat reaksiya bilan aniqlash	268
3. Azot almashinuvining oxirgi mahsulotlari	269
143- ish. Siydik kreatinini aniqlash	269
144- ish. Siydik kreatinining miqdorini folin usuli bilan aniqlash	271
145- ish. Malfatti usuli bilan siydik tarkibidagi ammiak miqdorini aniqlash	272
146- ish. Siydik tarkibidagi umumiy azot miqdorini kolorimetrik usul bilan aniqlash	273
147- ish. Siydik tarkibidagi umumiy azotni konvey usuli bilan aniqlash	275
148- ish. Siydik tarkibidagi siydikchilni (mochevina) aniqlash	277
149- ish. Siydik va qon zardobi tarkibidagi siydikchilni bio-test yordamida aniqlash	278
Siydikning patologik komponentlarini aniqlash	281
150- ish. Oqsilga o'tkaziladigan sifat reaksiya	281
151- ish. Oqsil miqdorini brandberg-roberts-stolnikov usuli bilan aniqlash	282
152- ish. Oqsil miqdorini sulfasalitsil kislotaga bilan aniqlash	283
153- ish. Siydik tarkibidagi qandni aniqlash	283
154- ish. Mis tuzlarining qaytarilishiga asoslangan sifat reaksiya (gaynes reaksiyasi)	284
155- ish. Siydikdagi qandni «glukotest» indikator yordamida aniqlash	284
156- ish. Siydikdagi glukoza miqdorini polarimetrik usul bilan o'lchash	285
157- ish. Siydik tarkibidagi keton tanachalarni aniqlash	286
158- ish. Qon pigmentlarini ochish	287
159- ish. Qon pigmentlarini gvoyak mumi yordamida ochish	288
160- ish. Siydikdagi qon pigmentlarini benzidin reaksiyasi bilan ochish ..	288
161- ish. Siydikdagi o't pigmentlarini ochish	289
162- ish. Siydik pH i, oqsili, glukozali, keton tanachalari, urobilinogen va qonni aralash test bo'lakchalari yordamida aniqlash	290
163- ish. Indikanga sifat reaksiya (obermeyr tajribasi)	291
164- ish. Siydik tarkibidagi siydik kislotaga miqdorini aniqlash	292
165- ish. Siydik tarkibidagi fenilpirouzum kislotaga miqdorini sifat reaksiya usuli bilan ochish	293
166- ish. Mukopolisaxaridlariga sifat reaksiya	294
Ayrim reaktivlar va preparatlarni tayyorlash	297