

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI OLIY VA  
O'RTA MAXSUS TA'LIM VAZIRLIGI  
TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

---

O.O.Obidov, A.A.Jo'rayeva

# BIOLOGIK KIMYO

Laboratoriya amaliyoti

*O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim  
vazirligi tibbiyot va farmatsevtika oliy o'quv yurtlari  
talabalari uchun darslik sifatida tavsiya etgan*

*Tibbiyot fanlari doktori, professor O.O.Obidov  
tahriri ostida*

Toshkent  
«EXTREMUM PRES»

### **Taqrizchilar:**

**T.S.Soatov** – O‘zR Fanlar akademiyasi akademigi,

**X.U.Aliyev** – tibbiyot fanlari doktori, professor,

**R.A.Sobirova** – tibbiyot fanlari doktori, professor.

Mazkur laboratoriya amaliyoti tibbiyot va farmatsevtika institutlari uchun qabul qilingan o‘quv dasturiga muvofiq yozilgan.

Ushbu darslik tibbiyot va farmatsevtika oliy o‘quv yurtlari talabalarining biologik kimyoning nazariy qismini o‘zlashtirishidagi zarur bo‘lgan amaliy mashg‘ulotlarni bajarishiga mo‘ljallangan. Keltirilgan ayrim usullardan ilmiy-tadqiqot ishlarida, klinik-biokimyoviy laboratoriyalarda hamda bemorlar tashxisida qo‘llanilishi mumkinligini nazarda tutib, har bir bajariladigan usulga qisqacha nazariy kirish, undagi kimyoviy reaksiyani borishi va amaliy ahamiyati keltirilgan.

# Mundarija

Muqaddima .....	12
-----------------	----

## **1-bo'lim. Biokimyoviy jarayonlar va tekshirish usullari**

1.1. Biokimyoviy materiallar va ularning ajratish usullari .....	14
--	----

## **2-bo'lim. Oqsillarning kimyoviy xususiyati va aniqlash usullari**

2.1. Oqsillar va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar .....	20
2.1.1. Biuret reaksiyasi .....	20
2.1.2. Millon reaksiyasi .....	22
2.1.3. Ksantoprotein reaksiyasi .....	24
2.1.4. Adamkevich reaksiyasi .....	25
2.1.5. Fol reaksiyasi .....	26
2.1.6. Ningidrin reaksiyasi .....	27
2.1.7. Shulse-Raspaylya reaksiyasi .....	29
2.2. Oqsillarning fizik xususiyatlari .....	31
2.2.1. Oqsillarning denaturatsiyasi .....	31
2.2.1.1. Oqsillarning konsentrlangan mineral kislotalari bilan denaturatsiyasi .....	33
2.2.1.2. Oqsillarning organik kislotalar bilan denaturatsiyasi .....	33
2.2.1.3. Oqsillarning og'ir metall tuzlari bilan denaturatsiyasi .....	33
2.2.1.4. Oqsillarning organik erituvchilar bilan denaturatsiyasi .....	34
2.2.2. Oqsillar dializi .....	34
2.2.3. Aminokislotalarning qog'ozli xromatografiyasi .....	37
2.3. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari .....	40
2.3.1. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirish .....	40
2.3.2. Oqsillarning qizdirilganda cho'kmaga tushishi .....	42
2.3.3. Oqsillarni alkaloidli reaktivlar ta'sirida cho'ktirish .....	44
2.3.4. Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida cho'ktirish .....	45

2.3.5. Oqsillarni organik kislotalar ta'sirida cho'ktirish .....	47
2.3.6. Oqsillarni organik erituvchilar ta'sirida cho'ktirish .....	48
2.3.7. Oqsillarni fenol ta'sirida cho'ktirish .....	49
2.3.8. Qon zardobidagi albuminlarni globulinlardan ammoniy sulfat va natriy xlorid tuzlari yordamida ajratish .....	50

### **3-bo'lim. Murakkab oqsillar (proteinlar)**

3.1. Nukleoproteinlar .....	54
3.1.1. Achitqi nukleoproteinlarining kislotali gidrolizi va ular tarkibini aniqlash .....	55
3.2. Xromoproteinlar .....	60
3.2.1. Gemoglobin tarkibidagi temirni ochish .....	61
3.2.2. Gemoglobinning gemin guruhini g'vayakol va benzidin bilan ochish .....	62
3.2.3. Gemin kristallarini ajratib olish (Teyxman probasi) .....	64
3.3. Fosfoproteinlar .....	65
3.3.1. Kazeinni gidrolizlash va gidrolizatdagi oqsil, fosfat kislotasini aniqlash .....	66
3.4. Glikoproteidlar .....	68
3.4.1. So'lakdan musinni ajratib olish va uning tarkibidagi oqsilga — biuret uglevod guruhlariga naftol — reaksiyalari .....	69

### **4-bo'lim. Fermentlar**

4.1. Fermentlarning xossalari .....	74
4.1.1. Kraxmalni so'lak $\alpha$ -amilazasi bilan gidrolizlash .....	75
4.1.2. So'lak $\alpha$ -amilazasining termolabilligi .....	77
4.1.3. So'lak $\alpha$ -amilazasining spetsifikligi .....	79
4.1.4. So'lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga pH ning ta'siri .....	81
4.1.5. So'lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta'siri .....	83
4.2. Ferment faolligini miqdoriy aniqlash .....	85
4.2.1. So'lak $\alpha$ -amilazasi faolligini Volgemut bo'yicha aniqlash .....	86

### **5-bo'lim. Vitaminlar**

5.1. B <sub>1</sub> vitamini (tiamin, aneyrin) .....	91
5.1.1. B <sub>1</sub> vitaminining tiokromga oksidlanish reaksiyasi .....	92
5.2. B <sub>2</sub> vitamini (riboflavin) .....	93

5.2.1. B <sub>2</sub> vitaminining qaytarilish reaksiyasi .....	94
5.3. B <sub>6</sub> vitamini (piridoksin, adermin) .....	95
5.3.1. B <sub>6</sub> vitaminining temir xlorid bilan reaksiyasi .....	96
5.4. B <sub>12</sub> vitamini (siankobalamin, antianemin) .....	97
5.4.1. B <sub>12</sub> vitamini tarkibidagi kobaltni tiomochevinali reaksiya bo'yicha aniqlash .....	97
5.5. PP vitamini (nikotinamid, antipellagrin) .....	98
5.5.1. Nikotin kislotaga mis atsetat ta'sirida sifat reaksiya .....	99
5.6. C vitamini (askorbin kislota, antisinga vitamini) .....	100
5.6.1. C vitaminiga qizil qon tuzi ishtirokida sifat reaksiya .....	101
5.6.2. C vitaminiga metilen ko'ki bilan sifat reaksiyasi .....	102
5.6.3. C vitaminini oziq-ovqat mahsulotlari (na'matak, kartoshka, karam, sut)da 2,6-dixlorfenolindofenol bilan miqdoriy aniqlash .....	103
Na'matakda C vitaminini aniqlash .....	105
Kartoshka tarkibidagi C vitaminining miqdorini aniqlash .....	106
Karam tarkibidagi C vitaminining aniqlash .....	106
Sut tarkibida C vitaminining miqdorini aniqlash .....	107
5.6.4. C vitaminining miqdorini siydikda Tilmans reaktivi bilan aniqlash .....	108
5.6.5. C vitaminini siydikning 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlab aniqlash .....	110
5.6.6. C vitaminining miqdorini 2,6-dixlorfenolindofenolni siydik bilan titrlab aniqlash .....	111
5.7. A vitamini (retinol, antikseroftalmik vitamini) .....	112
5.7.1. A vitaminini baliq moyida konsentrlangan sulfat kislotasi bilan aniqlash .....	114
5.7.2. Na'matak tarkibidagi karotin va undagi to'yinmagan bog'larni aniqlash .....	114
5.8. D vitamini (kalsiferol, antiraxit vitamini) .....	116
5.8.1. D vitaminini baliq moyida anilin reaktivi bilan aniqlash .....	117
5.9. E vitamini (tokoferol, ko'payish vitamini) .....	118
5.9.1. E vitaminiga konsentrlangan nitrat kislota bilan sifat reaksiyasi .....	119
5.10. K vitamini (filloxinon, antigemorragik vitamin) .....	120
5.10.1. K vitamining sifat reaksiyalar .....	121

## 6-bo'lim. Gormonlar

6.1. Oqsil-peptid gormonlari .....	124
6.1.1. Me'da osti bezi gormoni – insulin .....	125
6.1.1.1. Me'da osti bezi gormoni – insulinga xos reaksiyalar .....	126
6.2. Gormonlar – aminokislotalar unumlari .....	129
6.2.1. Buyrak usti bezi mag'iz qismi gormoni – adrenalini .....	129
6.2.1.1. Adrenalinga temir xloridi bilan sifat reaksiyasi .....	130
6.2.1.2. Adrenalin miqdorini Folin bo'yicha aniqlash .....	132
6.3. Qalqonsimon bez gormonlari .....	132
6.3.1. Qalqonsimon bez to'qimasidagi yodni aniqlash .....	134
6.4. Buyrak usti bezi po'stloq qismi gormonlari (kortikosteroidlar) .....	136
6.4.1. Siydikdagi 17-ketosteroidlarga sifat reaksiyasi .....	138
6.4.2. Kortizolni aniqlashdagi sifat reaksiyasi .....	139
6.5. Jinsiy bez gormonlari .....	140
6.5.1. Estron (follikulin) ga sifat reaksiyalari .....	141

## 7- bo'lim. Bioenergetika. Biologik oksidlanish

7.1. Makroergik birikmalar – ATF va kreatinfosfatni mushakda miqdoriy aniqlash .....	144
7.1.1. Sitoxromoksidaza faolligini mushak to'qimasida aniqlash .....	146
7.1.2. Kreatinfosfokinaza faolligini qon zardobida Ennor va Rozenberg bo'yicha aniqlash .....	149
7.1.3. Sut tarkibidagi degidrogenazalarni aniqlash .....	152
7.1.4. Qonning peroksidaza faolligini aniqlash .....	154
7.1.5. Limon kislotasi sikli degidrogenaza fermentlari faolligini aniqlash .....	156

## 8-bo'lim. Uglevodlar almashinuvi

8.1. Uglevodlarning oraliq almashinuvi .....	162
8.1.1. Glikogen miqdorini jigarda antron reaktivi bilan aniqlash .....	163
8.1.2. Glikogenoliz – mushak to'qimasi fermentlari ta'sirida .....	165
8.1.3. Qon tarkibidagi sut kislotasi miqdorini n-oksidifenil rangli reaksiyasi bilan aniqlash .....	169
8.1.4. Qon tarkibidagi piruvat (pirouzum kislotasi) miqdorini aniqlash .....	173
8.1.5. Qon zardobida sial (neyramin) kislotasi miqdorini aniqlash .....	175
8.1.6. Glukozaning spirtli bijg'ishi .....	178

8.2. Qon tarkibidagi glukoza miqdorini boshqarilishi .....	181
8.2.1. Qonda glukoza miqdorini glukozooksidaza usulida aniqlash .....	182
8.2.2. Qondagi glukoza miqdorini o-toluidin usulida aniqlash .....	186
8.3. Siydik tarkibidagi glukoza miqdorini aniqlash .....	188
8.3.1. Siydik tarkibidagi glukozaga sifat reaksiyalari .....	189
8.3.2. Siydikdagi glukozani “Bioskan-glukoza” test tasmalari yordamida sifat va yarim miqdorini enzimatik usulda aniqlash .....	191

### **9-bo‘lim. Lipidlar almashinuvi**

9.1. Lipidlarning oraliq almashinuvi .....	198
9.1.1. Yog‘ tarkibidagi to‘yinmagan yog‘ kislotalarini aniqlash .....	198
9.1.2. Yog‘lar emulsiyasi .....	200
9.1.3. Pankreatik lipaza faolligiga o‘t kislotalarining ta’siri .....	201
9.1.4. Yuqori yog‘ kislotalarining qonda tashilishida zardob albuminining ahamiyati .....	205
9.1.5. Qon zardobidagi lipidlarning umumiy miqdorini aniqlash .....	206
9.1.6. Qon zardobidagi erkin yog‘ kislotalari miqdorini aniqlash .....	208
9.2. Fosfolipidlar .....	211
9.2.1. Qon zardobidagi fosfolipidlar miqdorini fosfor bo‘yicha aniqlash .....	212
9.3. Sterinlar (sterollar) va steridlar .....	214
9.3.1. Qon zardobidagi xolesterinning umumiy miqdorini aniqlash .....	216
9.3.2. Miya to‘qimasidagi xolesterinni sifat reaksiyasi bilan aniqlash .....	218
9.4. Lipoproteidlar almashinuvi .....	219
9.4.1. Qon zardobidagi lipoproteidlar umumiy miqdori va fraksiyalarini miqdoriy aniqlash .....	220
9.4.2. Siydikdagi keton tanachalariga sifat reaksiyalari .....	222
9.4.3. A tsetosirka kislotasiga temir xlorid (Gerxard) reaksiyasi.....	225
9.4.4. Siydikdagi atseton tanachalarini indikator qog‘ozi yordamida aniqlash .....	226
9.5. Biologik membranalarda lipidlarning peroksidli oksidlanishini tekshirish .....	226
9.5.1. Qon plazmasida lipidlar gidroperoksidi miqdorini spektrofotometrik usulda aniqlash .....	228
9.5.2. Malon dialdegidi miqdorini aniqlash .....	229

## 10-bo'lim. Oqsillar almashinuvi

10.1. Oqsillarning hazm bo'lishi .....	234
10.1.1. Oqsillarni pepsin ta'sirida hazm bo'lishi .....	236
10.2. Me'da shirasidagi kislotalarni aniqlash .....	239
10.2.1. Me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga kongo-qizil qog'ozi yordamida sifat reaksiyasi .....	240
10.2.2. Me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga paradimetilaminoazobenzol eritmasi yordamida sifat reaksiyasi .....	241
10.2.3. Me'da shirasidagi sut kislotasiga sifat (Ufelman) reaksiyasi .....	242
10.2.4. Me'da shirasidagi umumiy, erkin va bog'langan xlorid kislotalari miqdorini titrlab aniqlash .....	244
10.3. Aminokislotalarning oraliq almashinuvi .....	247
10.3.1. Alaninaminotransferaza faolligini qon zardobida dinitrofenilgidrazin yordamida aniqlash .....	249
10.3.2. Gistamin miqdorini ampulali preparatida aniqlash .....	252
10.3.3. Gistidaza faolligini qon zardobida Tabor va Meler usulini V.A.Burobin modifikatsiyasida aniqlash .....	256
10.3.4. Qondagi serotoninga sifat reaksiyasi .....	259
10.4. Oqsillar almashinuving oxirgi unumlari .....	260
10.4.1. Siydikda ammiak miqdorini Malfatti bo'yicha aniqlash .....	262
10.4.2. Mochevinaga biuret reaksiyasi .....	264
10.5. Kreatinin .....	265
10.5.1. Kreatininga natriy nitroprussid bilan sifat (Veyl) reaksiyasi .....	266
10.5.2. Siydikda kreatinin miqdorini Yaffe rangli reaksiyasi bilan aniqlash .....	267
10.6. Purinlar almashinuvi .....	270
10.6.1. Siydik kislotasiga sifat reaksiyasi (mureksid probasi) .....	271
10.6.2. Siydikdagi aminokislotalarga sifat reaksiyalari .....	272
10.6.3. Siydikdagi gomogentizin kislotasini aniqlash .....	275
10.6.4. Siydikdagi fenilpiruvatga sifat reaksiyasi .....	276

## 11-bo'lim. Minerallar almashinuvi

11.1. Xloridlar .....	283
11.1.1. Siydikdagi xloridlar miqdorini Moru bo'yicha aniqlash .....	284
11.2. Fosfatlar .....	287



11.2.1. Anorganik fosforli qon zardobida fosforli-molibden kislotasini qaytarilishi bo'yicha aniqlash .....	287
11.3. Kalsiy .....	290
11.3.1. Kalsiy miqdorini qon zardobida de Vaardu bo'yicha aniqlash .....	292

## 12-bo'lim. Qon biokimyosi

12.1. Qon pigmentlari .....	298
12.1.1. Oksigemoglobinning nur yutish spektrini aniqlash .....	298
12.1.2. Metgemoglobinni ajratib olish va uning spektrini aniqlash .....	299
12.1.3. Karboksigemoglobinning spektrini aniqlash .....	301
12.1.4. Qondagi gemoglobin miqdorini gemoglobinsianid usulida aniqlash .....	302
12.2. Qon oqsillari .....	304
12.2.1. Qon zardobi oqsillarining umumiy miqdorini refraktometrik usulda aniqlash .....	305
12.2.2. Qon zardobi oqsillarining umumiy miqdorini Biuret reaksiyasi bo'yicha aniqlash .....	307
12.2.3. Qon zardobidagi gaptoglobinlar miqdorini fotokolorimetrik usulda aniqlash .....	310
12.2.4. Qon zardobidagi katepsinlar faolligini A.A.Pokrovskiy, A.I.Archakov va O.N.Lyubimova usulida aniqlash .....	312
12.3. Qonning azotli qoldiqlari .....	314
12.3.1. Qondagi azot qoldig'ini gipobromit yordamida Rappoport-Eyxgorn usulida aniqlash .....	315
12.3.2. Qon zardobidagi bilirubinni diazoreaktiv ishtirokida Iendrashik, Kletgorn va Grof usulida aniqlash .....	317

## 13-bo'lim. Siydik biokimyosi

13.1. Siydikning fizik-kimyoviy xossalari .....	325
13.1.1. Siydik miqdorini aniqlash .....	326
13.1.2. Siydik rangini aniqlash .....	327
13.1.3. Siydikning tiniqligini tekshirish .....	329
13.1.4. Siydik hidini tekshirish .....	330
13.1.5. Siydik zichligini aniqlash .....	330
13.1.6. Siydik reaksiya muhitini aniqlash .....	333
13.1.7. Siydik pH ini universal indikator qog'ozi bilan aniqlash .....	335

13.2. Siydik tarkibining organik qismlari .....	336
13.2.1. Siydikdagi piruvat miqdorini aniqlash .....	336
13.2.2. Siydikdagi keton tanachalari va glukoza miqdorini aniqlash .....	339
13.2.3. Siydik tarkibidagi oqsilga sifat va miqdoriy reaksiyalar .....	342
13.2.4. Siydikdagi oqsil miqdorini Brandberg–Roberts–Stolnikova usulida aniqlash .....	347
13.2.5. Siydikdagi oqsil va pH ni indikator qog‘ozi yordamida yarim miqdoriy aniqlash .....	349
13.3. Siydikdagi qon pigmentlariga sifat reaksiyalari .....	351
13.3.1. Siydikdagi qon pigmentlarini ishqor bilan qaynatib aniqlash (Geller probasi) .....	351
13.3.2. Siydikdagi qon pigmentlarini gvayakol yordamida aniqlash .....	352
13.4. Siydikdagi o‘t pigmentlariga sifat reaksiyalar .....	354
13.4.1. Siydikdagi o‘t pigmentlarini konsentrlangan nitrat kislotasi bilan aniqlash (Gmelin probasi) .....	355

#### **14-bo‘lim. Ksenobiotiklar metabolizmi va ta‘sir mexanizmi**

14.1. Ksenobiotiklar metabolizmida jigar endoplazmatik retikulumining vazifasi .....	360
14.1.1. Mikrosomal fraksiya va sitoxrom P <sub>450</sub> ni jigardan ajratib olishi .....	362
14.1.2. Jigar mikrosomalarida sitoxrom P <sub>450</sub> miqdorini spektrofotometrik usulda aniqlash .....	364
14.1.3. Kalamushlarga sitoxrom P <sub>450</sub> ni induksiyalovchi fenobarbital natriy yuborib, ferment faolligini jigar mikrosomalarida aniqlash .....	366
14.1.4. Mikrosomalarning nafas olish faolligini aniqlash .....	368
14.1.5. Jigar mikrosomalarida oksidlanishli N-demetillanishni Nash usuli bo‘yicha tekshirish .....	370
14.1.6. Jigar mikrosomalarida ksenobiotiklar biotransformatsiyasining monooksigenaza sistemasini o‘rganish .....	373
14.1.7. Mikrosoma monooksigenaza sistemi fermentlari faolligini aniqlash .....	375
14.1.8. Anilinning oksidlanishli R-gidroksillanish reaksiyasini o‘rganish .....	378
14.1.9. Organizmda jigar oksigenaza sistemi faolligini aniqlash .....	380
14.2. Sulfadimezin va uning metabolitlari miqdorini aniqlash .....	381

14.2.1. Erkin, atsetillangan sulfadimezin va uning glukuronidini siydikda aniqlash .....	382
14.3. Alkololdegidrogenaza faolligi va uning ahamiyati .....	388
14.3.1. Qon zardobida alkololdegidrogenaza faolligini aniqlash (Shkurski usuliga I.V.Bokiya, M.S.Usatenko va V.F.Tryufanov qo‘shimchalari bilan) .....	388

### **Ilovalar**

I. Ayrim reaktivlarni tayyorlash .....	391
II. Bufer eritmalarini tayyorlash .....	405
Bufer aralashmalar .....	407
III. Organizm suyuqlik muhitining ba’zi biokimyoviy ko‘rsatkichlari .....	412
Foydalanilgan adabiyotlar .....	422

## **Muqaddima**

Mazkur amaliyot darsligi farmatsevtika va tibbiyot oliy o'quv yurtlari talabalariga mo'ljallangan bo'lib, biologik kimyoning nazariy asoslari, laboratoriya mashg'ulotlarining o'tkazish qoidalari amaldagi o'quv dasturiga moslab tuzilgan. Har bir mashg'ulotda uning qisqacha nazariy yo'nalishi va maqsadi, qo'llanilayotgan usulning asosi, lozim bo'lgan reaktiv va jihozlar ro'yxati, tekshiriluvchi material nomi keltirilib, ishning bajarilish qismi batafsil yoritilgan. Talabalar murakkabligi turli darajada bo'lgan laboratoriya mashg'ulotlarini bajarish davomida olingan axborotlar natijasini mustaqil tahlil qilish imkoniyatiga ega bo'ladilar. Darslikda keltirilgan ayrim biokimyoviy usullardan talabalar ilmiy-tadqiqot ishlarida, klinik biokimyo laboratoriyalarida, toksikologik kimyo hamda dorishunoslikda biogen preparatlar va dorivor o'simliklar ta'sirini o'rganishda foydalanish mumkinligini nazarda tutib, ularning amaliy ahamiyatiga alohida e'tibor berilgan. Har bir bo'lim nihoyasida nazorat savollari keltirilgan bo'lib, talabalarning nazariy ko'nikma bilan amaliyot natijalarini bog'lay olishlariga yordam beradi.

Ushbu o'quv amaliyoti mundarijasi va shakli bo'yicha tibbiyot hamda farmatsevtika oliy o'quv yurtlari uchun o'zbek tilidagi dastlabki darslik bo'lganligi sababli ayrim xato va kamchiliklardan xoli bo'lmasligi mumkin. Shuning uchun uning sifatini yaxshilashga qaratilgan barcha fikr va mulohazalarni mualliflar mamnuniyat bilan qabul qiladilar.

# 1-bo'lim

## Biokimyoviy jarayonlar va tekshirish usullari

Biokimyoviy jarayonlar odam va yuqori darajada rivojlangan hayvonlar organizmida neytral muhit va normal haroratda katta tezlikda kechadi. Ushbu xususiyatning asosiy omili hujayralar tarkibidagi erigan katalizatorlar – fermentlar bo'lib, ular o'zlari mas'ul bo'lgan birorta yoki bir necha maxsus reaksiyalarni faollashtirish imkoniyatiga ega. Ma'lumki, hujayra tarkibiy qismlari yuqori molekulali birikmalardan iborat bo'lib, qurilishi bir xil yoki o'xshash monomerlarning polimerlanishi natijasida hosil bo'ladi. Biologik polimerlar ichida eng ahamiyatlisi oqsillar va nuklein kislotalar hisoblanib, ular qatoriga murakkab oqsillar ko'rinishidagi fermentlar ham kiradi.

Har qanday kimyoviy birikma hujayrada kechayotgan fizik-kimyoviy va fiziologik sharoitlar ta'sirida har xil ko'rinishdagi o'zgarishlarga uchrashi mumkin. Bunday vaziyatlarda organizm boshqaruvchi mexanizmlarini o'zaro kelishib ishlashi va ular ta'sirida hujayradagi modda almashinuvi jarayonlarining yo'nalishi lozim bo'lgan sharoitga imkon qadar moslashishi talab qilinadi. Organizmning normal va patologik holatlarida olingan axborotlar tahlili fizik-kimyoviy o'zgarishlarni baholashda, biokimyoviy tekshirishlar natijasini tushinishda nihoyatda muhim, chunki hujayra va to'qimalardagi kuzatilayotgan ko'rsatkichlar asosida butun organizm faoliyati to'g'risida fikr yuritiladi va kerakli chora-tadbirlar ko'riladi. Qo'yilgan vazifani amalga oshirishda biokimyoviy tekshirish usullari bilan yaqindan tanish bo'lish va undan ma'lum ish sharoitida foydalanish muhim ahamiyatga ega.

## **1.1. Biokimyoviy materiallar va ularning ajratish usullari**

Biologik materiallarni tekshirishda qo'yilgan maqsadga binoan lozim bo'lgan usullardan foydalaniladi. Eksperiment sharoitida biokimyoviy tadqiqot uchun har qanday biologik materialni osonlik bilan olish mumkin, klinikada esa bu imkoniyat nisbatan chegaralangan. Farmatsiyada esa biologik material sifatida hayvon to'qimalari va dori preparatlari ishlatiladi. Ko'pincha tekshirish materiallari organizmning biologik suyuqliklaridan yoki hujayra qismlaridan iborat bo'lib, ular tarkibida aniqlanayotgan komponentlarning sifat-miqdoriy o'zgarishlari yoki shu reaksiyalarda ishtirok etuvchi fermentlar faolligi normal va patologik holatlarda o'zaro taqqoslanib o'rganiladi.

Plazma, qon zardobi va boshqa biologik suyuqliklar har xil tabiiy moddalarning suvda erigan aralashmasidan iborat. Fermentlar esa tabiatan murakkab oqsillardan tashkil topganligi sababli, ularni aniqlashda biologik suyuqliklarga tarkibini o'zgartiruvchi moddalar qo'shilmaydi, bordi-yu ferment konsentratsiyasi yuqori bo'lsa, u suyultiriladi. Agar biologik suyuqlikdagi ferment undagi tekshirilayotgan moddani katalizlab, aniqlashga to'sqinlik qilayotgan bo'lsa, ferment faolligi tegishli reaktiv bilan to'xtatiladi. Odatda, bu maqsad uchun uchxlorcirka kislotasi, nitrat, fosforvolframli sulfat kislotalari yoki termik ta'sir qo'llaniladi. Bunda fermentlar bilan birga boshqa oqsillar ham cho'kmaga tushadi. Biokimyoviy tadqiqotlar hujayra, to'qima, organ tarkibiy qismlarida yoki uning bo'lakchalarida joylashgan organoidlarida, masalan, membranalarida o'tkaziladigan bo'lsa, unda hujayra yoki to'qimani avval maydalash kerak bo'ladi. Buning uchun ko'pincha to'qimani gomogenizator yordamida mexanik parchalash usuli qo'llaniladi. Gomogenizatorlar ko'rinishi bo'yicha shisha stakanga o'xshash bo'lib, hajmlari har xil. Ushbu stakanga qaychi bilan maydalangan to'qima bo'laki va

uni intaktligini saqlovchi muhit suyuqligi (odatda, saxaroza, kaliy xlorid) solinadi. Elektr toki yordamida stakandagi gomogenizator dastasining aylanishi natijasida hujayra membranasi parchalanadi, struktura bo‘lakchalari ajraladi. Oddiy sharoitda gomogenat to‘qimani farforli hovonchada shisha kukuni yoki kvars qumi bilan maydalab olinadi.

Gomogenatlar tarkibi to‘qima, hujayraning o‘lchovi, shakli, kimyoviy tuzilishi jihatidan har xil bo‘lgan murakkab bo‘laklari aralashmasidan iborat. Biokimyoviy tadqiqotlar o‘tkazishda ularni molekulasi bo‘yicha taqsimlab, ajratib olish uchun bir qator fizik-kimyoviy usullardan foydalaniladi.

**1.1.1. Sentrifugalash** – markazdan qochma kuch ta’sirida suyuqlik tarkibidagi qismlarni ajratishda birinchi navbatda aralashmadagi og‘irligi katta bo‘lgan bo‘lakchalar cho‘kadi. Ular ajratib olingach, cho‘kma usti suyuqligini (supernatant) katta tezlikda qayta sentrifugalab, boshqa qismlarini ham ajratish mumkin. Aralashmadagi komponentlarni aniqlash maqsadida o‘tkaziladigan sentrifugalashni preparativ sentrifugalash deb atalib, undan qonning shaklli elementlarini ajratishda, siydikdagi hujayralarni cho‘ktirib, ajratib olishda va boshqa maqsadlarda foydalaniladi.

Klinik-biokimyoviy laboratoriyalarda ishlatiladigan kichik hajmdagi sentrifugalarning maksimal tezligi daqiqasiga 6000 aylanishdan oshmaydi. Maxsus biokimyoviy tadqiqotlarda oqsillar va nuklein kislotalarning molekula og‘irligini aniqlashda, o‘lchovi va zichligi bo‘yicha farqlanuvchi zarralarni bir-biridan ajratishda yuqori tezlikdagi ultrasentrifugalalar (aylanish tezligi daqiqasiga 70000 gacha) ishlatilganligi uchun uni analitik sentrifugalash deb ataladi.

Zarralar cho‘kish tezligi markazdan qochma kuchini ortishi bilan o‘lchanadi. U  $g$  (gravitatsiya doimiyliги  $980 \text{ sm} \cdot \text{s}^{-2}$ ) birligida ifodalanadi. Amaliyotda  $g$  har bir ultrasentrifuganing nomogrammasida ko‘rsatilgan qo‘llanma bo‘yicha tuziladi. Masalan,

qon shaklli elementlari 300–400 g da 20–30 daqiqa sentrifugalangan-ganda cho‘kadi va hokazo.

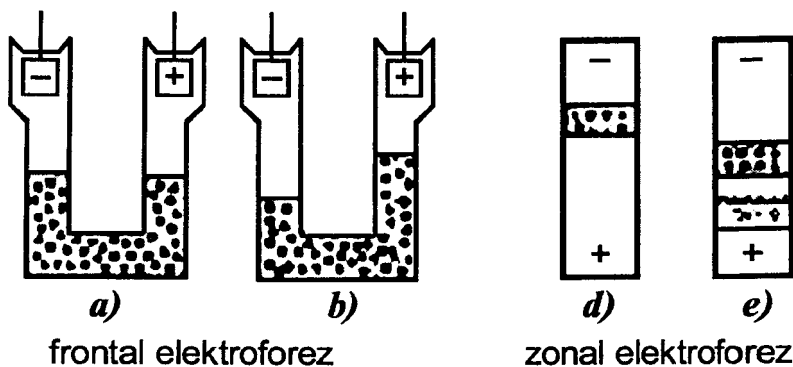
Differensial sentrifugalash yordamida subhujayra qismlari – yadro, mitoxondriya, lizosomalar, mikrosomalar va boshqalar ajratiladi.

**1.1.2. Elektroforez.** Elektroforez deb tashqi elektr maydoni ta’sirida zaryadlangan zarralarni taqsimlanishiga aytiladi. Elektroforez eksperimentlarda, klinik tibbiyotda qon oqsillari va peptidlarini, ayniqsa, qon zardobini tahlil qilishda qo‘llaniladigan zamonaviy usul hisoblanadi.

Zaryadlangan zarralar o‘lchovi va zaryadining katta-kichikligiga qarab elektr maydonida har xil tezlikda harakatlanadi, bu esa ularni o‘zaro ajralib, taqsimlanishiga olib keladi.

Elektroforezning ikkita asosiy turi bo‘lib, frontal va zonal usullarga bo‘linadi, ulardan keyingisi ko‘proq tarqalgan. Bunda oqsil eritmasi bufer eritmasiga yupqa qavat ko‘rinishda joylashtiriladi.

Elektroforez davomida har xil oqsil molekulalari alohida fraksiyalarga bo‘linadi. Bu fraksiyalarni alohida-alohida ajratib, osonlik bilan kesib olinadi. Zonal elektroforezning asosi sifatida filtr qog‘ozi tasmasi, atsetilselluloza, kraxmal kukuni, agar, poliakrilamid geli va boshqa materiallardan foydalaniladi.



**1-rasm.** Frontal va zonal elektroforezlar.



Hozirgi vaqtda biologik va tibbiy tadqiqotlarda maxsus apparatli poliakrilamidli gel elektroforezi ko'proq ishlatilmoqda.

Fraksiyalarga bo'lingan moddalarning foregrammasi kumassi ko'ki, bromfenol ko'ki yoki amidoshvars 10 V eritmasida 20–30 daqiqa ushlanadi va ularning miqdori bo'yalgan bo'yoqning quyugligiga qarab aniqlanadi, ya'ni har xil oqsilni bo'yoq bilan bog'langan ko'rsatkichi shu oqsilning miqdoriga to'g'ri proporsional.

**1.1.3. Xromatografiya.** Xromatografiya har xil aralashmalarni o'z tarkibiy qismlariga nisbatan taqsimlanishini o'rganadi. Xromatografiyaning asosan to'rt turi mavjud.

a) Informatsion kolonkali xromatografiya – bu usul ion ko'rinishida bo'lgan eruvchi moddalarni taqsimlashda qo'llaniladi. Usulning harakatsiz va harakatli fazalari farqlanib, harakatsiz fazasi asosini ion almashuvchilardan iborat bo'lgan organik polimerlar – smolalar tashkil etadi. Agar harakatli fazasi sulfat kislotasi qoldig'i – karboksil guruhlari, ya'ni musbat zaryadli ionlar saqlasa, bu smola kation almashuvchi deb ataladi.

b) Anion almashuvchilari esa aminlarning xlorli unumlari hisoblanadi. Mazkur holatda manfiy zaryadli xlor tahlil qilinayotgan namunaning anioni bilan almashinadi. Aralashma eritmadagi moddalar harakatlanganda smoladagi harakatlanuvchi ionlar aralashma tarkibidagi ionlar bilan almashadi va natijada ionlar harakati pasayadi. Bog'lanish darajasi aralashmadagi har bir moddaning zaryadiga bog'liq. Zaryad qanchalik ko'p bo'lsa, smolaning o'zaro ta'siri shunchalik ko'p bo'ladi va kolonkadagi modda shunchalik sekinlik bilan harakatlanadi. Ba'zi moddalar kolonkada ushlab qoladi, ba'zilari esa ushlanmaydi. Kolonkada cho'kkan moddalar turli pH dagi eritmalar bilan yuvib olinadi. Kolonkadan oqib chiqayotgan suyuqlik – elyuat kollektorda to'planadi.

d) Suyuqlikli xromatografiyada harakatsiz faza o'rnida mikroroskopik zarralar qo'llaniladi. Bu usul katta tezlikka ega bo'lib,

qisqa vaqt oralig'ida deyarli har qanday birikmani taqsimlay oladi.

e) Taqsimlovchi xromatografiyada aralashma tarkibidagi moddalar radikallarining katta-kichikligi, funksional (gidrofil) guruhlarining bor-yo'qligi, harakatli va harakatsiz eritmalarda har xil erishiga qarab o'z individual komponentlariga taqsimlanadi.

Xromatografik qog'oz tasmasining pastki chegarasidan 1 sm yuqoriga bir tomchi tekshirilayotgan modda tomizilib, tagida harakatlanuvchi eritma, ko'pincha, organik eritma saqlagan xromatografiya kamerasiga joylashtiriladi. Kamera atmosferasidagi suv bug'lariga to'yingan modda harakatsiz (polyar) eritmani hosil qiladi. Harakatlanuvchi eritma yuqoriga o'zi bilan birga gidrofob moddani olib harakatlanadi, gidrofil moddalar esa suvda erigani uchun startda qoladi. Har bir modda bo'yalgandan so'ng individual Rf lari o'lchanadi yoki standart modda bilan identifikatsiya qilinadi.

**1.1.4. Optik usullar.** Fotokolorimetrik usulda tahlil qilishda tekshirilayotgan eritma rangining ravshanlik darajasi (konsentratsiyasi) avvaldan ma'lum bo'lgan standart eritma rangi bilan taqqoslanadi. Kolorimetrik aniqlashda miqdori o'lchanayotgan moddaning boshqa modda bilan rangli birikma hosil qilish reaksiyasidan foydalaniladi. Olingan eritma rangining jadalligi bo'yalgan moddaning miqdoriga to'g'ri proporsional bo'ladi. Rang jadalligi qanchalik ko'p bo'lsa, optik zichlik ham shunchalik yuqori bo'ladi. Grafik bog'liqlikni aniqlashda absissa o'qiga mol/l ( $C$ ) da modda miqdori, ordinata o'qiga esa eritmaning optik zichligi ( $D$ ) qo'yiladi. Uslubni qo'llash uchun  $D$  va  $C$  ko'rsatkichlari o'rtasida proporsional bog'liqlik bo'lishi shart.

Spektrofotometrik tahlil usulida eritmadagi yoki qattiq muhitdagi moddaning nur yutishi ma'lum to'lqin uzunligiga to'g'ri kelishi aniqlanadi. Spektrofotometrni qo'llab spektrni ko'zga ko'rinadigan (600 dan 1100 nm), ultrabinafsha spektr qismida (220 dan 650 nm gacha) ishlash mumkin.

## 2-bo'lim

### Oqsillarning kimyoviy xususiyati va aniqlash usullari

Tirik organizm hujayralarining tarkibiy qismini tashkil etadigan birikmalarning eng muhimi va asosiysi oqsillar hisoblanadi. Oqsillar tarkibida azot saqlovchi yuqori molekulali birikma bo'lib, jonsiz tabiatda uchramaydi. Tirik organizmlarni tashkil topishida va ularda hayotiy jarayonlarni amalga oshishida oqsillarning ahamiyati juda ham katta.

Haqiqatan ham hayotni oqsillarsiz tasavvur etib bo'lmaydi. Chunki ular tirik organizmdagi moddalar almashinuvi jarayonida hal qiluvchi vazifani bajaradi. Tiriklik ehtiyojlariga xos bo'lgan barcha asosiy xususiyatlar oqsillarda mujassamlashgan. Oqsillarning nihoyatda xilma-xil bo'lgan vazifalarni bajarishi – ularning kimyoviy tuzilishi yuqori darajada murakkab ekanligidan dalolat beradi. Darhaqiqat, oqsillar tabiatda uchraydigan kimyoviy birikmalarning eng murakkabi bo'lib, organizmda kimyoviy jarayonlarni tezlashtirishda, moddalar almashinuvini boshqarishda, himoya votsitalari sifatida muhim fiziologik funksiyalarni bajaradi. Ularning nuklein kislotalar bilan hosil qilgan komplekslari irsiy axborotlarni keyingi avlodlarga o'tkazib, hayotning davomiyligini ta'minlaydi.

Oqsillar tuzilishi bo'yicha yuqori molekulali organik birikma bo'lib, tarkibiga 20 xil aminokislotadan tashkil topgan va 2 guruhga bo'linadi:

- 1) oddiy oqsillar – faqat aminokislotalar zanjiridan iborat;
- 2) murakkab oqsillar – oqsil va oqsil bo'lmagan qismlar birikshidan tashkil topgan.

Oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari va xilma-xilligi ular tarkibidagi aminokislotalarga bog'liq.

Oqsillarni aniqlashda o'tkaziladigan barcha sifat reaksiyalari yoki miqdoriy o'lchovlar, ulardagi funksional guruhlarning fizik-kimyoviy xossalari asoslanadi. Birorta aminokislota yetishmasligi organizmda oqsil almashinuvining buzilishiga sabab bo'lib, oqibatda turli kasalliklar yuzaga keladi.

## **2.1. Oqsillar va aminokislotalarga xos rangli reaksiyalar**

Oqsillar yuqori molekulyar kolloid birikmalar bo'lib, gidrolizlanganda aminokislotalarga parchalanadi. Oqsil tarkibidagi aminokislotalar o'zaro peptid bog'lari orqali birikadi. Oqsillarga xos rangli reaksiyalar ular qurilishida qatnashuvchi aminokislotalarga yoki molekulasidagi kimyoviy guruhlarga ham xosdir. Oqsillarning ayrim kimyoviy moddalar bilan reaksiyaga kirishishidan hosil bo'lgan rangli unumlar oqsil tarkibida ma'lum aminokislota yoki uning funksional guruhlari borligini bildiradi.

Ba'zi rangli reaksiyalar yordamida oqsil va uning tarkibidagi aminokislotalar miqdorini aniqlash mumkin.

### **2.1.1. Biuret reaksiyasi**

Oqsil tarkibida ketma-ket joylashgan aminokislotalarning birinchisidagi COOH va ikkinchisining NH<sub>2</sub> guruhlaridan suvni chiqib ketishi natijasida hosil bo'lgan peptid bog'ini  $-CO-NH$  kuchli ishqoriy muhitda mis sulfati bilan ko'kish-binafsha yoki qizil-binafsha rang berishiga asoslangan.

Biuret reaksiyasini hamma oqsillar, ularning to'liq bo'lmagan gidroliz unumlari – peptonlar, polipeptidlar va tarkibida kamida ikkita peptid bog'i bo'lgan peptidlar beradi. Rangning to'qlik darajasi peptid zanjirining uzunligiga bog'liq.

Tekshiriluvchi material: 1% li tuxum oqsili eritmasi (tayyorlanishi 1-ilovada\*), 1% li jelatina eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi.
2. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativlar.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

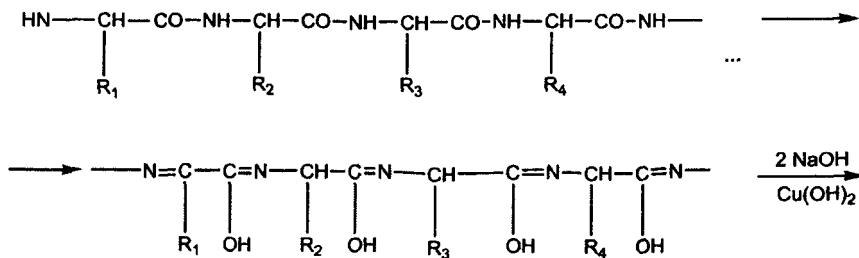
**Ishni bajarilishi**

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 5–10 tomchi tuxum oqsilining 1% li eritmasidan, ikkinchisiga 5–10 tomchi qon oqsilining 1% li eritmasidan, uchinchisiga 5–10 tomchi jelatinaning 1% li eritmasidan solinadi.

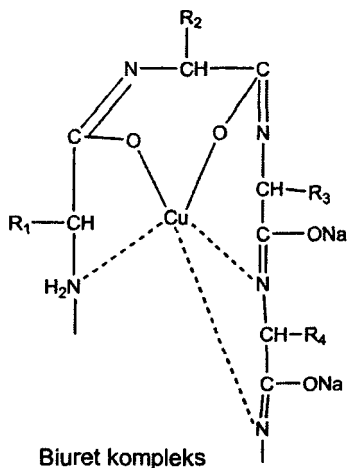
2. Barcha probirkalarga 10 tomchidan natriy gidroksidning 10% li eritmasidan va mis sulfatning 1% li eritmasidan 1 tomchidan tomizilib, aralashtiriladi.

3. Uchala probirkada qizil-binafsha yoki ko‘kish-binafsha rang hosil bo‘ladi.

4. Polipeptidlarning misli kompleksini sxematik ravishda quyidagicha tasvirlash mumkin:

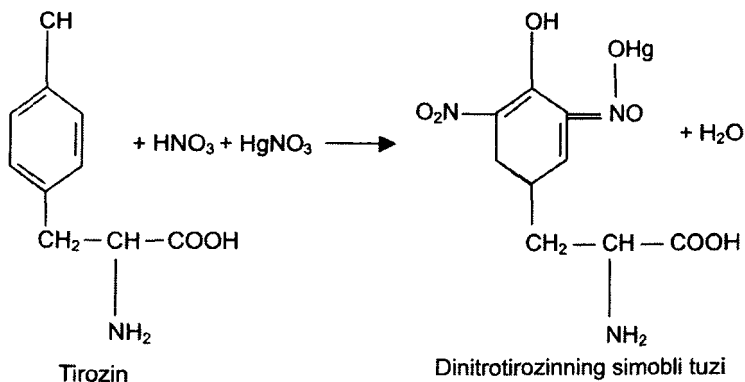


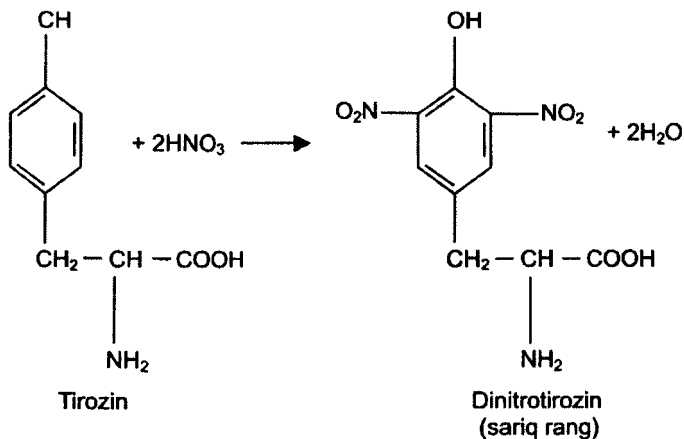
\* Reaktivlar nomi va tarkibi kitob oxirida keltirilgan ilovada berilgan.



## 2.1.2. Millon reaksiyasi

Oqsil eritmasiga millon reaktivi (simobning nitrat kislotadagi eritmasi) qo‘shilganda, cho‘kma tushib, u qizdirilganda qo‘ng‘ir-qizil rangga kiradi. Reaksiya oqsil tarkibidagi fenol yadrolı tirozinning simob bilan dinitrotirozinli tuzi hosil qilganini ko‘rsatadi. Mazkur reaksiya tarkibida tirozin bo‘lmagan oqsil molekularida (jelatina) kuzatilmaydi. Erkin tirozin Millon reaktivi bilan qizil rang bersa ham cho‘kma hosil qilmaydi:





**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. 0,1% li fenol eritmasi.
2. 0,05% li tirozin eritmasi.
3. Millon reaktivi (tayyorlanishi 2-ilovada).
4. 1% li jelatina eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml 0,05% li tirozin eritmasi, uchinchisiga 0,1% li 1 ml fenol eritmasidan solinadi.

2. Har bir probirkaga 5 tomchidan Millon reaktivi tomiziladi.

3. Probirkalar sekin-asta qizdirilganda qizil rang hosil bo'ladi.

4. Bajarilgan ish jelatina bilan qaytarilganda suyuqlik rangi o'zgarmaydi, chunki jelatina molekulasida tirozin qoldig'i yo'q.

### 2.1.3. Ksantoprotein reaksiyasi

Tarkibida benzol halqali siklik aminokislotalar – tirozin triptofan tutgan ko'pchilik oqsil eritmaları konsentrlangan nitrat kislotasi bilan reaksiyaga kirishib, sariq yoki to'q sariq rang beradi. Bu reaksiya oqsil molekulasidagi aromatik aminokislotalarga xos bo'lib, ular nitrat kislotasi bilan o'zaro reaksiyaga kirishganda sariq rangli nitrobirkmalarni hosil qiladi. Agar unga ishqor qo'shilsa, to'q sariq rangli xinoid tuziga aylanadi. Bu reaksiyani triptofan bilan ham qaytarsa bo'ladi. Jelatina oqsili tarkibida aromatik aminokislotalar bo'lmaganligi sababli ksantoprotein reaksiyasiga kirishmaydi.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi, 1% li jelatina eritmasi.

#### **Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan nitrat kislotasi.
2. Natriy gidroksidning 20% li eritmasi yoki konsentrlangan ammiak.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativlar.
2. Pipetkalar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml tuxum oqsili, ikkinchisiga 1 ml qon zardobi oqsili, uchinchisiga 1 ml jelatina quyiladi.

2. Barcha probirkalarga 0,5 ml dan konsentrlangan nitrat kislotasi qo'shiladi.

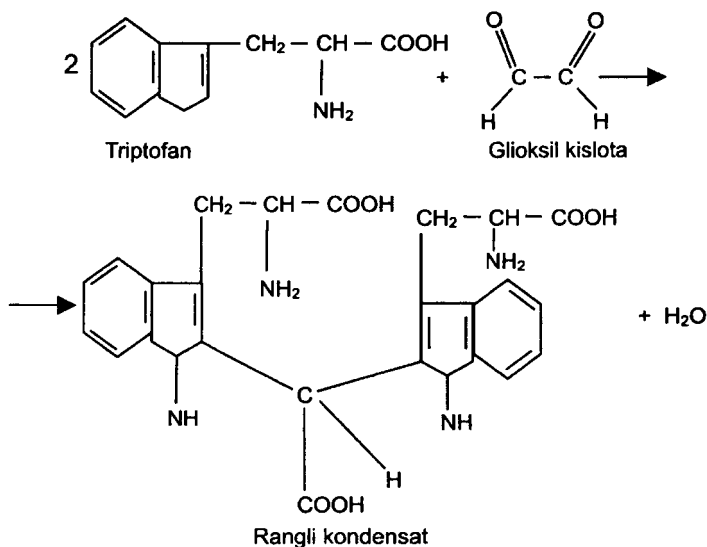
3. Probirkalar sekinlik bilan qizdirilsa, birinchi va ikkinchi probirkalarda sariq rang paydo bo'ladi. Uchinchi probirkada esa rang o'zgarmaydi.

4. Probirkalar sovutilib, har biriga konsentrlangan ammiak yoki 20% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo'shilganda dinitrotirozinnining natriyli yoki ammoniyli tuzi hosil bo'lganligi sababli probirkadagi sariq rang to'q sariq rangga aylanadi.



## 2.1.4. Adamkevich reaksiyasi

Adamkevich reaksiyasi indol halqasiga xos bo'lib, oqsillar va polipeptidlar konsentrlangan sulfat kislota ishtirokida gliksil kislotalari bilan qizg'ish-binafsha rang berishiga asoslangan. Bu reaksiya oqsil tarkibidagi triptofan kislotali muhitda gliksil kislotalarining aldegid guruhi bilan reaksiyaga kirishganida rangli modda kondensati hosil bo'lishiga asoslangan. Gliksilat doimo oz miqdorda muzli sirka kislota tarkibida bo'ladi, shuning uchun bu kislota gliksilatni manbasi sifatida foydalaniladi:



**Tekshiriluvchi material:** 1% li oqsil eritmasi, 1% li qon zardobi, 1% li jelatina eritmasi.

### Reaktivlar:

1. Triptofanning 0,05% li eritmasi.
2. Muzli sirka kislotalari.
3. Konsentrlangan sulfat kislotalari.

### Jihozlar:

1. Probirkali shtativlar.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

### Ishni bajarilishi

1. 4 ta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi 1% li tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi 1% li qon zardobi, uchinchisiga 5 tomchi jelatina eritmasi, to'rtinchisiga 5 tomchi 0,05% li triptofan eritmasidan quyib, ularning har biriga 5 tomchidan sirka kislotaga tomiziladi.

2. Suyuqlikdagi oqsil eriguncha probirkalar asta qizdiriladi.

3. Sovutilgach, probirka devori bo'ylab ohistalik bilan ikkala suyuqlikni aralashtirmasdan 10 tomchidan konsentrlangan sulfat kislotaga tomiziladi.

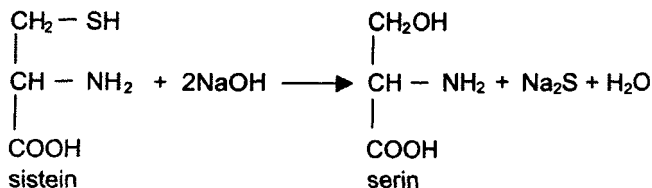
4. 1–2 daqiqa o'tgandan keyin 1, 2 va 4 probirkalarda ikkala suyuqlik chegarasi oralig'ida halqasimon qizg'ish-binafsha rang paydo bo'ladi.

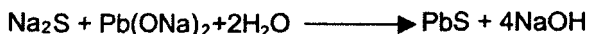
5. Agar probirkalar qaynab turgan suv hammomida isitilsa, rangning paydo bo'lishi tezlashadi.

6. Uchinchi probirkadagi jelatina molekulasida triptofan bo'lmaganligi uchun rang paydo bo'lmaydi.

### 2.1.5. Fol reaksiyasi

Oqsildagi metionin, sistein va sistin ishqorda qizdirib, gidroliz qilinganda ular molekulasidagi oltingugurt bo'sh bog'langanligi sababli vodorod sulfidi shaklida oson ajralib, ishqoriy muhitda natriy yoki kaliy sulfidini hosil qiladi. Sulfidlar qo'rg'oshin atsetat bilan qo'shib, qora rangli cho'kma beradi:





Natriy  
plyumbit

Qo'rg'oshin  
sulfidi  
(qora chdkma)

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi, qon zardobi, 1% li jelatina eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. 30% li natriy gidroksid eritmasi.
2. 5% li qo'rg'oshin atsetat eritmasi.
3. Fol reaktivi ( tayyorlanishi 3-ilovada).

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 1 ml tuxum oqsili eritmasi, ikkinchisiga qon zardobi va uchinchisiga 1 ml jelatina eritmasidan quyiladi.

2. Barcha probirkalarga 30% li natriy gidroksid eritmasidan 1 ml dan qo'shib, 2–5 daqiqa davomida qizdiriladi.

3. Probirkalar sovutilgach, har biriga 0,5 ml 5% li qo'rg'oshin atsetat qo'shilganda birinchi va ikkinchi probirkada qora cho'kma hosil bo'ladi.

4. Uchinchi probirkadagi jelatina tarkibida oltingugurtli aminokislotalar yo'qligi uchun cho'kma hosil bo'lmaydi.

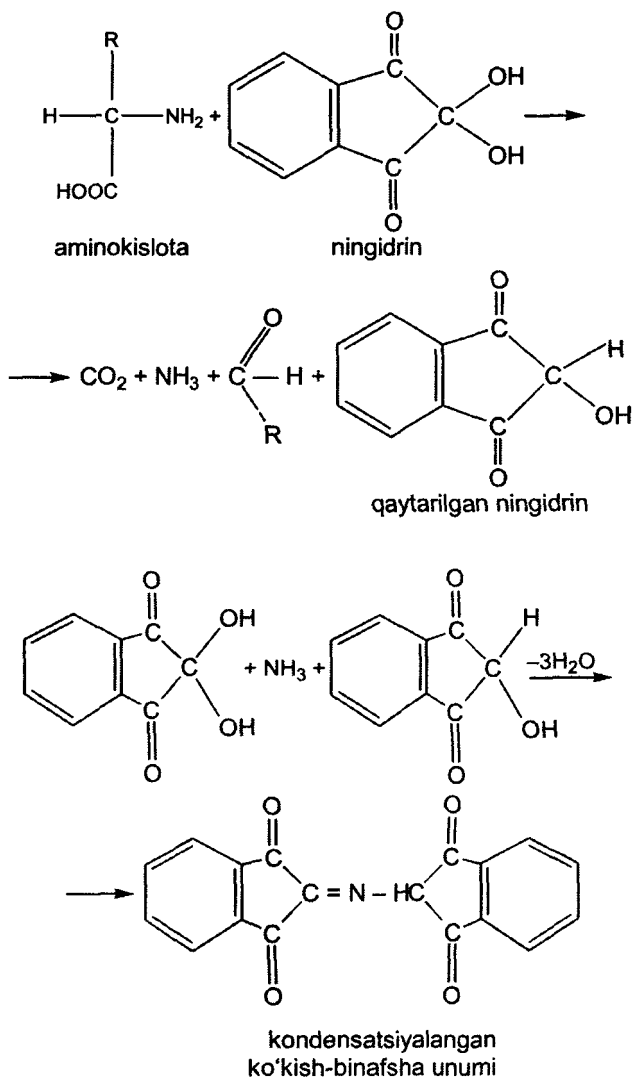
### 2.1.6. Ningidrin reaksiyasi

Ningidrin reaksiyasi aminokislotalarining  $\alpha$ -holatida turgan aminoguruhlariga xosdir.

Ningidrin kuchli oksidlovchi modda – uning ta'sirida  $\alpha$ -aminokislotalarning dezaminlanishi va dekarboksillanishi natijasida  $\text{CO}_2$ ,

ammiak va aldegid hosil bo'ladi. Qaytarilgan ningidrin ammiak va ortiqcha ningidrin bilan o'zaro reaksiyaga kirishib, ko'k-binafsha rangdagi kondensatsiyalangan unumini keltirib chiqaradi.

Reaksiya quyidagicha kechadi:



**Tekshiriluvchi material:** 1% li oqsil eritmasi, 1% li qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. 0,1% li ningidrinning spirtli eritmasi.
2. 1% li alanin eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Uchta probirka olib, birinchisiga 5 tomchi tuxum oqsili, ikkinchisiga 5 tomchi qon zardobi, uchinchisiga 5 tomchi alanin eritmasidan tomiziladi.

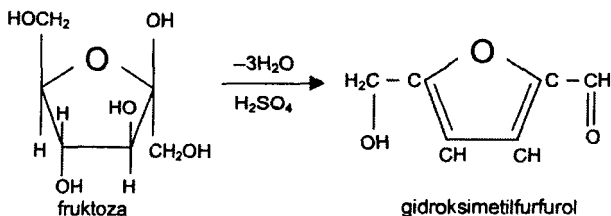
2. Har bir probirkaga 5 tomchidan 0,1% li ningidrin eritmasidan tomizilib, 1–2 daqiqa qizdiriladi.

3. Probirkalardagi aralashmalar avval pushti-binafsha yoki ko‘kish-binafsha rangga bo‘yaladi. Vaqt o‘tishi bilan eritma ko‘karadi.

4. Bu usul yordamida aminokislotalarni miqdor jihatdan ham aniqlash mumkin.

### 2.1.7. Shulze-Raspaylya reaksiyasi

Bu reaksiya oqsil tarkibidagi triptofan qoldig‘iga xos reaksiya bo‘lib, bunda triptofan oksimetilfurfurol ta‘sirida to‘q qizil rangli kondensatsiyalangan unumini hosil qiladi. Oksimetilfurfurol mazkur reaksiyada saxarozaning konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida parchalanishidan hosil bo‘lgan geksoza (fruktoza) ni unumi hisoblanadi:



**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Saxarozaning 10% li eritmasi.
2. 0,05% li triptofan eritmasi.
3. Muzli sirka kislota.
4. Konsentrlangan sulfat kislota.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 5–10 tomchi 1% li tuxum oqsiliga yoki 5–10 tomchi 1% li qon zardobiga 1–2 tomchi 10% li saxaroza eritmasi va probirka devori bo‘ylab ohistalik bilan 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi.

2. Probirka asta chayqatilib, ikkala suyuqlik aralashtiriladi.

3. Sulfat kislotasining erishi natijasida hosil bo‘lgan issiqlik hisobiga ikkala suyuqlik qo‘shilishidan to‘q qizil rang paydo bo‘ladi.

**Nazorat savollari**

1. *Oqsil nima, uning molekulasi nimadan tuzilgan?*
2. *Proteinogen aminokislotalarni sanab bering, oqsil tarkibida ular qanday bog‘ bilan bog‘langan?*
3. *Aminokislotalar tasnifi nimaga asoslangan? Siklik, asiklik aminokislotalarga misollar keltiring.*
4.  *$\alpha$ -aminokislotalar qanday reaksiya bilan ochiladi? Bu reaksiya nimaga asoslangan?*
5. *Oltingugurt tutuvchi aminokislotalar qurilishi va ularni ochuvchi Fol reaksiyasining mexanizmini yozib bering.*
6. *Aromatik aminokislotalar va ularni ochishdagi rangli reaksiyasi nimaga asoslangan?*

7. *Oqsil tarkibidagi aminokislotalarning qanday bog'lari Biuret reaksiyasini ifodalaydi?*
8. *Oqsildagi qaysi aminokislota qoldig'i ksantoprotein reaksiyasini ko'rsatadi? Bu aminokislotalarni yozib bering.*
9. *Millon reaksiyasidagi to'q qizil rang beruvchi aminokislotalarni yozib bering.*
10. *Oqsil tarkibidagi qaysi aminokislotalarni Adamkevich va Shulze-Raspayli reaksiyalari bilan ochish mumkin?*
11. *Keltirilgan rangli reaksiyalarning har biri oqsil uchun maxsusmi?*
12. *Oqsillarga xos rangli reaksiyalarning qanday ahamiyati bor?*

## **2.2. Oqsillarning fizik xususiyatlari**

Oqsillarning fizik xususiyati ularning struktura tuzilishidan kelib chiqib, polipeptid zanjirini tashkil qiluvchi monomerlardan tubdan farqlanadi. Oqsillarning fizik xususiyatlari biokimyoviy laboratoriyalarda, farmatsevtik amaliyotda va eksperimental biokimyoda qabul qilingan ko'pchilik uslublarning asosini tashkil qilib, ularni ajratish va tozalash, sifat va miqdoriy tahlil qilish, ayniqsa, tarkibiy qismlarini aniqlashda o'z ifodasini topgan.

### **2.2.1. Oqsillarning denaturatsiyasi**

Oqsillar molekulasidagi uchlamchi va to'rtlamchi qurilish darajalarini buzuvchi moddalar ta'sirida fizik-kimyoviy va biologik xususiyatlarining o'zgarishiga denaturatsiya deyiladi. Denaturatsiyalovchi omillar kimyoviy, fizikaviy va biologik sifatga ega bo'lishi mumkin. Bular orasida kimyoviy (kislotalar, og'ir metallar, alkaloidlar, sirt faol moddalar va boshqalar) va fizik omillar (harorat, radiatsiya, ultratovush va boshqalar) nisbatan ko'proq. Biologik denaturatsiya chaqiruvchilar qatorida proteolitik

fermentlar ishtirok etadi, ular peptid bog‘larini gidrolizlash oldida oqsil molekulasining yuqori qurilish darajalarini buzadi.

Denaturatsiya oqsilning eruvchanligini kamaytirib, cho‘kmaga tushiradi. Denaturatsiya deyarli qaytmas jarayon, ammo gohida denaturatsiyalovchi omilni olib tashlaganda oqsil molekulasining avvalgi tabiiy holati tiklanishi mumkin, bunga renaturatsiya deyiladi.

Oqsillarning denaturatsiyaga uchrash hodisasidan klinikada, farmatsiyada va biokimyoviy tadqiqotlarda keng foydalaniladi:

a) biologik materiallarda kichik molekullari substratlarni aniqlashda oqsillar cho‘ktiriladi;

b) har xil biologik suyuqliklar va ekstraktlarda oqsil borligini aniqlashda va uni miqdoriy tahlil qilishda masalan, siydik tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy aniqlash uni nitrat kislota bilan denaturatsiyaga uchrashiga asoslangan;

d) oqsillarni og‘ir metall tuzlari bilan bog‘lanishi ishlab chiqarishda zaharlanganlarni davolashda qo‘llaniladi;

e) chiqindilarni zararsizlantirishda, teri va shilliq qavatlarini dezinfektsiyasida.

**Tekshiriluvchi material:** 1%li tuxum oqsili eritmasi, 1% li qon zardobi.

### **Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan nitrat kislota.
2. Mis sulfatning 5% li eritmasi.
3. Qo‘rg‘oshin sulfatning 5% li eritmasi.
4. Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi.
5. 10% li xlorid kislotasi.
6. 96% li etil spirti.
7. Atseton.

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Pipetkalar.
3. Suv hammomi.



### **2.2.1.1. Oqsillarning konsentrlangan mineral kislotalari bilan denaturatsiyasi**

Mineral kislotalar ta'sirida oqsil zaryadi neytrallashib, fazoviy qurilishi buzilishi natijasida denaturatsiyaga uchraydi va cho'kmaga tushadi.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislota quyiladi.
2. Probirkani  $45^\circ$  li burchak ostida qiyshaytirib ushlangan holda, devori bo'ylab 5 tomchi oqsil eritmasidan ohistalik bilan tomiziladi.
3. Ikki qavat suyuqlik chegarasida denaturatsiyalangan yupqa oqsil halqasi hosil bo'ladi.

### **2.2.1.2. Oqsillarning organik kislotalar bilan denaturatsiyasi**

Usul organik kislotalar ta'sirida oqsil zaryadi neytrallanib, fazoviy qurilishi buzilishi natijasida denaturatsiyaga uchrab, cho'kmaga tushishiga asoslangan.

#### **Ishni bajarilishi**

1. 2 ta probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasi tomiziladi.
2. Birinchisiga 2 tomchi 10% li uchxlorsirka kislota, ikkinchisiga 2 tomchi 10% li xlorid kislota qo'shilganda oq cho'kma kuzatiladi.

### **2.2.1.3. Oqsillarning og'ir metall tuzlari bilan denaturatsiyasi**

Usul og'ir metall tuzlarini oqsil molekulasidagi aminokislotalar yon radikallarining funksional guruhlar bilan bog'lanishi natijasida oqsilning fazoviy qurilishi buzilib, denaturatsiyaga uchrashi va cho'kmaga tushishiga asoslangan. Og'ir metall tuzlaridan (kumush

nitrat va simob xloriddan tashqari) ortiqcha miqdorda qo‘shilganda avval hosil bo‘lgan cho‘kmani eriganligi kuzatilgan. Bunga sabab metall ionlarini adsorbsiyalanishi oqibatida oqsil molekulasi musbat zaryadga o‘tadi.

### **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasidan quyiladi.
2. Birinchi probirkaga mis sulfatning 5% li eritmasidan 1–2 tomchi, ikkinchisiga qo‘rg‘oshin atsetatning 5% li eritmasidan 1–2 tomchi qo‘shiladi.
3. Oqsilning cho‘kmaga tushishi aniqlangach, har ikkala probirkaga o‘z eritmasidan bir necha tomchi tomizilganda, cho‘kmani erishi kuzatiladi.

## **2.2.1.4. Oqsillarning organik erituvchilar bilan denaturatsiyasi**

Organik erituvchilar (spirt, atseton, xloroform) ta’sirida oqsil molekulasi suv qobig‘i buzilib dehidratatsiyalanadi va eruvchanligi pasayishi hisobiga denaturatsiyaga uchrab, cho‘kmaga tushadi.

### **Ishni bajarilishi**

1. Uchta probirkaga 10 tomchidan oqsil va teng hajmda organik eritmalar: birinchisiga etil spirti, ikkinchisiga atseton, uchinchisiga xloroform qo‘shib, cho‘kmaga tushishi kuzatiladi.
2. Ishni rasmiylashtirishda cho‘kmaga tushirish reaksiyalarida denaturatsiyalovchi moddani ta’sir qilish xususiyati ko‘rsatiladi. Xulosada oqsilni denaturatsiyaga olib keluvchi sababi keltiriladi.

## **2.2.2. Oqsillar dializi**

Yuqori molekulali birikmalar kolloid eritmalarini yarim o‘tkazuvchan membranalar yordamida past molekulali organik va anorganik aralashmalardan ajratishga *dializ* deb ataladi. Dializ

davomida kolloid eritmalar membranadan osonlik bilan o'tuvchi, masalan, elektrolitlardan va boshqa kristalloidlardan osonlik bilan tozalanadi. Shu xususiyati bilan dializ oqsil molekulalarini kichik molekulali qo'shimchalardan xoli bo'lishida qulay usul hisoblanadi. Odam va hayvon organizmidagi ba'zi membranalardan oqsil molekulalari o'ta olmaydi (buyrakdagi Boumen-Shumlyanskiy kapsulasi, oshqozon-ichak yo'li epiteliysining shilliq pardasi va boshqalar).

Dializda ishlatiladigan asbob dializator deb ataladi. Oddiy dializator sifatida suvli stakanga tushirilgan kollodiy yoki sellofan xaltachasidan foydalansa bo'ladi. Bunda kichik molekulali moddalar suvga o'tib, xaltachada oqsilning kolloidli eritmasi qoladi.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi, 1% li qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Ammoniy sulfat tuzining to'yingan eritmasi.
2. Bariy xloridining 5% li eritmasi.
3. Biuret reaktivi (mis sulfatning 1% li eritmasi bilan natriy gidroksidning 10% li eritmasi).
4. Distillangan suv.

**Jihozlar:**

1. 100 ml hajmli stakan.
2. 125 × 125 mm li sellofan.
3. Shisha tayoqcha.
4. Rezinali bog'lagichlar.
5. Probirkalar.
6. Pipetkalar.

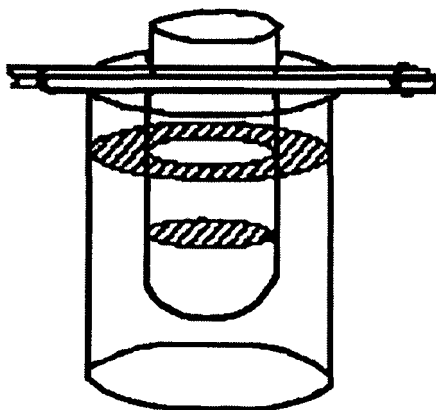
**Ishni bajarilishi**

1. 5 ml 1% li tuxum oqsili yoki 1% li qon zardobiga 1–2 tomchi ammoniy sulfat tuzi qo'shib, aralashtiriladi.
2. Ikkita probirkaga 10 tomchidan eritma olinib, bittasi bilan Biuret reaksiyasi, ikkinchisi bilan sulfat aniqlanadi.

3. Sulfatlarga tahlil o'tkazilayotganda probirkaga 2–3 tomchi bariy xlorid eritmasi qo'shiladi.

4. Sellofan xaltachaga (dializator)ning 1/3 hajmiga qadar tum xum oqsilining ammoniy sulfat aralashgan eritmasidan quyiladi.

5. Xaltacha yuqori qismidan ikkita shisha tayoqchali rezina halqa yordamida tayyorlangan qisqichga mahkamlanib, distillangan suvli stakanga solib qo'yiladi, xaltachadagi suyuqlik sathi stakandagi suv sathidan pastroqda bo'lishi kerak.



**2-rasm. Eng oddiy dializator.**

Dializ boshlanishidan bir soat o'tgandan so'ng stakandagi suvdan (dializat) 10–15 tomchidan ikkita probirkaga olinadi. Birinchisi bilan oqsilga biuret reaksiyasi, ikkinchisiga 3–5 tomchi bariy xlorid qo'shib, sulfat ioniga sifat reaksiyasi o'tkaziladi.

Aynan shu reaksiyalar xaltacha ichidagi oqsil bilan ham qaytariladi, so'ngra dializat (tashqaridagi suyuqlik) va dializlanayotgan suyuqlikdan olib, oqsil va sulfatlarga xos reaksiyalar bajariladi, tuz tashqariga chiqqani va oqsil xaltachaning ichida qolganiga ishonch hosil qilinadi.

Mazkur usul oqsillar, nuklein kislotalar, polisaxaridlarni kichik molekullari qo'shimcha moddalardan tozalash bilan birga

biokimyoviy tadqiqotlarda, oqsillardan davolash votsitalari tayyorlashda, albuminlar va globulinlar fraksiyalarini ajratib olishda foydalaniladi. Dializ usuli “sun’iy buyrak” apparatining ishlash asosi bo‘lib, qonning tabiiy kichik molekulali zaharli moddalardan tozalashda foydalaniladi.

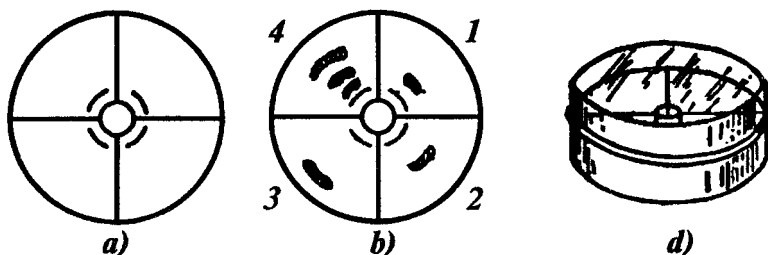
Olingan natijalar jadval ko‘rinishida rasmiylashtiriladi. Xulosada dializ usuli oqsilning qaysi xususiyatini belgilashi va qo‘llanilish imkoniyatlarini ko‘rsating.

### **2.2.3. Aminokislotalarning qog‘ozli xromatografiyasi**

Mazkur usul oqsil gidrolizati, qon zardobi, siydikdagi aminokislotalarni aniqlashda, jarohatlangan jigar funksiyasining ahvoli to‘g‘risida fikr yuritishda, ayrim aminokislotalar almashinuvining buzilishi oqibatidagi kasalliklarni aniqlashda zarur tekshirish choralaridan hisoblanadi.

Usul aminokislotalarning xromatografiya filtr qog‘ozida ikkita aralashmaydigan eritmada – biri suv, ikkinchisi suv bilan to‘yintirilgan organik eritma (fenol, butil spirtining sirka kislota bilan aralashmasi va boshqalar) har xil darajada erishiga asoslangan. Suv harakatlanmaydigan faza, chunki u qog‘ozga shimilgan, harakatlanuvchi faza sifatida organik erituvchilardan foydalaniladi. Xromatografiya qog‘oziga bir tomchi aminokislota aralashmasidan tomiziladi, qog‘ozning ikkinchi uchi tegishli organik erituvchiga tushiriladi. Erituvchi suyuqlik qog‘ozga shimilib, o‘zi bilan birga aminokislotalarni olib harakatlanadi. Aminokislota suvda qancha yaxshi erisa, organik erituvchida shunchalik yomon eriydi va harakatlanish tezligi sekin bo‘ladi. Natijada erish koeffitsiyentiga qarab aminokislotalar turli masofada taqsimlanadi. Aminokislotalarning qog‘ozda harakatlanishi bo‘yicha pastdan yuqoriga, yuqoridan pastga, doira bo‘ylab (radial) xromatografiya turlari farqlanadi. Aminokislotalarning aniqlashda xromatografiya

qog'oziga guvoh aminokislotalar tomizilib, ularni front bo'ylab o'tgan masofasiga qarab yoki tegishli aminokislotalarni taqsimlanish koeffitsiyenti –  $R_f$  ga ko'ra aniqlanadi.  $R_f = a/b$  mm da; bunda  $a$  – aminokislotalarni tomizilgan joyidan (startdan) boshlab o'tgan masofasi;  $b$  – eritmani o'tgan masofasi.



3-rasm. Radial xromatografiya.

**Tekshiriluvchi material:** aminokislotalar aralashmasi.

**Reaktivlar:**

1. Tirozinning 0,4% li eritmasi.
2. Glutamin kislotasining 0,6% li eritmasi.
3. Leysinning 0,5% li eritmasi.
4. Ningidrinning 0,2% li atsetondagi eritmasi.
5. Erituvchi sistema 15:15:10 nisbatda olingan butil spirti, sirka kislotasi va suv aralashmasi.

**Jihozlar:**

1. Xromatografiya filtr qog'ozini.
2. Petri kosachasi.
3. Pipetkalar.
4. Purkagich.
5. 105° li quritish shkafi.
6. Qaychi.

**Ishni bajarilishi**

1. Diametri 10–11 sm xromatografiya qog'ozining (o'lchovi Petri kosachasining o'lchovidan 1 sm enliroq bo'lishi kerak)

markazida qora qalam bilan diametri 1 sm bo'lgan doira chiziladi va qog'oz to'rtga bukiladi va tomonlari tartib raqamlari bilan belgilanadi. Doira markazida 4–5 mm qalinlikdagi qog'oz pilik sig'adigan teshik o'yiladi.

2. So'ngra xromatografiya qog'ozi Petri kosachasiga o'rnatilib, har bir bo'limiga ingichka pipetka bilan aminokislota aralashmasidan tomiziladi va qog'oz markazidagi teshikcha orqali 10–15 ml eritma solinib, uning shimilishi uchun shu teshikchaga filtr qog'ozidan pilikcha o'rnatiladi.

3. Kamera qopqoq bilan bekitiladi va yurituvchi suyuqlik pilik orqali asta-sekin qog'ozga yoyila boshlaydi. Erituvchi qog'oz chekkasiga yetganda jarayon to'xtatiladi va xromatogramma quritish shkafida 100–120° C da 5–10 daqiqa davomida quritiladi.

4. Xromatogrammadagi aminokislotalar ningidrin purkalib aniqlanadi va Rf topilib, guvohlar bilan solishtiriladi.

Qon zardobi va organizmning boshqa suyuqliklaridagi aminokislotalarni xromatografik tahlil qilish usuli klinikada irsiy kasalliklarga tashxis qo'yishda, kasallik holatini baholashda; farmatsiyada oqsil gidrolizatlari sifatini aniqlashda, aminokislotalar aralashmasidan tuzilgan preparatlar tarkibini o'rganishda muhim ahamiyatga ega.

### **Nazorat savollari**

- 1. Oqsil denaturatsiyasi nima, bunda oqsilning qaysi xususiyatlari o'zgaradi?*
- 2. Renaturatsiya va denaturatsiyada oqsilning qurilish darajalari holati qanday bo'ladi?*
- 3. Oqsil dializi nimaga asoslangan, uning amaliyotda qanday ahamiyati bor?*
- 4. Oqsil gidrolizida aminokislotalarning qanday bog'i buziladi?*

5. *Oqsil gidrolizining qanday xillari bor? Alanin, arginin, triptofan va metionindan tetrapeptid tuzib, nomini ayting.*
6. *Aminokislotalarning qaysi aminoguruhi peptid bog'i hosil bo'lishida ishtirok etadi? Arginil-glutamat va glutamil-arginin formulasini yozing.*
7. *Gidroliz tugaganligini qanday aniqlash mumkin?*
8. *Oqsilning makromolekulali tabiatini qanday isbotlash mumkin?*
9. *Oqsil gidrolizatidagi aminokislotalar aralashmasini qanday qilib taqsimlash mumkin?*

### **2.3. Oqsillarni cho'ktirish reaksiyalari**

Oqsillarning fizik-kimyoviy xossalari ma'lum darajada ularning yuqori molekular massasi (oqsillar gidrofil kolloidlar), amfoterlik xossasi (oqsillar amfoter elektrolitlar) va ikkilamchi, uchlamchi tuzilishining (strukturasi) beqarorligi bilan belgilanadi. Polipeptid zanjirning ikkilamchi strukturasi saqlab turuvchi vodorod bog'lari nihoyatda bo'sh bog'bo'lib, 60–70° C da qizdirilganda oson buzilib ketadi. Oqsillarning uchlamchi strukturasi tutib turuvchi disulfid, ion va vodorod bog'lari ichki molekular kuchlarni bo'shashishi natijasida o'z turg'unligini yo'qotishi mumkin. Bunday sharoitda oqsillar biologik xususiyatini yo'qotadi.

#### **2.3.1. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'ktirish**

Oqsillar og'ir metall tuzlari (mis, temir, qo'rg'oshin, rux, kumush, simob va boshqalar) ta'sirida suvda erimaydigan kompleks hosil qilib, denaturatsiyaga uchraydi va cho'kmaga tushadi. Oqsillarning bu xususiyatidan og'ir metallar (simob, qo'rg'oshin) bilan zaharlanganda, hali metall so'rilib ulgurmasdan, zaharlantirishga qarshi dori sifatida foydalanishga asos bo'lgan. Tuxum



oqsili, sut zaharlanishga qarshi ishlatilganda ularni ko‘proq berish kerak, chunki ayrim tuzlarning (qo‘rg‘oshin atsetati, mis sulfat) ortiqcha miqdori oqsillar bilan eruvchan birikma hosil qiladi (peptizatsiya). Ayniqsa, simob tuzlari bilan zaharlanganda hosil bo‘lgan oqsil cho‘kmasi osh tuzi ishtirokida erishi mumkinligini esda saqlash kerak.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi, 1% li qon zardobi.

### **Reaktivlar:**

1. Mis sulfatning 5% li eritmasi.
2. Qo‘rg‘oshin atsetatning 5% li eritmasi.
3. Kumush nitrat oksidining 3% li eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Shisha tayoqchalar.
4. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. Uchta probirka olib, har biriga 10 tomchidan oqsil eritmasi quyiladi.

2. Birinchi probirkaga 1–2 tomchi 5% li mis sulfati, ikkinchisiga 1–2 tomchi 5% li qo‘rg‘oshin atsetati va uchinchisiga 1–2 tomchi 3% li kumush nitrat oksidi tomiziladi.

3. Uchala probirkada ham oqsil cho‘kmasi hosil bo‘ladi.

4. Uchala probirkaning har biriga o‘zini cho‘kmaga tushiruvchi eritmasidan yana 5–10 tomchi qo‘shib, shisha tayoqcha bilan aralashtirilganda birinchi va ikkinchi probirkalardagi cho‘kmani eriganligi (peptizatsiya), uchinchi probirkadagi cho‘kmani esa erimaganligi kuzatiladi.

### 2.3.2. Oqsillarning qizdirilganda cho'kmaga tushishi

Deyarli hamma oqsillar qizdirilganda (50–55° C va yuqori) denaturatsiyalanadi, natijada oqsil o'zining tabiiy xossasini yo'qotadi, eruvchanligi kamayadi. Denaturatsiyalangan oqsil qizdirilib, cho'kma hosil qilishda uning tarkibidagi tuzlar va vodorod ionlarini konsentratsiyasi katta rol o'ynaydi. Oqsilni tez va to'laligicha cho'kmaga tushishi uning izoelektrik nuqtasiga to'g'ri keladi, shuning uchun oqsilni qizdirib cho'kmaga tushirishda muhit reaksiyasini (pH), uning izoelektrik nuqtasiga moslanadi. Kislotali xossaga ega bo'lgan oqsillar kuchsiz kislotali muhitda, ishqoriy xossalilari esa kuchsiz ishqoriy muhitda cho'kmaga tushiriladi. Kuchli kislotali (nitrat, uchxlorsirka va sulfosalitsil kislotalaridan tashqari) va kuchli ishqoriy eritmalarda qizdirilganda denaturlangan oqsil cho'kmaga tushmaydi, chunki bu muhitda oqsil zarralari qaytadan zaryadlanadi yoki bor zaryadi kuchayadi va birinchi vaziyatda musbat, ikkinchi vaziyatda manfiy zaryadga ega bo'lib, qarama-qarshi elektrostatik kuchlar ta'sirida ularning turg'unligi oshadi. Shuning uchun kuchli kislotali va kuchli ishqoriy eritmalarda qizdirilganda oqsillar, odatda, cho'kmaga tushmaydi.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li qon zardobi.

#### **Reaktivlar:**

1. 1% li va 10% li sirka kislota eritmasi.
2. Natriy xloridning to'yingan eritmasi.
3. 10% li natriy gidroksid eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

## **Ishni bajarilishi**

1. 5 ta probirka olib, har biriga 10 tomchidan oqsil eritmasidan quyiladi.

2. Birinchi probirkadagi oqsilning neytral eritmasi qizdirilganda dastlab loyqalanadi, qaynaganda cho‘kmaga tushadi. Qizdirish ehtiyotlik bilan bajarilib, vaqti-vaqti bilan probirka silkitilib, chayqatib turiladi. Loyqalanishni quyuqlashishi erimagan oqsil zarralarining yiriklashishi bilan tushuntiriladi. Ular zaryadga ega bo‘lganliklari uchun erimagan holatda saqlanadi.

3. Ikkinchi probirkaga 1–2 tomchi 1% li sirka kislotasi tomiziladi, bunda cho‘kma hosil bo‘lmaydi. Qizdirish davomida avval loyqalanish, so‘ngra qaynaganda oq cho‘kma tushadi. Cho‘kma hosil bo‘lishiga sabab tekshirilayotgan oqsil kuchsiz kislotali muhitda izoelektrik holatida bo‘lib, qizdirganda denaturatsiyalanadi va eruvchanligini yo‘qotadi.

4. Uchinchi probirkadagi oqsilga 1–3 tomchi 10% li sirka kislotasi tomizilib, kuchli kislotali muhitga o‘tkaziladi va qaynaguncha qizdiriladi. Bunda cho‘kma tushmaydi, chunki eritmadagi ortiqcha vodorod ionlari ta’sirida avval manfiy zaryadli bo‘lgan oqsil musbat zaryadga o‘tib, barqarorlikka ega bo‘ladi.

5. To‘rtinchi probirkadagi oqsilga 10% li sirka kislotasidan tomizilib, kuchli kislotali muhitga o‘tkaziladi va ustiga 2–3 tomchi osh tuzining to‘yingan eritmasidan tomizilib, qaynatganda oq cho‘kma hosil bo‘ladi. Bunga sabab natriy xlorid ionlarini oqsil zarralari adsorbsiya qilishi natijasida oqsilning musbat zaryadi neytrallanadi.

6. Beshinchi probirkadagi oqsilga 2–4 tomchi 10% li o‘yuvchi natriy qo‘shib, ishqoriy muhit hosil qilinadi, so‘ngra qaynatganda cho‘kma hosil bo‘lmaydi, chunki ishqoriy muhitda oqsilning asos xossasi yo‘qotilib, kislotali xossasi oshadi, oqibatda oqsil molekulasi zarralarining manfiy zaryadi yana ham oshadi.

Ishni rasmiylashtirishda oqsillarni qizdirgandagi reaksiya natijalari jadval shaklida ifodalanadi. Xulosada har xil muhit sha-

roitida cho'kma hosil bo'lishi va bo'lmasligi sabablari asoslab beriladi.

*1-jadval*

### **Oqsillarni har xil muhitda qizdirilganda cho'kma hosil qilish reaksiyalari**

<b>Reaksiya muhiti</b>	<b>Cho'kmaning rangi va xossasi</b>
Neytral	
Kuchsiz kislotali	
Kuchli kislotali (10% li sirka kislota)	
Kuchli kislotali (10% li sirka kislota + natriy xlorid)	
Ishqoriy (10% li natriy gidroksid)	

### **2.3.3. Oqsillarni alkaloidli reaktivlar ta'sirida cho'ktirish**

Oqsillarni alkaloid reaktivlar bilan cho'kishi ular tarkibidagi azotli geterosiklik guruhlarini alkaloid molekulasidagi shu kabi moddalarga (pirrol, indol, imidazol va boshqalar) o'xshashligi tufayli bo'lib, kislotali muhitda oqsildagi azotli birikmalar bilan suvda erimaydigan tuzlar hosil qilishiga asoslangan. Ishqoriy xossaga ega bo'lgan oqsillar (protaminlar, gistonlar) alkaloidli reaktivlar bilan neytral muhitda cho'kmaga tushiriladi.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li qon zardobi.

#### **Reaktivlar:**

1. 1% li va 10% li sirka kislota eritmasi.
2. Qizil qon tuzining 5% li eritmasi.
3. Pikrin kislotasining to'yingan eritmasi.

4. Tanningning to‘yingan eritmasi.
5. Natriy volframat tuzining 10% li eritmasi.
6. Kaliy yoddagi simob yodi eritmasi (tayyorlanishi 4-ilovada).

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

#### **Ishni bajarilishi**

##### **A.**

1. Ikkita probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasi quyilib, 10% li sirka kislota eritmasining bir necha tomchisi bilan kislotali muhitga o‘tkaziladi.

2. Birinchi probirkaga 2–3 tomchi 5% li qizil qon tuzidan, ikkinchisiga 2–3 tomchi 10% li natriy volframatdan qo‘shib, har bir tomchidan keyin chayqatilib, cho‘kma tushishi kuzatiladi.

##### **B.**

1. Uchta probirkaga 10 tomchidan oqsil eritmasi va bir necha tomchi 1% li sirka kislotasidan solinadi.

2. Birinchi probirkaga 2–3 tomchi tannin eritmasi, ikkinchisiga 5–6 tomchi pikrin kislotali eritmasi, uchinchisiga esa 1–2 tomchi simobning yoddagi eritmasidan tomiziladi.

3. Hamma probirkalarda oqsil cho‘kmaga tushadi.

Alkoloidlar tananing kuygan qismlarini davolashda ishlatiladi. Kuygan joyni alkaloid eritmasi bilan yuvilganda denaturatsiyaga uchragan oqsillar himoya qatlamini hosil qilib, to‘qimani suvsizlikdan qurishidan va infeksiya tushishidan himoya qiladi.

### **2.3.4. Oqsillarni konsentrlangan mineral kislotalar ta’sirida cho‘ktirish**

Eritmadagi oqsillar konsentrlangan mineral kislotalar ta’sirida (fosfat kislotadan tashqari) denaturatsiyalanadi va cho‘kmaga tushadi. Cho‘kma hosil bo‘lishi oqsil molekulasining degidratatsiyasi va zaryadining neytrallanishi hamda boshqa sabablarga, masalan,

oqsil va kislotadan suvda erimaydigan kompleks hosil bo'lishiga bog'liq bo'lishi mumkin. Sulfat va xlorid kislotalarining uzoq vaqt davomida oqsil cho'kmasiga ta'sir qilishi yoki shu kislotalarning ortiqcha miqdori denaturlangan oqsil cho'kmasini eritib yuborishi mumkin. Nitrat kislotasida bu xususiyat bo'lmaganligi uchun tekshiriluvchi materialda oqsilni aniqlashda ko'pincha nitrat kislotasidan foydalaniladi.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan nitrat kislota.
2. Konsentrlangan sulfat kislota.
3. Konsentrlangan xlorid kislota.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga taxminan 1 ml (15–20 tomchi) konsentrlangan nitrat kislotasi va probirkani 45° ga engashtirgan holatda, nihoyatda ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo'ylab teng hajmda oqsil eritmasi qo'shiladi.

2. Ikkala suyuqlik bir-biriga tegib turgan joyda halqasimon oq amorf cho'kma ko'rinadi (Geller probasi).

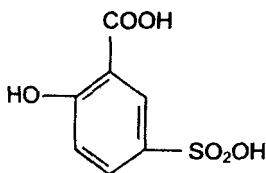
3. Probirkani astalik bilan silkitib, ortiqcha nitrat kislotasi qo'shilganda cho'kma yo'qolmaydi.

4. Aynan shu tajribada nitrat kislotasi o'rniga konsentrlangan sulfat va xlorid kislotalarining ortiqcha miqdori qo'shib bajarilganda oqsil cho'kmasi erib ketadi.

Nitrat kislotasi bilan oqsilni cho'ktirish reaksiyasi yuqori darajada sezgirligi va spetsifikligi tufayli klinik tadqiqotlarda siydik tarkibidagi oqsilni sifat va miqdoriy aniqlashda keng ishlatiladi.

### 2.3.5. Oqsillarni organik kislotalar ta'sirida cho'ktirish

Organik kislotalar eritmadagi oqsilni cho'kmaga tushiradi, ammo ularning ta'siri bir-biridan farqlanadi. Sulfosalitsil kislotasi oqsil bilan birga uning gidrolizlangan unumlari – peptonlar va yuqori molekulali polipeptidlarni ham cho'ktiradi:



sulfosalitsil kislota

Uchxlorsirka kislotasi esa faqatgina oqsillarni cho'ktiradi, polipeptidlar va kichik molekulali azot saqlovchi oqsil bo'lmagan moddalar eritmada qoladi. Uchxlorsirka kislotasining bu xususiyatidan qondagi oqsil bo'lmagan (qoldiqli) azot miqdorini aniqlashda foydalaniladi. Ular uchxlorsirka kislotasi ta'sirida cho'kkan qon oqsillarini filtrlab, ajratib olingandan so'ng filtratda qolgan oqsillar almashinuvi va parchalanishidan hosil bo'lgan moddalar polipeptidlar, aminokislotalar, mochevina, siydik kislotasi va boshqalardan iborat.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi, 1% li suyultirilgan qon zardobi.

#### Reaktivlar:

1. Sulfosalitsil kislotasining 20% li eritmasi.
2. Uchxlorsirka kislotasining 5% li eritmasi.

#### Jihozlar:

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

#### Ishni bajarilishi

1. Ikkita probirkaga taxminan 1 ml dan oqsil eritmasi quyiladi.
2. Birinchi probirkaga 1–2 tomchi sulfosalitsil kislotasi,

ikkinchisiga shuncha miqdorda uchxlorsirka kislotasi qo‘shib, oqsilning cho‘kmaga tushishi kuzatiladi.

### **2.3.6. Oqsillarni organik erituvchilar ta’sirida cho‘ktirish**

Oqsil eritmasiga organik erituvchilar (spirt, atseton, efir va boshqa) qo‘shilganda oqsil cho‘kmasi tushadi. Oqsilning tabiatiga qarab cho‘kmaga tushiruvchi organik erituvchilar, masalan, spirtning har xil konsentratsiyasi taqozo etiladi. Cho‘kma faqat neytral yoki kuchsiz kislotali muhitda (kuchsiz kislotali sharoitda oqsilning kolloid zarralarining zaryadi juda ham pasaygan bo‘ladi) va elektrolitlar, masalan, natriy xlorid ishtirokida to‘laligicha kuzatiladi. Agar cho‘ktirish jarayoni past haroratda (0–15° C) bajarilib, cho‘kma tezlikda spirtidan ajratilsa, oqsil o‘zining tabiiy holatini qayta tiklashi va suvda yana erishi mumkin. Spirtning uzoq davomli ta’siri oqsilni qaytmas denaturatsiyaga olib keladi. Lekin ayrim oqsillar, masalan oshqozon osti bezi gormoni – insulin nordonlashtirilgan 60% li spirtida eriydi. Bu sifat ularning birlamchi strukturasiining xususiyatiga bog‘liq.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi, 1% li suyultirilgan qon zardobi.

#### **Reaktivlar:**

1. 1%li sirka kislotasi eritmasi.
2. 96° li etil spirti.
3. Atseton.
4. Xloroform.
5. Natriy xloridning to‘yingan eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 1 ml oqsil eritmasi va shu miqdorda etil spirti



qo‘shib chayqatilsa, eritma xiralashadi. Ustiga 1–2 tomchi 1% li sirka kislotasidan tomizilsa, cho‘kma hosil bo‘lishi tezlashadi, agarda unga ham 1–2 tomchi to‘yingan osh tuzi eritmasi qo‘shilsa, cho‘kma tushishi yanada tezroq bo‘ladi.

2. Xuddi shu reaksiyani spirt o‘rnida atseton bilan ham qaytarsa bo‘ladi.

3. Probirkaga 1 ml ga yaqin oqsil eritmasi va teng hajmda xloroform qo‘shib, chayqatib aralashtirilsa, suyuqlik ikki qavatga ajralib, yuqoridagi xloroformli qatlamida cho‘kma paydo bo‘ladi.

Xloroform ishtirokida oqsilning denaturatsiyaga uchrashi nuklein kislotlarni ajratish va tozalashda qo‘llaniladi.

### 2.3.7. Oqsillarni fenol ta‘sirida cho‘ktirish

Oqsillarni fenol bilan cho‘ktirish usulidan nuklein kislotalari, maxsus polisaxaridlarni ajratishda va tozalashda foydalaniladi. Fenolni dezinfeksiyalashda qo‘llanilishi ham uning oqsillarni denaturatsiyalash ta‘siriga asoslangan.

**Tekshiriluvchi material:** 1% li tuxum oqsili eritmasi yoki 1% li suyultirilgan qon zardobi.

**Reaktivlar:** fenolning to‘yingan eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 10 tomchi oqsil eritmasi quyilib, ustiga loyqa yoki cho‘kma hosil bo‘lguncha fenol qo‘shib, chayqatiladi. Cho‘kma vaqt o‘tgan sayin ko‘payadi.

2. Ishni rasmiylashtirishda yuqorida oqsilni cho‘ktirish bo‘yicha olingan hamma natijalarni jadval ko‘rinishida bering. Xulosada oqsilni denaturatsiyaga uchrab, cho‘kmaga tushishidagi o‘z-

garishlarini ko'rsating. Oqsilning ikkilamchi va uchlamchi strukturasidagi bo'sh bog'larning vazifasiga ahamiyat bering.

2-jadval

### Xona haroratida oqsillarning cho'kmaga tushish reaksiyalari

Cho'ktiruvchilar	Reaktivlar	Cho'kma rangi va xossasi	Reaksiya sababi	Reaksiya xususiyati
Og'ir metall tuzlari				
Alkoloid reaktivlar				
Konsentrlangan mineral kislotalar				
Organik kislotalar				
Organik erituvchilar				

### 2.3.8. Qon zardobidagi albuminlarni globulinlardan ammoniy sulfat va natriy xlorid tuzlari yordamida ajratish

Albuminlar va globulinlar tabiatda keng tarqalgan bo'lib, uchrash joyiga qarab (tuxum yoki zardob va boshqalar) nomlanadi. Ular neytral tuzlar, kislotalar va ishqorlarning kuchsiz eritmalarida eriydi. Albuminlar globulinlardan farqli o'laroq suvda eriganligi uchun tuxum oqsilini suv bilan suyultirilganda uning tarikbidagi tuzlar konsentratsiyasi kamayishi hisobiga globulinlar cho'kmaga tushadi, agarda yana osh tuzi qo'shilsa, cho'kma eriydi. Shu sababdan eritmadagi albuminlarni globulinlardan ajratish usullaridan biri tuz yordamida bajariladi. Ko'pchilik oqsillarni cho'ktirishda tuzlarning har xil konsentratsiyalari kerak bo'ladi, chunki cho'kma hosil bo'lishi cho'ktiruvchini ion kuchiga va

oqsil molekulasining o'loviga bog'liq. Masalan, globulinlar albuminlarga nisbatan ammoniy sulfat tuzining yarim to'yingan, 50% li eritmasida cho'kmaga tushsa, albuminlar uchun uning to'la to'yintirilgan eritmasi kerak, chunki globulinlarning molekula og'irligi albuminga qaraganda kattaroq.

Osh tuzi, magniy sulfat bilan cho'kma hosil qilishda ularning to'la to'yintirilgan eritmasi ishlatiladi. Bu vaqtda albuminlar uchun eritmani biroz nordonlashtirish lozim, lekin ammoniy sulfat bilan cho'kmaga tushirishda eritmani kislotali muhitga o'tkazish shart emas, chunki tuzning o'zi qisman kislotali xossaga ega.

Qon zardobidagi albuminlarni globulinlardan ajratishni diagnostik va prognostik ahamiyati bor. Normada ularning o'zaro nisbati  $A/G = 1,5/2,3$ , patologik holatlarda bu nisbat o'zgaradi, masalan, infeksiyon kasalliklarda qon plazmasida globulinlar miqdori ortadi. Farmatsiyada ko'rsatilgan usullar oqsil va ferment preparatlarini tozalashda, kristall oqsil preparatlari olishda va davolash zardoblari tayyorlashda qo'llaniladi.

**Tekshiriluvchi material:** odam yoki hayvon qon zardobining 1% li eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Ammoniy sulfatning to'yingan eritmasi.
2. Natriy xloridning mayda kukuni.
3. Ammoniy sulfatning mayda kukuni.
4. Sirka kislotaning 1% li eritmasi.
5. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi.
6. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Filtrlovchi voronkalar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga taxminan 1–1,5 ml (20–30 tomchi) qon zardobi va teng hajmda ammoniy sulfat qo'shilganda yarim to'yintiril-

gan ammoniy sulfat eritmasi hosil bo‘lib, globulinlar cho‘kmaga tushadi.

2. 10 daqiqadan so‘ng globulinlar cho‘kmasi filtrlanib olinadi va filtrda qolgan albuminlar fraksiyasiga ammoniy sulfat kukuni to‘yinguncha qo‘shiladi va albuminlar cho‘kmasi hosil bo‘ladi.

3. Cho‘kma filtrlab ajratilgach, filtrat bilan biuret reaksiyasi o‘tkaziladi, manfiy reaksiya natijasi oqsil yo‘qligini ko‘rsatadi.

4. Probirkaga 1–1,5 ml qon zardobi quyilib, to‘yinguncha natriy xlorid kukuni qo‘shiladi, bir necha daqiqadan so‘ng globulinlar cho‘kmaga tushadi.

5. Cho‘kma filtrlab olinadi, filtratda esa albuminlar qoladi. Ularni cho‘ktirish uchun filtratga 1–2 tomchi 1% li sirka kislotasi tomizilib, qaynatilgach, albuminlar cho‘kmaga tushadi.

6. Ular filtrlab olinadi va filtrat bilan Biuret reaksiyasi asosida oqsil bor-yo‘qligi aniqlanadi.

Oqsillarni tuz ishtirokida cho‘ktirishdan olingan natijalarni jadvalga yozib, “cho‘ktiriladigan fraksiyasi” qatoriga musbat (+) belgisi qo‘yiladi. Xulosada oqsillarning qaysi fraksiyasi oson cho‘kkanligi va uning sababi ko‘rsatiladi.

*3-jadval*

### **Albumin va globulinlarni tuzlar ishtirokida cho‘ktirish**

Elektrolit	To‘yinish darajasi	Reaksiya muhiti	Cho‘ktirilayotgan fraksiya	
			albuminlar	globulinlar

## Nazorat savollari

1. Aminokislotalar va oqsillar suvli eritmada yoki kislota hamda ishqorning miqdori ortiqcha bo'lganda qanday holatda bo'ladi?
2. Oqsilning eruvchanligi nimaga bog'liq? Qaysi omillar oqsilning eritmada turg'unligini saqlaydi?
3. Oqsilning eritmada cho'kishining umumiy mexanizmi nimadan iborat?
4. Oqsillarni denaturatsiyaga uchratmasdan qaysi usul bilan cho'kmaga tushirish mumkin?
5. Oqsillar nima sababdan tuz ishtirokida cho'kadi?
6. Oqsillarning denaturatsiyasi nima? Qanday moddalar denaturatsiyaga sabab bo'ladi?
7. Oqsilning cho'kmaga tushishi bilan denaturatsiyalanishining farqi nimalardan iborat?
8. Qon zardobi albumin va globulinlarini qaysi yo'llar bilan ajratish mumkin?
9. Oqsilning eritmada miqdorini qanday usul bilan aniqlash mumkin?
10. Oqsillar qanday qilib kichik molekulali qo'shimchalardan ajratib olinadi?
11. Oqsillarni qaytar va qaytmas cho'kma hosil qilishi nimaga bog'liq?
12. Oqsillarni tuz ishtirokida cho'kishini ahamiyati nimada? Ulardan qanday sharoitlarda foydalaniladi?
13. Oqsillarni og'ir metall tuzlari bilan cho'kishi nimaga asoslangan va bu xususiyatdan farmatsiyada qanday vaziyatlarda foydalaniladi?
14. Oqsillarni mineral va organik kislotalar bilan cho'ktirilishining tibbiyotdagi va farmatsiyadagi ahamiyati qanday?

## 3-bo'lim

### Murakkab oqsillar (proteinlar)

Murakkab oqsillar oqsil va oqsil bo'lmagan prostetik guruhdan tashkil topgan birikmalardir. Murakkab oqsillarni gidrolizlaganda aminokislotalar bilan birga o'zgacha xususiyatli moddalar – nuklein kislotalar, uglevodlar, fosfat kislotasi va boshqalar borligi aniqlangan. Proteinlar prostetik guruhini kimyoviy turiga qarab nukleoproteinlar, xromoproteinlar, fosfoproteinlar, glikoproteidlar, lipoproteinlar, metalloproteinlarga bo'linadi.

#### 3.1. Nukleoproteinlar

Nukleoproteinlar murakkab oqsillar bo'lib, tarkibi oddiy oqsil va oqsil bo'lmagan qismi – nuklein kislotalaridan iborat. Ular hayvon va o'simlik organizmining barcha hujayralarida, viruslarda uchraydi. Hujayra yadrosining asosiy massasi nukleoproteintlardan tuzilganligi tufayli yadroga boy hujayralarda (buqoq bezi, qora taloq, achitqi, spermatozoidlarda) ularning miqdorini ayniqsa ko'p va osonlik bilan ajratish mumkin. Nukleoproteinlar suvda erimaydi, ishqorda erib, kuchsiz kislotali muhitda cho'kmaga tushadi. Mineral kislotalarda yuqori darajada suyultirilganda ham osonlikcha eriydi. Nuklein kislotalari yuqori molekullari polimer moddalar hisoblanib, kislotali guruhlari ko'pincha asos tabiatli oqsillarning (gistonlar, protaminlar) aminoguruhlari bilan bog'langan bo'ladi. Nuklein kislotalarining monomerleri nukleotidlardan iborat, nukleotid esa purin (adenin, guanin) yoki pirimidin (sitozin, urasil, timin) asoslaridan tuzilib, uglevod bilan (asosan riboza yoki dezoksiriboza) glikozidli

bog' bilan bog'lanadi, uglevod esa o'z navbatida fosfat kislotasi efirini hosil qiladi. Nukleotidga misol sifatida adenin, riboza va fosfat kislotasidan tashkil topgan adenozin-5' -monofosfat (AMF) kislotasini ko'rsatish mumkin.

Nuklein kislotalarining nomlanishi ular tarkibidagi uglevod qismiga bog'liq, agar riboza bo'lsa, ribonuklein kislota (RNK), dezoksiriboza saqlasa, dezoksiribonuklein kislota (DNK) deb ataladi. RNK va DNK tarkibidagi uglevodlar maxsus rangli reaksiyalar – ribozani orsin, dezoksiribozani difenilamin bilan bergan reaksiyasi orqali aniqlanadi. RNK va DNK bir-biridan kimyoviy tarkibidan tashqari struktura tuzilishi bo'yicha ham farqlanadi.

Virus va bakteriyalardan boshqa hamma organizmlarda DNK asosan yadrosida to'planib, genetik axborotni tashuvchi hisoblanadi. RNK esa hujayraning hamma fraksiyalarida uchrab, miqdori ko'prog'i oqsil sintezi kechadigan ribosomalarda joylashgan.

Nuklein kislotalar organizmda juda muhim vazifalarni bajaradi. Ular genetik axborotni saqlash va nasldan-naslga ko'chirish bilan birga axborotlarni tashilish mexanizmidagi ishtirok etuvchi oqsillarning sintezini ta'minlaydi. Ayrim nukleotidlar bir qator oksidlanish qaytarilish reaksiyalari fermentlarining oqsil bo'lmagan qismi bo'lib, NAD, NADP organizm modda almashinuv reaksiyalarini energetik ta'minotida qatnashadi.

### **3.1.1. Achitqi nukleoproteinlarining kislotali gidrolizi va ular tarkibini aniqlash**

Achitqi ribonukleoproteinlarga boy bo'lgan material hisoblanadi. Ribonukleoproteinlar molekulasidagi oqsil, purin radikalari, fosfat kislota qoldig'i va uglevodli guruhlarini aniqlashda achitqini sulfat kislota bilan qaynatib, gidrolizlanadi. Gidrolizatdagi ribonukleoprotein unumlarini sifat reaksiyalari bilan ochiladi.

**Tekshiriluvchi material:** quritilgan yoki presslangan achitqi.

**Reaktivlar:**

1. Sulfat kislotaning 5% li eritmasi.
2. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi.
3. Mis sulfatning 1% li eritmasi.
4. Ammiakning konsentrlangan eritmasi.
5. Kumush azot oksidining ammiakli eritmasi (tayyorlanishi 6-ilovada).
6. Orsin reaktivi (tayyorlanishi 5-ilovada).
7. Ammoniy molibden oksidining nitrat kislotadagi eritmasi (tayyorlanishi 7-ilovada).
8. Floroglyusinning 30% li xlorid kislotasidagi 2% li eritmasi.
9. Magniy sulfat tuzining 5% li eritmasi.
10. Ammoniy xloridning 10% li eritmasi.
11. Lakmus qog'oz.

**Jihozlar:**

1. Dumaloq tagli kolba tiqini bilan.
2. Sovutkichli shisha truba.
3. 50 yoki 100 ml o'lchamli silindr.
4. Filtrli voronkalar.
5. Probirkalar.
6. Tomizgichlar.
7. Pipetkalar.
8. Apteka tarozisi.

**Ishni bajarilishi**

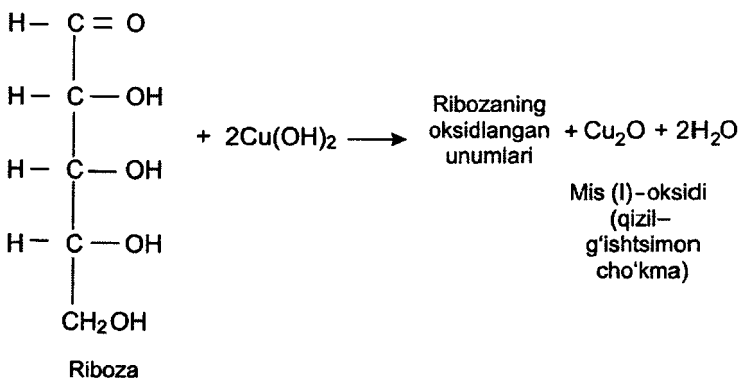
1. 100 ml li dumaloq tagli kolbaga 5 g yangi achitqi yoki 1 g quritilgani solinib, ustiga 40 ml 5% li sulfat kislota eritmasi qo'shiladi.

2. Teskari sovtkichli kolba tiqin (probka) bilan berkitilib, shtativga o'rnatiladi va havo tortuvchi shkafda asbest to'ri ustida 1–1,5 soat davomida ehtiyotkorlik bilan qaynatiladi.

3. So'ngra kolbadagi sovutilib, o'lchamli silindrga quyiladi va distillangan suv bilan suyuqlik avvalgi hajmiga yetkaziladi.





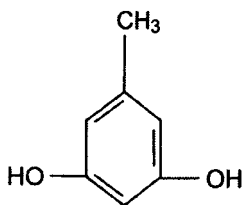


Probirkaga 10 tomchi gidrolizat quyib, lakmus yordamida 10% li o'yuvchi natriy eritmasi bilan neytrallanadi. So'ngra unga teng hajmda 10% li o'yuvchi natriy eritmasi va chayqatilganda o'chmaydigan mis gidroksidining zangori loyqasi hosil bo'lguncha tomchilab 1% li mis sulfat eritmasi qo'shiladi.

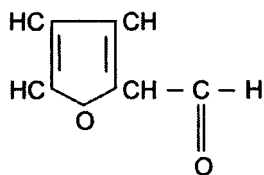
Probirkadagi suyuqlik ustki qismi qaynaguncha ehtiyotlik bilan qizdiriladi, probirkadagi gidroksidning sariq cho'kmasi yoki mis oksidining qizg'ish-g'isht rangli cho'kmasi hosil bo'ladi. Cho'kmani hosil bo'lishi gidroliz natijasida gidrolizatda uglevod paydo bo'lganini bildiradi.

Uglevodlarni neytral suyuqlikda aniqlanganda uni oldindan o'yuvchi natriy bilan neytrallash shart emas;

e) orsin bilan reaksiya. 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda orsinli reaktiv qo'shib, qaynaguncha qizdiriladi. Gidrolizetni ko'k rangga kirishi uning tarkibida pentoza borligini ko'rsatadi. Rang orsinli reaktiv tarkibidagi xlorid kislotasining pentoza bilan qizdirilganda furfurol hosil bo'lishiga bog'liq bo'lib, u orsin bilan reaksiyaga kirishganda rangli birikma hosil qiladi:



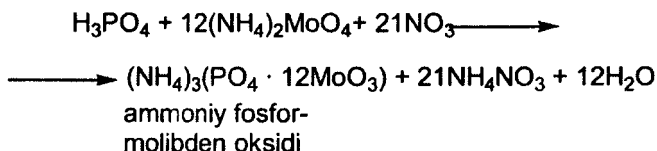
Orsin



Furfural

f) fosfat kislotasi molibden reaktivi va magneziya aralashmasi bilan ochiladi. Molibden reaktivi bilan aniqlashda 10 tomchi gidrolizatga teng hajmda ammoniy molibden oksidining azot kislotasidagi eritmasidan qo‘shib, bir necha daqiqa qaynatiladi.

Probirka sovuq suv oqimida sovutilganda sariq limon rangli ammoniy fosfornolibden oksidi kompleksini kristalli birikmasi cho‘kmaga tushganligi kuzatiladi, bu esa gidrolizatda fosfat kislotasi borligini ko‘rsatadi:



g) magneziya aralashmasi bilan aniqlashda probirkaga 10 tomchi gidrolizat solinib, uni ammiakning konsentrlangan eritmasi bilan ishqoriy muhitga o‘tkaziladi va teng hajmda magneziya aralashmasi qo‘shilganda fosfat kislotasining ammoniy magniyli tuzining  $-\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{PO}_4$  – oq kristall cho‘kmasi hosil bo‘ladi.

Magneziya aralashmasi eritmasi alohida probirkada quyidagicha tayyorlanadi: bir necha tomchi 5% li magniy sulfat (yoki xlorid) eritmasiga tomchilab konsentrlangan magniy eritmasi cho‘kma hosil bo‘lishi to‘xtaguncha, so‘ngra 10% li ammoniy xlorid eritmasidan  $\text{Mg}(\text{OH})_2$  cho‘kmasi eriguncha quyiladi.

### Nukleoproteinlar gidrolizi unumlarini ochish reaksiyalari

Gidroliz unumlarining nomlari	Qo'llanilgan reaktivlar va harorat	Qanday o'zgarish kuzatilgan	Reaksiya nimaga bog'liq

Xulosada nukleoproteinlar va ularning prostetik qismi qanday tuzilganligini ko'rsating.

### 3.2. Xromoproteinlar

Xromoproteinlar murakkab oqsillar bo'lib, prostetik guruhi umumiy birikma rangini belgilovchi modda(pigment) dan iborat. Organizmda ular muhim oksidlanish-qaytarilish jarayonlarining katalizatorlari hisoblanadi. Xromoproteinlarga vakil sifatida qon eritrotsitlarining kislorod tashuvchi pigmenti gemoglobinni ko'rsatsa bo'ladi.

Gemoglobin qismini globin, oqsil bo'lmagan qismini gem tashkil etadi. Gem qurilishi bo'yicha protoporfirin bo'lib, tarikbidagi pirrol halqalari ikki valentli temir bilan bog'langan. Nafas olganda kislorod gemdagi temir bilan bog'lanadi.

Gemoglobin gidrolizlanganda uch valentli temir tutgan gematin ajralib chiqadi. Unga natriy xlorid ishtirokida konsentrlangan sirka kislotasi ta'sir ettirilsa, gemin kristallari hosil bo'ladi. Uning gemdan farqi tarkibidagi temirning uchinchi valenti xlor bilan bog'langan bo'ladi.

Gemin kristallari hosil bo'lishidan sud tibbiyotida qon dog'larini aniqlashda foydalaniladi. Klinika va sud tibbiyotida qo'llaniladigan gvayakolli va benzidinli tekshirish usullari yuqori

darajada sezgirlikka ega bo'lganligi uchun biologik obyektlarda minimal miqdordagi qonni aniqlashda ishlatiladi.

### **3.2.1. Gemoglobin tarkibidagi temirni ochish**

**Tekshiriluvchi material:** defibrillangan qon.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan nitrat kislota.
2. Tarkibida temir tutmagan xlorid kislotaning 10% li eritmasi.
3. Kaliyli qizil qon tuzining 5% li eritmasi.
4. Kaliy rodonidining 5% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Tigel kosachasi.
2. Tigel qisqichi.
3. Probirkalar.
4. Tomizgichlar.
5. Pipetkalar.

**Ishni bajarilishi**

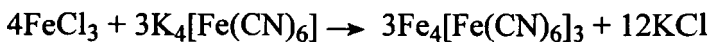
1. Tigel kosachasidagi bir necha tomchi defibrillangan qon havo tortuvchi shkafda quritiladi.

2. So'ngra ustiga 2–3 tomchi konsentrlangan nitrat kislota qo'shib, kuydirilganda gem organik modda bo'lganligi tufayli parchalanadi va tarkibidagi temir kulga o'tadi.

3. Quruq qoldiq qirib olinib, kukuni probirkaga solinadi va ustiga 20 tomchi 10% li xlorid kislotasi tomizilib, bir necha daqiqa davomida chayqatilganda qoldiq erib, temir xlorid eritmaga o'tadi.

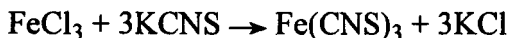
4. Probirkadagi aralashma ikki qismga bo'linib,  $Fe^{3+}$  ga reaksiya o'tkaziladi.

a) suyuqlikning birinchi qismiga 5% li kaliyli qizil qon tuzidan tomchilab ko'k yoki zangori rangli berlin ko'ki hosil bo'lguncha qo'shilganda cho'kma tushishi mumkin:



Berlin ko'ki

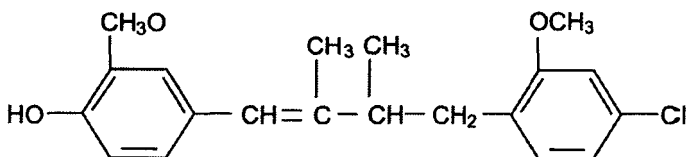
b) suyuqlikning ikkinchi qismiga 5% li kaliy rodonid tomchilab qo'shilganda pushti yoki qizil rang berishi temir rodonidi hosil bo'lganligini bildiradi:



temir rodonidi

### 3.2.2. Gemoglobinning gemin guruhini gvayakol va benzidin bilan ochish

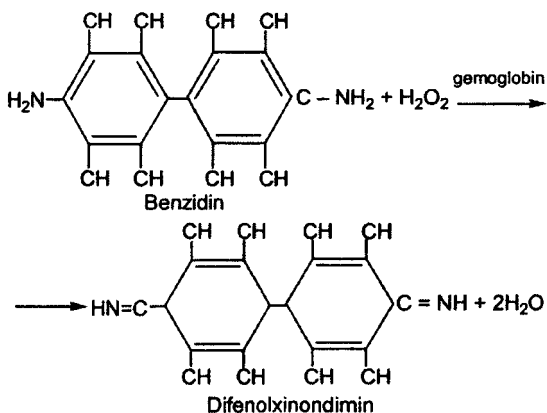
**Gemin guruhini gvayakol usulida ochish.** Gvayakol smolasi tarkibidagi smollangan gvayakol kislotasining vodorod peroksidi bilan oksidlanishi natijasida zangori (havo rang) rangli ozonid hosil bo'lishiga asoslangan. Reaksiya gem ishtirokida katalizlanadi. Agar tekshirilayotgan materialda qon bo'lsa, gvayakol tekshirish usuli ijobiy bo'ladi. Qondagi peroksidaza fermenti ham katalitik ta'sir etish xususiyatiga ega. Buni peroksidaza prostetik guruhini gemning kimyoviy tabiati bilan o'xshashligi asosida tushuntiriladi. Ammo peroksidazadan farqi qon pigmenti o'z katalitik xossasini qaynatilganda ham saqlab qoladi. Bu reaksiyani qonni 1 : 10000 nisbatda suyultirilganda eski qon dog'lari, gemin kristallari bilan ham bajarish mumkin:



Smolali gvayakol kislota

Qon pigmenti ta'sirida benzidin vodorod peroksidi bilan difenoxinondiminga oksidlanadi. Difenoxinondimin okidlanmagan

benzidin molekulasini bilan kondensatsiyalanish reaksiyasiga kiritib, benzidin ko'kini hosil qiladi.



**Tekshiriluvchi material:** defibrillangan qon.

**Reaktivlar:**

1. Gvayakol smolasining spirtida yangi tayyorlangan eritmasi (tayyorlanishi 8-ilovada).
2. Vodород peroksidining 3% li eritmasi.
3. Benzidinning muzli sirka kislotada yangi tayyorlangan 5% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.
3. Pipetkalar.

**Ishni bajarilishi**

**a) Gvayakol probasi.**

1. Probirkaga 1 tomchi defibrillangan qon tomizilib, suv bilan yuqori darajada suyultiriladi.
2. 10 tomchisini boshqa probirkaga o'tkazib, peroksidaza fermentini parchalash uchun qaynatiladi.
3. Probirka sovutilib, teng hajmda gvayakolning spirtidagi eritmasidan qo'shiladi va ustiga vodород peroksidning 3% li eritmasidan bir necha tomchi (1-2) tomiziladi.

4. Zangori rangni paydo bo'lishi gvayakol kislotasi smolasining ozonidi hosil bo'lganini bildiradi.

### b) benzidin probasi.

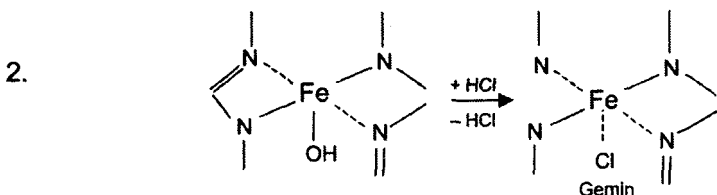
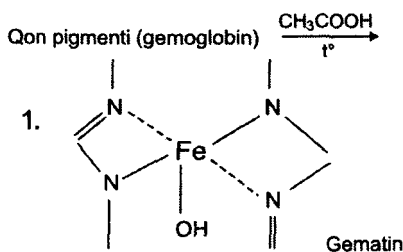
1. Probirkaga 10 tomchi suyultirilgan qon quyib, qaynatiladi.  
2. Sovutilgach, teng hajmda benzidin eritmasi va bir necha tomchi 3% li vodorod peroksidi qo'shiladi.

3. Paydo bo'lgan ko'kimtir rangni zangori (havo rang)ga o'tishi benzidinni oksidlanishidan hosil bo'lgan unumlariga bog'liqligini ifodalaydi.

### 3.2.3. Gemin kristallarini ajratib olish (Teyxman probasi)

Gemin probasidan sud tibbiyot ekspertizasida qon dog'lari borligini isbotlashda foydalaniladi. Qurtilgan qonni muzli sirka kislotasi bilan qizdirilganda qon pigmenti globin va gematinga parchalanadi.

Gematin natriy xloridi va sirka kislotasi ta'sirida o'zining xlorli unumi bo'lgan geminga aylanadi, sovuylgach, kristallanadi.





**Tekshiriluvchi material:** defibrillangan qon.

**Reaktivlar:** muzli sirka kislotasi.

**Jihozlar:**

1. Predmetli shisha plastinka.
2. Shisha qoplama.
3. Mikroskop.
4. Shisha tayoqchalar.
5. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Predmetli shishaga qon tomchisi tomizilib, boshqa shisha plastinka qirradi bilan surkaladi va 60° C dan oshmagan haroratda quritiladi.

2. To‘la qurigandan keyin 1–2 tomchi muzli sirka kislotasi tomizilib, shisha qoplama bilan yopiladi va ehtiyotlik bilan kichik o‘t alangasida qaynashga yaqin (qaynatilmaydi!) qizdiriladi.

3. So‘ngra sovutilib, mikroskop ostida ko‘riladi, kristallar rasmi chiziladi.

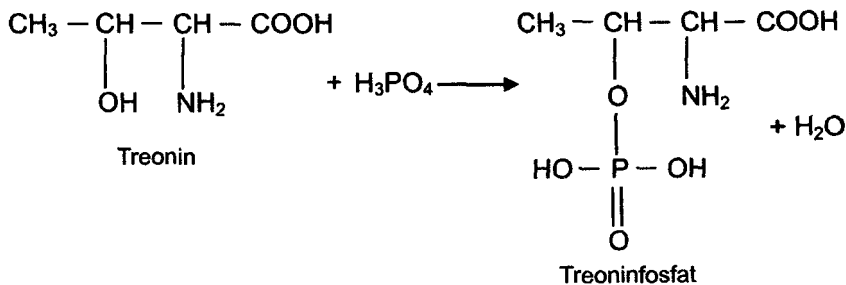
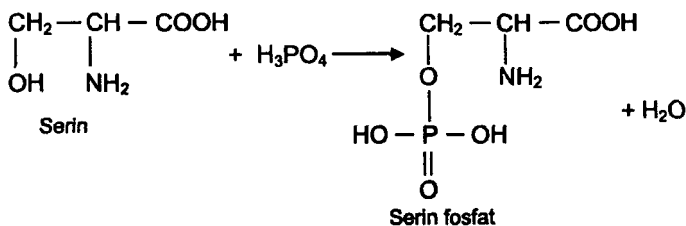
4. Gemin probasi eskirgan qon dog‘lari bilan o‘tkazilganda dog‘ qirib olinadi yoki materialning dog‘ bor qismi kesib olinib, mayda bo‘lakchalarga qir qiladi.

Bunda sirka kislotasi tomizishdan oldin osh tuzining kichik kristali qo‘shiladi.

### **3.3. Fosfoproteinlar**

Fosfoproteinlar tarkibi oddiy oqsil va prostetik guruhi sifatidagi fosfat kislotasidan tuzilgan.

Fosfat kislota oqsil bilan oksiaminokislotalar – serin va treoninning gidroksil guruhi orqali bog‘langan:



Fosfoproteinlarga sut oqsili kazein, tuxum sarig'idagi vitellin, ikradagi ixtulin va boshqa oqsillar kiradi. Fosfoproteinlar embri-onlar rivojlanishida zarur bo'lgan oziqa moddalari qatorida aminokislotalar bilan birga organizmga fosfat kislotasini tashiy-di. Fosfat kislotasining o'sayotgan organizm skeleti va tishlarini takomillashuvida muhim ahamiyati bor.

### 3.3.1. Kazeinni gidrolizlash va gidrolizatdagi oqsil, fosfat kislotasini aniqlash

Oksid va fosfat kislotasini aniqlashda fosfoprotein sifatida sut kazeinidan foydalaniladi. Kazein ishqoriy muhitda gidrolizlanganda oqsil va fosfat kislotasiga parchalanadi.

Gidrolizat tarkibidagi oqsil biuret reaksiyasi bilan, fosfat kislota esa molibden probasi bo'yicha ochiladi. Fosfat ioni ( $\text{PO}_4^-$ ) kislotali muhitda ammoniy molibdat bilan ammoniy fosfomolibdatga o'tadi, uning gidroxinon va natriy sulfit ta'sirida qaytarilishi natijasida molibden ko'ki hosil bo'ladi. Rang ravshanligi fosfomolibdat

tarkibidagi molibden miqdoriga to'g'ri proporsional bo'lganligi tufayli fosfor miqdoriga ham teng bo'ladi.

**Tekshiriluvchi material:** quruq kazein kukuni.

**Reaktivlar:**

1. O'yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
2. Mis kuporosining 1% li eritmasi.
3. Nitrat kislotaning 25% li yoki konsentrlangan eritmasi.
4. Gidroxinonning 2% li eritmasi (tayyorlanishi 9-ilovada).
5. Sulfit karbonat eritmasi (tayyorlanishi 10-ilovada).
6. Ammoniy molibdatning nitrat kislotadagi eritmasi (tayyorlanishi 7-ilovada).

**Jihozlar:**

1. Apteka tarozisi.
2. Suv hammomi.
3. 5 ml li pipetkalar.
4. Qog'oz filtrli shisha voronkalar.
5. Probirkalar.
6. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

**A.**

1. 100 mg maydalangan quruq kazeinga 5 ml 10% li o'yuvchi natriy qo'shib, 30 daqiqaga vaqti-vaqti bilan chayqatilgan holda qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.

2. Sovutilgandan so'ng 10 tomchi gidrolizatga 5 tomchi o'yuvchi natriy eritmasi qo'shib, ustiga tomchilab 1% li mis sulfat eritmasidan qizil binafsha yoki ko'k binafsha rang hosil bo'lguncha tomiziladi.

3. Biuret reaksiyasining ijobiy bo'lishi kazein tarkibida oqsil borligini ko'rsatadi.

**B.**

1. Fosfat kislotani ochish uchun 20 tomchi gidrolizatga 10 tomchi 25% li azot kislotasi va 10 tomchi ammoniy molibdatning nitrat kislotasidagi eritmasidan qo'shib, 5 daqiqaga qoldiriladi.

2. Hosil bo'lgan cho'kma filtrlab olinib, tarkibida ammoniy-fosfomolibden oksidi tutgan filtratga 10 tomchi 2% li gidroksinon eritmasi tomizilib, 5 daqiqaga qoldiriladi.

3. So'ngra probirkaga sulfit karbonat eritmasidan 20 tomchisini asta-sekinlik bilan (ko'pik hosil bo'lishining oldini olgan holda) qo'shiladi, eritmani ko'k rangga bo'yalishi fosfat kislotasi borligini bildiradi.

### 3.4. Glikoproteidlar

**Glikoproteidlar** – tarkibida uglevodlar va ularning unumlarini saqlagan murakkab oqsillar. Glikoproteidlar odam va hayvon organizmida keng tarqalgan bo'lib, qator biologik funksiyalarni bajaradi. Masalan, plazma transport oqsillari (gaptoglobulin, transferrin, transkortin va boshqalar); qonni ivituvchi omillari (protrombin, fibrinogen), immunoglobulinlar; fermentlar (xolines-teraza, ribonukleaza); gormonlar (gonadotropin, kortikotropin) glikoproteidlardan iborat.

Ayrim glikoproteidlarning uglevod qismi mukopolisaxaridlaran iborat bo'lganligi uchun ular **mukoproteinlar** deb ataladi. Ularning asosiy vakili musin bo'lib, ichki shilliq bezlar sekretida uchraydi. Ovqat hazm qilish yo'llaridagi musinlar shilliq qavatlarni kimyoviy, mexanik, termik ta'sirlardan va proteolitik fermentlardan himoya qiladi. Glikoproteidlar gidrolizlanganda aminokislotalar bilan birga uglevod unumlari – geksozalar, geksozaminlar, glukuron, sirka va neyramin kislotalari ajraladi. Amaliyotda analiz uchun qulay obyekt sifatida so'lak musinidan foydalaniladi. So'lak glikoproteidining 40% i oqsil bo'lib, 60% ini uglevodlar tashkil etadi.

### 3.4.1. So‘lakdan musinni ajratib olish va uning tarkibidagi oqsilga – biuret uglevod guruhlariga naftol – reaksiyalari

**Tekshiriluvchi material:** so‘lak (so‘lak olishdan avval og‘iz chayiladi, so‘ngra og‘izga 10 ml suv olib, uni ikki daqiqa ushlab turiladi va ajralayotgan so‘lak bilan aralashtirilib, probirkaga bo‘shatiladi. So‘lak aralashmasi filtrlanadi va shundan so‘ng tekshirishda foydalaniladi).

#### **Reaktivlar:**

1. Sirka kislotasining 1% li eritmasi.
2. O‘yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
3. Mis sulfatining 1% li eritmasi.
4. Konsentrlangan sulfat kislotasi.
5.  $\alpha$ -naftolning spirdagi 1% li eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Shisha tayoqchalar.
2. Probirkalar.
3. Tomizgichlar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 5–10 ml so‘lak quyilib, shisha tayoqcha bilan aralashtirilib turilgan holatda teng hajmda 1% li sirka kislortasi eritmasidan qo‘shilganda musin cho‘kmasi hosil bo‘ladi.

2. Musinni shisha tayoqcha bilan ushlab turilgan holda probirkadagi suyuqlik olib tashlanadi.

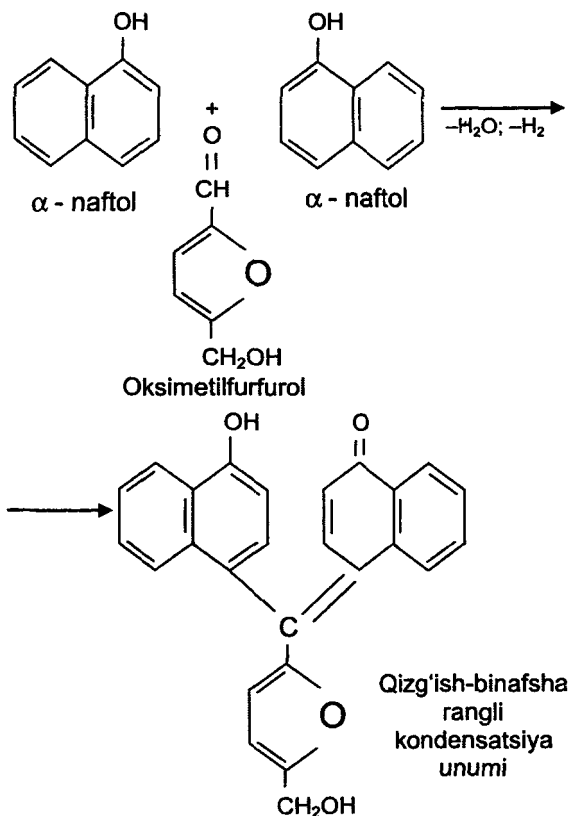
3. So‘ngra musin cho‘kmasi suv bilan yuvilib, ikki qismga bo‘linadi va ular bilan oqsil hamda uglevodlarga xos reaksiyalar qilinadi.

a) Musin tarkibidagi oqsilni ochish uchun probirkaga musin cho‘kmasining bir qismi solinib, ustiga aralashtirilib turilgan holatda 10% li o‘yuvchi natriydan cho‘kma eriguncha qo‘shiladi va biuret reaksiyasi musinning oqsil tabiatli ekanligini tasdiqlaydi.

b) Musin uglevodlari naftol probasi (Podobedov-Molish reaksiyasi) yordamida ochiladi. Reaksiya sulfat kislotasining gek-

sozalar bilan hosil qilgan oksimetilfurfurolning  $\alpha$ -naftol bilan o'zaro ta'sirlanishiga asoslangan bo'lib, bunda ularning kondensatsiyalangan rangli unumi hosil bo'ladi.

d) Musin cho'kmasining ikkinchi yarmiga 10–20 tomchi  $\alpha$ -naftolning spirtidagi 1% li eritmasidan qo'shib, aralashtiriladi va probirka devori bo'ylab teng hajmda konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shilganda suyuqliklar bo'lingan chegarasida asta-sekin qizg'ish-binafsha halqa paydo bo'lishi musin tarkibida uglevod komponenti borligini tasdiqlaydi. Probirka 1 soatga qoldirilganda bo'yalgan halqa oq fonda aniq ko'rinadi. Ushbu reaksiya tarkibidagi uglevod saqlagan har qanday birikma bilan ijobiy natija beradi.



## Xromoproteinlar, fosfoproteinlar, glikoproteidlarning prostetik guruhlariga sifat reaksiyalar

Murakkab oqsilning nomi	Prostetik guruhi	Prostetik guruhining kimyoviy qurilishi	Prostetik guruhlariga xos reaksiyalar	Qanday o'zgarish kuzatiladi	Reaksiya nimaga asoslangan

Xulosada oddiy oqsillarning murakkab oqsillardan farqlanishiga diqqat qiling.

### *Nazorat savollari*

1. Murakkab oqsillarning oddiy oqsillardan farqi nimada?
2. Nukleoproteinlar nima, ular qanday tarkibiy qismlardan iborat?
3. Nukleoproteinlar tarkibida qanday oqsillar bor? Ularning aminokislotalik tarkibining ahamiyati nimada?
4. Mononukleotidlar nima, ularni gidrolizlaganda qanday unumlar hosil bo'ladi? Ular qanday sifat reaksiyalari bilan ochiladi?

5. Nuklein kislotalar molekulasida mononukleotidlar o'zaro qanday bog'lar yordamida bog'langan?
6. Xromoproteidlar nima, ularning asosiy vakillarini sanab bering.
7. Gemga qanday sifat reaksiyalar o'tkazish mumkin?
9. Glikoproteidlar nima? Ularning uglevod guruhlariga qanday sifat reaksiyalari bor?
9. Glikoproteidlarning uglevod qismini gidrolizlaganda qanday unumlar hosil bo'ladi?
10. Qanday mukopolisaxaridlar bor? Ularning biologik ahamiyati nimada?
11. Fosfoproteinlar nima? Ulardagi fosfat kislotasini qaysi reaksiyalar bilan ochish mumkin?
12. DNK ni to'qimadan ajratish va miqdoriy aniqlash nimaga asoslangan?



## 4-bo'lim

### Fermentlar

Fermentlar oqsillardan iborat bo'lib, tirik organizmlarda kechadigan modda almashinuvining kimyoviy reaksiyalarini katalizlaydi. Fermentlarning katalitik ta'sirida quyidagi asosiy bosqichlar farqlanadi: substrat molekulasining ferment bilan birikishi, birlamchi oraliq birikmani bir yoki bir necha ketma-ket faol komplekslarga aylanishi va reaksiya oxirgi unumini fermentdan ajralishi. Fermentlar tabiatan oddiy va murakkab oqsillardir. Murakkab oqsilli fermentlar ikki qismdan iborat bo'lib, oqsilli qismi apoferment, kichik molekularli komponenti esa koferment yoki prostetik guruh deb ataladi. Fermentativ faollik faqatgina butun fermentga tegishli, koferment va apoferment alohida faollikka ega emas. Fermentlar tarkibidagi ko'pchilik kofermentlar – vitaminlar unumi, ferment faol markazi qurilishida qatnashib, fermentning katalitik faolligida ishtirok etadi. Faol markaz fermentning substrat bilan bevotsita bog'lanadigan qismi hisoblanadi. Agar biror sabab oqibatida faol markazdagi aminokislotalar qoldig'i buzilsa yoki to'silsa ferment faolligi yo'qoladi. Ferment faolligini to'suvchi yoki pasaytiruvchi moddalarga ingibitorlar deyiladi. Ferment katalitik ta'sirini oshiruvchi moddalar esa aktivatorlar deb nomlanadi. Aktivatorlar, odatda, ferment tarkibiga kirmaydi. Lekin kataliz jarayonida ferment bilan kompleks hosil qilib, reaksiya borishiga yordamlashadi. Ingibitor va aktivatorlar qatorida ko'pincha har xil tuzlar tarkibiga kiruvchi metall ionlari uchraydi. Masalan, kalsiy, rux, xlor ionlari so'lak fermenti amilazasining aktivatorlari, mis kationi esa ingibitori hisoblanadi.

Fermentlar oqsil bo'lganligi sababli issiq sharoitga chidamsiz bo'ladi. 40° C gacha bo'lgan haroratda ferment ta'sirida reaksiya tezligi ortadi, harorat undan oshsa, reaksiya tezligi pasaya boshlaydi, chunki ferment denaturatsiyaga uchraydi. Inson organizmi ko'pchilik fermentini optimal ta'sir qilish harorati tana haroratiga teng. Ferment faolligiga muhit pH i ham ta'sir qiladi. Har bir fermentning optimal pH ko'rsatkichi bo'lib, unda ferment yuqori darajadagi faollikka ega bo'ladi.

Fermentning asosiy xususiyati – ta'sirining o'ziga xosligi (spetsifikligi), ya'ni ferment faqat ma'lum substratga ta'sir etib, faqat shunga xos bo'lgan reaksiyani katalizlaydi. Spetsifiklik – substrat qurilishi bilan ferment faol markazini konformatsiyasi o'zgarishi natijasida hosil bo'lgan o'zaro moslik asosida tushuntiriladi. Fermentlar o'zlari katalizlaydigan reaksiya turiga qarab bir necha sinfga bo'linadi: gidrolazalar (gidrolitik fermentlar), oksidoreduktazalar (oksidlovchi-qaytaruvchi fermentlar) va boshqalar. Hozirgi vaqtda fermentlar nomlanishining (unifikatsiya) raqamlardan iborat xalqaro klassifikatsiyasi qabul qilingan.

## **4.1. Fermentlarning xossalari**

Fermentlarning umumiy xossalari ularning yuqori darajadagi katalitik faolligi, ta'sirining spetsifikligi, harorat o'zgarishiga sezuvchanligi va yumshoq sharoitda reaksiya tezligini oshira olish xususiyatlari bilan belgilanadi. Deyarli hamma fermentlar o'zlari ta'sir ko'rsatayotgan substratlar bilan vaqtinchalik bog'lanadi va ko'rsatilgan kimyoviy o'zgarishlardan so'ng ajralib chiqib, bu reaksiyani yana qaytarishi mumkin.

### 4.1.1. Kraxmalni so‘lak $\alpha$ -amilazasi bilan gidrolizlash

So‘lak  $\alpha$ -amilazasi gidrolazalar guruhiga taalluqli. Polisaxaridlardan kraxmal va glikogen  $\alpha$ -amilazaning maxsus substratlaridan hisoblanadi. Kraxmal yod bilan zangori rangli kompleks hosil qiladi va tarkibida erkin aldegid guruhi bo‘lmaganligi uchun qaytarilish xususiyatiga ega emas.  $\alpha$ -amilaza kraxmal, glikogen va oligosaxaridlardagi  $\alpha$ -1,4-glikozid bog‘larini gidrolizlab, ketma-ket oraliq unumlari – aminodekstrinlar, axrodekstrinlar, maltodekstrinlar va oxirgi unumi sifatida maltoza disaxaridi bilan glukoza monosaxaridi aralashmasini hosil qiladi. Maltoza va glukozani erkin aldegid guruhlari bo‘lganligi sababli ular qaytarilish imkoniyatiga ega va Trommer reaktivi bilan ochiladi.

**Tekshiriluvchi material:** suyultirilgan so‘lak (so‘lak olishdan avval og‘iz chayiladi, so‘ngra og‘izga 10 ml suv olib, uni ikki daqiqa ushlab turiladi va ajralayotgan so‘lak bilan aralashtirilib, probirkaga bo‘shatiladi. So‘lak aralashmasi filtrlanadi va shundan so‘ng tekshirishda foydalaniladi).

#### **Reaktivlar:**

1. Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi.
2. Yodning kaliy yodidagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ilo-vada).
3. O‘yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
4. Mis sulfatining 1% li eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Kichik hajmdagi stakanlar.
3. Filtrlı voronkalar.
4. Pipetkalar.
5. Termostat yoki termometrli suv hammomi.
6. Shisha tayoqchalar.
7. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. 5–10 tomchi 1% li kraxmal eritmasiga yodning kaliy yodid-dagi eritmasidan 1–2 tomchi tomizilganda kraxmal yod bilan zangori rang beradi.

2. 8–10 ta probirka tayyorlanib, har biriga 1–3 tomchidan yod eritmasi quyiladi.

3. Boshqa ikkita probirkaga taxminan 5 ml 1% li kraxmaldan solinib, ulardan bittasiga 3 ml distillangan suv (nazorat), ikkinchisiga 3 ml suyultirilgan so‘lak (tajriba) qo‘shiladi va shisha tayoqcha bilan aralastirilgach, 37° C li termostatga o‘rnatilib, vaqti aniqlanadi. 5–7 daqiqa o‘tgach, nazorat va tajriba namunalardan bir necha tomchi olinib, yod saqlagan probirkalarga solinadi va rang hosil bo‘lishi kuzatiladi. Yod eritmasi bilan ushbu reaksiya qisqa vaqt oralatib bir necha bor qaytariladi.

4. Ikkala probirkadan boshlanishida olingan namunalarda zangori rang kuzatiladi, so‘ngra amalaza saqlagan suyuqlikdan olingan proba yod bilan qizg‘ish-qo‘ng‘ir rangga bo‘yala boshlaydi. Ko‘p o‘tmay so‘lak saqlagan probirkadan olingan suyuqlik yod bilan boshqa bo‘yalmaydi. Yodning bu holatdagi har xil bo‘yalishi kraxmalni asta-sekin gidrolizlanishi davomida dekstrinlar hosil bo‘layotganini ko‘rsatadi. Agar so‘lakli probirkadan olingan so‘nggi proba yodning eritmadagi sarg‘ish rangini o‘zgartirmasa, gidroliz tugagan hisoblanib, tugagan vaqti yozib qo‘yiladi.

Nazorat suyuqligidan olingan probalarda doimo zangori rangning kuzatilishi uning tarkibida amalaza yo‘qligi tufayli kraxmal gidrolizga uchramayotganligini bildiradi.

Asosiy va nazorat eritmalarining ikkinchi qismida Trommer reaksiyasi o‘tkaziladi. Bunda so‘lakli probirka eritmasida kraxmalning fermentativ gidrolizini oxirgi unumlari bo‘lganligi uchun Trommer reaksiyasining ijobiy bo‘lishi kuzatiladi, nazorat eritmasi esa Trommer probasini bermaydi. Gidroliz jarayoni davomida asosiy tajriba probirkasidagi eritmani quyqalanishi (opalessensiya) ham yo‘qoladi.

Ishni rasmiylashtirishda va xulosada amilaza ta'sirida kraxmalning oraliq unumlarini ketma-ket hosil bo'lishi va uning tana haroratida qisqa vaqtda kechishini ko'rsating. Gidroliz oxirgi unumlari nima uchun ijobiy Trommer reaksiyasini berishini asoslang.

6-jadval

### Kraxmalni so'lak $\alpha$ -amilazasi bilan gidrolizlash

Substrat nomi va uning gidrolizlangandagi unumlari	Yod bilan reaksiyadagi rangi	Gidroliz uchun ketgan vaqt	Gidroliz sharoitidagi harorat	Trommer reaksiyasi

#### 4.1.2. So'lak $\alpha$ -amilazasining termolabiligi

Fermentativ reaksiyaning tezligi haroratni ko'tarilishi bilan barobar orta boshlaydi. Harorat  $10^{\circ}\text{C}$  ga ohsa, reaksiya tezligi 2–3 marta ko'payadi. Ammo fermentativ katalizning faollashish ko'rsatkichi anorganik kimyoviy reaksiyalardan haroratni nihoyatda tor oralig'ida kechishi bilan farqlanadi. Reaksiyani maksimal tezligini ta'minlovchi harorat chegarasini optimal harorat deb atalib, u  $37\text{--}40^{\circ}\text{C}$  ga to'g'ri keladi. Bu ko'rsatkich  $40\text{--}50^{\circ}\text{C}$  ga yaqinlashganda ko'pchilik fermentativ jarayonlarning tezligi pasaya boshlaydi,  $80\text{--}100^{\circ}\text{C}$  da esa bir necha daqiqa davomida butunlay yo'qoladi. Buning sababi fermentning oqsil molekulasini issiqlik denaturatsiyasi natijasida katalitik faolligini yo'qotilishi bilan tushuntiriladi. Qaynatganda fermentni inaktivatsiyalanishini so'lak  $\alpha$ -amilazasi misolida ko'rish mumkin.

**Tekshiriluvchi material:** suyultirilgan so'lak (tayyorlanishi 4.1.1-bo'limda).

### **Reaktivlar:**

1. Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi.
2. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ilo-vada).
3. O'yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
4. Mis sulfatining 1% li eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Termostat yoki termometrli suv hammomi.
4. Shisha tayoqchalar.
5. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 2 ml ga yaqin suyultirilgan so'lakdan solinib, 2–3 daqiqa davomida qaynatiladi va sovutiladi.

2. Ikkita probirkaga 10 tomchidan 1% li kraxmal eritmasi qo'yilib, birinchisiga 10 tomchi suyultirilgan so'lak, ikkinchisiga 10 tomchi qaynatilib sovutilgan so'lakdan tomiziladi.

3. Probirkalar ichidagilari aralashtirilib, 10 daqiqaga 37° C li termostatga qo'yiladi.

4. So'ngra har bir probirka suyuqligidan 3–5 tomchidan olinib, oldindan 1–2 tomchi yod quyib tayyorlangan probirkalarga tomiziladi. Bunda qaynatilmagan so'lakli probirkadagi namuna yod bilan bo'yalgan rang bermaydi, qaynatilgan so'lak saqlagan probirkada zangori rang kuzatiladi.

6. Ikkala probirkada qolgan suyuqliklardagi kraxmalga Trommer reaksiyasi (3.1.1-bo'limga qarang) o'tkazilganda, qaynatilmagan so'lakli namunada ijobiy va oldindan qaynatilgan so'lak ta'sirida esa manfiy reaksiya kuzatilgan.

Olingan natijalar jadvalda keltirilib, xulosada yuqori haroratning  $\alpha$ -amilazani gidrolitik faolligiga ta'siri, uning sababi va isbotini ko'rsating.

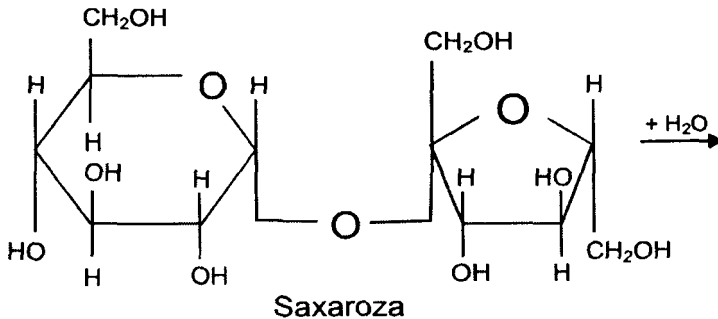
**$\alpha$ -amilaza fermentiga haroratning ta'siri**

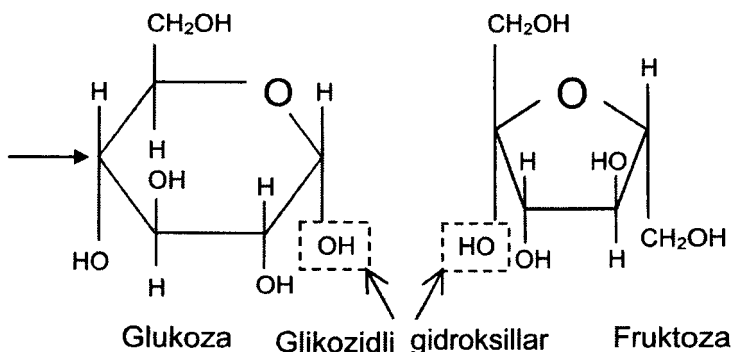
Ferment	Substrat	Gidrolizatda kraxmal bor yoki yo'qligi	Trommer reaksiyasi
$\alpha$ -amilaza			
Qaynatilgan amilaza			

**4.1.3. So'lak  $\alpha$ -amilazasining spetsifikligi**

**Polisaxaridlar** – glikogen va kraxmal amilazaning spetsifik substrati hisoblanadi. Saxarazaning substrati esa disaxarid saxaroza bo'lib, tarkibidagi glukoza va fruktoza qoldiqlari diglikozid bog'i bilan bog'langanligi tufayli erkin aldegid yoki keton guruhi yo'q va shu sababli Trommer reaksiyasini bermaydi.

Saxaroza gidrolizlanganda glukozaning bo'shatilgan aldegid guruhi bilan fruktozaning keton guruhi ijobiy Trommer reaksiyasini kelib chiqishini asoslaydi. Shuning uchun Trommer reaksiyasi yordamida saxarozani gidrolizga uchragan yoki uchramaganligini aniqlash mumkin. Fermentlar ta'sirining spetsifikligini o'rganishda achiq tarkibidagi saxarozadan foydalaniladi:





**Tekshiriluvchi material:** suyultirilgan so‘lak.

**Reaktivlar:**

1. Saxaroza manbayi sifatida quritilib maydalangan achitqi-ning 20% li filtrlangan eritmasidan foydalaniladi.
2. Kraxmalning yangi tayyorlangan 1% li eritmasi.
3. Saxarozaning 2% li eritmasi.
4. O‘yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
5. Mis sulfatining 1% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Termostat yoki termometrli suv hammomi.

**Ishni bajarilishi**

1. Saxaroza eritmasi bilan Trommer reaksiyasi (3.1.1- bo‘limga qarag‘an) o‘tkazilib, uni manfiy ekanligiga ishonch hosil qilinadi.

2. Ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi. Ikkala probirkaga 5 tomchidan suyultirilgan so‘lak qo‘shib, aralashtiriladi va 10–15 daqiqaga 37° C li termostatga qo‘yiladi.

3. 10–15 daqiqadan so‘ng ikkala probirka tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o‘tkaziladi.

4. Substrat sifatida kraxmal saqlagan probirkaga mis gidrat oksidi qo‘shilganda uni qaytarilgani kuzatiladi, bu esa kraxmalni  $\alpha$ -amilaza ishtirokida parchalanganligini bildiradi.



5. Saxarozali probirkada mis gidroksidini qaytarilishi kuzatilmaydi. Bu saxarozani gidrolizlamaganligini ko'rsatib, ayni vaqtda saxaroza  $\alpha$ -amilazani spetsifik substrati emasligini tasdiqlaydi.

6. Saxarazaning spetsifikligini aniqlashda ikkita probirka olinib, bittasiga 10 tomchi 1% li kraxmal eritmasi, ikkinchisiga esa 10 tomchi 2% li saxaroza eritmasi solinadi.

7. Ikkala probirkaga 5 tomchidan achitqi saxarazasi qo'shilib, aralashtirilgach, ularni 10–15 daqiqaga 37° C li termostatga qo'yiladi. Ko'rsatilgan vaqt o'tgach, probirkalar olinib, ular tarkibidagi suyuqliklar bilan Trommer reaksiyasi o'tkaziladi. Saxaroza substrat sifatida bo'lgan probirkada mis gidroksidi qaytarilganligi kuzatiladi, bu esa saxarozani saxaraza ta'sirida parchalanganligini ko'rsatadi; kraxmal saqlagan probirka bilan Trommer reaksiyasi manfiy natija beradi, demak kraxmal saxarazaning substrati bo'la olmaydi.

Olingan natijalar jadval ko'rinishida rasmiylashtiriladi va xulosada fermentlar spetsifikligi nimaga bog'liqligi va aniqlanishi ko'rsatiladi.

*8-jadval*

### **Amilaza va saxaraza ta'sirining spetsifikligi**

<b>Ferment</b>	<b>Substrat</b>	<b>Gidrolizlanish harorati</b>	<b>Trommer reaksiyasi</b>

#### **4.1.4. So'lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga pH ning ta'siri**

Har bir fermentning maxsus muhit pH i bo'lib, unda ferment eng yuqori faollikka ega. Bu esa fermentning oqsil qismini amfoterlik xususiyatiga va katalitik faolligi ferment faol markaziga kirgan

funksional guruhlarning ionlashgan darajasiga bog‘liqligi bilan tushuntiriladi. pH ning ferment faolligiga ta‘sirini amilaza faolligini aniqlash misolida ko‘rsatish mumkin. So‘lak  $\alpha$ -amilazasi pH-6,8 da deyarli neytral reaksiyada yuqori faollikka ega bo‘lib, kislotali va ishqoriy muhitda uning faolligi pasayadi. Muhit reaksiyasi-ni fermentning katalitik xususiyatiga ta‘sirini o‘rganish uchun har xil pH ko‘rsatkichli bir necha eritmalar tayyorlab, ularga ferment, substrat qo‘shib, inkubatsiyadan keyin qaysi muhitda kataliz eng katta tezlikda ketayotganini aniqlash mumkin.

**Tekshiriluvchi material:** suyultirilgan so‘lak (1–2 tomchi so‘lakka 1 ml suv qo‘shiladi).

**Reaktivlar:**

1. Fosfatli bufer 1/15 M quyidagi pH ko‘rsatkichlari bilan: 5,4; 6,2; 6,8; 7,2; 8,0.
2. Kraxmalning 0,5% li eritmasi.
3. Yodning kaliy yodididagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ildovada).

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Termostat yoki termometrli suv hammomi.

**Ishni bajarilishi**

1. 5 ta probirka olib, har biriga 10 tomchidan 1/15 M pH: 5,4; 6,2; 6,8; 7,2; 8,0 bo‘lgan fosfat buferi quyiladi, so‘ngra hamma probirkalarga 10 tomchidan 0,5% li kraxmal eritmasi va 1 tomchidan suv bilan suyultirilgan so‘lak qo‘shiladi.

2. Probirkalar ichidagilari silkitib aralashtirilgach, tezda 37° C li termostatga joylashtiriladi va vaqti belgilanadi.

3. Gidroliz tezligini aniqlash uchun har 1–2 daqiqa oralig‘ida 5 ta probirkadagi har bir suyuqlikdan 1 tomchidan boshqa probirkaga o‘tkazilib, yod eritmasi bilan reaksiya qilinadi.

4. Gidroliz eritrodekstrin paydo bo‘lishigacha o‘tkaziladi, bu bosqichda gidrolizat yod bilan qizg‘ish-qo‘ng‘ir rangga bo‘yaladi.

5. Tahlil nihoyasida har bir probirkada eritrodekstrin paydo bo'lish vaqti daqiqalarda belgilanadi.

Ish natijasi jadval shaklida rasmiylashtiriladi. Amilaza faolligi muhit pH iga bog'liqligini ko'rsatishda grafik chizig'ining absissa o'qiga kraxmal gidrolizi o'tkazilayotgan muhit pH i, ordinata o'qiga kraxmalni eritrodekstrin bosqichigacha gidrolizlanganida o'tgan vaqt – daqiqalari qo'yiladi va qaysi muhit pH ida so'lak  $\alpha$ -amilazasi optimal ta'sir ko'rsatganligi haqida xulosa chiqariladi.

#### 4.1.5. So'lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta'siri

Fermentlarning katalitik ta'siri ba'zi moddalar ishtirokida kuchayadi, bularga *aktivatorlar* deyiladi. Ferment faolligini pasaytiruvchi moddalarga esa *ingibitorlar* deb aytiladi. Ko'pincha aktivlovchi va tormozlovchi ta'sir har xil tuzlar tarkibiga kiruvchi metall ionlariga bog'liq. Masalan, natriy xlorid ta'sirida amilaza faolligi oshsa, mis sulfat qo'shilganda pasayadi. Aktivator va ingibitorlarning ta'sir mexanizmi murakkab bo'lib, unga ferment faol markaziga kiruvchi funksional guruhlarini metall ionlari bilan bog'lanishini sabab qilib ko'rsatadi.

Aktivatorlar yoki ingibitorlar ta'sirini baholashda ferment katalitik faolligi o'sha moddalar ishtirokida sinab ko'riladi va olingan natijalar nazorat ko'rsatkichlari bilan taqqoslanadi.

**Tekshiriluvchi material:** suyultirilgan so'lak (1–2 tomchi so'lakka 1 ml suv qo'shiladi).

##### **Reaktivlar:**

1. Natriy xloridning 1% li eritmasi.
2. Mis sulfatning 1% li eritmasi.
3. Kraxmalning 0,5% li eritmasi.
4. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ildovada).

### Jihozlar:

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.
3. Pipetkalar.
4. Termostat yoki termometrli suv hammomi.

### Ishni bajarilishi

1. Uchta probirka olinib, birinchisiga 10 tomchi 1% li natriy xlorid eritmasidan, ikkinchisiga 10 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan, uchinchisiga 10 tomchi suv quyilib, hammasiga 20 tomchidan 0,5% li kraxmal va 1 tomchidan suyultirilgan so‘lak qo‘shilib, aralashtiriladi va tezlikda 37° C li termostatga joylashtirilib, vaqti aniqlanadi.

2. Kraxmalning gidrolizlanish tezligini aniqlash uchun kraxmal gidrolizlanayotgan probirkalardan 1–2 daqiqa oralatib, 1 tomchidan boshqa probirkalarga olinadi va u bilan yodning kaliy yodiddagi eritmasi bilan reaksiya o‘tkaziladi. Gidroliz jarayoni eritrodekstrin bosqichigacha davom ettiriladi va uni paydo bo‘lgan vaqti daqiqalarda aniqlanadi.

Tajriba natijalari 9-jadval ko‘rinishida yoziladi.

9-jadval

### So‘lak $\alpha$ -amilazasi faolligiga aktivator va ingibitorlarning ta’siri

Tekshirilayotgan modda	Ferment	Substrat	Eritrodekstrin hosil bo‘lgan vaqti

Birinchi ikkita probirkadagi kraxmalni eritrodekstrin bosqichiga gidrolizlanishi uchun sarf bo'lgan vaqtni uchinchi probirkadagi (nazorat) kraxmalning gidrolizlanish vaqti bilan solishtirilib, tekshirilayotgan moddalarning aktivatorlik yoki ingibitorlik ta'siri to'g'risida xulosa chiqariladi.

## 4.2. Ferment faolligini miqdoriy aniqlash

Ferment faolligini miqdoriy aniqlashdan klinikada tashxis qo'yish maqsadida, davolash choralari samarasini bilish va baholashda foydalaniladi. Ferment miqdori to'g'risida gapirilganda, odatda uning faolligi tushuniladi, chunki ferment faolligi uning konsentratsiyasi bilan bevotsita bog'liq.

Ferment faolligi esa vaqt birligida ta'sir ko'rsatilayotgan substratning yoki reaksiya natijasida hosil bo'lgan unumining miqdoriy o'zgarishi bo'yicha aniqlanadi.

Ferment faolligini aniqlashda qo'llaniladigan usul sharoitiga qat'iy rioya qilish talab qilinadi, chunki reaksiyani kechishi haroratga, muhit pH ga substrat va kofaktorlar miqdoriga uzviy bog'liqligi bilan xarakterlanadi. Ferment faolligini aniqlashda shu fermentga optimal bo'lgan pH li bufer eritmalaridan, zarur bo'lgan kofermentlardan, aktivator yoki ingibitorlardan va ayniqsa, ferment oqsili denaturatsiyasining oldini oluvchi stabilizatorlardan foydalaniladi.

Xalqaro biokimyogarlarning uyushmasining tavsiyasiga binoan ferment faolligining birligi 1 mol substratni 1 soniyada (soniya) o'zgartira oladigan ferment miqdoriga teng bo'lib, "katal" yoki qisqacha "kat" deb ataladi.

Mazkur faollik mikromolda ( $10^{-6}$ ) – mikrokatal, nanomolda ( $10^{-9}$ ) nanokatal va pikomolda ( $10^{-12}$ ) – pikokatal deb ifodalanadi. Spetsifik faollik katallarni 1 kg oqsilga nisbatan – kat/kg oqsil, molekular faollik – katal/mol ferment, ferment faolligining konsentratsiyasi katal/ litr yoki mikrokatal/litr shaklida berilgan.

### 4.2.1. So‘lak $\alpha$ -amilazasi faolligini Volgemut bo‘yicha aniqlash

Mazkur usul bilan  $\alpha$ -amilaza miqdorini aniqlash fermentni maksimal darajada suyultirilganda ham tajribaga olingan kraxmalni eritrodekstringacha parchalay olish xususiyatiga asoslangan.

**Tekshiriluvchi material:** 1: 10 nisbatda suyultirilgan so‘lak.

#### **Reaktivlar:**

1. Kraxmalning 1% li yangi tayyorlangan eritmasi.
2. Yodning kaliy yodiddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ildovada).

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.
3. Pipetkalar.
4. Byuretkalar.
5. Shishaga yoziladigan qalam.
6. 37° C li termostat yoki termometrli suv hammomi.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkadagi 1 ml so‘lakka byuretkadan 9 ml distillangan suv 1: 10 nisbatda qo‘shilib, yaxshilab aralashtiriladi.

2. 10 ta raqamlangan probirkalar olinib, har biriga 1 ml dan suv solinadi.

3. Birinchi probirkaga 10 marta suyultirilgan so‘lakdan 1 ml olib, yaxshilab aralashtirilgach, undan 1 ml olib ikkinchi probirkaga o‘tkaziladi, aralashtirilgach, aralashmaning 1 ml ni uchinchi probirkaga, shu tartibda bajarilayotgan ish to‘rtinchi, beshinchi, toki o‘ninchi probirkagacha takrorlanadi va oxirgi probirkadan 1 ml suyuqlik olib tashlanadi.

4. Natijada birinchi probirkadagi so‘lak 10 marta suyuladi, ikkinchisidagi 40 marta, uchinchisi 80 marta va hokazo, o‘ninchisi esa 5440 marta suyulgan hisoblanadi.

5. Barcha probirkalarga ferment konsentratsiyasi eng kam bo‘lgan o‘ninchi probirkadan boshlab 2 ml dan 1% li kraxmal

eritmasi quyiladi va chayqatilib, aralashtirilgach, 30 daqiqaga  $37^{\circ}\text{C}$  li termostatga qo'yiladi.

6. 30 daqiqadan so'ng probirkalar sovutilib, har biriga 1–2 tomchidan yodning kaliy yodiddagi eritmasidan tomiziladi va eng ko'p suyultirilgan probirkadagi so'lak kraxmalni eritrodekstringa parchalab, yod bilan qizg'ish-qo'ng'ir rang hosil qilganligi aniqlanadi.

7.  $\alpha$ -amilaza faolligi 1 ml suyultirilmagan so'lakni  $37^{\circ}\text{C}$  da termostatda 30 daqiqa davomida necha millilitr 1% li kraxmalni parchalay oladigan miqdori bilan o'lchanadi.

Agar qizg'ish-qo'ng'ir rang so'lak 160 marta suyultirilgan to'rtinchi probirkada 2 ml 0,1% kraxmal eritmasi qo'shilganda aniqlansa, unda 1 ml suyultirilmagan so'lak 160 marta ko'p 0,1% li kraxmalni parchalagan bo'ladi:  $1/160$  ml so'lak 2 ml 0,1% kraxmalni parchalasa, 1 ml so'lak 0,1% li kraxmalning qancha miqdorini ( $X$ ) parchalashi mumkin, ya'ni  $X = 2 \times 1 : 1/160 = 320$  ml 0,1% li kraxmal eritmasini parchalaydi.

Shartli ravishda ushbu ko'rsatkich Volgemut bo'yicha 320 ml  $\alpha$ -amilaza birligi hisoblanadi va quyidagicha yoziladi: A  $37^{\circ}\text{C}/30'$  = 320 birlik.

Volgemut usulidan  $\alpha$ -amilazani oshqozon osti bezi shirasida, qonda, siydikda va organizmning boshqa suyuqliklarida aniqlashda foydalanish mumkin.

Ammo mazkur usul nisbatan taxminiy bo'lganligi sababli  $\alpha$ -amilaza faolligida keskin o'zgarishlar kuzatilganda qo'llaniladi.

Amaliy ishdan olingan natijalarni 10-jadval ko'rinishga keltiring.

**Volgemut usuli bo'yicha  $\alpha$ -amilaza faolligini  
so'lakda aniqlash**

№ Probirkalar	So'lakni suyulirish darajasi	0,1 % li kraxmal eritmasi miqdori (ml)	Harorat	Yod bilan boradigan reaksiyasining rangi

Xulosada tekshirilayotgan so'lakdagi amilaza faolligini hisoblangan miqdorini bering.

**Nazorat savollari**

1. Qanday moddalarga fermentlar deyiladi? Organizmda ular qanday vazifani bajaradi?
2. Fermentlarning kimyoviy tabiati va xususiyati nimadan iborat?
3. Ferment ta'sirining spetsifikligi nimada va uni qanday aniqlanadi?
4. Ferment faolligini haroratga, muhit pH iga qanday bog'liqligi bor?
5. Fermentning prostetik guruhi bilan kofermenti o'rtasida qanday farq bor?
6. Fermentning faol markazini qanday tushunasiz?
7. Fermentlar klassifikatsiyasi qanday, ferment sinflarini sanab bering.
8. So'lak amilazasi fermentlarning qaysi sinfiga kiradi?



9. *Qanday birikmalar so'lak amilazasi substrati bo'la oladi?*
10. *Maltoza qaysi xususiyati asosida Trommer reaksiyasi bilan ochiladi?*
11. *Fermentlar eritmasini qaynatganda inaktivatsiyalanishi nima bilan tushuntiriladi va bunga qanday ishonch hosil qilish mumkin?*
12. *Fermentlar ta'siri anorganik katalizatorlar ta'siridan qaysi xususiyatlari bilan farqlanadi?*
13. *So'lak amilazasi ta'siridagi spetsifiklikni qanday qilib isbotlasa bo'ladi?*
14. *Saxaraza fermenti qaysi sinfga kiradi va uning substrati nimadan iborat?*
15. *Saxaraza ta'siridagi spetsifiklik qaysi reaksiya bilan isbotlanadi? Saxarozani saxaraza bilan gidrolizlanish reaksiyasi formulasini yozing.*
16. *Nima uchun saxaraza gidrolizgacha Trommer reaksiyasi bilan ochilmaydi?*
17. *Muhit pH ning ahamiyatini so'lak amilazasiga ta'siri misolida tushuntiring. Qaysi tajribada uni ko'rish mumkin?*
18. *Qanday moddalar fermentlarning aktivatorlari va ingibitorlari bo'lishi mumkin? Ulardan  $\alpha$ -amilaza uchun misollar keltiring.*
19. *Ferment faolligi birligi nimadan iborat?*
20.  *$\alpha$ -amilazaning diagnostika va terapiyada qanday ahamiyati bor?*
21. *Fermentlarni aniqlashdagi sifat reaksiyalarning mohiyati nimada?*
22. *Volgemut usuli nima va qanday kasalliklarni davolashda undan foydalaniladi?*

## 5-bo'lim

### Vitaminlar

**Vitaminlar** – inson oziqa moddalari tarkibiga kiruvchi, almashtirib bo'lmaydigan, kichik molekulali organik birikmalardir. Ular odam va hayvon organizmida sintezlanmaydi, boshqa moddalar singari organ va to'qimalar qurilishida ishtirok etmaydi, energetik manba sifatida ahamiyatga ega emas.

Ovqat tarkibidagi oz miqdordagi vitaminlar organizmda kecha-yotgan kimyoviy jarayonlarning normal holatini ta'minlab, bir qator fiziologik jarayonlarni boshqarishda faol qatnashadi.

Ko'pchilik vitaminlar fermentlar prostetik guruhi tarkibiga kirganligi tufayli A, K, C vitaminlari, tiamin, niasin, riboflavin, B<sub>6</sub> vitamini, biotin, pantoten kislota, folat kislota, B<sub>12</sub> vitaminlarining yetishmovchiligi ferment faolligini pasayishiga sabab bo'lib, ular qatnashayotgan modda almashinuvini buzilishiga olib keladi.

Ayrim vitaminlar (E va C) biologik antioksidant, oksidlanish va qaytarilish metabolik reaksiyalarining kofermenti (niasin, riboflavin va pantoten kislotalari) sifatida qatnashsa, A va D vitaminlari gormonal ta'sirga ega, undan tashqari A vitamini ko'rish jarayonidagi fotoresepsiyani kofaktori vazifasini ham bajaradi.

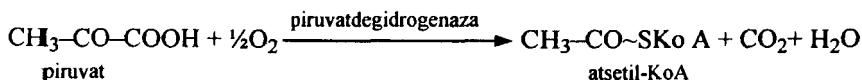
Oziqa mahsulotlari yoki boshqa biologik unumlardagi vitaminlarni aniqlashda, odatda, vitaminlarning kimyoviy reaktivlar bilan rangli reaksiya hosil qilishidan foydalaniladi. Bu vaqtda u yoki bu vitaminning suvda yoki yog'da ko'proq erish xususiyati e'tiborga olinadi.

## 5.1. B<sub>1</sub> vitamini (tiamin, aneyrin)

Kimyoviy jihatdan toza B<sub>1</sub> vitamini – rangsiz kristall kukun bo‘lib, suvda yaxshi eriydi. Tiamin kislotali muhitda (masalan me‘dada) turg‘un bo‘lib, ishqoriy eritmada parchalanadi. Shu sababli ovqat ishqoriy muhitda pishirilganda vitamin yo‘qoladi. B<sub>1</sub> vitamini tarkibi bo‘yicha tiazol va pirimidin halqalari birikmasidan iborat.

Odam va hayvon organizmida pirofosfat efiri ko‘rinishida lipoil kislota, koenzim A (HSCoA), NAD<sup>+</sup>, FAD<sup>+</sup> kofermentlar kompleksi bilan birgalikda  $\alpha$ -ketokislotalar (piruvat,  $\alpha$ -ketoglutarat) ning oksidlanishli dekarboksillanishida qatnashuvchi ferment tizimi tarkibiga kiradi.

Ushbu reaksiyaning umumiy qisqacha ko‘rinishini piruvat misolida quyidagicha yozish mumkin:



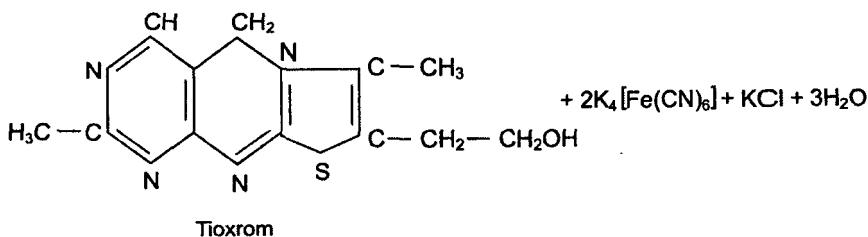
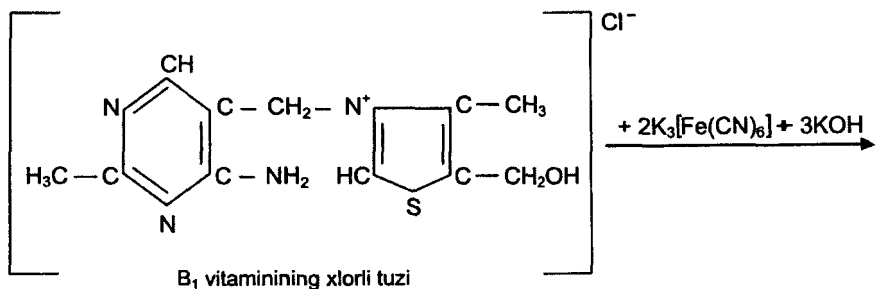
Organizmida tiamin yetishmaganda piruvatni dekarboksillanishi va keyingi oksidlanishini buzilishi kuzatilib, to‘qimalarda piruvat to‘planadi. Piruvatning oksidlanishining keskin buzilishi ayniqsa, bosh miya va periferik nerv sistemasi funksiyasida jiddiy o‘zgarishlar (nevritlar, paralich va hokazo)ni keltirib chiqaradi.

B<sub>1</sub> vitamini asosan uglevodlar almashinuvining kucli boshqaruvchisi hisoblanadi, chunki piruvat va  $\alpha$ -ketoglutarat uglevodlarning anaerob oksidlanishi natijasida hosil bo‘ladi.

Ko‘proq uglevodlar saqlagan ovqat iste‘mol qilinganda organizmning B<sub>1</sub> vitaminiga talabi oshadi. Katta odamning tinch sharoitda aralash ovqat qabul qilganida B<sub>1</sub> vitaminiga ehtiyoji 2 mg ni tashkil etadi.

### 5.1.1. B<sub>1</sub> vitaminining tioxromga oksidlanish reaksiyasi

Tiamin ishqoriy muhitda qizil qon tuzi ta'sirida tioxromga oksidlanadi, uni eritmadan izobutil spirti bilan ajaratib olinib, ultra-binafsha nurda ko'rilganda ko'kmtir flyuoressensiya beradi:



**Tekshiriluvchi material:** tiamin kukuni.

**Reaktivlar:**

1. Qizil qon tuzining 5% li eritmasi.
2. Natriy gidroksidning 30% li eritmasi.
3. Izobutil spirti.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.
3. Shisha kurakchalar.
4. Mikropipetkalar.

5. Kapillarlar.

6. Flyuoroskop.

### **Ishni bajarilishi**

1. Shisha kurakcha bilan bir chimdim tiamin olib, probirkada 5–10 tomchi suv bilan eritiladi.

2. Eritmaga 5 tomchi 5% li qizil qon tuzi eritmasidan, 10 tomchi 30% li natriy gidroksiddan qo‘shib, yaxshilab aralashtiriladi.

3. 5–10 daqiqadan so‘ng 15 tomchi izobutil spirti qo‘shib, 0,5–1 daqiqa davomida jadal chayqatiladi va tindiriladi.

4. Yuqoridagi spirtli qatlami kapillar yoki mikropipetka yordamida toza probirkaga o‘tkazilib, ko‘kimtir flyuorensensiyasini ultrabinafsha nurida kuzatiladi.

## **5.2. B<sub>2</sub> vitamini (riboflavin)**

**B<sub>2</sub> vitamini** – to‘q sariq kristall modda bo‘lib, suvda va spirtda qiyin eriydi. Natriy gidroksid va xlorid kislota eritmalarida oson eri b, achchiq ta‘mli to‘q sariq rangli kristallar hosil qiladi. Mazkur vitaminning asosiy manbayi sifatida achitqi, tuxum sarig‘i, sut, jigar, go‘shetni ko‘rsatsa bo‘ladi.

Katta yoshdagi kishilarda B<sub>2</sub> vitaminiga bo‘lgan sutkalik talab 1,5–2,5 mg ni tashkil qiladi. B<sub>2</sub> vitaminining alohida yetishmovchiligi odamlarda kam uchraydi, u ko‘pincha sifatsiz ovqatlanish davomida uchraydigan kasalliklarida (dermatoz, katarakta) va PP vitaminini miqdoriy yetishmovchiligida birga kuzatiladi.

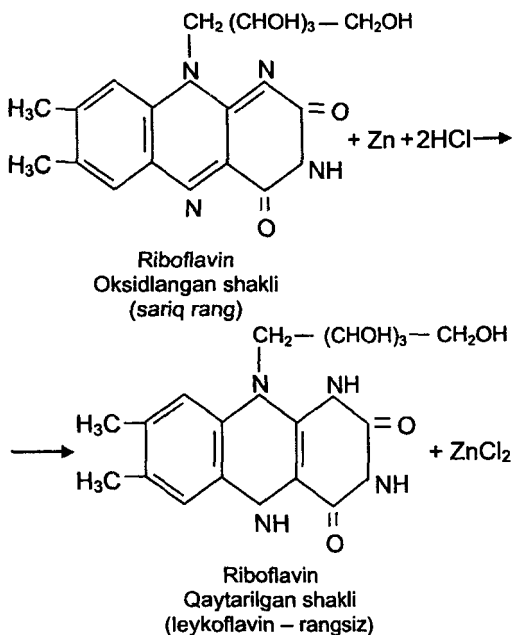
B<sub>2</sub> vitamini kimyoviy jihatdan izoalloksazin unumini besh atomli spirt ribitol bilan bog‘langani, uning to‘la nomi – 6,7-dimetil-9-D-ribitil-izalloksazin yoki riboflavin. U riboflavin – 5-fosfat shaklida inson va hayvon organizmi flavinli fermentlarining prostetik guruhlari (FAD) tarkibiga kiradi.

Flavoproteidlar biologik oksidlanishda degidrogenlanish reaksiyalarini katalizlashda ishtirok etadi. Shuning uchun riboflavin

yetishmovchiligida organizmda oksidlanish-qaytarilish jarayonlari buziladi, oqibatda har xil betoblik belgilari (soch to'kilishi, ko'zning xiralashishi, og'iz va lab shilliq qavatlarining shikastlanishi va boshqalar) kelib chiqadi. Biologik oksidlanish jarayonida niko-tinamidadenindinukleotid (NAD) flavinli fermentlarning maxsus substrati sanaladi.

### 5.2.1. B<sub>2</sub> vitaminining qaytarilish reaksiyasi

Reaksiya riboflavinni kislotali muhitda oson qaytarilishi va qayta oksidlanishiga asoslangan. Konsentrlangan xlorid kis-lotasiga rux metali qo'shilishidan hosil bo'lgan vodorod qizil rangli oraliq birikma (rodoflavin) yordamida riboflavinning rangsiz leykoflavinga qaytaradi. Bunda eritmaning sariq rangi qizilga o'tadi, so'ngra eritma rangsizlanadi. Reaksiya mexanizmini quyidagicha ifodalash mumkin:



**Tekshiriluvchi material:** B<sub>2</sub> vitaminining 0,025% li eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan xlorid kislotasi.
2. Rux metali.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 10 tomchi 0,025% li riboflavin eritmasidan olinib, 5 tomchi konsentrlangan xlorid kislotasi va kichkina rux bo‘lakchasi qo‘shiladi. O‘sha zahoti vodorod pufakchalari ajralayotgani ko‘rinib, suyuqlik asta-sekin pushti yoki qizil rangga bo‘yaladi, so‘ngra suyuqlikning rangi yo‘qolib, rangsizlanib qoladi.

2. Rangsizlangan suyuqlikni havoda chayqatilsa, leykobirikma yana qaytadan riboflavinga oksidlanadi.

3. Mazkur reaksiya bilan flavinli fermentlarni to‘qima nafas olishi jarayonida ta‘sir etish mexanizmini namoyish qilish mumkin.

### **5.3. B<sub>6</sub> vitamini (piridoksin, adermin)**

**B<sub>6</sub> vitamini** – suvda va spirtida yaxshi eriydigan rangsiz kristall bo‘lib, ishqor, kislotalar ta‘siriga va haroratga chidamli, quyosh nuri, ayniqsa, ultrabinafsha nurlar ta‘sirida parchalanadi, lekin oziq-ovqat tayyorlashda va konservalashda yaxshi saqlanadi. Piridoksin – B<sub>6</sub> vitamini faolligiga ega bo‘lgan moddalarning umumiy guruh nomi bo‘lib, unga piridoksol, piridoksal va piridoksamini kiradi.

Odam organizmida ushbu birikmalar osonlik bilan biri ikkinchisiga aylana oladi va ATF ishtirokida fosforlangan unumlari – 5-fosfopiridoksal, 5-fosfopiridoksaminlar transaminaza va dekarboksilaza fermentlari kofermenti sifatida aminokislotalar almashinuvida muhim vazifani bajaradi.

Aminokislotalar almashinuvi ko'pchilik biologik zarur moddalar (gistamin, PP vitamini, gem va boshqalar)ning sintezi bilan bog'liqligini e'tiborga olsak, piridoksin yetishmovchiligi organizm biokimyoviy jarayonlarida jiddiy o'zgarishlarni keltirib chiqarishi tabiiy.

Inson organizmini B<sub>6</sub> vitaminiga bo'lgan sutkalik zarurati aniqlanmagan, lekin yangi tug'ilgan bolalarga 0,3 mg, kattalarga esa kuniga 1,5–2 mg gacha tavsiya etiladi. B<sub>6</sub> vitaminiga eng boy bo'lgan manba bug'doy kurtagi, achitqi va jigar hisoblanadi.

B<sub>6</sub> vitaminining avitaminozi juda kam uchraydi, chunki ichak mikrobi sintezlagan piridoksin miqdori organizm talabini qisman qondirish uchun yetarli. Ammo ba'zi maxsus teri kasalliklari (dermatit)ni, bolalar anemiyasini davolashda yoki sil kasalligini davolashda qo'llaniladigan piridoksin antagonistlarining nojo'ya ta'siri (nerv tizimidagi o'zgarishlar)ni yo'qotishda piridoksin yuboriladi.

### 5.3.1. B<sub>6</sub> vitaminining temir xlorid bilan reaksiyasi

B<sub>6</sub> vitaminining rangsiz eritmasi temir xloridi ishtirokida temir fenolyati ko'rinishidagi qizil rangli kompleks birikma hosil qiladi. Reaksiya B<sub>6</sub> vitamini molekulasidagi pirimidin halqasining uchinchi o'rindagi fenol gidroksiliga bog'liq. Aynan shunday rangli reaksiyani temir xloridi ta'sirida piragallol eritmasi bilan ham olsa bo'ladi.

**Tekshiriluvchi material:** B<sub>6</sub> vitaminining 5% li eritmasi.

**Reaktivlar:** temir xloridining 5% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Shtativli probirkalar.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 5–10 tomchi B<sub>6</sub> vitaminining eritmasidan olinib, 1–2 tomchi 5% li temir xlorid eritmasidan tomiziladi.
2. Aralashtirilgach, suyuqlik qizil rangga kiradi.



## 5.4. B<sub>12</sub> vitamini (siankobalamin, antianemin)

*B<sub>12</sub> vitamini* ignasimon kristallardan iborat bo‘lib, tarkibida kobalt saqlaganligi uchun to‘q qizil rangli, suvda va spirtida yaxshi eriydi. Odam organizmida B<sub>12</sub> vitamini yetishmasligi oqibatida xavfli anemiya kelib chiqadi.

Mazkur kasallik ko‘mikda qon shaklli elementlarining sintezini buzilishi tufayli qon tarkibida eritrotsitlar miqdorining kamayishi, yetilmagan yosh shakllarining paydo bo‘lishi va asab tizimi ishining izdan chiqishi bilan xarakterlanadi. B<sub>12</sub> vitamini unumlari kobamidli kofermentlar nomi bilan atalib, ko‘pchilik modda almashinuv jarayonlarida fermentlar tarkibida metil guruhining almashinuvida qatnashadi.

Ular masalan, tiamin sintezida pirimidin halqasining metil-lanishini katalizlaydi. B<sub>12</sub> vitamini hayvon mahsulotlarida, asosan, mol va jo‘jalar jigarida ko‘proq uchraydi.

Inson organizmining B<sub>12</sub> vitaminiga sutkalik ehtiyojining miqdori aniqlanmagan, taxminan kuniga 1–1,5 mkg qabul qilish tavsiya etiladi. B<sub>12</sub> vitamini qon hosil bo‘lishi buzilganda, jigar va nerv tizimi funksiyalari o‘zgarganda dori votsitasi sifatida qo‘llaniladi.

### 5.4.1. B<sub>12</sub> vitamini tarkibidagi kobaltni tiomochevinali reaksiya bo‘yicha aniqlash

B<sub>12</sub> vitamini molekulasida kobalt (4,5%) saqlagan birdan-bir vitamin bo‘lib, uni ochish uchun vitamin eritmasi avval mine-rallashtiriladi, so‘ngra tiomochevina ishtirokida aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** ampuladagi B<sub>12</sub> vitamini eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan sulfat kislota eritmasi.
2. 10% li tiomochevina eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.
3. To‘rli shtativ.
4. Kulsiz filtrlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. B<sub>12</sub> vitamini bo‘lgan ampula ochilib, ichidagi eritma probirkaga o‘tkaziladi.
2. 3–5 tomchi konsentrlangan sulfat kislota tomizilib, probirkani biroz engashtirilgan holatda shtativga mustahkam joylashtiriladi va havo tortuvchi shkafda rangi yo‘qolguncha yoqiladi.
3. Rangsizlantirilgan suyuqlik mineraliga ehtiyotlik bilan oz-ozdan taxminan 1 ml suv qo‘shib, aralashtiriladi.
4. 2–3 tomchi 10% li tiomochevina eritmasi kulsiz filtrga tomizilib, to‘rli gorelka ustida quritiladi.
5. So‘ngra filtratga 1–2 tomchi olingan mineralizatdan tomizilib, yana filtr to‘r ustida qizdiriladi. Filtr atrofida ko‘kimtir bo‘yali hosil bo‘lishi B<sub>12</sub> vitaminining molekulasida kobalt borligini tasdiqlaydi.

## **5.5. PP vitamini (nikotinamid, antipellagrin)**

**PP vitamin** yoki **nikotin kislota** va uning amidi bir xil faollikka ega bo‘lgan vitaminlar bo‘lib, suvda va spirtida eruvchi oq rangli kristallardan iborat. Quyosh nuri va havo ta‘sirida, qaynatganda parchalanmaydi.

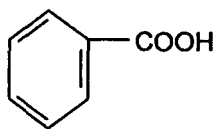
Organizmda nikotin kislota yoki nikotinamididan oksidlanish-qaytarilish reaksiyalarini katalizlovchi dehidrogenazalarning kofermentlari – nikotinamidadenin nukleotid (NAD) va nikotinamidadenin nukleotid-fosfat (NADF) hosil bo‘ladi.

Demak, ushbu vitaminlarning yetishmasligi NAD va NADF larni kerakli miqdorda sintezlanishini cheklab, to‘qima nafas olishi-

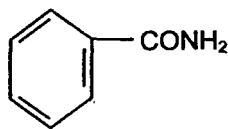
da qatnashuvchi substratlarning oksidlanishini to'sishga sabab bo'ladi.

Oziqa tarkibida PP vitamini yetishmasa, odam organizmida pellagra deb ataluvchi kasallikni keltirib chiqaradi, uning asosiy belgilari teri, nerv tizimi va me'da-ichak yo'llarini jarohatlanishi ko'rinishida kuzatiladi. Kasallikning og'ir yoki yengil kechishi bemor ovqati tarkibidagi triptofan miqdoriga bog'liq, chunki inson organizmida triptofan nikotin kislotasiga aylanadi.

PP vitamini achitqi, jigar va buyrak to'qimalarida katta miqdorda uchraydi. Katta odamlarni bu vitamanga sutkalik ehtiyoji 15–25 mg bo'lsa, bolalar uchun 15 mg ga barobar.



Nikotin kislota



Nikotin amid

### 5.5.1. Nikotin kislotaga mis atsetat ta'sirida sifat reaksiya

Reaksiya nikotin kislotasi molekulasidagi erkin karboksil guruhini mis atsetat bilan suvda qiyin eriydigan ko'k rangli mis tuzi hosil qilishiga asoslangan.

**Tekshiriluvchi material:** nikotin kislotasi kukuni.

**Reaktivlar:**

1. 10% li sirka kislotasi eritmasi.
2. 5% li mis atsetat eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 5–10 mg nikotin kislotasining 10–20 tomchisi 10% li sirka kislotasi eritmasida qizitib, eritiladi.

2. Qaynash darajasigacha qizdirilgan suyuqlikka teng hajmda 5% li mis atsetati qo‘shiladi. Suyuqlik xiralashib, ko‘k rangga bo‘yaladi, vaqt o‘tishi bilan nikotin kislotasining ko‘k rangli misli tuzi cho‘kmaga tushadi.

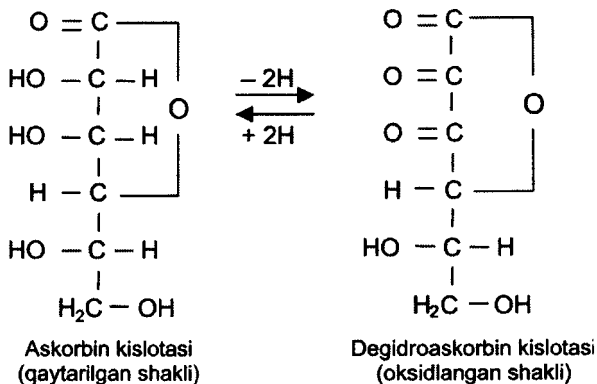
## **5.6. C vitamini (askorbin kislota, antisinga vitamini)**

Askorbin kislotasi nordon mazali, rangsiz kristallardan iborat bo‘lib, suvda va spirtida yaxshi eriydi. Organik erituvchilarda erimaydi. C vitamini molekulasida karboksil guruhi bo‘lmasa ham enolli gidroksillaridan bittasini dissotsiyalanishi va metall kationlari bilan reaksiyaga kirishib, tuz (askorbinat)lar hosil qilishi tufayli kislota xossasiga ega.

C vitaminini sifat va miqdoriy aniqlash usullari oksidlanish-qaytarilish reaksiyasiga asoslangan. Askorbin kislotasi oksidlanganda degidroaskorbin kislotasiga o‘tadi, boshqa modda esa, masalan, 2,6-dixlorfenolindofenol qaytariladi. Organizmda askorbin kislota ba’zi oksidlanish jarayonlariga yordam beradi, masalan, buyrak usti bezida steroidli oksigormonlarni hosil bo‘lishida, folat kislotasini folin kislotasiga o‘tishida, dezoksiribonuklein kislotasining sintezida va boshqalar.

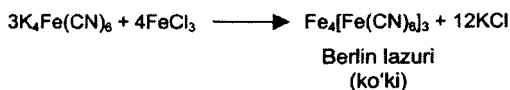
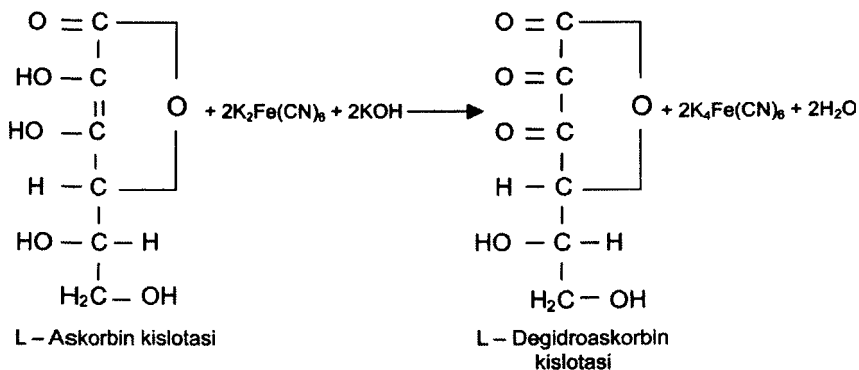
Inson oziqasida C vitamini yetishmasa singa kasalligi kelib chiqadi. Bu kasallikda qon tomirlari mo‘rtlashib, o‘tkazuvchanligi oshadi, qon quyilishi kuzatiladi, suyaklar va tishlar tarkibidagi kalsiyni chiqib ketishi natijasida ularning sinishi ortadi, organizmning infeksiyaga qarshilik ko‘rsatish imkoniyati keskin kamayadi.

O‘rtacha jismoniy mehnat qiladigan katta odamning C vitamininga bir sutkadagi ehtiyoji 50 mg. Ushbu miqdor yoshga, organizm holatiga qarab o‘zgarishi mumkin. C vitamini limon, qora smorodina, na’matak, qarag‘ay bargi, hayvon mahsulotlaridan jigarda nisbatan ko‘p.



### 5.6.1. C vitaminiga qizil qon tuzi ishtirokida sifat reaksiya

Reaksiya askorbin kislotasini ishqoriy muhitda degidroaskorbin kislotasiga o'tishi hisobiga qizil qon tuzi  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  (kaliy ferrosianid)ning  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  ga qaytarilishi va uning kislotali muhitda temir xloridi bilan berlin lazuri (ko'ki) hosil qilishiga asoslangan:



**Tekshiriluvchi material:** na'matak ekstrakti.

**Reaktivlar:**

1. 10% li natriy gidroksid.
2. 5% li qizil qon tuzi eritmasi.
3. 10% li xlorid kislotasi eritmasi.
4. 1% li temir xlorid eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

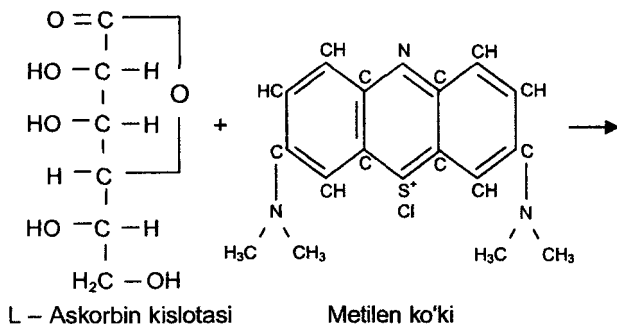
1. Probirkaga 10 tomchi na'matak ekstraktidan olinib, 2 tomchi 10% li natriy gidroksid, 2 tomchi 5% li qizil qon tuzidan qo'shib aralashtriladi.

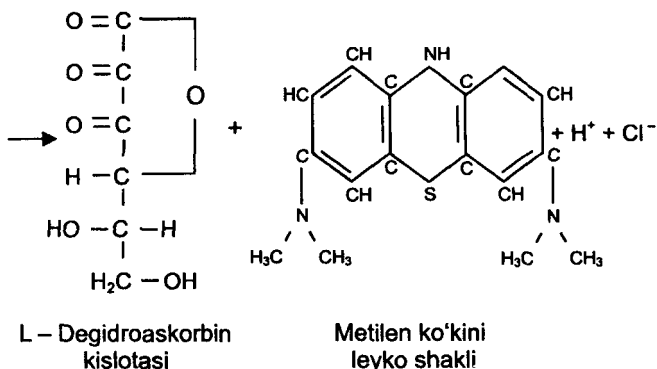
2. Aralashmaga 6 tomchi 10% li xlorid kislotasi eritmasidan tomizilganda berlin lazurining ko'k rangli cho'kmasi tushishi na'matak ekstraktida askorbin kislotasi borligini ko'rsatadi.

3. Taqqoslash uchun shu reaksiya na'matak ekstrakti o'rinda distillangan suv bilan o'tkazilsa, suyuqlikni qo'ng'ir rang berishi temir oksidining qizil qon tuzi hosil bo'lganligidan darak beradi.

### 5.6.2. C vitaminiga metilen ko'ki bilan sifat reaksiyasi

Reaksiya askorbin kislotasining oksidlanishi davomida metilen ko'kini rangsiz (leyko) shakliga qaytarilishiga asoslangan:





**Tekshiriluvchi material:** na'matak ekstrakti.

**Reaktivlar:**

1. 10% li natriy bikarbonat eritmasi.
2. 0,01% li metilen ko'ki.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 2 tomchi 0,01% li metilen ko'ki eritmasidan, 2 tomchi 10% li natriy bikarbonat eritmasidan, 10 tomchi na'matak ekstraktidan quyilib, qizdirilganda suyuqlik rangsizlanadi.

2. Nazorat uchun shu reaksiya, na'matak ekstrakti o'rniga distillangan suv olinib, qaytarilganda suyuqlik rangini yo'qolishi kuzatilmaydi.

### 5.6.3. C vitaminini oziq-ovqat mahsulotlari (na'matak, kartoshka, karam, sut)da 2,6-dixlorfenolindofenol bilan miqdoriy aniqlash

C vitamini miqdori oziq-ovqat mahsulotlarida har xil biologik va texnologik sabablar ta'sirida miqdoriy o'zgarishi mumkin – bular oziqa mahsulotining sifatiga, texnologik jarayonga, saqlanish muddatiga, yil fasliga va boshqalarga bog'liq.

Askorbin kislotasini oziq-ovqat mahsulotlarida aniqlash ovqat bilan organizmga tushayotgan C vitaminining miqdorini bilish uchun zarur hisoblanadi.

C vitaminini miqdoriy aniqlash askorbin kislotasini dehidroaskorbinga oksidlanishi va 2,6-dixlorfenolindofenolni rangsiz birikmaga qaytarilishi reaksiyasiga asoslangan.

1. C vitamini kislotali muhitda ko'proq turg'un bo'lgani uchun, uni oziqa mahsulotidan suyultirilgan kislota bilan ekstraksiya qilinadi.

2. Ekstrakt 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlanadi.

3. Ekstrakt dagi barcha askorbin kislotasi oksidlangandan so'ng indikator qaytarilmaydi va uning ortiqcha miqdori eritmaga pushti rang beradi (2,6-dixlorfenolindofenolning oksidlangan shakli kislotali muhitda pushti rangli bo'ladi).

4. Rangni o'zgarishiga qarab, C vitaminini oksidlanishiga sarf bo'lgan reaktiv miqdori bo'yicha tekshirilayotgan mahsulotdagi C vitamini miqdori aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** na'matak mevasi, kartoshka, karam, yangi sut.

#### **Reaktivlar:**

1. 2% li xlorid kislota eritmasi.
2. 5% li sirka kislota eritmasi.
3. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

#### **Jihozlar:**

1. Apteka tarozisi.
2. Hovoncha.
3. Maydalangan shisha kukuni.
4. 3, 5 va 10 ml li pipetkalar.
5. Qog'oz filtrli voronkalar.
6. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar.
7. 10 ml li byuretka.
8. Mikrobyuretka.



## Na'matakda C vitaminini aniqlash

### Ishni bajarilishi

1. Maydalangan shisha kukuni bilan hovonchada yaxshilab ezilgan na'matak mevasining 0,1 grammiga asta-sekinlik bilan 2% li xlorid kislotasi eritmasidan 9,9 ml qo'shiladi va olingan ekstrakt quruq kolbachaga filtrlanadi.

2. Filtratdan ikkita konussimon kolbachaga 3 ml dan olib, byuretkadagi 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan och pushti rang hosil bo'lguncha titrlanadi (rang taxminan 30 soniya saqlanadi), titrlash jarayoni 2 daqiqadan oshmasligi kerak.

3. Titrlash natijalari yozilib, o'rtacha arifmetik miqdori aniqlanadi va 100 g mahsulotga nisbatan hisoblab chiqariladi. Bunda 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 N li natriyli tuzi eritmasining 1 ml 0,088 mg askorbin kislotasiga to'g'ri kelishiga asoslanib (askorbin kislotasining molekular og'irligi 176 ga, gramm ekvivalenti esa 88 ga teng), hisoblash quyidagi formula bo'yicha bajariladi:

$$X = \frac{V \cdot 0,088 \cdot 10 \cdot 100}{3 \cdot V}$$

Bunda:  $X$  – C vitaminining 100 g mahsulotdagi mg miqdori;

$V$  – 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasining titrlashga ketgan ml hajmi;

0,088 – 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasini 1 ml ga teng keladigan askorbin kislotasining mg dagi miqdori;

10 – na'matak ekstraktining ml dagi umumiy miqdori;

100 – 100 g mahsulot uchun olingan hisob koeffitsiyenti;

3 – titrlash uchun olingan ekstraktning ml dagi miqdori;

$V$  – olingan na'matakning g dagi miqdori.

100 g quritilgan na'matakda askorbin kislotasining o'rtacha

miqdori qizil rangli mevasida – 1500 mg%, to‘q qizil mevasida 100 mg% bo‘ladi.

### **Kartoshka tarkibidagi C vitaminining miqdorini aniqlash**

1. 5 g kartoshkani farforli hovonchada xlorid kislotasining 2% li eritmasini 16 ml da maydalab, 100 ml konussimon kolbaga quyiladi, hovonchani distillangan suv bilan bir necha marta chayqab, kolbadagiga qo‘shiladi.

2. Aralashma 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan och pushti rang hosil bo‘lguncha titrlanadi, rang 30 soniya davomida oshmasligi kerak.

3. 100 g kartoshkadagi C vitamini miqdori quyidagi formula bo‘yicha aniqlanadi:

$$X = \frac{V \cdot 0,088 \cdot 10 \cdot 100}{5}$$

Bunda: 5 – kartoshkani g dagi miqdori; qolgan ifodalar esa yuqoridagi ishda ko‘rsatilganidek hisoblanadi.

### **Karam tarkibidagi C vitaminining miqdorini aniqlash**

1. 2 g yangi karamni 5% li sirka kislotasi eritmasining 10 ml da hovonchada shisha kukuni bilan maydalab, ekstrakti quruq kolbaga filtrlanadi.

2. Ekstraktdan ikkita 25 ml li konussimon kolbaga 3 ml dan olib, mikrobyuretkadagi 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan 30 soniya davomida yo‘qolmaydigan pushti ranggacha titrlanadi.

3. 100 g karamdagi C vitaminining miqdori quyidagi formula bo‘yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{V \cdot 0,088 \cdot 10 \cdot 100}{2 \cdot 3}$$

Bunda: 10 – ekstraktning ml dagi hajmi;

2 – olingan karamning grammdagi miqdori;

3 – titrlash uchun olingan ekstraktning ml dagi miqdori.

Qolgan ko'rsatkichlar yuqorida keltirilgan tajribalarda ko'rsatilgan.

C vitaminining oq karam navidagi o'rtacha miqdori 30 mg%.

### Sut tarkibida C vitaminining miqdorini aniqlash

1. 5 ml sigir suti distillangan suv bilan 1:2 nisbatda suyultirilib, uni 5 ml ni 2% li xlorid kislotasini 1 ml distillangan suv bilan 15 ml hajmga yetguncha suyultirilgan kolbadagi eritmasiga qo'shiladi.

2. Kolbadagi aralashma asta chayqatilib, 2,6-dixlorfenolindofenolning 0,001 n natriyli tuzi eritmasi bilan 0,5–1 daqiqa davomida yo'qolmaydigan pushti ranggacha titrlanadi.

3. Tajribani takrorlash uchun suyultirilgan sutning qolgan qismidan foydalaniladi.

4. Sut tarkibidagi C vitaminining miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{V \cdot 0,088 \cdot 10 \cdot 100}{5}$$

Bunda:  $X$  – askorbin kislotasining 100 ml sutdagi mg miqdori;  
 $S$  – suyultirish darajasi (masalan, sutni 1 : 2 nisbatda suyultirilganda suyultirish darajasi 3 ga teng; 1:5 nisbatda suyultirilganda esa suyultirish darajasi 6 va hokazo);

5 – titrlashga olingan suyultirilgan sutning ml dagi miqdori.

Qolgan ifodalar yuqoridagi tajribalarda ko'rsatilgan. C vitaminining sigir sutidagi o'rtacha miqdori – 1 mg%, ayollar sutida 3 mg%, ot (biya) sutida – 25 mg%.

Tajriba natijalarini 11-jadval shaklida keltiring.

11-jadval

**Na'matak, kartoshka, karam va sut tarkibidagi askorbin kislota miqdori**

Tekshiriluvchi material	Miqdori g yoki ml	Ekstraktning umumiy miqdori, ml	Titrlashga olingan miqdori, ml	2,6-dixlorfenolido-fenolning titrlashga ketgan miqdori, ml	C vitaminining 100 g mahsulotdagi miqdori, mg

Xulosada tekshirilayotgan mahsulotlardagi askorbin kislota-sining o'rtacha miqdori taqqoslanib, ularning qaysi biri tarkibida C vitamini miqdorining ko'pligi aniqlanadi.

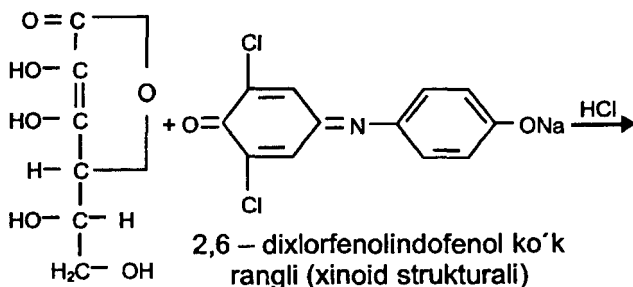
**5.6.4. C vitaminining miqdorini siydikda Tilmans reaktivi bilan aniqlash**

Ushbu usul C vitaminini oziqa mahsulotlarida aniqlash reak-siyalariga o'xshash. C vitaminining sutkalik siydikdagi miqdori uning ovqat tarkibidagi miqdoriga, organizmni unga bo'lgan ehti-yojiga, odamning yoshiga, ichak shilliq qavatida so'rilishiga bog'liq. Sog'lom odam o'rtacha 20–40 mg C vitaminini ajratadi.

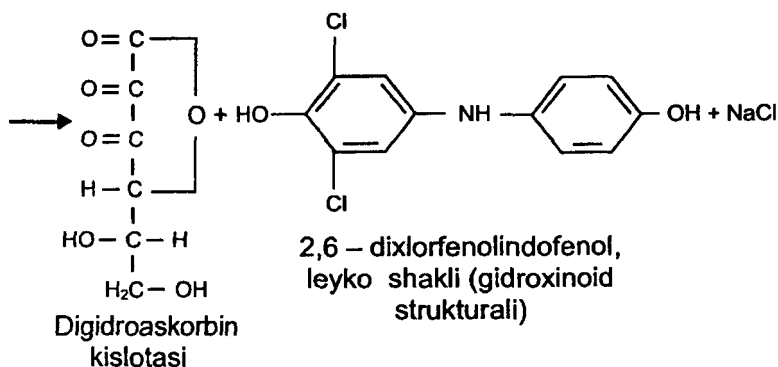
Siydik orqali bir sutkada chiqarilgan C vitamini miqdoriga qarab, organizmni C vitamini bilan ta'minlanganligi to'g'risida fikr yuritish mumkin. Lekin amalda C gipovitaminozini aniqlash-da organizmni askorbin kislotasi bilan boyitish usuli ko'proq ishlatiladi.

Bunda askorbin kislotasi miqdorini sutkalik siydikda ikki marta – birinchi marta tekshiriluvchi shaxsga og‘iz orqali 100 mg vitamin C berishdan oldin, ikkinchisida esa berilgandan keyin (organizm C vitamini bilan boyitilgandan so‘ng) aniqlanadi.

Agar organizmda C vitamini yetarli bo‘lsa, uning siydikdagi miqdori “boyitilgandan” so‘ng ortadi, aksincha, C gipovitaminozida – to‘qimalarda C vitamin tanqisligi sezilayotgan sharoitda qabul qilingan askorbin kislotaga organizmda ushlanib qolinadi va uning miqdori siydikda deyarli oshmaydi:



Askorbin kislotasi



Digidroaskorbin kislotasi

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan sirka kislotasi.

2. 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi (tayyorlanishi 12-ilovada).

#### **Jihozlar:**

1. 1, 5 va 10 ml li pipetkalar.
2. 25 va 100 ml li konussimon kolbalar.
3. Byuretka, mikrobyuretkalar.

### **5.6.5. C vitaminini siydikning 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlab aniqlash**

#### **Ishni bajarilishi**

1. Konussimon kolbachaga 10 ml siydik quyib, 10 ml distillangan suv, 1 ml konsentrlangan sirka kislotasi qo‘shiladi.

2. Aralashma mikrobyuretkadagi 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasi bilan barqaror pushti rang hosil bo‘lguncha titrlanadi.

3. Bir sutkada yig‘ilgan siydikdagi C vitaminining miqdori quyidagi formula bo‘yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{V_1 \cdot 0,088}{V_2}$$

Bunda:  $X$  – sutka davomida ajralgan askorbin kislotasining mg dagi miqdori;

$V$  – siydikni titrlash uchun ketgan indikatorning ml dagi miqdori; 0,088 – askorbin kislotasining mg dagi miqdori, 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzini 0,001 n li eritmasining 1 ml dagi miqdoriga barobar bo‘lgan koeffitsiyenti;

$V_1$  – sutka davomida yig‘ilgan siydikning ml dagi umumiy hajmi;

$V_2$  – titrlash uchun olingan siydikning ml dagi miqdori.

Siydikning sutkalik miqdori ayollar uchun 1200 ml ni, erkaklar uchun 1500 ml ni tashkil etadi.

### 5.6.6. C vitaminining miqdorini 2,6-dixlorfenolindofenolni siydik bilan titrlab aniqlash

Konussimon kolbachaga 5 ml distillangan suv va 1 ml 0,001 n 2,6-dixlorfenolindofenolning natriyli tuzi eritmasidan o'lachab solinadi.

Aralashma byuretkadagi sirka kislota bilan nordonlashtirilgan siydik bilan pushti rang yo'qolguncha titrlanadi (2,6-dixlorfenolindofenol ishqoriy muhitda ko'k rangga, kislotalilikda – pushti rangga ega bo'lib, qaytarilganda rangsizlanadi). Titrlashga bir daqiqadan ortiq vaqt ketmasligi kerak.

C vitaminining sutkalik siydikdagi miqdori quyidagi formula bo'yicha topiladi:

$$X = \frac{V_1 \cdot 0,088}{a}$$

Bunda  $a$  – 1 ml indikatorni titrlash uchun ketgan indikatorning ml dagi miqdori. Qolgan ko'rsatkichlar ifodasi avvalgi tajribalarda keltirilgan. Ish natijalari 12-, 13-jadvallar ko'rinishida rasmiylashtiriladi.

*12-jadval*

#### C vitaminining miqdorini siydikni 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasi bilan titrlab aniqlash

Tekshiriluvchi material	Sutka davomida yig'ilgan siydikning umumiy hajmi, ml	Titrlash uchun olingan siydik miqdori, ml	Siydikni titrlash uchun ketgan 0,001 n 2,6-dixlorfenolindofenolning miqdori, ml	Sutkalik siydikdagi C vitaminining miqdori, mg

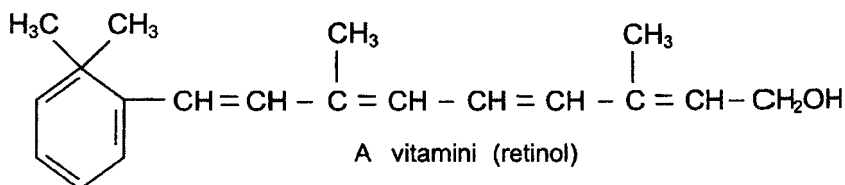
**C vitaminining miqdorini 2,6-dixlorfenolindofenol eritmasini siydik bilan titrlab aniqlash**

Tekshiriluvchi material	Sutka davomida yig'ilgan siydikning umumiy hajmi, ml	1 ml 0,001 n 2,6-dixlorfenolindofenolni titlash uchun ketgan siydik miqdori, ml	Sutkalik siydikdagi C vitaminining miqdori, mg

Xulosada C vitaminining sutka davomida yig'ilgan siydikdagi miqdorini aniqlashdan olingan natijalarni askorbin kislotasining normadagi ko'rsatkichi bilan taqqoslanadi. Sutkalik siydikdagi askorbin kislotasining miqdori nimaga bog'liqligini ko'rsating.

### 5.7. A vitamini (retinol, antikseroftalmik vitamin)

Kimyoviy tabiati bo'yicha A vitamini o'simliklar sariq pigmenti karotinlar unumi bo'lib, to'yinmagan uglevodorodlarga kiradi. A vitamini  $\beta$ -ionon halqasi va yon zanjirli qurilmadan tuzilgan, tarkibida ikkita izopren halqasi va birlamchi spirt guruhi borligi uchun retinol nomini olgan:





Vitamin kimyoviy toza holda och sariq rangli kristall modda, suvda erimaydi, yog‘da va yog‘ erituvchi organik moddalarda yaxshi eriydi. Molekulasidagi ikkilamchi bog‘lari tufayli A vitamini yorug‘lik ta‘siriga chidamsiz, havo kislorodi bilan oson oksidlanadi, ayniqsa qizdirilganda o‘z faolligini yo‘qotadi.

Oziqa mahsulotlari tarkibidagi qo‘shimcha moddalar, avvalo E vitamini uni parchalanishdan himoya qiladi. Odam organizmida A vitamini o‘simlik pigmenti karotindan karotinaza fermenti ta‘sirida jigarda va ichak devorida hosil bo‘ladi.

Bu vitamin ko‘rish jarayonida muhim vazifani bajaradi. Ko‘zning to‘r pardasi tayoqchalarida yorug‘lik ta‘sirini qabul qiluvchi rodopsin deb ataluvchi xromoproteid bo‘lib, uning tarkibi oqsil – opsin va A vitamini aldegidi – retinal birikmasidan tashkil topgan.

A vitamini tanqisligida rodopsin sintezi kamayadi va ko‘zning to‘r pardasini yorug‘likni qabul qilish, ko‘rish imkoniyati cheklanganib, qorong‘i tusha boshlaganda ko‘rmaydi. Bu holat tibbiyotda generalopiya (shapko‘rlik) deb ataladi. A vitamini avitaminozida ko‘zning shox qavatini zararlanishi (kseroftalmiya), teri va shilliq pardalarning o‘zgarishi kuzatiladi.

A vitamini sariyog‘, tuxum sarig‘i, jigarda, dengiz balig‘i jigarida (yoki baliq moyida) nisbatan ko‘proq. Karotinlar – A vitamini provitaminlari – kelib chiqishi bo‘yicha o‘simlik mahsuloti hisoblanadi.

Katta odamning A vitaminiga bo‘lgan sutkalik ehtiyoji 1–2,5 mg A vitaminiga yoki 2–5 mg  $\beta$ -karotinga to‘g‘ri keladi. A vitamini yoki karotin miqdorini oziqa mahsulotlarida aniqlash bilan ularning vitaminlik ahamiyatiga qiyosiy baho berish mumkin.

Qon tarkibidagi A vitamini yoki karotinni aniqlash asosida organizmni A vitamin bilan ta‘minlanganlik darajasi to‘g‘risida fikr yuritiladi.

A vitamini va karotinlarning uchxlorsurma bilan reaksiyasi suvsiz muhitda rangli mahsulotlar beradi. Shu sababli ushbu

reaksiyadan A vitamini va karotinni sifat va miqdoriy aniqlashda foydalaniladi. Rangning jadalligi ularning tekshiriluvchi mahsulotdagi miqdoriga to'g'ri proporsional.

### **5.7.1. A vitaminini baliq moyida konsentrlangan sulfat kislotasi bilan aniqlash**

Baliq moyining xloroformli eritmasini konsentrlangan sulfat kislotasi bilan aralashishi qizil-qo'ng'ir rang hosil bo'lishiga olib keladi.

**Tekshiriluvchi material:** yangi baliq moyi.

**Reaktivlar:**

1. Xloroform.
2. Konsentrlangan sulfat kislotasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

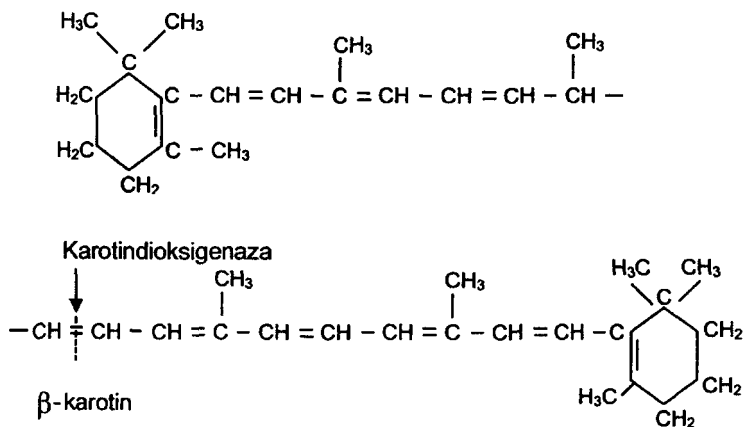
**Ishni bajarilishi**

1. Quruq probirkada 1–2 tomchi baliq moyi 10 tomchi xloroformda eritiladi.

2. Unga har tomchidan so'ng silkitib, aralashtirilgan holatda 1–2 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomizilganda ko'k yoki binafsha rang paydo bo'lib, u tezlikda qo'ng'ir-qizil rangga o'tadi.

### **5.7.2. Na'matak tarkibidagi karotin va undagi to'yinmagan bog'larni aniqlash**

Reaksiya karotinni uchxlorsurma yoki konsentrlangan sulfat kislotalari bilan rangli birikma hosil qilishiga asoslangan. Rangning jadalligi na'matakdagi karotin miqdoriga barobar. Karotin molekulasidagi to'yinmagan bog'larni bromli suvni rangsizlanishi bilan ochish mumkin. Bunda karotinning ikkilamchi bog'lari bromni biriktirishi natijasida uziladi:



**Tekshiriluvchi material:** quritilgan na'matak.

**Reaktivlar:**

1. Xloroform.
2. Uchxlorsurmaning xloroformdagi to'yingan eritmasi.
3. Konsentrlangan sulfat kislotasi.
4. Bromli suv (tayyorlanishi 13-ilovada).

**Jihozlar:**

1. Farforli hovoncha.
2. Voronkalar.
3. Qog'oz filtr.
4. Probirkali shtativ.
5. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Bir-ikkita na'matak mevasi hovonchada maydalanadi, so'ng-  
ra 2–3 ml xloroform qo'shib, maydalash yana bir daqiqa davom  
ettiriladi, filtrlanadi va to'q sariq rangli filtrat olinadi.

2. Tarkibida karotin bo'lgan shu filtratdan bir necha tomchisi  
probirkaga olinib, ustiga uchxlorsurmaning xloroformli eritmasidan  
taxminan 20 tomchisi tomizilganda ko'k rang paydo bo'ladi, rang  
vaqt o'tishi bilan o'zgarmaydi.

3. Probirkaga bir necha tomchi xloroformli ekstraktidan olib, bir tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shilsa, ko'k rang hosil bo'ladi va vaqt o'tishi bilan rang quyuvlashadi.

4. Bir necha tomchi xloroformli ekstraktga 1–2 tomchi bromli suvdan qo'shib, aralastirilganda bromli suv rangsizlanadi. Reaksiya davomida karotin ham o'z rangini yo'qotadi. Bromli suvdan ortiqcha quyumaslik kerak, chunki u xloroformli qavatda ham rangli o'zgarishga sababchi bo'lishi mumkin.

### **5.8. D vitamini (kalsiferol, antiraxit vitamini)**

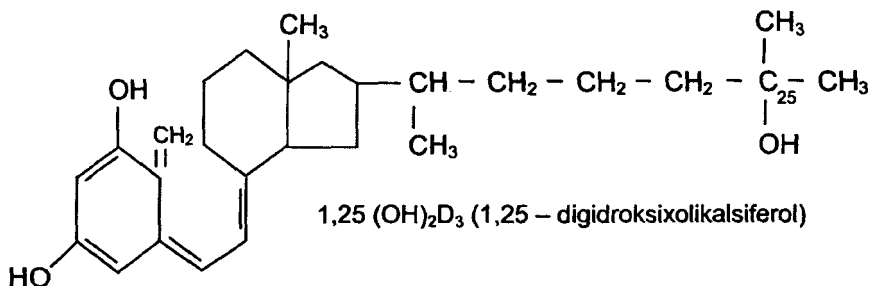
Molekulasi siklopentanpergidrofenantren qurilishidagi bir nechta to'yinmagan sterinlar D avitaminozida vitaminlik faolligiga ega. Bularga ultrabinafsha nurlar ta'sirida ergosterol provitaminidan sun'iy yo'l bilan olinadigan ergokalsiferol ( $D_2$  vitamini) va hayvon, odam terisida, baliq moyida 7-degidroxolesterindan tabiiy hosil bo'ladigan xolekalsiferol ( $D_3$  vitamini) kiradi.

Ikkala vitamin toza ko'rinishda rangsiz kristallardan iborat bo'lib, suvda erimaydi, yog'lar va organik erituvchilar (spirt, efir va boshqalar)da yaxshi eriydi. D vitaminlari ishqorlar ta'siriga nisbatan chidamli, ammo anorganik kislotalar, havo kislorodini uzoq vaqt davomida ta'sir etishida, vitamin eritmalarini yuqori haroratda ( $200^{\circ}\text{C}$ ) qizdirganda parchalanib, biologik faolligini yo'qotadi.

Organizmدا  $D_3$  vitamini faol 1,25-digidroksixolekalsiferolga aylanib, kalsiy bog'lovchi oqsil sintezini stimullash yo'li bilan ichakdan kalsiyli, balki fosfatlarni ham so'rilishini oshiradi va fosforli-kalsiy almashinuvini boshqaradi.

D vitamini yetishmovchiligi asosan suyak to'qimasiga tegishli bo'lib, bolalarda raxit kasalligini keltirib chiqaradi. Bunda anorganik fosfor va kalsiy qondagi miqdori kamayib ketadi, suyaklarda kalsiy-fosfat tuzlarini to'planishi buzilishi natijasida

suyak to'qimasining tarkibiy qismlari so'rila boshlaydi, suyakni deminerallashuvi uning yumshashiga va egilishiga olib keladi:



Yosh bolalarning D vitaminiga sutkalik ehtiyoji 15–25 mkg, bu miqdor 500–1000 ME (1 ME = 0,025 mkg) D<sub>2</sub> yoki D<sub>3</sub> vitamini-ga to'g'ri keladi. D vitamini dengiz baliqlari moyida, sariyog'da, tuxum sarig'ida ko'p.

### 5.8.1. D vitaminini baliq moyida anilin reaktivi bilan aniqlash

D vitamini saqlagan baliq moyiga anilin va konsentrlangan xlorid kislotaga qo'shib qizdirilganda aralashmada qizil rang hosil bo'ladi.

**Tekshiriluvchi material:** baliq moyi.

**Reaktivlar:**

Anilin reaktivi (15 qismi anilin va 1 qismi konsentrlangan xlorid kislotaga).

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkadagi 10 tomchi anilinning konsentrlangan xlorid kislotadagi eritmasiga 5 tomchi baliq moyidan tomiziladi.

2. Aralashmani 30 soniya davomida ehtiyotkorlik bilan qizdirilib, qaynatilganda D vitaminining sariq rangli emulsiyasi avval ko'kish, so'ngra qo'ng'ir-qizil yoki qizil rang beradi.

### **5.9. E vitamini (tokoferol, ko'payish vitamini)**

$\alpha$ -tokoferol sirka kislotasi efiri ko'rinishidagi kristall modda shaklida tabiiy o'simlik yog'laridan (bug'doy kurtagidan) ajratib olingan, yog'larda va organik erituvchilarda yaxshi eriydi; kislota va ishqorlar ta'siriga chidamli, odatdagi ovqat tayyorlash sharoitida ( $170^{\circ}$  C gacha) buzilmaydi, suvda erimaydi, ammo kuchli oksidlovchilar ta'sirida biologik inert-xinon tipidagi moddaga aylanadi.

E vitamini ko'payish uchun zarur, uning hayvonlar oziqasida yetishmasligida bepushtlik kuzatiladi. Odam organizmida uning yetishmovchiligi yetarli o'rganilmagan, chunki oziqa moddalarida keng tarqalganligi sababli inson oddiy hayotda E vitamini bilan yetarli miqdorda ta'minlangan sanaladi.

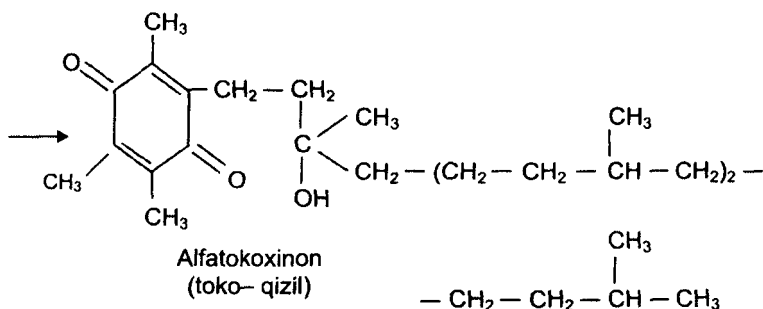
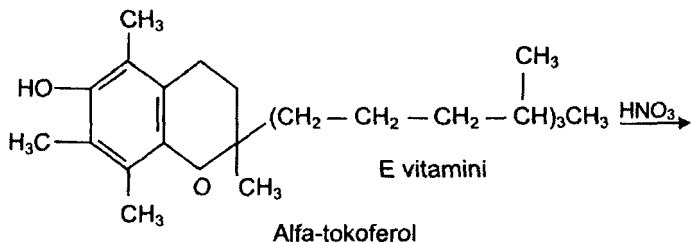
Ammo E vitamini tibbiyot amaliyotida bepushtlikda, asab-mushak tizimi kasalliklarini davolashda ishlatiladi. Katta kishilar uchun E vitaminiga bo'lgan sutkalik ehtiyoj 30 mg hisoblanadi.

Vitamin miqdor jihatdan bug'doy kurtagi, olma urug'i, na'matak, jo'xori, loviya, soya tarkibida, hayvon mahsulotlaridan go'sht, yog', jigar, tuxum sarig'i, sutda ko'p. E vitamini organizmda o'zlashtirilishi uchun ichakda o't suyuqligi bo'lishi kerak.

E vitamini oksidlanishga qarshi samarali ta'sir ko'rsatib, mitoxondriyalar tarkibidagi to'yinmagan lipidlarni parchalanishdan himoya qiladi, oziqa moddalaridagi karotin va A vitaminini oksidlanishdan asraydi.

### 5.9.1. E vitaminiga konsentrlangan nitrat kisloata bilan sifat reaksiyasi

Konsentrlangan nitrat kisloata ta'sirida E vitaminning spirtli eritmasidagi  $\alpha$ -tokoferolni oksidlanishidan hosil bo'lgan xinoidli unumi qizil rang beradi:



**Tekshiriluvchi material:** tokoferolning 0,1% spirtli eritmasi.

**Reaktivlar:** konsentrlangan nitrat kisloata.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

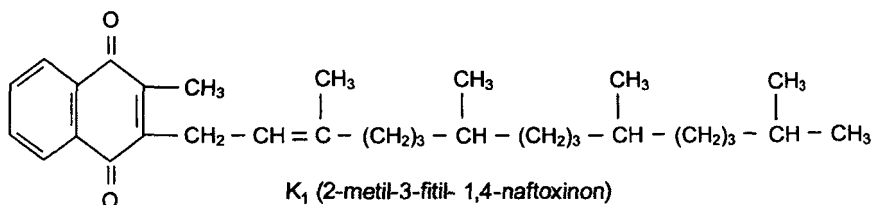
1. Probirkaga 5 tomchi E vitaminining 0,1% spirtli eritmasidan olib, 10 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi qo'shiladi.

2. Hosil bo'lgan emulsiya chayqatilganda asta-sekin qizil rangga bo'yaladi.

3. Vaqt o'tishi bilan emulsiya ikki qatlamga ajralib, rang yuqoridagi yog' qismida qoladi.

### 5.10. K vitamini (filloxinon, antigemorragik vitamin)

K vitamini (filloxinon) suvda erimaydigan sariq rangli yog' bo'lib, yorug'lik va ishqorlar ta'sirida oson parchalanadi, neytral muhitda qizdirishga chidamli. K<sub>2</sub> vitamini (farnoxinon) – sariq kristalli kukun, suvda erimaydi, qizdirishga va ultrabinafsha nur ta'siriga chidamsiz. Uning biologik faolligi K<sub>1</sub> vitaminiga nisbatan kamroq. Ikkala vitamin sintezlangan bo'lib, 2-metil-1,4-naftoxinonning unumi hisoblanadi:



K vitamini jigar to'qimasida qon ivishida ishtirok etuvchi bir qator omillarning (II, VII, IX, X) sintezlanishi uchun nihoyatda zarur modda hisoblanadi. Ushbu omillarning oqsilli strukturasiidagi glutamin kislotalariga yana bitta karboksil guruhi kiritilsa, γ-karboksilglutamin kislotasi qoldig'i hosil bo'lib, u orqali kalsiy ionlari bog'lanadi.

Shuning uchun organizmga K vitamini antagonistlari masalan, dikumarol va uning unumlari yuborilganda, qonning ivish vaqti ortadi. K vitamini avitaminozida teri osti va mushak ichida qon quyilishi kuzatilib, qonda protrombin miqdori kamayadi. Ichak mikroflorasi K vitaminni tabiiy manbasi bo'lganligi tufayli ayrim ichak kasalliklarida, o't suyuqligi ichakka tushmaganida



K vitaminining so‘rilishi pasayib, odam organizmida K gipo-vitaminozi belgilari kuzatilishi mumkin.

K vitamin miqdori karamda, ismaloqda, gazanda o‘tda, ryabina mevasida, cho‘chqa jigarida nisbatan ko‘p bo‘ladi.

### **5.10.1. K vitamining sifati va reaksiyalari**

**Tekshiriluvchi material:** K vitaminining etanoldagi to‘yingan eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Dietilditiokarbomat natriyning etanoldagi 2% li eritmasi.
2. Natriy gidroksidning etanoldagi 4% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

**A**

1. Probirkaga 4 tomchi K vitaminining spirtli eritmasidan olib, 8 tomchi dietilditiokarbomat natriy eritmasidan va 4 tomchi natriy gidroksidning spirtli eritmasidan qo‘shiladi.

2. Probirka chayqatilganda sekin-asta qizil rang paydo bo‘ladi.

**B**

Ishqoriy muhitdagi vikaol eritmasiga sistein qo‘shilganda to‘q sariq rang paydo bo‘ladi.

**Ishni bajarilishi**

Probirkaga 5 tomchidan 0,05% vikaol va 0,025% sistein eritmalaridan olib, 1 tomchi 10% li natriy gidroksid qo‘shilganda aralashma to‘q sariq rangga kiradi.

Vitaminlarga sifat reaksiyalari natijalarini 14-jadval shaklida ko‘rsating:

### Vitaminlarga xos sifat reaksiyalar

№ Probi-r-kalar	Vitaminli material	Vitamin nomi	Ishlatiladigan reaktivlar	Suyuqlik rangi, cho'kma, flyuoressensiya, maxsus hid hosil bo'lishi, suyuqlikning rangsizlanishi	Reaksiya nimaga asoslangan

Xulosada tekshirilayotgan vitaminning struktura formulasini yozing va vitaminning kimyoviy strukturasi bilan sifat reaksiyasi o'rtasidagi kimyoviy o'zgarishning bog'liqligini ko'rsating.

### Nazorat savollari

1. Vitaminlar nima va nima uchun ular shunday nomlangan?
2. Vitaminlar qanday tasniflanadi?
3. Avitaminozlar va gipovitaminozlar nima, ularning kelib chiqish sababi nimada?
4. Oziqa tarkibidagi vitaminlar  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_6$ , PP va C yetishmasligidagi avitaminozlarning qanday maxsus belgilari bor?
5. Ovqat tarkibidagi A, D va K vitaminlari yetishmaganda qanday kasalliklar kelib chiqadi?
6. Vitaminlarga xos qanday sifat reaksiyalarini bilasiz?
7. Vitaminlar bilan fermentlar o'rtasida qanday bog'liqlik bor?
8. Vitaminlar aralashmasini qaysi usul yordamida ajratish mumkin? Mazkur usul nimaga asoslangan?

## 6-bo'lim

### Gormonlar

Gormonlar turli kimyoviy tabiatga ega bo'lgan bioorganik birikmalar bo'lib, ko'p hujayrali organizmlarda fiziologik jarayonlarni boshqaradi. Gormonlarning to'qima gumoral bioregulyatorlaridan farqi ixtisoslashgan bez hujayralarida hosil bo'lishi bilan boshqaruv funksiyalarini gumoral yo'l orqali namoyon qiladi.

Gormonlar bevotsita nerv tizimi ishtirokida periferik organ va to'qima hujayralarining metabolizmi, fiziologiyasi va morfologiyasiga turli yo'nalishlarda ta'sir ko'rsatadi. Ular hujayralarda oqsil va DNK ning sintezlanish darajasini; mitotik faolligini, to'qimalar differensiallanishini, metabolik moslashish va gomeostaz barqarorligini, xulq-atvorni belgilaydi.

Hozirgi vaqtda ma'lum bo'lgan barcha gormonlarning kimyoviy qurilishi aniqlangan, xossalari o'rganilgan, bular o'z navbatida gormonlar biosintezi va metabolizmini tushunishga, biologik materiallarda aniqlash usullarini ishlab chiqishga yordam berdi.

Ba'zi gormonlar o'zlarining kimyoviy tabiatiga ko'ra oqsil-peptidlarga taalluqli (gipofizning old va orqa qismi gormonlari, insulin), aminokislotalar unumlaridan bo'lgan tiroksin, adrenalin va noradrenalin asosan tirozin metabolitidan iborat.

Buyrak usti bezi po'stloq qismi va jinsiy bez gormonlari yog'da eruvchi steroid xususiyatga ega. Gormonlarni organizm suyuqliklariga chiqishi teskari bog'lanish qoidasi asosida boshqariladi.

Ichki sekretiya bezlari funksiyasi patologiyasi ko'pincha gormon miqdorining yetishmasligi (gipofunksiya) yoki gormon

organizm talabidan ortiqcha (giperfunksiya) ajratilishi oqibatida kelib chiqadi.

Ikkala vaziyatda ham organizm modda almashinuvi boshqarilishida yoki uning alohida olingan qismida jiddiy o'zgarishlar kuzatiladi. Bu vaqtda har xil faollikda ishlayotgan bezlar o'zlari ajratayotgan gormonlari bilan biri ikkinchisining funksiyasiga salbiy ta'sir ko'rsatishi mumkin.

Normal sharoitda va patologik holatlarda endokrin bezlar funksiyasi oliy nerv tizimi nazorati ostida bo'ladi, aksincha, ayni vaqtda gormonlar ham oliy nerv faoliyatiga o'z ta'sirlarini ko'rsatadi. Masalan, qalqonsimon bezning tireotoksikoz kasalligida (giperfunksiya) gormon miqdorining ortiqcha ajralishi bir vaqtning o'zida oliy nerv tizimi faoliyatida qo'zg'alish jarayonlarini kuchaytiradi.

Hozirda aniqlanishicha, har bir gormon o'z ta'sirini hujayra membranasida yoki sitoplazmada joylashgan axborotni qabul qiluvchi maxsus molekula-retseptor orqali ko'rsatadi. Gormonlarni hujayra metabolizmiga ta'sir etish mexanizmida uch yo'nalish farqlanadi:

1. Gormonlarning modda almashinuvini o'zgartira oladigan asosiy hujayra ichki maxsus fermentlar tizimiga ta'siri.

2. Gormonlarning hujayra membranalari o'tkazuvchanligiga ta'siri.

3. Gormonlarning fermentlar yoki strukturali oqsillar biosintezini ta'minlovchi genetik apparatga ta'siri.

## **6.1. Oqsil-peptid gormonlari**

Oqsil-peptid qurilishidagi gormonlar qatoriga gipotalamus, gipofiz, qalqonsimon bez oldi bezi, oshqozon osti bezi gormonlari kiradi. Ichki va tashqi qo'zg'atuvchi omillar ta'sirida vujudga kelgan impulslar oliy nerv tizimiga, undan birlamchi gormonal faol moddalar sintezlanadigan gipotalamusga tushib, "ma'lum

masofada” ta’sir qiluvchi rilizing-omillarni sintezlaydi. Rilizing-omillar qon orqali gipofiz beziga yetib, gipofizda periferik bezlar gormonlarining sintezini stimullashda yoki ingibirlashda ishtirok etuvchi tropinlar biosintezini, bular esa o’z navbatida periferik endokrin bezlarida kerak bo’lgan gormonlarning ishlanishini ta’minlaydi.

### 6.1.1. Me’da osti bezi gormoni – insulin

*Insulin* oqsil, o’zaro ikkita disulfid ko’prikchalari bilan bog‘langan ikki zanjirli (A va B) polipeptid. Disulfid ko’prikchalarining buzilishi insulinning gormonal faolligini yo‘qolishiga olib keladi. Kalta A zanjiri 21 ta aminokislota qoldig‘idan, B zanjiri 30 ta aminokislota qoldig‘idan iborat.

Alohida olingan har bir zanjiri biologik faollikka ega emas. Insulin me’da osti bezi Langergans orolchalarining  $\beta$ -hujayralarida faol bo‘lmagan 84 ta aminokislotali proinsulindan hosil bo‘ladi.

Proinsulin qonga o‘tish oldidan karboksipeptidaza fermenti ishtirokida 33 ta aminokislotali C peptidga va 51 ta aminokislota qoldig‘idan tuzilgan faol insulinga parchalanadi. Insulinning odam va 20 dan ortiq hayvon organizmlarida birlamchi strukturasi o‘xshashligi aniqlangan.

Turlararo farq A zanjirning 8–10-aminokislotalarida, B zanjirning 30-aminokislotalarida topilgan. Hozirgi vaqtda odam insulinining to‘la kimyoviy va molekular biologik (gen injenerlik) sintezi amalga oshirilgan.

Insulinning organizmdagi asosiy funksiyalari quyidagicha:

1) insulin yog‘va mushak hujayralari membranasida glukozaga nisbatan o‘tkazuvchanlikni oshiradi, glukoza  $\text{CO}_2$  va  $\text{H}_2\text{O}$  gacha oksidlanib, energiya hosil qiladi yoki glikogen va yog‘lar sintezida foydalaniladi;

2) jigarda geksokinaza (glukokinaza) fermenti sintezini faollashtirib, glukozaning fosforlanishini katalizlaydi;

3) glikogen va yog'larning glukozadan sintezlanishini kuchaytiradi;

4) yog'larni oksidlanishini susaytiradi;

5) glukoneogenez jarayonining asosiy fermentlarini ingibirlab, oqsillarning glukozaga aylanishini to'xtatadi. Insulinning sanab o'tilgan ushbu ta'sirlari qon tarkibida qand miqdorini kamayishi – gipoglikemiyaga olib keladi.

Aksincha, insulin tanqisligida qandli diabet kasalligi kuzatilib, qonda glukoza miqdorini oshishi (giperglikemiya) oqibatida glukozani siydik bilan ajralishiga (glukozuriya) va yog' kislotalarining oksidlanishini kuchayishi hisobiga atseton tanachalarining siydikda paydo bo'lishiga sabab bo'ladi.

Uglevodlar va yog'lar almashinuvini normallashtirish uchun qandli diabet bemorlariga parenteral yo'l bilan hayvon insulini (cho'chqa yoki mollar me'da osti bezidan olingan) yoki hozirgi vaqtda gen injenerlik usuli bilan tayyorlanayotgan odam insulini yuboriladi.

Insulin ichakda proteolitik fermentlar ta'sirida oson parchalanganligi sababli uni og'iz orqali ichishni iloji yo'q. Insulinning kimyoviy tabiatini aniqlashda oqsillar uchun qo'llaniladigan rangli va cho'kmaga tushirish reaksiyalaridan foydalaniladi. Insulin tarkibidagi oltingugurt Fol reaksiyasi bilan ochiladi.

### **6.1.1.1. Me'da osti bezi gormoni – insulinga xos reaksiyalar**

*Insulin* oqsil tabiatli gormon bo'lganligi sababli oqsillarga xos barcha sifat reaksiyalari bilan ochish mumkin.

**Tekshiriluvchi material:** ampuladagi insulin eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Natriy gidroksidning 10% va 30% li eritmasi.
2. Mis sulfatning 1% li eritmasi.
3. 0,1% li fenol eritmasi.

4. 0,05% li tirozin eritmasi.
5. Millon reaktivi (tayyorlanishi 2-ilovada).
6. 1% li jelatina eritmasi.
7. 7% li qo'rg'oshin atsetat eritmasi.
8. Foł reaktivi (tayyorlanishi 3-ilovada).
9. Konsentrlangan nitrat kislota.
10. Konsentrlangan sulfat kislota.
11. Konsentrlangan xlorid kislota.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Pipetkalar.
3. Tomizgichlar.

### **1. Biuret reaksiyasi (2.1.1 ga qarang)**

Biuret reaksiyasini hamma oqsillar, ularning to'liq bo'lmagan gidroliz unumlari – peptonlar, polipeptidlar va tarkibida kamida ikkita peptid bog'i bo'lgan peptidlar beradi. Rangning to'qlik darajasi peptid zanjirining uzunligiga bog'liq.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 0,5–1,0 ml insulin eritmasidan quyib, unga teng hajmda 10% li natriy gidroksid va 1–2 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan qo'shib, chayqatiladi.
2. Probirkadagi suyuqlik binafsha rangga kiradi.

### **2. Millon reaksiyasi (2.1.2 ga qarang)**

#### **Ishni bajarilishi**

1. 3 ta probirka olib, birinchisiga 0,5 ml insulin, ikkinchisiga 1 ml 0,05% li tirozin eritmasi, uchinchisiga 0,1% li 1 ml fenol eritmasidan solinadi.
2. Har bir probirkaga 5 tomchidan Millon reaktivi tomizilib, sekin-asta qizdirilganda qizil rang hosil bo'ladi.

3. O'tkazilgan tajriba jelatina bilan qaytarilganda suyuqlik rangining o'zgarishligi jelatina molekulasida tirozin qoldig'i yo'qligini ko'rsatadi.

### **3. Fol reaksiyasi ( 2.1.5 ga qarang)**

Metionin, sistein va sistin molekulalaridagi oltingugurt oqsil tarkibidagi kuchsiz bog'langanligi sababli uni ishqoriy muhitda qizdirib, gidrolizlaganda vodorod sulfidi shaklida oson ajralib, natriy yoki kaliy sulfidini hosil qiladi. Sulfidlar qo'rg'oshin atsetat bilan qo'shilib, qora rangli cho'kma beradi.

Insulin molekulasidagi 51 ta aminokislotadan 6 tasi tarkibida oltingugurti bo'lgan sisteinga to'g'ri keladi.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 0,5 ml insulin eritmasidan quyib, ustiga teng hajmda Fol reaktividan qo'shiladi va qaynatiladi.

2. 1–2 daqiqadan so'ng qo'ng'ir yoki qora rangli qo'rg'oshin sulfid cho'kmasi hosil bo'ladi.

### **4. Geller reaksiyasi (2.3.4 ga qarang)**

Oqsillar eritmasi konsentrlangan mineral kislotalar ta'sirida (fosfat kislotadan tashqari) denaturatsiyalanadi va cho'kmaga tushadi.

Cho'kma hosil bo'lishi oqsil molekulasini degidratatsiyasi va ular zaryadining neytrallanishi hamda boshqa sabablarga, masalan, oqsil va kislotadan suvda erimaydigan kompleks hosil bo'lishiga bog'liq bo'lishi mumkin.

Sulfat va xlorid kislotalarining uzoq vaqt davomida oqsil cho'kmasiga ta'sir qilishi yoki shu kislotalarning ortiqcha miqdori denaturlangan oqsil cho'kmasini eritib yuborishi mumkin. Nitrat kislotada bu xususiyat bo'lmaganligi uchun ko'pincha undan tekshiriluvchi materialda oqsilni aniqlashda foydalaniladi.



## **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga taxminan 1 ml (15–20 tomchi) konsentrlangan nitrat kislotasi va probirkani 45° ga engashtirgan holatda nihoyatda ehtiyotkorlik bilan probirka devori bo‘ylab teng hajmda oqsil eritmasi qo‘shiladi.

2. Ikkala suyuqlik bir-biriga tegib turgan joyda halqasimon oq amorf cho‘kma ko‘rinadi (Geller probasi).

3. Probirkani astalik bilan silkitib, ortiqcha nitrat kislotasi qo‘shilganda cho‘kma yo‘qolmaydi.

4. Aynan shu tajriba nitrat kislotasi o‘rnida konsentrlangan sulfat yoki xlorid kislotalarining ortiqcha miqdori qo‘shilib qaytarilganda oqsil cho‘kmasi erib ketadi.

## **6.2. Gormonlar – aminokislotalar unumlari**

Bu sinf gormonlari L-tirozin va L-triptofan aminokislotalari unumlaridir. Tirozin unumlari – katexolaminlar va tireoid gormonlari.

Triptofan unumlari – melatonin. Katexolaminlar – adrenalin (epinefrin), noradrenalin (norepinefrin) – buyrak usti bezlarining mag‘iz qismida, dofamin esa gipotamik – gipofizotrop yadrolarda ishlab chiqariladi.

Bu birikmalar L-tirozin molekulasi unumlari bo‘lib, halqa qismining 3-uglerodiga qo‘shimcha gidroksil guruhi kiritilgan (dioksifenilalanin), yon zanjiri esa dekarboksillangan.

### **6.2.1. Buyrak usti bezi mag‘iz qismi gormoni – adrenalin**

Adrenalin kimyoviy strukturasi asosini pirokatexin yadrosi tashkil qilib, buyrak usti bezi mag‘iz qismida va boshqa to‘plamlardagi xromafin hujayralarda tirozin aminokislotasidan

sintezlanadi. Metil guruhi manbasi sifatida metioninning faol shakli – S-adenozilmetionin qatnashadi.

Vena qonidagi adrenalinning miqdoriy o'zgarish chegarasi nihoyatda katta – 1,4–15 mkg% (7,6–82 nmol/l) bo'lib, asab taranglashganda bu ko'rsatkich yanada ortadi. Adrenalin bir qancha fiziologik va metabolik jarayonlarga ta'sir ko'rsatib, ular funksiyasini o'zgartiradi.

U glikogendan glukozani hosil bo'lishini katalizlaydigan fosforilaza fermentini faollashtirib, qonda glukoza darajasini oshiradi. Adrenalin organizmga yuborilganda giperglikemiya, glukozuriya holatlari kuzatilgan, to'qimalarda lipaza fermentining faolligi ortib, qonda erkin yog' kislotalari miqdori ko'paygan.

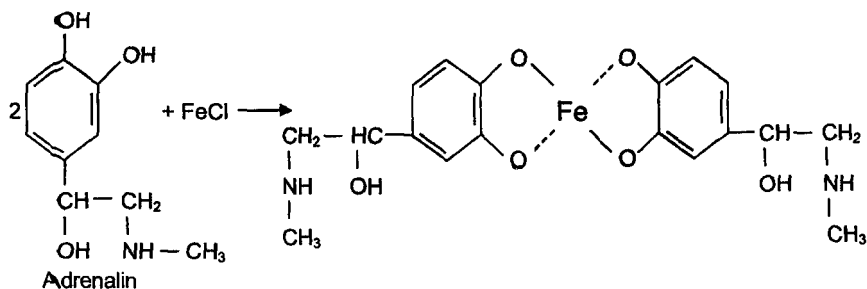
Yurak urishi tezlashib, qon bosimining ko'tarilishi, uning ta'sirida simpatik nerv tizimi qo'zg'alishida kuzatiladigan o'zgarishlarga o'xshashlik borligini ko'rsatadi.

**Adrenalin** – oq kukunsimon modda, suvda, ayniqsa ishqor va kislotali muhitlarda yaxshi eriydi. Suvli eritmasi ishqoriy xossaga ega. Havo, yorug'lik va issiqlik ta'sirida parchalanib, avval pushti, so'ngra qizil va to'q qo'ng'ir rangga bo'yaladi.

Adrenalin juda ham oz miqdorda – 0,1–0,01 mkg/1 kg da (tana vazniga) fiziologik ta'sirga ega. U oshqozon-ichak yo'llarida tez parchalanganligi uchun, odatda, teri ostiga yoki vena tomiriga yuboriladi.

### **6.2.1.1. Adrenalning temir xloridi bilan sifati reaksiyasi**

Adrenalin temir xloridi bilan reaksiyaga kirishganda och yashil rang beradi. Reaksiya adrenalning molekulasidagi pirokatexin guruhini fenol ko'rinishidagi ko'k rangli birikma hosil qilishiga asoslangan:



Aynan shunday bo‘yalgan rangli reaksiya temir xloridi ishtirokida pirokatexin bilan ham olinadi.

**Tekshiriluvchi material:** adrenalinning 0,1% li eritmasi.

### Reaktivlar:

1. Temir xloridning 3% li eritmasi.
2. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi.
3. Pirokatexinning 0,05% li eritmasi.

### Jihozlar:

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. Pipetkalar.

### Ishni bajarilishi

Probirkaga olingan 10 tomchi adrenalinning 0,1% li eritmasiga 1 tomchi 3% li temir xloridi qo‘shilganda och yashil rang hosil bo‘ladi, ustiga 1 tomchi 10% li natriy gidroksid tomizilsa, probirkadagi suyuqlik rangi avval to‘q qizil, so‘ngra qo‘ng‘ir rangga o‘tadi.

Xuddi shunday reaksiya pirokatexinning 0,05% li eritmasi bilan qaytarilganda ham kuzatilgan. Reaksiya natijasi pirokatexin yadrosida adrenalin molekulasini borligini isbotlaydi.

### **6.2.1.2. Adrenalin miqdorini Folin bo'yicha aniqlash**

Mazkur usul adrenalinning Folin reaktivi bilan o'zaro reaksiyaga kirishishidan hosil bo'lgan ko'k rangning ravshanlik darajasini kolorimetrdan aniqlashga asoslangan.

Tarkibida volframfosfat va molibdenfosfat kislotalari tuzlari saqlagan Folin reaktivi adrenalin bilan qaytarilishi natijasida ko'k rangli metall oksidlari kompleksini hosil qiladi.

**Tekshiriluvchi material:** adrenalinning 0,1% li eritmasi.

#### **Reaktivlar:**

1. Folin reaktivi (tayyorlanishi 14-ilovada).
2. Natriy karbonat tuzining 10% li eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. 1 va 5 ml li pipetkalar.
3. FEK.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 1 ml tekshirilayotgan adrenalin eritmasidan, 4 ml natriy karbonat tuzining 10% li eritmasidan va 0,5 ml Folin reaktividan qo'shib, aralashtiriladi.

2. 5 daqiqadan so'ng hosil bo'lgan ko'k rangni FEK da qizil filtrda nazoratga (1 ml suv + 4 ml 10% karbonat natriy+0,5 ml Folin reaktivi) nisbatan o'lchanadi.

3. Adrenalin miqdori g/l da 0,01; 0,02; 0,04 g/l adrenalin bo'yicha tuzilgan kalibrlash egri chizig'i yordamida aniqlanadi.

### **6.3. Qalqonsimon bez gormonlari**

Qalqonsimon bezda L-tironin unumlari bo'lgan ikkita yod saqlagan gormon ishlanadi – bular triyodtironin ( $T_3$ ) va tetra-

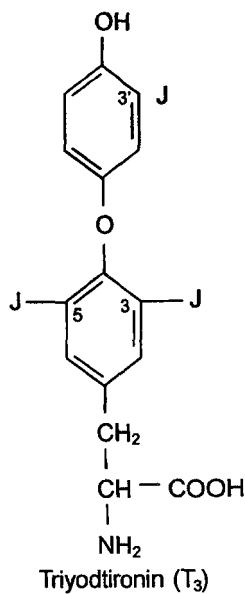
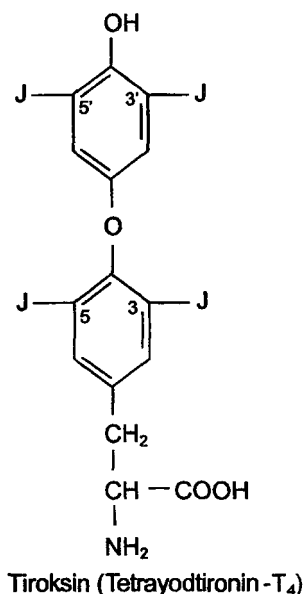
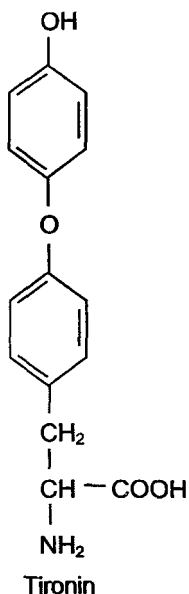
yodtironin ( $T_4$ –tiroksin). Ular qalqonsimon bezning maxsus oqsili tireoglobulin tarkibidagi tirozinning yodlanishi natijasida sintezlanadi.

Qonda gormonlar oqsillar bilan bog‘langan holda uchraydi, bog‘langan shakli muhim diagnostik ko‘rsatkich hisoblanadi. Normada uning miqdori 5 dan 12 mkg% (394–945 nmol/l) oralig‘ida bo‘lib, qalqonsimon bez funksiyasining holatiga qarab ko‘payishi (gipertireozda) yoki kamayishi (gipotireozda) mumkin.

Yosh bolalarda qalqonsimon bez gipofunksiyasi aqliy va jismoniy rivojlanishni to‘xtatadi, kattalarda esa organizmda suvning to‘planishi natijasida shish (miksedema) paydo bo‘lishiga sabab bo‘ladi. Bu vaqtda davolash choralari sifatida qalqonsimon bez gormonlari va undan tayyorlangan preparatlar ishlatiladi.

Ayrim hududlarda suvning mineral tarkibida yodning yetishmasligi qalqonsimon bez funksiyasini pasayishiga va uning tashqi ko‘rinishi bo‘lgan endemik buqoqni paydo bo‘lishiga olib keladi. Endemik buqoqning oldini olish maqsadida osh tuzi yodlanadi.

Qalqonsimon bez gormonlarining faollik darajasi tironin halqalaridagi yodni joylashishiga qarab belgilanadi. Masalan, mono- va diyodtironinlarning gormonal ta’siri yo‘q. Faqat 3 ta yoki 4 ta yod atomi saqlovchi tironinlar faol ta’sirga ega. Bunda A halqaning 3,5-vaziyatdagi, B halqasining 3’ vaziyatdagi uglerodning yodlanishi gormonal faollik bilan bog‘liq:



### 6.3.1. Qalqonsimon bez to'qimasidagi yodni aniqlash

Maydalangan va quritilgan qalqonsimon bez to'qimasini kaliy yoki natriy karbonat bilan eritib, qotishma qilinganda kaliy yodid hosil bo'ladi. Kaliy yodid kislotali muhitda kaliy yod oksidi bilan (KIO<sub>3</sub>) reaksiyaga kirishganda erkin yod ajralib chiqadi, uni kraxmalni yod bilan bo'yalishiga qarab aniqlash mumkin:



**Tekshiriluvchi material:** maydalangan va quritilgan qalqonsimon bez to'qimasi.

#### Reaktivlar:

1. Kaliy yoki natriy karbonat tuzining kukuni (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> · 10H<sub>2</sub>O).
2. Konsentrlangan sulfat kislota.

3. Kraxmalning 1% li eritmasi.
4. Kaliy yod oksidining 1% li eritmasi.

### Jihozlar:

1. Farforli hovoncha.
2. Farforli tigel.
3. Shisha tayoqchalar.
4. Diametri 3–5 sm li qog‘oz filtrlı voronkalar.
5. Probirkalar.
6. Tomizgichlar.

### Ishni bajarilishi

1. 100–200 mg maydalangan va quritilgan qalqonsimon bezni hovonchada 500 mg kaliy yoki natriy karbonati bilan yaxshilab maydalanib, tigelga solinadi va asbest to‘ri ustida past olovda qizdiriladi (qoraymasligi kerak!).

2. Qotishma kukunga aylanib, o‘ziga xos hid chiqarganda qizdirish to‘xtatiladi.

3. Tigel sovutilib, 2 ml issiq suv qo‘shiladi, yaxshilab aralashtirilgach, filtrlanadi.

4. Filtratga 3–5 tomchi konsentrlangan sulfat kislota, 2–3 tomchi 1% li kraxmal eritmasi va 1–2 tomchi kaliy yod oksidi qo‘shiladi. Ajralayotgan yod kraxmal bilan ko‘k rang beradi.

Ish natijasi 15-jadval shaklida rasmiylashtiriladi.

*15-jadval*

### Gormonlarga xos sifat reaksiyalar

Ichki sekretsiya bezining nomi	Bez ajratadigan gormon	Gormonning kimyoviy qurilishi	Tekshirilayotgan material	Qo‘llanilayotgan reaktivlar	Hosil bo‘lgan mahsulot, uning kimyoviy reaksiyasi

Xulosada tekshirilayotgan gormonning modda almashinuvidagi roli, giper- va gipofunksiyasi, bajarilgan sifat reaksiyasining kimyoviy tabiati keltirilsin.

#### **6.4. Buyrak usti bezi po'stloq qismi gormonlari (kortikosteroidlar)**

Bu sinf gormonlari lipid tabiatli polisiklik birikmalar bo'lib, qurilishining asosini siklopentanpergidrofenantren tashkil qiladi. Kortikosteroidlar buyrak usti bezi po'stloq qavatida – uglevodlar va lipidlarni oksidlanishidan hosil bo'lgan sirka kislotasining faol shakli atsetilkoenzim-A dan va xolesterindan sintezlanadi. Bu reaksiyada muhim oraliq mahsulot progesterondan ayollar (estrogenlar) va erkaklar (androgenlar) jinsiy gormonlari hosil bo'ladi.

Steroid gormonlar biosintezida NADF (vodorod akseptori), NADF·H<sub>2</sub> (vodorod donori) ga bog'liq bo'lgan bir qator fermentativ reaksiyalar va energiya manbasi sifatida ATF ishtirok etadi. Normal sharoitda kortikosteroidlar biosintezini asosan sirka kislotasidan, zo'riqish holatlarida esa (past harorat, jismoniy shikastlanish, qon yo'qotish va boshqalar) qisqa yo'l bilan – xolesterindan sintezlanadi.

Keyingi yo'l gipofiz oldi qismi gormoni adrenokortikotropin (AKTG) yordamida xolesterinni progesteronga aylanish jarayonini stimullanishi hisobiga bajariladi. Po'stloq qismi gormonlari (kortikosteron, kortizol, kortizon, aldosteron) oqsillar parchalanishini kuchaytirish bilan birga glukoneogenez jarayonida glukozani qand xususiyatiga ega bo'lmagan moddalardan sintezlanishida (masalan, aminokislotalarning azotsiz qoldig'idan) qatnashuvchi asosiy fermentlarning faolligini oshiradi.

Shuning uchun ham ushbu gormonlarni ortiqcha miqdorda ishlanishi giperqlikemiya va glukozuriya holatlarini keltirib chiqaradi (steroidli diabet). Dezoksikortikosteron va aldosteron minerallar



almashinuviga ta'sir ko'rsatadi – natriy va xlor ionlarini organizmda saqlanishiga, kaliy ionlarini siydik bilan chiqib ketishiga yordam beradi, yetishmaganda esa natriy, xlor, bikarbonatlar siydik orqali yo'qotilib, kaliy organizmda ushlab qolinadi.

Normal sharoitda kortikosteroidlarni organizmda doimiy sintezlanib turishiga qaramay, ularning katta qismi jigarda parchalanishi tufayli ortiqcha gormonal faolligi sezilmaydi.

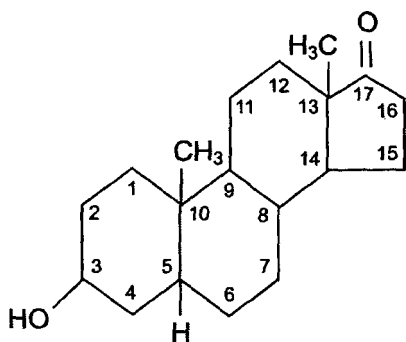
Gormon degradatsiyaga uchraganda uning siklopentan pergid-rofenantren yadrosidagi tetrasiklik strukturasi buzilmaydi, 4- va 5-uglerod atomlari orasidagi ikkilamchi bog' uziladi, gormonning biologik faolligi yo'qolib, yon zanjirining 17-o'rindagi ketoguruhi oksidlanadi. Hosil bo'lgan almashinuv mahsuloti 17-ketosteroidlar degan umumiy nom bilan atalib, sulfat va glukuron kislotalari bilan qo'shaloq birikmalar ko'rinishida siydik orqali ajraladi.

17-ketosteroidlar ayollarda butunlay kortikosteroidlardan, erkaklarda 2/3 qismi po'stloq qismi steroidlaridan va 1/3 qismi esa testikul gormonlari hisobiga hosil bo'ladi.

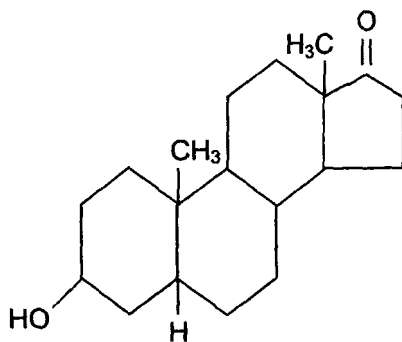
Shuning uchun erkaklarda 17-kortikosteroidlar sutkasiga siydik bilan shu yoshdagi ayollarga nisbatan ko'proq ajratiladi. 17-ketosteroidlarning ko'pchiligi neytral xossali (neytral 17-ketosteroidlar), ba'zilar esa kislotali (fenolli 17-ketosteroidlar), bularga estrogenlar (estron) kiradi.

17-ketosteroidlarni aniqlashda avval ularni ishqor yordamida neytral 17-ketosteroidlardan ajratib olinadi. Neytral 17-ketosteroidlar strukturasiidagi uchinchi uglerod atomidagi OH guruhining 10-o'rindagi uglerod atomi oldidagi CH<sub>3</sub> guruhiga nisbatan "cis" ( $\beta$ ) yoki "trans" ( $\alpha$ ) vaziyatda joylashishiga qarab  $\alpha$ - va  $\beta$ -ketosteroidlarga bo'linadi.

Odam siydigida uchraydigan neytral 17-ketosteroidlar asosan andosteron, etioxolanolon, dehidroepiandrosteron, epiandrosteron va boshqalardan iborat:



$\alpha$  - androsteron



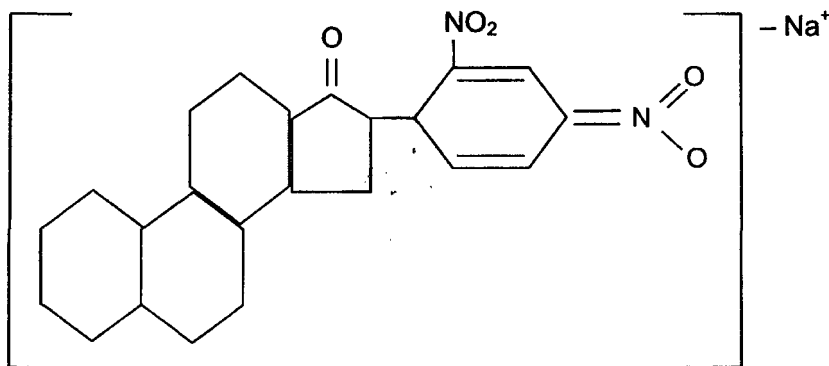
$\beta$  - epiandrosteron

Buyrak usti bezi, testikul, gipofiz oldi qismi giperfunksiyasi bilan kechadigan kasalliklarda, zo‘riqish holatlarida 17-ketosteroidlarning siydik bilan ajralishi ko‘payadi, kamayishi esa shu bezlarning gipofunksiyasida va ba‘zi modda almashinuvi kasalliklarida (miksedema va boshqalar) kuzatilgan.

17-ketosteroidlarni siydikda aniqlanishi ma‘lum darajada buyrak usti po‘stloq qismi funksiyasini nazorat qilishda, kasalliklarni AKTG va kortikosteroidlar bilan to‘g‘ri davolashda muhim ahamiyat kasb etadi.

#### 6.4.1. Siydikdagi 17-ketosteroidlarga sifati reaksiyasi

Reaksiya 17-ketosteroidlarning ishqoriy muhitda meta-dinitrobenzol bilan ketoguruh yonidagi metilen ( $\text{CH}_2$ ) hisobiga qizil yoki qizg‘ish-binafsha rangli kondensatsiyalangan unumi hosil bo‘lishiga asoslangan. Rangning jadalligi siydikdagi 17-ketosteroidlar miqdoriga teng:



17-ketosteroidlarning meta-dinitrobenzol bilan qizil-binafsha rangdagi kondensatsiyalangan unumi

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Reaktivlar:**

1. Meta-dinitrobenzolning etanoldagi 2% li eritmasi.
2. O'yuvchi natriyning 30% li eritmasi (tayyorlanishi 15-ilo-vada).

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 5 tomchi siydik tomizilib, 5 tomchi 30% li o'yuvchi natriy va 5 tomchi meta-dinitrobenzolning 2% li eritmasidan qo'shiladi.

2. Aralastirilib, bir necha daqiqaga qoldirilganda qizil rangning paydo bo'lishi siydikda 17-ketostreoidlar borligini bildiradi.

#### 6.4.2. Kortizolni aniqlashdagi sifat reaksiyasi

1. 1 ml kortizolning spirtli eritmasiga 0,25 ml tetrametil ammoniy gidroksidi va 0,25 ml tetrazol ko'ki eritmalaridan qo'shib, aralastiriladi va qorong'ida 25 daqiqaga qoldirilganda suyuqlik pushti rangga bo'yaladi.

2. Ushbu usul kortikosteroidlar miqdorini biologik suyuqliklarda kolorimetr yordamida aniqlashda ham qo'llaniladi.

3. Reaksiya tetrazol ko'kini sikloentanpergidrofenantren yadrosidagi 17-uglerod atomidagi oksiketon guruhi hisobiga qaytarilishga asoslangan.

## 6.5. Jinsiy bez gormonlari

Jinsiy gormonlar strukturasi asosida sikloentanpergidro-fenantren yadrosida yotadi. Gormonlarning asosiy qismi erkaklik jinsiy bezlarida – androgenlar, tuxumdonda (homiladorlik davrida placentada ham) – estrogenlar hosil bo'lsa ham, ularning biosintezida ma'lum darajada buyrak usti bezi po'stloq qismi qatnashadi.

Jinsiy gormonlar biosintezining asosiy manbayi xolesterin yoki atsetilkoenzim bo'lib, gipofiz bezi oldi qismi gonadotrop gormonlari tomonidan stimullanadi. Jinsiy gormonlarning parchalanishi buyrak usti bezi gormonlari singari jigarda sodir bo'ladi. Jinsiy bez gormonlari ayollar va erkaklar organizmida jinsiy rivojlanish, ikkilamchi jinsiy belgilar va ko'payish funksiyalari takomilini boshqaradi.

Tuxumdonning sariq tana gormoni progesteron bachadon shilliq pardasini proliferatsiyasi(o'sishi)da qatnashib, uning tuxum hujayrasini qabul qilishga tayyorlaydi, homiladorlikni saqlanishi va normal rivojini ta'minlaydi. Jinsiy gormonlar ta'sirida uchkarbon kislotalari siklining bir qator oksidlanish-qaytarilish fermentlarini faolligi oshadi. Aksincha, mazkur gormonlarning yetishmasligi organizmda oksidlanish jarayonlarini pasaytirgan holda to'qimalarda yog'ni to'planishiga sabab bo'ladi.

Testosteronning anabolik xossalarini o'rganish asosida organizm to'qimalarida oqsillar sintezi, o'sish jarayoni, gemopoezni stimullovchi preparatlar yaratilgan. Masalan, nerabol, retabolil preparatlari tibbiyotda anabolik sifatida ishlatiladi.

Shu kabi bir qator sintetik kontraseptiv – antiestrogen ta'sirga

ega jinsiy gormonlarni jinsiy bezlardan va siydikdan kristall ko‘rinishida ajratib olish mumkin. Ular suvda erimay, yog‘larda va yog‘ erituvchilarda – efir, xloroform, spirt va boshqalarda yaxshi eriydi. Ayollar jinsiy gormonlari (estradiol, estron, estriol) tarkibida fenol halqasi (A) saqlagani sababli fenol uchun xos bo‘lgan reaksiyalarni beradi.

### **6.5.1. Estron (follikulin) ga sifat reaksiyalari**

Estron diazoreaktiv yoki konsentrlangan sulfat kislotasi bilan o‘zaro reaksiyaga kirishganida sariq rangli birikma hosil bo‘ladi.

**Tekshiriluvchi material:** follikulinning ampuladagi yog‘li eritmasi.

#### **Reaktivlar:**

1. Sulfanil kislotaning 1% li eritmasi.
2. Natriy nitrat oksidining 5% li eritmasi.
3. Natriy karbonatning 10% li eritmasi.
4. Konsentrlangan sulfat kislota.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

#### **Ishni bajarilishi**

##### **a) diazoreaktivni olish**

1. Buning uchun 3 tomchi sulfanil kislotaning 1% li eritmasining 3 tomchi natriy nitrat oksidining 5% li eritmasi bilan probirkada aralashtiriladi.

2. Olingan diazoreaktivga 3 tomchi follikulinning yog‘dagi eritmasidan va 2 tomchi natriy karbonatning 10% li eritmasidan qo‘shib, chayqatilganda suyuqlikni asta-sekin sariq rangga kirishi kuzatiladi.

##### **b) konsentrlangan sulfat kislota bilan reaksiya**

1. 20 tomchi follikulinning yog‘dagi eritmasiga ehtiyotlik bilan 20 tomchi sulfat kislotasi tomiziladi.

2. 5–10 daqiqaga qoldirilsa, sariq rang paydo bo‘ladi, vaqt o‘tishi bilan qo‘ng‘ir rangga o‘tadi.

### **Nazorat savollari**

1. *Gormonlar nima, ularning kimyoviy xususiyati qanday?*
2. *Gormonlar vitaminlar va fermentlardan nimasi bilan farq qiladi?*
3. *Qalqonsimon bezda qanaqa gormonlar ishlanadi? Qalqonsimon bezda yod borligini qanday aniqlash mumkin?*
4. *Qanday moddalar tiroksinning o‘tmishdoshi hisoblanadi?*
5. *Kortikosteroidlar nima? Ular qanday taqsimlanadi?*
6. *Kortikosteron, kortizol, kortizon, 11-dezoksikortikosteron, aldosteron formulalarini yozing.*
7. *Kortikosteroidlar qanday manbalardan sintezlanadi?*
8. *Adrenalin va noradrenalin nimadan sintezlanadi?*
9. *Siz adrenalining xos qanday sifat reaksiyalarni bilasiz va eritmada adrenalin miqdorini qanday aniqlash mumkin?*
10. *Insulinning kimyoviy tabiati qanday va qaysi sifat reaksiyalar bilan uni ochish mumkin?*
11. *Ayollar va erkaklar jinsiy gormonlarini kimyoviy qurilishi qanday va follikuliga xos qaysi sifat reaksiyalarni bilasiz?*
12. *17-kortikosteroidlarning miqdoriy aniqlash usuli nimaga asoslangan? Bu usulning klinikada qo‘llanilishining ahamiyati nimada?*
13. *Gipofiz bezining oldi va orqa qismlaridan qaysi gormonlar ajraladi?*
14. *Gormonlar oqsil, yog‘ va uglevodlar almashinuviga qanday ta‘sir ko‘rsatadi?*

### **Bioenergetika. Biologik oksidlanish**

Biologik oksidlanish jarayonida elektronlar va protonlar oksidlanayotgan moddadan qaytariladigan moddaga ko'chiriladi. To'qima nafas olishi biologik oksidlanishning tarkibiy qismi bo'lib, to'qimalarda organik moddalarni oksidlanishi bir vaqtning o'zida kislorod yutilishi natijasida suv va biologik energiya hosil bo'lishi bilan birga kuzatiladi.

To'qima nafas olishida oksidlanish jarayoni asosan degidrilanish ko'rinishida kechib, bunda oksidlanayotgan moddadan ajralib chiqayotgan elektronlar va protonlar to'qima nafas olishining so'nggi bosqichida kislorod bilan birikib, oksidlanishning oxirgi mahsuloti bo'lgan suvni hosil qiladi.

Nafas olish zanjiri ketma-ket fermentlar zanjiri – oksidoreduktazalardan iborat bo'lib, ular vodorod ionlari va elektronlarni oksidlanayotgan substratdan molekular kislorodga tashiydi. Nafas olish zanjirida elektrokimyoviy potensial farqining o'zgarishi natijasida ADF va anorganik fosfatdan ATF sintezlanadi.

Eukariot hujayralarida nafas olish zanjiri mitoxondriyaning ichki membranasida joylashgan, to'qima nafas olish zanjirida ishtirok etuvchi oksidoreduktazalar esa murakkab oqsillardan iborat.

Nafas olish jarayonining boshlang'ich qismida vodorodni oksidlanayotgan substratdan ajralishini degidrogenaza fermentlari katalizlaydi, ularning kofermenti sifatida nikotinamidadenindinukleotid ( $\text{NAD}^+$ ), flavinmononukleotid (FMN) va flavinadenindinukleotid (FAD) ishtirok qiladi. Shuning uchun ular elektron

va proton tashuvchisi hisoblanib, oksidlangan yoki qaytarilgan shaklda ( $\text{NADH}_2$ ,  $\text{FADH}_2$ ) uchraydi.

$\text{NAD}^+$  tarkibida nikotin kislotasining amidi (PP vitamini, niasin),  $\text{FAD}$  tarkibida esa riboflavin ( $\text{B}_2$  vitamini) bor. Nafas olish zanjirining keyingi bosqichlarida elektronlarni tashilishida ubixinon va sitoxromlar qatnashadi.

Elektronlarning tashilishi mitoxondriya matriksidan protonlarni membranalar oralig'iga tortib olib, ichki membranada protonlar gradiyenti (farqi) ni hosil qiladi, natijada  $\text{N}^+ - \text{ATF}$  sintaza fermenti energiya bilan ta'minlanib,  $\text{ADF}$  ni fosforlanishi hisobiga  $\text{ATF}$  hosil qiladi.

### **7.1. Makroergik birikmalar – ATF va kreatinfosfatni mushakda miqdoriy aniqlash**

Mushak to'qimasida asosan ikkita makroergik birikma –  $\text{ATF}$  va kreatinfosfat bo'lib, ulardan mushak o'z ehtiyojiga qarab energiya manbayi sifatida foydalanadi.  $\text{ATF}$  to'qima nafas olish jarayonida oksidlanishli fosforlanish yo'li bilan hosil bo'ladi.

Kreatinfosfat mushakda energiyaga talab kamaygan vaqtda  $\text{ATF}$  dan sintezlanib, zaxira holatida saqlanadi. Unga zarurat tug'lsa,  $\text{ADF}$  dan  $\text{ATF}$  hosil bo'lishida ishtirok etadi.

$\text{ATF}$  ni miqdoriy aniqlash uning tarkibidagi yuqori energiyali oxirgi ikkita bo'sh bog'li (labil) fosfat kislotasini va kreatinfosfatning fosfatli qoldig'ini kislotali muhitda oson ajralishiga asoslangan.

Anorganik fosforning gidrolizdan avvalgi va keyingi miqdorlarini o'zaro taqqoslash natijasida olingan ortiqcha miqdori mushak makroergik birikmasi hisobiga ekanligini bildiradi. Fosfor miqdori ammoniy molibdatning askorbin kislotasi ishtirokida bergan rangli reaksiyasi bilan aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** maydalangan mushak to'qimasi.



## **Reaktivlar:**

1. Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi.
2. Xlorid kislotasining 1 mol/l eritmasi.
3. O'yuvchi natriyning 1 mol/l eritmasi.
4. Ammoniy molibdatning 2,5% li eritmasi.
5. Askorbin kislotasining 1% li eritmasi.

## **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. 1,5,10 ml li pipetkalar.
3. FEK.
4. Hovoncha.
5. Shisha tayoqchalar.
6. Voronkalar.
7. Filtr qog'ozi.

## **Ishni bajarilishi**

1. Muzli hammomda turgan probirkaga 0,5 g mushak to'qimasidan olib, 5 ml sovutilgan 10% li UXSK eritmasidan qo'shiladi va shisha tayoqcha bilan aralashtirilgach, ATF va kreatinfosfat ekstraksiyalanishi uchun 5 daqiqaga qoldiriladi.

2. Ekstrakt muzli hammomda turgan probirkaga filtrlanadi. Probirkadagi mushak bo'tqasi qoldig'iga 5 ml distillangan suv qo'shib, ekstraksiya yana 5 daqiqa davom ettiriladi.

3. Olingan ekstrakt avvalgi filtratga qo'shib, umumiy hajmi 10 ml ga yetkaziladi.

4. Ikkita probirkaga 0,5 ml dan oqsilsiz filtratdan olinib, birinchisiga (tajriba) 1 ml 1 mol/l xlorid kislotasi eritmasidan qo'shib, zar qog'oz (folga) bilan berkitiladi va fosfor bog'larini gidrolizlash uchun 10 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.

5. Eritma sovutilib, 1 ml 1 mol/l natriy gidroksid qo'shiladi. Nazorat probirkasiga (ikkinchi) qaynatilmasdan, 1 ml 1 mol/l xlorid kislotasi va 1 ml 1 mol/l natriy gidroksid eritmalaridan solinadi.

6. Tajriba va nazorat probirkalariga 7,5 ml dan distillangan suv qo'yib, umumiy hajmi 10 ml ga yetkaziladi.

7. Keyingi bajariladigan ishlar tajriba va nazorat namunalari da bir vaqtda o'tkaziladi. Ikkala probirkadagi suyuqliklardan 5 ml dan boshqa probirkalarga olinib, har biriga 0,5 ml askorbin kislotasining 1% li eritmasidan, 0,5 ml ammoniy molibdatning 2,5% li eritmasidan va 2 ml dan distillangan suv qo'shiladi. Probirkalar ichidagi tezlikda aralastirilib, xona haroratida rosa 10 daqiqa ushlanadi.

8. Nazorat va tajriba namunalarini FEK da qizil yorug'lik filtrida (670 nm to'lqin uzunligida) suvga nisbatan kolorimetrlanadi. Tajriba namunasida (gidrolizdan keyin) aniqlanayotgan anorganik fosfor to'qimadagi bo'sh bog'langan fosfor va fosfat tuzlarining umumiy yig'indisidan iborat. Nazorat namunasidagi esa faqat fosfat tuzlaridir.

9. Tajriba namunasi uchun aniqlangan optik zichlikdan nazorat namunasi optik zichligi ayirib tashlanadi. Tajriba namunasidagi bo'sh bog'langan anorganik fosfor miqdorini kalibrlovchi grafik bo'yicha topiladi.

**Hisoblash.** Bo'sh bog'langan fosfor miqdorini mg da 100 g to'qima bo'yicha, suyultirilgan darajani hisobga olgan holda, formula asosida hisoblanadi:

$$X = A \cdot 3,3400 \cdot 100;$$

bunda:  $X$  – 1 mg ATF ni 100 g to'qimada (mg/100 g) hisoblab chiqilgan makroergik birikmaning miqdori;  $A$  – ATF ning namunadagi mg dagi miqdori;

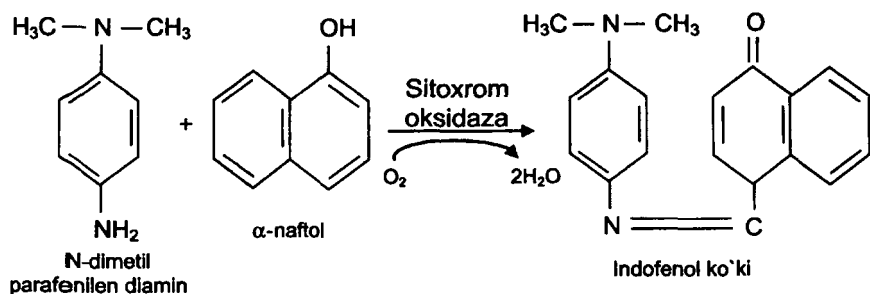
3,3400 – 1 g to'qimaning suyultirilganlik darajasini hisobga olgan holda qayta hisoblangan koeffitsiyenti.

### 7.1.1. Sitoxromoksidaza faolligini mushak to'qimasida aniqlash

Sitoxromoksidaza yoki  $a + a_3$  sitoxromlar kompleksi nafas olish zanjirining oxirgi qismi hisoblanib, barcha o'simlik va hayvon

hujayralarida keng tarqalgan, kimyoviy jihatdan gemin tabiatli fermentlar guruhiga kiradi. Sitoxromoksidaza yuqori darajadagi maxsus ferment, qaytarilgan sitoxromdan elektronni kislorodga tashib beradi, mitoxondriyaning ichki membranasida joylashgan bo‘lib, faqatgina uni parchalab, ajratish mumkin.

Sitoxromlar, xususan, sitoxromoksidaza turli fenollar va aromatik aminlarni havo kislorodi bilan oksidlashi mumkin. Masalan,  $\alpha$ -naftol va N-dimetilparafenildiaminning (“Nadi” reaktivi) ishqoriy eritmasida sitoxromoksidaza oksidlanib, indofenol ko‘kini hosil qiladi. Rangning ravshanlik darajasi ferment faolligiga to‘g‘ri proporsional:



**Tekshiriluvchi material:** maydalangan mushak to‘qimasi.

**Reaktivlar:**

1. Nadi reaktivi (tayyorlanishi 16-ildovada).
2. Distillangan suv.

**Jihozlar:**

1. Chinni hovoncha.
2. Doka yoki qog‘ozli filtrlar.
3. Voronka.
4. Pipetkalar.
5. Qum.
6. Probirkalar.
7. Suv hammomi.

## **Ishni bajarilishi**

### **A. Sitoxromoksidaza preparatini tayyorlash**

1. 300 mg maydalangan yangi mushak to‘qimasini chin-ni hovonchada ezib, ustiga 6 ml distillangan suv quyiladi. Aralashmadagi qaytaruvchi moddalar va suvda eruvchi fermentlar doka yoki qog‘ozli filtr orqali ekstraksiya qilinadi.

2. Ushbu jarayon yana ikki marta qaytarilgandan so‘ng, tarkibida sitoxromlar va sitoxromoksidaza saqlagan rangsiz mushak to‘qimasi sitoxromoksidaza preparati sifatida foydalaniladi.

### **B. Sitoxromoksidazani sitoxromlar va havo kislorodi ishtirokida “Nadi” reaktivini oksidlashi**

1. Olingan sitoxromoksidaza preparatining bir qismini filtr qog‘ozda qoldirib, 1–2 tomchi “Nadi” reaktividan tomiziladi.

2. 3–5 daqiqadan keyin ko‘k yoki yashil rang paydo bo‘ladi. Ushbu rang sitoxromoksidaza fermenti ta’sirida n-fenilendiamin va  $\alpha$ -naftolni oksidlangan indofenol birikmasining hosil bo‘lganligini ko‘rsatadi.

3. Preparatning ikkinchi qismini 1 ml distillangan suv saqlagan probirkaga olib, qaynab turgan suv hammomida 5 daqiqa davomida ushlab turiladi, suyuqlik sovutilgach, suvi ehtiyotlik bilan to‘kib tashlanadi.

4. Probirka tubida qolgan mushak to‘qimasi shisha tayoqcha bilan filtr qog‘ozga olinib, yuqoridagi reaksiya takrorlanadi. Ko‘k rangni paydo bo‘lmasligi qaynatish natijasida ferment faolligi yo‘qolganligini bildiradi.

Sitoxromoksidaza tarkibidagi gem temiri har xil moddalar, xususan sianidlar, sulfidlar, azidlar ta’siriga tez berilishi tufayli ular bilan zaharlanganda sitoxromoksidaza faolligi pasayib, gistotoksik gipoksiya rivojlanadi. Natijada to‘qimalarda kislorod yetishmovchiligi kuzatilib, mitoxondriya nafas olish zanjirida kisloroddan elektron va protonlarning akseptori sifatida foydalanish imkoniyati yo‘qoladi. Sitoxromoksidaza faolligini “Nadi” reaktivi yordamida ochish usulidan klinika va sitologiyada bioptatlar va qon

hujayralarida to'qima nafas olishini buzilganligini tashxislashda qo'llaniladi.

Olingan natijalar 16-jadval ko'rinishida rasmiylashtiriladi.

16-jadval

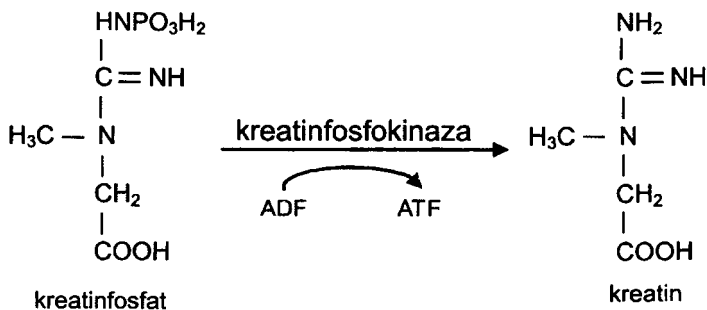
### Sitoxromoksidaza fermenti faolligini mushak to'qimasida aniqlash

Namuna №	Material	Ferment	Substrat	Tajriba sharoiti		Namuna rangi
				Harorat ta'siri	Ingibitorlar	

### 7.1.2. Kreatinfosfokinaza faolligini qon zardobida Ennor va Rozenberg bo'yicha aniqlash

Kreatinfosfokinaza faolligini aniqlash uning ta'sirida kreatinfosfatdan hosil bo'lgan kreatinning miqdorini o'lchashga asoslangan.

Kreatin diatsetil va  $\alpha$ -naftol bilan pushti-sariq rangli kompleks birikma hosil qiladi, rangning ravshanlik darajasi kreatin miqdoriga proporsional:



**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Kreatinfosfatning 0,006 M eritmasi.
2. Adenozindifosfatning dinatriyli tuzi.
3. 6,0 g/l eritmasi, magniy xloridning 0,1 mol/l saqlagan pH 7,2 bo'lgan 0,1 M tris buferi.
4. 50 g/l rux sulfat eritmasi.
5. 50 g/l bariy gidroksid eritmasi.
6. Tarkibida 60 g/l natriy karbonati va 60 g/l natriy gidroksidi tutgan ishqoriy eritma.
7. Diatsetilning ishchi eritmasi (tayyorlanishi 17-ildan).
8.  $\alpha$ -naftolning 10 g/l dagi eritmasi.
9. Kreatinning 0,1 mmol/l dagi standart eritmasi (hamma reaktivlar, tris-buferdan tashqari, ishlatish oldidan tayyorlanadi).

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Shisha tayoqchalar.
3. 1 ml li pipetkalar.
4. Termometrli suv hammomi.
5. Laboratoriya sentrifugasi.

**Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirkaga ketma-ket quyidagi reaktivlar quyiladi va 3 daqiqa 37° C li suv hammomiga qo'yiladi.

*17-jadval*

Reaktivlar	Tajriba probirkasi	Nazorat probirkasi
Tris-bufer	0,2	0,2
Distillangan suv	0,2	0,3
Kreatinfosfat	0,1	0,1
Qon zardobi	0,1	–

2. Probirkalarni suv hammomidan olmasdan turib, kreatinkinaza reaksiyasini boshlanishi uchun 0,2 ml dan ADF eritmasi qo‘shiladi va inkubatsiya vaqti belgilanadi.

3. 30 daqiqadan so‘ng ikkala namunaga ketma-ket 0,2 ml dan bariy gidroksidi va rux sulfati qo‘shib, reaksiya to‘xtatiladi.

4. Probirkalar sovutilgach, oqsillar cho‘kishi uchun 10 daqiqaga qoldiriladi. So‘ngra hosil bo‘lgan cho‘kmani daqiqasiga 3000 aylanishda sentrifugalab, ajratiladi.

5. Cho‘kma usti suyuqligidan ikkita probirkaga 0,5 ml dan olib, har biriga 3 ml dan distillangan suv, 1 ml dan  $\alpha$ -naftol va 0,5 ml dan diatsetil eritmalari qo‘shiladi.

6. Namunalar shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtirilib, rang hosil bo‘lishi uchun 20 daqiqaga qorong‘i joyga qo‘yiladi.

7. Fotometrlash oldidan standart namuna va standartga nazorat tayyorlanadi. Buning uchun bitta probirkaga (standart namunasi) 0,5 ml kreatin eritmasi, 3 ml distillangan suv, 1 ml  $\alpha$ -naftol va 0,5 ml diatsetilning ishchi eritmasidan qo‘shiladi, ikkinchisiga esa (standart nazorati) shu reaktivlar faqat kreatin eritmasi o‘rniga 0,5 ml distillangan suv qo‘shiladi. Ikkala probirka 20 daqiqa davomida qorong‘i joyda ushlab turiladi.

8. Tajriba namunasi ekstensiyasi nazoratga nisbatan va standart namunasi standart nazoratga nisbatan FEK da 520–540 nm (ko‘k svetofiltr) qalinligi 1,0 sm li kyuvetalarda o‘lchanadi.

**Hisoblash.** Kreatinfosfokinaza faolligi formula bo‘yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{0,00005 \cdot E_{op} \cdot 1,2 \cdot 2 \cdot 10,000}{E_{st} \cdot 0,5} .$$

Bunda:  $X$  – kreatinfosfokinaza mmol/l / (soat·l) dagi faolligi;  
0,00005 – kreatinning standart namunadagi mmol miqdori;  
 $E_{op}$  – tajriba namunasi nazoratda nisbatan ekstensiyasi;  
 $E_{st}$  – standart namunasi nazoratga nisbatan ekstensiyasi;

2 – inkubatsiya soatini qayta hisoblangan koeffitsiyenti;  
 1,2 – namunalarning sentrifugalashgacha bo‘lgan hajmi;  
 0,5 – tekshirishga olingan cho‘kma usti suyuqligining hajmi;  
 10000 – bir litr qon zardobiga hisoblangan koeffitsiyenti.  
 Qisqartirilgandan keyin formula quyidagi ko‘rinishda bo‘ladi:

$$X = \frac{2,4 E_{op}}{E_{st}} .$$

Ishni rasmiylashtirishda qon zardobidagi kreatinfosfokinaza faolligi hisoblanadi va olingan ko‘rsatkichlar bo‘yicha ferment faolligi o‘zgarishi mumkinligi va uning sabablari haqida xulosa chiqariladi.

Kreatinfosfokinaza yurak va skelet mushaklarida, nerv to‘qimasida, boshqa organ va to‘qimalarga nisbatan 100–1000 marta ko‘p bo‘lib, energiya tashishda ishtirok etadi. Shuning uchun mushak va nerv to‘qimalari shikastlanganda yoki kasalligida fermentning to‘qimalardan yuvilishi hisobiga qondagi miqdori oshadi.

Normada kreatinfosfokinazaning qondagi miqdori 0,30–0,70 mmol/l (soat.1) to‘g‘ri keladi. Klinika amaliyotida ferment faolligining miokard infarkti (ferment faolligini oshishi nekrotik jarayon boshlanishidan 3 soatdan keyin kuzatilib, 24 soatdan so‘ng maksimumga yetadi) mushak va nerv to‘qimasi jarohatlanganda tashxis qo‘yishda qo‘llaniladi.

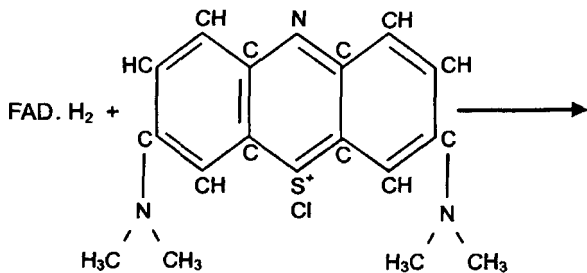
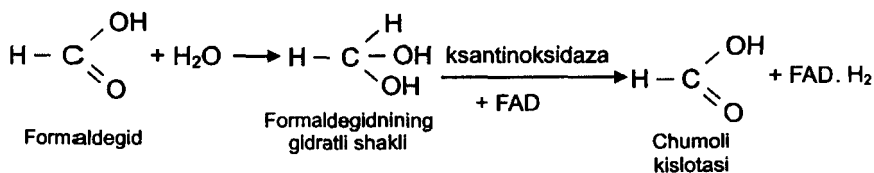
### 7.1.3. Sut tarkibidagi degidrogenazalarni aniqlash

Degidrogenazalar ta‘sirining sut degidrogenazasi (ksantinoksidaza yoki aldegiddegidrogenaza) misolida tekshirish mumkin. Jigar ksantinoksidazasi gipoksantinni ksantinga, ksantinni esa siydik kislotasiga o‘tishini katalizlaydi, formaldegid, alifatik va aromatik qatoridagi boshqa aldegidlarni ham oksidlash xususiyatiga ega.

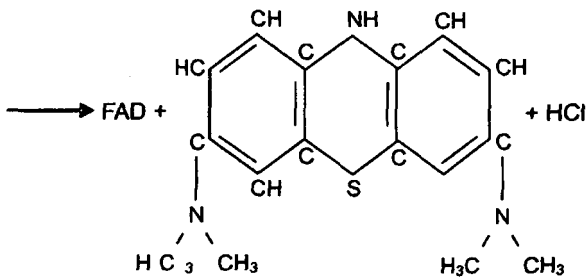


Kimyoviy qurilishi bo'yicha bu ferment tarkibida molibden va temir tutgan flavoprotein. Sutdagi degidrogenaza nisbatan termostabil bo'lib, 70° C li haroratda ham o'z ta'sirini ko'rsata oladi. Agar yangi sutga substrat sifatida formaldegid, vodorod akseptori sifatida metilen ko'ki qo'shib, aralashmani kislorod kirishidan himoya qilinsa, fermentning degidrirlovchi ta'sirini kuzatish mumkin.

Bunda aralashmaning rangi vaqt o'tishi bilan yo'qoladi. Metilen ko'king rangsizlanishi degidrogenazaning katalitik ta'siri natijasida substratdagi elektron va protonlar bo'yoqni qaytarib, uni rangsiz leyko unumiga ayantiradi.



Metilen ko'ki



Metilen ko'king leyko shakli

**Tekshiriluvchi material:** yangi, xom sigir sut.

**Reaktivlar:**

1. Formaldegidning 0,4% li eritmasi.
2. Metilen ko'kning 0,02% li eritmasi.
3. Vazelin moyi yoki kerosin.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.
3. 1 va 5 ml li pipetkalar.
4. Termometrli suv hammomi yoki 70° C li termostat.

**Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirkaga 1 ml dan yangi xom sut solinib, ikkinchi probirkadagi sut qaynatiladi, so'ngra sovutiladi.

2. Ikkala probirkaga 2 tomchidan 0,4% li formaldegid eritmasi, 1 tomchidan metilen ko'kning 0,02% li eritmasidan tomizilib, chayqatilgach, ikkala probirkadagi suyuqliklar vazelin moyi (5 tomchi) bilan qoplanadi va suv hammomiga yoki termostatga joylanadi.

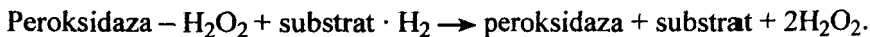
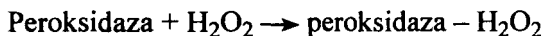
3. Biroz vaqtdan so'ng birinchi probirkadagi suyuqlikning rangsizlanganligi kuzatiladi.

4. Ikkinchi probirkadagi suyuqlik rangini yo'qotmaydi, chunki ferment qaynatish jarayonida inaktivlangan edi.

5. Ushbu reaksiya bilan xom sutni qaynatilganidan farqlash mumkin.

### **7.1.4. Qonning peroksidaza faolligini aniqlash**

Peroksidaza (donor-vodorod peroksidi – oksidoreduktaza) substratlarning oksidlanishining vodorod peroksidi ishtirokida katalizlaydi. Reaksiyaning birinchi bosqichida peroksidaza vodorod peroksidi kompleksi hosil bo'lib, so'ngra substrat oksidlanadi:



Organizmada peroksidaza substrati sifatida fenollar, aromatik aminlar, bilirubin va boshqa birikmalar qatnashadi. Peroksidaza katalaza singari tarkibida gem saqlovchi fermentlar guruhiga kiradi va faol markazida temir ( $Fe^{++}$ ) atomi bor.

Peroksidaza faolligini qon tarkibida aniqlash usulidan oksidlanish jarayonlarida, ayniqsa, metall bilan kompleks hosil qiluvchi biologik birikmalarning ta'sirini o'rganishda foydalaniladi. Qonning peroksidaza faolligini aniqlash asosida peroksidaza ishtirokida vodorod peroksidi bilan oksidlanayotgan indigokarmin miqdorini kamayishi bo'lib, uni fotometrlab aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** qon yoki plazma.

**Reaktivlar:**

1. Atsetatli bufer pH-4,9.
2. Indigokarminning 0,0005 M eritmasi (tayyorlashda uni 0,0233 g 100 ml li kolbada distillangan suv bilan eritiladi).
3. 0,03 M vodorod peroksid eritmasi.
4. Sulfat kislotasining 20% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Spektrofotometr yoki FEK.
2. Probirkalar.
3. Sekundomer.
4. Pipetkalar.
5. Suv hammomi.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga ketma-ket 1 ml atsetat buferi, 1 ml indigokarmin eritmasi va 5 ml 1: 1000 nisbatda qon solinadi.
2. Probirkadagi suyuqlik aralastirilib, 5 daqiqaga  $30^{\circ} C$  li suv hammomiga joylashtiriladi.
3. Vaqt o'tgandan so'ng probirkadagi suyuqlikka 0,5 ml 0,3 M vodorod peroksidi eritmasidan qo'shiladi va shu zahoti sekundomer bosiladi.
4. Rosa 2 daqiqa o'tgandan so'ng 3 ml 20% li sulfat kislota eritmasi qo'shib, reaksiya to'xtatiladi.

5. Nazorat namunasiga vodorod peroksidi o'rniga 0,5 ml distillangan suv qo'shib, yuqoridagi jarayon takrorlanadi.

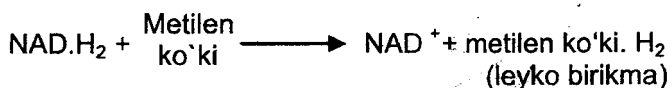
6. Tajriba va nazorat namunalari 1 sm li kyuvetada 610 nm (qizil svetofiltrda) distillangan suvga nisbatan kolorimetrlanadi.

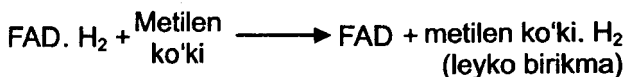
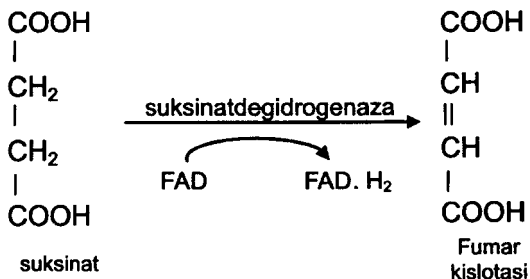
### 7.1.5. Limon kislota sikli degidrogenaza fermentlari faolligini aniqlash

Organizmida bir qator substratlar to'g'ridan-to'g'ri degidrogenazalar ta'sirida degidririlanadi. Bular orasida sitrat sikli (uchkarbon kislotalar yoki Krebs sikli)da qatnashuvchi izolimon,  $\alpha$ -ketoglutarat, kahrabo (suksinat), olma kislotalari alohida ahamiyatga ega. Substratlardan ajralgan vodorod (proton va elektronlar) reaksiya oxirida to'qima nafas olishi fermentlari kompleksi yordamida kislorodga uzatiladi. Masalan, sitrat siklidagi izolimon va suksinat kislotalari degidrogenazalarini to'qimalarda aniqlashda kislotalarning o'zi substrat sifatida ishtirok etadi, bunda vodorod akseptori sifatida metilen ko'kidani foydalaniladi.

To'qimalarda degidrogenazalar bor bo'lsa, metilen ko'ki rangsizlanadi, chunki ushbu organik bo'yoq qaytarilganda, rangsiz leykobirikmaga aylanadi. Izotsitratdegidrogenazaning kofermenti – nikotinamidadenindinukleotid ( $NAD^+$ ), suksinatdegidrogenazani esa flavinadenindinukleotid (FAD) qatnashadi. Suksinatdegidrogenaza tarkibida temir bor.

Izolimonkislota oksidlanib, degidririlanadi va dekarboksillanib,  $\alpha$ -ketoglutarat kislotasiga o'tadi, suksinat esa fumarat kislotasini hosil qiladi:





Izolimon kislotasining degidrogenazasini (izotsitratdegidrogenaza) katalitik ta'sirini tekshirishda substrat sifatida limon kislotasidan foydalaniladi, chunki ushbu substrat to'qima tarkibidagi akonitatgidrataza fermenti ishtirokida izolimon kislotasiga izomerlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** mushak to'qimasi.

**Reaktivlar:**

1. Natriy sitratning 3% li eritmasi (lakmus bo'yicha neytrallangan).
2. Natriy suksinatning 3% li eritmasi (lakmus bo'yicha neytrallangan).
3. Sulfosalitsil kislotasining 20% li eritmasi.
4. Metilen ko'king 0,002% li eritmasi.
5. Vazelin moyi yoki kerosin.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Termometrli suv hammomi.
3. Tomizgichlar.
4. Shpatel.
5. Shisha tayoqchalar.
6. Oyna qalami.

### **Ishni bajarilishi**

1. Uchta raqamlangan probirkaga shpatel bilan teng miqdorda mushak qiymasidan solinadi.

2. Birinchi probirkaga 10 tomchi natriy sitrat eritmasidan, ikkinchisiga – natriy suksinatdan, uchinchisiga (nazorat) esa 10 tomchi sulfosalitsil kislotasi eritmasidan tomiziladi.

3. Har bir probirkaga bir tomchidan metilen ko‘ki va 10 tomchidan vazelin moyi qo‘shiladi. Vazelin moyi eritma ustini qoplab, anaerob sharoit yaratadi va bu bilan qaytarilgan birikmalarning havo kislorodi bilan oksidlanishining oldi olinadi.

4. Probirkalar 37° C li suv hammomiga yoki termostatga joylashtirilib, sitrat va suksinat solingan probirkalardagi metilen ko‘kini asta-sekin rangsizlanayotganligi kuzatiladi.

5. Nazoratli probirkada metilen ko‘ki o‘zgarmaydi, chunki undagi ferment faolligi sulfosalitsil kislotasi bilan faolsizlantirilgan.

Sut degidrogenazasi va limon kislotasi sikli degidrogenazalarini aniqlashdagi amaliyot natijalari 18-jadval shaklida rasmiylashtiriladi.

*18-jadval*

Ferment manbayi	Ferment	Substrat	Ferment katalizlagan substrat	Vodorod akseptori	Qaytarilgan metilen ko‘ki	
					Faol ferment	Faolsizlantirilgan ferment

Xulosada degidrogenazalar ta'siridagi kimyoviy reaksiya xili va biologik oksidlanish jarayonida ushbu fermentlar ahamiyati ko'rsatiladi.

### **Nazorat savollari**

- 1. Katabolizm va anabolizm jarayonlari nima ularning bir-biri bilan qanday bog'liqligi bor?*
- 2. Makroergik birikmalarni sanab bering, ATF qurilishini yozing.*
- 3. NAD ga bog'liq degidrogenazalarga misollar keltiring. Ularning tuzilishi va biologik ahamiyati nimada?*
- 4. FAD ga bog'liq degidrogenazalar qanday reaksiyalarda ishtirok etadi, ularning tuzilishi qanday?*
- 5. Krebs sikli reaksiyalarida ishtirok etadigan substratlarni sanab bering, ularning ketma-ketligi qanday?*
- 6. Suksinatdegidrogenaza va sitoxromoksidaza fermentlari qaysi biokimyoviy reaksiyalarda ishtirok etadi?*
- 7. Izotsitratdegidrogenaza faolligini aniqlash usuli nimaga asoslangan?*
- 8. Nafas olish zanjiri fermentlarini joylashish ketma-ketligini yozib bering.*
- 9. Oksidlanishli fosforlanish nima? Bu jarayonda qanday makroergik birikmalar hosil bo'ladi?*
- 10. Kislorod yetishmaganda (gipoksiya) nafas olish zanjirida qanday o'zgarishlar kuzatiladi?*

## 8-bo'lim

### Uglevodlar almashinuvi

Uglevodlar o'simlik va hayvonlar dunyosida keng tarqalgan bo'lib, ular organizmda qurilish va metabolik funksiyalarni bajaradi. O'simliklarda fotosintez jarayonida uglerod oksidi va suvdan sintezlangan glukoza keyinchalik kraxmal sifatida to'planadi yoki o'simlik tuzilishining asosi bo'lgan sellulozaga aylanadi.

Odam va hayvonlar organizmi yog'lar va oqsillardan ayrim uglevodlarni sintezlash imkoniyatiga ega bo'lsa ham, ularning asosiy miqdori o'simlik oziqalari orqali qabul qilinadi.

Fiziologik ahamiyatga ega bo'lgan uglevodlarning tuzilishi va xususiyatini bilgan holda ularning moddiy va energetik ta'minotidagi fundamental rolini tushunish mumkin. Uglevodlar orasida olti uglerodli shakar – glukoza nihoyatda ahamiyatli hisoblanadi.

Chunki, oziqa tarkibidagi uglevodlarning asosiy qismi aynan glukoza shaklida qonga tushadi, jigarda uglevodlar glukozaga aylanadi va organizmdagi qolgan hamma uglevodlar glukozadan hosil bo'lishi mumkin.

Glukoza hayvon to'qimalarida (kavsh qaytaruvchi hayvonlardan tashqari) asosiy yoqilg'i manbayi sifatida foydalaniladi, embrion rivojlanishida esa universal energetik material hisoblanadi.

U energiyani saqlanish shakli bo'lgan yuqori darajada maxsus funksiyani bajaruvchi glikogenga aylanadi, undan nuklein kislotalar tarkibini tashkil etuvchi riboza, sut disaxaridi laktoza tarkibiga kiruvchi galaktoza hosil bo'ladi.



Ba'zi uglevodlar murakkab lipidlar strukturasi ishtirok etadi, oqsillar bilan glikoproteidlar va proteoglikanlarning qurilishida qatnashadi.

Uglevodlar almashinuvini buzilishi bilan qandli diabet, galaktozemiya, glikogen to'planishi tizimini o'zgarishi, sut iste'mol qila olmaslik kabi bir qator kasalliklarni kelib chiqishi uzviy bog'liq.

Hujayralarda glukoza kislorodli sharoitda ikkiga – dixotomik va apotomik bo'linishi yo'li bilan parchalanadi. Bunda  $NADH_2$ ,  $NADPH_2$ , kofermentlar va fosforlangan birikma hosil bo'lishi ATF sinteziga olib keladi. Uglevodlar parchalanish jarayonida organizm hayot faoliyati ta'minoti uchun zarur bo'lgan energiyaning asosiy qismi ajraladi.

Hosil bo'lgan energiya qisman issiqlik energiyasiga aylanib, badan haroratini saqlab turishga sarflanadi, qisman makroergik fosfor birikmalari ko'rinishida, asosan adenozinuchfosfat shaklida (ATF) to'planadi.

ATF ga bog'langan energiyadan keyinchalik har xil hayotiy funksiyalarni ijrosi uchun lozim bo'lgan birikmalar biosintezida, mushak tolalari qisqarishida, nerv impulsi o'tishida, sekretsiya xizmatida va boshqalarda foydalaniladi.

Uglevodlar kimyoviy tabiati bo'yicha ko'p atomli spirtlarning aldegidlari yoki ketonlari hisoblanadi. Ular ikkita asosiy sinflarga – **monosaxaridlar** (triozalar, tetrozalar, pentozalar, geksozalar va boshqalar) va **polisaxaridlarga** bo'linadi.

Polisaxaridlar, o'z navbatida, tarkibida ikkitadan o'ntagacha monosaxarid birligi tutgan oligosaxaridlarga va yuqori darajali polisaxaridlarga taqsimlanadi. Yuqori darajali polisaxaridlar qatoriga glikogen, selluloza va kraxmal kabi muhim moddalar kiradi.

Uglevodlar bir-biridan molekulasining tuzilishi bilan bog'liq bo'lgan xususiyatlari asosida farqlanadi. Uglevodlarda oksidlanishga oson beriladigan guruhi karbonil hisoblanadi. Shu sabab

barcha monosaxaridlar va strukturasi erkin glikozidli gidroksili bo'lgan oligosaxaridlar qaytaruvchi xususiyatiga, mutarotatsiya xossasiga (uglevodning  $\alpha$ - va  $\beta$ -shakli bo'lishiga sabab) ega bo'lib, gidrozonlar va ozazonlar hosil qiladi.

Tarkibida erkin glikozidli gidroksili bo'lmagan oligosaxaridlar, masalan, saxaroza qaytaruvchi xususiyatiga, mutarotatsiya xossasiga ega emas va gidrazonlar hamda ozazonlar hosil qila olmaydi. Ko'rsatilgan xususiyat polisaxaridlarda ham uchramaydi, chunki ularning molekulasida erkin glikozidli gidroksillar juda ham kam.

Tarkibida olti atomli uglerod saqlagan monosaxaridlar orasida glukoza, fruktoza (levuloza, meva qandi) va sut qandi tarkibiga kiruvchi galaktoza keng tarqalgan. Odam organizmi qonida va to'qimalar suyuqligida asosan glukoza qatnashadi. Glukozani sifat va miqdoriy aniqlashda qo'llaniladigan ko'pchilik usullar uning qaytaruvchanlik xususiyatiga asoslangan.

## 8.1. Uglevodlarning oraliq almashinuvi

Odam va hayvon organizmida uglevodlar ovqat hazm qilish yo'llaridan qonga monosaxarid ko'rinishida, asosan fiziologik nuqtayi nazardan juda muhim bo'lgan glukoza shaklida so'riladi. Glukoza inson va hayvon barcha to'qimalarida uchraydi, ma'lum miqdorda hamma vaqt qonda bo'ladi, ortiqcha miqdori jigar va mushak to'qimalarida polisaxarid – glikogen sifatida to'planadi.

Glukoza va glikogenni to'qimalarda oksidlanishi oqibatida hosil bo'lgan energiya organizm funksiyalarini bajarilishida asosiy manba bo'lib xizmat qiladi. To'qimalar yetarli darajada kislorod bilan ta'minlanganda uglevodlar o'zlarining oxirgi unumlari  $\text{CO}_2$  va suvgacha oksidlanadi.

Kislorod tanqisligida, masalan, mushaklar ishini zo'riqishida uglevodlar anaerob sharoitda glikoliz deb ataluvchi sut kislotasi-gacha parchalanadi. Uglevodlar almashinuvining asosiy oraliq

mahsuli glukoza va fruktozaning fosforli unumlari parchalanishidan – piruvat, laktat hosil bo‘ladi.

### **8.1.1. Glikogen miqdorini jigarda antron reaktivi bilan aniqlash**

Glikogen ( $C_6H_{10}O_5$ )n polisaxarid bo‘lib, odam va hayvon organizmida uglevodlarning asosiy zaxira shaklidir. Organizm hayot faoliyatida jigarning glikogen va glukoza hosil qilish funksiyasi alohida o‘rin tutadi. Buning asosida bir tomondan, uning qon tarkibidagi glukozadan glikogenni sintezlashi bo‘lsa, ikkinchi tomondan organizm ehtiyojiga qarab zaxiradagi glikogenni glukozagacha parchalab, qonga chiqarishi yotadi.

Odam va sut emizuvchi hayvonlarning jigaridagi glikogen miqdori uning og‘irligini 2–8% ini, ayrim holatlarda esa 15–20% ini tashkil etishi mumkin. Jigar patologiyasida, ayniqsa, gepatotrop zaharlar va farmakologik preparatlar ta’sirida jigarda glikogen sintezini buzilishi oqibatida uning miqdorini kamayishi kuzatiladi.

Masalan, to‘rtxloruglerodi ( $CCl_4$ ), geliotrin, fosfor organik preparatlari bilan xronik zaharlanganda jigarni glikogen sintez qilish funksiyasida katta o‘zgarishlar kuzatilgan. Glikogen miqdorini antron bilan aniqlash usuli asosida uni konsentrlangan sulfat kislotasi ishtirokida ko‘k rangli kompleks hosil qilishi yotadi. Rangning jadalligi glikogen konsentratsiyasiga bog‘liq.

**Tekshiriluvchi material:** eritrotsitlar.

**Reaktivlar:**

1. Glukozaning 5% li standart eritmasi.
2. O‘yuvchi kaliyning 30 % li eritmasi.
3. 96° li etil spirti.
4. Antron reaktivi-0,3 % antronning konsentrlangan sulfat kislotasidagi eritmasi (solishtirma massasi 1,84). (Ko‘rsatilgan

kislota konsentratsiyasi quyidagicha tayyorlanadi: 100 ml hajmdagi kolbaga quyilgan 20 ml distillangan suvga ehtiyotlik bilan kolba belgisigacha solishtirma massasi 1,84 bo'lgan kimyoviy toza sulfat kislotasi to'ldiriladi. Antron reaktivi tajriba o'tkaziladigan kuni tayyorlanadi).

### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Pipetkalar.
3. Suv hammomi.
4. Shisha tayoqcha.
5. Sentrifuga, FEK.

### **Ishni bajarilishi**

1. 0,5 g yangi hayvon jigarini 3 ml 30 % li o'yuvchi kaliy saqlagan probirkaga solinadi va qaynab turgan suv hammomida 20–30 daqiqa davomida gomogen eritma holatiga kelguncha ushlab turiladi.

2. So'ngra probirkaga 96° C etil spirtidan 4 ml qo'shib, shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtiriladi va suv hammomida 30–40 soniya davomida qaynaguncha ushlab turiladi.

3. Probirka suvda sovutilib, aylanish tezligi 3000 bo'lgan sentrifugaga 15 daqiqaga qo'yiladi.

4. Probirkadagi cho'kma distillangan suvda eritilib, 100 ml li kolbaga o'tkaziladi va yaxshilab aralashtirilgach, eritma hajmini 100 ml ga yetkaziladi.

5. Eritmadan 1 ml probirkaga olinadi, boshqa probirkaga esa 1 ml glukozaning standart eritmasi solinadi. 2 ta boshqa probirkalarga 1 ml dan distillangan suv quyib, nazorat sifatida foydalaniladi.

6. Hamma probirkalarga 6 ml dan antron reaktivi qo'shib, aralashtiriladi va 10 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga qo'yiladi. Probirkalar sovuq suvda sovutilib, standart va tajriba namunalari nazoratga nisbatan 660 nm 10 ml li kyuvetalarda qizil svetofiltrda kolorimetrlanadi. Glikogen miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$\frac{0,05 \text{ mg} \cdot E_{\text{tajriba}} \cdot A \cdot B \cdot 10 \text{ (g/kg)}}{E_{\text{standart}} \cdot 1000 \text{ mg} \cdot 1,1}$$

Bunda: 0,05 mg – 1ml standart eritmadagi glukoza miqdori;

A – glikogen eritilgan suvning miqdori;

B – 100 g jigar bo‘lagi;

1,1 – glukoza va glikogenning ekstinksiya nisbati.

Normada och qolgan kalamushning jigaridagi glikogen miqdori 15–20 g/kg, to‘qida 40 g/kg gacha. Tekshirish natijalariga sulfat kislotasining tozaligi va antron reaktivining tayyorlangan muddati ta‘sir qiladi.

### 8.1.2. Glikogenoliz – mushak to‘qimasi fermentlari ta‘sirida

Uglevodlarning to‘qimalarda oksidlanishi natijasida ajralgan energiya makroergik fosforli birikmalarda, asosan ATF da to‘planib reaksiya fermentlar kompleksi ta‘sirida ikki xil yo‘l bilan amalga oshadi:

a) kislorodsiz sharoitda – anaerob parchalanish – glikoliz va glikogenoliz;

b) kislorod ishtirokida – aerob parchalanish.

Ikkala yo‘l hujayralarni ATF bilan ta‘minlaydi. Ikkinchi yo‘lda hosil bo‘lgan energiya miqdori (1 ta glukoza qoldig‘iga 32 gramm-molekula ATF), birinchi yo‘lga nisbatan (1 molekula glukozaga glikolizda 2 va glikogenolizda 3 gramm-molekula ATF hosil bo‘ladi) bir necha marta ko‘p. Agar anaerob parchalanishda boshlang‘ich uglevod glikogen bo‘lsa, unda mazkur jarayon **glikogenoliz** deb nomlanadi, agar glukoza bo‘lsa, **glikoliz** deb ataladi.

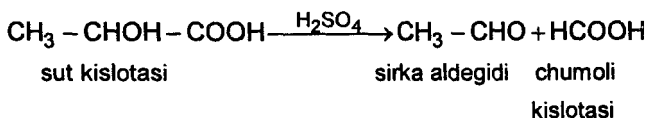
Glikogeni o‘zgarishi uni fosforoliz jarayoniga uchrashi bilan boshlanadi, bu vaqtda glikogeni ferment ta‘sirida parchalanishi anorganik fosfat kislotasi va fosforilaza fermenti ishtirokida bajariladi. Fosforilaza ta‘sirida glikogen strukturasiidagi  $\alpha$ -glikozid

bog'lari uzilib, glukozo-1-fosfat ajralib chiqadi. Glukozo-1-fosfat fosfoglukomutaza fermenti ta'sirida glukozo-6-fosfatga o'tadi.

Agar uglevodlarning anaerob parchalanishi glukozadan boshlansa, unda boshlang'ich birlamchi bosqichida glukozo-6-fosfat hosil bo'ladi. Ushbu reaksiya glukozani geksokinaza fermenti ta'sirida adenozintrifosfat kislotasi (ATF) hisobiga transfosforil-lanishi natijasida bajariladi. Glukozo-6-fosfat hosil bo'lgandan keyingi glikogenoliz va glikoliz yo'llari o'xshash.

Reaksiya davomida oraliq unumlar sifatida fruktozo-6-fosfat, fruktozo-1,6-bisfosfat, triozofosfatlar, piruvat hosil bo'ladi, oxirgi unumi esa sut kislotasi (laktat)dan iborat. Mushaklarda glikogenoliz va glikoliz jarayoni haqida sut kislotasini hosil bo'lishi bo'yicha fikr yuritiladi, chunki sut kislotasini hosil bo'lishi mushakdagi glikogeni parchalanishida va oraliq bosqichlarida ishtirok etuvchi fermentlar kompleksi ta'siriga bog'liq.

Sut kislotasini aniqlash uni konsentrlangan sulfat kislotasi ta'sirida sirka aldegidga o'tishiga asoslangan bo'lib,



sirka aldegidini veratrol bilan reaksiyaga kirishishi natijasida hosil bo'lgan rangli reaksiya (pirokateksinning dimetil efiri) bilan ochiladi.

**Tekshiriluvchi material.** Kalamush yoki quyon mushagi muz ustida tezlikda qaychi bilan maydalanadi.

### **Reaktivlar:**

1. Fosfatli bufer, 0,1 m, pH-8,0 (tayyorlanishi 18-ilovada).
2. Glikogenning 1% li eritmasi(tayyorlanishi 19-ilovada). Zarurat bo'lganda glikogen o'rnida 1% li kraxmal eritmasidan yoki 1% li glukozaga eritmasidan foydalanish mumkin.

3. Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi.
4. Vazelin moyi.
5. Mis sulfatning 10 %li eritmasi.
6. Kalsiy gidroksidi- $\text{Ca(OH)}_2$ , kukuni.
7. Sulfat kislotasi, konsentrlangan.
8. Veratrolning etil spirtidagi 1%li eritmasi. Veratrolni gva-yakol (pirokatexinning monometil efiri ) bilan almashtirish mumkin.

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. 1 ml va 3 ml pipetkalar.
4. Apteka tarozilari.
5. Tana haroratigacha isitilgan suv hammomi (termometr bilan) yoki termostat (37° C).
6. Qaynab turgan suv hammomi.
7. Qog‘oz filtrli voronkalar.
8. Shisha kurakchalar.
9. Muz.

### **Ishni bajarilishi**

1. “H” va “T” (“H” – nazorat, “T” – tajriba) harflar bilan belgilangan ikkita probirkaga 3 ml dan fosfat buferi va 1ml dan 1% li glikogen eritmasi (kraxmal yoki glukoza) olinib, o‘sha zahoti nazorat probirkasiga oqsillarni cho‘ktirish va mushak to‘qimasidagi fermentlar faolligini to‘xtatish uchun 1 ml 10% li uchxlorsirka kislotasidan qo‘shiladi.

2. Ikkala probirkaga sovuq sharoitda maydalangan yangi mushakdan 1 gr dan qo‘shib, yaxshilab aralashtirilgach, ustiga havo kislorodi bilan aloqasini to‘xtatish maqsadida 10 tomchidan vazelin moyi tomiziladi.

3. Ikkala probirka 37° C li suv hammomida yoki termostatda 1–2 soat davomida inkubatsiyalanadi va tajriba probirkasiga 1 ml

10 % li uchxlorsirka kislotasi qo‘shib, aralashtirilgach, probirkadagi suyuqliklar qog‘oz filtr orqali “H” va “T” belgili toza probirkalarga filtrlanadi.

4. Filtratlardan 1 ml dan toza “H” va “T” probirkalarga olinib, sut kislotasini aniqlashga xalaqit beruvchi uglevodlarni cho‘ktirish uchun har bir filtratga 3–4 tomchi mis sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ) ning 10 %li eritmasidan, kalsiy gidroksidi kukunidan yarim kurakcha qo‘shib vaqti-vaqti bilan shisha tayoqcha yordamida aralashtirilib turilgan holda 10 daqiqaga qoldiriladi.

5. Ikkala probirkadagi suyuqlik qog‘oz filtr orqali filtrlanadi (filtr qog‘ozdagi cho‘kma tashlanadi). Filtratli probirkalar muzli suvga joylashtirilib, ehtiyotlik bilan chayqatilib turilgan vaziyatda tomchilatib 20 tomchi konsentrlangan sulfat kislotadan tomiziladi (kuchli qizib ketishida sut kislotasi kuyishi mumkin) va qaynab turgan suv hammomida 4 daqiqa ushlanadi.

6. Ko‘rsatilgan vaqt o‘tgach, probirkalar tezlikda sovutiladi va har bir probirkaga 1 tomchidan veratrolning 1%li eritmasidan tomizilib, asta chayqatiladi va 20 daqiqagacha qoldiriladi.

7. Mushak to‘qimalaridagi glikogenoliz fermentlari 10 %li uchxlorsirka kislotasi bilan faolsizlantirilmagan tajriba probirkasida qizil yoki pushti rangni hosil bo‘lishi, nazorat probirkasida esa fermentativ sharoit 10 % li UXSK bilan faolsizlantirilgani uchun qizil rangning jadalligi ancha kamligi kuzatiladi.

Nazorat namunasidagi xira rang mushak tarkibidagi tajriba o‘tkazilganiga qadar hosil bo‘lgan sut kislotasiga bog‘liq.

Tajriba natijalari 19-jadval shaklida rasmiylashtiriladi.



### Glikogenoliz (glikoliz)

Substrat	Glikolitik fermentlar manbayi	Sut kislotasining veratrol bilan reaksiyasi (rangning jadalligi)		Rangning taqqoslash darajasi "T" va "N"	Sut kislotasini aniqlash reaksiyasi nimaga asoslangan
		Tajriba "T"	Nazorat "N"		

Xulosada glikogenoliz qanday sharoit (muhit, harorat, havo kislorodi ta'siri)da bajarilganligi ko'rsatiladi.

#### 8.1.3. Qon tarkibidagi sut kislotasi miqdorini n-oksidifenil rangli reaksiyasi bilan aniqlash

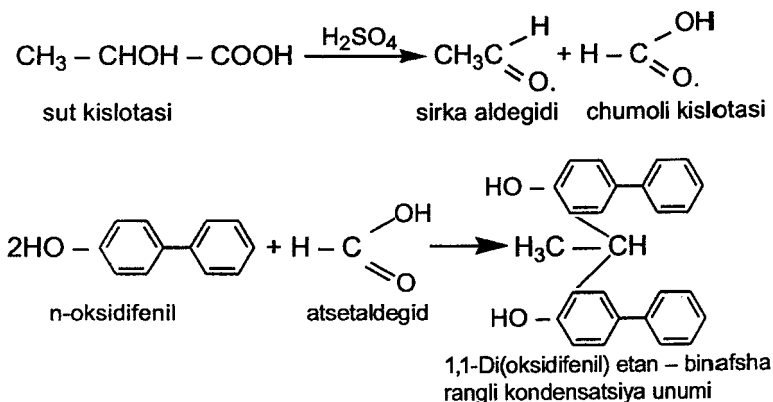
Sut kislotasi glikoliz va glikogenoliz jarayonlarining oxirgi unumi hisoblanadi. Sut kislotasi qon oqimi bilan jigarga tushadi va jigarda uning ko'p qismi glikogenga aylanadi, ma'lum qismi esa yurak va mushakda iste'mol qilinadi.

Sog'lom odam qonida sut kislotasining mushaklar harakatsizligi holatidagi miqdori 0,6–1,7 mmol/l (5–15 mg%) atrofida, jismoniy harakat vaqtida sut kislotasining mushaklarda to'planishi kuzatiladi, unda uning qondagi miqdori keskin oshadi va normaga nisbatan 5–10 marta ko'payishi mumkin. Yangi tug'ilgan chaqaloqlarda sut kislotasining qondagi miqdori 2,0 mol/l dan 2,3 mol/l gacha (18–22 mg% gacha), so'ngra asta-sekin kamaya boshlaydi va katta yoshdagi bolalarda uni 1,0–1,7 mmol/l (9–15 mg%)ga yetadi.

Qon tarkibida sut kislotasi miqdorini oshishi har xil kasalliklarda (gipoksiya, oʻpka kasalliklari, yurak-qon tomir kasalliklari oqibatida qon aylanishining buzilishi va boshqalar) uglevodlarning aerob oksidlanishini buzilishi hamda jigarining sut kislotasini glukozaga va glikogenga aylantirish imkoniyatini pasayishi (ayrim jigar kasalliklari) natijasida boʻlishi mumkin.

Kislorod gomeostazi holatini tekshirishda laktat konsentrasiyasining ortishi gipoksiya borligi yoki yoʻqligini aniq tasdiqlovchi ishonchli koʻrsatkich hisoblanadi, chunki laktatning toʻplanishi gemodinamika oʻlchamlarini buzilganligi bilan yaqindan bogʻliq. Shuning uchun laktat darajasining oʻzgarishiga qarab nafaqat gipoksiya holati, shu bilan birgalikda davolash choralarining samarasi, qoʻllanilayotgan dori votsitalarining effektivligi, bemorning tanglik, mushkul holatidan chiqib keta olish imkoniyati ( $<3,5\text{mmol/l}$  – 96% tirik qolish chegarasi;  $>9\text{mmol/l}$  – 5% – tiriklik chegarasi) haqida ham fikr yuritiladi.

Sut kislotasi miqdorini qonda aniqlash usuli uning konsentrlangan sulfat kislotasi bilan qaynatganda parchalanishidan hosil boʻlgan asetaldegidni n-oksifeniil bilan reaksiyaga kirishishi natijasida binafsha rangli kondensatsiyalangan fenol unumi hosil boʻlishiga asoslangan. Rangning jadalligi asetaldegid miqdoriga, binobarin laktat miqdoriga toʻgʻri proporsional.



**Tekshiriluvchi material:** qon.

**Reaktivlar:**

1. Uchxlorsirka kislotasining 10 % li eritmasi.
2. Mis sulfatning 20% li eritmasi.
3. Mis sulfatning 4% li eritmasi.
4. Kalsiy gidroksidi, maydalangan kukuni (kalsiy karbonat qo‘shimchasiz).
5. Konsentrlangan sulfat kislotasi, solishtirma zichligi – 1,84.
6. 0,5 % li n-oksidifenilning 1,5% li o‘yuvchi natriydagi eritmasi (tayyorlanishi 64-ilovada).
7. Sut kislotasining 100 mg % li standart eritmasi 106,55 mg sut kislotaning litiyli birikmasi ( $\text{CH}_3\text{CHOH}-\text{COOLi}$ )ni 100ml suvda eritiladi. Eritma sut kislotasiga hisoblaganda 100 mg % li sut kislotasi saqlaydi. Uni suyultirib tarkibida 5, 10, 20, 40, 60, 80 mg % sut kislotasi saqlagan eritma tayyorlanadi. Olingan eritmalar tezlikda ishlatilishi kerak. Standart eritma kalsiy va ruxli sut kislotalaridan ham tayyorlash mumkin, buning uchun toza sut kislotasi miqdori bo‘yicha qayta hisoblanadi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 0,1, 1 va 5 ml hajmli mikropipetkalar.
3. Barmoqdan qon olish ninasi (skarifikator).
4. Muz solingan kosacha.
5. Sentrifuga.
6. Apteka tarozisi.
7. Shisha tayoqchalar.
8. Qaynab turgan suv hammomi.
9. Termostat yoki 30° C li suv hammomi.
10. FEK.

**Ishni bajarilishi**

1. Sentrifugali probirkalarga 0,5 ml suv va barmoqdan olingan 0,1–0,2 ml qon quyiladi, mikropipetka shu suv bilan chayilib,

aralashiriladi. Oqsillarni cho'ktirish uchun 1ml 10 % li uchxlor-sirka kislotasidan qo'shiladi, muzli idishda 10–15 daqiqa turgach, 3000 aylanishda 3 daqiqa davomida sentrifugalanadi.

2. Sentrifugat boshqa sentrifugali probirkaga o'tkazilib, 0,5ml 20 % mis sulfat eritmasi va uglevodlarni cho'ktirish uchun 0,5 g kalsiy gidroksidi kukunidan qo'shilganda, aralashma feruza rangga kiradi. Aralashmadagi uglevodlarni to'la cho'kish uchun 30 daqiqaga qoldiriladi va so'ngra 3000 aylanish tezligida sentrifugalanadi.

3. Sut kislotasini asetaldegidga o'tkazish uchun sentrifugat toza probirkaga olinib, 0,05 (1 tomchi) 4% li mis sulfat eritmasidan tomi-ziladi, yaxshilab chayqatilgach, muzli idishda turgan holatida ehti-yotlik bilan shisha tayoqcha bilan to'xtovsiz aralashtirib turilgan holda 3 ml muzda sovutilgan konsentrlangan sulfat kislotasidan qo'shiladi. Aralashma xona haroratiga yetgach, 5 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi.

4. Aralashma sovuq suvda 20° C gacha sovutilgach (yetar-li darajagacha sovutilmasa n-oksidifenilni parchalanishga olib keladi), 0,05 ml 1,5 % li n-oksidifenilning ishqoriy eritmasidan qo'shiladi. n-oksidifenil iloji boricha probirka devoriga yopishib qolmasligi kerak.

5. Probirka vaqti-vaqti bilan chayqatilib turilgan holda (cho'kma hosil bo'lmasligi uchun) 30 daqiqaga 30° C li suv hammomi yoki termostatga joylashtiriladi. Shu vaqt oralig'ida reaksiyon aralashma ko'k rang hosil qiladi (qizil-binafsha rangga kirishi suv haroratining nihoyatda yuqoriligini ko'rsatadi).

6. Probirka 90 soniyagacha qaynab turgan suv hammomiga joylashtirilganda ko'k rang o'zgarmas binafsha rangga o'tadi. Eritma sovutilib konsentrlangan sulfat kislotasiga nisbatan 574 nm to'lqin uzunligida (qizil svetofiltr) fotometrlanadi.

7. Sut kislotasining standart eritmaları ham shu kabi tekshirilib kalibri grafik tuziladi. Sut kislotasining miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{a \cdot 100}{0,1} \text{ mg \% sut kislotasi,}$$

bunda:

$a$  – standart egri chiziq

bo‘yicha topilgan mg dagi sut kislotasi miqdori; 0,1 tekshirishga olingan ml dagi qon miqdori.

**Eslatma.** Mazkur usulda foydalanilayotgan idishlarning nihoyatda tozaligi katta ahamiyatga ega.

#### **8.1.4. Qon tarkibidagi piruvat (pirouzum kislotasi) miqdorini aniqlash**

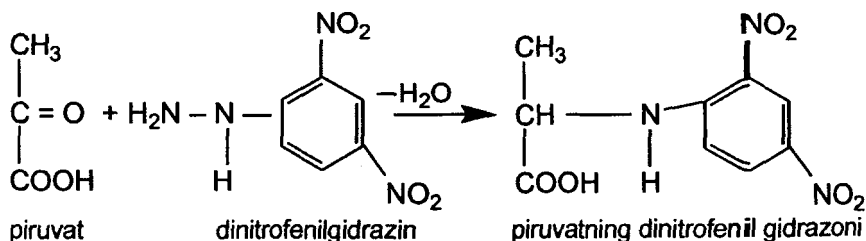
Pirouzum kislotasi uglevodlar almashinuvining markaziy metabolitlaridan hisoblanadi. Glikoliz va glikogenoliz jarayonida sut kislotasidan, bir qator aminokislotalar va glitserindan hosil bo‘lgan pirouzum kislotasi organizmning energetik ehtiyojiga qarab hujayralarda atsetil-KoAgacha oksidlanib, Krebs sikliga kirishi yoki boshqa moddalar biosintezida (laktat, oksaloatsetat, sirka kislotasi, aminokislotalar va boshqalar) qatnashishi mumkin.

Normada qondagi pirouzum kislotasining miqdori 0,1–0,13 mmol/l ga to‘g‘ri keladi. Ushbu ko‘rsatkichni organizmda tiamin (vitamin B<sub>1</sub>) yetishmovchiligida, piruvatdegidrogenaza kompleksi faolligi ingibirlanganda bir qator kasalliklar (diabet, jigar kasalligi, yurak faoliyati buzilishi)da ortishi kuzatiladi.

Pirouzum kislotasini miqdoriy aniqlash 2,4-dinitrofenil gidrozinning (2,4-DNFG) pirouzum kislotasi bilan reaksiyaga kirishib, 2,4-dinitrofenilgidrozonni hosil qilishiga asoslangan. U boshqa gidrozonlardan farqli o‘laroq, toluolda yaxshi eriganligi uchun uni reaksiyon aralashmadan oson ekstraksiya qilib olish mumkin.

Piruvatning toluolli ekstraktiga ishqorning spirtli eritmasi qo‘shilganda pirouzum kislotasining 2,4- dinitrofenilgidrozoniga xos qizil-sarg‘ish rang paydo bo‘ladi. Rangning jadalligi tekshi-

rilayotgan eritmadagi pirouzum kislotasining miqdoriga to'g'ri proporsional:



**Tekshiruvchi material:** qon, siydik va organlar to'qimasi.

**Reaktivlar:**

1. Uchxlorsirka kislotasining (UXSK) 5% li eritmasi.
2. 2,4-dinitrofenilgidrazinning 2 mol/l xlorid kislotasi eritmasidagi 0,1%li eritmasi (tayyorlanishi 21-ilovada).
3. Toluol (tayyorlanishi 22-ilovada).
4. Natriy karbonatning 10% li eritmasi.
5. Natriy gidroksidning 1,5 mol/l eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. 1 va 5 ml hajmdagi pipetkalar.
3. 25 ml hajmdagi byuretka.
4. Sentrifuga.
5. FEK .

**Ishni bajarilishi**

1. Tahlil uchun 1 ml biologik suyuqlik ( qon, siydik) yoki 1 g to'qima olinadi. Agar tekshirishga to'qima olinsa, u 10–15 daqiqa davomida 5% li sovutilgan uchxlorsirka kislotasining 1 : 9 nisbatdagi eritmasida hovonchada yaxshilab eziladi, so'ngra tezligi daqiqasiga 3000 marta aylanishda 10 daqiqa sentrifugalanadi.

2. To'qimaning oqsilsiz qismidan (filtrat) 1 ml, nazorat sifatida 1 ml distillangan suv probirkalarga olinadi. Tahlil qilinayotgan har bir namunadan 2–3 ta parallel namuna olish maqsadga muvofiqdir. Tajriba va nazorat uchun olingan probirkalardagi suyuqliklar-

ga 0,5 ml dan 2,4- dinitrofenilgidrazin eritmasidan quyib, aralashtiriladi, 5 daqiqadan so'ng suv bilan to'yintirilgan toluoldan 2,5 ml qo'shilib, 1–2 daqiqa chayqatiladi.

3. Eritma qavatlariga ajralgach, toza probirkaga ustki toluolli qatlamidan 1ml olib, ustiga 2 ml kaliy gidroksidining 2,5 % li spirtidagi eritmasidan qo'shiladi va 15 daqiqadan so'ng FEK ko'k svetofiltrida ( 465 nm to'lqin uzunligida ) fotometrlanadi.

4. Hisoblashda kalibrlash egri chizig'idan foydalaniladi. Buning uchun bir nechta raqamlangan probirkalar olib, pirouzum kislotasining standart eritmasidan 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 va 1,0 ml quyiladi va ularning har birining umumiy hajmi 1 ml ga yetguncha distillangan suv qo'shiladi. Standart eritmalar bilan qolgan ishlar yuqorida keltirilganidek bajariladi.

Kalibrlash egri chizig'i chizish uchun ordinata o'qiga o'lchanagan optik zichlik, abssissa o'qiga pirouzum kislotasining mg dagi konsentratsiyasi qo'yiladi. Hisoblash kalibrlash grafigi asosida, suyultirish darajasini hisobga olgan holda bajariladi.

Ish natijasini rasmiylashtirishda topilgan pirouzum kislotasi miqdorini o'zgarish sabablari to'g'risida xulosa chiqariladi.

### **8.1.5. Qon zardobida sial (neyramin) kislotasi miqdorini aniqlash**

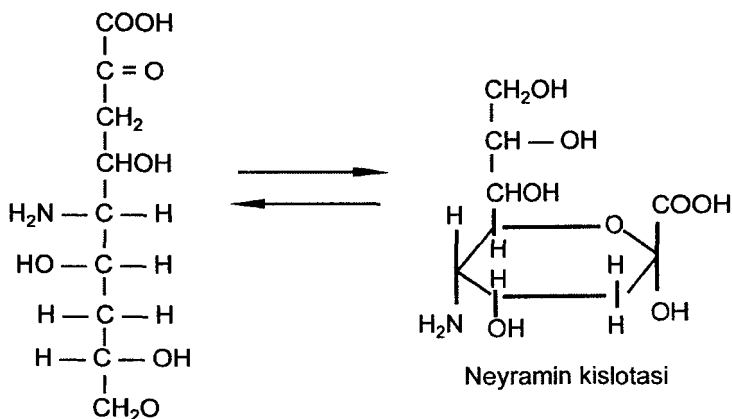
Neyramin kislotasi kimyoviy tuzilishi bo'yicha mannozamin va pirouzum kislotasining aldolli kondensatsiyasidan iborat.

N-atsetilneyramin kislotasi unumi bo'lgan sial kislota organizmda muhim ahamiyatga ega bo'lib, glikoproteidlar tarkibiga kiruvchi polisaxaridlarning oxirgi qismida joylashgan. Glikoproteidlar organizmda himoya va tayanch funksiyasini bajaradi. Ayrim kasalliklarda, jumladan, yallig'lanish jarayonlarida (revmatizm, nefroz, miokard infarkti, o'pka va o'sma kasalliklari va boshqalarda) qon tarkibi va to'qimalarda sial kislota miqdori oshadi.

Binobarin, qon zardobida sial kislota miqdorini aniqlash kasallik holatini va davolash choralarini aniqlovchi ko'rsatkich hisob-

lanadi. Sogʻlom odam qon zardobida sial kislotasi miqdorini oʻrtacha koʻrsatkichi 0,62–0,73 g/l (62–73 mg/dl)ni tashkil qiladi.

Sial kislotasi miqdorini aniqlashda qoʻllanilgan mazkur uslub qon zardobiga uchxlorsirka kislotasi qoʻshilganda gidrolizlanish reaksiyasi natijasida neyramin kislotasining ajralib chiqishiga asoslangan. Ajralgan neyramin kislotasi sirkali sulfat reaktivi bilan reaksiyaga kirishib, qoʻngʻir-pushti rangli birikma hosil qiladi. Rangli eritmaning ravshanlik darajasi sial kislotasi miqdoriga toʻgʻri proporsionaldir:



**Tekshirish materiali:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Sirka-sulfat reaktivi (95 g sirka kislotasi va 5 g konsentrlangan sulfat kislotasi aralashmasi).
2. 10 % li sirka-sulfat kislotasi eritmasi.
3. N-atsetil neyramin kislotasining standart eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Sentrifugali probirkalar.
3. 1;2 ml li pipetkalar.
4. 10 ml li oʻlchov silindrlari.
5. Suv hammomi.
6. Sentrifuga.



## **Ishni bajarilishi**

1. Quruq toza sentrifuga probirkalariga 1 ml qon zardobi, 1 ml uchxlorsirka kislotasi (UXSK) solib aralashtiriladi, probirka zarqog‘oz (folga) bilan berkitilib, neyramin kislotasini ajratish uchun qaynab turgan suv hammomiga rosa 5 daqiqaga qo‘yiladi.

2. Probirkalar suv hammomidan olingach, muzli suvda sovu-tilib, senrifugalanadi yoki ehtiyotlik bilan filtrlanadi. Agar senti-  
fugalansa, cho‘kma usti suyuqligi quruq probirkaga olinadi.

3. 2 ta probirka olib, birinchisiga 0,4 ml sentrifugat yoki fil-  
langan eritma, ikkinchisiga (nazorat) esa 0,4 ml distillangan suv  
solinadi. Har ikkala probirkaga sirka-sulfat kislotali reaktivdan  
5 ml dan quyiladi, probirkalar zarqog‘oz bilan berkitilib, qaynab  
turgan suv hammomida rosa 30 daqiqa ushlanadi.

4. Probirkalar suv hammomidan olingach, sovutiladi va hosil  
bo‘lgan rangli eritma yashil svetofiltrda (540 nm to‘lqin uzunligi-  
da), 1 sm qalinlikdagi kyuvetalarda nazoratga nisbatan FEKda  
kolorimetrlanadi.

Tajriba eritmalarining optik zichligini bilgan holda kalibrlangan  
egri chiziq bo‘yicha sial kislotasi aniqlanadi.

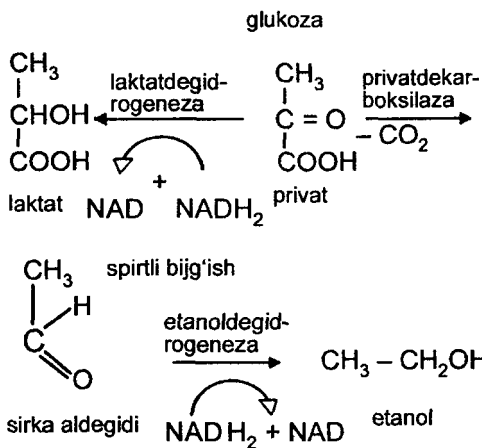
5. Kalibrlangan egri chiziq tuzishda tarkibida 0,05; 0,1; 0,2  
va 0,3 ml sial kislotasi saqlagan standart eritmalar (1 ml da 0,5  
mg) hajmini distillangan suv bilan 0,4 ml ga yetkaziladi. Barcha  
probirkalarga 5 ml dan sulfat-sirka kislotasi reaktividan quy-  
lib, arlashtiriladi, yuqorida bajarilgani bo‘yicha sial kislotasi-  
ning standart eritmasidagi miqdori aniqlanadi va ular asosida  
kalibrlangan egri chizig‘i tuziladi. Ordinata o‘qiga optik zichlik,  
abssissa o‘qiga standart eritmalaridagi sial kislotaning miqdori  
qo‘yiladi. Kesishgan nuqtalar bo‘yicha chiziq o‘tkaziladi.

Ishni rasmiylashtirishda olingan natijalar asosida sial kislota  
miqdori aniqlanib, normada zardob tarkibidagi sial kislotasi  
miqdori bilan solishtiriladi va xulosada uning klinik ahamiyati  
ko‘rsatiladi.

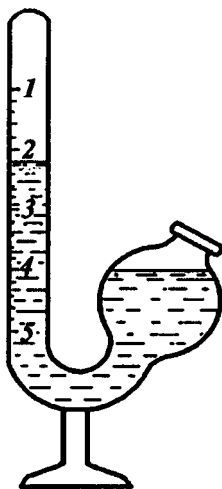
### 8.1.6. Glukozaning spirtli bijg'ishi

Glukozani anaerob sharoitda achitqi mikroorganizmi fermentlari ishtirokida spirt va uglerod oksidiga aylanishiga *spirtli bijg'ish* deb ataladi. Bijg'ish jarayonini kechishi uchun kislorod talab qilinmaydi, reaksiya mexanizmi yo'nalishi bo'yicha glukozo-6-fosfatdan boshlanib, pirouzum kislotasini hosil bo'lishi bilan tugaguncha mushak to'qimalaridagi glikolizning borishiga o'xshash. Bular o'rtasidagi farq hosil bo'lgan pirouzum kislotasining keyingi o'zgarishlariga bog'liq.

Glikolizda piruvat laktatdehidrogenaza ishtirokida qaytarilgan nikotinamidadenin nukleotid ( $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$ ) bilan o'zaro reaksiyaga kirishib, sut kislotasi (laktat) va oksidlangan nikotinamidadenin nukleotid ( $\text{NAD}^+$ )ni hosil qilsa, spirtli bijg'ishda piruvat avval sirka aldegidigacha dekarboksillanib, so'ngra  $\text{NAD} \cdot \text{H}_2$  yordamida etil spirtiga qaytariladi. Glukozadan tashqari boshqa geksosalar, shuningdek disaxaridlar – maltoza va saxaroza achitqi fermentlari ta'sirida monosaxaridlarga gidrolizlanib, bijg'ish reaksiyalariga beriladi.



Spirtli bijg'ish maxsus apparatlarda bajarilib, yig'ilgan uglerod oksidi yutilgan ishqor miqdori bilan aniqlanadi.



**4-rasm. Bijg'ish apparati.**

Bijg'igan suyuqlikda etanolni borligi yodoform hosil bo'lish reaksiyasi yordamida tasdiqlanadi.



**Tekshiriluvchi material:** xamir achitqisi.

**Reaktivlar:**

1. Yangi yoki quritilgan achitqi.
2. Glukozaning 5% li eritmasi.
3. Vinnokamen kislotasi (vino durdasidan hosil qilingan kislota)ning 1% li eritmasi.
4. Yodning kaliy yoddagi eritmasi (tayyorlanishi 11-ildovada).

**Jihozlar:**

1. Apteka tarozisi.
2. Hovoncha.
3. 50 ml o'lchamli silindr.

4. 50 ml li stakanlar.
5. Ikkita achitqi asbobi.
6. Termostat.
7. Qog'oz filtrli voronkalar.
8. Probirkali shtativ.
9. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. 0,5 g quritilgan yoki 1 g yangi nonvoy achitqisini hovonchada (yoki probirkada shisha tayoqcha bilan) maydalab, 5 % li glukoza eritmasining 5 ml da bir xil suyuq massa hosil bo'lguncha aralashtiriladi.

2. So'ngra 30 ml 5% li glukoza eritmasi saqlagan stakanga o'tkazilib, 1% li vinnokamen kislotasidan lakmus bo'yicha kuchsiz kislotali muhit hosil bo'lguncha qo'shiladi.

3. Bijg'itish apparatini kengaygan joyigacha suyuqlik to'ldirilib, 1–1,5 soatga 37° C li termostatga joylashtiriladi, apparat trubkasining ochiq qolgan qismi paxta tiqini bilan berkitiladi.

4. Glukozali achitqi asbobining yuqori qismida gaz ( $\text{CO}_2$ ) pufakchalari to'plana boshlaydi. Nazorat namunasidan gaz ajralmaydi. Trubkada yig'ilayotgan gaz uglerod oksidi ekanligini isbotlash uchun bijg'itish apparatini 10% li o'yuvchi natriy bilan to'ldirib, teshik og'zini bosh barmoq bilan berkitiladi. Bunda uglerod oksidi ishqorda yutilib, hosil bo'lgan vakuum barmoqni ichkariga torta boshlaydi.

Etanolni aniqlash uchun bo'sh probirkaga bijg'ituvchi apparat trubkasidan 1–2 ml filtrat olib, sariq rang hosil bo'lguncha yod eritmasidan tomchilab tomiziladi va kuchsiz olovda qizdirilganda etil spirtidan hosil bo'lgan yodofomga xos hid seziladi.

Xulosada apparatdagi tajriba va nazorat namunalarida gaz ( $\text{CO}_2$ )ni hosil bo'lishi taqqoslanadi va kuzatilgan o'zgarishga tushuncha beriladi.

## 8.2. Qon tarkibidagi glukoza miqdorini boshqarilishi

Qondagi glukoza miqdori bir qator murakkab nerv va gormonal mexanizmlar tomonidan boshqarilishi tufayli deyarli bir xil darajada – 3,6–6,1 mmol/l da saqlanadi. Glukoza miqdori ko‘rsatkichini nisbatan barqarorligi – glukoza toleranti (yoki glukoza gomeostazi)– asosiy sababi bir tomondan glikogenni parchalanishi hamda uni glukoza va uglevod bo‘lmagan moddalardan qayta sintezlanishi bo‘lsa, ikkinchidan, glukozani ichak traktidan so‘rilish tezligi va to‘qimalarda energiya ajratib, oksidlanishi jiddiy boshqarilish yo‘llariga bog‘liqligini bildiradi.

Glukoza miqdorini qonda kamayishi – gipoglikemiya, normal darajasidan ortishi esa – giperglikemiya deb nomlanadi. Agar glukoza miqdori yuqori darajalarga ko‘tarilsa, buyrak uning ma‘lum miqdorini siydikka ajratishi mumkin. Bu holat buyrak porogi (chegarasi) deb atalib, odatda uning chegarasi 7,8–8,9 mmol/l ga (140–160 mg%–100 ml qonda) to‘g‘ri keladi.

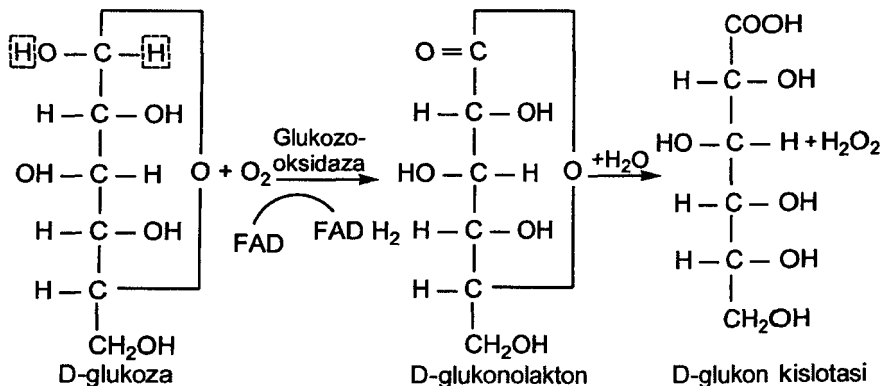
Giperglikemiya holati insulin yetishmovchiligida, oliy nerv tizimida qo‘zg‘alish jarayoni kuchayganda, qalqonsimon bez, buyrak usti bezi po‘stloq qismi gormonal funksiyalari oshganda (glukokortikoidlarning qondagi miqdorini oshishi oqsillardan glukoza hosil bo‘lishini kuchaytirish bilan birga glukozani to‘qimlarda foydalanishini tormozlaydi), buyrak usti bezi mag‘iz qismida adrenalin ko‘proq ishlanganda va gipofizdan AKTG keragidan ko‘proq ajralganda (AKTG – adrenokortikotrop gormoni buyrak usti bezi po‘stloq qismi glukokortikoidlarini ishlanishi va sekretsiyasini stimullaydi) kuzatiladi. Giperglikemiya holati uglevodlarni oziqa sifatida ortiqcha iste‘mol qilinganida ichakdan qonga katta miqdorda glukoza so‘rilishi natijasida ham uchraydi (ovqat yoki alimantar giperglikemiya), lekin bu ko‘rinish qisqa vaqt oralig‘ida 3–5 soat davomida normadagi miqdoriga qaytadi.

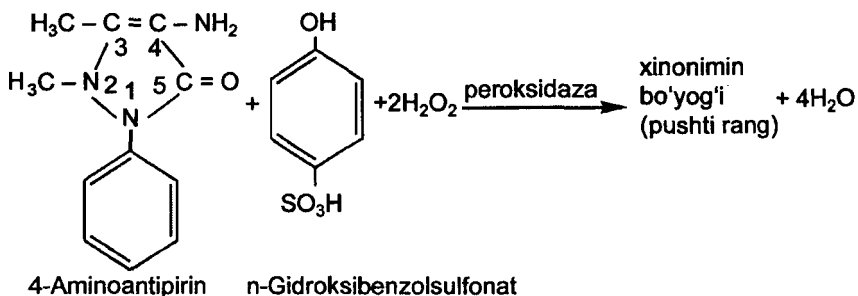
Glukoza darajasini qon tarkibida pasayishi – gipoglikemiya – qandli diabetni davolashda insulin dozasi oshirib yuborilganda, jigar parenximasi shikastlanishi oqibatida kelib chiqadigan kasalliklarda, ingichka ichakdan uglevodlarning so‘rilishi buzilganda, qalqon-simon bez, buyrak usti bezi po‘stloq va mag‘iz qismi, gipofiz bezi gormonlari ishlanishi yetishmasligida uchraydi.

### 8.2.1. Qonda glukoza miqdorini glukozooksidaza usulida aniqlash

Biologik suyuqliklarda glukoza miqdorini fermentativ usul bilan aniqlash glukozooksidazaning maxsus katalitik ta‘siriga asoslangan. Mazkur usul glukozani boshqa uglevodlar va uglevod bo‘lmagan qaytariluvchi moddalar birga bo‘lganda ham aniqlash imkoniyatiga ega. Glukozooksidaza (KF 1.1.3.4.) flavoproteinlarga kiradi, (M.m. 152 kDa), prostetik guruhi FAD.

Glukozooksidaza D-glukozaning birinchi uglerodidagi ikkita vodorod atomini havo kislorodiga tashilishini maxsus katalizlaydi. Fermentativ reaksiyani boshlanishidagi neytral modda – D-glukonolakton suv biriktirib, D-glukon kislotasiga aylanishida ekvimolyar miqdorda vodorod peroksidi hosil bo‘ladi:





Birinci reaksiyada hosil bo'lgan vodorod peroksidi xrendan olingan peroksidaza ta'sirida parchalanadi, ajralgan kislorod reaksiyon aralashmaga qo'shilgan xromogenli kislorod akseptori n-gidroksibenzolsulfonatni oksidlaydi. Oksidlanuvchi bo'yoq sifatida 4-aminoantipirindan foydalaniladi.

Benzol halqalarini oksidlanishida pushti rangli xanonimin bo'yog'i va suv hosil bo'ladi (2-reaksiyaga qarang). Glukoza miqdorini aniqlash bo'yalgan rang jadalligini o'lchashdan iborat bo'lib, tekshirilayotgan eritma optik zichligi glukozani kalibr-langan eritmalari rangi bilan taqqoslanadi.

Ushbu usul "haqiqiy" glukoza miqdorini aniqlash usuli deb ataladi, chunki qondagi boshqa qaytaruvchi moddalar (siydik kislotasi, glyutation, kreatinin) glukozooksidaza bilan bo'yalgan birikmalar bermaydi.

**Tekshiriluvchi material:** qon.

**Reaktivlar:**

1. Glukoza miqdorini qonda va siydikda glukozooksidaza usulida aniqlash uchun "Glukoza – FKD" reaktivlar to'plami (tayyorlanishi 23-ilovada)

1.1. Ishchi eritma: ferment-xromogenli aralashma. Kerakli miqdori – 10 (20) ml bitta tajriba uchun, kyuveta qalinligi 5 10) mm. Har bitta qo'shimcha o'lchashga kerak bo'lgan ishchi eritma 2,5 (5) ml.

1.2. Kalibrator: glukoza eritmasi (10 mmol/l) – 0,1 (0,2) ml ishchi eritma.

1.3. Antikoagulyant: natriy oksalat yoki natriy fluorid eritmasi – 1,8 (3,6) ml bitta aniqlashga, keyingi har bir aniqlash uchun – 0,9 (1,8) ml.

2. Tibbiyot spirti.

3. Distillangan suv.

**Eslatma:** qavs ichida ko'rsatilgan raqamlar fotoelektrokolorimetriklashda 10 mm kyuvetadan foydalanilganda olinadigan reaktiv miqdori.

#### **Jihozlar:**

1. 1 va 5 ml li pipetkalar.

2. Qon olish uchun 0,1(0,2) ml li pipetkalar.

3. Setrifuga va sentrifuga probirkalari.

4. FEK, 5 va 10 ml li kyuvetalar.

5. Probirkali shtativ.

6. Bir martali skarifikator (barmoqdan qon olishda qo'llaniladigan moslama).

#### **Ishni bajarilishi**

1. Sentrifugali probirkaga 0,9 (1,8) ml antikoagulyant eritmasidan olib, ustiga 0,1 (0,2) ml barmoqdan olingan qon qo'shiladi, aralashtirib, 5–7 daqiqa davomida 3000 aylanishda sentrifugalanadi.

2. Toza probirkaga olingan 0,5 (1,0) ml sentrifugatga 2,5 (5) ml ishchi eritmada qo'shiladi, chayqatilib, xona haroratida 25 daqiqaga qoldiriladi. Inkubatsiya vaqtining har 5–10 daqiqasida probirka chayqatilib turiladi.

3. Inkubatsiyadan so'ng tajriba namunasining optik zichligi tarkibida qon bo'lmagan nazoratga nisbatan 5 (10) mm kyuvetalarda 490–540 nm to'lqin uzunligida (ko'k svetofiltr) o'lchanadi.

4. Ish bajarilishi davomida parallel ravishda kalibrli namunalar ham tayyorlanadi. Ular tarkibida qon o'rnida 1 mmol/l miqdordagi glukoza bo'lib, tajriba namunasida ko'rsatilgan barcha ishlar takrorlanadi. Qondagi glukoza miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:



$$S = (E_0 / E_k) \cdot 10_1.$$

Bunda:

$S$  – glukozani mmol/l dagi miqdori;

$E_0$  – tajriba namunasining optik zichligi;

$E_k$  – kalibrlovchi namunaning optik zichligi;

10 – kalibratoridagi glukozaning mmol/l dagi miqdori.

Odam qoni zardobi yoki plazmasidagi glukozaning normadagi miqdori 3,6–6,1 mmol/l.

Tekshirish natijalari 20-jadvalda keltiriladi.

20-jadval

### Reagentlar tayyorlash sxemasi

Reaktivlar, ml	Namunalar					
	Tajriba		Kalibrli		Bo'sh	
Kyuveta, mm	0,5	10	0,5	10	0,5	10
1. Antikoagulyant	0,9	1,8	0,9	1,8	–	–
2. Qon	0,1	0,2	–	–	–	–
3. Sentrifugat	0,5	1,0	–	–	–	–
4. Kalibrator	–	–	0,1	0,2	–	–
5. Antikoagulyant kalibrator aralashmasi	–	–	0,5	1,0	–	–
6. Ishchi eritma	2,5	5,0	2,5	5,0	2,5	5,0
7. Distillangan suv	–	–	–	–	0,5	1,0

### Glukoooksidaza usulida qondagi glukozaning miqdoriy aniqlash

Tekshirish uchun olingan qon miqdori, ml	Glukoza eritmasining kalibrangan miqdori, mmol/l	Tajriba namunasining optik zichligi	Kalibrli namunasining optik zichligi	Glukozaning qondagi miqdori, mmol/l	Usulning asosi

Xulosada o'tkazilgan tekshirish natijasida olingan glukoza miqdori qondagi normal miqdori bilan taqqoslanadi va keltirilgan ko'rsatkichlar asosida – norma, giperglikemiya, gipoglikemiya haqida fikr yuritiladi.

#### 8.2.2. Qondagi glukoza miqdorini o-toluidin usulida aniqlash

Glukoza miqdorini aniqlash uchun qo'llaniladigan ba'zi usullar qon tarkibidagi hamma qaytariluvchi uglevodlar va uglevod bo'lmagan (glutution, kreatin, siydik kislotasi) birikmalarning umumiy yig'indisini aniqlaydi va natijada glukoza miqdori qondagi haqiqiy glukoza darajasidan birmuncha baland bo'ladi. o-toluidin va glyukzooksidaza usullari boshqa usullarga nisbatan biologik materiallarda haqiqiy glukoza miqdorini aniqlaydi.

Mazkur usul glukozani o-toluidin ishtirokida sirka kislotasi eritmasida qizdirilganda ko'k rangli birikma hosil qilishiga asoslangan. Rangning jadallik darajasi glukoza miqdoriga bog'liq.

**Tekshiriluvchi material:** barmoqdan olingan qon.

### **Reaktivlar:**

1. Uchxlorsirka kislotasi (UXSK) 30 g/l eritmasi.
2. o-toluidin reaktivi (tayyorlanishi 24-ilovada).
3. Glukozaning yangi tayyorlangan 27,8 mmol/l standart eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Sentrifuga probirkalari.
2. 0,1; 1,0 va 5,0 ml li pipetkalar.
3. Sentrifuga.
4. FEK.
5. Skarifikator.

### **Ishni bajarilishi**

1. Sentrifuga probirkasiga 0,9 ml UXSK dan olinadi. Tekshirilayotgan subyekt barmog'idan mikropipetka bilan 0,1 ml qon olib, UXSK saqlagan probirkaga solinadi, yaxshilab arlashtirilgach, daqiqasiga 3000 aylanish tezligida 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi.

2. Sentrifugatdan 0,5 ml olib, boshqa toza probirkaga quyiladi va 2 ml o-toluidin reaktividan qo'shib, 8 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga joylashtiriladi, so'ngra oqib turgan suvda sovutiladi.

3. Standart namuna uchun qon o'rniga 0,1 ml 5 marta suyultirilgan glukoz eritmasi olinadi, 0,9 ml UXSK qo'shib, arlashtiriladi.

4. Aralashmani 0,5 ml ga 2 ml o-toluidin reaktivi qo'shib, reaksiya o'tkaziladi.

5. Tajriba va standart namunalar FEK da 590–650 nm to'lqin uzunligida (qizil svetofiltr) qalinligi 0,5 sm bo'lgan kyuvetada distillangan suvga nisbatan fotometrlanadi.

Glukozaning qondagi miqdori (X mmol/l) quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{C_{te} \cdot E_{sn}}{E_{se}}$$

Bunda:

$E_{te}$  – tajriba ekstinksiyasi;

$E_{se}$  – standart ekstinksiyasi;

$E_{sn}$  – standart namunadagi glukoza miqdori, 5,55 mmol/l ga teng.

Ish natijasini rasmiylashtirishda tekshirilayotgan subyekt qonidagi glukoza miqdori hisoblanadi va uning darajasini o'zgarish sabablari to'g'risida xulosa chiqariladi.

### **8.3. Siydik tarkibidagi glukoza miqdorini aniqlash**

Sog'lom odam siydigida glukoza normal sharoitda juda ham oz miqdorda bo'lganligi tufayli (0,005–0,02 %; sutkasiga ajraladigan miqdori 30–150 mg) uni qand miqdorini aniqlash uchun qo'llaniladigan oddiy usullarda aniqlab bo'lmaydi. Agar ushbu usullarda aniqlansa, bu holatga glukozuriya deb ataladi.

Glukozuriya giperglikemiya asoratining oqibati bo'lganda qondagi glukoza miqdori buyrak glukozani siydikka chiqarmaslik (porog) bo'sag'asi imkoniyatidan baland bo'ladi. Glukozaning buyrak bo'sag'asi individual o'lcham hisoblanib, asosan buyrak funksiyasiga bog'liq. Katta odamlarda 8 dan 9 mmol/l oralig'ida, bolalarda esa birmuncha yuqori.

Giperglikemiya natijasida kuzatiladigan glukozuriya insulyar apparati ishining o'zgarishi tufayli, masalan, diabet kasalligida, boshqa ichki sekretiya bezlari funksiyasini buzilishi (buyrak usti bezi, gipofiz, qalqonsimon bez giperfunksiyalari)da, oliy nerv sistemasi jarohatlanganda hamda bir vaqtning o'zida ovqat bilan katta miqdorda qand (180–200 g saxaroza) qabul qilinganida (insulinga bog'liq bo'lmagan glukozuriya) kuzatilishi mumkin. Oziqa glukozuriyasi qisqa muddatli bo'lib, kasallik natijasi deb hisoblanmaydi.

Ba'zi kasalliklarda siydik bilan boshqa mono- va disaxaridlar ajralishi mumkin (fruktozuriya, galaktozuriya, laktozuriya, pentozuriya) bularning ayrim shakllari irsiy fermentopatiyalarga bog'liq.

Glukozani siydik tarkibida oddiy usullarda uzoq vaqt davomida aniqlanishi katta ahamiyatga ega bo'lib, qandli diabet borligini ko'rsatadi. Diabetning og'ir ko'rinishlarida siydikdagi glukoz miqdori 8–10 % va undan ham ko'proqqa, bir sutkadagi ajratilgan umumiy hajmi esa 500 g gacha yetadi. Ajratilayotgan siydik miqdori ham bir necha barobarga oshib, kuniga 3–10 l gacha, gohida undan ham yuqori sonlarga ko'tarilishi mumkin, rangsiz, nisbiy zichligi normaga nisbatan yuqori.

Diabetik siydikning nisbiy zichligini yuqori bo'lishi uning tarkibidagi glukozaning katta miqdoriga va diabet bemorlarida intensiv parchalanayotgan oqsil unumlariga bog'liq. Glukozani siydikda aniqlashda Nilander, Feling suyuqligi yordamida Trommer reaksiyalaridan, bijg'ish, Gaynes probalaridan, indikatorli tasma "Bioskan-glukoza" reaksiyalaridan foydalaniladi. Siydikda glukoz borligini tekshirishda yangi yig'ilgan siydik ishlatiladi, chunki siydik turib qolganda undagi qand havodagi zamburug'lar ta'sirida bijg'ishi mumkin.

### **8.3.1. Siydik tarkibidagi glukozaga sifat reaksiyalari**

#### **1. Trommer reaksiyasi.**

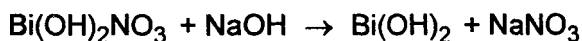
Orsin yoki flyuoroglitsin yordamida siydikda Trommer reaksiyasini aniqlashda (3.1.1 ga qarang) uni qaynagunga qadar qizdiriladi va mis gidroksidining sariq cho'kmasi yoki mis oksidining qizil cho'kmasi hosil bo'lishini bir daqiqagacha kutiladi. Uzoqroq vaqt davomida qizdirilganda ushbu cho'kmalar siydikda doimo uchraydigan boshqa qaytariluvchi moddalar (siydik kislo-

tasi, kreatinin) hisobiga glukoza yo'qligida ham hosil bo'lishi mumkin.

Birgina sariq rangni paydo bo'lishi yetarli emas, chunki bu normal siydikda ham kuzatiladi. Rangni bo'lishi bir tomondan, normal siydikda oz miqdorda qaytariluvchi moddalarning borligi bo'lsa, boshqa tomondan eritmada mis oksidini ushlab turuvchi moddalar, masalan, ammiak tuzlari borligidir. Siydikdagi oqsil mis ionlari bilan kompleks hosil qilib, mis oksidi birikmalarini cho'kishiga xalaqit beradi. Agar siydikda oqsil borligi kuzatilsa, uni sirka kislotasining kuchsiz kislotali muhitida qaynatib, cho'ktiriladi va filtrlab olib tashlanadi.

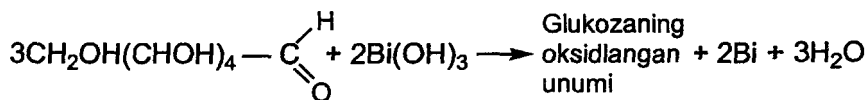
## 2. Nilander reaksiyasi.

Nilander reaktivi tarkibiga  $\text{Bi}(\text{OH})_2\text{NO}_3$  (azot oksidining vismutli asosi), segnet tuzi va o'yuvchi natriy kiradi. Reaktivni tayyorlash davomida vismutning gidratli tuzi hosil bo'ladi:



Vismut gidroksidi eritmada segnet tuzi yordamida vismut alkogolyati sifatida saqlab turiladi. Ishqoriy muhitda qizdirilganda uglevodning aldegid guruhi oksidlanadi, vismut gidroksidi esa vismut metaligacha qaytariladi (qora rangli cho'kma). Uglevod bu sharoitda har xil oksidlangan unumlarga o'zgaradi.

Oksidlanish-qaytarilish reaksiyasini quyidagi sxema ko'rinishida ko'rsatish mumkin:



### Reaktivlar:

1. Glukozaning 1% li eritmasi.
2. Nilander reaktivi (tayyorlanishi 25-ilovada).

## **Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Tomizgichlar.

## **Ishni bajarilishi**

1. 20 tomchi 1% li glukoza eritmasini 7–10 tomchi Nilander reaktivi bilan aralashtiriladi. 2–3 daqiqa davomida ohista qaynatilganda suyuqlik avvaliga qoraya boshlaydi, soʻngra vismut metalining qora choʻkmasi hosil boʻlgani kuzatiladi.

2. Probirka sovutilib, 10–15 daqiqa turganida choʻkma aniq koʻrinadi.

3. Nilander reaksiyasini tarkibida oqsil saqlagan siydik bilan oʻtkazib boʻlmaydi, chunki ishqoriy muhitda qaynatilganda oqsildan oltingugurt shaklida ajralayotgan vismut gidroksidi vismut sulfidi ( $\text{Bi}_2\text{S}_3$ ) qora choʻkmasini beradi.  $\text{Bi}_2\text{S}_3$  choʻkmasini vismut metali choʻkmasi oʻrnida xato qabul qilinishi mumkin.

### **8.3.2. Siydikdagi glukozani “Bioskan-glukoza” test tasmalari yordamida sifat va yarim miqdorini enzimatik usulda aniqlash**

“Bioskan” siydikdagi glukoza miqdorini ekspress tahlilida qoʻllaniladi. U glukozooksidaza ( $\alpha$ -D-glukozodegidrogenaza) peroksidaza fermentlari eritmasi yoki rangli eritma (orto-toluidin yoki benzidinning boshqa unumlari) shimdirilgan koʻndalang tushgan yoʻl-yoʻlli och sariq rangli 0,5x5 sm li qogʻoz tasmadan iborat.

Glukozooksidaza flavoproteinlarga tegishli boʻlib, uning prostetik guruhi flavinadenin dinukleotid (FAD). Glukozooksidaza  $\alpha$ -D-glukozani (glukoza suvli eritmada  $\alpha$ -D-glukopiranozaga oʻzgaradi) birinchi uglerod atomidagi ikkita vodorod atomini havo kislorodiga tashilishini katalizlovchi maxsus ferment.

Fermentativ reaksiyaning boshlanishida hosil boʻlgan neytral modda  $\alpha$ -D-glukonolakton oʻziga suv biriktirib, glukon kislotasiga aylanadi va reaksiya vaqtida ekvimolyar miqdorda vodorod





larga reaksiya beruvchilar indikator bilan o‘zaro ta’sirlanmaydi, xulosa qilib aytganda, “Bioksan” xato ijobiy reaksiya bermaydi.

Ammo askorbin kislota glukozooksidaza ta’sirini ingibir-laydi, shu sabab katta miqdorda (80 mg% va yuqori) C vitamini ajratilganda, siydikda glukoza bo‘lishidan qat’iy nazar, natija manfiy bo‘ladi. Siydikdagi askorbin kislotasining salbiy ta’sirining oldini olish uchun tekshirishga nahorda, och qoringa yangi yig‘il-gan siydik olinadi.

Siydikdagi oqsil tekshirishga xalaqit bermaydi. “Bioksan” ayniqsa, safar sharoitida, siydik kam ajraladigan ko‘krak yoshidagi bolalarda qo‘llash uchun qulay.

“Bioksan” indikator qog‘ozlari zich yopiladigan penalda, sal-qin, qorong‘i joyda (muzlatkichda emas) saqlanadi. Reaktiv ara-lashmasi shimdirilgan tasmaga qo‘l tekkizish tavsiya etilmaydi.

**Tekshiriluvchi material:** tarkibida glukoza bo‘lgan siydik.

#### **Jihozlar:**

1. Siydik uchun stakanchalar.
2. Plastmassali yoki oq fayansli (chinni) taxtacha.

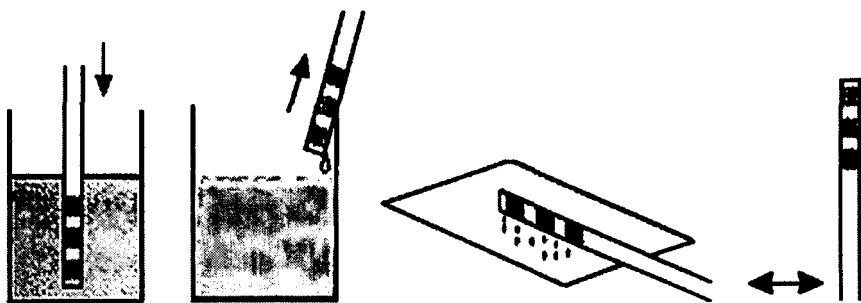
#### **Ishni bajarilishi**

1. Stakanchaga oz miqdorda tekshirilayotgan siydik quyiladi. “Bioskan” qog‘ozini siydikka botiriladi, bunda qog‘ozdagi sariq yo‘llar to‘liq ho‘llanilishi kerak.

2. Qog‘ozni suyuqlikdan tezlikda olib, ho‘llangan oxiri bilan plastmassali plastinkaga yoki oq chinni plitkaga qo‘yiladi va shu vaziyatda 2 daqiqa ushlanadi.

3. 2 daqiqa o‘tgandan keyin qog‘ozni plastinkadan olmasdan, qog‘ozdagi o‘zgargan rangli qismni komplektdagi rangli shkalaga solishtiriladi. Glukoza yo‘qligida tasma rangi o‘zgarmaydi.

4. Siydikdagi glukoza miqdori “Bioskan” tasmasi rangiga eng ko‘p mos keladigan shkala rangi bo‘yicha foizlarda taxminan aniqlanadi.



**5-rasm. Siydikdagi glukoza miqdorini “Bioskan tasmasi yordamida aniqlash.**

### **Nazorat savollari**

1. *Qanday mon-, di- va polisaxaridlarni bilasiz?*
2. *Qondagi qand miqdorini glukozooksidaza usuli bilan aniqlash nimaga asoslangan? Uning boshqa usullardan afzalligi nimada?*
3. *Glukoza miqdorini qonda orto-toluidin usulida aniqlash nimaga asoslangan?*
4. *Organizmda polisaxaridlarni parchalanishining qanday yo'llarini bilasiz?*
5. *Insulin va adrenalın qondagi qand miqdoriga qanday ta'sir ko'rsatadi va ularning ta'sir mexanizmini tushuntiring.*
6. *Uglevodlarni aerob parchalanishining qaysi yo'llari sizga tanish?*
7. *Uglevodlarning aerob va anaerob oksidlanishini energetik samarasi qanday?*
8. *Uglevodlarning anaerob oksidlanishini biologik ahamiyati nimada? Energetik qimmati qanday?*
9. *Glikolizning oxirgi mahsuli bo'lgan sut kislotasini qaysi reaksiya bilan aniqlash mumkin?*

10. Piruvat qaysi reaksiyalar yordamida aniqlanadi? Miqdoriy o'zgarishi sabablarini ayting.
11. Spirtli bijg'ishning glikolizdan farqi nimada?
12. Qaysi reaksiyalar yordamida spirtli bijg'ishning oxirgi unumlari aniqlanadi?
13. So'rilgan monosaxaridlar organizmda qanday o'zgarishlarga uchraydi? Misollar keltiring.
14. Qondagi qand miqdorini aniqlash uchun uni oqsildan tozalash sababini ayting.
15. Glikoliz, pentozofosfatli siql va glukoneogenezni organizm modda almashinuvida o'zaro bog'liqligi qanday?
16. "Haqiqiy glukoza" ni aniqlashning biokimyoviy ahamiyatini asoslang.
17. Sial kislota miqdorini aniqlashning diagnostik ahamiyati nimada?
18. Siydikda glukoza miqdorini aniqlashda qo'llaniladigan Trommer reaksiyasi nima?
19. Glukozuriya holatini kelib chiqish sabablarini sanab bering.
20. Giperglikemiya va gipoglikemiya nima, ular qanday kasalliklarda uchraydi?

## 9-bo'lim

### Lipidlar almashinuvi

Lipidlarga neytral yog'lar va yog'simon moddalar (lipoidlar) kiradi. Lipidlar barcha organizmlar tarkibida bo'lib, kimyoviy tarkibi va strukturasi bo'yicha farqlanadi, ular suvda erimaydi, organik eritmalar (efir, spirt, benzol, xloroform va boshqalar)da yaxshi eriydi.

Lipidlar energiyaga boy manba, organizmda oksidlanganda energetik qiymati 9,0 kkal/g (37,7 kJ/g) ga barobar. Lipidlar hujayra membrana qurilishida qatnashib, uning funksiyasi va ma'lum darajada o'tkazuvchanligida ishtirok etadi.

Hayvon hujayra membranasi qo'sh qavatli oqsil saqlovchi lipiddan iborat. Qon tarkibida lipidlar xilomikron va lipoproteinlar shaklida harakatlanadi, tana harorati (issiqlik)ni saqlash va boshqarishda amortizator sifatida muhim ahamiyatga ega. Yog'lar tuzilishi bo'yicha glitserin spirti bilan yuqori molekulali yog' kislotalar (stearin, palmitin, olein va boshqalar) aralashmasining murakkab efiri hisoblanadi.

Yog'lar tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalari (linol, linolen, araxidon) ning ahamiyati juda katta, chunki ularning oziqa mahsulotlarida yetishmasligi ateroskleroz, tromboz, o'sma, teri ekzemi, shilliq pardalar yarasi kabi har xil kasalliklarning kelib chiqishiga sabab bo'lishi mumkin. Araxidon kislotasidan hujayralarda prostaglandinlar sintezlanadi, ular qurilishi bo'yicha 20 atomli uglerod zanjirli to'yinmagan yog' kislotasi va siklopentan halqasidan tuzilgan.

Prostaglandinlar biologik faol moddalar bo'lib, axborot tashish-

dek zarur vazifalarni bajaradi, masalan, yurak mushaklari qisqarish kuchi va tezligini o'zgarishida, badanning ayrim qismlaridagi qon tomirlarini kengayishida, bronxlarni kengaytirish ta'siri uchun, bachadon muskullarini qisqarishini oshirishda (tug'ish faoliyatini kuchaytirish maqsadida) va boshqalarda ulardan foydalani-ladi. Lipoidlarga fosfolipidlar, glikolipidlar, sulfolipidlar va sterinlar kiradi. Bular ichida eng ko'p tarqalgani fosfatidlar va sterinlardir.

Odam organizmidagi yog' kislotalarining ko'pchiligida uglerod atomlari juft sonli bo'ladi.

Turli lipidlar guruhlarining yog' kislota tarkibi turlichadir. Odam yog' to'qimasining triasilglitserinlarida (yog'larida) olein, palmitin, linol yog' kislotalari miqdori boshqalariga nisbatan ko'p va boshqa lipidlarda ham ko'plab uchraydi. Lekin hujayra mem-branalari glikolipidlari va fosfolipidlarining yog' kislota tarkibi turlari yuqoridagilaridan farqlanadi.

Nerv hujayralarining murakkab lipidlarida xarakterli yog' kislotalari borligi aniqlangan. Organizm yog' kislotalarining manbayi bo'lib ovqat lipidlari (asosan yog'lar) va uglevodlardan sintezlanadigan yog' kislotalari xizmat qiladi. Yog' kislotalari asosan uch yo'nalishda sarflanadi:

- 1) rezerv yog'lar tarkibini tashkil etadi;
- 2) murakkab lipidlar tuzilishida qatnashadi;
- 3) karbonat anhidrid va suvgacha oksidlanib, hosil bo'lgan energiya ATF sintezida foydalaniladi.

To'qimalarda erkin yog' kislotalari miqdori ko'p emas, ular asosan boshqa lipidlar sintezi va parchalanishida oraliq mahsulot shaklida xizmat qiladi. Yog'lar almashinuvining bir qancha xususiyatlari, jumladan qon va limfada tashilishi uchun maxsus mexanizmlar zarurligi, shuningdek hujayralarda glikogen singari to'planishi ularning suvda erimasligi bilan bog'liqdir.

Yog'larning biologik funksiyasi ham glikogen funksiyasiga

o'xshab ketadi, ikkala modda energetik materialni g'amlangan zaxira shakllari sifatida xizmat ko'rsatadi.

## **9.1. Lipidlarning oraliq almashinuvi**

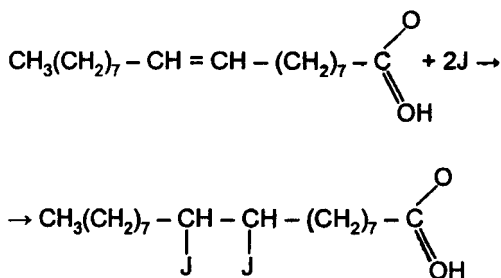
Organizmدا lipidlarning oraliq almashinuvini o'rganishda biologik suyuqliklardagi lipidlar tarkibiy qismlari miqdori aniqlanadi. Ba'zi lipidlar murakkab tuzilgan komplekslar – lipoproteidlarni tashkil etsa, ba'zilar plazma yoki zardob oqsillari, asosan, albuminlar bilan adsorbsiyalanadi.

Ingichka ichak shilliq qavatida hosil bo'lib, qonga limfa orqali tushadigan xilomikronlar tarkibida pre- $\beta$ -lipoproteidlar – zichligi nihoyatda past bo'lgan lipoproteidlar,  $\beta$ -lipoproteidlar – zichligi past bo'lgan lipoproteidlar va  $\alpha$ -lipoproteidlar – zichligi yuqori lipoproteidlar bor. Mazkur lipoproteidlarning apoproteinlari (oqsil qismi) jigarda sintezlangani uchun lipoproteidlarning qondagi miqdori bo'yicha nafaqat lipid almashinuvi haqida, shu bilan birga jigar funksiyasi to'g'risida ham fikr yuritiladi.

Klinikada lipidlar almashinuvini tekshirishda lipoproteidlar qatorida qon plazmasi yoki zardobidagi barcha lipidlarning umumiy yig'indisi va ularning alohida olingan fraksiyalari – triasilglitserinlar, efirlanmagan yog' kislotalari (erkin yog' kislotalari), erkin xolesterin va uning efirlangan fraksiyasi, fosfolipidlar miqdori aniqlanadi.

### **9.1.1. Yog' tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalarini aniqlash**

To'yinmagan yog' kislotalari qo'sh bog'li joylariga galogenlarni oson biriktirib, yog' kislotalarining galogenli unumlarini hosil qilishlari brom yoki yod eritmalarining rangsizlanishi bilan isbotlanadi.



**Tekshiriluvchi material:** o'simlik yog'i yoki baliq moyining xloroformdagi eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Brom yoki yod.
2. Xloroformli eritma.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 15–20 tomchi xlorofomdagi yog' eritmasiga chayqatilib turilgan holda bir tomchi brom yoki yodning (bo'yalgan) xloroformli eritmasidan tomiziladi.

2. Reaksiya boshlanishida yog' kislotasi molekulasidagi qo'sh bog'lari o'rniga galoidlarni birikishi natijasida brom yoki yod eritmasini rangsizlanishi kuzatiladi.

3. To'yinmagan bog'lar to'yinganidan so'ng qo'shilgan brom yoki yod o'z rangini yo'qotmaydi.

4. Yog'tarkibidagi to'yinmagan yog' kislotalari miqdorini "yod miqdori" bo'yicha, ya'ni 100 g yog'ga birikkan yodning gramm-dagi ko'rsatkichi asosida aniqlasa bo'ladi.

Xulosada reaksiyani kechishini yozib, tekshirilayotgan yog'da to'yinmagan yog' kislotalari borligini tushuntirib bering.

### 9.1.2. Yog‘lar emulsiyasi

Emulsiya jarayoni ovqat tarkibidagi yog‘larni ichakda lipaza fermenti ta’sirida hazm bo‘lishini tezlashtirish uchun zarur bo‘lib, yog‘sathi yuzasini lipazaning suvli eritmasi bilan tegib turishini oshiradi. Emulgatorlarga yuza sirti faol moddalar – oqsillar, o‘t kislotasi tuzlari, sovunlar kiradi.

Yuqori faollikdagi emulgirlovchilar qatorida o‘t kislotalarining ishqorga ta’sirchan tuzlari bo‘lib, ular o‘t bilan o‘n ikki barmoqli ichakka quyiladi va yupqa qavat shaklida yog‘ tomchilari yuzasida to‘planadi. Bunda o‘t kislotalarining gidrofil guruhlari suv fazasi tomoniga, gidrofob radikallari esa yog‘ga yo‘naltirilgan bo‘ladi.

Bu vaqtda ikkita fazani bo‘linib turgan suv/yog‘ yuzasida sirt tortish kuchi kamayib, yog‘ tomchilarini mayda bo‘lakchalarga parchalaydi.

**Tekshiriluvchi material:** o‘simlik yog‘i yoki baliq moyining xloroformdagi eritmasi.

#### **Reaktivlar:**

1. Ikki marta suyultirilgan o‘t.
2. Oqsil eritmasi (tayyorlanishi 26-ilovada).
3. Natriyli sovunning 1% li eritmasi.
4. Natriyli uglerod oksidi (soda)ning 1% li eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. 5 ta probirka olib, birinchisiga 15 tomchi distillangan suv, ikkinchisiga 15 tomchi suyultirilgan o‘t, uchinchisiga 15 tomchi suyultirilgan oqsil, to‘rtinchisiga 15 tomchi 1% li sovun eritmasi va beshinchisiga 15 tomchi 1% li soda eritmasi quyiladi.

2. Har bir probirkaga 3–4 tomchidan o‘simlik yog‘i qo‘shilib, aralashtiriladi va tartib bilan shtativga o‘rnatiladi.



3. Birinchi probirkada turg'un bo'lmagan yog' va suv qavata-tiga ajralgan emulsiya yo'q, ikkinchi, uchinchi, to'rtinchi va beshinchi probirkalarda emulsiya hosil bo'lganligi kuzatiladi.

4. Yog'ni soda bilan emulgirilanishi natriy uglerod oksidini yog'dagi erkin yog' kislotalari bilan reaksiyaga kirishishi oqibatida sovun hosil bo'lishiga bog'liq.

Tajriba natijalarini 22-jadvalda keltirib, turg'un emulsiya hosil bo'lganligining taqsimlanish darajalarini ko'rsating.

22-jadval

### Yog'larni emulsiyalanishi

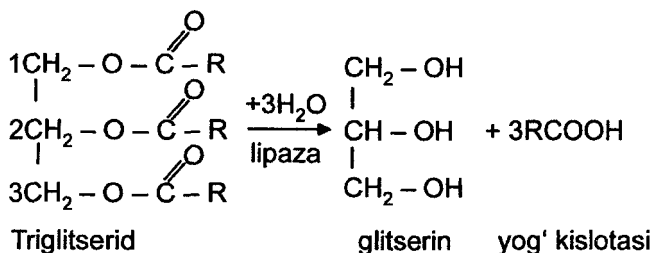
Tekshirilayotgan yog'	Emulgatorlar				
	yog'	o't	oqsil	sovun	soda

Xulosada qaysi emulgator ta'sirida eng barqaror emulsiya hosil bo'lganligini ko'rsating. Har xil fiziologik emulgatorlarni yog'larning ichakda hazm bo'lishidagi qiyosiy ahamiyatini aniqlang.

#### 9.1.3. Pankreatik lipaza faolligiga o't kislotalarining ta'siri

Yog'larni ichakda glitserin va yuqori yog' kislotalariga parchalanishi asosan me'da osti bezidan ajraluvchi lipaza, qisman ichak shilliq bezlarida ishlanadigan lipazalar ishtirokida bajariladi. Lipaza ta'sirida triglitseridlardan  $\alpha$ -holatidagi yog' kislota qoldiqlari ajralib chiqadi.

Hosil bo'lgan  $\beta$ -monoglitserid avval  $\alpha$ -monoglitseridga izomerlanadi, so'ngra u ham lipaza ta'sirida glitserin va yog' kislotasiga parchalanishi mumkin. Natijada triglitserid glitserin va uch molekula yog' kislotasiga bo'linadi:



Lipazani yog'ga ta'sir qilishida jigarda hosil bo'ladigan o't kislotalarini qatnashishi zarur. O't kislotalari yog'larni emulgirlab, ularni lipaza ta'siriga berilishini oshiradi.

Shuning uchun ham tekshirishda sut qulay material hisoblanadi, chunki sutda yog' emulgirlangan holatda bo'ladi. Lipaza manbai sifatida me'da osti bezi ekstraktidan yoki quritilgan pankeratindan foydalaniladi.

Tajriba sut yog'ini lipaza ta'sirida glitserin va yog' kislotalariga parchalanishiga asoslangan. Yog' kislotalari reaksiya muhitini kislotali tomonga surgani uchun uni ishqor bilan titrlab aniqlanadi. Tajriba sut yog'iga ta'sir ko'rsatishi mumkin bo'lgan uchta yo'lni nazarda tutadi:

- 1) o't qo'shilmagan lipaza;
- 2) o't qo'shilgan lipaza;
- 3) lipaza qo'shilmagan o't.

**Tekshiriluvchi material:** qaynatilgan sut.

**Reaktivlar:**

1. Fenolftaleinning etil spirtidagi 1% li eritmasi.
2. 10% li o'yuvchi natriy eritmasi.
3. O'yuvchi natriyning 0,1 n eritmasi.

4. Pankreatin-lipaza saqlagan (miqdori 100 mg dan) me'da osti preparati.

5. O't.

### Jihozlar:

1. O'lchov silindri.

2. 25, 50 ml konussimon kolbalar.

3. Byuretkalar.

4. 5 ml li pipetkalar.

### Ishni bajarilishi

1. Kolbaga 20 ml sut quyib, tarkibidagi nordon tuzlari bergan kislotalik xususiyati neytrallanadi. Buning uchun kolbaga 2 tomchi 1% li fenoltaleinning 2 tomchisi va 4 tomchi 10% li o'yuvchi natriy (ortiqcha bo'lmasligi kerak) tomiziladi va aralashtirilib turilgan holda ehtiyotlik bilan kolbadagiga o'yuvchi natriyning 0,1 n eritmasidan och pushti rang hosil bo'lguncha qo'shiladi.

2. Neytrallangan sutdan konussimon kolbalarda 23-jadval bo'yicha tajriba namunalari tayyorlanadi va yaxshilab aralashtirilib, xona haroratida qoldiriladi.

23-jadval

### Sut yog'ini lipaza bilan gidrolizlash

№ Namunalar	Sut, ml	Pankreatin, mg	O't, ml	Suv, ml	0,1 n NaOH eritmasi bilan titrlash natijalari vaqti, ml			
					15 daqiq	30 daqiq	45 daqiq	60 daqiq
1.	5	100	–	1				
2.	5	100	1	–				
3.	5	–	1	–				

3. Inkubatsiya boshlanishidan 15 daqiqa o'tgach, namunalari byuretkadagi 0,1 n NaOH eritmasi bilan och pushti ranggacha titrla-

nadi, so'ngra yana xona haroratida qoldiriladi. Sarflangan ishqor miqdori 23-jadvalga yoziladi.

4. Inkubatsiya boshlanishidan o'tgan 15, 30, 45 va 60 daqiqalarda namunalarni titrlash qaytariladi. Har bir titrlashda, ya'ni 15 daqiqa vaqt oralig'ida lipaza ta'sirida sut yog'ini gidrolizi natijasida ajralayotgan yog' kislotasi miqdori aniqlanadi.

Ishni rasmiylashtirishda har bir namuna uchun yog'ning lipaza ta'sirida parchalanish dinamikasini grafik ko'rinishida ifodalanadi. Absissa o'qiga vaqt daqiqalari, ordinata o'qiga shu vaqt ichida (15,30,45, 60 daqiqalar) hosil bo'lgan yog' kislotalarini neytrallashga sarf qilingan natriy gidroksidning 0,1 n eritmasini ml dagi miqdori qo'yiladi.

Lipaza faolligi tekshirish vaqti davomida 100 ml sutdan hosil bo'lgan yog' kislotalarining karboksil guruhining miqdori quyidagi formula bo'yicha belgilanadi:

$$X = \frac{G - \text{ekv COOH} - \text{guruh} \cdot 0,1 \cdot A \cdot 100}{5}$$

Bunda:

$X$  – 100 ml sutdan hosil bo'lgan mg% dagi COOH guruhi konsentratsiyasi;

0,1 – natriy gidroksid eritmasi normalligi;

$A$  – 5 ml sutni butun inkubatsiya vaqti davomida titrlash uchun sarflangan 0,1 n natriy gidroksid eritmasining ml dagi miqdori;

5 – titrlanuvchi namunadagi sutning ml dagi miqdori.

Grafikdagi egri chiziq va karboksil guruhlar bo'yicha olingan natijalar asosida lipaza faolligini o't kislotalariga bog'liqligi haqida xulosa chiqariladi. Hosil bo'lgan erkin yog' kislotalari miqdorining ferment ta'sirining davomiyligi bilan bog'liqligini ko'rsatish.

### 9.1.4. Yuqori yog‘ kislotalarining qonda tashilishida zardob albuminining ahamiyati

Organizmدا oziqa lipidlari va yog‘ depolarini lipaza ta’sirida fermentativ parchalanishi oqibatida qonda doimo ma’lum miqdorda erkin (efirlanmagan) yog‘ kislotalari bo‘ladi. Yuqori darajadagi (yoki uzun zanjirli) yog‘ kislotalari suvda erimaydi, qon plazmasida ular asosan albuminlar kompleksi ko‘rinishida harakatlanadi. Albuminlar molekulasida aminokislotalarning gidrofob radikallari ishtirokida hosil bo‘lgan bo‘shliq bo‘lib, unga yog‘ kislotalarining uglevodorodli zanjiri joylashishi mumkin.

Mazkur tajribada erkin yog‘ kislotalari va ularning zardob albuminli komplekslari eruvchanligi taqqoslanadi. Yuqori yog‘ kislotalarining natriyli tuzi (sovun) albuminlar bilan o‘zaro reaksiyaga kirishganda ularning kompleksi tashkil topadi. Kompleksga xlorid kislotasi qo‘shilganda natriy siqib chiqariladi va erkin yog‘ kislotalari hosil bo‘ladi:



Zardob albumini bilan kompleks hosil qilgan yuqori yog‘ kislotalari eritmada qoladi, albumin yo‘qligida esa cho‘kmaga tushadi. Ishni bajarishda xlorid kislotasining ortiqcha miqdori bo‘lmasligi kerak, chunki u oqsilni denaturatsiyaga uchratib, uning kompleks hosil qilish imkoniyatini buzishi mumkin.

**Tekshiriluvchi material:** natriyli sovunning 1% li eritmasi.

**Reaktivlar:**

1. Qon zardobi.
2. 1% li xlorid kislotasi.

**Jihozlar:**

Probirkali shtativ.

**Ishni bajarilishi**

Ikkita probirkaga 6 tomchidan sovun eritmasi tomiziladi. Birinchi probirkaga 20 tomchi qon zardobi, ikkinchisiga shuncha

miqdorda suv qo‘shiladi. Probirkadagi suyuqliklar yengil silkitilib, aralashtiriladi.

Suv qo‘shilgan probirkaga 1–2 tomchi 1% li xlorid kislotasi qo‘shilganda erkin yog‘ kislotalarining cho‘kmasi paydo bo‘ladi.

Qon zardobi tutgan probirkaga shuncha miqdorda xlorid kislotasi qo‘shilganda yog‘ kislotalari cho‘kmaga tushmaydi, chunki ular zardob albumini bilan kompleks birikma hosil qilgan.

Tekshirish natijalarini yozganda yog‘ kislotalari va ularning albuminlar bilan hosil qilgan komplekslarini eruvchanligidagi farqni asoslang, kompleks hosil bo‘lish ahamiyatini ko‘rsating.

### **9.1.5. Qon zardobidagi lipidlarning umumiy miqdorini aniqlash**

Fiziologik sharoitda qon tarkibida lipidlar miqdorini ortishi (giperlipemiya) yog‘ga boy bo‘lgan ovqat moddasi iste‘mol qilinganda 1–4 soat o‘tgandan keyin kuzatiladi. Nahorda umumiy lipidlar miqdori pasayadi (gipoglipemiya).

Qon zardobida umumiy lipidlarning normal miqdori (normolipemiya) 4,0–8,0 g/l ga to‘g‘ri keladi. Ko‘pchilik patologik vaziyatlarda giperlipemiya holati uchraydi, masalan, qandli diabet, buyrak kasalliklari, jigar jarohatlari, semizlik, ateroskleroz, alkogolni iste‘mol qiluvchilarda giperlipemiya yuqori darajalarda (20 g/l gacha) oshganligi aniqlangan.

Qon zardobida lipidlar umumiy miqdorini aniqlash to‘yinmagan lipidlarning parchalangan unumlarini fosfovanilin reaktivi bilan rangli birikma hosil qilishiga asoslangan. Rangning jadallik darajasi zardobdagi umumiy lipidlar miqdoriga proporsional.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan sulfat kislotasi.
2. Fosfovanilin reaktivi (tayyorlanishi 27-ilovada).

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 0,1; 1,0 va 10 ml hajmli pipetkalar.
3. Shisha tayoqchalar.
4. Suv hammomi.
5. FEK.

### **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita quruq va toza probirka olib, birinchisiga – tajriba probirkasiga 0,1 ml qon zardobi va ehtiyotlik bilan maxsus pipetkada 2,9 ml konsentrlangan sulfat kislotasi, ikkinchisiga – nazorat probirkasiga 0,2 ml distillangan suv va 5,8 ml konsentrlangan sulfat kislotasi quyiladi.

2. Probirkalardagi suyuqliklar shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtirilib, ehtiyotlik bilan 10 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga qo‘yiladi, so‘ngra tezlikda ikkala probirka suv oqimida xona haroratigacha sovutiladi.

3. Tajriba probirkasidan 0,2 ml nazorat probirkasidan 0,4 ml sovutilgan suyuqliklardan olib, avvaldan tajriba uchun 3 ml, nazorat uchun 6 ml fosfovanilin reaktivi saqlagan probirkalarga o‘tkaziladi.

4. Namunalar shisha tayoqcha bilan yaxshilab aralashtirilib, rang hosil bo‘lishi uchun 45 daqiqaga xona haroratidagi qorong‘i joyga qo‘yiladi.

5. Tajriba namunasini nazoratga nisbatan FEK da 500–560 nm (ko‘k svetofiltr) qalinligi 0,5 sm li kyuvetada fotometrlanadi.

Umumiy lipidlarni qon zardobidagi miqdori  $X$  (g/l) formula bo‘yicha hisoblanadi:

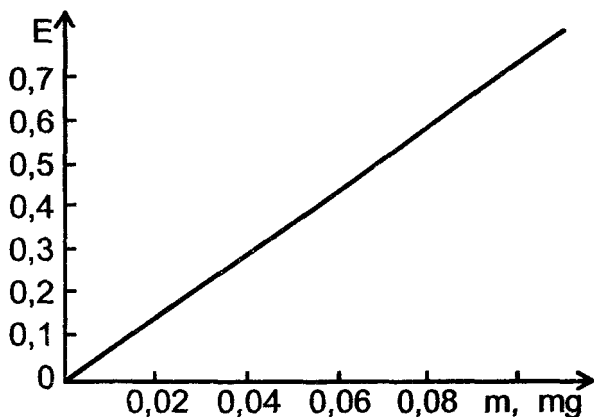
$$X = \frac{m \cdot 10000 \cdot 3}{0,2 \text{ ml} \cdot 1000}$$

**Bunda:**

$m$  – kalibrlangan grafik asosida topilgan umumiy lipidlarning namunadagi mg miqdori (qarang, kalibrlangan grafik);

10000 – 1 l qon zardobiga hisoblangan koeffitsiyent;  
 1000 – milligrammlarni grammga o‘tkazish koeffitsiyenti;  
 3 – tekshiriluvchi aralashmaning boshlang‘ich umumiy hajmi  
 (0,1 ml qon zardobi + 2,9 ml konsentrlangan sulfat kislotasi) ml;  
 0,2 ml – rangli reaksiya o‘tkazish uchun olingan aralashma hajmi.

Ishni rasmiylashtirishda aniqlangan ekstinksiya asosida qondagi umumiy lipidlar miqdori hisoblanadi, agar o‘zgarishlar kuzatilsa, ularning sabablari ko‘rsatiladi. Xulosada umumiy lipidlar miqdorini klinik laboratoriyalarda aniqlanishini lipidlar almashinuvidagi amaliy ahamiyati ko‘rsatiladi.



**6-rasm.** Qon zardobidagi umumiy lipidlar miqdorini aniqlash uchun kalibrlangan grafik.

### 9.1.6. Qon zardobidagi erkin yog‘ kislotalari miqdorini aniqlash

Organizmدا yog‘ kislotalarning asosiy manbayi bo‘lib ovqat lipidlari, lipaza ta’sirida parchalanadigan yog‘ to‘qimalari va ular sintezida qatnashadigan uglevodlar xizmat qiladi. Yog‘ kislotalari uch xil yo‘nalishda sarflanadi:



- 1) rezerv yog'lar tarkibiga qo'shiladi;
- 2) murakkab lipidlar qurilishida qatnashadi;
- 3) karbonat angidridi va suvgacha okidlanib, uning energiyasidan ATF sintezlanadi.

Erkin yog' kislotalari to'qimalarda boshqa lipidlar sintezi va parchalanishida oraliq mahsulot hisoblanganligi tufayli oz miqdorda (0,5–0,7 mg ekv/l yoki 500–700 mkmol/l) uchraydi. Yog' to'qimasi triasilglitserinlari gidrolizidan hosil bo'lgan va jigarda sintezlanadigan yog' kislotalari qonda plazma albumini bilan birikkan holda bo'ladi.

Erkin yoki efrilanmagan yog' kislotalarini miya hujayralaridan tashqari, ko'pchilik to'qimalar o'zlashtirish va sintez qilish imkoniyatiga ega, lekin asosiy iste'molchilari yog' to'qimasi, yurak va skelet mushaklaridir.

Erkin yog' kislotalarining miqdoriy o'zgarishi klinik-tashxis ahamiyatiga ega. Ular konsentratsiyasining qon zardobida ko'payishi qandli diabetda, adrenalın ta'sirida, och qolganda, kamayishi esa qonga insulin, glukoza yuborilganda kuzatiladi.

Erkin yog' kislotalarining miqdoriy aniqlash ularning misli tuzlarini natriy dietilditiokarbomat bilan rangli birikma kompleksini hosil qilishiga asoslangan bo'lib, rangning ravshanlik darajasi erkin yog' kislotalari miqdoriga proporsional.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Palmitin kislotasining standart eritmasi (25,6 mg palmitat 100 ml xloroformda eritiladi; 1 ml eritmada 0,256 mg palmitat bo'ladi).
2. Xloroform.
3. Misli reaktiv (tayyorlanishi 28-ilovada).
4. Natriy dietilditiokarbomatning n-butanolda haydalgan 1% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Sentrifuga.

2. FEK.
3. Zich berkitiladigan probirkalar.
4. Sentrifuga probirkalari.
5. 1 va 5 ml li pipetkalar.
6. Shisha tayoqchalar.

### **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita zich berkitiladigan probirka olib, birinchisiga 0,5 ml qon zardobi, ikkinchisiga 1 ml palmitin kislotasining xloroformdagi eritmasidan quyiladi.

2. Tajriba probirkasiga 5 ml, standartli probirkaga 4,5 ml xloroform solib, ikkala probirkaga 2,5 ml dan misli reaktiv qo‘shiladi.

3. Bir vaqtning o‘zida nazorat namunalari tayyorlanadi. 5 ml xloroformga 2,5 ml misli reaktiv qo‘shiladi.

4. Probirkalar berkitilib, 3 daqiqa davomida chayqatiladi. So‘ngra eritmalar sentrifuga probirkalariga o‘tkazilib, 15 daqiqa davomida daqiqasiga 3000 aylanishda sentrifugalanadi.

5. Probirkalardagi suyuqliklar 3 qavatga ajaraladi: xloroform, oqsil va suv. Misli reaktivning ortiqcha miqdorini saqlagan yuqoridagi suv qavati olib tashlanadi, oqsilli parda probirka devoriga suriladi, xloroformli qavati esa boshqa probirkaga olinadi.

6. Xloroformli qismiga o‘tgan yog‘ kislotalariga dietilditiokarbomat natriyning butanoldagi 0,1 % li eritmasidan 0,5 ml qo‘shib aralashtiriladi.

7. Tajriba va standart namunalarini FEK da ko‘k svetofiltrda 5 mm li kyuvetalarda nazoratga nisbatan kolorimetrlanadi. Erkin yog‘ kislotalari quyidagi formulaga binoan hisoblanadi:

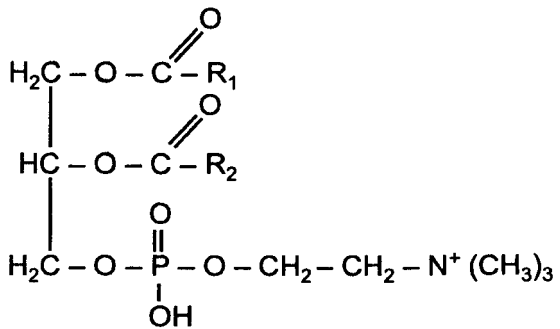
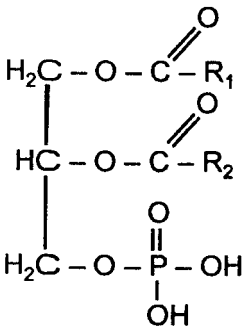
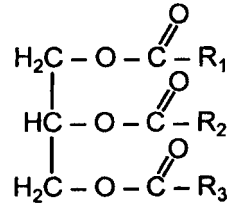
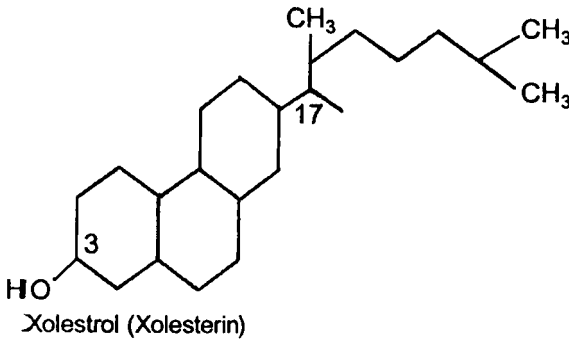
$$\frac{E_{\text{tajriba}} \cdot 1000}{E_{\text{standart}} \cdot 0,5 \text{mkmol/l}}$$

Natijalarni rasmiylashtirishda olingan erkin kislota miqdorini uning normal ko‘rsatkichiga taqqoslanadi va tegishli xulosa chiqariladi.

## 9.2. Fosfolipidlar

Fosfolipidlar yoki fosfatidlar tarkibida fosfor saqlovchi lipidlar guruhiga taalluqli bo‘lib, tuzilishida fosfat kislotasidan tashqari yuqori molekuli to‘yingan va to‘yinmagan yog‘ kislotalari, yuqori yog‘ kislotalarining aldegidlari, spirtlar (glitserin, inozit, sfingozin) va azot asoslari (xolin, etanolamin, serin) saqlaydi.

Qurilishida qatnashayotgan spirtga qarab ularni uch guruhga taqsimlash mumkin: fosfoglitsridlar, fosfosfingozinlar va fosfoinozitlar. Bular ichida miqdor jihatidan keng tarqalgani fosfoglitsridlar bo‘lib, ular kimyoviy unumlari bo‘yicha fosfatidilxolinlarga (lesitinlar), fosfatidiletanolaminlarga (kefalinlar), fosfatidilserinlarga (serinofosfatidlar), atsetalfosfatidlarga, inozitfosfatidlarga, kardiolipinlarga taqsimlanadi.



Fosfolipidlar tirik organizm barcha hujayra membranalari tarkibiga kiradi, ayniqsa, nerv to'qimasi va tuxum sarig'ida ko'proq bo'ladi. Fosfolipidlar oqsillar bilan murakkab lipoproteinlar kompleksi hosil qilish xususiyatiga ega. Fosfolipidlarning qon zardobidagi umumiy normal miqdori 1,52–3,62 g/l (152–362 mg%), fosfatidilxolinniki esa – 0,75–1,2 g/l (75–120 mg%).

Fosfolipidlarning umumiy konsentratsiyasini lipiddagi fosfor miqdori bo'yicha aniqlasa bo'ladi, chunki fosfor ulushi fosfolipidlar molekular massasining 4 % iga to'g'ri keladi. Lipidda topilgan fosfor miqdorini 25 ga ko'paytirib, umumiy fosfolipidlar miqdori aniqlanadi.

Fosfolipidlarning qon zardobidagi darajasi qandli diabetning og'ir shaklida, buyrak va jigar kasalliklarida ortadi, aksincha, ateroskleroz, kamqonlik, ozishda kamayadi.

### **9.2.1. Qon zardobidagi fosfolipidlar miqdorini fosfor bo'yicha aniqlash**

Fosfolipidlar uchxlorsirka kislotasi yordamida qon oqsillari bilan birgalikda cho'ktiriladi. Olingan cho'kma minerallashtirilib, qoldig'ida anorganik fosfor aniqlanadi. Kolorimetrlashda aniqlangan fosfor miqdori asosida qon zardobidagi fosfolipid miqdori haqida fikr yuritiladi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Uchxlorsirka kislotasining 10% li eritmasi.
2. 57% li xlor kislotasi eritmasi.
3. Ammoniy molibdatning 4% li eritmasi (tayyorlanishi 29-ilovada).
4. Aminonaftolsulfon kislotasi – eykonogenning ishchi eritmasi.

5. 1 ml da 0,01 mg fosfor saqlagan kaliy digidrofosfatning ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) standart ishchi eritmasi (tayyorlanishi 31-ilovada).

### **Jihozlar:**

1. 0,2 ml li mikropipetka.
2. 1, 2, 5 va 10 ml li pipetkalar.
3. Oddiy va sentrifuga probirkalari.
4. Sentrifuga.
5. Shisha munchoqlar.
6. Qum hammomi.
7. Fotoelektrokolorimetr.

### **Ishni bajarilishi**

1. Sentrifuga probirkasiga 3 ml distillangan suv va 0,2 ml qon zardobidan olib, 3 ml 10% li uchxlorsirka kislotasi (birinchi 1,5 ml tomchilab) qo‘shiladi, chayqatilib, 1–2 daqiqaga qoldiriladi.

2. 1–2 daqiqadan keyin probirkadagi suyuqlik daqiqasiga 3000 aylanishda sentrifugalanadi, cho‘kma ustki suyuqligi batamom olib tashlanib, cho‘kmaga 1 ml 57% li xlor kislotasi va bir tekis qaynashi uchun 1–2 ta shisha munchoq solinadi.

3. Probirkadagi aralashma 20–30 daqiqa davomida  $180^\circ\text{C}$  li qum hammomida rangsizlanguncha qizdiriladi. So‘ngra sovutilib, tajriba namunasiga hajmi 7 ml bo‘lguncha distillangan suv qo‘shiladi. Nazorat namunasini tayyorlash uchun 0,8 ml 57% li xlorid kislotasi eritmasi olinib, hajmi suv bilan 7 ml ga yetkaziladi.

4. Tekshirish jarayoni ishonchli bo‘lishi uchun uchta probirkada 2 ml dan kaliy digidrofosfatning ishchi standart eritmasi va 0,8 ml dan 57% li xlorid kislotasi eritmasi bo‘lgan nazorat standarti tayyorlanadi hamda har birining hajmi 7 ml ga yetguncha distillangan suv qo‘shiladi.

5. Fosforni aniqlash uchun har bir probirkaga (tajriba, nazorat va standart) 4% li ammoniy molibdat eritmasidan 1 ml dan qo‘shib

aralastirilgach, 1 ml dan aminonaftolsulfon kislotasidan solib, hajmi distillangan suv bilan 10 ml ga yetkaziladi.

6. Aminonaftolsulfon kislotasi qo'shilganidan 20 daqiqa o'tkazib, paydo bo'lgan rang jadalligi FEK da 630–690 nm (qizil svetofiltr) to'lqin uzunligida qalinligi 1 sm li kyuvetada o'lchanadi.

100 ml zardobdagi lipoidli fosfor mg% da quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$X = E_{op} \cdot 0,02 \cdot 100 / E_{st} \cdot 0,2 = E_{op} \cdot 10 / E_{st}.$$

Bunda:

$X$  – mg% lipoidli fosfor;

$E_{op}$  – tajriba namunasining optik zichligi;

$E_{st}$  – standart namunasining optik zichligi;

0,02 – 2 ml standartdagi fosfor miqdori, mg;

0,2 – tajribaga olingan zardob miqdori, ml.

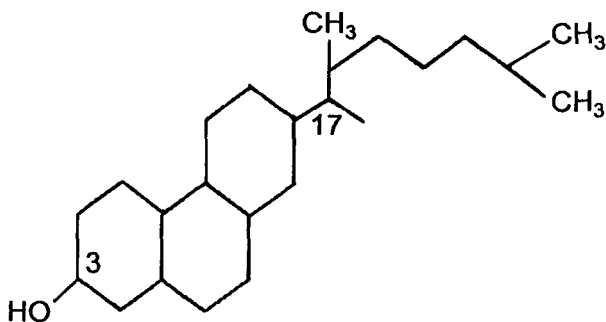
Lipoidli fosfor fosfolipid molekulasi 4% (1/25 qismi)ni tashkil etgani uchun aniqlangan lipoidli fosfor miqdorini 25 ga ko'paytirib fosfolipidlarning umumiy miqdori topiladi. Katta yoshdagi kishilarda lipoidli fosforning normadagi miqdori 6,1 dan 14,5 mg% gacha yoki 1,97–4,68 mmol/l (qayta hisoblash ko'effitsiyenti – 0,323) bo'ladi.

### 9.3. Sterinlar (sterollar) va steridlar

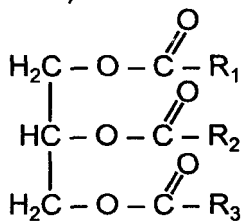
**Sterinlar** – siklopentanpergidrofenantren yadroli bir atomli to'yinmagan siklik spirtlar. Inson va hayvon organizmi da xolesterin sterinlar vakili hisoblanadi. Ayrim to'qimalarida asosan eterefikatsiyalanmagan xolesterin (eritrotsitlarda) bo'lsa, boshqa to'qimalarda – buyrak usti bezida, qon zardobida va boshqalarda xolesterinning yuqori molekuli yog' kislotalari bilan bog'langan efiri ko'rinishidagi unumlari – steridlar ham uchraydi.

Xolesterin to'qima va qondagi lipoproteinlar tarkibiga kiradi. Qon plazmasida xolesterin murakkab lipoproteidlar kompleksining (xilomikronlar, zichligi juda past lipoproteinlar, o'rtacha zichlikka ega lipoproteinlar, zichligi past lipoproteinlar va zichligi yuqori lipoproteinlar) tarkibiy qismi hisoblanadi. Ayniqsa, miya to'qimasi, buyrak usti bezlari, tuxum sarig'i, o't suyuqligi xolesteringa juda boy. Xolesterin biosintezi NADFH<sub>2</sub> ishtirokida ATF energiyasidan foydalanib, atsetilkoenzim A (CH<sub>3</sub> - CO ~ S - KoA) dan amalga oshiriladi.

Xolesterinning o'zidan esa vitamin D, o't kislotalari, kortikosteroidlar, estrogenlar va androgenlar sintezlanishida foydalaniladi. Xolesterin almashinuvi buzilganda u aorta va arteriya tomirlari devorlarida (ateroskleroz), teri gistiotsitlari va paylarda (ksantomatoz) to'planishi, shuningdek o't qopida xolesterindan tosh hosil bo'lishi mumkin:



Xolestrol (xolesterin)



Triasilglitserin

Xolesterin suvda erimaydi; xloroform, efir, atseton, isitilgan spirt va boshqa organik erituvchilarda va yog'larda eriydi.

### **9.3.1. Qon zardobidagi xolesterinning umumiy miqdorini aniqlash**

Xolesterinning yog' kislotalari bilan hosil qilgan unumlari uning umumiy miqdorini 60–70% ini tashkil etadi, qolgan 30–40% erkin xolesteringa to'g'ri keladi. Qon zardobida erkin xolesterinning efirlangan qismiga bo'lgan nisbati doimo bir xil. Miksedema, diabet, ateroskleroz va jigarning ayrim kasalliklarida qon plazmasi tarkibida xolesterin miqdorini ortishi (giperxolesterinemiya), kamayishi esa (gipoxolesterinemiya) surunkali yurak yetishmovchiligida, o'tkir yuqumli kasalliklarda, poliartrit va gipertireozlarda kuzatiladi.

Xolesterinni miqdoriy aniqlash usuli asosida uning temir xloridi ishtirokida sirka va sulfat kislotalari aralashmalari bilan qizilpushti rangli mahsulot hosil qilishi yotadi. Rangning jadalligi tekshirilayotgan namunadagi xolesterin miqdoriga to'g'ri proporsional bo'ladi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

#### **Reaktivlar:**

1. Muzli sirka kislotasi (tozaligini tekshirish 32-ildovada).
2. Asosiy eritmadan tayyorlangan temir xloridining ishchi eritmasi (tayyorlanishi 33-ildovada).
3. 1 ml da 1 mg xolesterin bo'lgan xolesterinning asosiy standart eritmasi (tayyorlanishi 34-ildovada).

#### **Jihozlar:**

1. 0,1 ml li mikropipetka.
2. 1, 2 va 5 ml dagi o'lchamli pipetkalar.
3. Probirkali shtativ.
4. Fotoelektrokolorimetr.



### Ishni bajarilishi

1. 0,1 ml qon zardobiga 3 ml muzlatilgan sirka kislotasi va 2 ml temir xloridning ishchi eritmasidan qo‘shib, yaxshilab aralashtiriladi va 15 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi.

2. FEK da 510–560 nm to‘lqin uzunligida (ko‘k svetofiltr) qalinligi 1 sm bo‘lgan kyuvetada nazoratga nisbatan kolorimetrlanadi.

3. Nazorat – 0,1 ml distillangan suvga 3 ml muzlatilgan sirka kislotasi va 2 ml temir xloridining ishchi eritmasidan qo‘shiladi. Qolgan ishlar tajriba namunasi singari bajariladi.

4. Hisoblash kalibrli garfik bo‘yicha bajariladi.

5. Kalibrlash grafisini tuzish. 24-jadvalda ko‘rsatilganidek, xolesterinning asosiy standart eritmasi suyultirib tayyorlanadi.

6. 20 daqiqadan so‘ng tekshiriluvchi namuna nazoratga nisbatan fotometrlanadi. Xolesterinning qon zardobidagi normal miqdori 120–250 mg% (3,12–6,50 mmol/l).

24-jadval

### Xolesterinning suyultirilgan standart eritmaları

Probirkalar №	Xolesterinning asosiy standart eritmasi, ml	Muzlatilgan sirka kislotasi, ml	Temir xloridning ishchi eritmasi, ml	Namunadagi xolesterin miqdori, mg%
1	0,1	3,0	2,0	100
2	0,2	3,0	2,0	200
3	0,3	3,0	2,0	300
4	0,4	3,0	2,0	400
5	0,5	3,0	2,0	500

**Eslatma.** Xolesterin miqdori 350 mg% dan ortiq bo'lganda tekshirilayotgan zardobni fiziologik eritma bilan suyultirib, olingan natijani suyultirish ko'rsatkichiga ko'paytiriladi.

Ishni rasmiylashtirishda tuzilgan grafikdan foydalanib, qon zardobidagi xolesterin miqdori aniqlanadi va xulosada olingan natija normal ko'rsatkich bilan taqqoslanadi.

### **9.3.2. Miya to'qimasidagi xolesterinni sifat reaksiyasi bilan aniqlash**

Xolesterin asosan hujayra membranasi tarkibiga kirganligi tufayli uni to'qimalardan organik erituvchilar yordamida ekstraktsiya qilib olinadi.

**Tekshiriluvchi material:** miya to'qimasi.

**Reaktivlar:**

1. Kalsiy sulfat tuzi (gips kukuni).
2. Xloroform.
3. Konsentrlangan sulfat kislotasi.
4. Sirka angidridi.

**Jihozlar:**

1. Apteka tarozisi.
2. Farforli hovoncha.
3. Quritadigan shkaf.
4. Skalpel yoki pichoq.
5. Shisha tayoqcha.
6. 5 ml li pipetka.
7. Qog'oz filtrli voronkalar.
8. Probirkalar.
9. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Gips bilan quritilgan miya to'qimasini xloroformni 5 ml da 5 daqiqa davomida xona haroratida doimiy chayqatib turgan holatda ekstraksiyalanadi.

2. Ekstrakt quruq probirkaga filtrlab olinib, ikki qismga bo‘linadi va ikki xil reaksiya bilan xolesterin aniqlanadi.

3. Miyaning xloroformli ekstraktining bir qismiga teng hajmda konsentrlangan sulfat kislotasi quyib, probirka ehtiyotlik bilan chayqatilib, aralashtiriladi. Biroz muddatdan so‘ng xloroformli yuqori qavatida xolesterinning degidratatsiyasi natijasida hosil bo‘lgan unumi – xolesterilen hisobiga qizil rangga bo‘yaladi. Pastki qavati ( $H_2SO_4$ ) ko‘k flyuororessensiyali sariq-qo‘ng‘ir rang beradi.

4. Miya to‘qimasining xloroformli ekstraktining ikkinchi qismi bilan Liberman-Burxard reaksiyasi o‘tkaziladi. Buning uchun xloroformli ekstraktga 7 tomchi sirka ангidridi va 1–2 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi tomiziladi.

5. Suyuqlik yaxshilab aralashtirilganda avval ko‘kimgir, so‘ngra ko‘k-yashil va nihoyat yashil rangga o‘tadi. Agar eritmada ozgina xolesterin bo‘lsa, tezlikda yashil rang bo‘ladi. Eritmada xolesterin miqdori 1% dan ortiq bo‘lsa, avval hosil bo‘lgan qizil rang tezlikda pushti, keyin ko‘k va oxiri yashil rangga o‘zgaradi. Oxirgi rang xolesterinning sulfokislotasi hosil bo‘lganligi bilan bog‘liq.

Xolesterinning rangli reaksiyalari uni konsentrlangan sulfat kislotasi ta‘sirida degidratatsiyalanishi natijasida qo‘shbog‘li to‘yinmagan uglevodorodli unumlari hosil bo‘lishi bilan tushuntiriladi.

## 9.4. Lipoproteidlar almashinuvi

Lipoproteidlar (LP) lipidlar va boshqa gidrofob birikmalarning qon tarkibidagi transport shakli bo‘lib, fosfolipidlar, xolesterin va triglitseridlarni tashuvchi sharsimon zarralardir. Lipoproteidlar asosan qon plazmasidagi albuminlar bilan birikadi va ingichka ichakdan so‘rilgan xilomikronlar hisobiga murakkab oqsil-lipid komplekslarini – pre- $\beta$ -lipoproteidlar (zichligi juda past lipopro-

teidlar),  $\beta$ -lipoproteidlar (zichligi past lipoproteidlar),  $\alpha$ -lipoproteidlar (zichligi yuqori lipoproteidlar) ni hosil qiladi.

Uchala turdagi lipoproteidlarning oqsil qismi (apoproteinlari) jigarda sintezlanishi tufayli qondagi lipoproteidlar miqdorini o'zgarishi faqatgina lipidlar almashinuvini emas, balki jigar funksiyasi to'g'risida ham fikr yuritishga asos bo'ladi.

Lipoproteid fraksiyalari molekular massasiga nisbatan tarkibidagi oqsil va alohida olingan lipid qismi miqdori bo'yicha ham bir-biridan farqlanadi. Masalan,  $\alpha$ -lipoproteidlar tarkibidagi oqsil miqdori ko'p bo'lganligi uchun (50–60%) nisbiy zichligi anchagina baland (1,063–1,21),  $\beta$ - va pre- $\beta$ -lipoproteidlarda oqsil qismi kam bo'lib, lipid miqdori massasini 95 % gacha tashkil etadi, binobarin nisbiy zichligi ham past (1,01–1,063).

Normada qon zardobida lipoproteidlar miqdori 3,6–6,5 g/l ga to'g'ri kelsa, ular darajasini ko'tarilishi qon zardobida xolesterinni ko'payishiga bog'liq, chunki  $\beta$ -lipoproteidlar xolesteringa juda ham boy.  $\beta$ - va pre- $\beta$ -lipoproteidlar miqdorining ortishi lipidlar almashinuvining buzilishi oqibatida ateroskleroz, qand diabeti, gepatitlar va semirish kabi holatlarda kuzatiladi.

#### **9.4.1. Qon zardobidagi lipoproteidlar umumiy miqdori va fraksiyalarini miqdoriy aniqlash**

Qon zardobidagi  $\beta$ - va pre- $\beta$ -lipoproteidlarni aniqlash ularning geparin va kalsiy xloridi ishtirokida cho'kmaga tushishiga asoslangan. Eritmaning loyqalanish darajasi lipoproteidlarning qon zardobidagi miqdoriga to'g'ri keladi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Kalsiy xloridning 0,025 m yoki 0,27% li eritmasi (suvsiz reaktivdan tayyorlanadi).

2. Geparinning 1% li eritmasi (tekshirish vaqtida tayyorlanadi), uning 1 ml da 1000 birlik saqlanishi kerak.

**Jihozlar:**

1. 0,2 ml li pipetkalar.
2. Fotoelektrokolorimetr.

**Ishni bajarilishi**

1. Qalinligi 0,5 sm bo‘lgan FEK ning o‘ng va chap kyuvetalari-ga 2 ml dan kalsiy xlorid eritmasi quyiladi. Chap baraban shkala-sini 720 nm (qizil svetofiltr) da nol nuqtasiga qo‘yiladi.

2. O‘ng kyuvetaga toza mikropipetkada 0,2 ml zardob solinadi va bir necha marta chayqab yuviladi.

3. Ekstinksiyaning ( $E_1$ ) boshlang‘ich qiymati aniqlangach, mikropipetka bilan 0,04 ml geparin qo‘shiladi (pipetka bir necha marta kyuvetadagi suyuqlik bilan yuvib, qo‘shiladi) va kyuvetadagi suyuqliklar aralastiriladi.

4. Rosa 4 daqiqadan so‘ng (sekundomer asosida) yana ekstink-siya o‘lchanadi ( $E_2$ ).

Qon zardobidagi  $\beta$ - va pre- $\beta$ -lipoproteidlar miqdori –  $X$  (g/l) formula bo‘yicha topiladi:

$$X = (E_1 - E_2) \cdot 11,65.$$

Bunda – 11,65  $\beta$ - va pre-  $\beta$ -lipoproteidlar miqdorini (g/l) ga aylantirilgan empirik koeffitsiyenti.

Ishni rasmiylashtirishda ekstinksiya ko‘rsatkichlari bo‘yicha topilgan qon zardobidagi lipoproteidlar miqdori hisoblanadi va uning o‘zgarishiga qarab xulosa chiqariladi.

Normada  $\beta$ -lipoproteidlar miqdori 3,0–4,5 g/l (300–450 mg%) ga to‘g‘ri kelib, jinsga va yoshga qarab o‘zgarishi mumkin.

### 9.4.2. Siydikdagi keton tanachalariga sifat reaksiyalari

Keton tanachalariga  $\beta$ -gidroksimoy kislota, atsetosirka kislota va atseton kiradi. Ular asosan jigarda yuqori molekular yog' kislotalarini to'la oksidlanmasligi natijasida hosil bo'ladi. Jigardan tashqari boshqa organ va to'qimalarda ulardan energiya manbai sifatida foydalaniladi. Keton tanachalarining bevotsita o'tmishdoshi atsetil-KoA, yog' kislotalaridan tashqari uglevodlardan ham hosil bo'lishi mumkin. Biroq, keton tanachalari sintezida asosan yog' kislotalaridan hosil bo'ladigan atsetil-KoA qatnashadi.

Patologik holatlarda, masalan, qandli diabetda ketonlarning qon va siydikdagi miqdori bir necha marta ko'payadi. Buning sababi diabetli bemor organizmida yog'larning katta miqdorda parchalanishi bo'lib, qondagi keton tanachalarining darajasi 300–400 mg% ga ko'tarilishi – ketonemiya kuzatiladi (sog'lom odam qonida 1,2–2,6 mg%). Ketonemiya oqibatida siydikda keton tanachalarini oddiy reaksiyalar bilan aniqlanishi – *ketonuriya* deb atalib, uning miqdori 24 soat davomida 10 g dan 50 grammgacha ko'tarilishi, gohida undan ham ortiq bo'lishi mumkin.

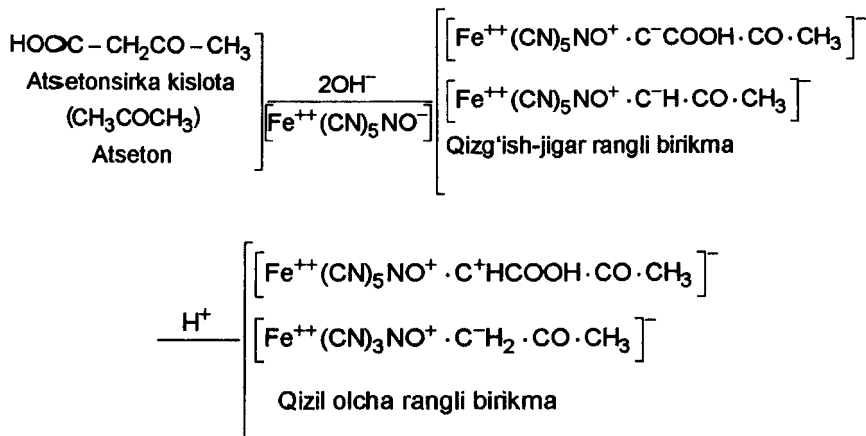
Normada siydikda keton tanachalari kuniga 0,02–0,05 g dan oshmaydi va ularning odatdagi sifat reaksiyalarini qo'llab ochib bo'lmaydi. Diabet sharoitida siydikda keton tanachalari borligini bilish faqat tashxis qo'yish uchun emas, shu bilan birga davolash samaradorligini nazorat qilishda ham juda muhim.

Ketonemiya va atsetonuriya holatlari och qolganda, tartibsiz ovqatlanganda, holdan toyganda ham kuzatiladi.

#### A. Nitroprussid (Legal) reaksiyasi

Ishqoriy muhitda atsetosirka kislota va atseton nitroprussid natriy ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )ning nitrozo guruhi bilan reaksiyaga kirishib, qizil-qo'ng'ir rangli to'rt valentli kompleksli anionini hosil qiladi. Nitroprussid bilan ishqoriy muhitda xuddi

shunday reaksiyaga siydikning normadagi tarkibiy qismi bo'lgan kreatinin ham kirishadi.



Atseton tanachalari hosil qilgan rangni kreatinidan olingan rang dan ajratish uchun sirka kislotasi qo'shiladi. Kislotali muhitda kreatininli kompleks parchalanadi va qizil-qo'ng'ir rang sariq rang ga o'tadi. Aksincha, ketonli komplekslarni sirka kislotasi bilan nordon muhitga o'tkazilganda vodorod ionlari birikib, qizil-olcha rang li yangi birikmalar hosil bo'ladi.

**Tekshiriluvchi material:** atseton tanachalari saqlagan siydik.

**Reaktivlar:**

1. Odatdagi (normadagi) siydik.
2. Nitroprussid natriyning yangi tayyorlangan 10% li eritmasi.
3. O'yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
4. Konsentrlangan sirka kislotasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. 0,2 ml li pipetkalar.
4. Fotoelektrokolorimetr.

## **Ishni bajarilishi**

### **A.**

1. Probirkaga tarkibida atseton tanachalari saqlagan siydikdan 10 tomchi quyib, 1–2 tomchi yangi tayyorlangan nitroprussid natriy va 3–4 tomchi 10% li o‘yuvchi natriy eritmalaridan tomizilganda qo‘ng‘ir-qizil rang paydo bo‘ladi.

2. Probirkadagi konsentrlangan sirka kislotasi bilan nordonlash-tirilganda suyuqlik qizil-olcha rangga o‘tadi.

3. Taqqoslash uchun reaksiya odatdagi siydik bilan ham takrorlanadi.

### **B. Kaliy yoddagi yod eritmasi (Liben) reaksiyasi**

Ishqoriy muhitda atseton yod bilan yodoform hosil qiladi, uni borligi paydo bo‘lgan sariq cho‘kma va maxsus hidi bo‘yicha aniqlanadi:



**Tekshiriluvchi material:** atseton tanachasi bo‘lgan siydik.

### **Reaktivlar:**

1. O‘yuvchi natriyning 10% li eritmasi.
2. Kaliy yoddagi yod eritmasi (tayyorlanishi 11-ilovada).

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

## **Ishni bajarilishi**

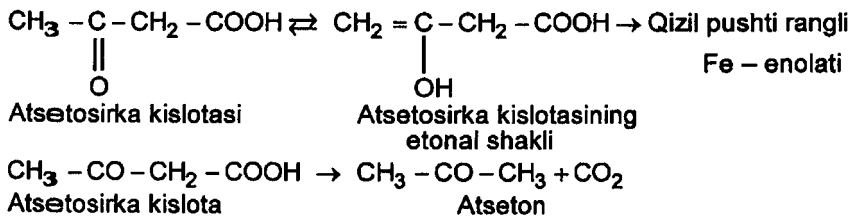
1. 10% tomchi siydikka 1–2 tomchi 10% li o‘yuvchi natriy eritmasidan qo‘shib, kaliy yoddagi yod eritmasidan yodoformning och sariq cho‘kma quyqasi hosil bo‘lguncha tomchilab tomiziladi.

2. Olingan cho‘kmaning hidi aniqlanadi. Tekshiriluvchi materialda atseton miqdori ko‘p bo‘lsa, sariq kristall cho‘kmaga tushadi.



### 9.4.3. Atsetosirka kislotasiga temir xlorid (Gerxard) reaksiyasi

Atsetosirka kislotasining temir xloridi bilan o‘zaro reaksiyaga kirishishida temirni atsetosirka kislotasining enol shakli bilan qizil-pushti rangli kompleksi hosil bo‘ladi:



**Tekshiriluvchi material:** atsetosirka kislotali siydik.

**Reaktivlar:** temir xloridning 10% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 20 tomchi siydik solib, 10% li temir xlorid eritmasidan tomchilatib temir fosfatning  $\text{FePO}_4$  shaklidagi cho‘kmasi cho‘kishini to‘xtagunicha qo‘shiladi.

2. Cho‘kma hosil bo‘lishi to‘xtagandan so‘ng yana suyuqlik rangi qizil-pushti rangga kirguncha temir xlorid eritmasidan tomchilab qo‘shiladi. Vaqt o‘tishi bilan rang asta-sekin yo‘qola boshlaydi, qaynatganda esa atsetosirkakislotasini dekarboksillanishi oqibatida rang tezlikda yo‘qoladi.

3. Xuddi shu kabi rangni ba’zi dori moddalari (salisil kislotasi, antipirin) qabul qilinganda siydikda atsetosirka kislotasi yo‘qligida ham uchraydi. Bunda vaqt o‘tishi bilan yoki 2 daqiqa davomida qaynatilganda ham rang yo‘qolmaydi.

#### 9.4.4. Siydikdagi atseton tanachalarini indikator qog'oz yordamida aniqlash

**Tekshiriluvchi material:** atseton tanachalari saqlagan siydik.

**Reaktivlar:**

1. Rangli shkalali nitroprussid natriy.
2. Natriy fosfat.
3. Glikogen shimdirilgan qog'oz tasmalari.

**Jihozlar:**

1. Siydikli stakan.
2. Oq plastmassa yoki chinni plastinkasi.

**Ishni bajarilishi**

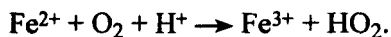
1. Tegishli reaktiv shimdirilgan indikator qog'ozining bir uchi tekshirilayotgan siydikka tushiriladi, so'ngra chiqarib olib, oq plastinkalarga qo'yiladi.

2. Bir daqiqadan so'ng qog'ozdagi bo'yoq rangini rangli standart shkala bilan solishtiriladi.

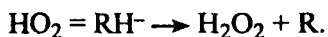
3. Rangning jadalligi atseton tanachalarining miqdoriga bog'liq. Olingan rangning shkala rangi bilan taqqoslanishi yarim miqdoriy aniqlash hisoblanadi. Siydikda atseton tanachalari bo'lmaganda qog'oz rangi o'zgarmaydi yoki sariq tus ko'rinadi.

### 9.5. Biologik membranalarda lipidlarning peroksidli oksidlanishini tekshirish

Lipidlarning peroksidli oksidlanishi erkin radikalli molekular jarayon. Bu yo'l bilan ko'proq to'yinmagan lipidlar va biologik membrana fosfolipidlari tarkibiga kiruvchi erkin yog' kislotalari oksidlanadi. Shu sababli lipidlarning peroksidli oksidlanishi avvalo membranalarning funksiyasiga o'z ta'sirini ko'rsatadi va ularda patologik o'zgarishlarni keltirib chiqaradi. Ushbu holatni  $Fe^{2+}$  ni molekular kislorod bilan oksidlanishi natijasida  $HO_2$  peroksidli radikal hosil bo'lishi bilan tushuntiriladi:



Peroksidli radikal biomembraning lipid molekulasidagi to‘yinmagan yoki erkin yog‘ kislotasi bilan reaksiyaga kirishib, lipid radikali R ni hosil qiladi va u lipidlar zanjirining oksidlanish reaksiyasini boshlab beradi:



Biomembranalar tarkibiga kiruvchi fosfolipidlar va to‘yinmagan yog‘ kislotalarining peroksidli oksidlanishi oqibatida membraning lipidli asosi butunlay buzilishi mumkin. Peroksidli oksidlanishning unumi bo‘lgan lipid gidroperoksidini to‘planishi fermentlar faolligini ingibirlaydi va ketonlar, aldegidlar, dialdegidlar, oqsillar va boshqa biomolekulalar bilan kovalent bog‘ hosil qilib, hujayra funksiyasini o‘zgarishiga olib keladi.

Lipidlar oksidlanishining erkin radikallik reaksiyasini hosil bo‘lishiga prooksidantlar sabab bo‘lsa, antioksidantlar uni to‘xtatuvchi ingibitorlardir. Keyingi guruh moddalariga  $\alpha$ -tokoferol (E vitamini), selen, gormonlardan tiroksin va steroidlar kiradi.

Glutationperoksidaza fermentlar sistemasi ham lipid gidroperoksidlarini parchalab, hujayralarni ularning zaharli ta‘siridan himoya qiladi. Lipidlar peroksidli oksidlanishini organizmda o‘rganishda quyidagi uslublardan foydalaniladi:

- 1) lipidlarning peroksidli unumlarini aniqlash;
- 2) reaksiya davomida erkin radikallarni aniqlash;
- 3) to‘qimalarning antioksidlovchi (antioksidantli) faolligini aniqlash.

Birinchi va ikkinchi uslub o‘zining oddiyligi va nisbatan ko‘proq o‘rganilgan peroksidli oksidlanish unumi – malon dialdegidini aniqlashga asoslangani uchun amaliyotda keng qo‘llaniladi.

### 9.5.1. Qon plazmasida lipidlar gidroperoksidi miqdorini spektrofotometrik usulda aniqlash

Har xil kimyoviy moddalar, dori preparatlari ta'sirida va kasallik tufayli kuzatiladigan lipidlarning peroksidli oksidlanish faolligini baholashda qon tarkibidagi lipidlar gidroperoksidi miqdorini o'lchash muhim diagnostik ahamiyatga ega. Mazkur usul lipidlar gidroperoksidining konyugirlashgan diyenli unumlarining 232–234 nm da jadal nur yutishiga asoslangan.

**Tekshiriluvchi material:** qon plazmasi, uni olishda stabilizator sifatida erkin radikalli oksidlanish ingibitori 1 mg/ml EDTA li eritmadan foydalaniladi.

#### **Reaktivlar:**

1. Etilendiamintetraatsetat (EDTA)ning 1 mg/ml dagi nisbatidagi eritmasi.
2. Izopril spirti.
3. Geptan.
4. 0,1 n xlorid kislota, pH-2,0.

#### **Jihozlar:**

1. Spektrofotometr.
2. Laboratoriya silkitkichi.
3. 0,1; 0,2 va 0,5 ml hajmdagi pipetkalar.
4. Probirkalar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. 0,2 ml plazmaga 4 ml geptan-izopril spirti (1 : 1 nisbatda) qo'shib, laboratoriya silkitkichida 15 daqiqa davomida chayqatiladi.

2. Probirkadagi 1 ml xlorid kislotasiga (pH-2,0) 2 ml geptan qo'shib, yaxshilab aralastiriladi.

3. 30 daqiqadan keyin aralashma tinib, qavatlarga ajralgach, geptanli qavati ehtiyotlik bilan olinadi va 233 nm da fotometrlanadi.

4. Nazorat namunasiga plazma o'rniga 2 ml distillangan suv olinib, yuqoridagi tekshirish amallari takrorlanadi.

5. Lipidlar gidroperoksidining 1 ml plazmadagi miqdori nisbiy birlikda quyidagi formula bo'yicha topiladi:

$$\frac{D \cdot 233 \cdot V_e}{V_n} = D \cdot 233 \cdot 20 \text{ 1 ml plazmaga.}$$

Burilma:  $D \cdot 233$  – o'lchangan optik zichlik qiymati;

$V_e$  – 4 ml geptanli ekstraktning oxirgi hajmi;

$V_n$  – 0,2 ml qon plazmasining olingan hajmi yoki 1 mg lipiddagi (D 233 1 mg lipidga) nisbiy birlikda.

Ayni holda plazma tarkibida lipidlar miqdorini parallel aniqlash kerak bo'ladi. Kalamush qoni plazmasida lipidlar miqdori: umumiy lipidlar 1,64–2,8 g/l; lipidlar gidroksidining 1 ml plazmadagi nisbiy birligi 1,34–2,37; 1 mg lipidlarda 0,83–0,85 ga teng. Geptan qavatini oxirigacha olmaslik kerak, chunki ozgina suv qo'shilsa geptan qavati xiralashib, 233 qiymati ortib ketadi.

### 9.5.2. Malon dialdegidi miqdorini aniqlash

Malon dialdegidi (MDA)ning ikki molekula tiobarbiturat kislotasi (TBK) bilan 100° C haroratda hosil qilgan rangli kompleks konsentratsiyasi 532–535 nm da o'lchanadi.

**Tekshiriluvchi material:** 0,5 g muzlatilgan organ (jigar, miya, mushak va boshqalar) maydalanib, 4,5 ml metafosfor kislotasi qo'shib, aralashtirilgach, daqiqasiga 5000 aylanish tezligida 10 daqiqada davomida sentrifugalanadi. Cho'kmaning ustki qismi yana filtrlanib, tajriba uchun filtratdan 2 ml olinadi.

#### **Reaktivlar:**

1. TBK ning 0,5% li eritmasi (tayyorlanishi 35-ilovada).
2. Metafosfor kislotasining 5% li eritmasi (tayyorlanishi 36-ilovada).

## **Jihozlar:**

1. Spektrofotometr.
2. Suv hammomi.
3. Sentrifuga va sentrifugali probirkalar.
4. 0,1; 0,2; 1 va 5 ml hajmli pipetkalar.
5. Chinni hovoncha.

## **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirka olib, birinchisiga 2 ml filtrat (tajriba), ikkinchisiga 2 ml metafosfor quyiladi.

2. Ikkala probirkaga 1 ml dan TBK eritmasi qo‘shilib aralashtiriladi va suv hammomiga 10 daqiqaga qo‘yiladi.

3. Probirkalar suv oqimida sovutilib, suyuq qismi sentrifugali probirkaga o‘tkaziladi va 6000 aylanish tezligida 10 daqiqaga sentrifugalanadi.

4. Sentrifugat 532 nm da 1 sm li kyuvetada nazoratga nisbatan fotometrlanadi.

5. Malon dialdegidi miqdori mk mol da to‘qima gramiga nisbatan formula yordamida aniqlanadi:

$$S = \frac{D \cdot 5 \cdot 3}{a}$$

Bunda:  $D$  – optik zichlik;

$a$  – ekstinksiya molyar koeffitsiyenti –  $1,56 \cdot 10^5$  ga teng.

5 – suyultirish darajasi;

3 – tekshirilayotgan namuna hajmi.

**Eslatma.** TBK eritmasidagi quyqadan qutulish uchun fotometrlash oldidan sentrifugalanadi.

## Nazorat savollari

1. Qanday moddalarga lipidlar deb aytiladi? Lipidlarning tasnifi nimaga asoslangan?
2. Lipidlarni oshqozon-ichak yo'lida hazm bo'lishi va so'rilishini tushuntiring.
3. Olein, stearin va linol kislotalaridan hosil bo'lgan aralashma triglitserid qurilishini yozing.
4. Neytral yog'larni lipaza yoki ishqor ta'sirida gidrolizlanish reaksiyasini ko'rsating.
5. Glitserin va palmitat kislotasidan tuzilgan mono-, di- va triglitseridlarning suvda eruvchanlik darajasiga qarab joylashtiring. Javobingizni izohlab bering.
6. Yog'larni hazm bo'lishi va so'rilishida o'tning ahamiyati nimada, o't kislotalarining kimyoviy tabiati qanday?
7. Nima uchun o't kislotalari yog'larni emulsiyalaydi? Tushuntirib bering.
8. Lipazaning katalitik faolligini qanday aniqlash mumkin?
9. Fosfatidilxolinning gidrolizlanish reaksiyasini yozing. Qaysi reaksiyalar bilan uning tarkibini aniqlasa bo'ladi?
10. Xolesterin va xolesteridlarning kimyoviy tabiati qanday?
11. Qon tarkibidagi xolesterinni qanday qilib aniqlasa bo'ladi?
12. Erkin yog' kislotalari nima? Ularni qonda qanday qilib aniqlash mumkin?
13. Umumiy lipidlarni qon tarkibida aniqlashdan maqsad nima? Bunda qaysi usuldan foydalaniladi?
14. Fosfolipidlarning gidrolizida qanday fermentlar ishtirok etadi? Yozib ko'rsating.
15. Xolesterinning odam organizmidagi biologik ahamiyati nimadan iborat?

16. Xolesterinning odam qon zardobida miqdoriy aniqlashni qanday diagnostik ahamiyati bor?
17.  $\beta$ -lipoproteidlarning tarkibi, biologik ahamiyati nima dan iborat? Biosintezi boradigan joyini ko'rsating.
18. Qon zardobidagi lipoproteidlarni sanab bering, ularni qanday usul bilan fraksiyalarga ajratish mumkin?
19. Xolesterin, zichligi yuqori lipoproteinlar va jinsiy gormonlar orasida qanday bog'liqlik bor? Javobingizni izohlang.
20. Atsetil-KoA xolesterin sintezining asosiy mahsulati. Energiyaga ehtiyoj ortganda va pasayganda xolesterin sintezida qanday o'zgarishlar kuzatiladi?
21. Nima sababdan ateroskleroz kasalligida  $\alpha$ - va  $\beta$ -lipoproteidlar miqdori aniqlanadi va taqqoslanadi?
22. Lipoproteidlar fraksiyalarining tarkibiy qismlarini yozing, farqini ko'rsating, diagnostik ahamiyatini tushuntirib bering.
23. Keton tanachalari biosintezi qayerda kechadi va ular miqdorini qonda aniqlashdan maqsad nima?
24. Siydikdagi keton tanachalarini aniqlashning qanday diagnostik ahamiyati bor?
25. Keton tanachalarini sanab bering, ularning miqdori qanday aniqlanadi? Qaysi kasalliklarda ularning miqdoriy o'zgarishi kuzatiladi?
26. Lipidlarning peroksidli oksidlanishining odam organizmidagi biologik ahamiyati qanday? Prooksidantlar va antioksidantlar nima, misollar keltiring.



### Oqsillar almashinuvi

Oqsillar almashinuvining boshqa modda almashinuv xillari orasida alohida o'rni bor. Ushbu sifat oqsillar bajaradigan bir qator maxsus funksiyalar va ularning energetik material ko'rinishidagi imkoniyatlari bilan tushuntiriladi. Ammo oqsillarning bu funksiyasini uglevodlar va yog'lar bilan butunlay to'ldirish mumkin. Ta'kidlash lozimki, ovqat tarkibidan uglevodlarni uzoq muddat davomida chiqarib tashlanganda ham organizmda deyarli katta o'zgarish kuzatilmaydi.

Oziqadan oqsillarni qisqa muddatga chiqarish esa jiddiy o'zgarishlarni, gohida qayta tiklanmaydigan patologik holatlarni keltirib chiqaradi. Kishilarda oqsillarni yetarli darajada iste'mol qilinishi oqsil yetishmasligiga sabab bo'lib, organizmdagi bir qator muhim fiziologik funksiyalarni buzilishi bilan xarakterlanadi.

Nima uchun oqsillar albatta oziqaning tarkibida bo'lishi kerak? Oqsillar barcha organ va to'qimalar, umuman organizm butunligini ta'minlovchi hujayralarning struktura asosini tashkil qiladi, ya'ni ular plastik funksiyani bajaradi.

Eksperimental tekshirishlar natijalarining ko'rsatishicha, oqsillar yetishmovchiligi faqatgina organ va to'qimalar massasini kamayishigina bo'lmay, shu bilan birga organizmdagi kimyoviy o'zgarishlarni mutloq zarur omili bo'lgan fermentlar faolligini pasayishida ham kuzatiladi.

Ko'rinib turibdiki, oqsillar organizmda asosan fermentativ, boshqaruvchi va plastik funksiyalarni bajaradi. Hayot faoliyati davomida to'qima oqsillarini uzluksiz parchalanib, yangitdan tik-

lanishi organizmni muttasil ravishda oqsillar bilan ta'minlanib turishiga bog'liq.

Oqsillar hazm qilish yo'llarining proteolitik fermentlari ta'sirida kichik molekulali polipeptidlar va aminokislotalargacha parchalanib, qonga so'rilgach, ulardan organizm ehtiyojiga qarab to'qima oqsillari, oqsil tabiatli biologik faol moddalar – fermentlar, gormonlar, vitaminlar va boshqa muhim birikmalar sintezlanadi.

Biosintetik jarayonlarda foydalanilmagan va organizm to'qima oqsillarini parchalanishi natijasida hosil bo'ladigan aminokislotalar keyinchalik jigar va boshqa to'qimalarda dezaminlanish, transaminlanish va dekarboksillanishlarga uchraydi.

Dezaminlanish natijasida hosil bo'lgan ammiak organizm uchun zaharli bo'lib, uni jigarda mochevina sintez qilinishi, ko'pchilik organlarda (miya, buyrak, jigar va boshqalarda) glutamin va buyrakda ammoniy tuzlari hosil bo'lishi yo'llari bilan zaharsizlantiriladi.

Mochevina, ammoniy tuzlari, ular qatorida aminokislotalar, kreatinin, siydik kislotasi va tarkibida azot saqlovchi boshqa moddalar siydik bilan ajraladi. Aminokislotalarning azotsiz qoldiqlari (ketokislotalar) aminokislotalar, yog'lar, uglevodlar sintezida ishtirok etadi, ularning bir qismi oksidlanib, energiya ajratadi. Organizmda oksidlanayotgan oqsillarning energetik qiymati 4 kkal/g (16,7 kJ/g) ga to'g'ri keladi.

## **10.1. Oqsillarning hazm bo'lishi**

Oqsillarni oshqozon ichak yo'llarida hazm bo'lishida pepsin, tripsin, ximotripsin va peptidazalar qatnashadi. Oshqozonda oqsillar pepsin ishtirokida yuqori molekulali polipeptidlarga parchalanadi. Parchalanmagan oqsillar, polipeptidlar o'n ikki barmoqli ichakda tripsin, ximotripsin, peptidazalar (karboksipeptidaza, aminopeptidaza, dipeptidaza) ta'sirida keyingi o'zgarishlarga uchraydi.

Tripsin, ximotripsin va karboksipeptidaza me'da osti bezida ishlanib, uning shirasi bilan birga ajraladi, aminopeptidaza esa ichak shilliq pardasida sintezlanib, uning shirasida saqlanadi. Tripsin va ximotripsin avval faol bo'lmagan proferment – tripsinogen va ximotripsinogen ko'rinishida sintezlanib, keyinchalik ichak shirasidagi enterokinaza ta'sirida faol funksional shakl – tripsin va ximotripsinga o'tadi.

Oqsillarning tripsin va ximotripsin ta'siridagi gidrolizlangan unumlari asosan polipeptidlardan iborat. Mazkur fermentlar oqsil molekulasidagi har xil peptid bog'larini uzadi va eng yuqori faolligi neytral yoki bo'sh ishqoriy muhitda (pH-7,0–8,0) namoyon bo'ladi.

Polipeptidlar ichak peptidazalari ta'siri ostida keyingi o'zgarishlarga beriladi. Karboksipeptidazalar me'da osti bezi peptidazalariga mansub bo'lib, oxirgi peptid bog'ini erkin karboksil guruhi tomonidan uzadi, aminopeptidazalar peptid bog'ini uzishni erkin aminoguruhi tomonidan boshlaydi. Karboksi- va aminopeptidazalar polipeptidlarni dipeptidlar hosil bo'lguncha, ular esa o'z navbatida dipeptidazalar yordamida oshqozon-ichak yo'llarida oziqa oqsillari hazm bo'lishining oxirgi unumi bo'lgan alohida aminokislotalarga parchalaydi.

Ichakdan so'rilgan aminokislotalar darvoza venasi orqali birinchi navbatda jigarga tushadi va u yerda bir qator o'zgarishlarga uchrab, bir qismi qon orqali butun organizmga tarqaladi va qurilish material sifatida maxsus to'qima oqsillari, fermentlar va biologik faol birikmalar sintezi uchun ishlatiladi.

Aminokislotalarning ma'lum miqdori dezaminlanish, dekarboksillanish va boshqa reaksiyalar ishtirokida parchalanib, oqsillar almashinuvining oxirgi mahsuli ammiak, mochevina va boshqalarni hosil qiladi va energiya ajralib chiqadi.

Parchalanishga beriladigan aminokislotalar miqdori bir tomondan oziqa sifatiga, ikkinchidan organizm holatiga bog'liq.

Masalan, och qolganda yoki qisman oqsil yetishmaganda siydik bilan ma'lum miqdorda, azot birikmalari chiqariladi.

### **10.1.1. Oqsillarni pepsin ta'sirida hazm bo'lishi**

Oqsillarni hazm bo'lishi me'dada me'da shirasi ta'sirida boshlanadi. Me'da devori shilliq pardalari bezlaridan ajralib chiqadigan me'da shirasi rangsiz yoki biroz sarg'ish, kuchli kislotali tiniq suyuqlik bo'lib, tarkibini 99% suv, erkin xlorid kislotasi, nordon reaksiyali fosfatlar, natriy xlorid, proteolitik ferment – pepsin, lipolitik ferment – lipaza (faqat emulgirlangan yog'ni parchalaydi), musin, oqsillar tashkil qiladi.

Pepsin me'da shilliq bezlari hujayrasidan faol bo'lmagan proferment – pepsinogen shaklida ajraladi. Xlorid kislotasi ta'sirida pepsinogendan polipeptid ajralishi natijasida pepsinogen oqsillar tarkibidagi peptid bog'larini gidrolizlash imkoniyatiga ega bo'lgan faol ferment – pepsinga aylanadi.

Inson organizmida pepsinning optimal pH qiymati 1,5–2,5 bo'lib, u neytral va ishqoriy muhitda faollikka ega emas. Xlorid kislotasi pepsinni faollashtirish bilan birga oqsilni bo'kishi va denaturatsiyaga uchrashiga yordamlashib, pepsin ta'sir qilishiga qulay sharoit yaratadi.

Pepsin endopeptidazalarga kirib, asosan ichki peptid bog'lariga ta'sir ko'rsatadi. Ammo ba'zida pepsin ta'sirida polipeptid zanjirining oxiridagi peptid bog'larini uzilishi va oqibatda erkin aminokislotalar paydo bo'lishi kuzatilgan. Oqsillarning pepsin ta'sirida gidrolizlanishida polipeptidlar aralashmasi – peptonlar va oz miqdorda erkin aminokislotalar hosil bo'ladi.

**Tekshiriluvchi material:** fibrin.

**Reaktivlar:**

1. Me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1% li eritmasi (tayyorlanishi 38-ildovada).

2. Natriy karbonat oksidining 2% li eritmasi.
3. O'yuvchi natriyning 0,4% li eritmasi.
4. Xlorid kislotasining 0,2% li eritmasi.
5. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi.
6. Mis sulfatning 1% li eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Lakmus qog'ozi.
3. Tomizgichlar.
4. Termometr.
5. Suv hammomi yoki 38–40° C li termostat.

### **Ishni bajarilishi**

1. Beshta probirka olib, har biriga quyidagi tartibda reaktivlar quyiladi:

2. Birinchisiga 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1 % li eritmasidan;

3. Ikkinchisiga soda bilan neytrallangan 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1 % li eritmasidan;

4. Uchinchisiga oldindan 0,4% li natriy gidroksid eritmasi bilan ishqoriy muhitga o'tkazilgan 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1 % li eritmasidan;

5. To'rtinchisiga avval qaynatilgan 20 tomchi me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1 % li eritmasidan quyiladi;

6. Beshinchisiga 20 tomchi 0,2% li xlorid kislota eritmasidan;

7. Barcha probirkalarga bir xil miqdordagi fibrin bo'lakchalari qo'shib, 38–40° termostatga o'rnatiladi.

Birinci probirkadagi fibrin hazm bo'lganidan (eriganidan) so'ng, taxminan tajriba boshlanishidan 30 daqiqa o'tgach, barcha probirkalar termostatdan olinadi va fibrindagi o'zgarish kuzatiladi.

Birinci probirkadagi fibrinni hazm bo'lishi pepsinni xlorid kislotasi ishtirokida ta'sir qilishini ko'rsatadi. Ikkinchi va uchinchi

probirkalardagi fibrin o'zgarishga berilmaydi, chunki neytral va ishqoriy muhitda pepsin faollashmaydi. To'rtinchi probirkada ferment qaynatilib, faolligi yo'qotilgani va beshinchi probirkadagi pepsin yo'qligi tufayli xlorid kislotasi ta'sirida fibrin nam tortib, bo'kishi kuzatiladi.

Har bir probirka tarkibi filtrlanadi va filtrat bilan biuret reaksiyasi (2.1.1 ga qarang) o'tkaziladi. Ijobiy reaksiya faqatgina pepsin, xlorid kislotasi, fibrin tutgan birinchi probirkada kuzatilishi filtratda hazm bo'lgan oqsil mahsulotlari borligini ko'rsatadi.

O'tkazilgan ishni rasmiylashtirishda olingan natijalar jadval ko'rinishida keltiriladi.

*25-jadval*

**Pepsinning fibringa har xil sharoitda ta'siri**

№ namunalar	Ferment	Substrat	Reaksiya muhiti	Pepsin faolligi qaynatib yo'qotilgan	Fibrinda ko'rinadigan o'zgarishlar	Biuret reaksiyasi

Xulosada olingan natijalar asosida pepsin ta'sirida oqsil hazm bo'lishi uchun optimal sharoit va bu jarayonda xlorid kislotasining ahamiyati ko'rsatiladi.

## 10.2. Me'da shirasidagi kislotalarni aniqlash

Normada toza oshqozon shirasi tarkibidagi xlorid kislotasi (0,4–0,5% xlorid kislotasi) hisobiga kuchli kislotali reaksiyaga (pH-1 ga yaqin) ega. Odatda, me'da shirasini tekshirishda sinash uchun berilgan ovqatdan keyin ma'lum vaqt o'tgach, zond bilan chiqarilgan shiradan foydalaniladi. Ushbu yo'l bilan olingan me'da shirasining normadagi pH i 1,5–2,5 atrofida bo'lib, xlorid kislotasi miqdori 0,1–0,2 % ga yetadi.

Tahlil qilinishidan oldin me'da shirasi filtrlanadi yoki sentrifugalanadi. Me'da shirasini klinik tahlilida quyidagilar farqlanadi:

1) erkin holatda bo'lgan va ionlarga dissotsiyalangan "erkin xlorid kislotasi";

2) oqsillar va ularning hazm bo'lgan mahsulotlari bilan tuzsimon birikmalar ko'rinishidagi "bog'langan xlorid kislotasi";

3) erkin va bog'langan xlorid kislotalarining yig'indisi bo'lgan – umumiy xlorid kislotasi";

4) "umumiy kislotalilik" barcha nordon reaksiyali moddalarning birlashgan yig'indisi (erkin va bog'langan xlorid kislotalari, fosfat kislotasining nordon tuzlari, patologik holatlarda sut kislotasi va uchuvchi yog' kislotalari).

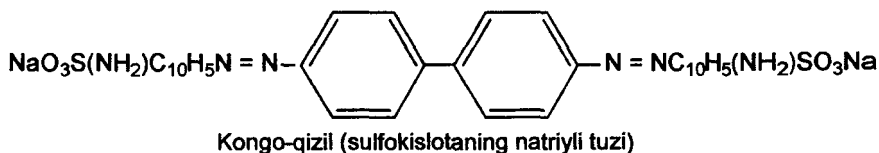
Normal me'da shirasida sut va boshqa organik kislotalari minimal miqdorda uchraydi (ovqat bilan, masalan, non bilan tushishi mumkin). Me'da funksiyasi pasayganda yoki me'da shirasida xlorid kislotasi yo'qligida, (asosan me'da rakida) sut kislotali bijg'ish natijasida sut kislotasining katta miqdorda ortishi kuzatiladi. Uning me'da shirasida aniqlanishi tashxis maqsadlari uchun nihoyatda zarur.

Bakteriotsidli yoki dezinfeksiyalovchi ta'sirga ega bo'lgan xlorid kislotasining yo'qligi me'dada mikroorganizmlar ta'sirida uchuvchi yog' kislotalari hosil qiluvchi boshqa turdagi bijg'ishlarni (sirka, moy valeryan kislotasi) keltirib chiqarishi mumkin. Ularning o'ziga xos maxsus hidi va tekshirilayotgan me'da shirasi tutgan

probirka qizdirilganda undan ajralayotgan suvda ho'llangan ko'k lakmus qog'ozini qizarishi bilan aniqlanadi.

### 10.2.1. Me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga kongo-qizil qog'ozni yordamida sifat reaksiyasi

Kongo-qizil qurilishi bo'yicha sulfokislotaning natriyli tuzidan iborat:



Kongo-qizil (sulfokislotaning natriyli tuzi) mineral kislotalarining kuchli dissotsiyalangan kislotali muhitida kongo ko'k rangli bo'lib, kuchsiz kislotali, neytral va ishqoriy muhitda qizil rangga ega. Indikatorni ko'k rangdagi holatida pH-3,0 dan kam bo'lib, qizil rangga o'tish chegarasi pH ning 3,0–5,2 oralig'ida kuzatiladi. Me'da shirasida bunga mos pH faqat erkin xlorid kislotasiga bog'liq.

**Tekshiriluvchi material:** tarkibida erkin xlorid kislotasi bo'lgan va xlorid kislotasi bo'lmagan me'da shirasi (tayyorlanishi 39-ilovada).

#### Reaktivlar:

1. Xlorid kislotasining 0,2% li eritmasi.
2. Kongo-qizil qog'ozni kongo-qizil indikator eritmasi shimdirilgan va quritilgan filtr qog'ozni yoki 0,1% li suvdagi eritmasi.

#### Jihozlar:

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.



## Ishni bajarilishi

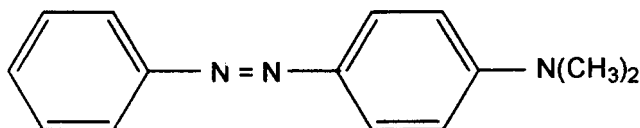
1. Tarkibida erkin xlorid kislotasi saqlagan me'da shirasidan 1–2 tomchisini kongo-qizil qog'oziga tomiziladi. Agarda kongo-qizil eritmasidan foydalanilsa, 20 tomchi me'da shirasiga 1–2 tomchi indikator qo'shiladi.

2. Aynan shu ishlar erkin xlorid kislotasi saqlamagan me'da shirasi va xlorid kislotasining 0,2 % li eritmasi bilan ham bajariladi.

3. Indikator rangini o'zgarishiga qarab tekshirilayotgan me'da shirasida erkin xlorid kislotasi borligi yoki yo'qligi haqida xulosa chiqariladi.

### 10.2.2. Me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasiga paradimetilaminoazobenzol eritmasi yordamida sifat reaksiyasi

Paradimetilaminoazobenzol rangining o'zgarish chegarasi pH-2,9–4,0 oralig'ida kuzatiladi. Faqat mineral kislotalar qatnashsa, (pH-2,9 dan kam) indikator olcha-qizil rangli bo'ladi. Tekshirilayotgan suyuqlik pH i 4,0 dan yuqori bo'lsa, rang sarg'ayadi. Ko'p miqdorda sut kislotasi bo'lsa, indikator qizg'ish-sariq rangga bo'yaladi:



Paradimetilaminoazobenzol

**Tekshiriluvchi material:** tarkibida erkin xlorid kislotasi bo'lgan va xlorid kislotasi bo'lmagan me'da shirasi (tayyorlanishi 39, 40-ilovada).

#### Reaktivlar:

1. Xlorid kislotasining 0,2% li eritmasi.
2. Paradimetilaminoazobenzolning spirtidagi 0,5% li eritmasi.

### Jihozlar:

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

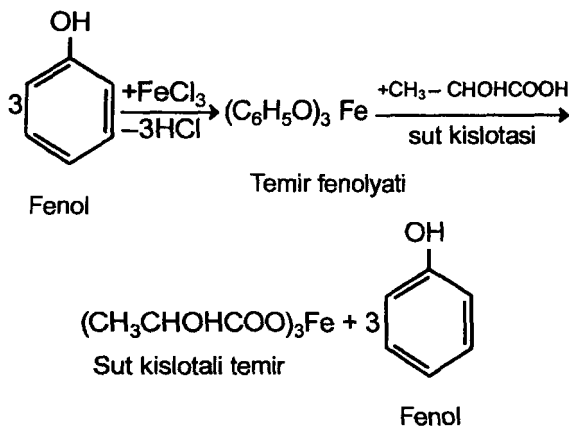
### Ishni bajarilishi

1. Uchta probirkaga 20 tomchidan tekshirilayotgan eritmalar-dan va 1–2 tomchidan paradimetilaminoazobenzolning spirt-dagi 0,5% li eritmasidan tomiziladi.

2. Uchala probirkadagi ranglarni o'zgarishi o'zaro taqqoslanib, olcha-qizil rangli bo'yoq faqatgina xlorid kislotali probirkalarda paydo bo'lganligiga ishonch hosil qilinadi.

### 10.2.3. Me'da shirasidagi sut kislotasiga sifat (Ufelman) reaksiyasi

Reaksiya sut kislotasini temir fenolyati bilan o'zaro ta'sirlanishidan kelib chiqadigan pushti rangga asoslangan. Reaksiya natijasida ko'kimtir sariq rangli temirning sutli oksidi hosil bo'ladi. Temir fenolyati temir xloridini fenolga ta'sir qilib olinadi.



**Tekshiriluvchi material:** tarkibida sut kislotasi bo'lgan va sut kislotasi bo'lmagan me'da shirasi.

## **Reaktivlar:**

1. Fenolning 2% li eritmasi.
2. Temir xloridining 1 % li eritmasi.
3. Sut kislotasining 1% li eritmasi.

## **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

## **Ishni bajarilishi**

1. 2% li fenol eritmasining 25 tomchisiga 2–3 tomchi 1% li temir xloridi tomizilganda to‘q-pushti rangli eritma hosil bo‘ladi. Reaktiv kuchsiz rang qolguncha suv bilan suyultiriladi.

2. Olingan reaktiv tarkibida temir fenolyati bo‘lib, uni uchta probirkaga taqsimlanadi.

3. Birinchi probirkaga tomchilab, 1% li sut kislotasi eritmasidan ko‘kimitir-sariq rang paydo bo‘lguncha tomizilganda rangni hosil bo‘lishi temir sut oksidi ajaralayotganligini bildiradi.

4. Ikkinchi probirkaga tarkibida sut kislotasi tutgan me‘da shirasi tomchilatib, qo‘shiladi. Agar me‘da shirasida xlorid kislotasi bo‘lmasa yoki juda oz miqdorda bo‘lsa, ko‘kimitir-sariq rang paydo bo‘ladi. Reaksiya kuchli xlorid kislotasini temirning fenol bilan hosil qilgan kompleksini butunlay parchalashi va nisbatan kuchsizroq bo‘lgan sut kislotasini uning tuzidan siqib chiqarilishi bilan tushuntiriladi.

5. Uchinchi probirkaga tarkibida sut kislotasi bo‘lmagan me‘da shirasi tomchilab qo‘shilganda pushti rang yo‘qoladi, lekin ko‘kimitir-sariq rang paydo bo‘lmaydi.

Sifat reaksiyalari natijalari 26-jadvalda keltiriladi.

**Me'da shirasi kislotalariga sifat reaksiyalar**

Aniqlanadigan kislotalar	Indikator yoki reaktiv	Kuzatiladigan rang
Erkin xlorid kislota		
Sut kislota		

Ish natijalarini rasmiylashtirishda tekshirilayotgan me'da shiralari tarkibidagi kislotalar to'g'risida xulosa chiqariladi.

**10.2.4. Me'da shirasidagi umumiy,  
erkin va bog'langan xlorid kislotalari  
miqdorini titrlab aniqlash**

Me'da shirasidagi kislotalar 0,1 n o'yuvchi natriy eritmasi bilan titrlanadi. Erkin xlorid kislota va boshqa nordon reaksiya-li birikmalarni to'la tirlanganligini aniqlashda rang intensivligi har xil bo'lgan indikatorlar qo'llaniladi. Titrlash oq fonda bajariladi.

**Tekshiriluvchi material:** me'da shirasi (tayyorlanishi 39,40-ilovalarda).

**Reaktivlar:**

1. Fenolftaleinning spirtidagi 1% li eritmasi. Bo'yoqning o'zgarish intervali pH-8,2–10,0 kuzatiladi, xona haroratida saqlanganda o'zgarmaydi.
2. 4-dimetilaminoazobenzol (metil yoki dimetil sarig'i) 0,5% li spirtli eritmasi. Rangning o'zgarish intervali 2,9–4,0 pH da xona haroratida turganda o'zgarmaydi.
3. Alizarin sulfon natriy oksidi (alizarin qizili)ning 1% li suvdagi eritmasi. Rangning o'zgarish intervali 4,3–6,3 pH da. Xona haroratida o'zgarmaydi.
4. O'yuvchi natriyning 0,1 n li eritmasi.

## **Jihozlar:**

1. 5 ml li pipetkalar.
2. 50 ml konussimon kolbalar.
3. 25,50 va 100 ml byuretkalar.

## **Ishni bajarilishi**

1. Kolbaga 5 ml filtrlangan me'da shirasi qo'yiladi va 1–2 tomchi fenolftaleinning 1% li spirtli eritmasidan hamda 1–2 tomchi 0,5% li dimetilaminoazobenzolning spirtli eritmasidan tomizilib, doimiy chayqatilib turilgan holda 0,1 N o'yuvchi natriy bilan boshlang'ich qizil rangni sarg'ish-pushti rangga o'tguncha titrlanadi. Titrlashga sarf bo'lgan ishqor miqdori erkin xlorid kislotasiga mos kelib dime-tilaminoazobenzol indikatorini bilan aniqlanadi.

2. Byuretkadagi ishqor sathining boshlang'ich holatiga keltir- masdan turib, suyuqlik rangi yo'qolmaydigan turg'un qizil rangga o'tguncha titrlash davom ettiriladi. Byuretkadagi ishqorning bosh- lang'ich sathidan boshlab sarf bo'lgan umumiy miqdori me'da shi- rasidagi kislotaning umumiy miqdoriga to'g'ri keladi va fenolftalein indikatorini bilan aniqlanadi.

3. Boshqa kolbaga 5 ml me'da shirasidan olib, 1–2 tomchi aliza- rinsulfon natriy oksidining 1% li suvli eritmasidan tomiziladi va chayqatilib turilgan holda boshlang'ich sariq rangni pushtiga o't- guncha titrlanadi. Titrlashga sarflangan ishqor miqdori bog'langan xlorid kislotasidan tashqari kislotali reaksiya beruvchi barcha moddalarning umumiy miqdoriga to'g'ri keladi va alizarin sulfon natriy oksidi indikatorini bilan aniqlanadi.

4. Zond orqali olingan me'da shirasining har bir porsiyasida erkin xlorid kislotasi, umumiy kislotalilik va zaruriyat bo'lganda bog'langan xlorid kislotasi aniqlanadi.

**Hisoblash.** Titrlash natijalari 100 ml me'da shirasidagi erkin xlorid kislotasi va boshqa nordon reaksiya beruvchi birikmalarni neytrallash uchun sarflangan 0,1 n o'yuvchi natriyning ml dagi miqdori bo'yicha hisoblanadi (shartli titrlash birligi). Titr-

lash uchun olingan me'da shirasi 5 ml, hisoblash esa 100 ml ga mo'ljallanganligini nazarda tutib, sarflangan ishqor miqdori 20 ga ko'paytiriladi. Bitta shartli titrlash birligi 1 mmol/l xlorid kislotasi miqdoriga barobar.

### **Hisoblash uchun misol**

Birinchi porsiya (birinchi kolba):

1. 1,5 ml 0,1 n natriy gidroksid (sarg'ish-pushti rang).

2. 2,6 ml 0,1 n natriy gidroksid (qizil rang).

Erkin xlorid kislotasi –  $15 - 20 = 30$  titr birlikda (30 mmol/l).

Umumiy kislotalilik –  $2,6 \cdot 20 = 52$  titr birlikda (52 mmol/l).

Ikkinchi porsiya (ikkinchi kolba):

2 ml 0,1 n natriy gidroksid (pushti rang).

Bog'langan xlorid kislotasidan tashqari, kislotali reaksiya beruvchi barcha moddalar –  $2,0 \cdot 20 = 40$  titr birlikda (40 mmol/l).

Bog'langan xlorid kislotasi  $52 - 40 = 12$  titr birlikda (12 mmol/l).

Normadagi o'lchamlari:

Erkin xlorid kislotasi – 20–40 titr birlikda (20–40 mmol/l).

Umumiy kislotalilik – 40–60 titr birlikda (40–60 mmol/l).

Bog'langan xlorid kislotasi – 4–20 titr birlikda (4–20 mmol/l).

Bir qator kasalliklarda giperxloridriya – erkin xlorid kislotasi va umumiy kislotalilik miqdorini oshishi (me'da yarasi kasalligida, giperacidli gastritda) yoki gipoxloridriya – erkin xlorid kislotasi va umumiy kislotalilik miqdorini kamayishi (me'da rakida, gipoacidli gastritda, yomon sifatli kamqonlikda) yoki axloridriya – erkin xlorid kislotasini butunlay yo'qligi va umumiy kislotalilikni katta miqdorda kamayishi (me'da raki kasalliklarida, surunkali me'da yallig'lanishining oxirgi bosqichlarida) kuzatiladi.

Me'da shirasida xlorid kislotasi va pepsin fermentini bo'lmashligi *axiliya* deb nomlanadi.

Titrlash natijalari 27-jadvalda keltiriladi.

### Me'da shirasi kislotalarini titrlash

Titrlashga olingan me'da shirasi	Titrlashga sarflangan 0,1 n o'yuvchi natriy eritmasining miqdori, ml			Titrlash birligi miqdori (mmol/l)		
	Sariq och qizil ranggacha	Qizil ranggacha	Pushti ranggacha	Erkin xlorid kislotasi	Umumiy kislotalilik	Bog'langan xlorid kislotasi

Titrlashga olingan natijalar norma bilan taqqoslanadi va me'da shirasi sekretsiyasi xususiyati bo'yicha (giper-, norma-, gipo- yoki axlorgidriya) xulosa chiqariladi.

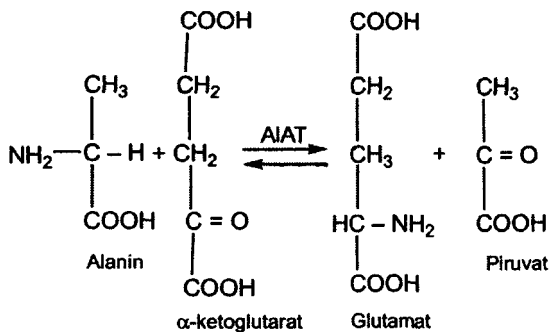
### 10.3. Aminokislotalarning oraliq almashinuvi

Aminokislotalar sintezi va parchalanishida transaminlanish (qaytar aminlanish) reaksiyalari katta ahamiyatga ega. Bu reaksiyalar natijasida oraliq modda ammiak hosil bo'lmasdan, aminoguruhlar aminokislotalardan ketokislotalarga tashiladi.

Ushbu jarayon kofermenti fosfopiridoksal reaksiya davomida fosfopiridoksaminga o'tib, aminotransferazalar (transaminazalar) fermentlari bilan katalizlanadi. Transaminlanish natijasida yangi aminokislotasi va yangi ketokislotasi hosil bo'ladi. Transaminazalardan ikkitasi klinik-tashxisda katta ahamiyatga ega, bular aspartataminotransferaza (kf 2.6.1.1.) va alaninaminotransferaza (kf 2.6.1.2.).

Alaninaminotransferaza (AlAT) aminoguruhni  $\alpha$ -ketoglutar kislotasi bilan alanin o'rtasida qayta tashilishini katalizlasa,

aspartataminotransferaza aminoguruhni  $\alpha$ -ketoglutar va asparagin kislotalari o'rtasida qayta tashilishini katalizlaydi:



Ba'zi organ to'qimalarida (yurak, jigar va boshqalar) AsAT va ALAT miqdori ularning qon zardobidagi faollik darajasidan yuz va ming marta ko'proq. Ammo nekrobiotik o'zgarishlar bilan bog'liq bo'lgan bir qator kasalliklarda – yurak mushagida (miokard infarkti) yoki jigar parenximasi shikastlanganda (yuqumli gepatit va boshqalar), mushaklarni jarohatlanishida ikkala ferment miqdori yoki ulardan bittasini to'qimadan qonga o'tishi natijasida qon zardobida sezilarli darajada ortishi mumkin.

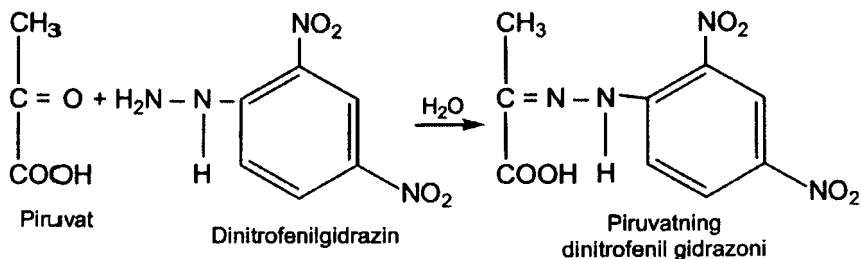
Keng ko'lamdagi o'tkir miokard infarktida AsAT miqdori katta miqdorda ohsa ham ALAT faolligi norma chegarasi atrofida yoki AsAT ga nisbatan birozgina ko'tarilishi kuzatilgan. AsAT faolligini ortishi infarkt boshlangandan 4–6 soatdan keyin boshlanib, 24–36 soat o'tganda o'zining maksimal darajasiga ko'tariladi va kasallik ijobiy kechganda 3–7 kuniga kelib faolligi normadagi ko'rsatkichigacha pasayadi.

Jigar parenximasi jarohatlanishi bilan kechadigan kasalliklarda qonda ikkala fermentning faolligi ortsa ham ALAT miqdorini o'zgarishi nisbatan ko'proq, ayniqsa, yuqumli gepatitning 6–10 kunlarida ferment faolligining yuqori ko'rsatkichlari kuzatilgan, 15–20 kunlarida esa asta-sekin normaga qaytgan.



### 10.3.1. Alaninaminotransferaza faolligini qon zardobida dinitrofenilgidrazin yordamida aniqlash

Qon zardobidagi ALAT ta'sirida kelib chiqadigan transaminlanish reaksiyasi oqibatida hosil bo'lgan pirouzum kislotasi ishqoriy muhitda 2,4-dinitrofenilgidrazin bilan reaksiyaga kirishib, rangli birikma – dinitrofenilgidrozonga o'tadi. Rangning jadallik darajasi olingan pirouzum kislotasi miqdoriga proporsional:



**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi yoki yurak va jigar to'qimalari (to'qimalar hovoncha yoki gomogenizatorida 100–200 barobar hajmdagi suvda maydalanib, tindiriladi).

#### Reaktivlar:

1. Alaninaminotransferazani aniqlash uchun tarkibida alanin va  $\alpha$ -ketoglutar kislotasi bo'lgan substrat eritmasi (tayyorlanishi 41-ildovada).
2. 2,4-dinitrofenilgidrazinning 1 n li xlorid kislotasidagi eritmasi ( tayyorlanishi 42-ildovada).
3. O'yuvchi natriyning 0,4 n li eritmasi ( tayyorlanishi 43-ildovada).
4. 1 ml da 110 mkg piruvat natriy saqlagan piruvatning standart eritmasi (88 mkg pirouzum kislotasiga to'g'ri keladi, tayyorlanishi 65-ildovada).

#### Jihozlar:

1. Probirkali shtativ.

2. 0,5 ml va 5 ml hajmli pipetkalar.
3. Mikropipetka.
4. 37° C li termostat.

### **Ishni bajarilishi**

1. ALAT (alaninketoglutarli aralashma) aniqlash uchun probirkaga 0,5 ml substratli eritmadan quyib, 5 daqiqa 37° C da isitiladi. So'ngra 0,1 ml qon zardobidan qo'shib, yengil silkitish bilan aralashtiriladi va 30 daqiqaga 37° C li termostatga qo'yiladi.

2. Probirkaga enzimatik jarayonni to'xtatish uchun 0,5 ml 2,4-dinitrofenilgidrazinning xlorid kislotadagi eritmasidan qo'shib, gidrozon hosil bo'lishi uchun 20 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi.

3. Aralashmaga 5 ml 0,4 n o'yuvchi natriy eritmasi qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi va rang hosil bo'lishi uchun 20 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi.

4. Eritma optik zichligi FEK da 500–560 nm da (ko'k svetofiltr) qalinligi 1 sm bo'lgan kyuvetalarda nazoratga nisbatan o'lchanadi.

5. Nazorat namunasini (ikkita parallel aniqlash) tajriba bilan bir vaqtda o'tkaziladi, ammo 2,4-dinitrofenilgidrazin eritmasi inkubatsiyagacha qo'shiladi. Fotometrlash oldidan ikkala nazorat namunalari aralashtiriladi va ikkita kyuvetaga quyiladi. Qon zardobidagi ferment faolligi kalibrlash grafigi bo'yicha hisoblanadi.

6. Kalibrlash grafigini tuzish. Natriy piruvatning standart eritmasidan 28-jadvalda ko'rsatilganidek, suyultirilgan eritmalari tayyorlanadi. Har bir probirkaga 0,5 ml dan 2,4-dinitrofenilgidrazinning xlorid kislotadagi eritmasidan quyib, xona haroratida 20 daqiqa ushlanadi. So'ngra namunalarda tajribada o'tkazilgan ishlar (3-, 4-punktlar) takrorlanadi.

7. Nazorat namunasi (ikkita parallel aniqlanuvchi) standart hisoblanib, natriy piruvatni standart eritmasi o'rnida distillangan suv qo'shiladi.

**Natriy piruvatning suyultirilgan eritmalarini tayyorlash**

№ Pro birkalar	Natriy piruvatning standart eritmasi, ml	Distillangan suv, ml	Pirouzum kislotalasi		Pirouzum kislotalasining mikromoldagi miqdori 1 ml ga
			Mkg	Mkmol	
1	0,05	0,55	4,4	0,05	1,0
2	0,1	0,5	8,8	0,1	2,0
3	0,15	0,45	13,2	0,15	3,0
4	0,2	0,4	17,6	0,2	4,0
5	0,25	0,35	22,0	0,25	5,0

8. Kalibrli grafik tuzishda ordinata o'qiga aniqlangan optik zichlik qiymati, absissa o'qiga unga mos bo'lgan pirouzum kislotalasining mikrogrammdagi miqdori qo'yiladi.

9. Ferment faolligi 1 ml qon zardobini 1 soat davomida 37° C da inkubatsiyalanganda hosil bo'lgan pirouzum kislotalasining mikromoldagi miqdori bilan hisoblanadi.

10. Mikromoldagi hisoblash quyidagi formula bo'yicha bajariladi:

$$S \cdot 2 \cdot 10/88.$$

**Bunda:**

10 – 1 ml zardobga hisoblash koeffitsiyenti;

S – kalibrlovchi grafik bo'yicha topilgan pirouzum kislotalasining mkg dagi miqdori;

88 – 1 mikromol pirouzum kislotalasining mkg dagi og'irligi;

2 – 1 soat inkubatsiyaga hisoblangan koeffitsiyent.

11. Normada AIAT faolligi ko'rsatkichi 1 ml qon zardobini 37° C da bir soat davomida inkubatsiya qilinganda hosil bo'lgan

pirouzum kislotasining mikromolda hisoblangan miqdori 0,1 dan 0,68 gacha (27,8–189,0 nkat/l).

### Eslatma

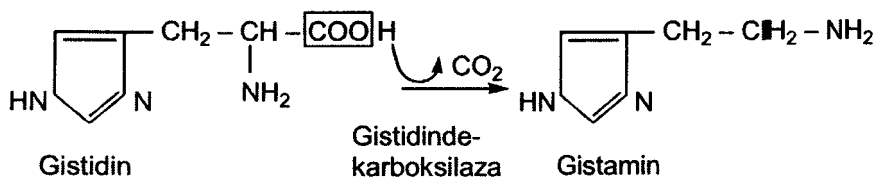
Zardob gemolizlanmagan bo'lishi kerak. Zardobni muzlatkichda saqlaganda ferment faolligi 1–2 kun davomida o'zgarmaydi.

Ekstinksiya miqdori 0,30 dan osha boshlagach, grafik to'g'ri chizig'i og'a boshlaydi. Modda konsentratsiyasi bilan optik zichlik o'rtasida to'g'ri proporsiyani saqlash uchun ekstinksiya 0,3 dan katta bo'lganda zardob inaktivlangan zardob yoki fiziologik eritmada tayyorlangan 5% li albumin eritmasi bilan suyultiriladi va olingan natija suyultirish koeffitsiyentiga ko'paytiriladi.

Ish natijasini rasmiylashtirishda tekshirish bo'yicha olingan ko'rsatkich ALAT ning normadagi miqdori bilan taqqoslanadi.

### 10.3.2. Gistamin miqdorini ampulali preparatida aniqlash

Gistamin asosan biriktiruvchi to'qimalarning semiz hujayralarida gistidindekarboksilaza ishtirokida aminokislota gistidinni dekarboksillanish yo'li bilan hosil bo'ladi:



Gistamin ushbu hujayralarda oqsil bilan bog'langan holda to'planib, endogen omillar ta'sirida shikastlanganda, kuyganda hujayralararo muhitga ajraladi va qonga o'tishi mumkin. Gistamin qonga o'tganda quyidagi holatlar kuzatiladi:

1) arteriolalar va kapillar kengayishi oqibatida qon bosimi pasayadi va teri qizaradi;

2) kapillarlarning o‘tkazuvchanligi oshib, suyuqlik qon tarkibidan hujayralararo muhitga o‘tadi, bu esa qon hajmining kamayishi tufayli qon bosimining pasayishiga sabab bo‘ladi;

3) bosh miya qon tomirlari kengayib, suyuqlikni qondan miya to‘qimasiga o‘tishi natijasida miya qutisi ichki bosimi ko‘tariladi va bosh og‘riydi;

4) o‘pka silliq mushaklari qisqarib, nafas olish og‘irlashadi;

5) me‘da shirasi va so‘lak ajralishi zo‘rayadi.

Organizmida ba‘zi oqsil, polisaxarid tabiatli antigenlar va dorilar ta‘siriga nisbatan yuqori darajada sezuvchanlik – sensibilizatsiya holati kuzatiladi. Bunday moddalar qayta iste‘mol qilinganida bir necha daqiqa davomida hayot uchun xavfli jarayon – gistamin shoki singari xatarli anafilaktik va allergik reaksiyalar belgilari paydo bo‘ladi.

Tekshirishlar ushbu reaksiyalar asosida semiz hujayralardan ajralib chiqqan gistaminning antigen-antitelo o‘zaro reaksiyasi yotganligini aniqlagan. Gistamin teri ostiga yuborilganda o‘sha joy atrofida qizarish, haroratni ko‘tarilishi, shish, og‘riq – yallig‘lanishga xos bo‘lgan deyarli barcha belgilari ko‘rinadi.

Qonda gistamin leykotsitlar va trombositlar tarkibida unchalik ko‘p bo‘lmagan miqdorda – 0,2–0,8 mg/l (18–72 nmol/l) uchraydi. Gistamin organizmda metillanish yo‘li bilan faolsizlantirilib, siydik orqali ajratiladi. Gistamin me‘da shirasining hosil bo‘lish funksiyasini tekshirishda qo‘llaniladi.

Agar me‘da shilliq qavati yuborilgan gistaminga javoban sekretsiyani ko‘paytirish bilan javob bermasa, bu holat me‘da sekretorlik hujayralarida jiddiy shikastlanish (atrofik gastrit) borligini ko‘rsatadi.

Gistamin miqdorini aniqlash usuli uni diazoreaktivi bilan hosil qilgan rangli kompleksini kolorimetrik aniqlashga asoslangan. Mazkur usul gistaminning ampulali preparatlaridagi haqiqiy miqdorini aniqlashda va saqlanish jarayonida uning faollik darajasini nazorat qilishda qo‘llaniladi. Farmakopeya bo‘yicha

chiqarilayotgan ampulali preparatning 100 ml da (0,1% li eritma) gistamin miqdori 100 g%.

**Tekshiriluvchi material:** gistaminning ampulali preparati (0,1% li eritmasi).

**Reaktivlar:**

1. Diazoreaktiv (tayyorlanishi 44-ilovada).
2. Natriy karbonatning 20% li eritmasi.
3. NaOH ning 5 n li eritmasi.
4.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ning 4% li eritmasi.
5.  $\text{NaNO}_2$  ning 4% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. Qaynab turgan suv hammomi.
3. FEK.

**Ishni bajarilishi**

1. 1 : 50 nisbatda suyultirilgan gistaminning 2 ml ga 0,5 ml distillangan suv va 0,5 ml  $\text{NaNO}_2$  ning 4% li eritmasidan qo‘shiladi. Chayqatilib, 2 daqiqaga qaynab turgan suv hammomiga qo‘yiladi.

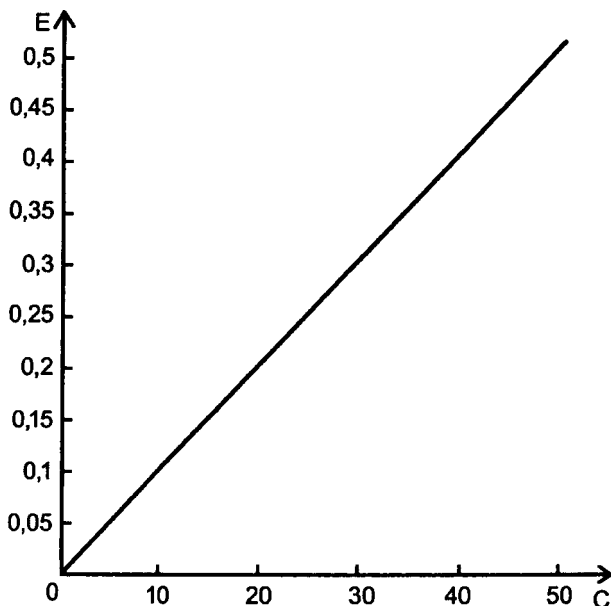
2. Probirkalar sovutilgach, 0,5 ml diazoreaktiv qo‘shib, yaxshilab aralashtiriladi.

3. Eritma pH i 10,1 ga yetguncha 20% li  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  bilan (taxminan 1 ml qo‘shib) ishqoriy muhitga o‘tkaziladi va sovutiladi.

4. 5 n li natriy gidroksiddan 2–3 tomchi qo‘shganda hosil bo‘lgan qo‘ng‘ir-qizil rang jadalligi FEK da ko‘k svetofiltrda qalinligi 5 ml li kyuvetalarda o‘lchanadi.

5. Nazorat: 5 ml distillangan suv, 1 ml 4% li  $\text{NaNO}_2$  eritmasi, 1 ml diazoreaktiv, 1 ml 20 % li  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  eritmasi, 2–3 tomchi 5 n natriy gidroksid eritmasi. Nazorat namunasi tajriba bilan bir vaqtda bajariladi.

Gistamin miqdori oldindan tayyorlangan kalibrli grafik bo‘yicha hisoblanadi (7-rasm).



**7-rasm. Gistamin miqdorini aniqlash uchun kalibrlash grafigi.**

Grafikning absissa o'qiga gistaminning mkg dagi miqdori, ordinata o'qida – optik zichlik kattaligi (ekstinksiya) qo'yilgan. Gistaminning ampulali preparatidagi miqdori quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi:

$$X = A : 400.$$

Bunda:  $X$  – kalibrlash grafigi bo'yicha va aniqlanayotgan gistamin miqdori

400–suyultirish hisobga olinib, mkg ni g/Dl ga o'tkazuvchi kattalik (qisqartirilganidan keyin).

Ishni rasmiylashtirishda gistaminning ampuladagi aniqlangan miqdorini uning ampuladagi (0,1% li eritma) markalangan miqdori bilan taqqoslab, preparatning vaqt davomida saqlanish darajasi to'g'risida xulosa qiling.

### **10.3.3. Gistidaza faolligini qon zardobida Tabor va Meler usulini V.A.Burobin modifikatsiyasida aniqlash**

Gistidaza organospetsifik fermentlardan bo'lib, inson jigari va terisida ko'proq uchraydi va jigar kasalligida qon tarkibida miqdori ortishi kuzatiladi. Sog'lom odam qon zardobida juda oz miqdorda bo'lib, asosan jigar xastaligida ko'payib, kasallik darajasini belgilaydi.

Gistidaza faolligini aniqlash uchun uning ta'sirida gistidinni dezaminlanishidan hosil bo'lgan urokanin kislotasining miqdori o'lchanadi va uning kislotali muhitdagi 264 nm nur yutish ekstinksiyasi ferment faolligini belgilaydi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

#### **Reaktivlar:**

1. L-gistidin monogidroxloridning 0,2m eritmasi (tayyorlanishi 45-ilovada).
2. Pirofosfatli buferning 0,1m li eritmasi, pH-8,2 (tayyorlanishi 46-ilovada).
3. Uchxlorsirka kislotasi (UXSK)ning 20%li eritmasi.
4. Tarkibida glutation va albumin saqlagan faollashtiruvchi eritma (tayyorlanishi 47-ilovada).
5. Kalibrlash grafigi tuzish uchun 0,001m urokanin kislotasi eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1 va 5 ml hajmdagi pipetkalar.
3. Laboratoriya termometri bilan suv hammomi.
4. 37° C li termostat.
5. Sentrifuga tarozisi bilan.
6. Spektrofotometr.

#### **Ishni bajarilishi**

Fermentativ reaksiya quydagicha kechadi:





	Urokanin kislotasining ishchi eritmasi, ml	Pirofosfat buferi, ml	Faollashtiruvchi eritma, ml	Gistidin eritmasi, ml	Urokanin kislotasining namunadagi miqdori, mkmol
1	0	0,3	1,0	1,0	0
2	0,05	0,3	1,0	1,0	0,005
3	0,10	0,3	1,0	1,0	0,010
4	0,15	0,3	1,0	1,0	0,015
5	0,20	0,3	1,0	1,0	0,020
6	0,30	0,3	1,0	1,0	0,030
7	0,40	0,3	1,0	1,0	0,040

Hamma probirkalardagi namunalar hajmi distillangan suv bilan 3 ml ga yetkazilib, ustiga 1ml dan uchxlorsirka kislotasi quyiladi va aralashtiriladi. 3000 aylanish tezligida 5 daqiqa sentrifugalab, choʻkma usti suyuqligi toza probirkalarga olinadi va ekstinksiyasi yuqorida koʻrsatilgani kabi oʻlchanadi.

Hisoblash quyidagi formula boʻyicha bajariladi:

$$X = \frac{E \cdot 200}{2}$$

Bunda:

$X$  – qon zardobidagi gistidaza faolligi mkmol/soat l;

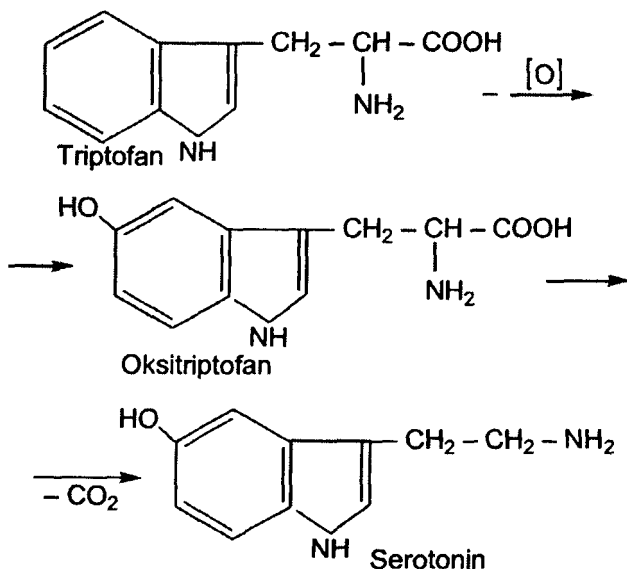
$E$  – kalibrlash grafigi boʻyicha topilgan urokanin kislotasining miqdori, mkmol;

200 – 1 l qon zardobiga hisoblangan koeffitsiyent;

2 – 1 soatga hisoblangan koeffitsiyent.

### 10.3.4. Qondagi serotoninga sifat reaksiyasi

Serotonin muhim biologik faol modda bo'lib, odam va hayvonlar uchun almashtirib bo'lmaydigan aminokislota triptofanni gidroksillangan unumi 5-oksitriptofanning dekarboksillanishidan hosil bo'ladi:



Serotoninning organizmda oksidlanishli dezaminlanishidan hosil bo'lgan indolilsirka kislotasi siydik orqali chiqariladi. Uning siydikdagi miqdori ichakning o'sma kasalliklarida bir necha barobar ortadi. Serotonin nerv to'qimasida, me'da va ichak devorlarida ko'plab uchraydi.

Serotonin turli hayvon zaharlarida ham topilgan. U oz miqdorda qonda bo'lib, yuqori faollikka ega bo'lgan farmakologik agent hisoblanadi, markaziy nerv sistemasiga kuchli ta'sir ko'rsatadi.

Serotonin yoki 5-oksitriptamin nerv tizimi mediatori sifatida periferik organ va to'qimalari funksiyasini mahalliy boshqarishda ahamiyati bor, qon trombositlari tarkibida tashiladi.

**Tekshiriluvchi material:** qon.

**Reaktivlar:**

1. Natriy xloridning 6,3% li eritmasi.
2. Rux sulfatning 5% li eritmasi.
3. O'yuvchi natriyning 2% li eritmasi.
4. Konsentrlangan xlorid kislotasi.

**Jihozlar:**

1. Mikrokimyoviy pipetkalar.
2. 0,1; 0,2; 0,5 hajmli pipetkalar.
3. Tomizgichlar.
4. Voronkalar.
5. Filtr qog'ozlari.
6. Flyuroskop.

**Ishni bajarilishi**

1. Mikrokimyoviy probirkaga 2 tomchi qon tomizilib, 10–15 tomchi (0,5–1,0 ml) distillangan suv qo'shib aralashtiriladi.
2. Gemoliz boshlangandan so'ng 6,3 % li natriy xlorid eritmasidan 2 tomchi tomiziladi.
3. Oqsillarni cho'ktirish uchun 2 tomchi 5 % li rux sulfat va 2 tomchi 2% li o'yuvchi natriy eritmalari qo'shib, chayqatiladi.
4. Aralashma toza va quruq probirkalarga filtrlanadi.
5. Alohida olingan probirkaga 3 tomchi filtrat va 1 tomchi konsentrlangan xlorid kislotasi tomizilib, flyuroskop yordamida serotoninning flyuroressensiyalanishi kuzatiladi.

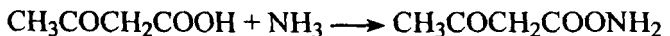
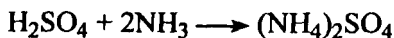
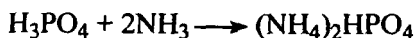
## **10.4. Oqsillar almashinuvining oxirgi unumlari**

Oqsillar almashinuvining azot saqlovchi oxirgi unumlari asosan ammiak va mochevinadan iborat. Ammiak ko'pincha aminokislotalarning degidrogenazalar, xususan, glutamatdegidrogenazalar ta'sirida dezaminlanishidan hosil bo'ladi. Reaksiya natijasida aminokislotadan aminoguruhi ammiak shaklida ajralib chiq-

ib, o'zi ketokislotaga aylanadi. Odam organizmida kuzatiladigan oksidlanishli dezaminlanish avval  $\alpha$ -ketoglutar kislotasining transaminlanishidan boshlanadi, chunki fiziologik sharoitda to'qimalarda glutamatdehidrogenaza yuqori faollikka ega.



Ammiak kuchli toksik xususiyatli modda, organizmda uni asosan karbonat angidridi bilan birikib, mochevina hosil qilish yo'li orqali qisman glutamin va ammoniy tuzlari sintezi hisobiga zaharsizlantiriladi. Normada ammoniy tuzlari shaklida siydik bilan sutkasiga 0,5–1,2 g ammiak chiqariladi. Ammoniyli tuzlar organizmda modda almashinuv jarayonida hosil bo'ladigan va tashqariga tushadigan ammiakning neytrallanishidan hosil bo'ladi:



Atsetosirka kislotasi

Atsetosirka kislotasining  
ammoniyli tuzi

Ammiakni siydikdagi ekskretsiyasi, avvalo, kislota-ishqor muvozanatiga bog'liq. Atsidozli ahvolda kuzatiladigan kasalliklarda ammiakni siydikda ajralishi anchagina yuqori bo'ladi.

Shu sabab ammiakni ammoniy tuzlari shaklida ajralayotgan miqdoriga qarab organizmda hosil bo'layotgan kislotalar miqdori to'g'risida xulosa chiqarish mumkin. Masalan, qandli diabetda hosil bo'lgan atseton tanachalari (atsetosirka kislotasi,  $\beta$ -gidroksimoy

kislotalari) tufayli atsidoz holati kuzatiladi va bemor badanida to'qima oqsillari parchalanishini kuchayishi oqibatida fosfat va sulfat kislotalarining miqdori ortadi.

Buyrak shikastlanganda buyrak to'qimasida glutamindan ammiakni hosil bo'lish imkoniyati pasayganligi hisobiga siydikda ammiak miqdori kamayadi, aynan shu ko'rsatkich buyrak ishi buzilganligini bildiradi.

Oqsil almashinuvining oxirgi asosiy unumi mochevina hisoblanadi. Kimyoviy tuzilishi bo'yicha mochevinani uglerod oksidi (CO)ning diamidi sifatida qarash mumkin:

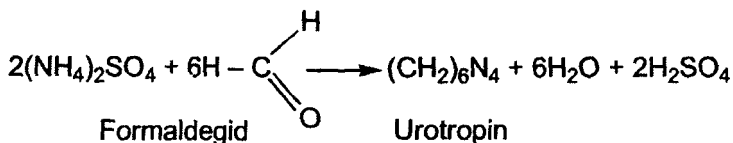


Mochevina jigarda ammiak va karbonat kislotasining ATF ishtirokidagi ketma-ket zanjirli reaksiyasi natijasida sintezlanadi. Odam siydigi bilan normada aralash oziqa iste'mol qilinganda bir sutkada 20–35 g (o'rtacha 30 g – 0,5 mol/sut) mochevina ajratiladi. Mochevinaning siydikdagi miqdorining ko'payishi oqsilga boy ovqat qabul qilinganda, organizm o'z oqsilini ortiqcha parchalanishi bilan bog'liq kasalliklarda (isitma, gipertireoz, diabet) kuzatiladi.

Mochevina ajralishini kamayishi esa ovqat tarkibida oqsilni yetishmasligida, mochevina ajralishi qiyinlashgan buyrak kasalliklarida, mochevina sintezi buzilishiga sabab bo'lgan jigar kasalliklarida, atsidoz tufayli mochevina hosil bo'lishi pasayishi hisobiga katta miqdorda ammoniy tuzlari sintezlanishida aniqlangan.

### **10.4.1. Siydikda ammiak miqdorini Malfatti bo'yicha aniqlash**

Mazkur usul siydikdagi ammoniy tuzlariga formaldegid ta'sir qilganda urotropin (geksametilentetramin) hosil bo'lishi va ammiak miqdoriga barobar kislota ajralishiga asoslangan:



Kislotani ishqor eritmasi bilan titrlab, hisoblash yo‘li bilan siydikdagi ammiak miqdori aniqlanadi. Bunda 1 ml 0,1 n o‘yuvchi natriy eritmasi 0,0017 g ammiakka (titr 0,1 n ammiak eritmasi) tengligi e‘tiborga olinadi.

**Tekshiriluvchi material:** sutka davomida bakteriyalar bilan ifloslanishdan saqlab yig‘ilgan siydik.

#### **Reaktivlar:**

1. Fenolftaleinning 1% li spirtli eirtmasi.
2. 0,1 n o‘yuvchi natriy eritmasi.
3. Fenolftalein ishtirokida o‘yuvchi natriy eritmasi bilan oldindan neytrallangan formalin.

#### **Jihozlar:**

1. Konussimon kolbachalar.
2. 5 ml hajmli pipetkalar.
3. Byuretkalar.
4. Tomizgichlar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Kolbaga 5 ml siydik olib, 25 ml distillangan suv, 2 tomchi fenolftaleinning 1% li spirtidagi eritmasidan qo‘shib, o‘yuvchi natriyning 0,1 n li eritmasi bilan aralastirilib turilgan holda och pushti rang hosil qilguncha titrlanadi. Bu bilan siydikdagi kislota xususiyatli moddalarni neytrallashga erishiladi.

2. Kolbaga oldindan fenolftalein ishtirokida ishqor eritmasi bilan neytrallangan formalindan 1,5–2,5 ml qo‘shiladi, aralashma ammiakli tuzlar parchalanishi va eritmada kislotalar paydo bo‘lishi natijasida rangsizlanadi.

3. Formalin qo‘shilgandan so‘ng aralashma yana 0,1 n NaOH eritmasi bilan suyuqlik pushti rangga kirguncha titrlanadi.

4. Oxirgi titrlash uchun sarflangan ishqorning ml dagi miqdorini 0,0017 ga ko'paytirib, tahlil uchun olingan siydikdagi ammiak miqdori topiladi va shu orqali uning sutkalik siydikdagi miqdori aniqlanadi.

**Misol:** sutkalik siydik miqdori – 1240 ml, tahlil uchun olingan – 5 ml, formalin qo'shilgandan keyin titrlashga sarflangan 0,1 n ishqor eritmasi – 1,33 ml; tekshirish uchun olingan siydik hajmidagi ammiak miqdori =  $1,33 \cdot 0,0017 = 0,00226$  g.

Sutkalik siydikdagi ammiak miqdori =  $0,00226 \cdot 1240/5 = 0,56$  g.

Ish natijasini rasmiylashtirishda tahlil uchun olingan sutkalik siydikda topilgan ammiak miqdorini normada siydikdagi sutkasiga ajratilgan ammiak miqdori bilan taqqoslanadi. Xulosada tekshirilayotgan subyektda atsidoz borligi yoki yo'qligi to'g'risida aniqlik kiritiladi.

#### 10.4.2. Mochevinaga biuret reaksiyasi

Mochevina qizdirilganda ammiak ajraladi va hosil bo'lgan biuret biuretga xos reaksiya (2.1.1 ga qarang) bilan topiladi.

**Tekshiriluvchi material:** mochevina kristali.

**Reaktivlar:**

1. 10% li o'yuvchi natriy eritmasi.
2. 1% li mis sulfat eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Quruq probirkaga solingan bir necha mochevina kristallari kuchsiz alangada eritiladi.

2. Qizdirish jarayoni erigan massani qotishi boshlanguncha davom ettirilganda ammiak ajrala boshlaydi. Uning hidi va suv bilan ho'llangan qizil lakmus qog'ozini chiqayotgan bug'larida ko'karishi bo'yicha aniqlanadi.



3. Hosil bo'lgan probirkadagi biuret sovutiladi, so'ngra 10% li o'yuvchi natriyning taxminan 10 tomchisida eritilib, tomchilab 1–2 tomchi 1% li mis sulfat eritmasidan biuretni misli tuzi kompleksi hisobiga pushti rang paydo bo'lguncha qo'shiladi.

## 10.5. Kreatinin

Kreatinin odam organizmida azot almashinuvining oxirgi unumlaridan biri bo'lib, siydik tarkibining doimiy qismi hisoblanadi. Kreatinin mushaklarda makroergik fosforli birikma fosfokreatindan hosil bo'ladi, u esa o'z navbatida kreatin va ATFdan tuzilgan. Kreatin odamda asosan jigarda aminokislotalar glitsin, arginin va metioninning faol shakli – adenzilmetionindan sintezlanadi.

Kreatinin o'rta hisobda sutkasiga 0,5–2 grammida siydik bilan ajratiladi. Ushbu ko'rsatkich skelet muskulaturasining rivojlanish darajasiga, undagi fosfokreatin miqdoriga va yana oziqa go'shti tarkibidagi kreatinin miqdoriga to'g'ri keladi.

Mushaklar harakati oshganda, isitmada, qandli diabetda va organizmning oqsil to'qimasining parchalanishi zo'rayishi bilan bog'liq bo'lgan boshqa kasalliklarda kreatinin ajralishini ko'payishi kuzatiladi. Mushak atrofiyasi, buyrak kasalliklarini rivojlanishida va boshqalarda kreatininning ajratilishi kamayadi.

Kreatiniga qarshi o'laroq katta kishilar siydigidagi kreatin uchramaydi. Kreatinni katta yoshdagilar siydigidagi paydo bo'lishi (kreatinuriya) oziqa tarkibida kreatin miqdori haddan tashqari ko'payganda va skelet mushaklari kasalliklari (miasteniya, miozit, miotoniya)da kuzatiladi. Bolalar siydigidagi kreatin uni oziqa tarkibida bo'lishiga bog'liq emas (bolalar yoki fiziologik kreatinuriya).

### 10.5.1. Kreatininga natriy nitroprussid bilan sifat (Veyl) reaksiyasi

Kreatinin natriy nitroprussid –  $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$  bilan o‘yuvchi ishqor ishtirokida qizil rangli izonitrozokreatinin hosil qiladi, ammo olingan birikma turg‘un bo‘lmay, tezlikda qizil rang sariq rangga o‘zgaradi.

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Reaktivlar:**

1. Natriy nitroprussidning yangi tayyorlangan 5% li eritmasi.
2. 10% li o‘yuvchi natriy eritmasi.
3. Konsentrlangan sirka kislota.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkadagi 10 tomchi siydikka 1–2 tomchi yangi tayyorlangan 5% li natriy nitroprussid eritmasidan qo‘shiladi va 1–2 tomchi 10% li o‘yuvchi natriy eritmasi bilan ishqoriy muhitga o‘tkaziladi. Paydo bo‘lgan qizil rang keyinchalik sariq rangga o‘tadi.

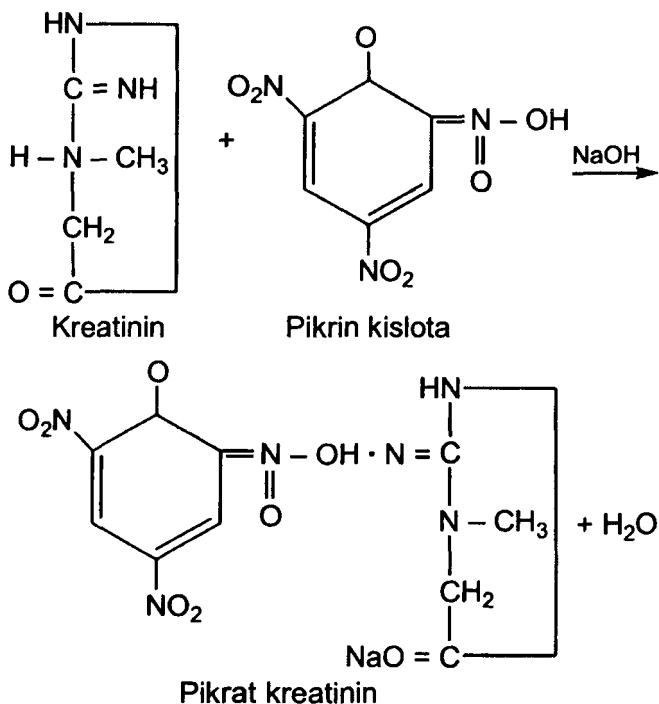
2. Probirkadagiga bir necha tomchi konsentrlangan sirka kislotasidan tomizilib, kislotali muhitga o‘tkazilsa, qizil rang shu zahoti sariq rangga almashinadi.

Siydikning normal tarkibiy qismi bo‘lgan kreatininga sirka kislotasi qo‘shilgandagi reaksiya patologik holatlarda siydikdagi atsetonga bo‘lgan shu kabi reaksiyadan farqlashda qo‘llaniladi. Atseton bilan reaksiyada kuzatiladigan qizil rang sirka kislotasi qo‘shilganda yo‘qolish o‘rniga, aksincha, yana ham quyuqlashib, olcha rangga o‘tadi.

Ishni rasmiylashtirishda sifat reaksiyalarining natijalari yozilib, xulosada tekshirilayotgan siydikda kreatinidan tashqari atseton bor yoki yo‘qligi qayd etiladi.

## 10.5.2. Siydikda kreatinin miqdorini Yaffe rangli reaksiyasi bilan aniqlash

Usul asosida kreatininni pikrin kislotasi bilan reaksiyaga kirishishi yotadi. Kreatinin pikrin kislotasining xinoidli shakli bilan o'zaro ta'sirlanishidan pikrat kreatinin hosil bo'ladi. U ishqoriy muhitda to'q sariq-qizil rangli o'zining tautomer ko'rinishiga aylanadi. Rangning quyuvlik darajasi kreatinin miqdoriga proporsional.



**Tekshiriluvchi material:** sutka davomida yig'ilgan siydik.

**Reaktivlar:**

1. Pikrin kislotasining to'yingan eritmasi (tayyorlanishi 49-ildovada).

2. 10% li o'yuvchi natriy eritmasi.
3. 1 ml da 1 mg kreatinin bo'lgan kreatininning asosiy standart eritmasi ( tayyorlanishi 50-ilovada).

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1 va 3 ml hajmdagi darajalangan pipetkalar.
3. Fotoelektrokolorimetr.
4. 100 ml li kolba yoki silindr.

### **Ishni bajarilishi**

1. 100 ml hajmdagi o'lchovli kolbaga yoki silindrga siydikning sutkalik miqdoridan 0,5 ml va 3 ml pikrin kislotasining to'yingan eritmasidan olinadi. Yaxshilab aralashtirilgach, 0,2 ml 10% li o'yuvchi natriy eritmasidan qo'shib, asta-sekin chayqatiladi.

2. Kolba yoki silindrdagi suyuqlik xona haroratida 10 daqiqa ushlangandan so'ng hajmi distillangan suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

3. Optik zichligi FEK da qalinligi 1 sm bo'lgan kyuvetada 510–560 nm to'lqin uzunligida (ko'k svetofiltr) nazoratga nisbatan o'lchanadi.

4. Bir vaqtning o'zida nazorat namunasi ham qo'yiladi. 100 ml o'lchovli kolbaga 3 ml pikrin kislotasining to'yingan eritmasidan va 0,2 ml 10% li o'yuvchi natriy eritmasi quyilib, aralashtiriladi va belgisigacha distillangan suv qo'shiladi.

5. Standart namuna. 100 ml li o'lchov kolbasiga 0,5 ml kreatininning asosiy standart eritmasidan (0,5 mg kreatinin saqlagan) va 3 ml pikrin kislotasining to'yingan eritmasidan quyib, yaxshilab aralashtiriladi, so'ngra 0,2 ml 10% li o'yuvchi natriy eritmasidan qo'shiladi. Namuna bilan bajariladigan ishlar tajriba namunasida (2- va 3-punktlar) ko'rsatilganidek o'tkaziladi.

Natija quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$X = \frac{C_{st} \cdot E_t \cdot D}{E_{st} \cdot a}$$

**Bunda:**

$X$  – kreatinning mg dagi sutkalik siydikdagi miqdori;

$S_{st}$  – standart namunadagi kreatinning mg dagi miqdori;

$E_t$  – tajriba namunasiining ekstinksiyasi;

$E_{st}$  – standart namunasiining ekstinksiyasi;

$D$  – siydikning sutkadagi miqdori;

$a$  – tahlilga olingan siydik miqdori.

Normada siydikdagi kreatinin miqdori erkaklarda 1–2 g/sutka (8,8–17,7 mmol/sutka), ayollarda – 0,8–1,8 g/sutka (7,1–15,9 mmol/sutka) ga barobar.

#### **Eslatma.**

1. O‘lchashni o‘yuvchi natriy qo‘shilgandan so‘ng 20 daqiqadan kechi ktirmay o‘tkazish kerak.

2. Siydikka konservant sifatida timol va toluoldan foydalanish mumkin, ular kreatininni aniqlashga xalaqit qilmaydi.

3. 100 ml siydikda kreatinin miqdori 1,5 g gacha bo‘lganda uni aniqlashga oqsil xalal bermaydi. Oqsil miqdori yuqori bo‘lsa, uni tahlil qilish oldidan ajratib olish kerak.

4. Siydikdagi kreatinin miqdorini aniqlashda ekstinksiya ko‘rsatkichi 0,22–0,25 dan boshlab, siydikni suyultirish lozim, olingan natijani esa suyultirilgan darajaga ko‘paytiriladi.

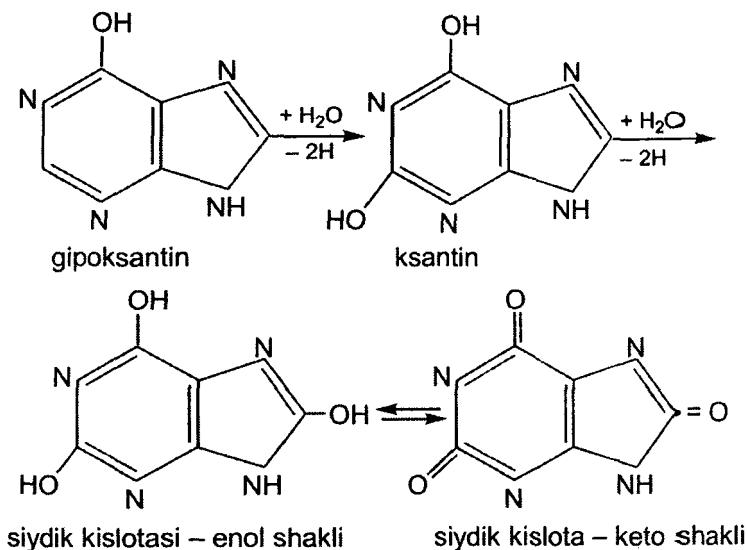
Islni rasmiylashtirishda tajriba va standart namunalarini o‘lchashda olingan ekstinksiyaga asoslanib, tekshirilayotgan siydikdagi sutka davomida ajratilgan kreatinin miqdori grammlarda yuqorida keltirilgan formula bo‘yicha hisoblanadi. Olingan natija kreatininni normadagi sutkalik siydikdagi ko‘rsatkichlari bilan taqqoslanadi va xulosa chiqariladi.

## 10.6. Purinlar almashinuvi

Odam organizmida nuklein kislotalar tarkibiga kiruvchi purin asoslari almashinuvining oxirgi unumi siydik kislotasidir. Nuklein kislotalari organizmning har xil to'qimalarida sintez bo'lishi bilan birga asosan hujayra lizosomalarida joylashgan DNK aza va RNK aza fermentlari ta'sirida mononukleotidlarga parchalanadi.

Keyinchalik purin mononukleotidlari – adenil va guanil kislotalari dezaminazalari ishtirokida gidrolitik dezaminlanishga uchrab, o'zlarining gipoksantozinfosfat yoki ksantozinfosfat kislotalarini hosil qiladi.

Ulardan fosfataza ta'sirida fosfat kislotasi ajralib chiqqach, nukleozidlarga – gipoksantozin va ksantozinga, bular esa o'z navbatida fosforoliz jarayoniga berilib, gipoksantinga yoki ksantin va uglevod (pentoza)ga parchalanadi. Tarkibida molibden saqlagan flavinli ferment ksantinoksidaza ta'sirida gipoksantin ksantinga oksidlanadi, ksantin esa siydik kislotasiga aylanadi:



Siydik kislotasi organizmdan buyrak orqali ko‘pincha siydik kislotasi tuzlari (uratlar) shaklida chiqariladi. Odamda normadagi ovqatlanish tartibida sutkasiga taxminan 0,25–0,75 g (1,48–4,43 mmoI) siydik kislotasi ajratiladi.

Bolalarda kattalarga nisbatan siydik kislotasi birmuncha ko‘proq. Nukleoproteidlarga, ya‘ni purin asoslariga boy bo‘lgan oziqa mahsulotlari (jigar, buyrak, miya va boshqalar) iste‘mol qilinganda siydikda siydik kislotasi miqdori ortadi.

Ushbu holat organizmda nuklein kislotalari parchalanishi oshganda, og‘ir mushak jismoniy mehnatida, podagra kasalligi xuruji vaqtida, leykemiya ko‘rinishidagi leykozlarda kuzatiladi. Purin almashinuvi buzilishi bilan bog‘liq bo‘lgan podagra kasalligida bemor tog‘aylarida, bo‘g‘inlarining shilliq qavati yuzasida va badanining boshqa to‘qimalarida siydik kislotasi va uning natriyli tuzlari to‘planadi.

### **10.6.1. Siydik kislotasiga sifat reaksiyasi (mureksid probasi)**

Reaksiya purpur kislotasining ammoniyli tuzi – mureksid hosil bo‘lishiga asoslangan. Siydik kislotasi konsentrlangan azot kislotasi ta‘sirida oksidlanib, dialur kislotasi va alloksanga aylanadi, ular keyinchalik kondensatsiyalashib, alloksantinga o‘tadi. Alloksantin ammiak bilan o‘zaro reaksiyaga kirishib, purpur kislotasini hosil qiladi, uni ammoniyli tuzi – mureksid esa purpur (qizil) rangli. Purpur kislotasining natriyli yoki kaliyli tuzi pushti rangga ega. Mureksid probasidan siydik toshlarida siydik kislotasini ochishda foydalaniladi.

**Tekshiriluvchi material:** siydik kislotasining kukuni.

**Reaktivlar:**

1. Konsentrlangan azot kislotasi.
2. Ammiakning 25% li eritmasi.
3. O‘yuvchi natriyning 10% li eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Farforli (chinni) kosacha.
2. Yog'ochli qisqich.
3. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. Chinni kosachaga bir chimdim siydik kislota kukuni solib, unga 1–2 tomchi konsentrlangan azot kislota tomiziladi.

2. Aralashma haroratini 70° C dan oshirmagan holda (kuyishining oldini olib), ehtiyotlik bilan kuchsiz alangada quriguncha bug'latiladi. Kosacha yog'och qisqich bilan ushlab turiladi, hosil bo'layotgan azot bug'lari puf lab yo'qotiladi.

3. Siydik kislotasining qo'ng'ir-qizil oksidlangan unumi qoldig'i sovutilib, devori bo'ylab 1–2 tomchi ammiak eritmasi tomizilganda purpur kislotasining ammoniyli tuzi – mureksid hosil bo'lganini ko'rsatuvchi chiroyli purpur-qizil rang paydo bo'ladi.

4. Qo'ng'ir-qizil rang qoldig'ining ikkinchi tomonidan 1–2 tomchi 10% li o'yuvchi natriy eritmasi tomizilsa, pushti rang ko'rinadi.

## **10.6.2. Siydikdagi aminokislotalarga sifat reaksiyalari**

Siydik bilan ajralayotgan aminokislotalarning asosiy manbai qon hisoblanadi. Ammo siydikda katta miqdorda chiqarilayotgan aminokislotalar plazma tarkibida ham yuqori darajada bo'lishiga bog'liq emas. Siydik bilan ajratiladigan aminokislotalar miqdori bir xil bo'lmay, glitsin, gistidin, alanin boshqalariga nisbatan katta miqdorda chiqariladi.

Ko'pchilik aminokislotalar (asparagin va glutamin kislotalari, glitsin, prolin, sistin, lizin, serin) siydikda bog'langan ko'rinishda masalan, xelatli kompleks shaklida uchraydi. Sog'lom katta kishilarda sutkasiga 100 dan 400 mg gacha har xil aminokislotalar ajratilib, siydik umumiy azot yig'indisining 2% ini tashkil qiladi.



Aminokislotalar ekskretsiyasiga yoshdagi farq, ovqat tarkibi, buyrakning reabsorbsion funksiyasi ko‘proq ta’sir ko‘rsatadi. Aminokislotalar ajralishi bir qator kasalliklarda ortishi ham mumkin. Masalan, normada aminokislotalar dezaminlanishga va boshqa biokimyoviy o‘zgarishlarga uchraydigan organ – jigar parenximasi jarohatlanganda (gepatitlar, sirroz, infeksiyon hepatit) aminoasiduriya holati kuzatiladi.

Siydikda aminokislotalar miqdorini ortishi to‘qimalar yemirishi bilan kechadigan xavfli o’sma – shishda, kuyganda, infeksiyon kasalliklarda va boshqalarda ham aniqlangan. Siydikda yuqori miqdorda aminokislotalar ajratiladigan bemorlar orasida tug‘ma va irsiy modda almashinuv kasalliklari (fruktoza, laktoza va saxaroza qabul qila olmaydiganlar; galaktozemiya, alkaptonuriya va boshqalar) katta o‘rinni egallaydi.

Xromatografik usulning qo‘llanilishi ko‘pchilik bemorlarda siydik bilan ajralayotgan aminokislotalarni keng ko‘lamda sifat va miqdoriy tadqiq qilishda qulay imkoniyatlar yaratadi.

Siydikdagi aminokislotalarni aniqlashdagi sifat reaksiyasi aminokislotalarni ningidrin bilan ko‘k yoki binafsha rang berishiga asoslangan (2.1.7-bo‘limga qarang). Mabodo, aminokislotalar xelatli kompleksga bog‘langan bo‘lsa, bu vaqtda ular ningidrin ta’siriga berilmaydi.

Ushbu sharoitda siydikdagi aminokislotalarni aniqlash uchun ularni xelatli kompleksdan siqib chiqarish kerak bo‘ladi. Buning uchun xelatli kompleks kationlariga aminokislotalarga qaraganda yaqinligi ko‘proq bo‘lgan kompleksonlar qo‘shiladi.

Odatda, shunday komplekson sifatida etilendiamintetrasirka kislotasi (EDTA)ning ikki natriyli tuzidan foydalaniladi. Natijada ajralib chiqqan erkin aminokislota bilan ningidrin reaksiyaga kirishadi.

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Reaktivlar:**

1. EDTA bilan to‘yintirilgan ningidrinning spirtdagi 0,2% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 10 tomchi siydikka 10 tomchi ishlatish oldidan yaxshilab chayqatilgan, EDTA ga to'yintirilgan ningidrinning 0,2% spirtli eritmasidan qo'shiladi.

2. Probirkadagi suyuqlik qizdirilganda aminokislotaning ningidrin bilan reaksiyaga kirishishidan ko'k rangli unumi hosil bo'lishi kuzatiladi.

Amaliy mashg'ulot natijasi 31-jadval ko'rinishida rasmiylashtiriladi.

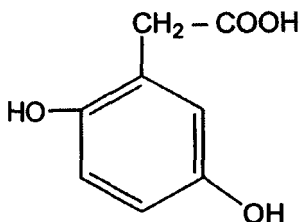
*31-jadval*

**Siydikkdagi aminokislotalar va ularning almashinilgan unumlarini sifat reaksiyasi bilan ochish**

Tekshirilayotgan material	Ochilayotgan modda	Qo'llanilayotgan reaktiv	Kuzatilayotgan natija	Reaksiya nimaga asoslangan

### 10.6.3. Siydikdagi gomogentizin kislotasini aniqlash

Gomogentizin kislatasi aminokislotalar fenilalanin va tirozin almashinuvining oraliq unumi:



Gomogentizin kislatasi

Normada gomogentizin kislatasi gomogentizinat-oksidadaza (kof fermenti  $Fe^{2+}$ ) ta'sirida fumarilatsetosirka kislotasiga oksidlanadi, uning alohida ferment ishtirokidagi gidrolizlangan unumlari fumarat va atsetosirka kislotalari Krebs siklida  $CO_2$  va  $H_2O$  gacha oksidlanadi.

Normadagi siydikda gomogentizin kislatasi aniqlanmaydi, tug'ma irsiy anomaliya – alkaptonuriyada to'qimalarda gomogentizin kislotasini fumarilatsetosirka kislotasigacha oksidlanishini katalizlovchi ferment funksiyasini yo'qolishi tufayli u siydikka chiqadi.

Alkaptonuriyada siydik havoda turganida, ayniqsa, ishqor qo'shilganda qorayish xususiyatiga ega. Siydikda gomogentizin kislotasini aniqlash usuli uning molekulasidagi gidroksinon halqasining qaytarilish xossasiga asoslangan. Gomogentizin kislatasi oksidlanib, boshqa moddalarni qaytaradi.

**Tekshiriluvchi material:** normadagi va gomogentizin kislotali siydik (tayyorlanishi 51-ildovada).

#### Reaktivlar:

1. Nitrat kislotasidagi ammoniy molibden reaktivi (tayyorlanishi 52-ildovada).
2. Kaliy digidrofosfatning 1% li eritmasi.

## **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

## **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirka olib, birinchisiga ikki tomchi sog‘lom odam siydigi, ikkinchisiga 2 tomchi alkaptonuriyali bemor siydigi tomiziladi.

2. Har bir probirkaga 10 tomchidan suv va 4 tomchidan 1% li kaliy fosfat eritmasidan va molibden reaktividan qo‘shiladi.

3. Probirkalardagilar chayqatilib, aralashtiriladi. Alkaptonuriyali siydik probirkasida ko‘k rangni paydo bo‘lishi gomogentizin kislotasining qaytaruvchanlik xususiyatiga bog‘liq.

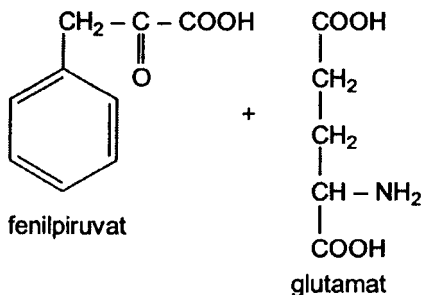
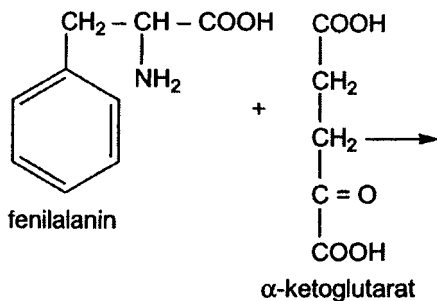
Normadagi siydikli probirkada ko‘k rang bo‘lmaydi.

Ishni rasmiylashtirishda siydikdagi gomogentizin kislotasini ochishdagi sifat reaksiya natijalari avvalgi (10.6.2.) ishdagi 31-jadvalda keltiriladi. Fenilalanin va tirozinning organizmdagi o‘zgarishi sxemasi yozilib, oraliq va oxirgi almashinuv unumlari ko‘rsatiladi. Gomogentizin kislotasiga ijobiy reaksiya qaysi kasallik ko‘rsatkichi ekanligi va uning siydikda paydo bo‘lish sababi ko‘rsatiladi.

### **10.6.4. Siydikdagi fenilpiruvatga sifat reaksiyasi**

Fenilketonuriya (fenilpirouzum kislotasining siydikda paydo bo‘lishi) organizmda fenilalanin almashinuv buzilganligi oqibati bo‘lib, fenilpirouzumli oligofreniya (tug‘ma aqli zaiflik) deb ataluvchi kasallikda kuzatiladi. Ushbu irsiy kasallik asosida bolalar jigarida fenilalaninni tirozinga o‘tishini oksidlovchi fenilalanin-4-gidroksilaza fermentini yetishmasligi yotadi.

Qonda va to‘qimalarda to‘plangan fenilalanin anomal almashinuv natijasida transaminlanish yo‘li bilan fenilpirouzum kislotasiga aylanadi:



Mazkur irsiy nuqson haqida fenotipik belgilarini mavjudligi (soch rangi, bosh o'Ichovi, aqliy qoloqlik) bilan birga fenilpirouzum kislotasining qondagi miqdorini oshganligi 10–40 mg%, normada 1,2 mg% (60–240 mkmol/l, normada esa 7 mkmol/l) va uning ajratilgan siydikdagi miqdori 0,5–2 g/24 soat (3–12 mkmol/sut) bo'yicha fikr yuritiladi.

Siydikdagi fenilpirouzum kislotasiga sifat reaksiya enol shaklidagi fenilpirouzum kislotasining temir xloridi bilan reaksiyaga kirishib, ko'k-yashil rangli kompleks birikma hosil qilishiga asoslangan.

**Tekshiriluvchi material:** tarkibida fenilpirouzum kislotasi tutgan siydik.

**Reaktivlar:**

1. 5 n sulfat kislotasi eritmasi.
2. Temir xloridi (FeCl<sub>3</sub>)ning 10% li eritmasi.
3. "Biofan P" rangli shkalali indikator qog'ozi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Qog'oz filtrli voronkalar.
3. 5 ml li pipetkalar.
4. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 5 ml yangi, filtrlangan siydik olib, 4 tomchi 5 n li sulfat kislotasidan qo'shib, aralashiriladi.

2. Aralashmaga 4 tomchi 10% li temir xloridi eritmasidan qo'shiladi.

3. Siydikda fenilpirouzum kislotasi bo'lsa, 30 soniya – 1 daqiqadan so'ng paydo bo'lgan ko'k-yashil rang 5–10 daqiqadan keyin yo'qoladi.

4. "Biofan P" indikatorli qog'ozini siydik bilan ho'llaganda 30 soniyadan so'ng indikator rangini rangli shkala bilan taqqoslaniladi va reaksiya intensivligi aniqlanadi ("–" yoki "+").

Oz miqdordagi fenilpirouzum kislotani efir yordamida tortib olib, konsentrlash mumkin, so'ngra namuna bilan yuqoridagi ko'rsatilgan ishlar bajariladi.

Ishni rasmiylashtirishda olingan natija yuqoridagi jadvalga (10.5.2. 31-jadval) yoziladi va organizmda normal sharoitda hamda kasallikda fenilalanin almashinuvidan hosil bo'ladigan u-numlari sxemasini keltiriladi.

### **Nazorat savollari**

1. Oqsillarni me'dada hazm bo'lishi uchun qanday sharoitlar kerak bo'ladi?
2. Me'da shirasining sifat tahlili qaysi reaksiyalar yordamida o'tkaziladi?
3. Me'da shirasidagi erkin va bog'langan xlorid kislotasi hamda umumiy kislotalilik qanday aniqlanadi?

4. *Oqsillar va peptidlarni ichakda hazm bo'lishida qaysi fermentlar, qanday sharoitda ishtirok etadi?*
5. *Me'da osti bezi proteolitik faolligini aniqlash usuli nimaga asoslangan?*
6. *Qayta aminlanishning organizmdagi ahamiyati qanday? Qayta aminlanish fermentlari funksiyasida B<sub>6</sub> vitaminining vazifasi nimadan iborat?*
7. *Dezaminlanishning qaysi xillari sizga ma'lum? Misollar keltiring.*
8. *Dekarboksillanish nima? Ushbu jarayonda qatnashuvchi fermentlarning kimyoviy tabiati qanday?*
9. *Biogen aminlarning biologik ahamiyati nimadan iborat? Misollar keltiring va farqini ko'rsating.*
10. *Ammiak qayerda va qaysi yo'l bilan zaharsizlantiriladi?*
11. *Qonda oqsil miqdorini aniqlash yo'li nimaga asoslangan? Gemoglobinning funksiyasi va strukturasi yozib bering.*
12. *Qon oqsillarini elektroforetik yo'l bilan taqsimlash usuli nimaga asoslangan? Uning klinik ahamiyati qanday?*
13. *Qondagi siydik kislotasini miqdoriy aniqlash nimaga asoslangan? Amaliy ahamiyatini tushuntiring.*
14. *Qonning asosiy tarkibiy qismlarini yozib bering, ularning klinika uchun qanday ahamiyati bor?*
15. *Mochevinani siydikda miqdoriy aniqlashning qanaqa usullari bor?*
16. *Hayvon organizmida mochevina qaysi yo'l bilan sintezlanadi?*
17. *Siydik kislotasining qanday xususiyatlari bor? Uni siydikda qaysi yo'l bilan aniqlash va qanday qilib ajratib olish mumkin?*
18. *Siydikda patologik holatlarda qaysi moddalar aniqlanadi?*

19. *Siydikdagi umumiy azot miqdori qaysi reaksiya yordamida aniqlanadi?*
20. *Siydikda oqsilni qaysi usul bilan aniqlash mumkin?*
21. *Qaysi reaksiyalar yordamida siydikdagi atseton tanachalari aniqlanadi?*
22. *Siydikni patologik tarkibiy qismlarini aniqlashni qanday amaliy ahamiyati bor?*
23. *Kreatin va kreatininlar qanday birikma? Qanday holatlarda siydikda kreatinin miqdori ortadi va kamayadi?*
24. *Qanday holatlarda siydikda umumiy azot miqdori ko'payadi? Uni aniqlash usullari nimaga asoslangan?*
25. *Qanday kasalliklarda mochevina ko'rsatkichlari o'zgaradi, uni aniqlash uchun qanday usullar qo'llaniladi?*
26. *Nima uchun siydikda fenilpirouzum kislotasi aniqlanadi? Uni aniqlashning ahamiyati nimadan iborat?*
27. *Indikatorli test tasmalari bilan qon va siydikni qanday birikmalari aniqlanadi?*



## 11-bo'lim

### Minerallar almashinuvi

Mineral moddalar organizmga oziqa va suv bilan tushadi, tarkibining asosiy qismini xlor, oltingugurt, fosfor saqlovchi birikmalar va kaliy, natriy, magniy, kalsiy tuzlari tashkil etadi. Oz miqdorda (mg, mkg larda) yod, brom, fluor, temir, mis, marganes, rux, kobalt, molibden va boshqa mikroelementlar ham bor. Katta odam organizmining mineral tuzlarga bo'lgan sutkalik ehtiyoji 32-jadvalda keltirilgan.

*32-jadval*

#### Katta odam organizmining mineral tuzlarga bo'lgan sutkalik ehtiyoji

Mineral nomi	Kundalik ehtiyoj, mg da	Mineral nomi	Kundalik ehtiyoj, mg da
1. Kalsiy	800–1000	9. Marganes	5–10
2. Fosfor	1000–1500	10. Xrom	0,20–0,25
3. Natriy	4000–6000	11. Mis	2,0–2,2
4. Kaliy	2500–5000	12. Kobalt	0,1–0,2
5. Xloridlar	5000–7000	13. Molibden	0,5–0,6
6. Magniy	300–500	14. Selen	0,5–0,6
7. Temir	15–20	15. Ftoridlar	0,5–1,0
8. Rux	10–15	16. Yodidlar	0,1–0,2

Mineral moddalarni so‘rilishi ingichka ichakning boshlang‘ich qismidan boshlanadi. Organizmda temirdan tashqari boshqa mineral moddalarning so‘rilayotgan miqdorini chegaralash imkoniyati yo‘q. So‘rilgan mineral moddalar organizm ichki muhitida taqsimlanib, ba‘zi kation va anionlar organ hamda to‘qimalarda ma‘lum darajada maxsus to‘planadi.

Kaliy ko‘proq hujayra ichida to‘plansa, natriy va xlor hujayra tashqi suyuqligida ko‘proq.

Natriy, kaliy, xlorning asosiy ahamiyati shundaki, ular osmotik xossani, ion kuchini, hujayralararo va hujayra tashqarisidagi ion muvozanatini, organizm bufer tizimini ta‘minlovchi asosiy manba hisoblanadi.

Natriyning organizmda eng ko‘p to‘planish joyi teri bo‘lsa, kaliy uchun bu vazifani mushaklar bajaradi. Kaliy, natriy va xlor almashinuvi gormonlar ishtirokida, asosan buyrak usti bezi po‘stloq qismi mineralokortikoidlari tomonidan boshqariladi.

Kalsiy va magniyning asosiy miqdori suyak sistemasida apatit, fosfat va karbonatlar shaklida to‘planib, suyak va tishlarning mustahkamligini ta‘minlaydi. Fosfor ko‘pincha, kalsiy va magniy bilan anorganik tuzlar shaklida suyak to‘qimasida uchraydi. Suyaklarda kalsiy va magniy almashinuvi katta tezlikda kechadi, ularni uzluksiz yangilanishi kuzatiladi.

Ftor asosan tish va suyak to‘qimalarida, yod – qalqonsimon bezda, temir – jigar va qorataloqda murakkab oqsil ferritin ko‘rinishida, mis – jigarda, marganes – naychasimon suyaklarda, rux – me‘da osti bezida, kobalt – gipofizda, molibden – suyaklarda to‘planadi.

Mineral moddalar organizmda ikki xil holatda uchraydi: erkin ionlar ko‘rinishida va organik moddalar (oqsillar, fermentlar, vitaminlar) bilan bog‘langan shaklda.

Barcha mikroelementlar faqat bog‘langan holatda bo‘ladi – kobalt – B<sub>12</sub> vitaminda, mis – tirozinaza va seruloplazmin bilan, rux – karboangidraza, insulin tarkibida. Organik molekularlar bilan

kovalent bog‘ orqali bog‘lanadi: yod – tireoglobulin, tiroksin bilan, elektrostatik bog‘da – magniy va kalsiy har xil fermentlar bilan, temir esa gemproteidlar bilan koordinatsion bog‘lar hosil qiladi.

Metall ionlari bir qator funksiyalarni bajaradi. Ular fermentlarning faol markazida substrat bilan bog‘lanib, uning konfiguratsiyasini o‘zgartiradi, ferment-substrat kompleksi tuzilishida qatnashadi. Bular barchasi kimyoviy reaksiyalar tezligini oshishini ta‘minlaydi.

Mineral tuzlar organik birikmalar tarkibida membranalar o‘tkazuvchanligini boshqarishda ishtirok etadi, oqsillarni suv bilan bog‘lanishiga ta‘sir ko‘rsatadi. Mineral tuzlar organizmdan buyrak, ichak va teri orqali ajraladi.

Minerallar almashinuvi buzilishining ahamiyati organizm holati va uning barcha hayotiy jarayonlari uchun organik birikmalarni buzilishidan kam emas.

## 11.1. Xloridlar

Organizmda xlor ionlashgan holatda asosan asosan Na, K, Ca, Mg va boshqa tuzlarning anioni ko‘rinishida uchraydi. Xloridlar organizm suyuqliklarida osmotik bosim darajasini belgilaydi, ushbu bosimning 90% i qon plazmasida natriy xlorid miqdoriga bog‘liq. Xlorid ionlari me‘da shirasida xlorid kislotasining hosil bo‘lishida va kislota-ishqor muvozanatini saqlashda maxsus vazifani bajaradi.

Natriy xlorid organizmdan buyrak va ter bezlari orqali ajratiladi. Osh tuzining sutkasiga siydik bilan ajralishi (8–15 g/sutka yoki 140–250 mmol/24 soat) o‘zgaruvchan ko‘rsatkich bo‘lib, oziqa tarkibidagi miqdoriga bog‘liq. Odatda, natriy xloridning oziq tarkibidagi kundalik miqdori 10–12,5 g.

Oziqada miqdori oshganda natriy hisobiga to‘qimalarda suv ushlab qolinadi, aksincha, osh tuzi iste‘molining keskin kamayishi organizmning suvsizlanishiga olib keladi. Qonda xloridlar miqdo-

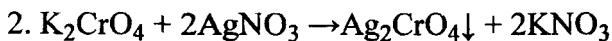
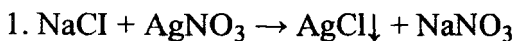
rini kamayishi – gipoxloremiya oziqada osh tuzining yetishmasligida, ko‘p terlash oqibatida, ko‘p qusish (ovqatdan zaharlanish) da, diareya, katta hajmdagi shish kasalligida uchraydi.

Qonda natriy xlorid miqdorining kamayishi uning siydikdagi miqdorini kamayishi bilan birga kechadi. Buyrak kasalliklarida natriy xloridning siydik orqali chiqarilishini buzilganligi sababli qonda uning to‘planganligi aniqlangan. Tuzsiz diyetada siydik bilan ajralayotgan xloridlar miqdori sutkasiga 1 g gacha va undan ham pastroqqa tushadi.

Natriy xlorid miqdorini siydikda ortishi tuzni ovqat bilan ko‘plab iste‘mol qilinganida, buyrak usti bezi po‘stloq qismi gipofunksiyasida, natriy xloridli ekssudatlar qayta shimilganda, shishlar yo‘qolganda kuzatiladi.

### **11.1.1. Siydikdagi xloridlar miqdorini Moru bo‘yicha aniqlash**

Siydik xloridlari kumush ionlari bilan erimaydigan kumush xloridi cho‘kmasini hosil qiladi. Reaksiya tugaganligini aniqlashda kaliy xromat ( $K_2CrO_4$ ) dan foydalaniladi. Barcha xlor ionlari cho‘kmaga tushgandan so‘ng ortib qolgan kumush ionlari kaliy xromat bilan erimaydigan kumush xrom oksidi ( $Ag_2CrO_4$ ) cho‘kmasini beradi. Ushbu sharoitda suyuqlikda ikki reaksiya bajariladi:



Olingan ikkala tuz  $AgCl$ ,  $Ag_2CrO_4$  suvda erimaydi, avval  $AgCl$  hosil bo‘ladi, so‘ngra barcha xlor ionlari eritmadan yo‘qolganidan so‘ng, kumush xromati  $Ag_2CrO_4$  ajrala boshlaydi. Bu vaqtda cho‘kma rangi o‘zgaradi: u oq yoki sariq rangdan qizil-g‘isht rangga o‘tadi. Rangni paydo bo‘lishi xlor va kumush ionlari

o'rtasida reaksiya tugaganligini bildiradi. Ikkala cho'kmani ketmaket hosil bo'lishi kumush xloridini kumush xromatiga qaraganda eruvchanligi birmuncha kamligiga bog'liq.

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Reaktivlar:**

1. O'yuvchi natriyning 0,1 n eritmasi.
2. Kaliy xrom oksidining 10% li eritmasi.
3. Kumush azot oksidi. 29,061 g kimyoviy toza  $\text{AgNO}_3$  ning 1 l distillangan suvdagi eritmasi. Shu eritmaning 1 ml natriy xloridining 0,01 g ga to'g'ri keladi.

**Jihozlar:**

1. 5 va 10 ml hajmli pipetkalar.
2. 100 ml o'lchovli kolba.
3. Lakmus qog'ozi.
4. Konussimon kolbachalar.

Mikrobyuretk.

**Ishni bajarilishi**

1. 100 ml o'lchov kolbasiga siydikning filtrlangan sutkalik hajmidan rosa 10 ml olinadi. 0,1 n o'yuvchi natriy eritmasi lakmus bo'yicha neytral reaksiyaga yetguncha qo'shilib, aralashtiriladi va hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

2. Tahlil uchun suyuqlikdan 5 yoki 10 ml ni (0,5 yoki 1 ml siydik) konusli kolbachaga olib, indikator sifatida kaliy xrom oksidining 10% li eritmasidan bir necha tomchi tomiziladi va mikrobyuretkadagi kumush nitrat eritma bilan yo'qolmaydigan qizil-g'isht rangga kirguncha chayqatilib, titrlanadi.

**Hisoblash.** Kumush nitrat eritmasining 1 ml 0,01 g natriy xloridga to'g'ri keladi. Shuning uchun siydikni titrlashga sarflangan kumush nitratning millilitrlar sonini 0,01 ga ko'paytiriladi; olingan natija titrlashga olingan siydik hajmidagi natriy xloridning grammdagi miqdoriga to'g'ri keladi. Shundan kelib chiqib, bir sutkadagi siydikda necha gramm natriy xlorid ajratilgani hisoblanadi:

$$X = \frac{a \cdot 0,01 \cdot u}{b}$$

Bunda:

$X$  – sutka davomida ajratilgan siydikdagi natriy xloridning grammdagi miqdori;

$a$  – olingan miqdordagi siydikni titrlash uchun sarflangan kumush nitrat eritmasining ml dagi miqdori;

0,01 – 1 ml kumush nitratga mos keladigan natriy xloridning g dagi miqdori;

$u$  – sutka davomida yig‘ilgan siydikning ml dagi miqdori;

$b$  – titrlash uchun olingan siydikning ml (0,5 yoki 1 ml) dagi miqdori.

Agar olingan natijani mmol/24 soat ion-xlorid miqdorida ifodalamoqchi bo‘lsak, olingan sonni ( $X$ ) 17,11 ga ko‘paytiriladi.

Siydikda oqsil bo‘lgan taqdirda uni oldin olib tashlash lozim, chunki oqsil kumush bilan cho‘kmaga tushuvchi birikma hosil qiladi.

Ishni rasmiylashtirishda aniqlangan natijalar 33-jadvalda keltirilib, normadagi ko‘rsatkichlar bilan taqqoslanadi va xulosa chiqariladi.

*33-jadval*

### **Biologik obyektlarda mineral elementlarning miqdorini aniqlash**

Tekshirilayotgan obyekt	Aniqlanuvchi element	Usulning asosi	Mineral elementning aniqlangan miqdori

## 11.2. Fosfatlar

Organizmدا fosfor anorganik tuzlar va organik birikmalar holida (uglevodlarning fosforli efilari, fosfoproteinlar, nuklein kislotalar, AMF, ADF, ATF, fosfolipidlar va boshqalar) bo'lib, organizmning barcha jarayonlarida – oqsillar, uglevodlar, lipidlar modda almashinuvida keng ko'lamda ishtirok etadi. Anorganik tuzlardan qon plazmasi va zardobida fosfat kislotadagi bir yoki ikki vodorod atomi o'rmini boshqa atomlar olgan gidrofosfat va digidrofosfatlar nisbatan ko'proq.

Katta odam qon zardobida anorganik fosfor miqdori normada 2–4 mg% (0,65–1,3 mmol/l), yosh bolalarda ko'proq (1,29–2,26 mol/l). Anorganik fosfor miqdorini pasayishi – gipofosfatemiya – raxit va osteomalyasiya (suyaklarning yumshashi) kasalliklarida siydik bilan katta miqdorda anorganik fosfat chiqib ketishida kuzatiladi.

Gipofosfatemiya qalqonsimon bez oldi bezi giperfunksiyasiga ham xos. Qon zardobida anorganik fosfor darajasining ko'tarilishi – giperfosfatemiya – ortiqcha miqdorda D vitamini qabul qilinganda, qalqonsimon bez oldi bezi funksiyasi yetishmovchiligida, suyak sinig'ini bitish davrida, buyrak ishida kamchiliklarida uchraydi.

### 11.2.1. Anorganik fosforni qon zardobida fosforli-molibden kislotasini qaytarilishi bo'yicha aniqlash

Usul asosida zardob oqsillari cho'ktirilgandan so'ng sentrifugatda qolgan anorganik fosfor molibden kislotasi bilan hosil qilgan fosforli-molibden kislotasi eykonogen ishtirokida ko'k rangli fosforli-molibden kompleksiga (molibden ko'ki) qaytarilishi yotadi. Rang jadalligi qon zardobidagi anorganik fosfor miqdoriga to'g'ri proporsional.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

### **Reaktivlar:**

1. Uchxlorsirka kislotasi (UXSK) ning 10% li eritmasi.
2. Ammoniy molibdatning 5% li eritmasi.
3. Eykonogen eritmasi ( tayyorlanishi 30-ilovada).
4. Kaliy fosfatning standart ishchi eritmasi, 1 ml da 0,02 mg fosfor saqlaydi. Kaliy fosfatning asosiy eritmasidan tayyorlanadi ( tayyorlanishi 53-ilovada).

### **Jihozlar:**

1. 1,2 va 5 ml li darajalangan pipetkalar.
2. Sentrifuga.
3. Fotoelektrokolorimetr.
4. Probirkali shtativ yoki kolbachalar.

### **Ishni bajarilishi**

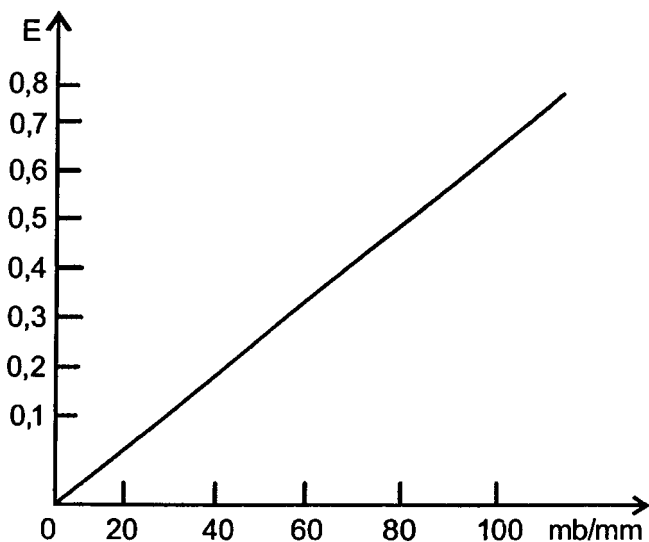
1. 1 ml zardobga 4 ml distillangan suv, 5 ml 10% li UXSK qo'shib, aralash tirilganda cho'kma tushadi. 10 daqiqadan so'ng 3000 aylanish tezligida 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi.

2. 5 ml sentrifugatga 1 ml molibdat ammoniyning 5% li eritmasidan, 0,2 ml eykonogen eritmasidan va 1,8 ml distillangan suv qo'shiladi.

3. Aralashma 20 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi. So'ngra optik zichligi FEK da nazoratga nisbatan 630–690 nm to'lqin uzunligida (qizil svetofiltr) 1 sm qalinlikdagi kyuvetalarda o'lchanadi.

4. Nazorat tajriba namunasi bilan bir vaqtda tayyorlanadi: 2,5 ml UXSK ga 2,5 ml suv, 1 ml molibdat ammoniy, 0,2 ml eykonogen eritmasi, 1,8 ml suv qo'shiladi. 20 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi. Hisoblash kalibrlash grafigi bo'yicha bajariladi (8-rasm).





**8-rasm. Kalibrlovchi grafik.**

5. Kalibrlovchi grafik tuzish. Ishchi standart eritmadan 33-jadvalda ko'rsatilgani bo'yicha suyultirilgan eritmalar tayyorlanadi. 20 daqiqa turgandan so'ng namunalar tajriba singari nazoratga nisbatan o'lchanadi.

Fotometrlashda olingan natijalar asosida millimetrlil qog'ozda kalibrlovchi grafik tuziladi. Ordinata o'qiga aniqlangan optik zichlik qiymati, absissa o'qiga – unga mos fosfor miqdori qo'yiladi.

Zardobda topilgan anorganik fosfor miqdori 34-jadvalda keltirilib, normadagi ko'rsatkich bilan taqqoslanadi.

## Kalibrlovchi grafik tuzish uchun aralashmalar tarkibi

Probir-kalar t/r	Ishchi standart eritma, ml	UXSK eritmasi, ml	Molibdat ammoniy eritmasi, ml	Eykonogen eritmasi, ml	Distil- langan suv, ml	Nam unadagi fosfor miqdori	
						mg	mg%
1	0,5	2,5	1,0	0,2	3,8	0,01	2
2	1,0	2,5	1,0	0,2	3,3	0,02	4
3	2,0	2,5	1,0	0,2	2,3	0,04	8
4	3,0	2,5	1,0	0,2	1,3	0,06	12
5	4,0	2,5	1,0	0,2	0,3	0,08	16

## 11.3. Kalsiy

Kalsiy barcha hujayralar membranasining o'tkazuvchanligini saqlab turishda ishtirok etadi, nerv hujayralari qo'zg'alish darajasini pasaytiradi (kalsiy yetishmaganida haddan ortiq hayajonlanish, qo'zg'alish – tetaniya kuzatiladi), qon ivishida qatnashadi, tayanch vazifasini bajaradi, suyak to'qimasi tarkibiga kiradi, bir qator fermentlarni faollashtiradi.

Oziqa bilan organizmga tushayotgan kalsiy so'rilishi da ichak hujayralari shilliq qavatidagi maxsus oqsil bilan bog'lanib, hujayra ichiga o'tadi. Kalsiy bog'lovchi oqsil ichak hujayrasi sitoplazmasida  $D_3$  vitamini –  $1,25(OH)_2 D_3$  ning faol shakli yordamida sintezlanadi. Organizmda kalsiy almashinuvini boshqarishda faol  $D_3$  vitaminidan tashqari qalqonsimon bez oldi bezi gormoni – paratgormon va qalqonsimon bez gormoni – tireok alstonin ishtirok etadi.

Qalqonsimon bez oldi bezing gormonini kalsiy miqdoriga ta'sir qilishining bir necha yo'llari bor. U buyraklarga ta'sir qilib, glomerullalar filtratidan fosfatlarning qayta so'rilishini pasaytiradi, natijada qon plazmasida fosfatlar konsentratsiyasi kamayadi.

Kalsiyni buyrak orqali ajratilishi esa aksincha, kamayib, uning miqdorini qonda ortishiga olib keladi. Paratgormon suyaklarda kalsiyni eruvchan xelatli birikmalarini hosil bo'lishini va uning suyakdan qonga mobilizatsiyasini kuchaytiradi.

Qalqonsimon bez oldi bezi giperfunksiyasida qon zardobida kalsiy miqdori ortadi, fosfor esa kamayadi. Aksincha, mazkur bezning funksiyasining pasayishi qon zardobida kalsiy miqdorini keskin kamayishiga va fosfor miqdorini ko'tarilishiga olib keladi. Oqibatda changak (tomir tortishi – tetaniya) holati kelib chiqishiga sabab bo'ladi.

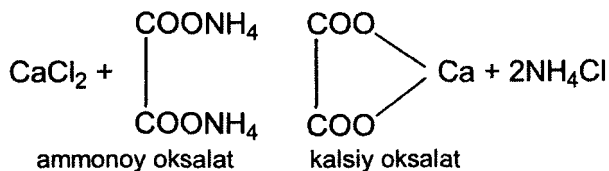
Qalqonsimon bez gormoni tireokalsitonin kalsiyni suyak to'qimalaridan chiqishini tormozlab, uning qondagi miqdorini kamaytiradi. Demak, bir-biriga qarama-qarshi ta'sirga ega bo'lgan bu ikki gormonda qaysi birini qonga ajratilishi qondagi kalsiy ionlarining shu bezlarda konsentratsiyasiga bog'liq. Qondagi kalsiy ionlari deyarli qon shaklli elementlaridan tashqarida bo'ladi.

Sog'lom odam qon zardobida kalsiy konsentratsiyasi (ionlashgan, oqsil bilan bog'langan, limon kislotasi bilan xelatli shakli) 9–11 mg% yoki 2,25–2,75 mmol/l ni tashkil etadi. Ionlashgan kalsiy uning umumiy miqdorini taxminan yarmiga to'g'ri keladi. Yangi tug'ilgan chaqaloqlar qon zardobida kalsiy miqdori 7,5–13,9 mg% ga teng kelsa, ko'krak yoshidagi bolalarda 8,5–12,0 mg% ga barobar. Kalsiy miqdorini doimiy kamligi (gipokalsiemiya) ko'krak yoshidagi bolalar tetaniyasida kuzatilsa, raxit kasalligida doimiy emas. Gipokalsiemiya ba'zi buyrak kasalliklarida uchrasa, kalsiy miqdorini ortishi (giperkalsiemiya) paratgormon ko'payganda, D vitaminining gipervitaminozida, suyak to'qimasi destruktiv

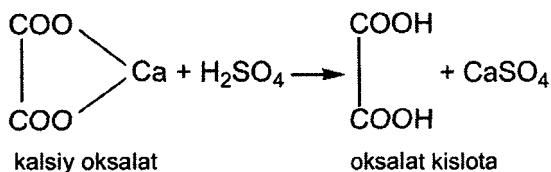
jarayonlarida kuzatiladi. Organizmdagi kalsiy ionlarining katta qismi buyrak bilan emas, ichak orqali ajratiladi.

### 11.3.1. Kalsiy miqdorini qon zardobida de Vaardu bo'yicha aniqlash

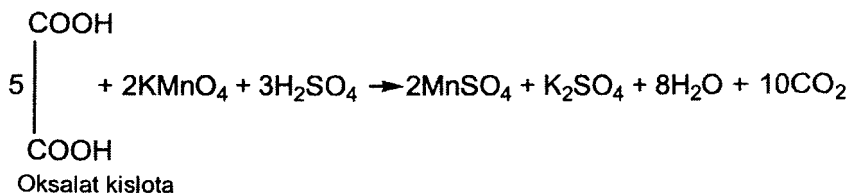
Usul oqsillarni oldindan cho'ktirmasdan qon zardobidagi kalsiy to'g'ridan-to'g'ri kalsiy oksalat shaklida cho'ktirishga asoslangan:



Kalsiy oksalat sulfat kislotasi bilan qizdirilganda parchalanadi:



Ajralib chiqqan oksalat kislotasi kaliy permanganat bilan titrlanadi:



Titrlashga sarf bo'lgan kaliy permanganat miqdori bo'yicha oksaloatsetat bilan bog'langan kalsiy miqdori aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Oksaloatsetatni ammoniyli tuzining 4% li eritmasi.
2. Ammiakning 2% li eritmasi.
3. Sulfat kislotasining 1 n eritmasi.
4. Kaliy permanganatning 0,01 n eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Sentrifuga.
2. Sentrifuga tarozisi.
3. 1 va 2 ml hajmli pipetkalar.
4. Shisha tayoqchalar.
5. 70° C gacha isitilgan suv hammomi.
6. Mikrobyuretk.

**Ishni bajarilishi**

1. Ikkita sentrifuga probirkasi olinib, birinchisiga 1 ml qon zardobi va 1 ml distillangan suv (tajriba), ikkinchisiga 2 ml distillangan suv (nazorat) quyiladi.

2. Ikkala probirkaga 0,5 ml 4% li ammoniy oksaloatsetatdan qo‘shiladi, asta chayqatilib, 30 daqiqaga qoldiriladi, so‘ngra 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi. Sentrifugalash oldidan probirkalar muvozanatlashtiriladi.

3. Cho‘kmani loyqalantirmasdan asta-sekinlik bilan ikkala probirkadagi suyuqlik to‘kib tashlanadi, tajriba probirkasi tagida kalsiy oksalat oq cho‘kma ko‘rinishida qoladi.

4. Kalsiy oksalat cho‘kmasini ammoniy oksalatning ortiqcha miqdoridan ammiakni kuchsiz eritmasi (kuchsiz ishqoriy muhitda kalsiy oksalat erimaydi) bilan yuviladi. Buning uchun ikkala sentrifugali probirkalarga 2 ml dan 2% li ammiak eritmasidan quyib, chayqatiladi va yana 10 daqiqa davomida sentrifugalanadi. Cho‘kma usti suyuqligi to‘kiladi va cho‘kmani shu tarzda yuvishni yana ikki marta takrorlanadi.

5. Oxirgi sentrifugalashdan so‘ng suyuqlik to‘kiladi va ikkala probirkaga cho‘kmani eritish uchun 1 ml dan 1 n li sulfat kislotasi

eritmasi solinadi. Cho'kmalar shisha tayoqchalar bilan aralashtirilib, tayoqchalarni olmasdan, probirkalar 2 daqiqaga isitilgan suv ham-momiga joylashtiriladi.

6. Issiq eritma tayoqchalar bilan aralashtirilib turgan holatda mikrobyuretkadagi 0,01 n permanganat kaliy eritmasi bilan hosil bo'lgan och pushti rang 1 daqiqa davomida yo'qolmaguncha titrlanadi.

Hisoblash quyidagi formula bo'yicha bajariladi:

$$X = (a - b) \cdot 0,2 \cdot 100.$$

Bunda:

$X$  – qon zardobidagi kalsiyning mg% dagi miqdori;

$a$  – tajriba namunasini titrlash uchun ketgan 0,01 n kaliy permanganatning ml dagi miqdori;

$b$  – nazorat namunasini titrlash uchun ketgan 0,01 n kaliy permanganatning ml dagi miqdori;

0,2 – 1 ml 0,01 n kaliy permanganat eritmasiga teng (ekivalent) bo'lgan kalsiyning mg dagi miqdori;

100 – 100 ml zardob uchun hisoblash koeffitsiyenti.

Agar kalsiy miqdorini mmol/l da hisoblash maqsadga muvofiq bo'lsa, unda olingan ko'rsatkich ( $X$ ) 0,25 ga ko'paytiriladi.

Olingan natijalar 32-jadvalda keltirilib (11.1.1 ga qarang), kal-siyning qon zardobidagi normal qiymati bilan taqqoslanadi.

### Nazorat savollari

1. *Organizmida natriy, kaliy, xlarning asosiy ahamiyati nimadan iborat va qanday funksiyalarni bajaradi?*
2. *Minerallar almashinuvi qanday boshqariladi, bunda mineralokortikoidlarning vazifasini tushuntiring.*
3. *Qaysi gormonlar tarkibida rux va yod ishtirok etadi? Gormonlar nomi va ahamiyatini ayting.*

4. *Fermentlar faolligida mikroelementlar vazifasini ko'rsating. Mis qaysi ferment tarkibida uchraydi?*
5. *Giperxloremiya qaysi patologik holatlarda kuzatiladi? Sabablarini ko'rsating.*
6. *Buyrak kasalligida qondagi natriy xlorid miqdori qanday va nima uchun o'zgaradi?*
7. *Siydik tarkibida xloridlarni aniqlash qaysi reaksiyaga asoslangan?*
8. *Organizmdagi organik va anorganik fosfatlarga misollar keltiring. Ularning modda almashinuvi jarayonidagi ishtirokining qanday ahamiyati bor?*
9. *Fosfatlar almashinuvi va miqdori asosan qaysi gormon tomonidan boshqariladi?*
10. *Organizmda kalsiyning vazifasi nimadan iborat va uning yetishmasligida qanday o'zgarishlar kuzatiladi?*
11. *Qaysi endokrin bezlar sekretsiyasining o'zgarishi – giper- va gipofunksiyasi kalsiy miqdoriga ta'sir ko'rsatadi?*

## 12-bo'lim

### Qon biokimyosi

Qon harakatchan suyuq to'qima bo'lib, turli organlarda modda almashinuvini integratsiyalashda – bir butunligini ta'minlashda transport votsitasi sifatida bog'lovchi vazifasini bajaradi. Qon funksiyasiga aloqador bo'lgan muhim vazifalarining orasida quyidagilarni sanab o'tish mumkin:

1. Nafas olish – o'pka alveolaridan kislorodni to'qimalarga va karbonat angidridni to'qimalardan o'pkaga tashib berish.

2. Trofik – oziqa mahsulotlari – glukoza, aminokislotalar, vitaminlar va boshqalarni hazm qilish yo'llaridan organ hamda to'qimalarga yetkazib berish, glukoza bilan keton tanachalarini jigardan mushaklarga, yog'larni jigardan yog' to'qimasiga, sut kislotasini mushaklardan jigarga, yog' kislotalarini yog' to'qimasidan turli organlarga tashilishi va hokazo.

3. Ekskretor – ajratish, ayirish – mochevina, siydik kislotasi, kreatinin va boshqa moddalar almashinuvining oxirgi mahsulotlarini ajratuvchi organ va to'qimalarga yetkazib berish.

4. Himoya – qon tarkibidagi antitelalarni, zaharli moddalarni, toksinlarni, mikroba va viruslarni begona oqsillari – antigenlarni o'ziga bog'lab olishi; leykotsitlarni organizmga tushgan mikroblarni yutishda qatnashishi.

5. Boshqaruvchi – regulator, ya'ni idora etuvchi – ichki sekretsiya bezlarida ishlangan kimyoviy signallar – gormonlarni ta'sir qiluvchi joylariga yetkazib berish.

6. Qonning ivishi – qon yo'qotishdan himoya qilish.



7. Ichki muhitni idora etish – ichki muhit fizik-kimyoviy xususiyati – izoioniya, izotoniya, izotermiya, pH barqarorligini saqlash.

Katta yoshdagi odam organizmida qonning o'rtacha umumiy miqdori 5 litrcha bo'lib, tana massasining taxminan 7 foizini tashkil etadi. Qonni sentrifugalaganda shaklli elementlari – eritrotsitlar, leykotsitlar, limfotsitlar, trombotsitlar cho'kmaga tushadi, cho'kma ustidagi och sariq tiniq suyuqlik – qon plazmasi deb ataladi.

Qon plazmasida taxminan 7% oqsillar, shuningdek har xil kichik molekularli moddalar bor. Plazma bir necha daqiqada saqlab turilsa, ivib qoladi, keyinchalik qisqarib, undan qon zardobi hosil bo'ladi. Qon zardobi plazmadan tarkibida ivituvchi oqsil – fibrinogen bo'lmasligi bilan farqlanadi.

Plazma va eritrotsit oqsillari organizmda ishqor-kislota muvozanatini saqlab turishda muhim rol o'ynaydi. Plazma oqsillari – asosan albuminlar qondagi onkotik bosimni belgilaydi, gormonlar, vitaminlar, mikroelementlar va boshqa moddalarni tashilishida qatnashadi, shuningdek organizmning oqsil zaxirasini tashkil etadi.

Turli xil fiziologik va patologik holatlarda hamda bir qator kasalliklarda qonning biokimyoviy tarkibi o'zgarishi mumkin. Shu sabab kasalliklarni aniqlash hamda ko'rsatilayotgan davolash choralarining samarasini nazorat qilish maqsadida qon tahlilidan keng foydalaniladi.

Ayniqsa, anemiyalarning har xil shakllarini aniqlashda, jigar kasalliklarida (chunki qon plazmasining deyarli hamma oqsillari jigarda hosil bo'ladi), qon tomir devorlari shikastlanganda (ateroskleroz, trombozlar, tomirlar yorilishida) qon tarkibiy qismlari miqdorini aniqlash katta diagnostik va prognostik ahamiyatga ega.

## 12.1. Qon pigmentlari

Qon pigmentlari – gemoglobin va oksigemoglobin eritrotsitlarida bo‘ladi. Ular murakkab oqsillar – xromoproteidlardan iborat bo‘lib, oqsil qismi globindan, prostetik guruhi esa gemdan tashkil topgan. Gemoglobin va oksigemoglobindagi temir ikki valentli. Gem qurilishidagi propion kislotasining qoldig‘i qon pigmentlariga kislotali xususiyatni beradi. Gemoglobin 4 ta gem molekulasini saqlaydi.

Qon pigmentlarining asosiy vazifasi to‘qimalarga kislorod tashish va bufer ta‘siri hisoblanadi. Ularning buferlik roli asosida eritrotsitlardagi gemoglobinning kaliyli tuzi (KHb)ni dekarboksillanishidan hosil bo‘lgan karbon kislotasini ( $H_2CO_3$ ) bikarbonat ( $KHCO_3$ ) ko‘rinishida bog‘lashi yotadi.

Oksigemoglobin esa ( $Hb-O_2$ ) o‘pkada bikarbonatdan karbonat kislotasini siqib chiqaradi, u esa karboangidraza fermenti ta‘sirida  $CO_2$  va  $H_2O$  ga parchalanib, alveola havosi orqali tashqariga chiqariladi. Natijada karbonat ангидрид qonda to‘planmaydi va qonning pH o‘zgarishining oldi olinadi. Gemoglobin va uning unumlarini har xil spektrda nur yutishlari pigmentlarni alohida aniqlashga yordam beradi.

Amaliy mashg‘ulotlarda qon pigmentlarining spektrini o‘lchashda defibrinlangan qon ishlatiladi. Uni tayyorlashda qon tomiridan olingan qonni shisha tayoqcha bilan aralashtirilganda undagi fibrin tolasi tayoqchaga o‘ralib, defibrillangan qon olinadi. Qon ochiq havoda saqlanganda gemoglobin kislorodga to‘yinib, oksigemoglobinga o‘tadi.

### 12.1.1. Oksigemoglobinning nur yutish spektrini aniqlash

Gemoglobindagi temirning qo‘shimcha bog‘lariga kislorodni to‘g‘ridan-to‘g‘ri bog‘lanishidan oksigemoglobin hosil bo‘ladi,

burda temir ikki valentligicha qoladi. Gemoglobinning kislorod bilan birikishi qaytar reaksiya: qaytaruvchi moddalar ta'sirida, kislorodning miqdoriy (parsial) bosimi kamayganda kislorod ajralib chiqib, gemoglobin hosil bo'ladi.

Oksigemoglobin suvda erib, organik erituvchilarda erimasligidan foydalanib, kristall ko'rinishda olish mumkin, eritmalari qizg'ish-sariq rangga ega. Oksigemoglobin gemoglobinga nisbatan kuchliroq kislotaadir.

**Tekshiriluvchi material:** defibrillangan qon.

**Reaktivlar:** natriy gidrosulfit kukuni (qaytaruvchi).

**Jihozlar:**

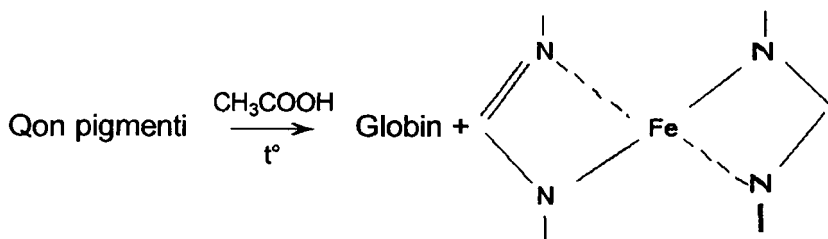
1. Probirkali shtativ yoki spektrofotometrning 1 sm kenglikdagi kyuvetalari.
2. Shisha kurakcha.
3. Spektroskop.

**Ishni bajarilishi**

Probirkaga yoki kyuvetaga 1–2 tomchi defibrillangan qon va spektroskopda qaralganda spektrning sariq-ko'k qismida, ya'ni 578,1 va 541,7 to'liqin uzunligida ikkita ingichka qora chiziq ko'rinishida suv qo'shiladi.

### **12.1.2. Metgemoglobinni ajratib olish va uning spektrini aniqlash**

Normada metgemoglobinning qondagi miqdori 1% (0,025–0,037 mmol/l)dan kamroq. Oksidlovchi moddalar (bertolet, nitrobenzol, anilin, azot oksidi, metilen ko'ki, qizil qon tuzi) bilan zaharlanganda uning miqdori anchagina ortadi. Undagi uch valentli temirning prostetik guruhi gematin bo'lib, temirning uchinchi valentligiga gidroksil guruhi mahkam bog'langan.



Metgemoglobin oksigemoglobinga qaraganda nisbatan mustahkam birikma va kislorodni o'pkadan to'qimalarga tashish xususiyatiga ega emas. Shuning uchun ham oksidlovchi moddalar bilan zaharlanganda organizmda kislorod tanqisligi kuzatiladi. Metgemoglobin eritmaları qizg'ish-qo'ng'ir rangli bo'lib, qo'ng'ir-qizil igna, prizma va plastinka shaklida kristallanadi.

**Tekshiriluvchi material:** defibrillangan qon.

**Reaktivlar:** qizil qon tuzining (oksidlovchi) yangi tayyorlangan to'yingan eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. Qo'l bilan boshqariladigan spektroskop.

**Ishni bajarilishi**

1. 2–3 tomchi defibrillangan qonni suv bilan 3 ml gacha suyultirib, bir necha tomchi qizil qon tuzining yangi tayyorlangan to'yingan eritmasidan qo'shib chayqatiladi.

2. Eritmada qizil-qo'ng'ir rangni paydo bo'lishi va spektr yutilgan qizil qismidagi *S* va *D* ( $\lambda = 630$  nm) oralig'ida tiniq chiziq hamda *D* va *E* ( $\lambda = 580$  va  $540$  nm) oralig'idagi ikkita chiziqlar metgemoglobinga xos.

Metgemoglobinning oksigemoglobindan hosil bo'lishi ikki bosqichli bo'lib, avval oksigemoglobindan kuchsiz bog'langan kislorod ajraladi, so'ngra  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  ni  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  ga qaytarilishida gemoglobinni metgemoglobinga oksidlanishi kuzatiladi.

**Eslatma:** agarda  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  dan ortiqcha miqdorda qo'shilgan bo'lsa, qizg'ish-qo'ng'ir rang o'rniga sarg'ish-ko'kish rang hosil

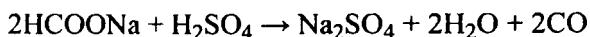
bo‘ladi; bu vaqtda yana qon qo‘shiladi va shundan keyin spektri olinadi.

Xulosada qon tarkibida metgemoglobinning katta miqdorda hosil bo‘lishining xavfli oqibati ko‘rsatiladi.

### 12.1.3. Karboksigemoglobinning spektrini aniqlash

Karboksigemoglobin (Co-Hb) – gemoglobinning uglerod oksidli birikmasi bo‘lib, organizm uglerod oksidi tutgan is gazi bilan zaharlanganida hosil bo‘ladi. Karboksigemoglobindagi, shuningdek, gemoglobin va oksigemoglobindagi temir ikki valentli.

Karboksigemoglobin oksigemoglobinga nisbatan birmuncha mustahkam birikma. Is gazi bilan nafas olganda qondagi gemoglobinning katta qismini karboksigemoglobinga o‘tishi qonning kisl orod bilan to‘yinmasligiga (gipoksemiya) olib keladi. Laboratoriya sharoitida karboksigemoglobinni defibrillangan qonni konsentrlangan  $H_2SO_4$  ni chumoli kislotasining natriyli tuzi ( $HCOONa$ )ga ta‘sir ettirib (gaz yo‘liga idishda o‘yuvchi ishqor qo‘yish kerak bo‘ladi), hosil bo‘lgan uglerod oksidi oqimi bilan to‘yintirib olish mumkin:



**Karboksigemoglobin** binafsha tusli to‘q qizil rangli birikma.

**Tekshiriluvchi material:** uglerod oksidi bilan to‘yintirilgan, defibrillangan qon.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shativ.
2. Qo‘l bilan boshqariladigan spektroskop.

**Ishni bajarilishi**

Probirkaga uglerod oksidi bilan to‘yintirilgan defibrillangan qondan 1–2 tomchi tomizilib, spektroskopda ko‘rganda spektrning sarg‘ish-ko‘k qismidagi fraunhofer chizig‘ining *D* va *E* oralig‘ida



Gemoglobinsianid rangining jadalligi gemoglobin miqdoriga proporsional.

**Tekshiriluvchi material:** qon.

**Reaktivlar:** o'zgartiruvchi eritma. 1 l o'zgartiruvchi eritma tarkibida 0,47 g atsetonsiangidrin, 200 mg qizil qon tuzi, 1,0 g natriy ikki oksidi bo'ladi.

Keltirilgan moddalar qondagi gemoglobinning gemoglobinsianid usuli bilan aniqlashda qo'llaniladigan "Reaxim" yig'masi tarkibida bor.

O'zgartiruvchi eritmani xona haroratida qora rangli shisha idishda saqlanganda bir necha oy davomida o'zgarmaydi. Cho'kma paydo bo'lsa yoki rangini yo'qotsa, foydalanishga yaramaydi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1,0 l o'lchovli kolba.
3. Fotoelektrokolorimetr.

**Ishni bajarilishi**

1. Barmoqdan 0,02 ml qon olib, probirkadagi 5,0 ml o'zgartiruvchi eritmaga qo'shiladi (suyultirish 251 marta), pipetka probirkadagi suyuqlik bilan bir necha marta yuviladi va yaxshilab aralastiriladi.

2. 10 daqiqadan so'ng FEK da 500–560 nm to'lqin uzunligida (ko'k svetofiltr) qalinligi 10 mm bo'lgan kyuvetalarda o'zgartiruvchi eritmaga nisbatan o'lchanadi.

3. Standart eritma ham tajriba kabi o'xshash sharoitda o'zgartiruvchi eritmaga nisbatan o'lchanadi.

Gemoglobin miqdori quyidagi formula bo'yicha hisoblanadi:

$$\text{Hb mg\%} = \frac{E_t}{E_{st}} \cdot S \cdot K \cdot 0,001.$$

Bunda:  $E_t$  – tajriba namunasining ekstinksiyasi;

$E_{st}$  – standart eritma ekstinksiyasi;

$S$  – gemoglobinsianidning standart eritmasidagi miqdori ( $S = 59,75 \text{ mg\%}$ );

$K$  – qonning suyultirilgan koeffitsiyenti ( $K = 251$ );

0,001 – gemoglobin miqdorini mg% dan g% ga o‘tkazish koeffitsiyenti.

Olingan natijalar 35-jadvalda keltiriladi.

Gemoglobin miqdorini mmol/l da hisoblash uchun g% da keltirilgan natijani 0,155 koeffitsiyentiga ko‘paytirish kerak.

35-jadval

Tekshirilayotgan qon miqdori	$K$	$E_t$	$E_{st}$	Gemoglobin miqdori, g %	Gemoglobin miqdori, mmol/l
0,02 ml	251				

Xulosada tekshiriluvchi jinsini hisobga olgan holda olingan natijani gemoglobinning normadagi miqdori bilan taqqoslanadi.

## 12.2. Qon oqsillari

Qon plazmasida 100 dan ortiq har xil oqsillar bor. Ularning asosiy qismini albuminlar, globulinlar va fibrinogenlar tashkil etadi. Oqsillarning umumiy miqdori 6,5–8,5% barobar, uch yoshgacha bo‘lgan bolalarda – 5,7–7%. Qon plazmasida yoki qon zardobidagi oqsil miqdorini aniqlash tashxis qo‘yish va davolashda katta ahamiyati bor.

Oqsil miqdorining kamayishi – gipoproteinemiya alimentar distrofiya sharoitida, holdan toydiruvchi o‘sma kasalliklarida, qon yo‘qotganda, buyrak betoblighi oqibatida siydik bilan oqsil chiqib



ketganda, jigar jarohati tufayli oqsil sintezining yetarli bo'lmashligi holatlarida kuzatiladi. Oqsil miqdorining qon plazmasida ortishi – giperproteinemiya katta ko'lamda kuyganda, ichak infeksiyasi tufayli organizmdan katta hajmda suyuqlik yo'qotilganda uchraydi.

### **12.2.1. Qon zardobi oqsillarining umumiy miqdorini refraktometrik usulda aniqlash**

Oqsil miqdorini, odatda, plazmada emas, bajarilishi jihatidan anchagina qulay bo'lgan qon zardobida aniqlanadi. Zardob va plazmadagi oqsil bo'lmagan birikmalarning miqdori nurning sinishi uchun yetarli emas. Shuning uchun zardobda oqsil miqdorini aniqlashda ko'proq tez bajariladigan refraktometrik usuldan foydalaniladi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Jihozlar:**

1. Refraktometr.
2. Zardobni tomizish uchun shisha tayoqcha.
3. Pipetkalar.

**Ishni bajarilishi**

1. Zardobning nur sindirish ko'rsatkichi o'lchanadi.
2. Qon zardobidagi oqsil foizi 36-jadval bo'yicha aniqlanadi.

## Oqsil eritmalarini Reys bo'yicha nur sindirish ko'rsatkichlari

Nur sinish ko'rsatkichi	Oqsil %	Nur sinish ko'rsatkichi	Oqsil %	Nur sinish ko'rsatkichi	Oqsil %
1,3412	3,06	1,3452	5,37	1,3492	7,69
1,3413	3,1	1,3453	5,42	1,3493	7,74
1,3414	3,16	1,3454	5,49	1,3494	7,79
1,3415	3,21	1,3455	5,54	1,3495	7,86
1,3416	3,27	1,3456	5,59	1,3496	7,92
1,3417	3,32	1,3457	5,66	1,3497	7,98
1,3418	3,39	1,3458	5,71	1,3498	8,04
1,3419	3,44	1,3459	5,76	1,3499	8,09
1,3420	3,50	1,3460	5,83	1,3500	8,15
1,3421	3,56	1,3461	5,89	1,3501	8,21
1,3422	3,62	1,3462	5,94	1,3502	8,28
1,3423	3,68	1,3463	6,01	1,3503	8,33
1,3424	3,74	1,3464	6,06	1,3504	8,39
1,3425	3,79	1,3465	6,12	1,3505	8,45
1,3426	3,85	1,3466	6,18	1,3506	8,50
1,3427	3,92	1,3467	6,23	1,3507	8,56
1,3428	3,97	1,3468	6,29	1,3508	8,62
1,3429	4,03	1,3469	6,36	1,3509	8,68
1,3430	4,09	1,3470	6,42	1,3510	8,74
1,3431	4,14	1,3471	6,48	1,3511	8,8
1,3432	4,2	1,3472	6,52	1,3512	8,86
1,3433	4,26	1,3473	6,58	1,3513	8,91
1,3434	4,32	1,3474	6,64	1,3514	8,96
1,3435	4,36	1,3475	6,7	1,3515	9,04
1,3436	4,43	1,3476	6,77	1,3516	9,08
1,3437	4,48	1,3477	6,82	1,3517	9,14
1,3438	4,54	1,3478	6,88	1,3518	9,2
1,3439	4,61	1,3479	6,94	1,3519	9,27
1,3440	4,68	1,3480	7,0	1,3520	9,32
1,3441	4,73	1,3481	7,05	1,3521	9,38
1,3442	4,78	1,3482	7,11	1,3522	9,43
1,3443	4,83	1,3483	7,16	1,3523	9,51
1,3444	4,9	1,3484	7,22	1,3524	9,55
1,3445	4,95	1,3485	7,28	1,3525	9,62
1,3446	5,0	1,3486	7,33	1,3526	9,67
1,3447	5,07	1,3487	7,4	1,3527	9,73
1,3448	5,14	1,3488	7,46	1,3528	9,79
1,3449	5,21	1,3489	7,52	1,3529	9,84
1,3450	5,25	1,3490	7,58	1,3530	9,9
1,3451	5,31	1,3491	7,63	1,3531	9,95

Tekshirilayotgan qon zardobidagi oqsilning miqdori bo'yicha olingan natijalar 37-jadvalda keltiriladi.

37-jadval

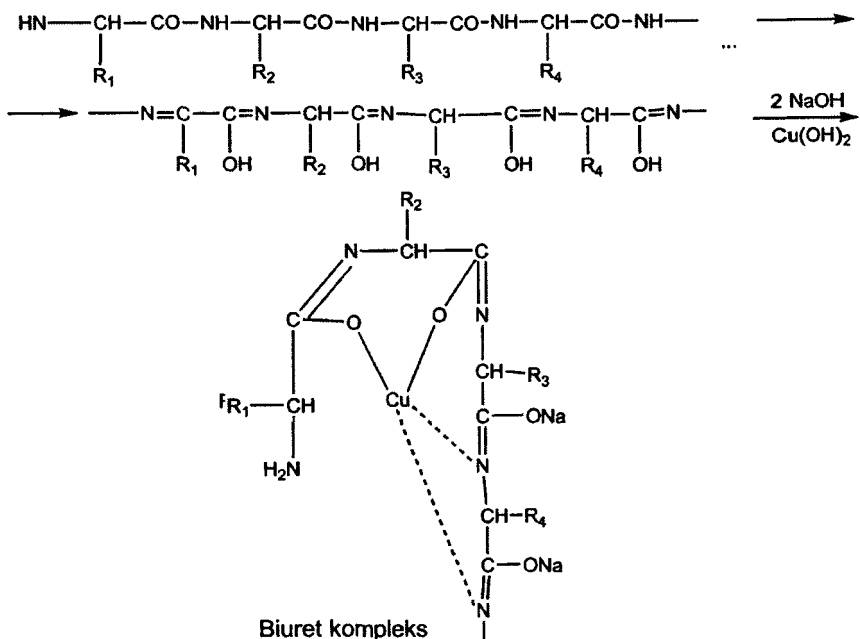
### Qonning organik tarkibiy qismlarini aniqlash

Tekshirilayotgan material	Aniqlanayotgan tarkibiy qism	Usulning nomi	Usulning asosi	Aniqlangan tarkibiy qismning miqdori

Xulosada aniqlangan oqsil miqdori uning qon zardobidagi normaldagi miqdori bilan taqqoslanadi.

#### 12.2.2. Qon zardobi oqsillarining umumiy miqdorini Biuret reaksiyasi bo'yicha aniqlash

Qon zardobi oqsillari ishqoriy muhitda mis sulfat bilan reaksiyaga kirishib, peptid bog'lari hisobiga mis ionlarining binafsha rangli kompleks birikmasini hosil qiladi:



Eritmaning rangi jadalligi undagi oqsil miqdoriga bevotsita bog'liq.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Biuret reaktivining ishchi eritmasi, asosiy eritmadan tayyorlangan (tayyorlanishi 55-ilovada).
2. 0,9% li natriy xlorid eritmasi.
3. Albuminning (odam yoki buqa zardobidan olingan), 0,9% natriy xlorid eritmasidagi 10% li eritmasi, ya'ni 1 ml eritmada 0,1 g oqsil bor.

**Jihozlar:**

1. Mikropipetkalar.
2. 1 va 5 ml hajmdagi pipetkalar.
3. Fotoelektrokolorimetr.
4. Probirkali shtativ.

## Ishni bajarilishi

1. 0,1 ml qon zardobiga 5 ml biuret reaktivining ishchi eritmasidan sekinlik bilan (ko'pik hosil bo'lishining oldini olib) qo'shib, aralastiriladi.

2. 30 daqiqadan so'ng (bir soatdan kechiktirmay) eritma zichligining FEK da qalinligi 1 sm li kyuvetalarda 540–560 nm to'lqin uzunligida (ko'k svetofiltr) nazoratga nisbatan o'lchanadi.

3. Bir vaqtning o'zida nazorat tekshirishlari o'tkazish uchun 0,1 ml 0,9% li natriy xlorid eritmasiga 5 ml ishchi biuret reaktividan qo'shiladi va davomi tajriba ishlari singari o'tkaziladi. Nazorat ikkita probirkada bajarilib, fotometrlash oldidan ikkala probirkadagi suyuqlik aralastiriladi va ikkita kyuvetaga quyiladi.

4. Hisoblash kalibrlash egri chizig'i bo'yicha o'tkaziladi. Uni tuzishda albuminning 10% li ishchi eritmasidan 38-jadvalda ko'rsatilganidek standart eritmalar tayyorlanadi.

38-jadval

### Kalibrlash grafingining tarkibi

№ probirka	Oqsilning standart eritmasi, ml	Natriy xloridning 0,9% eritmasi, ml	Namunadagi oqsil miqdori, g	Oqsil miqdori, %
1.	0,4	0,6	0,04	4
2.	0,6	0,4	0,06	6
3.	0,8	0,2	0,08	8
4.	1,0	–	0,10	10

Har bir suyuqliklardan 0,1 ml dan ishchi eritma olib, 5 ml dan ishchi biuret reaktividan qo'shiladi, 30–60 daqiqadan so'ng tajriba namunasining optik zichligi nazoratga nisbatan FEK da o'lchanadi. Olingan natijalar asosida kalibrlash grafigi tuziladi. Normada oqsil – 6,5–8,5%.

**Eslatma.** 1. Oqsilning standart eritmadagi miqdori 7% dan kam bo'lmasligi kerak.

2. Zardobdagi oqsil miqdori 10% dan ortiq bo‘lganda zardob fiziologik eritma bilan suyultiriladi, natijalar esa suyultirish koeffitsiyentiga ko‘paytiriladi.

Ishni rasmiylashtirishda kalibrlash grafigi bo‘yicha aniqlangan oqsil miqdori 38-jadvalda keltiriladi. Xulosada topilgan oqsil miqdori normadagi ko‘rsatkichi bilan taqqoslanadi.

### **12.2.3. Qon zardobidagi gaptoglobinlar miqdorini fotokolorimetrik usulda aniqlash**

Katta odam qon zardobida gaptoglobinlar miqdori 1,0–1,3 g/l ni tashkil etadi. Gaptoglobinlar qon zardobi  $\alpha$ -globulinlar fraksiyasi tarkibiga kiradi. Yangi tug‘ilgan bolalarda deyarli uchramaydi, bir-ikki oyligida paydo bo‘la boshlaydi va birinchi yarim yilligida miqdori katta kishilar darajasiga yetadi.

Gaptoglobinlar eritrotsitlardan tashqarida bo‘lgan gemoglobinni bog‘lab, ular bilan kompleks hosil qiladi va shu yo‘l bilan organizmda himoya vazifasini bajaradi, masalan gemoliz oqibatida eritrotsitlar parchalanganda gaptoglobin gemoglobinni buyrak orqali ajralishiga to‘sqinlik ko‘rsatib, buyrak kanalchalari funksiyasini buzilishining oldini oladi.

Gaptoglobinni aniqlash usuli gemoglobin-gaptoglobin kompleksini rivanol bilan cho‘kma hosil qilishiga asoslangan bo‘lib, qon zardobiga qo‘shilgan gemoglobinni rivanol bilan cho‘ktirilgandan keyin qolgan ortiqcha miqdorini fotoelektrokolorimetrdan aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Gemoglobinning 5 g/l eritmasi.
2. Rivanolning 3 g/l li eritmasi.
3. Ammoniy sulfatning 10% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.

2. 1 va 2 ml hajmdagi pipetkalar.
3. Sentrifuga.
4. FEK.

### **Ishni bajarilishi**

1. Sentrifugali probirkaga 0,5 ml zardob, 0,2 ml gemoglobin eritmasi va 0,3 ml distillangan suv solinadi.

2. Nazorat probirkasiga ham xuddi shu moddalar olinib, faqat gemoglobin eritmasi o'rniga 0,2 ml distillangan suv qo'shiladi.

3. Ikkala probirkadagi moddalar yaxshilab aralashtiriladi va 10 daqiqa o'tgach, ularga 2 ml dan rivanol qo'shib, 5 daqiqaga qoldiriladi.

4. Namunalar 10 daqiqa davomida daqiqasiga 3000 aylanish tezligida sentrifugalanadi.

5. Cho'kma usti suyuqligini ikkita toza probirkaga quyib, 0,2 ml dan 10% li ammoniy sulfat eritmasidan qo'shiladi va xona haroratida 20 daqiqaga qoldiriladi.

6. Standart eritmali probirkaga 2,8 ml distillangan suv, 0,2 ml gemoglobin eritmasi va 0,2 ml ammoniy sulfat solinadi.

7. Uchala probirkaning ekstinksiyasi FEK da 540 nm da (yashil svetofiltr) qalinligi 1 sm bo'lgan kyuvetalarda suvga nisbatan o'lchanadi.

8. Hisoblash quyidagi formula bo'yicha bajariladi:

$$X = \frac{[E_{st} - (E_t - E_n)]2000 \cdot 0,003}{E_{st}}$$

Bunda:

$X$  – gaptoglobin qon zardobidagi miqdori, g/l;

$E_t$  – tajriba namunasining ekstinksiyasi;

$E_n$  – nazorat namunasining ekstinksiyasi;

$E_{st}$  – standart namunasining ekstinksiyasi;

2000 – zardobni litrda hisoblash ko'rsatkichi;

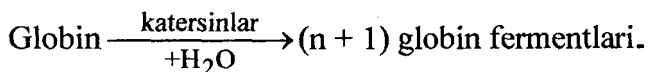
0,003 – standart namunadagi gemoglobin miqdori, g/l.

Ishni rasmiylashtirishda ekstinksiya bo'yicha qon zardobidagi gaptoglobinlar miqdori aniqlanadi va xulosada gaptoglobinnarning mumkin bo'lgan miqdoriy o'zgarishlari to'g'risida fikr yuritiladi.

#### **12.2.4. Qon zardobidagi katepsinlar faolligini A.A.Pokrovskiy, A.I.Archakov va O.N.Lyubimova usulida aniqlash**

Katepsinlar oqsillarni pH kislotali zonada gidrolizlovchi to'qima lizosomalarining maxsus fermentlari bo'lib, ulardan ilmiy tadqiqotlarda lizosomal fraksiyalar tozaligini aniqlashda indikator sifatida foydalaniladi. Organlar shikastlanganda, ayniqsa nekrozida qon zardobida katepsinlar faolligi ortadi. Bu kabi o'zgarish miokard infarktida kuzatilib, qon zardobidagi ferment faolligining ortish darajasi yurakdagi nekrotik jarohat ko'lamining kengligi va chuqurligi bilan bog'liqligini bildiradi.

Mazkur usul qon zardobidagi katepsinlar ta'sirida gemoglobinni gidrolizlangan kislotada eruvchi unumlarini spektrofotometrda 280 nm da aniqlashga asoslangan. Reaksiyani kechishi quyidagicha:



Globinning kislotada eruvchi unumlari (peptidlar, erkin aminokislotalar) ekstinksiyasi spektrofotometrni asosan tirozin, nisbatan kamroq triptofan va fenilalanin yutuvchi spektrida – 280 nm da aniqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Atsetatli buferning 0,1 m li eritmasi, pH-4,0 (tayyorlanishi 66-ilovada).
2. Gemoglobinning atsetatli buferdagi 4% li eritmasi, pH-4,0.
3. Uchxlorsirka kislotasining 8% li eritmasi.



### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1 va 5 ml hajmdagi pipetkalar.
3. Sentrifuga.
4. Spektrofotometr.

### **Ishni bajarilishi**

1. Tajriba probirkasiga 1 ml gemoglobin eritmasi va 0,5 ml qon zardobi olinadi.

2. Nazorat probirkasiga ham xuddi shu moddalar ko'rsatilgan hajmda olinib, ustiga 2 ml uchxlorsirka kislota qo'shiladi. Namunalar chayqatilib, aralashtiriladi.

3. Probirkalar 60 daqiqa 37° C suv hammomida ushlanadi.

4. Shundan so'ng tajriba namunasiga 2 ml uchxlorsirka kislota-sidan qo'shib, aralashtiriladi.

5. Namunalar 10 daqiqa davomida 3000 aylanish tezligida sentrifugalanib, cho'kma usti suyuqligi toza probirkalarga quyiladi.

6. Tajriba namunasining ekstinksiyasi nazoratga nisbatan spektrofotometrda 280 nm to'lqin uzunligida qalinligi 1 sm bo'lgan kyuvetalarda o'lchanadi.

Hisoblashda tirozinga tuzilgan kalibrlash grafigidan yoki tirozin ekstinksiyasining molyar koeffitsiyentidan foydalaniladi:

$$X = \frac{E \cdot 5000}{0,436}$$

Bunda:

$E$  – tajriba namunasining nazoratga nisbatan ekstinksiyasi;

$X$  – katepsin faolligi, tirozin mmol / (soat · l);

5000 – 1 l zardob uchun hisoblash koeffitsiyenti;

0,436 – 1 mmol tirozinning ekstinksiya koeffitsiyenti.

Ishni rasmiylashtirishda qon zardobidagi katepsinlar faolligi ekstinksiya bo'yicha topiladi va xulosada mazkur ferment faolligini aniqlashni amaliy ahamiyati ko'rsatiladi.

### 12.3. Qonning azotli qoldiqlari

Qon zardobi tarkibida oqsillardan tashqari nisbatan ozroq miqdorda oqsil bo'lmagan azotli moddalar ham saqlanadi. Ular to'qimalardan qonga tushuvchi azot almashinuvining oraliq va oxirgi unumlari bo'lgan polipeptidlar, aminokislotalar, mochevina, siydik kislotasi, kreatin, kreatinin, bilirubin, indikan, ammoniy tuzlari va boshqalardan iborat.

Barcha oqsil bo'lmagan moddalarni azotli qoldiq deb nomlanishiga sabab, oqsillar cho'ktirib, ajratib olingandan keyin ular filtratda qoladi. Normada qondagi azot qoldig'i darajasi 20 dan 40 mg% oralig'ida o'zgarib turadi (14–15 mmol/l; qayta hisoblash koeffitsiyenti 0,7140), sog'lom odam siydigidagi sutkalik ekskretsiyasi 0,1–0,4 g (7–30 mmol/sut).

Azot qoldig'i darajasini qonda ortishiga giperazotemiya deyilib, bunga asosan ba'zi buyrak kasalliklarida azot saqlovchi chiqindilarni siydik bilan yetarli ajralmasligi sabab bo'ladi. Bunday holat yana to'qima oqsillarini parchalanishini kuchayishi oqibatida (kuyish, ichakdan ovqatni o'tmay qolishi va boshqalar) azot almashinuvi unumlarini ko'plab qonga tushishida ham kelib chiqishi mumkin.

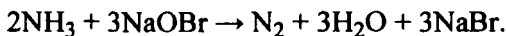
Mochevina azot qoldig'ining qondagi asosiy fraksiyasi bo'lib, uning umumiy miqdorining deyarli 50% ni tashkil etadi.

Oziqa tarkibida katta miqdorda oqsil bo'lganda yoki organizmdan haddan ortiq suv yo'qotilganda qondagi mochevina konsentratsiyasi birmuncha ortishi mumkin. Patologik hollarda miqdorini qonda ortishi (giperuremiya) asosan chiqarish funksiyasi buzilishi bilan bog'liq bo'lgan ayrim buyrak kasalliklarida kuzatiladi. To'ksinlar ta'sirida yoki fosfor, mishyak, uglerod to'rt xlori bilan zaharlanganda kuzatiladigan jigar kasalliklarida jigarning mochevina hosil qilish funksiyasi buzilishi oqibatida qonda mochevina miqdori kamayib ketadi.

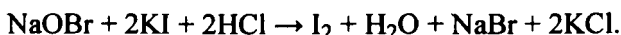
### 12.3.1. Qondagi azot qoldig'ini gipobromit yordamida Rappoport-Eyxgorn usulida aniqlash

Gipobromitning ishqoriy eritmasi bilan azot saqlovchi birikmalar o'zaro reaksiyaga kirishganda azot gaz shaklida ajralib chiqadi. Reaksiyaga kirishmagan gipobromit yod yordamida (yodometrik) aniqlanadi. Reaksiyaga olingan va reaksiyadan keyin qolgan gipobromit miqdorining ayirmasi bo'yicha ajralib chiqqan azot miqdori to'g'risida fikr yuritiladi.

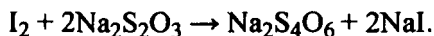
Ammiakning gipobromit bilan oksidlanish reaksiyasi quyidagicha:



Gipobromit kaliy yodid bilan kislotali muhitda ekvivalent miqdorda yod ajratadi:



Kaliy yodiddan ajralib chiqqan yodni titrlash uchun sarflangan giposulfit miqdori NaOBr miqdoriga ekvivalent:



**Tekshiriluvchi material:** barmoqdan olingan qon – 0,1 ml.

**Reaktivlar:**

1. Tarkibida natriy volfram oksidi va natriy sulfid tutgan oqsil cho'ktiruvchi eritma (tayyorlanishi 67-ildovada).
2. Gipobromit eritmasi (tayyorlanishi 72-ildovada).
3. Kaliy yodidning kristali yoki kaliy yodidning 10% li eritmasi. Eritma qora idishda saqlanadi.
4. Xlorid kislotasining 18% li eritmasi (tayyorlanishi 73-ildovada).

5. Giposulfit natriyning 0,005 n eritmasi (tayyorlanishi 74-ilo-  
vada).

6. Kraxmalning 1% suvli eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Sentrifuga.

2. Skarifikator (barmoqdan qon olishda ishlatiladigan igna).

3. Mikropipetka.

4. 1 va 5 ml hajmdagi darajalangan pipetkalar.

5. Konussimon kolbalar.

6. Byuretka.

### **Ishni bajarilishi**

1. Sentrifugali probirkaga 1 ml distillangan suv, 0,1 ml bar-  
moqdan olingan qon va 4 ml cho'ktiruvchi eritma solinadi. Qon  
olingan pipetkani probirkadagi suyuqlik bilan bir necha marta  
so'rib-puflab chayiladi. Aralashma 10 daqiqadan so'ng filtrlanadi  
yoki sentrifugalanadi.

2. Konussimon kolbaga 4 ml sentrifugat va 5 ml gipobromit  
eritmasidan quyib, yaxshilab chayqatiladi va 1–2 daqiqaga  
qoldiriladi.

3. Shundan so'ng 0,2 ml 10% li kaliy yodid eritmasidan yoki  
kaliy yodidning bir necha kristalidan, 3 ml 18% xlorid kislotasi  
eritmasidan qo'shib, chayqatiladi va 0,005 n natriy giposulfit  
eritmasi bilan sarg'ish rangga kirguncha titrlanadi. 2–3 tomchi 1% li  
kraxmal eritmasidan tomizilib, ko'kish-binafsha rang yo'qolguncha  
titrlash davom ettiriladi.

4. Bir vaqtning o'zida tajriba bilan nazorat ham o'tkaziladi: 4  
ml cho'ktiruvchi eritma, 5 ml gipobromit eritmasi, 0,2 ml 10% li  
kaliy yodid eritmasi yoki kaliy yodidning bir necha kristallaridan,  
3 ml 18% xlorid kislotasidan olib, tajriba namunasi singari rang  
yo'qolguncha titrlanadi.

Nazorat namunasi ikkita probirkada o'tkaziladi: birinchi nazorat  
tajriba boshida titrlanadi, ikkinchisi esa oxirida va ikkalasini  
qo'shib, o'rtacha qiymati olinadi.

**Hisoblash.** Nazorat va tajriba namunalarining titrlash uchun ketgan 0,005 n giposulfit eritmasining millilitrdagi ayirmasining koeffitsiyent (30) ga ko'paytiriladi va mg% javob olinadi:

(nazorat – tajriba) · 30 = mg% (mmol/l o'tkazish koeffitsiyenti – 0,714).

### **Eslatma.**

1. Gipobromit usuli minerallashtirilgandan so'ng olingan natijaning 85–95% ga to'g'ri keladi.

2. Aniqroq natija olish uchun har bir tajribaga ikkitadan parallel namuna qo'yish lozim va ularning o'rtacha qiymati hisobga olinadi.

3. Azot qoldig'i konsentratsiyasi 200 mg% yuqori bo'lganda zardob yoki sentrifugat (yoki filtrat) ikki marta kamroq olinadi, natija esa shunga muvofiq 2 ga ko'paytiriladi.

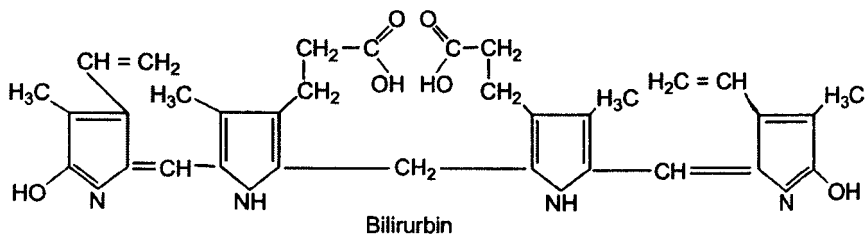
Xulosada olingan natija normal ko'rsatkich bilan taqqoslanadi.

### **12.3.2. Qon zardobidagi bilirubinni diazoreaktiv ishtirokida lendrashik, Kletgorn va Grof usulida aniqlash**

Bilirubin retikuloendotelial sistemasi hujayralarida, xususan jigarning kupfer hujayralarida gemoglobinning prostetik guruhi gemdan hosil bo'ladi va erkin bilirubin deb atalib, suvda erimaydi va Erlix diazoreaktivi bilan reaksiyaga kirishgani uchun bog'lanmagan yoki bilvotsita bilirubin deb ham nomlanadi. Reaksiyani bog'lanmagan deb nom olishiga sabab, unga eruvchanligini oshiruvchi moddalar (kofeinli reaktiv; metil, etil spirtlari) qo'shilganda pushti-binafsha rang paydo bo'ladi.

Bog'lanmagan bilirubin qon tarkibida albumin bilan birikkan ko'rinishda uchraydi. U qon bilan jigarga tushgach, jigar hujayralarining endoplazmatik retikulumidagi UDF-glukuronozid transferaza (KF 2.4.1.95) fermenti ishtirokida glukuron kislotasi bilan birikib, bilirubin diglukuronidini hosil qiladi.

Reaksiyada glukuron kislotasining faol shakli – uridindifosfoglukuron kislotasi qatnashadi. Bilirubinning glukuron kislotasi bilan bergan birikmasi suvda yaxshi erigani uchun uni bevotsita bilirubin deb atalib, bilirubinni Erlix diazoreaktivi bilan bevotsita bog‘lanishi tushuniladi. Diglukuronid bilan bir qatorda biroz miqdorda monoglukuronid ham hosil bo‘ladi:

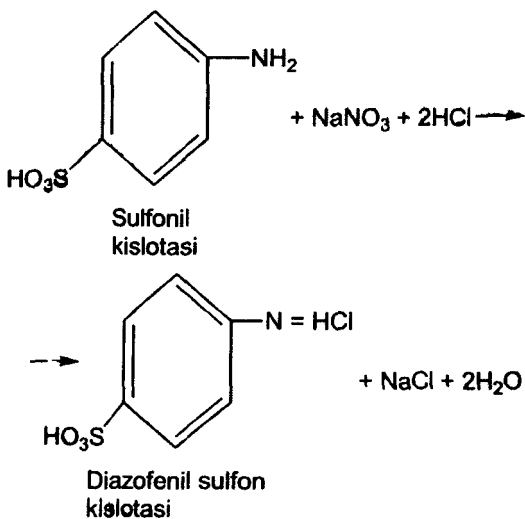


Erkin va bog‘langan bilirubin yig‘indisi qon zardobining “umumiy bilirubin” miqdorini tashkil qiladi. Qon zardobida bilirubin miqdorini 2 mg% gacha ortishi sariqlik paydo bo‘lishi bilan birga kuzatiladi. Umumiy bilirubin va uning fraksiyalarini aniqlash har xil shakldagi sariqliklarga tashxis qo‘yishda muhim ahamiyatga ega.

Jigar parenximasi shikastlanishi oqibatida kuzatiladigan sariq kasalliklari (gepatitlar, sirrozlar)da qondagi bilirubinning ikkala fraksiyasi aniqlanganda, bog‘langan shakli ko‘proq bo‘ladi. O‘t yo‘llarini bekilishi oqibatida kelib chiqadigan mexanik sariqlikda bilirubinning miqdori asosan bog‘langan bilirubin hisobiga oshadi, chunki bu sharoitda bilirubinni jigardan ichakka va undan qonga o‘tish imkoniyati chegaralangan bo‘ladi.

Yangi tug‘ilgan chaqaloqlardagi fiziologik sariqlikda va boshqa gemolitik sariqliklarda eritrotsitlarni gemolizga uchrashi natijasida bilirubinni hosil bo‘lishi miqdori kuchayadi, bu esa qonda bog‘langan bilirubin darajasini oshiradi.

Sulfonil kislotasining xlorid kislotasi (diazoreaktiv I) va natriy azot oksidi (diazoreaktiv II) bilan o‘zaro reaksiyaga kirishishidan diazofenilsulfon kislotasi hosil bo‘ladi:



Diazosulfon kislota qon zardobidagi “bog‘langan” bilirubin bilan bergan birikmasi pushti-binafsha rangli kompleks bo‘lib, rang jadalligi bo‘yicha fotokolorimetrdagi bog‘langan bilirubin miqdori aniqlanadi.

Qon zardobiga kofeinli reaktiv qo‘shilganda erkin bilirubin dissotsiyalangan eruvchan holatiga o‘tadi va diazoreaktivlari (I va II) aralashmasi bilan pushti-binafsha rang beradi. Rangning jadalligi bo‘yicha fotokolorimetrdagi umumiy bilirubin miqdori aniqlanadi.

Umumiy va bog‘langan (bevotsita) bilirubinning orasidagi ayirma asosida erkin (bilvotsita) bilirubin miqdori topiladi.

**Tekshiriluvchi material:** qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. “Kofeinli reaktiv” – tarkibi kofein, benzoy kislotasining natriyli tuzi, sirka kislotasining natriyli tuzidan iborat (tayyorlanishi 68-ildovada).
2. Diazoaralashma: a) diazoreaktiv I va b) diazoreaktiv II (tayyorlanishi 44-ildovada). Ishlatish oldidan 10 ml diazoreaktiv I va 0,3 ml diazoreaktiv II aralashtiriladi.

3. Natriy xloridning 0,9% eritmasi.
4. Bilirubinning 80 mg% asosiy standart eritmasi (tayyorlanishi 69-ildovada).
5. Bilirubinning 0,1 mg/ml li asosiy standart eritmasi va kompensatsiya suyuqligi (tayyorlanishi 70-ildovada).

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1, 2 va 10 ml hajmdagi darajalangan pipetkalar.
3. Fotoelektrokolorimetr.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Uchta probirkaga (umumiy, bog‘langan (bevotsita) bilirubin va nazorat namunalari uchun) 0,5 ml dan qon zardobi va 39-jadvalda ko‘rsatilgani bo‘yicha reaktivlar solinadi.

*39-jadval*

#### **Bilirubinni aniqlash uchun olingan aralashmalar tarkibi**

<b>Aralashma qismlari (ml)da</b>	<b>Umumiy bilirubin</b>	<b>Bog‘langan (bevotsita) bilirubin</b>	<b>Nazorat</b>
Zardob	0,5	0,5	0,5
Kofeinli reaktiv	1,75	—	1,75
0,9% natriy xlorid	—	1,75	0,25
Diazoaralashma	0,25	0,25	—

Har bir reaktiv zardobga qo‘shilganidan keyin probirkadagi suyuqlik yengil aralastiriladi.

2. “Bog‘langan” bilirubinni aniqlashda diazoaralashma qo‘shilgandan 5–10 daqiqa o‘tgach, fotoelektrokolorimetrlash kerak bo‘ladi, chunki uzoq vaqt turib qolsa, reaksiyada bog‘lanmagan bilirubin ham qatnashadi.

3. Umumiy bilirubinni aniqlashda rang jadalligini kuchaytirish maqsadida namuna 20 daqiqaga qoldiriladi, so‘ngra kolorimetrlanadi. Keyinchalik vaqt muddatining uzayishi rangni o‘zgartirmaydi.



4. Fotometrlash 500–560 nm (yashil svetofiltr) da 0,5 sm qalinlikdagi kyuvetada suvga nisbatan o‘tkaziladi. Umumiy va bog‘langan bilirubinni kolorimetrlashda olingan optik zichlik ko‘rsatkichidan nazorat optik zichlik ko‘rsatkichi ayiriladi.

5. Hisoblash kalibr lash grafi gi asosida bajariladi. Buning uchun umumiy va bog‘langan bilirubin miqdori topiladi. Bog‘lanmagan bilirubin miqdorini aniqlashda umumiy bilirubin miqdoridan bog‘langan bilirubin miqdori ayirib tashlanadi.

6. Kalibrlovchi grafik tuzishda bilirubinning ishchi standart eritmasidan har xil miqdorda bilirubin saqlagan bir necha probirkalar tayyorlanadi (40-jadval).

7. Har bir probirkaga 1,75 ml dan kofeinli reaktiv va 0,25 ml dan diazoralashma solinadi. Agar loyqalanish paydo bo‘lsa, uch tomchidan 30% o‘yuvchi natriy tomiziladi, 20 daqiqadan so‘ng tajriba namunasi o‘tkazilgan sharoitda o‘lchanadi.

8. Standart eritmalar kabi kompensatsion suyuqlikdan suyultirilgan eritmalar tayyorlanadi va ularning standart namunalar singari fotometrlanadi.

40-jadval

### Bilirubinni suyultirish uchun tayyorlangan aralashmalar tarkibi

№ probirka	Bilirubinning ishchi eritmasi, ml	Natriy xloridning 0,9% eritmasi, ml	Namunadagi bilirubin miqdori, mg	Bilirubin miqdori, mg %
1.	0,05	0,45	0,005	1
2.	0,1	0,4	0,01	2
3.	0,15	0,35	0,015	3
4.	0,2	0,3	0,02	4
5.	0,25	0,25	0,025	5

9. Standart namunalar ekstinksiya kattaligidan unga moslab suyultirilgan kompensatsion suyuqlikning ekstinksiya kattaligi ayirib tashlanadi va olingan farqi bo'yicha kalibrlash grafigi tuziladi. Ordinata o'qiga standart namunalar bilan kompensatsion suyuqlik namunalari orasidagi ekstinksiya farqi, absissa o'qiga esa – bilirubinning mg% dagi ularga mos miqdori qo'yiladi (40-jadvalga qarang).

Normada umumiy bilirubin miqdori 0,5–1,2 mg% (8,6–20,5 mkmol/l). Ko'rsatilgan miqdordan 75% bilvotsita (bog'lanmagan) bilirubin hissasidan iborat.

#### **Eslatmalar.**

1. Zardob gemolizlangan bo'lmasligi kerak.

2. Bilirubinni aniqlash oldidan tekshirilayotgan shaxs dorilar qabul qilmasligi yoki zardob rangini sun'iy o'zgartiruvchi mahsulotlar (sabzi, apelsinlar) va C vitamini iste'mol qilmasligi lozim.

3. Kalibrlovchi garfikni liofilizirlangan bilirubin tayyor yig'ma reaktivlari bilan ham tuzish mumkin (ishchi va suyultirilgan etalonli eritmalarini tayyorlash 69-, 70-ilovalarda).

4. Hisoblash natijasini SI birligi (mkmol/l) o'tkazishda 17,1040 koeffitsiyentidan foydalaniladi.

Ishni rasmiylashtirishda ekstinksiya va kalibrlash grafigidan foydalanib, tekshirilayotgan qon zardobidagi umumiy va bog'langan miqdori asosida bog'lanmagan bilirubin aniqlanadi. Xulosada olingan natijalar normadagi ko'rsatkich bilan taqqoslanadi.

#### **Nazorat savollari**

1. *Organizm ichki muhitida qonning ahamiyati nimadan iborat?*
2. *Qon organizmda qanday vazifalarni bajaradi?*
3. *Qon oqsillari, ularning vazifalari, o'rtacha miqdori kasalliklarda o'zgarishining sababi nimada?*

4. *Qon oqsillarining miqdoriy o'lchashni qaysi usullarini bilasiz?*
5. *Qon oqsillarini miqdoriy o'lchashdan maqsad nima?*
6. *Spektral tahlil nima, qon pigmentlarini aniqlashda undan qanday foydalaniladi?*
7. *Qonning azotli qoldiqlriga qanday birikmalar kiradi?*
8. *Qanday holatlarda azotli qoldiqlarni miqdori o'zgaradi, ularni aniqlashning qanday ahamiyati bor?*
9. *Bilirubinni miqdoriy aniqlashdan maqsad nima? Undan klinikada nima uchun foydalaniladi?*
10. *Qonning asosiy tarkibiy qismlarining keltiring, ularni aniqlashni amaliy ahamiyati nimada?*
11. *Gaptoglobulin nima, nima uchun u o'rganiladi va aniqlanadi, qaysi kasallik uchun xarakterli?*
12. *Bilirubinning qanday fraksiyalari bor, organizmning qaysi holatida uning qondagi miqdori o'zgaradi?*
13. *Erkin va bog'langan bilirubin qanday farqlanadi. Tashxis qo'yishda ularning roli nimadan iborat?*

## 13-bo'lim

### Siydik biokimyosi

Siydik buyrakda ishlanib buyrak orqali ajratiladi. Buyrak modda almashinuvi natijasida hosil bo'lgan oxirgi unumlarni tashqariga chiqarish, kerak bo'lganlarini qaytadan so'rilishini ta'minlash (reabsorbsiya), organizm suyuqliklari tarkibining barqarorligini saqlash bilan birga qondagi vodorod ionlari konsentratsiyasi va osmotik bosimning doimiyligini ushlab turuvchi organlar qatoriga kiradi.

Organizmga yot va zaharli bo'lgan moddalar buyrak orqali ajratiladi. Buyrakning funksiyasi uchun zarur energiya asosan uglevodlar va yog' kislotalarining aerob oksidlanishidan olinadi. Hujayralar metabolizmining barcha unumlari avvalo qonga tushadi va qon orqali buyrakka yetkaziladi. Qon bosimi ta'sirida buyrak koptokchalarining yarim o'tkazuvchan membranalaridan filtrlangan qon Shumlyanskiy–Boumen kapsulasi bo'shlig'iga tushadi.

Hosil bo'lgan suyuqlik, ferment va oqsildan tashqari, sifat hamda miqdoriy tarkibi bo'yicha qon tarkibiga o'xshash bo'lganligi uchun birlamchi siydik deb ataladi. Birlamchi siydik buyrak kanalchalarida qayta reabsorbsiyaga berilishi natijasida undagi organizmga kerakli bo'lgan moddalar (glukoza, tuzlar, suv va boshqalar) qonga o'tadi.

Reabsorbsiya bilan bir vaqtda kanalchalardan qo'shimcha moddalar (rang beruvchi moddalar, dorilar, kislotalar, ishqorlar va boshqalar) ajralib chiqadi. Reabsorbsiya va sekretiya jarayonlari oqibatida organizmdan ajraluvchi oxirgi (ikkilamchi) siydik hosil bo'ladi.

Buyrak va boshqa organlar – ovqat hazm qilish yo'llari, yurak, o'pka, jigar, endokrin bezlari funksiyasi yetishmovchiligi bilan bog'liq bo'lgan kasalliklarda, moddalar almashinuvi buzilganda va avitaminoz holatlarida qonning kimyoviy tarkibida o'zgarish kuzatiladi, bu esa o'z navbatida siydik tarkibida va fizik-kimyoviy xususiyatida o'z aksini topadi.

Bu vaqtda siydik tarkibiy qismlarining normal nisbati buzilishi, undan tashqari, sog'lom odamda normada laboratoriya tahlillarida aniqlanmaydigan moddalar (siydikning patologik komponentlari) paydo bo'lishi mumkin.

Shuning uchun ham siydik tarkibining sifat va miqdoriy tahlili klinika amaliyotida tashxis qo'yishda va barvaqt aniqlashda muhim ahamiyat kasb etib, davolash tadbirlari samaradorligini o'lchov mezonini bo'lib xizmat qiladi.

Siydik tarkibida suv, organik va mineral moddalar hamda u bilan 150 ga yaqin har xil moddalar ajratiladi. Hozirgi vaqtda siydikni klinik biokimyoviy tekshirish usullari 200 dan ortiq bo'lib, tashxis choralari malakasini yaxshilashda ijobiy rol o'ynamoqda. Laboratoriya-tashxis imkoniyatlari bemorda kasallik belgilari paydo bo'lishidan oldin tashxis qo'yilishida, ayniqsa siydikni imkon qadar chuqur tahlil qilinishi belgisiz (simptomsiz) kechadigan siydik yo'llari kasalliklarini tashxisida va davolashda keng qo'llanilmoqda.

### **13.1. Siydikning fizik-kimyoviy xossalari**

Buyrakning siydik orqali mustaqil ajratiladigan eruvchi moddalari va suvning miqdorini aniqlash mumkin. Buning uchun eruvchi moddalardan tozalangan (osmolyar klirensi) siydik miqdorini tozalangan suv miqdori bilan (erkin suvning klirensi) taqqoslash kerak.

Buyrakda filtrlanuvchi har qanday modda ( $X$ ) ma'lum tezlikda siydikka tushadi. Ushbu ajratish tezligi  $X$  moddaning

plazmadagi konsentratsiyasiga ( $P_aX$ ) proporsional.  $X$  moddaning siydik bilan ajralish tezligini, siydikdagi konsentratsiyasini ( $U_x$ ) va siydikning ajralish tezligini ( $V$ ) ml/min hosilasi sifatida ifodalash mumkin:

$$P_aX = U_x \cdot V.$$

Siydik bilan ajraladigan modda  $X$  va  $X$  ni arterial qoni plazmasidagi konsentratsiyasi – chiqarish tezligi yoki  $X$  modda klirensi (clarans –  $C$ ) ( $C_x$ ) bitta tenglama bilan ifodalandi. Chiqarish tezligi yoki klirens avvalgi tenglamaga qo‘shiladi:

$$P_aX \cdot C_x = U_x \cdot V.$$

Tenglamani quyidagi formulaga o‘zgartiriladi:

$$C_x = [U_x \cdot V] : P_aX.$$

### 13.1.1. Siydik miqdorini aniqlash

Siydikning sutkadagi miqdori (diurez) 1000 dan 1600 ml oralig‘ida bo‘ladi. Erkaklarda uning o‘rtacha miqdori 1500 ml, ayollarda 1200 ml. Siydik miqdori 500 ml dan kam yoki 2000 ml dan ortiq bo‘lsa, patologiya hisoblanadi. Siydikni ajralishi vazopressin – antidiuretik gormon tomonidan boshqariladi, u buyrak kanalchalarining distal (pastki) qismlarida suvni reabsorbsiya qilinishiga ta’sir ko‘rsatadi.

Qondagi antidiuretik gormon (ADG) siklik oktapeptid bo‘lib, gipofizning orqa qismidan ajraladi, tomirlarning silliq mushaklariga va buyrakning siydik yig‘uvchi naychalariga ta’sir ko‘rsatadi. Vazopressinning 1-turdagi retseptorlari ( $V_1$  –retseptorlari) orqali tomir silliq mushaklari qisqarishi boshqarilsa, buyrak kanalchalari hujayralari orqali vazopressinning 2-tur retseptorlari ( $V_2$  –retseptorlari) bog‘lanadi.

$V_2$  –retseptorlar buyrakda adenilatsiklaza fermentini stimullashi natijasida sAMF ( $3^{1,5^1}$  AMF) hosil bo‘ladi va to‘qimada proteinkinaza A faollashadi. Ushbu kaskadli signallar oqibatida plazmatik membrananing suvga o‘tkazuvchanligi ortadi. Bu holat suvni osmotik gradiyent bo‘yicha kanalchalardan qon tomirlariga o‘tishi va qondan ajralishiga sharoit yaratadi. ADG gormonini buyrakda osmotik konsentratsiyasiga ta’siri buyrak funksiyasini hal qiluvchi omillaridan hisoblanadi.

### 13.1.2. Siydik rangini aniqlash

Normadagi siydik tarkibida uroxrom, urobilin, uroeritrin, urozein va boshqa pigmentlar borligi tufayli och sarg‘ish rangli bo‘ladi. Pigmentlar ichida asosan uroxromni ko‘p yoki kamligiga qarab rang jadalligi och sariqdan qo‘ng‘ir-jigar ranggacha o‘zgarishi mumkin. Poliuriya sharoitida siydik rangsizlanib, oligouriyada rangi quyuqlashadi. Patologik holatlarda siydik rangi sezilarli darajada o‘zgarib, turli tusga kirishi kuzatilgan.

Siydikni to‘q sariq rangda bo‘lishi unda ortiqcha urobilin miqdori borligini yoki santonin kabi dori qabul qilinganligini moddalari bildiradi. Qizil rang – mioglobinuriyada, porfirinlar ekskretsiyasiga bog‘liq jarayonlarda yoki meva va sabzavotlarning, masalan chernika, qizil lavlagining tabiiy pigmentlari, shirinliklardagi anilin bo‘yoqlari va oziqa qo‘shimchalari ta’sirida kelib chiqishi mumkin. Bu vaqtda siydik rangining o‘zgarishiga sabab bo‘lgan omilni davolanuvchi shaxsini sinchiklab, diqqat bilan so‘rab, aniqlanadi.

Siydik reaksiyasi ishqoriy bo‘lib, tarkibida fenolftalein yoki fenol qizili saqlaganda to‘q qizil rang berishi mumkin. To‘q qizil yoki jigarrangli siydik unda metgemoglobin, porfirin borligini yoki fenol unumlari bilan zaharlanganlikni ko‘rsatadi. Agarda fenol saqlagan siydikka brom suvi qo‘shilsa, uchwromfenolning oq

yoki sariq cho'kmasi; temir xloridining 10% li eritmasi qo'shilsa, fenolning ko'kimtir rangli birikmasi; krezoldan esa yashil rang paydo bo'ladi.

Tarkibida melanin, gomogentizin kislotasi yoki katta miqdorda gemoglobin saqlagan siydik jigarrang-qoramtir ko'rinishga ega. Xuddi shunday rang lizol yoki fenol bilan zaharlanganda, yomon sifatli melanoma (o'sma) kasalligi (melanuriya) tashxisida ahamiyati bor. Siydik turib qolganda qorayishi alkaptonuriyada kuzatilib, siydik bilan gomogentizin kislotasi ajralayotganini ko'rsatadi.

Siydikni yashil-ko'kimtir rangga kirishi asosida bakterial unumlari yotganligini bildirib, og'ir yuqumli kasalliklardan yoki siydik mikroorganizmlar bilan ifloslanganligidan darak beradi. Yashil yoki ko'k rangli siydik o't pigmenti biliverdin (degidrobilirubin) tufayli ham bo'lishi mumkin.

Biliverdin siydikdagi bilirubin pigmentini havo bilan to'qnashib, oksidlanishidan ham hosil bo'ladi. Biliverdin spirtida, muzli sirka kislotasida yaxshi eriydi va spektrning qizil zonasida nur yutuvchi tasma chizig'ini beradi.

Ortiqcha miqdordagi o't pigmentlari – o't kislotalari siydikka sarg'ish-ko'kimtir rang beradi. Ushbu testni probirkada siydik namunasini chayqatganda ham kuzatish mumkin. Bu vaqtda sariq ko'pik paydo bo'ladi va u bir necha daqiqa davomida siydik ustida saqlanib turadi, ayni vaziyatda normal siydikda oq ko'pik ko'rinib, tezlikda yo'qoladi.

Siydikning sariq-jigarrangga bo'yalishi tarkibida xrizofan kislotasi tutgan preparatlar (ravoch, makkai sano) qabul qilinganida ham uchraydi. Ushbu rang siydikda kislotali muhitda kuzatilsa, unga ishqor qo'shilganida qizil rangga o'tadi. Agar rang o'zgarishi sababi aniq bo'lmasa, 10% o'yuvchi natriy qo'shib, fosfatlar cho'kmaga tushiriladi va filtrlanadi. Cho'kma xrizofan kislotasini adsorbsiya qilinishi natijasida qo'ng'ir-qizil rangli bo'lishi mum-



kin. Konsentrlangan xlorid kislotasi qo‘shilgan cho‘kma sariq rangga kiradi.

Qandli va qandsiz diabetda, buyrakni xronik yallig‘lanishidagi poliuriyada, shishni tez, qisqa vaqt oralig‘ida so‘rilishida och-sariq rang, deyarli rangsiz siydik ajratiladi.

### **13.1.3. Siydikning tiniqligini tekshirish**

Yangi ajratilgan siydik tiniq, nordon muhitli bo‘ladi, turib qolsa ustki qismida mukoid, epitelial hujayralar va shilliq tanachalar yig‘indisidan tuzilgan yarim tiniq parda, tagida esa asosan natriy oksid tuzlaridan tashkil topgan g‘ishtrang cho‘kma ko‘rinadi. Siydik uzoq vaqt turib qolganida bakteriyalar ta‘sirida mochevinani parchalanishidan hosil bo‘lgan ammiakli ishqoriy muhitda kalsiy va magniy fosfat tuzlaridan iborat cho‘kma tushadi.

Har xil patologik sharoitda siydik pufagidan xira rangli siydik ajraladi. Bu xiralik reaksiya muhitini o‘zgarishi natijasida – siydikdagi – urat, fosfat, oksalat yoki karbonat tuzlarining eruvchanlik xususiyatini o‘zgarishiga bog‘liq. Bulardan tashqari siydikni loyqalanishda shilliq qo‘shimchalar, yiring, hujayra epiteliysi va mikroblarning ham hissasi bor. Siydikni oq rangli loyqalanishida unga buyrakning limfa tomirlaridan yog‘ aralashmasi (xoluriya) saqlagan moddalarni tushishi sabab bo‘lishi mumkin.

Loyqalangan siydik sabablarini aniqlashda kimyoviy tahlillar o‘tkaziladi. Agar loyqalanish uratlar tufayli bo‘lsa, 2–3 ml siydikni qizdirilganda loyqalanish yo‘qoladi, bordi-yu yo‘qolmasa, bir necha tomchi 10% li sirka kislotasi tomiziladi, shundan so‘ng loyqalanishni yo‘qolishi siydikda fosfatlar borligini ko‘rsatadi.

Loyqalanishni yo‘qolishida vishillagan ovoz kuzatilsa, karbonatlar borligini bildiradi. Oksaloatsetatni kalsiyli tuzi ta‘siridagi loyqalanish faqat suyultirilgan xlorid kislotasi qo‘shilgandagina yo‘qoladi. Agar loyqalanishga siydik kislotasi kristallari sabab

bo'lgan bo'lsa, uni siydikka 2–3 ml kaliy ishqori qo'shish bilan yo'qotiladi.

Agar loyqalanish yo'qolmasa, u vaqtda suyuqlik jelatina holatiga o'tadi, bu esa loyqalanishda yiring ishtiroki borligini ko'rsatadi. 2–3 ml siydikka bir necha millilitr efir tomizilganda loyqalanishni yo'qolishi siydikdagi yog'ga bog'liq.

Mikroblar ta'siridagi loyqalanish doimo gomogen holatda bo'lib, filtrlaganda to'la yo'qolmaydi. Kimyoviy tahlil bilan bir qator-da mikroskopik tekshirishlar ham bajariladi.

#### **13.1.4. Siydik hidini tekshirish**

Normada yangi ajratilgan siydik maxsus hidga ega bo'lib, go'sht sho'rvasi (bulon) yoki bodom hidini eslatadi. Siydik turib qolganida bakteriyalar ta'sirida mochevinani parchalanishidan hosil bo'lgan ammiak hidi tarqala boshlaydi.

Patologik vaziyatlarda (siydik pufagi shilliq pardasini yallig'lanishi) siydik hali siydik pufagidaligidayoq ishqoriy bijg'ishga uchraydi. Organizmga tushadigan xilma-xil moddalar siydikka o'ziga xos hidni berishi mumkin (masalan valeriana, skipidar asosida tayyorlangan dori vositalari, sarimsoq piyoz, piyoz, xren va boshqalar). Siydik chiqarish yo'llari hujayralari parchalanishi bilan bog'liq bo'lgan jarayonlarda siydik sassiq hidli bo'ladi. Siydikning mevasimon hidi unda katta miqdorda atseton tanachalari borligini bildiradi.

#### **13.1.5. Siydik zichligini aniqlash**

Sog'lom odamning odatdagi kundalik suv ichishi va normal ovqatlanishida sutkalik siydigining o'rtacha zichligi  $1,010 \text{ g/sm}^3$  dan  $1,025 \text{ g/sm}^3$  oralig'ida bo'lib, asosan mochevina va natriy xlorid miqdoriga bog'liq. Sog'lom odam siydigida zichlikni

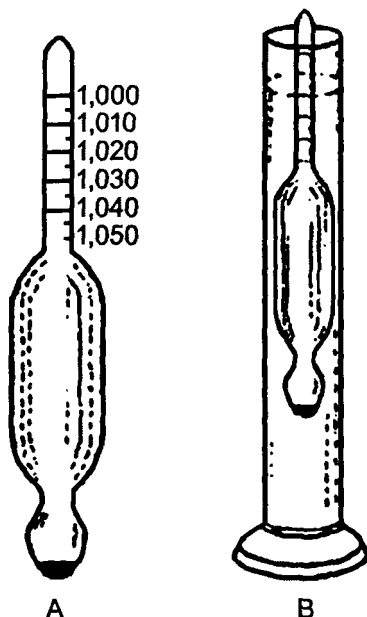
1,002–1,035 g/sm<sup>3</sup> atrofida vaqtinchalik o‘zgarib turishi, uning ichgan suyuqligi, ovqatlanish me‘yori va terlash miqdorlari bilan belgilanadi. Zichlikning kamayishi barcha poliuriya jarayonlariga, patologik holatlarga, ayniqsa qandsiz diabetga xos bo‘lib, siydik miqdori 10 l ga yetishi va undan ham ortganda zichlik suv zichligiga yaqinlashishi kuzatilgan.

Qandli diabet bundan mustasno, ushbu kasallikda katta miqdorda rangsiz siydik ajratilishiga qaramay tarikbida glukoza bo‘lganligi sababli u katta zichlikka ega. 1% miqdordagi glukoza siydik zichligini 0,004 g/sm<sup>3</sup> oshiradi. Siydikda zichlik ko‘rsatkichini doimiy past bo‘lishi buyrakni konsentratsiyalash imkoniyatini yo‘qolganligini xarakterlaydi (buyrakni xronik yallig‘lanishi).

Siydik zichligini ortishi ko‘pincha uning sutkalik hajmining kamayganligi bilan (oligouriya) bog‘liq bo‘lib, oz suv iste‘mol qilinganda yoki buyrakdan tashqari suyuqlik yo‘qotilganda (kuchli terlash, qusish va boshqalar) kuzatiladi. Albuminuriya oqibatida siydikda katta miqdorda oqsil to‘planganida, siydik bilan tuzlar ajratilganida (podagra, buyrak toshi kasalligi) siydik zichligi ortadi.

Siydik zichligi urometr deb ataluvchi maxsus areometrda o‘lchanadi (9-rasm). Past va normal zichlikni (1,000 dan 1,030 gacha taqsimlangan) va yuqori zichlikni (1,030 dan 1,060 gacha taqsimlangan) o‘lchaydigan urometrlar bor.

Urometrlarda o‘lchash jarayoni 15° C da bajariladi, chunki siydik haroratini 3° C ga o‘zgarishi zichlikni mingdan birga (0,001) o‘zgartiradi. Shundan kelib chiqqan holda haroratni 15° C dan yuqoriga yoki pastga o‘zgarishiga qarab har bir o‘zgarigan 3° C uchun urometr ko‘rsatkichiga 0,001 g/sm<sup>3</sup> qo‘shiladi yoki olib tashlanadi.



**9-rasm. Urometr. A – umumiy ko‘rinishi;  
B – urometrning siydikli silindrga to‘g‘ri qo‘yilishi.**

**Tekshiriluvchi material:**

1. Normadagi siydik.
2. Yuqori zichlikdagi patologik siydik.

**Jihozlar:**

1. 50 yoki 100 ml li shisha silindrlar.
2. Urometrlar – darajalangan 1,000 dan 1,030 gacha; 1,030 dan 1,060 gacha.
3. Termometr.
4. Filtr qog‘ozi.

**Ishni bajarilishi**

1. Diametri unchalik katta bo‘lmagan silindrga tekshiriluvchi siydik quyiladi. Urometr silindr devoriga tegmay, erkin holda suzishi kerak (9-rasmga qarang). Agar siydik ustida ko‘pik paydo

bo'lsa, uni filtr qog'ozini bo'lagi bilan olib tashlanadi. Silindr qat'iy vertikal turishi kerak.

2. Quruq va toza urometрни ehtiyotlik bilan siydikka tushiriladi, asta tepasidan chertib, bosib qo'yiladi. Urometрning tebranishini to'xtashi kutiladi.

3. Urometрni siydikka botib turgan chizig'i bo'yicha hisob olinadi.

4. Siydikning harorati o'lchanadi, agar u yuqori yoki past haroratda bo'lsa, kerakli tuzatish (qo'shimcha) kiritiladi. Agar siydik miqdori silindrni to'ldirish uchun yetarli bo'lmasa, uni distillangan suv bilan ikki barobar suyultiriladi va zichlik ko'rsatkichining oxirgi ikkita sonini suyultirish darajasiga ko'paytiriladi. Masalan, suyultirilgan siydikning zichligi  $1,017 \text{ g/sm}^3$ ;  $17 \cdot 2 = 34$ ; siydik zichligi –  $1,034 \text{ g/sm}^3$ .

Ishni rasmiylashtirishda normal va patologik siydiklar zichligi taqqoslanib, sababi ko'rsatiladi, shuningdek, rangi, hidi va tiniqligi bo'yicha fikr bildiriladi.

### **13.1.6. Siydik reaksiya muhitini aniqlash**

Fiziologik sharoitda va kundalik aralashma ovqatlanishda yangi ajratilgan siydik lakmus bo'yicha kislotali yoki ishqoriy reaksiyaga ega. Siydik turib qolganida mikroorganizmlardagi ureaza ta'sirida mochevinadan ajralgan ammiak hisobiga siydik ishqoriy muhitga o'tadi (aseptik konservantsiz yig'ilgan siydik). Normada siydik pH i 4,8 dan 7,0 gacha o'zgarib, o'rtacha pH-6,0 ga barobar.

Normadagi siydikning kislotalik xossasi asosan natriy digid-rofosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) bilan natriy gidrofosfatning ( $\text{NaHPO}_4$ ) o'zaro nisbatiga bog'liq. Siydik pH miqdoriga ovqat sifati ta'sir qiladi. Sutli, ko'proq go'shtli ovqat iste'mol qilinganda pH kislotali (5,8-6,0 dan 5,2–5,3) bo'lishiga sabab organizmda oqsillar oksidlanishi unumi bo'lgan oltingugurtdan (S) sulfat kislotasi, fosfoorganik

birikmalardan – fosfat kislotalari hisobiga nordon tabiatli tuzlar sintezlanadi.

O‘simlik oziqalari siydik pH ni ishqoriy tomonga buradi, chunki o‘simlik tarkibidagi organik kislotalarni organizmda suv va karbonat anhidridgacha oksidlanishidan kaliy va natriyning karbonatli tuzlari hosil bo‘ladi. Siydik pH ni qandli diabetda va och qolganda kislotali tomonga surilishida atseton tanachalari qatnashadi, podagra, isitma va boshqa kasalliklarda esa buyrakni glutamindan ammiak hosil qiluvchi funksiyasi chegaralanib, kislotalarni neytrallovchi imkoniyati pasayadi.

Siydik pufagi shilliq pardasi yallig‘langanda (sistitlar) siydik pH ni ishqoriy tomonga o‘tishi mochevinaning bakterial parchalanishidan ammiakni hosil bo‘lishiga, ko‘p qusishga, me‘- dadan me‘da shirasini yuvish davomida, bikarbonatli va ishqoriy mineral suvlar qabul qilganda uchrashi mumkin.

Odatda, siydikning kislotali yoki ishqoriy xossaga ega ekanligi lakmus qog‘ozi orqali aniqlanadi. Aniqroq tekshirish uchun esa siydik pH ni bilish kerak bo‘ladi.

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Jihozlar:**

1. Qizil va ko‘k lakmus qog‘ozi.
2. Filtr qog‘ozi yoki sopol taxtacha.
3. Shisha tayoqcha.

**Ishni bajarilishi**

1. Filtr qog‘ozi yoki sopol taxtachadagi qizil va ko‘k lakmus qog‘ozchasi ustiga shisha tayoqcha bilan bir tomchi siydik tomiziladi.

2. Rangni o‘zgarishi davomida quyidagi natijalarni kuzatish mumkin:

1) ko‘k lakmus qog‘ozchasi qizarishi, qizilining rangi o‘zgar- masligi – kislotali reaksiya;

2) qizil lakmus qog‘ozchasi ko‘karishi, ko‘king rangi o‘zgar- masligi – ishqoriy reaksiya;

3) ikkala ko‘rinishdagi qog‘ozchalar o‘z rangini o‘zgartirmasa – neytral reaksiya;

4) ikkala lakmus qog‘ozchalari o‘z rangini biroz o‘zgartirsa – amfoter reaksiya.

### **13.1.7. Siydik pH ini universal indikator qog‘ozi bilan aniqlash**

Universal indikator qog‘ozini (pH-1–10) ishlatilib, siydik pH ini birgacha aniqlik bilan aniqlash mumkin.

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Jihozlar:**

1. Siydik uchun stakan.
2. Universal indikator qog‘ozi (paketda).

**Ishni bajarilishi**

1. Indikatorli qog‘oz tasmasini tekshirilayotgan siydikka tushiriladi.

2. Tasmani olib, tezlikda hosil bo‘lgan rangni paketdagi rang shkalasi bilan taqqoslanadi va pH ko‘rsatkichi aniqlanadi.

Olingan natijani rasmiylashtirishda lakmus qog‘ozidagi qizil va ko‘k rang jadalligi bo‘yicha siydik reaksiyasi haqida xulosa qilinadi va topilgan pH miqdorini norma bilan taqqoslab, siydik pH ni o‘zgarish sababi ko‘rsatiladi.

### **“Siydikning fizik-kimyoviy xossalari” bo‘limi bo‘yicha nazorat savollari**

1. *Sog‘lom odam normada sutkasiga qancha siydik ajratadi va uning rangi, hidi va tiniqligi qanday bo‘ladi?*
2. *Normada siydik zichligi nimaga teng va uning miqdoriga asosan siydikning qaysi tarkibiy qismlari ta’sir ko‘rsatadi?*

3. *Poliuriya, oligouriya, anuriya nima va ularning kelib chiqish sabablari qanday? Poliuriya va oligouriyada siydik zichligi qanday o'lchanadi? Qanday mustasnolar bor?*
4. *Siydik rangi va hidini o'zgarishi nimaga bog'liq?*
5. *Qaysi vaqtlarda siydik xiralashishi yoki loyqalanishi mumkin, uning sababi nimada?*
6. *Lakmus bo'yicha normadagi siydik reaksiyasi qanday va uning pH qiymatini oralig'i qanaqa?*
7. *Qaysi fiziologik va patologik omillar siydik pH ni kislotalik yoki ishqoriy tomonga o'zgartiradi?*

## **13.2. Siydik tarkibining organik qismlari**

Siydik tarkibining organik qismlariga glukoza, pirouzum kislotasi, keton tanachalari, siydik pigmentlari, mochevina, kreatinin, siydik kislotasi, aminokislotalar, gippur kislotasi va boshqalar kiradi.

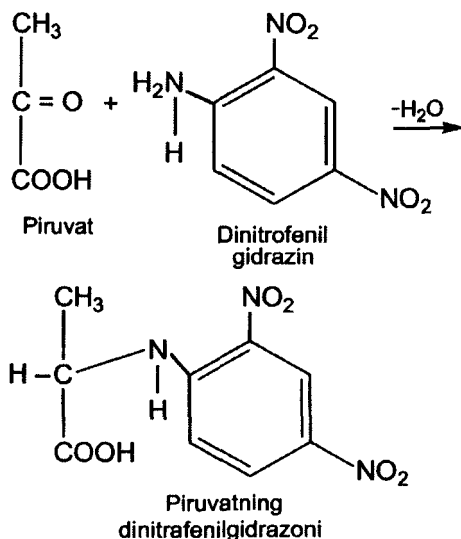
Siydik bilan yana ayrim fermentlar, vitaminlar, gormonlar ham ajraladi. Siydikning patologik tarkibiy qismlariga oqsil, glukoza, atseton tanachalari, o't va qon pigmentlari, gomogentizin va pirouzum kislotalari kiradi.

### **13.2.1. Siydikdagi piruvat miqdorini aniqlash**

Siydik bilan sutka davomida 10–25 mg (113,7–283,9 mkmol/sut) pirouzum kislotasi (piruvat) ajralib chiqadi. B<sub>1</sub> avitaminozi va gipovitaminozida qonda va boshqa to'qimalarda, ayniqsa bosh miyada katta miqdorda piruvat to'planadi va uning siydik bilan ajralishi birmuncha ortadi. Siydikda piruvat miqdori qandli diabet, jigar kasalliklarida va bir qator dori votsitalari – kamfora, strixinin, adrenalın qabul qilinganida ham ko'payishi kuzatilgan.



Piruvatni siydikda aniqlash usuli 2,4-dinitrofenilgidrazinning ishqoriy muhitda qo‘ng‘ir-qizil rangli gidrazoni hosil bo‘lishiga asoslangan, rangning jadalligi piruvat konsentratsiyasiga proporsional:



**Tekshiriluvchi material:** siydik.

**Reaktivlar:**

1. 2,4-dinitrofenilgidrazinning 0,1% li eritmasi.
2. Kalibrli grafik tuzish uchun pirouzum kislotalasi.
3. NaOH ning 1,5 n li eritmasi;
4. 10% li sirka kislotalasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1 va 5 ml li darajalangan pipetkalar.
3. FEK.

**Ishni bajarilishi**

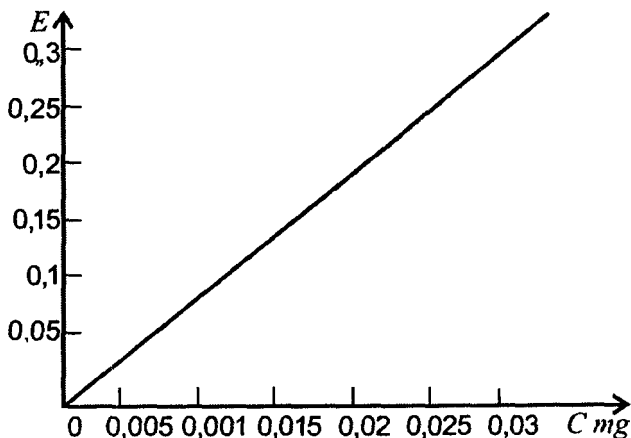
1. Probirkaga 1 ml 2,4-dinitrofenilgidrazinning 0,1% li eritmasi olinadi va 1 ml nordonlashtirilgan tiniq siydik qo‘shib, aralash-tirilgach, 15 daqiqaga qoldiriladi.

2. 5 ml 1,5 n NaOH qo'shilganda piruvatning 2,4-dinitrofenilgidrazoni hosil bo'lishi natijasida suyuqlik rangi o'zgaradi.

3. Ishqor qo'shilgandan 10 daqiqa o'tkazib, rang jadalligi FEK da o'lchanadi.

4. Nazorat namunasidagi 5 ml NaOH eritmasiga 1 ml 2,4-dinitrofenilgidrazinning 0,1% li eritmasi va 1 ml H<sub>2</sub>O qo'shiladi. Kolorimetrlash 1 sm li kyuvetalarda ko'k svetofiltrda bajariladi.

5. Pirouzum kislotasi miqdori kalibrlash grafigi asosida aniqlanadi. Ordinata o'qiga optik zichlik kattaligi ( $E$ ), absissa o'qiga unga mos bo'lgan pirouzum kislotasining mg dagi namuna miqdori qo'yiladi.



**10-rasm. Kalibrlash grafigi. Ordinata o'qida optik zichligi ( $E$ ), absissa o'qida esa pirouzum kislotasi (mg da).**

6. Pirouzum kislotasining sutkadagi ekskretsiyasi quyidagi formula bo'yicha aniqlanadi:

$$X = A \cdot 1500.$$

Bunda:

$X$  – pirouzum kislotasining mg/sutkadagi miqdori;

A – pirouzum kislotasining kalibrlash grafigi bo'yicha topilgan miqdori;

1500 – erkaklardagi diurezning sutkadagi miqdori, ml; ayollarda esa 1200 ml.

Mkmol/l da hisoblanganda mg dagi miqdorini 11,366 koeffitsiyentga ko'paytiriladi.

Xulosada pirouzum kislotasining aniqlangan ekskretsiya intensivligi norma bilan taqqoslanib, farqi bo'lsa, tushuncha beriladi. Pirouzum kislotasining miqdorini ortishi B<sub>1</sub> gipovitaminozi holatini bildiradi. Umuman olganda, ushbu ko'rsatkich asosida tiaminpirofosfat yetishmasligi natijasida mitoxondriyalarda piruvatni oksidlanishli dekarboksillanish mexanizmini tormozlanishi yotadi.

### 13.2.2. Siydikdagi keton tanachalari va glukoza miqdorini aniqlash

Normadagi siydik namunalarida atseton tanachlari va glukoza bo'lmaydi. Atseton tanachalari va glukozani siydik bilan ajralishi ko'pincha, qandli diabetda, nisbatan kamroq glukokortikoidlar (steroidli diabet) va somatotropinlar, kortikotropinlar ta'sirida kuzatiladi. Oziqa bilan uglevodlar katta miqdorda iste'mol qilganda atsetonuriyasiz glukozuriya, och qolganda esa glukozuriyasiz atsetonuriya yuz beradi.

Keton (atseton) tanachalariga atseton, atsetosirka kislotasi va  $\beta$ -g idroksimoy kislotalari kiradi.

**Tekshiriluvchi material:** normal va patologik siydik.

**Reaktivlar:**

1. Natriy nitroprussidning yangi tayyorlangan 10% li eritmasi.
2. Konsentrlangan sirka kislotasi.
3. Natriy gidroksidning 10% li eritmasi.
4. Temir (III)- xloridining 10% li eritmasi.

## **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. "Glukotest" reaktivlar to'plami.

## **A.**

### **Siydikdagi atseton va atsetosirka kislotasini Legal usulida aniqlash**

Usul atseton va atsetosirka kislotalarining ishqoriy muhitda natriy nitroprussid tuzi bilan qo'ng'ir-qizil rangli kompleks, eritmani nordonlashtirilganda esa qizil-olcha rangli birikma berishiga asoslangan.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirka olib, birinchisiga 10 tomchi normal, ikkinchisiga esa 10 tomchi patologik siydik tomiziladi.

2. Har ikkala namunalarga 2 tomchidan natriy nitroprussid eritmasidan va 4 tomchidan natriy gidroksid eritmasidan qo'shilganda qo'ng'ir-qizil rang paydo bo'ladi.

3. Ikkala probirkaga 10 tomchidan konsentrlangan sirka kislotasi qo'shilganda, qizil-olcha rangli birikma hosil bo'ladi.

**Eslatma.** Siydikdagi kreatinin ham natriy nitroprussid bilan qo'ng'ir-qizil rang beradi, ammo konsentrlangan sirka kislotasi qo'shilganda suyuqlik sariq rangga bo'yaladi.

## **B.**

### **Siydikdagi atsetosirka kislotasini Gerxard usulida aniqlash**

Usul temirni atsetosirka kislotasining enol shakli bilan reaksiyaga kirishganida qizil-binafsha rangli kompleks hosil bo'lishiga asoslangan.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirkaning bittasiga 20 tomchi normal, ikkinchisiga 20 tomchi patologik siydik tomiziladi.

2. Har ikkala probirkalarga 5 tomchidan temir xloridi qo'shilganda qizil-binafsha rang paydo bo'ladi.

#### D.

#### Siydikdagi atsetonga ekspress-test

#### Ishni bajarilishi

1. Reaktivlar to‘plamidagi har bitta tabletkaga 2 tomchidan normal va patologik siydikdan tomiziladi.

2. Ikki daqiqadan so‘ng tabletkada ko‘ringan rangni to‘plamdagi rangli shkala bilan solishtiriladi

3. Atseton yo‘qligida siydik tomizilgan tabletkada rang bo‘lmaydi.

#### E.

Siydikdagi glukozani “Glukotest” reaktivlar to‘plami yordamida aniqlash

Usulda glukoza miqdori siydik shimdirilgan “Glukotest” qog‘oz tasmasi rangining o‘zgarishi shkala rangiga solishtirib, taxminan aniqlanadi.

#### Ishni bajarilishi

1. “Glukotest” qog‘oz tasmasining bittasiga normal, ikkinchisiga esa patologik siydik shimdiriladi.

2. Bir necha daqiqadan so‘ng tasmalar rangi shkaladagi ranglar bilan taqqoslanadi.

3. Tasma rangining shkala rangiga mos kelishiga qarab siydikdagi glukoza miqdori aniqlanadi.

Olingan natijalar 41-jadval shaklida rasmiylashtiriladi.

41-jadval

Tekshirilayotgan siydik	Namuna nomi	Aniqlanuvchi modda	Natija

Xulosada normal va patologik siydik namunalari atseton tanachalari hamda glukoza borligi va ularning kelib chiqish sabablari ko'rsatiladi.

### **13.2.3. Siydik tarkibidagi oqsilga sifat va miqdoriy reaksiyalar**

Normada odam siydigida juda oz miqdorda katta kishilarda sutkasiga 20 dan 60 mg gacha, bolalalarda – 3 dan 47 mg gacha (1–3 mg% to'g'ri keladi) oqsil bo'lib, odatdagi oddiy laboratoriya usullari bilan aniqlab bo'lmaydi. Uni biologik suyuqliklarda sifat va miqdoriy aniqlashda katta sezuvchanlikka ega bo'lgan usullardan foydalaniladi.

Bir qator kasalliklarda, ayniqsa buyrak funksiyasi yetishmovchiligida siydikda oqsil miqdori ortib (albuminuriya yoki proteinuriya) uni oddiy laboratoriya usulida aniqlasa bo'ladi.

Odatda, buyrakning haqiqiy albuminuriyasi farqlanib, bu vaqtda buyrak to'qimasi oqsilni siydikka o'tkazib yuboradi, soxta albuminuriya esa – buyrakka tegishli bo'lmay, siydik chiqarish yo'llarining yallig'lanishi natijasida siydikda oqsil aralashmalarini (qon, yiring, limfa va boshqalar) paydo bo'lishidir.

Siydik bilan ajratiladigan oqsil buyrakda filtrlanayotgan oqsilning bir qismi bo'lib, asosiy qismi proksimal aylanma kanalchalarida endotsitoz yordamida qayta reabsorbsiya qilinadi. Siydikdagi reabsorbsiyaga berilmagan kichik molekulali oqsillar – tarkibi bo'yicha  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta_2$  – mikroglobulinlar va lizosimdan iborat.

Normada siydik oqsillarining taxminan 40% ni albuminlar, 20% ni globulinlar tashkil etadi.

Ikkala buyrak orqali filtrlanadigan qon plazmasining miqdori 125 ml/daqiqa yoki 180 l/sutka, taxminan qonning umurniy hajmidan 60 marta katta. Normada siydik bilan ajratiladigan oqsilning kundalik miqdori 150 mg dan kam, 1 l plazmada 60–80 g oqsil borligini e'tiborga olganda siydik orqali ajratilayotgan oqsil miq-

dorini nihoyatda kamligi qon oqsilini saqlanishida buyrakdagi filtrlanish yuqori darajada effektivligini ko'rsatadi.

Siydik bilan sutkasiga 3 g dan ortiq oqsil yo'qotilishi buyrakning filtrlash funksiyasini buzilishiga bog'liq bo'lib, nefrotik sindromni keltirib chiqaradi va bunda buyrak kasalliklari uchun xarakterli bo'lgan belgilar – proteinuriya, gipoproteinemiya, shishlar kuzatiladi.

Haqiqiy albuminuriyaga sabab bo'lgan oqsil zardob albumini, qon plazmasi albumini va globulinlari aralashmasidan yoki buyrakni o'zining oqsillaridan iborat. Albuminuriyada siydikdagi oqsil miqdori, odatda, 1% dan oshmaydi, gohida 4% yoki 8% gacha yetishi mumkin.

Oqsil aniqlanayotgan siydik avvalo tiniq bo'lishi kerak, chunki xiralik biroz bo'lsa ham siydikda oqsilning normadan ortiqligini ko'rsatadi. Xiralashgan siydikni tekshirishdan oldin qog'oz filtr orqali filtrlanadi.

Siydik ishqoriy reaksiyali bo'lganda tekshirish oldidan sirka kislotasi bilan yengil nordonlashtiriladi. Siydik o'zi rangli bo'laganligi uchun undagi oqsilni rangli reaksiyalar bilan ochish yaramaydi. Undan tashqari siydikda xarakterli rang hosil bo'lishiga qarshilik ko'rsatuvchi moddalar bo'lishi mumkin.

Siydikdagi oqsilni reaksiyaga sezuvchanligi asosan uning tarkibidagi mineral tuzlar ta'siriga bog'liq. Quyida siydikda oqsilni ochishda qo'llaniladigan eng sezgir cho'ktirish reaksiyalari keltiriladi.

**A.**

**Kuchsiz kislotali muhitda qaynatib aniqlash**

**Tekshiriluvchi material:**

1. Filtrlangan, oqsili bor siydik.
2. Filtrlangan normal siydik.

**Reaktivlar:**

1. 1% li sirka kislotasi eritmasi.
2. 10% li sirka kislotasi eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. Lakmus qog‘ozi.

### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 20 tomchi siydik olib, reaksiyasi lakmus qog‘ozi bilan tekshiriladi. Agar siydik ishqoriy bo‘lsa, uni lakmus yordamida 1% li sirka kislotasi tomchisidan qo‘shib, kuchsiz kislotali muhitga o‘tkaziladi, so‘ngra qaynatiladi.

2. Oqsil bo‘lsa, qaynatganda loyqa yoki cho‘kma hosil bo‘ladi. Kuchsiz kislotali reaksiya beradigan siydikni qaynatganda kalsiy va magniyning fosfatli va karbonatli tuzlari cho‘kmaga tushadi.

Oqsil cho‘kmasini fosfatli va karbonatli cho‘kmalardan ajratish uchun probirkaga 1–2 tomchi 10% li sirka kislotasi eritmasidan qo‘shib, yana qaynatiladi. Agar cho‘kma tuzlardan hosil bo‘lgan bo‘lsa, erib ketadi, oqsil cho‘kmasi bo‘lsa, erimaydi.

### **B.**

**Kislotali muhitda osh tuzi to‘yingan eritmasi ishtirokida qaynatib aniqlash**

#### **Tekshiriluvchi material:**

1. Filtrlangan, oqsili bor siydik.
2. Filtrlangan, normal siydik.

#### **Reaktivlar:**

1. Natriy xloridning to‘yingan eritmasi.
2. 10% li sirka kislotasining eritmasi.

### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

### **Ishni bajarilishi**

20 tomchi siydikka 5 tomchi natriy xloridning to‘yingan eritmasidan, 1–2 tomchi 10% li sirka kislotasi eritmasidan qo‘shib, qaynatiladi. Oqsil bor bo‘lsa, oq cho‘kma parchalari yoki loyqa hosil bo‘ladi.



## **D.**

### **Geller bo'yicha aniqlash**

#### **Tekshiriluvchi material:**

1. Filtrlangan oqsilli siydik.
2. Filtrlangan normal siydik.

**Reaktivlar:** Konsentrlangan nitrat kislotasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. Pipetkalar.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 20 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi olinib (pipetka bilan so'rib olish mumkin emas!), ustiga probirka devori bo'ylab pipetkada ehtiyotlik bilan siydik qo'shiladi. Nitrat kislotasining zichligi yuqori bo'lganligi uchun siydik kislotasi ustiga qo'shiladi (teskarisi emas!). Siydikda oqsil bo'lsa, ikkita suyuqlik chegarasida oq amorf cho'kma yoki oq halqasimon loyqa hosil bo'ladi. Agar siydikda oqsil miqdori oz bo'lsa, halqa darrov ko'rinmay 2–4 daqiqadan keyin ko'rinadi.

2. Agar siydikda oqsil bo'lmasa, nitrat kislotasi ta'sirida siydik pigmentlari yoki o't pigmentlari o'zgarishi tufayli ikki suyuqlik chegarasida tiniq rangli halqa paydo bo'ladi.

3. Loyqa halqa chegarasidan yuqorisida paydo bo'lishi mumkin. Bu nordon siydik tuzlarini (agar siydikda siydik kislotasi tuzlari ko'p miqdorda bo'lsa) cho'kmaga tushishiga yoki siydikdagi musinga bog'liq.

4. Agar siydik konsentrlangan bo'lib, tarkibida mochevina miqdori ko'p bo'lsa, ikki suyuqlik chegarasida nitrat kislotasini yomon eriydigan mochevinali cho'kmasi hosil bo'lishi mumkin: bu vaqtda siydikni avval suyultirib, so'ngra reaksiyani qayta o'tkazilsa, mochevina halqasi paydo bo'lmaydi.

5. Geller probasida loyqalangan halqani oqsillardan tashqari smolaga boy bo'lgan dorilar iste'mol qilinganda ham kuzatish mumkin. Oqsillarning smolali kislotalardan farq qilish uchun smolali kislotalarni cho'ktirmaydigan sulfosalitsil kislotasidan foydalaniladi. Konsentrlangan nitrat kislotasi bilan aniqlash yuqori sezuvchanlikka ega bo'lib, oqsilni 0,033 g/oqsil gacha aniqlaydi.

E.

### **Sulfosalitsil kislotasi bilan aniqlash**

#### **Tekshiriluvchi material:**

1. Oqsilli filtrlangan siydik.
2. Normal filtrlangan siydik.

**Reaktivlar:** 20% li sulfosalitsil kislota eritmasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. 5 ml li darajalangan pipetka.

#### **Ishni bajarilishi**

Ikkita probirkaga 3–4 ml dan filtrlangan siydik quyiladi. Tajriba probirkasiga 6–8 tomchi 20% li sulfosalitsil kislotasi eritmasidan qo'shilganda oqsil saqlagan siydik loyqalanadi, bu ijobiy reaksiya. Ikkinchi probirka nazorat probirkasidir. Natijalar qora fonda o'qiladi.

**Eslatma.** Siydik nordon reaksiyali bo'lishi kerak. Ishqor reaksiyali siydik 2–3 tomchi 5–10% li sirka kislotasi eritmasi bilan kislotali muhitga o'tkaziladi.

Siydikdagi oqsilning sulfosalitsil kislotasi bilan aniqlash eng sezgir aniqlash usullaridan hisoblanib, uni qo'llab, siydik tarkibida 0,015 g/l gacha bo'lgan oqsil miqdorini aniqlash mumkin. Ammo ushbu proba ba'zi dori moddalari (penitsillin unumlari) bilan soxta ijobiy natija beradi.

**Ishni rasmiylashtirishda siydikdagi oqsilga olingan sifat reak-**

siyalari natijalari jadval ko‘rinishida keltirilib, xulosada protein-uriani kelib chiqish sabablari to‘g‘risida ko‘rsatma beriladi.

### **13.2.4. Siydikdagi oqsil miqdorini Brandberg–Roberts–Stolnikova usulida aniqlash**

Usul asosida oqsilni nitrat kislotasi bilan sifat reaksiyasi berishi yotadi (13.2.3 bo‘limning B qismiga qarang). Eksperimentda aniqlanishicha, agar nitrat kislotasi qatlami siydik qatlami bilan o‘zaro reaksiyaga kirishib, 2-daqiqa bilan 3-daqiqa oralig‘ida oqsil halqasi hosil bo‘lsa, u vaqtda ushbu siydikda 0,033 ‰ (promille), ya‘ni 1000 ml da 0,033 mg oqsil saqlanadi.

**Tekshiriluvchi material:** siydik.

#### **Reaktivlar:**

50% li nitrat kislotasi eritmasi yoki Larionova reaktivi – tarkibida nitrat kislotasidan tashqari osh tuzi ham bor (tayyorlanishi 71- ilovada).

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. 1 va 10 ml hajmdagi darajalangan pipetkalar.
3. Qum soati.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 1 ml 50% li nitrat kislotasi eritmasi yoki Larionova reaktivi olinib, ustiga probirka devori bo‘ylab, ehtiyotlik bilan shuncha miqdorda siydik quyiladi. Ikkala suyuqlik chegarasida 2- va 3-daqiqalar oralig‘ida qora fonda qaraganda yupqa oqsil halqasi paydo bo‘lishi siydikda 0,033 g/l oqsil borligini ko‘rsatadi.

2. Agar halqa suyuqliklar quyilganidan keyin ikki daqiqadan ertaroq paydo bo‘lsa, siydik suyultiriladi va tajribaning 1-qismi qaytadan o‘tkaziladi. Bunda siydikni suyultirish darajasi shunday

bo'lishi kerakki, reaktivlar qo'shilganda halqa 2- va 3-daqiqalar oralig'ida ko'rinsin.

3. Siydikni suyultirish darajasi halqaning ko'rinishiga, ya'ni uning kengligi, jipsligi va paydo bo'lish vaqtiga qarab tanlanadi. Agar halqa ipsimon shaklda bo'lsa, siydikni ikki marta suyultirish kerak, halqa keng ko'rinishda bo'lsa, 4 marta va jipslashgan holatida esa 8 marta suyultiriladi.

4. Oqsil miqdorini hisoblashda 0,033 g/l ni suyultirish darajasiga ko'paytiriladi.

Siydikni suyultirish darajasi asosida oqsil miqdorini hisoblash 42-jadvalda ko'rsatilgan.

42-jadval

**Hisoblash jadvali**

Siydik miqdori, ml	Suv miqdori, ml	Suyultirish darajasi	Oqsil miqdori, %
1	1	2	0,066
1	2	3	0,099
1	3	4	0,132
1	4	5	0,165
1	5	6	0,198
1	6	7	0,231
1	7	8	0,264
1	8	9	0,297
1	9	10	0,33
1			

**Xulosada tekshirilayotgan siydikdagi oqsil miqdorini aniqlab, olingan natijani norma bilan taqqoslanadi.**

### 13.2.5. Siydikdagi oqsil va pH ni indikator qog‘ozi yordamida yarim miqdoriy aniqlash

“Bioksan” yoki “Albufan” ko‘ndalang chizikli tasma ko‘rishidagi indikator qog‘ozlari siydikdagi oqsil miqdorini ekspress tahlilida ishlatiladi. Tasmaning sariq pastki qismi buferli indikator (odatda, tetrabromfenol ko‘ki) bo‘lib, oqsilni aniqlaydi. Tasmaning yuqoridagi sariq qismi bufersiz indikator tutib, pH ni aniqlashda ishlatiladi.

Indikator oqsilning aminoguruhi bilan reaksiyaga kirishib, doimiy pH da rangini o‘zgartiradi. Agarda indikatorning pastki qismidagi sariq rang o‘zgarib, siydikda oqsil yo‘qligini bildiradi. Agar u sariq-yashil rang bersa, nihoyatda oz oqsil qoldig‘i bor, yashil rang esa oqsilga kuchsiz ijobiy reaksiya, bordiyu yashil-ko‘k rang kuzatilsa, bu siydikda oqsil miqdorining ko‘pligini belgisi. Klinika uchun oqsilni izi ham e‘tiborga loyiq.

Siydikda to‘rtlamchi ammoniy birikmalari bo‘lganda siydik ishqoriy reaksiyaga ega bo‘lib, soxta ijobiy reaksiya berishi mumkin. Shuning uchun yuqori indikator bo‘yicha pH ni nazorat qilish lozim.

Indikator qog‘ozini quruq, qorong‘i joyda saqlab, reaktiv shimdirilgan indikator tasmalariga qo‘l tekkizish tavsiya etilmaydi.

#### **Tekshiriluvchi material:**

1. Tarkibida oqsil bor siydik.
2. Tarkibida oqsil yo‘q siydik.

**Reaktivlar:** Indikator qog‘ozi komplekti.

#### **Jihozlar:**

1. Siydik uchun stakan.
2. Plastmassali yoki oq chinni taxtacha.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Stakanga oz miqdorda tekshirilayotgan siydik quyiladi.
2. Tekshirilayotgan siydikka indikator qog‘ozi tushirilib, yuqori va past indikatorlar butunlay ho‘llanadi.

3. Qog'ozni siydikdan tezlikda olib, ho'llangan oxiri bilan taxtachaga qo'yiladi va yuqori hamda pastki indikatorlar rangini indikator qog'ozidagi rangli shkala bilan taqqoslanadi.

4. Indikatorlar rangini shkala rangi bilan mos kelishiga qarab, siydikdagi oqsil miqdori va uning pH i aniqlanadi.

Ishni rasmiylashtirishda indikator qog'ozni tasmasini solishtirish asosida topilgan rang bo'yicha siydikda oqsil bor yoki yo'qligi va pH i to'g'risida xulosa chiqariladi.

### Nazorat savollari

1. *Siydikning umumiy xossalari qanday? Siydikning muhim tarkibiy qismlarini sanab bering.*
2. *Siydikda mochevinani miqdoriy aniqlashni qaysi usullarini bilasiz?*
3. *Hayvon organizmida mochevina qanday qilib sintezlanadi?*
4. *Siydik kislotasining xossalari qanday? Siydik kislotasini siydikda borligini va miqdorini qanday aniqlash mumkin?*
5. *Patologiya sharoitida siydikda qanaqa moddalar paydo bo'ladi?*
6. *Siydikda umumiy azot qanday aniqlanadi?*
7. *Oqsil miqdorini siydikda qanday aniqlash mumkin?*
8. *Siydikdagi qand va atseton tanachalarini qaysi reaksiyalar yordamida hamda usullar ishtirokida aniqlash mumkin?*
9. *Siydikning patologik qismlarini aniqlashni qanday klinik ahamiyati bor?*
10. *Siydikda oqsilni ekspress aniqlashdan maqsad nima?*

### **13.3. Siydikdagi qon pigmentlariga sifat reaksiyalari**

Gematuriya va gemoglobinuriya o‘zaro bir-biridan farqlanadi. **Gematuriya** – siydikda qon shaklli elementlarini paydo bo‘lishi bo‘lib, uni siydik cho‘kmalarini mikroskopda tekshirilganda aniqlanadi. Gematuriya sharoitida siydik ko‘rinishi to‘q qizil yoki qo‘ng‘ir-qizil rangda bo‘ladi.

**Gemoglobinuriya** – qon tomirida gemoliz natijasida (gemolitik zahar ta‘sirida, ba‘zi yuqumli kasalliklarda va boshqalar) siydikda erkin gemoglobinni paydo bo‘lishi. Gemoglobinni buyrak orqali ajratilishidan avval organizmda gemoglobinemiya holati, ya‘ni qon pigmentlarini eritrotsitlardan qon plazmasiga o‘tishi kuzatiladi.

Gemoglobinni siydikda paydo bo‘lishi – gemoglobinemiya holatida buyrakni gemoglobinga “o‘tkazuvchanlik bo‘sag‘asi” oshgandagina kuzatish mumkin. Gemoglobinuriyada siydik to‘q qizil rangga kirib, cho‘kmasida eritrotsitlar uchramaydi.

Ba‘zi bir patologik holatlarda gemoglobin siydikdan metgemoglobin, sulfogemoglobin unumlari ko‘rinishida ajratilishi mumkin. Mushakni katta hajmda va og‘ir shikastlanishida siydik bilan mioglobin ajralishi kuzatiladi. Gematuriya va gemoglobinuriya holatlarining ikkalasida ham siydikdagi qon pigmentlari kimyoviy reaksiyalar orqali ochiladi, bir vaqtning o‘zida siydik oqsili ham aniqlanadi, chunki qon pigmentlari – murakkab oqsillardir.

#### **13.3.1. Siydikdagi qon pigmentlarini ishqor bilan qaynatib aniqlash (Geller probasi)**

Usul xromoproteinli qon pigmentlarini ishqor bilan qaynatib, gidrolizlaganda qo‘ng‘ir rangli gematin ajralib chiqishiga asoslangan. Gematin esa siydikning qaytaruvchi moddalari ta‘sirida qizil rangli – gemoxromogenga aylanadi. Ishqoriy muhitda siydik-

ning yer metallari fosfatli cho‘kmasi gematin va gemoxromogen bilan birikib, qo‘ng‘ir yoki qizil rangli birikma beradi.

**Tekshiriluvchi material:**

1. Qon pigmentlari bo‘lgan siydik.
2. Normadagi siydik.

**Reaktivlar:**

1. 10% li natriy gidroksid eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.

**Ishni bajarilishi**

1. 20–30 tomchi filtrlanmagan siydikka ishqoriy muhitga o‘t-guncha tomchilab 10% li natriy gidroksid eritmasidan tomizilgan-da kalsiy va magniy fosfatni parchasimon oq cho‘kmasi cho‘kadi.

2. Probirka tarkibi sovuguncha ushlab turiladi. Probirka tagi-dagi fosfat cho‘kmasida qon pigmentlari bo‘lgan taqdirda cho‘kma qo‘ng‘ir (gematin) yoki qizil (gemoxromogen) rang oladi. Nor-madagi siydikda fosfat cho‘kmasi oq yoki xira oq rangga ega.

3. Siydikda glukoza bo‘lganda ushbu reaksiya natijasiga isho-nib bo‘lmaydi, chunki glukoza ishqoriy muhitda qizdirilganida hosil bo‘lgan unumlari qo‘ng‘ir cho‘kma berishi mumkin.

### **13.3.2. Siydikdagi qon pigmentlarini gvayakol yordamida aniqlash**

Usul qon pigmentlarining peroksidazali ta’siriga asoslangan. Qon pigmentlari peroksidaza fermentlari kabi ba’zi organik birikmalardan (gvayakol smolasidan, benzidindan, amidopirindan va boshqalar) vodorodni tortib olib, uni vodorod peroksidiga beradi va oksidlangan rangli birikmalar hosil qilishda qatnashadi.

Peroksidaza fermentidan farqli o‘laroq, qon pigmentlari qay-natganda o‘zlarining peroksidazali xususiyatini saqlab qoladi. Mazkur reaksiyada gvayakol kislotasi oksidlanuvchi modda sifatida



qon pigmentlari ta'sirida vodorod peroksidi ishtirokida gvayakol kislotasining ko'k rangli ozonidiga oksidlanadi.

**Tekshiriluvchi material:**

1. Qon pigmentlari saqlagan siydik.
2. Normadagi siydik.

**Reaktivlar:**

1. Sirka kislotasining 2% li eritmasi.
2. Gvayakol kislotasining yangi tayyorlangan spirtli eritmasi (tayyorlanishi 8-ilovada).
3. Vodorod peroksidning 3% li eritmasi.

**Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. Lakmusli qog'oz.

**Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 20 tomchi yangi ajratilgan, filtrlanmagan siydik olib, lakmus bo'yicha reaksiyasi tekshiriladi. Agar siydik ishqoriy bo'lsa, uni sirka kislotasining 2% li eritmasi bilan kuchsiz kislotali reaksiyaga o'tkaziladi, so'ngra peroksidazani parchalash uchun qaynatiladi, chunki u siydikka yiring (leykotsitlar tarkibida) bilan tushishi mumkin. Qaynatishdan maqsad yiringli siydik qonga soxta ijobiy reaksiya berishi mumkin.

2. Siydik xona haroratigacha sovutilib, 10 tomchi gvayakol smolasi, bir necha tomchi 3% li vodorod peroksidi eritmasi qo'shiladi va 2-3 daqiqaga qoldiriladi.

3. Agar qon pigmentlari bo'lsa, ko'k yoki ko'kimtir yashil rang paydo bo'lishi namunada gvayakol kislotasining ozonidi hosil bo'lganligini ko'rsatadi.

4. Siydik turib qolganda gemoglobin metgemoglobinga aylanib, o'zining peroksidazali xossasini yo'qotadi. Shu sababdan qon pigmentlari tekshirilayotgan siydik yangi bo'lishi kerak.

5. Ishni rasmiylashtirishda qon pigmentlarining siydikdagi sifat reaksiyalari natijalari 43-jadvalda keltirilgan.

### Siydikdagi qon pigmentlariga sifat reaksiyalar

Aniqlanayotgan modda	Qaysi reaksiya bilan ochiladi?	Qo'llanilayotgan reaktivlar	Kuzatish natijalari	
			Patologik siydik	Normadagi siydik

Xulosada qon pigmentlari ochish reaksiyasi ularning qaysi xususiyatlariga asoslanganligi va gematuriya bilan gemoglobinuriya o'rtasida qanday farq borligi ko'rsatiladi.

#### 13.4. Siydikdagi o't pigmentlariga sifat reaksiyalar

Bilirubin normal siydikda nihoyatda oz miqdorda bo'lsa ham uni odatdagi qo'llaniladigan usullar bilan aniqlab bo'lmaydi. Ayrim sariq kasalliklaridagi giperbilirubinemiya vaziyatlarida bilirubinni siydik bilan ajralishi (bilirubinuriya) ortadi. Bu vaqtda bilirubinga oddiy sifat reaksiyalari ijobiy bo'lishi mumkin.

Bilirubinuriya asosan o'tni jigardan ichakka tushishiga mexanik to'siqlar qarshilik ko'rsatganda (mexanik sariqlik) yoki jigar parenximasi shikastlanganda (parenximatozli sariqlik, masalan Botkin kasalligi va boshqalar) uchratiladi. Bu vaqtda siydikka faqat bog'langan (to'g'ri) bilirubin (bilirubinning mono- va diglukuronidlari) o'tadi.

Bog'lanmagan (erkin, bilvotsita) bilirubin gemolitik sariqliklarda siydikda uchramaydi, chunki u qon oqsillari bilan bog'langani uchun, odatda, buyrak filtrlaridan o'ta olmaydi.

O't pigmentlari siydikni sariq-ko'kimgir yoki to'q qo'ng'ir rangda bo'lishiga sababdir. Sarg'ish siydikning ko'pigi sariq rangda bo'lganligi kasallikni aniqlashga yordam beradi.

O't pigmentlariga o'tkaziladigan reaksiyalar asosida bilirubinning oksidlangan boshqa rangli unumlarini – biliverdin (yashil), bilisyanin (ko'k), xoletelin (sariq) va boshqalarni ham aniqlash mumkin. Ular ichida biliverdin eng kam oksidlangan bo'lsa, xoletelin – eng ko'p oksidlanganidir. Yon zanjirida ikkita karboksil guruhi borligi bilirubinning kislotali xossasini va uni tuz hosil qila olish imkoniyatini belgilaydi.

Ishqoriy metall tuzlari eruvchan, ishqoriy yer metall tuzlari esa erimaydi. Bilirubinni aniqlashni ba'zi usullarida (Fushe, Guppert–Salkovskiy reaktivi bilan) uni avvalo bariyli yoki kaliyli tuzi shaklida cho'ktiriladi, so'ngra uni erkin holatiga o'tkazib, oksidlangan rangli unumlari bo'yicha aniqlanadi.

### **13.4.1. Siydikdagi o't pigmentlarini konsentrlangan nitrat kislotasi bilan aniqlash (Gmelin probasi)**

Reaksiya siydikdagi bilirubinning nitrat kislotasi ta'sirida oksidlanib, har xil rangdagi azotli aralashmasining oksidlangan unumlari hosil bo'lishiga asoslangan.

#### **Tekshiriluvchi material:**

1. O't pigmentlari saqlagan siydik.
2. Normadagi siydik.

**Reaktivlar:** Konsentrlangan nitrat kislotasi.

#### **Jihozlar:**

1. Probirkali shtativ.
2. Tomizgichlar.
3. Pipetkalar.

## **Ishni bajarilishi**

1. Probirkaga 20 tomchi konsentrlangan nitrat kislotasi tomchisi olinib, ustiga ehtiyotlik bilan ikkala suyuqlikni aralastirmasdan probirka devori bo‘ylab pipetkada siydik tomiziladi.

2. Siydikda o‘t pigmentlari bo‘lsa, ikkala suyuqlik chegarasida ketma-ket har xil darajada oksidlangan yashil, ko‘k, binafsha, qizil va sariq rangli bilirubin paydo bo‘ladi.

3. Nitrat kislotasidan eng uzoqda joylashgan yashil halqa – biliverdin (eng kam oksidlangan unum), azot kislotasiga eng yaqini – xoletelin sariq halqasi (eng ko‘p oksidlangan unum).

4. Probirka ma‘lum vaqt turganda hamma halqalar sariq halqagacha oksidlanadi. Yuqoridagi yashil halqani va u bilan bir vaqtning o‘zida ko‘k yoki binafsha halqalarini hosil bo‘lishi o‘t pigmentlariga xos.

5. Siydikda ko‘k yoki binafsha ranglarsiz faqatgina bitta yashil halqani paydo bo‘lishi o‘t pigmentlaridan tashqari aspirin qabul qilinganida ham kuzatilishi mumkin.

Ishni rasmiylashtirishda siydikdagi o‘t pigmentlariga sifat reaksiyalari natijasini avvalgi keltirilgan jadvalga yoziladi. Bilirubiniyani kelib chiqish sabablari o‘t pigmentlarining qaysi xususiyatiga bog‘liqligi ko‘rsatiladi.

## **Nazorat savollari**

- 1. Gematuriya va gemoglobinuriya o‘zaro qaysi sifatlari bilan farqlanadi? Gematuriyada siydik rangi qanday?*
- 2. Gemoglobinuriyani keltirib chiqaruvchi sabablarini ko‘rsating va u qaysi reaksiyalar orqali ochiladi?*
- 3. Siydikda qon pigmentlarini ishqor bilan qaynatib aniqlash usuli nimaga asoslangan?*

4. *Qon pigmentlarini siydikda g'vayakol yordamida aniqlashda peroksidaza fermentining ishtiroki nimadan iborat?*
5. *Siydikdagi qon pigmentlarini ochish reaksiyasi ularning qaysi xususiyatiga asoslangan?*
6. *Siydikdagi o't pigmentlariga qanday sifat reaksiyalar bor? Bilirubinuriya qaysi vaziyatlarda kuzatiladi?*
7. *Erkin bilirubin, bilvotsita bilirubin deb atalishiga sabab nima? Nima uchun gemolitik sariqlikda bilvotsita bilirubin siydikda uchramaydi?*
8. *Yuqumli hepatitda (Botkin kasalligi) o't pigmentlari siydikka to'q qo'ng'ir rang berishi kasallikni aniqlashga yordam beradi. Rangning o'zgarishi qaysi biokimyoviy jarayonga asoslangan?*

## 14-bo'lim

### Ksenobiotiklar metabolizmi va ta'sir mexanizmi

Har qanday dori moddasi organizm kimyoviy jarayonlariga ta'sir etib, fermentlar faolligini o'zgartiradi, bu esa dori moddasining ta'sir samarasini baholash va asoslab berishda, turli patologik holatlardagi nojo'ya yoki aks ta'sirini tushuntirishda muhim ahamiyatga ega. Dori moddalari organizmga nisbatan yot (begona-ksenobiotiklar) va tabiiy bo'lgan (autobiogen) moddalarga bo'linadi. Tabiiy moddalar organizmda doimo mavjud bo'lganligi sababli undagi biokimyoviy jarayonlarda bevotsita ishtirok etadi.

Ksenobiotiklar, odatda, organizmda uchramaydigan yoki juda kam miqdorda bo'lgan moddalar bo'lib, sintetik yo'l bilan yoki boshqa organizmlardan olingan birikmalardir.

Organizmda dori moddalari qon tarkibidagi har xil biologik birikmalar bilan bog'langan yoki erkin holda tarqalishi mumkin. Erkin holdagi dori votsitalarini to'qimalarga kirishi oson kechadi. Qon oqsillari bilan bog'langanlari esa qonda uzoq vaqt saqlanib, ta'sir qilish muddati ham davomliroq bo'ladi.

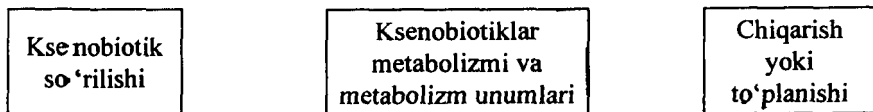
Dori moddalarining qondagi konsentratsiyasi doimo o'zgarib turadi. Uning miqdori qondan to'qima shirasiga o'tishi, buyraklarda filtrlanishi, o't suyuqligi, ter, ko'krak suti, nafas chiqarish yo'li bilan ajralishi natijasida kamayib borsa, ichakdan qayta so'rilishi, buyrakda reabsorbsiyalanishi oqibatida ortib boradi.

Organizmda dori moddasining kimyoviy tuzilishini o'zgarishiga metabolizm yoki biotransformatsiya deb ataladi. Metabolizm natijasida dori molekulari zaryadini o'zgarishi ularning far-

makoligik xossalarini o'zgarishiga sabab bo'ladi va organizmdan chiqib ketishini tezlashtiradi.

Organizmda ksenobiotiklar tabiiy bo'lmagan jarayonlar orqali o'zgaradi. Biotransformatsiya davomida dori moddalarining faolligi ortishi, kamayishi yoki o'zgarmasligi mumkin. Ksenobiotiklar metabolizimi asosan hujayralar endoplazmatik retikulumi (EPR) dagi fermentlar tizimi yordamida amalga oshiriladi.

Ksenobiotiklar metabolizmini quyidagacha ifodalash mumkin:



Ksenobiotiklar metabolizmi yoki metabolitlarining biologik suyuqliklardagi miqdori ular metabolizmida ishtirok etuvchi fermentlar faolligi va kinetikasini aniqlash orqali o'rganiladi. Ksenobiotiklar metabolizmi ikki bosqichda kechadi: modifikatsiya (nosintetik) va konyugatsiya (sintetik). Modifikatsiya bosqichida dori moddasining kimyoviy tuzilishida o'zgarish sodir bo'lmaydi, lekin unga qo'shimcha funksional guruhlar kiritilishi yoki ajralib chiqishi mumkin.

Bu bosqichda moddaning eruvchanligi ortadi. Konyugatsiya bosqichida esa hosil bo'lgan funksional guruhlar fermentlar ishtirokida organizmdagi biomolekulalar bilan bog'lanadi.

Bunda bir qismi ksenobiotik ikkinchi qismi organizm molekulasidan iborat bo'lgan biomolekula hosil bo'ladi. Agar ksenobiotik molekulasida funksional guruhlar bo'lmasa, bu modda konyugatsiyaga uchramaydi, yoki avvaldan funksional guruh bo'lgan bo'lsa, modifikatsiyaga uchramasdan to'g'ridan-to'g'ri konyugatsiyalanishi mumkin.

Ksenobiotiklarning kimyoviy tuzilishi va ularning fermentlar ta'sirida kechadigan o'zgarishlari asoslarini bilgan

holda dori moddalarining organizmdagi taqdirini avvaldan aytish mumkin.

Dori moddalarini organizmning qaysi qismida metabolizmga uchrashiga qarab ichak, to‘qimadan tashqari, hujayra metabolizmlariga ajratiladi.

Ichak metabolizmi oshqozon-ichak yo‘llaridagi gidrolitik fermentlar yordamida amalga oshiriladi. To‘qimadan tashqari yoki gumoral metabolizm to‘qimalararo suyuqlik, qon, plazma, limfa, orqa miya suyuqligida proteinaza, psevdoxolinesteraza, fosfataza kabi gidrolitik fermentlar yordamida kechadi.

To‘qima yoki hujayra metabolizmi hujayraning turli tarkibiy qismlarida, ko‘pincha endoplazmatik retikulumida (EPR — hujayra ichi to‘ri) amalga oshadi. Endoplazmatik retikulum membranasida ksenobiotiklarni metabolizmi uchun kerakli bo‘lgan barcha fermentlar mavjudligi aniqlangan.

Organizmda ksenobiotiklar asosan jigar endoplazmatik retikulumida metabolizmga uchraydi. To‘qimalarni gomogenizatsiyalaganda EPR membranalari bo‘lakchalari birlashib, pufakchalar shaklini oladi va u mikrosoma deb nomlanadi.

Ksenobiotiklar metabolizmi hujayraning qaysi tarkibiy qismlarida kechishiga qarab, mikrosomal va nomikrosomal metabolizmga ajratiladi. Nomikrosomal metabolizm gialoplazma, lizosomalar, peroksisomalar, mitoxondriyalarda borishi mumkin.

### **14.1. Ksenobiotiklar metabolizmida jigar endoplazmatik retikulumining vazifasi**

Mazkur qismni o‘rganishda quyidagi bosqichlarni amalda bajarish talab qilinadi:

1. Mikrosomal fraksiya shaklida endoplazmatik retikulum (EPR) membranasini ajratish uslubini bilish.
2. Mikrosomali gidroksillovchi fermentlarni o‘rganish. Sitoxrom P<sub>450</sub> ni spektrofotometrik uslubda aniqlash.



3. Sitoxrom P<sub>450</sub> miqdorini dori moddalari ta'sirida o'zgarishini kuzatish.

Ksenobiotiklar organizmda bir necha fizologik to'siqlardan o'tib, metabolik o'zgarishlarga uchraydi. Natijada ularning biologik faolligi pasayadi yoki butunlay yo'qoladi, gohida esa, aksincha, faolligi ortishi mumkin. Dori moddalarining biotransformatsiyasida qatnashuvchi asosiy organ – jigar va undagi endoplazmatik retikulum fermentlari ekanligi aniqlangan.

Odam va hayvon organizmida ksenobiotiklar metabolizmini katalizlovchi fermentlar ichida jigar mikrosomi gidroksillovchi kompleks markaziy o'rinni tutadi. Oksidlanish reaksiyasi davomida farmakologik preparat strukturasi gidroksil guruhini kirishi natijasida dori moddasining qutblanishi (eruvchanligi) ortadi va uni buyrak orqali chiqib ketishi yengillashadi.

Mikrosomal gidroksillanish sistemasi kamida ikkita katalitik qismdan iborat: sitoxrom P<sub>450</sub> va flavoproteid. Flavoproteid NADPH<sub>2</sub> ishtirokida sitoxrom P<sub>450</sub> qaytaradi, shu sababli uni NADPH-sitoxrom P<sub>450</sub> reduktaza deb ataladi. Sitoxrom P<sub>450</sub> gemproteid bo'lib, substrat bilan bog'langanda ularning elektron strukturasi o'zgaradi.

Sitoxrom P<sub>450</sub> molekular kislorodni faollashtirishda ham katta aqamiyatga ega.

Ko'pchilik dori preparatlari ta'sirining davomiyligi va kuchi ularning jigar EPR-da metabolizmga uchrash tezligiga bog'liq. Metabolizmga uchratuvchi fermentlar faolligi esa, o'z navbatida, diyetaga, gormonal foni o'zgarishiga, farmakologik faol dorilar ta'siriga bog'liq.

Haqiqatan ham bir xil dorilar fermentlar faolligini orttiradi, bu esa fermentativ oqsillar sintezini ortishi bilan tushuntiriladi va "fermentativ induksiya" deb ataladi. Bunga o'xshash ksenobiotiklar soni yuzdan ortiq bo'lib, bular ichida eng mukammal o'rganilgani sitoxrom P<sub>450</sub> induktori fenobarbital natriy hisoblanib, dorilar

metabolizmining asosiy yo‘llarini induksiyalaydi (aromatik gidrosillanish, O va N dealkillanish).

Demak, jigar mikrosomalari dori moddalarining metabolizmga uchratibgina qolmay, bir vaqtning o‘zida ksenobiotiklarni metabolizmida qatnashuvchi fermentlar faolligini ham o‘zgartirar ekan. Bular ichida jigar EPRning monoooksigenazli fermentativ sistemasi dorilarning oksidlanish reaksiyasida alohida o‘rin tutadi.

Mikrosomal zanjirida ikki xil oksidlanish reaksiyasi kechadi: tabiiy (autobiogen) va begona (ksenobiotik) birikmalar gidroksidlanish reaksiyasi va to‘yinmagan yog‘ kislotalarining peroksidli oksidlanish reaksiyasi.

Ksenobiotiklar metabolizmini o‘rganishning ikki xil yo‘li bor:

1) yuborilgan ksenobiotiklarning tarkibiy qismi va miqdorini biologik suyuqliklarda hamda ekstraktlarda aniqlash.

2) ksenobiotiklar metabolizmida qatnashuvchi fermentlar faolligini aniqlash va shu fermentlar ta‘sir kinetikasini har xil substratlarda o‘rganish.

Ko‘rsatilgan ikkala yo‘l eksperiment sharoitida qo‘llaniladi. Klinikada esa dori moddalarining metabolizmi, asosan, ularning miqdori va modda almashinuv unumlarining biologik suyuqliklarda aniqlash bilan o‘rganiladi.

### **14.1.1. Mikrosomal fraksiya va sitoxrom P<sub>450</sub> ni jigardan ajratib olish**

Endoplazmatik retikulum (EPR) membranalari mikrosoma fraksiyalari sifatida (to‘qimalarni gomogenizatsiya vaqtida EPR membranalari morfologik yopiq pufakchalarga aylanadi) preparativ differensial sentrifugallash uslubi bilan ajratiladi.

Mikrosomal sentrifugalash jarayonida juda ham sekinlik bilan cho‘kamaga tushuvchi subhujayra zarrasi (bo‘lagi) hisoblanadi.

Mikrosoma olish uchun gomogenat avvalo 15–20 daqiqa davomida 10000–12000g sentrifugalanadi. Bunda hujayraning parchalangan qismlari (yadro, mitoxondriya, lizosoma va peroksisoma, plazmatik membrananing katta bo‘laklari) cho‘kmaga tushadi. Cho‘kma usti suyuqligi (supernatant)ni yana 7800–10000 g 60–120 daqiqa davomida sentrifugalansa, membrana sitoplazmatik to‘ri (EPR) cho‘kmaga tushadi. Bu yo‘l bilan mikrosoma olish usuli katta tezlikdagi vakuimli sentrifugani talab qiladi.

Sitoxrom P<sub>450</sub> gemproteidini shu nom bilan atalishiga sabab uni qaytarilgan holatida CO bilan kompleks hosil qilishiga asoslangan bo‘lib, nurni maksimum yutishi 450 nm teng.

**Tekshiriluvchi material:** intakt kalamush jigari, 4 kun davomida har kuni qorin ichiga 80 mg/ml sitoxrom P<sub>450</sub> induktori fenobarbital yuborilgan kalamush jigari.

#### **Reaktivlar:**

1. 1,15 % KCl eritmasi.
2. Tarkibida 10 mM tris-HCl bo‘lgan 0,25 M saxaroza eritmasi pH-7,4 (tayyorlanishi 54-ildovada).
3. Kristall holdagi CaCl<sub>2</sub>.
4. Tarkibida 10 mM tris-HCl bo‘lgan 0,150 M KCl eritmasi, pH-7,4.

#### **Jihozlar:**

1. Kimyoviy probirkalar.
2. 50 ml hajmli silindr.
3. Pipetkalar.
4. Sentrifugalovchi probirkalar.
5. Gomogenizator.
6. Muzli hammom.
7. Sentrifuga K-24.
8. Spektrofotometr SF-20.

#### **Ishni bajarilishi**

1. Kalamushlar dekapitatsiya yo‘li bilan jonsizlantirilib, yurak

orqali pastki kovak venaga qo'yilgan kanyula yordamida jigarni qondan tozalash uchun sovutilgan KCl eritmasi yuboriladi.

2. Jigar maydalanib, tarkibida 10 mM tris bo'lgan 0,25 M saxaroza eritmasida 1:9 hajmda pH-7,4 gomogenizatsiyalanadi.

3. Jigarning 10 % li gomogenati 12000 aylanish tezligida 15 daqiqa davomida sentrifugalanib yadro, lizosomalar, peroksisomalari cho'ktiriladi.

4. Cho'kma tashlanadi, uning ustki suyuqligini o'lchab olib, aralastirilib turgan holatda kristallangan  $\text{CaCl}_2$  ni konsentratsiyasi 8 mM ga yetguncha qo'shiladi.

5. Aralashmani 16000 aylanish tezligida 15 daqiqa davomida sentrifugalay, mikrosomalar cho'kmasi olinadi.

6. Cho'kmaga 1 ml 1,15 % KCl eritmasi qo'shib, suyultiriladi va qayta 16000 aylanish tezligida 20 daqiqa davomida yuvilgan mikrosomalar cho'kmasi fraksiyasini olish uchun sentrifugalanadi.

7. Cho'kmani 1 ml 1,15 % li KCl eritmasida suyultiriladi. Barcha muolajalar  $0-4^\circ \text{C}$  haroratda olib boriladi.

8. Olingan mikrosomalar fraksiyasida dori moddalarini metabolizmini, fermentlar faolligini o'rganish mumkin.

### **14.1.2. Jigar mikrosomalari sitoxrom $\text{P}_{450}$ miqdorini spektrofotometrik usulda aniqlash**

Ksenobiotiklarning metabolizmida jigar mikrosomalari gidrosillovchi fermentlar kompleksining asosiy tarkibi sitoxrom  $\text{P}_{450}$  va flavoproteiddan iborat. Sitoxrom  $\text{P}_{450}$  gemproteid bo'lib, ksenobiotiklar bilan bog'lanadi va ularning elektron tuzilishini o'zgartiradi. Bundan tashqari, molekular kislorodni faollashtirishda muhim o'rin tutadi.

**Tekshiriluvchi material:** kalamushlar jigaridan tayyorlangan mikrosomalar fraksiyasi (14.1.1 ga qarang).

## Reaktivlar:

1. Ditionin.
2. CO gazi.

## Jihozlar:

1. Kimyoviy probirkalar.
2. 50 ml hajmli silindr.
3. Pipetkalar.
4. Sentrifugalovchi probirkalar.
5. Gomogenizator.
6. Muzli hammom.
7. Sentrifuga K-24.
8. Spektrofotometr SF-20.

## Ishni bajarilishi

1. Birinchi (14.1.1.) mashg'ulotda tayyorlangan mikrosomalar eritmasida oqsil miqdorini Louri usuli bo'yicha aniqlab, tarkibida 2 mg/ml oqsil bo'lgan suspenziya tayyorlanadi.

2. Sitoxrom P<sub>450</sub> miqdori Estabruk bo'yicha differensial spektroskopiya usulida ikki nurli yozib oluvchi spektrofotometrda aniqlanadi.

3. Ditionin bilan qaytarilgan mikrosomalar suspenziyasi CO bilan to'yintiriladi va undan differensial spektr yozib olinadi.

4. Sitoxrom P<sub>450</sub> miqdori molyar ekstinksiyasi koeffitsiyentini qo'llab,  $100 \times 10^3 \text{ m} - 1 \text{ sm} - 1 \text{ delta OP } 450-520 \text{ nm}$  da hisoblanadi.

## Hisoblash misoli:

$$\frac{0,18}{100 \cdot 10^3 \cdot 10^3} = 0,9 \cdot 10^{-9} \text{ (M sitoxrom P } 450/\text{mg oqsil).}$$

Bunda:

0,18 – delta OP (450–500);

$100 \times 10^3$  – sitoxroma P<sub>450</sub> molyar ekstinksiya koeffitsiyenti 2–mg/ml da oqsil miqdori

$10^3 - 11$  da oqsil miqdoriga nisbatan.

Ishni rasmiylashtirish 44-jadvalda ko'rsatilganidek bajariladi:

44-jadval

Tajriba	Sit P <sub>450</sub> ekstinksiyasi ko'rsatkichi	Sit P <sub>450</sub> oqsilga ko'ra hisoblangan miqdori	Hisoblash %
Kalamushlar jigari			
Nazorat			

### 14.1.3. Kalamushlarga sitoxrom P<sub>450</sub> ni induksiyalovchi fenobarbital natriy yuborib, ferment faolligini jigar mikrosomalari da aniqlash

Ksenobiotiklarning metabolizmi jigar endoplazmatik retikulumi fermentlar faolligiga, organizmning turli holatlariga, gormonal o'zgarishlarga bog'liq. Ba'zi ksenobiotiklar EPR dagi fermentlar faolligini oshirishi mumkin. Masalan, fenobarbital natriy sitoxrom P<sub>450</sub> sintezini kuchaytiradi va faolligini orttiradi.

**Tekshiriluvchi material:** intakt va fenobarbital natriy(FBN) yuborilgan kalamushlar jigari (14.1.1 ga qarang).

**Reaktiv va jihozlar** 14.1.1- va 14.1.2- laboratoriya ishlarida ko'rsatilganidagidek .

#### Ishni bajarilishi

Intakt va fenobarbital natriy yuborilgan kalamushlardan jigar mikrosomalari avvalgi mashg'ulotdagidek tayyorlanadi. Sitoxrom P<sub>450</sub> miqdorini 14.1.2 laboratoriya ishida yozilganidek, ikkala

kalamush jigarida aniqlanadi. Olingan natijalar 45-jadvalga yoziladi va taqqoslanadi.

45-jadval

**Sitoxrom P<sub>450</sub> miqdorini hisoblash:**

Variant	P ekstinksiya	Mg/ml	n mol/mg oqsil	%
Nazorat				
Intakt kalamush				
FBN yuborilgan kalamush				

**Nazorat savollari**

1. *Ksenobiotiklar metabolizmida ishtirok etuvchi fermentlar zanjirining hujayrada joylashishini ko'rsating.*
2. *Jigar endoplazmatik retikulumining tuzilishi, ferment tarkibi, ksenobiotiklar biotransformatsiyasidagi rolini tushuntirib bering.*
3. *Sitoxrom P<sub>450</sub> ning induksiya va ingibirlanishi, turli dori moddalarini biotransformatsion qo'shiluvchanligi haqida tushuncha bering.*
4. *Jigar mikrosomalarning gidroksillovchi kompleksi nima?*
5. *Gidroksillovchi fermentlar kompleksini molekular tuzilishi qanday?*
6. *Gidroksillovchi komplekslar reaksiyalariga nimalar kiradi?*
7. *Farmakopreparatlarni hujayra fermentlar sistemasi ta'sirida o'zgarish yo'llari: oksidlanish, qaytarilish, gidroliz farqini ko'rsating.*

8. *Ksenobiotiklarning endoplazmatik retikulumda oksidlanishini NADFH ga bog'liq reaksiyalari.*

A) *N-, S-, O- dealkillanish,*

B) *alifatik uglevodorodlarning gidroksillanishi,*

D) *aromatik uglevodorodlarning gidroksillanishi ahamiyatini ayting.*

#### **14.1.4. Mikrosomalarning nafas olish faolligini aniqlash**

Mikrosomalarni nafas olish jarayoni shu moddalarning kislorod bilan oksidlanishi natijasida suv hosil bo'lishidan iborat bo'lib, reaksiya davomida iste'mol qilingan kislorod yoki qaytarilgan NADF, NAD miqdorini aniqlash bilan o'lchanadi.

**Tekshiriluvchi material:** hayvonning yangi jigaridan tayyorlangan mikrosoma.

##### **Reaktivlar.**

1. Kaliy xloridning 1,15 % li eritmasi.
2. 0,1 m tris bufer eritmasi pH-7,4.
3. Kalsiy xloridining 0,04 m eritmasi.
4. NADF.H-yangi tayyorlangan 10 mM li eritmasi.
5. Yangi tayyorlangan NADH ni 1 mM eritmasi.

##### **Jihozlar:**

1. Kimyoviy probirkalar.
2. 25 ml li silindr.
3. 0,1; 1,5; 10 ml hajmdagi pipetkalar.
4. Sentrifuga probirkalari.
5. Gomogenizator.
6. Filtr qog'oz.
7. Sentrifuga SLR.
8. Apteka tarozisi.
9. Petri kosachasi.
10. Flyuoroskop.



## **Ishni bajarilishi**

### **A. Mikrosomal fraksiyani jigardan ajratib olish**

14.1.1 da ko'rsatilganidek, subhujayra qismlarini sentrifugalaganda ularning o'lchami va zichligiga qarab har xil cho'kish tezligiga asoslangan. Cho'ktirishda kalsiy xlorid qo'shiladi.

1. Yangi olingan hayvon jigari shpris yordamida kaliy xlorid eritmasi bilan qondan yuviladi, filtr qog'ozida quritilib, muzda saqlanayotgan Petri kosachasiga solinadi.

2. 3 g jigar to'qimasini qaychi bilan maydalab, 9 ml sovutilgan kaliy xlorid eritmasi qo'yilgan gomogenizator stakaniga solinadi va aylanishi tezligi daqiqasiga 1000 ga teng sharoitda maydalanadi.

3. Gomogenat ikkita sentrifuga probirkalariga qo'yilib, SLR da 10000 g davomida 0–4° C da 20 daqiqa sentifuga qilinadi.

4. Cho'kma usti suyuqligi boshqa sentrifugali probirkalaga qo'yilib, ustiga nisbati hajmi bo'yicha 1:5 bo'lgan kalsiy xlorid eritmasi qo'shiladi. Aralastirib, yana 15 daqiqa davomida 0–4° C da 3000 g sentrifugalanadi.

5. Cho'kma usti suyuqligi olib tashlanib, mikrosoma saqlovchi cho'kmaga 3 ml tris-bufer eritmasi qo'shiladi va suspenziya tayyorlanadi.

### **B. Jigar mikrosomalari nafas olish faolligini flyuorimetrik uslubda aniqlash**

Ushbu uslub mikrosoma preparatlari bilan oksidlanayotgan NADFH yoki NADH larning flyuoressensiya tezligining pasayishini kuzatishga asoslangan (1–3 ishlardagi uslubdan ham foydalanish mumkin).

#### **Ishni bajarilishi**

1. Ikkita probirkaga 2,8 ml tris-bufer qo'yiladi. So'ngra ularning bittasiga 0,1 ml tayyorlangan mikrosoma suspenziyasi, ikkinchisiga esa 0,1ml distillangan suv qo'shiladi (nazorat).

2. Ikkala probirka oldindan ulangan flyuoroskop shtatiylariga o'rnatilib, ularga 0,1 ml dan NADFH yoki NADH eritmasi

qo‘shiladi va tezlikda shisha tayoqcha bilan aralashtirilib, probirkalardagi flyuorensensiyani o‘zgarishi kuzatiladi.

Ishni rasmiylashtirishda flyuorensensiyani o‘zgarishi bo‘yicha mikrosomalarda nafas olish funksiyasi borligi ko‘rsatiladi.

Mikrosomalarni ajratish-ilmiy-tadqiqot tekshirishlarida ularning nafas olish va boshqa funksiyalarini har xil fizologik va patologik sharoitlarda, shular qatori dorilar hamda zaharli moddalar ta‘sirini o‘rganishda foydalaniladi.

#### **14.1.5. Jigar mikrosomalarda oksidlanishli N-demetillanishni Nash usuli bo‘yicha tekshirish**

Mazkur mashg‘ulotdan maqsad mikrosomalarda dorī moddalarining oksidlanishli N-demetillanish yo‘li bilan inaktivlanishini jigar monooksigenaza sistemasi ishtirokida o‘rganish.

Uslub mikrosomalarda amidopirinni oksidlanishli N-demetillanishi natijasida hosil bo‘lgan formaldegid miqdorini o‘lchashga asoslangan.

**Tekshiriluvchi material:** 14.1.4-laboratoriya ishida olingan jigar mikrosoma suspenziyasi.

##### **Reaktivlar:**

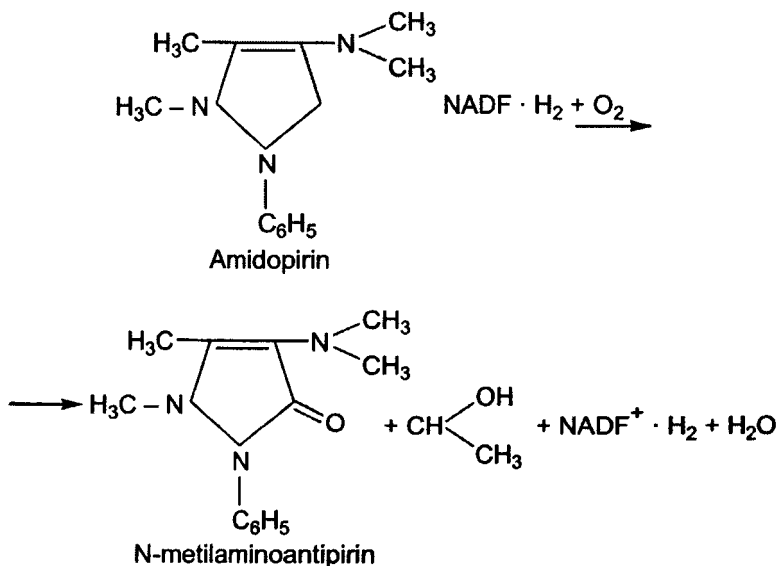
1. Natriy gidroksidning 3 % li eritmasi.
2. Biuret reaktivi (tayyorlanishi 55-ilovada).
3. Tris-bufer 0,1 m eritmasi pH-7,4 (tayyorlanishi 54-ilovada).
4. NADPH, yangi tayyorlangan 1 mM eritmasi.
5. Magniy xlorid, 2,5 mkM eritmasi.
6. Amidopirin 80 mM eritmasi.
7. Rux sulfat 2,5 % li eritmasi.
8. Bariy gidroksid to‘yingan eritmasi.
9. Nash reaktivi (tayyorlanishi 56-ilovada).

##### **Jihozlar:**

1. Probirkalar.

2. 0,1; 0,5 va 5 ml li pipetkalar.

3. Spektrofotometr.



Formaldegid Nash reaktivi bilan sariq rangli kompleks hosil qiladi.

### Ishni bajarilishi

1. Dastlab mikrosomal fraksiyalarda oqsil miqdori aniqlanadi. Buning uchun probirkaga 0,05 ml mikrosoma suspenziyasi olinib, ustiga 3,95 ml natriy gidroksid eritmasi va 0,2 ml biuret reaktivi qo‘shilib, yaxshilab aralashtiriladi.

2. 30 daqiqadan so‘ng tajriba namunasi nazoratga nisbatan (nazorat 4 ml NaOH eritmasi va 0,2 ml biuret reaktivi) SF da 330 nm, qalinligi 1 sm bo‘lgan kyuvetada o‘lchanadi.

3. Ekstinksiya ko‘rsatkichi 0,30–0,60 bo‘lganda 0,1 ml mikrosoma suspenziyasida oqsil miqdori 2–4 mg ga to‘g‘ri keladi. Agar ekstinksiya ko‘rsatkichi yuqori bo‘lsa, kerak bo‘lgan oqsil konsentratsiyasini olish uchun mikrosoma suspenziyasini tris-bufer bilan suyultirish lozim.

4. Tajriba va nazorat probirkalarga 0,4 ml dan tris-bufer eritmasi va magniy xlorid, 0,2 ml dan NADFH hamda 0,1ml mikrosoma suspenziyasi solinadi va aralashtiriladi.

5. Tajriba namunasiga 0,11 ml amidopirin eritmasi qo‘shiladi, nazorat probirkaga esa, oldin 0,25 ml dan rux sulfat va bariy gidroksid eritmalari, so‘ngra 0,11 ml amidopirin qo‘shiladi.

6. Ikkala probirka ichidagilari aralashtirilib, 20 daqiqa 37° C suv hammomiga qo‘yiladi va vaqti-vaqti bilan namunalari chayqatilib turiladi.

7. Inkubatsiya muddati tugagach, tajriba namunasiga 0,25 ml dan sink sulfat eritmasi va bariy gidroksid qo‘shilib, reaksiya to‘xtatiladi, yaxshilab aralashtirib, ikkala namuna 10 daqiqa davomida 3000 aylanish/daqiqa sentrifugirlanadi.

8. Ikkita yangi probirkaga 1ml cho‘kma usti suyuqligi olinadi va ular ustiga 2 ml dan Nash reaktivi qo‘shilib, 45 daqiqa. 37° C li suv hammomida saqlanadi.

9. So‘ngra tajriba namunasining ekstiniyasi nazoratga nisbatan qalinligi 1 sm bo‘lgan kyuvetada SF da 412 nm da o‘lchanadi.

10. Hisoblash quyidagi formula bo‘yicha o‘tkaziladi.

$$X = aV \cdot 1,71 \cdot 333/20 \cdot 0,1 \cdot 1000.$$

Bunda:  $X$  – amidopirinni N-demetilinish tezligi, mk mol/daqiqa. g jigar;

$a$  – kalibrlovchi grafikdan topilgan formaldegid miqdori nmol;

$V$  – mikrosoma suspenziyasining tris-buferdagi hajmi, ml;

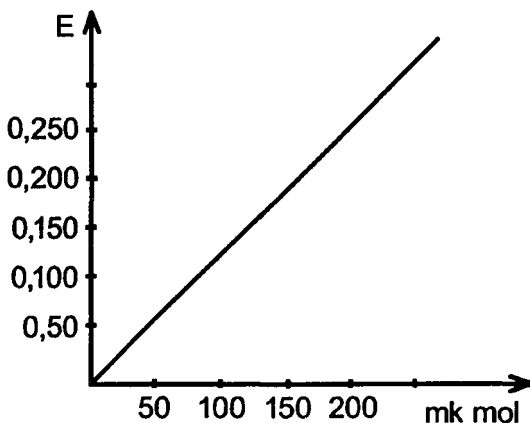
1,71 – inkubatsion aralashma hajmi, ml;

0,1 – tekshirishga olingan mikrosoma suspenziyasining hajmi, ml;

20 – daqiqa, inkubatsiya vaqti;

333 – 1 kg jigar to‘qimasi uchun qayta hisob koeffitsiyenti;

1000 – nmol ni mkmol ga o‘tkazish hisob koeffitsiyenti.



**11-rasm. Formaldegid miqdorini aniqlash uchun kalibrlash grafi.**

Ishni rasmiylashtirishda amidopirinning mikrosomal oksidlanish tezligini hisoblab, xulosada ushbu jarayonning ahamiyati ko'rsatiladi.

Ksenobiotiklarning mikrosomal monoooksigenaza zanjirida oksidlanishini tekshirish – bu jarayonni norma-patologiyada ahamiyatini bilish bilan birga har xil moddalarning organizmga ta'sir qilish yo'llarini o'rganishga, ularning metabolizmi, zaharliligi va ulardan hosil bo'lgan unumlarining organizmga ta'sirini bilish imkoniyatini yaratadi.

#### **14.1.6. Jigar mikrosomalarda ksenobiotiklar biotransformatsiyasining monoooksigenaza sistemasini o'rganish**

Oxirgi yillardagi toksikologik va biokimyoviy ishlarda ksenobiotiklarning jigar mikrosomal sistemasini metabolizmiga katta ahamiyat berilmoqda. Bu sistema asosan ikki qismdan iborat. NADPH ga bog'liq flavoproteid-sitoxrom P<sub>450</sub> reduktaza va sito-

xrom P<sub>450</sub> oraliq tashuvchi sifatida sitoxrom B<sub>5</sub> ham qatnashishi mumkin.

Lekin oksidlanish jarayonida asosiy rolni sitoxrom P<sub>450</sub> o'ynaydi. Uning faolligi lipofil tabiatli dorilarni va jigardagi ekzogen va endogen moddalarining metabolizmiga bog'liq. Hozirgacha sitoxrom P<sub>450</sub> ning bir necha izofermentlari ma'lum bo'lib, ular substrat spetsifligi bilan o'zaro farqlanadi.

Sitoxrom P<sub>450</sub> osonlik bilan o'zining faol bo'lmagan shakli – sitoxrom P<sub>420</sub> aylanadi. NADFH- sitoxrom P<sub>450</sub> reduktaza monoksigenaza sistemasida elektronlarni NADFH dan sitoxrom P<sub>450</sub> ga tashish funksiyasini bajaradi. Sitoxrom P<sub>450</sub> ning funksiyasi substratni gidroksilanishida ishtrok etuvchi kislorodni faollanishida elektronlarning zanjirga tashilishi bilan chegaralanadi.

Subhujayra fraksiyalarini ajratish asosida to'qima gomogenatini sentrifugalaganda har xil og'irlikdagi zarralarini markazdan qochma kuchi hisobiga ketma-ket cho'kmaga tushishi yotadi.

#### **Jihozlar:**

1. Ultrasentrifuga.
2. Ftorplastli sentrifuga probirkalari.
3. Gomogenizator.
4. Analitik tarozi.

#### **Reaktivlar:**

1. 1,15% kaliy xlor eritmasi;
2. 0,1m li ishqorli fosfat buferi, pH-7,4; (tayyorlanishi 57-ildovada).

**Tekshiriluvchi material:** eksperiment 20 soat och qoldirilgan hayvonlarda o'tkaziladi. Bunda jigarda glikogen miqdorining kamayishi hisobiga mikrosomalarni sentrifugalaganda 30–40% yo'qolishining oldi olinadi. Zardobda eritrotsitlarning parchalangan bo'laklari bo'lmasligi uchun jigar sovutilgan 1,15% kaliy xlor eritmasi bilan darvoza venasi (V. porte) orqali perfuziya qilinib, yuviladi.

### **Ishni bajarilishi**

1. 2 g jigardan olib, qaychi bilan maydalaniladi va 1,2 daqiqa davomida 1,15% kaliy xlor eritmasining 6 ml da gomogenizatsiya qilinadi. Ishning sovuq xonada ( $-4^{\circ}\text{C}$ ) sovutilgan eritmalar bilan bajariladi. (Sentrifugalashda boshqa sentrifugalardan foydalanish mumkin).

2. Gomogenatdan birinchi navbatda yadro fraksiyasi 10–15 daqiqa 1000 g sentrifugalab, ajratib olinadi, so'ngra cho'kma ustki suyuqligidan 15 daqiqa 14000 g sentrifugalab, mitoxondriya va boshqa fraksiyalar ajratiladi.

3. Cho'kma usti suyuqligi yana sentrifugalanib (105000 g 60 daqiqa), ustki qavati astalik bilan olinadi. 0,1ml ishqorli fosfat buferida 1 : 2,5 nisbatida suyultiriladi.

4. Olingan mikrosomal suspenziyasida oqsil miqdorini aniqlab (Louri usuli bilan), boshqa maqsadli ishlarda foydalaniladi.

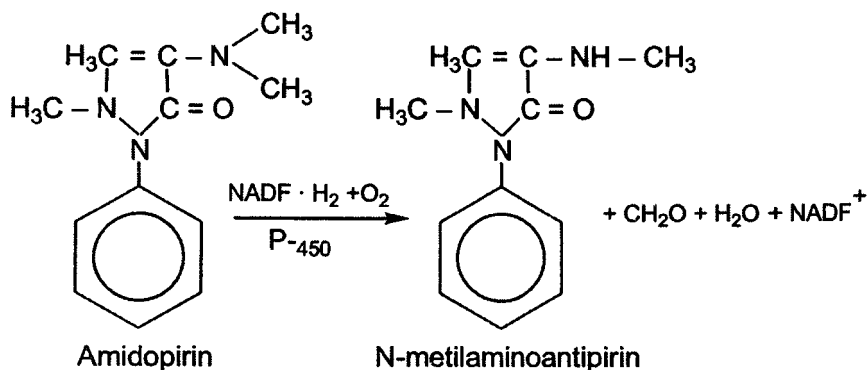
### **14.1.7. Mikrosoma monooksigenaza sistemasi fermentlari faolligini aniqlash**

Ksenobiotiklar biotransformatsiyasining monooksigenaza sistemasi har xil reaksiyalarni katalizlaydi. Xususiyatiga qarab, bu fermentativ reaksiya nomlari adabiyotda turli nomlar bilan ataladi: dimetilnilin N-demetilaza; nitrozo-dimetilamin N-demetilaza; anilin R-gidroksilaza va boqalar. Shunday deb atalsa ham bu reaksiyalarni har xil fermentlar katalizlamay, balki bir sistema tomonidan amalga oshiriladi. Jigar mikrosomal gidroksillovchi sistemasi uchta tarkibiy qismdan iborat:

NADFH-sitoxrom  $P_{450}$  –reduktaza, sitoxrom  $P_{450}$  va fosfo-proteidlardan. Bundan tashqari, mikrosomal monooksigenaza kompleksning funksiyasida sitoxrom  $B_5$  va NAD.H-sitoxrom  $B_5$  –reduktazani katta ahamiyati bor. Demak, amidopirinning N-demetilazasi yoki anilinning R-gidroksilazasi faolligi to'g'risida fikr yuritilganda gap ikkita ferment haqida emas, balki bitta ferment

sistemasi faolligining ikkita substratga nisbatan ekanligida. Quyida monooksigenaza sistemasi faolligini har xil kimyoviy strukturadagi substratlar bilan aniqlash usullari keltirilgan.

Jigar mikrosomasi monooksigenaza sistemasi faolligining ko'rsatkichi sifatida amidopirinni dimetillanishini keltirish mumkin (1-fenil-2,3-dimetil-4-dimetilaminopirazolon-5). Dimetillanish tezligi hosil bo'lgan formaldegid miqdori bilan aniqlanadi. Reaksiya NADF.H va kislorod ishtirokida mikrosomaning sitoxrom P<sub>450</sub> yordamida amalga oshiriladi:



### Reaktivlar:

1. 0,4m tris-HCl buferi, pH-7,6 (tayyorlanishi 58-ilovada).
2. 0,16 m magniy xlor eritmasi.
3. 0,03 m NADF.H eritmasi.
4. 0,08 m amidopirin eritmasi.
5. 25% sink sulfat eritmasi.
6. Bariy gidroksidi-to'yingan eritmasi.
7. Nash reaktivi (tayyorlanishi 59-ilovada).

### Jihozlar:

1. Spektrofotometr.
2. Laboratoriya sentrifugasi.
3. Suv hammomi.
4. Torzion tarozi.



5. Probirkalar.

6. Pipetkalar.

### Ishni bajarilishi

1. 1 ml hajmdagi inkubatsion eritma tarkibida: 1,5 mg mikrosomal fraksiya oqsili (mikrosoma ajratish yuqorida keltirilgan), 0,1 ml tris-HCl buferi, 0,1 ml 0,16 M magniy xlor eritmasi, 0,1 ml 0,03 M NADP.H eritmasi va 0,1 ml 0,08 M amidopirin eritmasi.

2. Tekshiriluvchi va nazorat (tarkibida NADP.H tutmagan) namunalari 20 daqiqa davomida, muttasil aralashtirilib turgan holda, 37° C da inkubatsiya qilinadi.

3. Reaksiya bir xil hajmdagi 0,75 ml dan 25% ZnSO<sub>4</sub> eritmasi va to‘yingan Ba(OH)<sub>2</sub> eritmasi aralashmasidan quyilib, to‘xtatiladi.

4. Namunalar tarkibidagi oqsilni cho‘ktirish uchun ularni 10 daqiqa davomida 3500 g sentrifugalanadi.

5. So‘ngra supernatandagi formaldegid miqdori Nash reaksiyasi bo‘yicha aniqlanadi. Buning uchun cho‘kma usti suyuqligidan 1 ml olinib, ustiga 4 ml Nash reaktivi qo‘shiladi va namunalar 45 daqiqa davomida 37° C da inkubatsiya qilinadi.

6. Formaldegid miqdori SF da 412 nm da aniqlanadi. Hosil bo‘lgan formaldegid miqdorini o‘lchashda kalibrangan egri chizig‘idan (formaldegidning standart eritmasi yordamida tuzilgan) yoki ekstinksiya koeffitsiyentidan (8–10 optik birlik oe/mol. sm) foydalaniladi. Kalamush jigari mikrosomalarda amidopirinning N-demetillanish reaksiya tezligi 4–6 nmol/daqiqa/1 mg oqsilga teng.

**Hisoblash.** Amidopirinning N-demetillanish reaksiyasi tezligini hisoblashda formaldegidning ekstinksiya koeffitsiyentidan  $E = 8 \cdot 10^3$  oe/mol. sm. foydalaniladi.

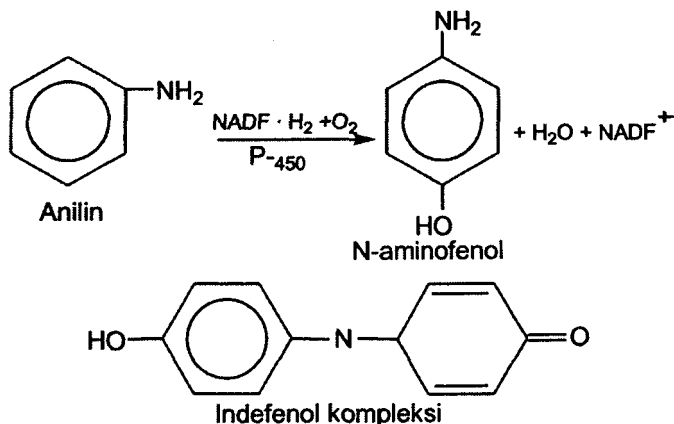
1 mg mikrosomal oqsilni (nmol) 1 daqiqadagi reaksiya tezligi  $A$ :

$$A = \frac{D}{E \cdot B \cdot t}$$

Bunda  $D$  – tekshiriluvchi namunaning optik zichligi;  
 $E$  – molyar ekstinksiya koeffitsiyenti;  
 $t$  – inkubatsiya vaqti;  
 $B$  – tekshiriluvchi namunadagi oqsil miqdori (mg).

### 14.1.8. Anilinning oksidlanishli R-gidroksillanish reaksiyasini o'rganish

Anilinning gidroksillanish reaksiyasi sitoxrom  $P_{450}$  ni NADF.H va kislorod ishtrokida R-aminofenol hosil bo'lishiga asoslangan. R-aminofenol  $Na_2CO_3$  ishtirokida fenol bilan o'zaro reaksiyaga kirishib ko'k rangli indefenol kompleksi hosil qiladi:



#### Reaktivlar:

1. 0,4 m tris-HCl buferi, pH-7,3.
2. 0,16 m magniy xlor eritmasi.
3. 0,03 m NADF.H eritmasi.
4. 0,03 m anilin eritmasi.
5. 15% uchxlorsirka kislotasi eritmasi.
6. Natriy karbonatning to'yingan eritmasi.
7. 2% fenolning 0,2 m natriy gidroksidagi eritmasi (tayyorlanishi 60-ilovada).

## Jihozlar:

1. Spektrofotometr.
2. Laboratoriya sentrifugasi.
3. Termometrli suv hammomi.
4. Torzion tarozisi.
5. Probirkalar.
6. Pipetkalar.

## Ishni bajarilishi

1. Tarkibida 2 mg mikrosomal fraksiya oqsili; 0,1ml 0,4 m tris-HCl buferi; 0,1 ml 0,16 m magniy xlor eritmasi, 0,1ml 0,03 m NADF.H eritmasi va 0,1 ml 0,03 m anilin bo'lgan 1 ml hajmdagi inkubatsion aralashma tayyorlanadi va 37° C da 20 daqiqa, aralastirilib turgan holda, inkubatsiya qilinadi.

2. Reaksiyani 0,5 m uchxlorsirka kislotasi qo'shib, to'xtatiladi va 10 daqiqa davomida 3500 g sentrifugalanadi.

3. Supernatantdan 1ml olinadi va ustiga 0,5ml natriy karbonatning to'yingan eritmasi, 1,5 ml 0,2 n NaOH dagi fenolning 2% eritmasidan qo'shiladi.

4. So'ngra rang hosil bo'lishi uchun namunani 30 daqiqaga 37° C suv hammomiga joylashtiriladi va rangli kompleks miqdorini SF da 630nm da o'lchanadi.

5. Hidroksillanishdan hosil bo'lgan unum miqdorini kalibrlangan egri chiziq (N-aminofenolni standart eritmasi asosida tuzilgan) yoki ekstinksiya molyar koeffitsiyenti ( $6,7 \cdot 10^3$  oe/mol.sm) bo'yicha aniqlanadi.

**Hisoblash.** Anilinning R-gidroksillanish reaksiya tezligi amidopirinning N-demetillanishida keltirilgan formula bo'yicha hisoblanadi. Hisoblashda N-aminofenolning molyar ekstinksiya koeffitsiyentidan  $E = 7 \cdot 10^3$  oe/mol.sm (Строев Е. А. Практикум по биохимии, 1986) foydalaniladi.

Anilinning kalamush jigari mikrosomasidagi R-gidroksillanish reaksiyasi tezligi 0,6–0,8 nmol/daqiqa/mg oqsilga to'g'ri keladi.

### 14.1.9. Organizmda jigar oksigenaza sistemasi faolligini aniqlash

Amidopirinning (AP) kalamush siydigi bilan ajraladigan birdan-bir metaboliti 4-aminoantipirin (4-AAP) ekanligi aniqlangan. Uning miqdori formaldegidning jigar mikrosomalaridan ajralishiga bog'liq. Shu sabab 4-AAP ni siydikda aniqlash asosida monoksigenaza sistemasining butun organizmdagi holati haqida fikr yuritish mumkin.

#### Reaktivlar.

1. 4-Aminoantipirinning standart eritmasi (tayyorlanishi 61- ilovada).
2. 0,02% fenol eritmasi.
3. 1% li qizil qon tuzi  $[K_3Fe(CN)_6]$  eritmasi.
4. Ammiakli bufer, pH-10,5 (tayyorlanishi 62- ilovada).
5. 12,5% uchxlorsirka kislotasi eritmasi.
6. Konsentrlangan xlorid kislotasi (solishtirma og'irligi 1,17-1,19).

#### Ishni bajarilishi

1. Hayvon qorniga 20 mg/kg hisobida amidopirin yuboriladi. So'ngra siydik miqdorini ko'paytirish maqsadida, 100 g tana og'irligiga 2 ml nisbatida oddiy suvni oshqozonga quyiladi va hayvonni siydik yig'uvchi qafasga joylashtirib, 3,6,24 soat davomida siydigi yig'iladi va umumiy hajmi o'lchanadi.

2. 4-AAP aniqlash uchun 1,5 ml siydikka 0,3 ml ammiakli bufer qo'shib, 15 daqiqadan so'ng filtrlanadi.

3. 0,6 ml tiniq filtratga 0,5ml 12,5% uchxlorsirka kislotasi eritmasi, 2 ml 0,02% fenol eritmasi, 0,1ml 1%li kaliy ferrisianid eritmasi qo'shib, aralashtiriladi.

4. 10 daqiqadan keyin 10 mm kyuvetada 510 nm da nazoratga nisbatan (fenol o'rniga 2 ml suv quyilgan va namunaning qolgan hamma tarkibiy qismi saqlangan holda) fotometrlanadi.

5. Tekshiriluvchi namunadagi 4-AAP miqdori (mkg) kalibr lash egri chizig'ini orqali topiladi.

46-jadval

### Kalibr lash egri chizig'ini tuzish

4-AAP ning standart eritmasi, ml	Siydik filtrati, ml	Ammiakli bufer, ml
0	1,5	0,3
0,05	1,45	0,3
0,1	1,4	0,3
0,2	1,3	0,3
0,3	1,2	0,3
0,4	1,1	0,3

Fotometriya ko'rsatkichlari asosida kalibr lash egri chizig'ini tuzilib, yuqorida yozilgani bo'yicha 4-AAP miqdori aniqlanadi.

**Hisoblash.** 4-AAP miqdorini 1ml siydikda aniqlash uchun kalibr lash egri chizig'ini bo'yicha topilgan mkg ni 2 ga ko'paytiriladi. Agar 4-AAP miqdorini siydikning umumiy hajmida aniqlash lozim bo'lsa, topilgan mkg/ml miqdorini siydik hajmiga (ml) ko'paytiriladi.

### 14.2. Sulfadimezin va uning metabolitlari miqdorini aniqlash

Erkin sulfadimezin, uning atsetillangan unumi va sulfadimezin glukuronidi sulfadimezin preparati qabul qilgan (peroral) oq kalamushlar siydigida 12 soatdan so'ng aniqlanadi.

Sulfadimezin preparatlari organizmda bo'lish vaqtiga qarab qisqa, o'rta, uzoq va o'ta uzoq vaqt ta'sir etuvchi guruhlarga bo'linadi. Preparatlar ta'sirining organizmda ta'sir davomiyligi

buyrakning ekskretsiyasi xususiyatiga bog‘liq. Uzoq vaqt ta’sir etuvchi preparatlar buyrak koptokchalaridan filtrlanib, buyrak naychalarida 80–90% qayta so‘riladi.

Bir qator dorilar organizmda parallel va ketma-ket bir necha yo‘llar bilan metabolizmga uchraydilar. Masalan, sulfanilamidlar bir vaqtning o‘zida gidroksillanishi va sirka kislotasi bilan konyugatsiyalanishi mumkin.

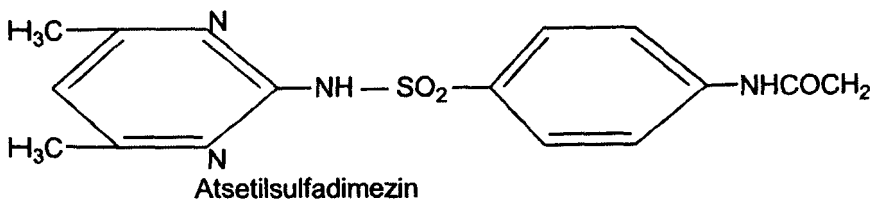
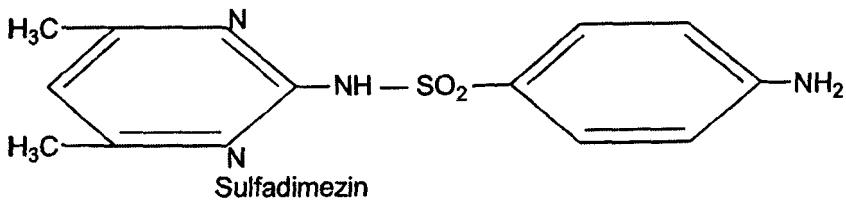
Sulfanilamidlarning fenol halqasi yoki geterosikli orqali gidroksillangan unumi glukuron kislotasi bilan konyugatsiya hosil qila oladi. Bundan tashqari sulfanilamidlar kichik miqdorda amid azoti  $N_4$  yoki geterosikl azoti orqali glukuron kislotasi bilan bog‘lanishi mumkin.

Sulfanilamidlar mikrosomalardagi arilaminatsetiltransferazalar yordamida atsetat aminoguruhi bilan faol birikib, asetamidlar hosil qiladi. Bu reaksiyani to‘la detoksikatsiya deb aytish qiyin, chunki atsetillangan unumlari suvda yomon erishi tufayli siydik yo‘llarida qayta kondensatsiyalanishi va nojo‘ya ta’sir ko‘rsatishi mumkin. Shu sababli sulfanilamidlarning yomon atsetillanadigan birikmalari qidirilmoqda.

Mikrosomalardagi uridinofoglukuroniltransferaza yordamida sulfanilamidlar glukuron kislotasi bilan birikadi va bunda erkin qolgan karboksil guruhi suyuqliklarda eruvchan birikma hosil bo‘lishiga va buyrak orqali tez chiqib ketishiga sabab bo‘ladi.

#### **14.2.1. Erkin, atsetillangan sulfadimezin va uning glukuronidini siydikda aniqlash**

Usul sulfadimezinni natriy nitrit bilan diazotlanish va rezorsin bilan azotlanish reaksiyasi natijasida qo‘ng‘ir rangli diazo birikma hosil qilishi va uni FEK orqali o‘lchashga asoslangan. Rangning intensivligi sulfadimezin miqdoriga proporsional:



**Tekshiriluvchi material:** kalamushlarga og‘izi orqali 200 mg/kg miqdorda sulfadimezin yuborilgandan so‘ng 12 soat davomida yig‘ilgan siydik, 200 marta suyultiriladi.

**Reaktivlar:**

1. 10% li uchxlor sirka kislotasi eritmasi.
2. Atsetat natriyning to‘yingan eritmasi.
3. 0,2 M li NaOH eritmasi.
4. 0,5% li nitrit natriy eritmasi.
5. 0,5% li rezorsin eritmasi.
6. 8% li HCl eritmasi.
7. 0,2 li HCl eritmasi.
8. Indikator qog‘ozi.

**Jihozlar:**

1. Probirkalar.
2. 10 ml hajmli probirkalar.
3. 1,0 ; 5 va 10 ml hajmdagi pipetkalar.
4. Probkali va qayta sovutkichli kimyoviy stakanlar.
5. Voronkalar.
6. Filtr.
7. Suvli hammom;
8. FEK.

## I. Erkin sulfadimezinni aniqlash

### Ishni bajarilishi

1. 5 ml suyultirilgan siydikka 1 ml 0,2 n NaOH qo‘shilib chayqatiladi va 5 daqiqadan keyin 4 ml 10% li uchxlor sirka kislotaga qo‘shilib, 15 daqiqaga qoldiriladi. Eritma hajmlangan probirkaga filtrlanadi va filtdagi cho‘kma 0,2 n HCl bilan yuvilib, eritma hajmi 10 ml ga yetkaziladi.

2. 5 ml filtratga 0,2 ml 0,5 % li nitrit natriy eritmasi qo‘shilib, 15 daqiqaga qoldiriladi (qolgan 5 ml filtratda umumiy sulfadimezin aniqlanadi)

3. 4,6 ml atsetat natriyning to‘yingan eritmasi va 0,2 ml 0,5 % li rezorsin eritmasi ketma-ket qo‘shilib, 15 daqiqaga qoldiriladi. Aralashma qo‘ng‘ir rangga kiradi.

4. Tajriba eritmalari nur yutishi FEK da ko‘k svetofiltrda qalinligi 10 mm bo‘lgan kyuvetalarda o‘lchanadi. Nazorat probirkasiga filtrat o‘rniga 5 ml suv olinadi, qolgan reaktivlar tajriba namunasida ko‘rsatilgani bo‘yicha qo‘shiladi.

5. Sulfadimezin miqdori quyidagi formula orqali hisoblanadi:

$$\text{sulfadimezin} = S \cdot 2 \cdot 200 \cdot 100/1000 = (\text{mg}\%).$$

Bunda: S – egri chiziqli standart bo‘yicha aniqlangan namuna-dagi sulfadimezin konsentratsiyasi, mkg da;

2 – namunaning suyulganlik darajasi;

200 – siydikning suyulganlik darajasi;

1000 – mg ga o‘tkazish;

100 – % ga o‘tkazish.

## II. Atsetillangan sulfadimezinni aniqlash

### Ishni bajarilishi:

1. Uchxlor sirka kislotasi bilan oqsili cho‘ktirilgandan keyin filtratning qolgan qismiga (5 ml) 2 ml 8% li xlorid kislotaga qo‘shiladi.

2. Probirkalar qayta sovutilgach, qaynab turgan suv hamrnomida 30 daqiqa gidrolizlanadi.



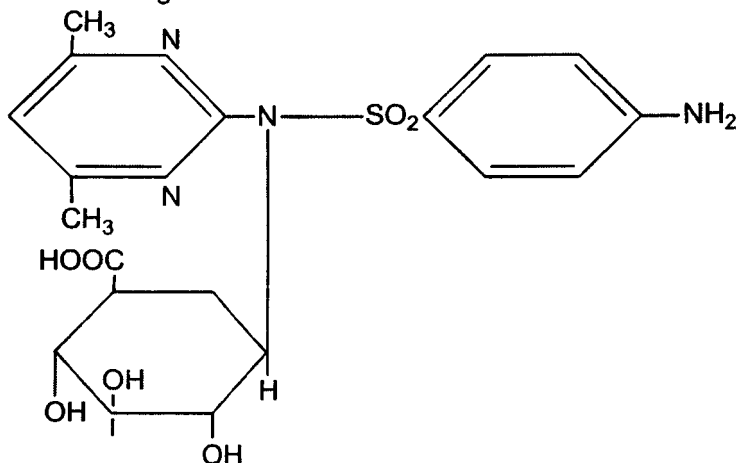
3. Probirkalar ichidagi aralashma cho'ktirilib, o'lchovli probirkalarga quyiladi va 2 ml 10% li uchxor sirka kislotasi qo'shilib, shu eritma bilan qoldiq chayiladi va yana qo'shiladi.

4. Probirkaga hajmi 10 ml ga yetguncha distillangan suv quyilib, aralashtiriladi va qog'oz filtr orqali filtrlanadi.

5. 5 ml filtrat olinib, unda erkin sulfadimezin (I) miqdori o'lchangan sxema bo'yicha analiz o'tkaziladi. Atsetillangan sulfadimezin miqdori umumiy va erkin sulfadimezin ayirmasidan topiladi.

### III. Siydikda sulfadimezin glukuronidini aniqlash

sulfadimezin glukuronidi



#### Ishni bajarilishi:

1. 5 ml suyultirilgan siydikka bir necha tomchi 0,2 n HCl eritmasi quyilib, indikator qog'ozi yordamida pH-5 ga yetkaziladi.

2. 5 ml xloroform qo'shilib, probirka chayqatiladi. Bu vaqtda erkin sulfadimezin va atsetillangan unumi xloroformga o'tadi, suv qismida ko'proq gidrofil bo'lgan sulfadimezin glukuronidi qoladi.

3. Paster pipetkasi bilan pastki suv qismi tortib olinib, unda sulfadimezin glukuronidini aniqlanadi (I ish qismida ko'rsatil-

ganidek). 12 soat davomida to'plangan siydik hajmi va uning 200 marta suyultirilganligi hisobga olinib, shu vaqt davomida organizmdan chiqarilgan erkin sulfadimezin va uning metabolitlari (atsetillangan unumi va glukuronidi) miqdorini yuborilgan dori miqdoriga nisbatan (mg%) va (%) larda hisoblanadi:

$$\text{sulfadimezin} = \text{erkin sulfadimezin} + \text{atsetil sulfadimezin} + \text{sulfadimezin glukuronidi}$$

Sulfadimezin farmakokinetikasi va uning metabolitlarini o'rganish ularning davolash hamda toksik xususiyatlarini tavsiflashda, yangi preparatlar sintezini o'rganishda, tibbiyotda davolash samarasini oshirish yo'llarini topishda muhimdir.

### Ishni rasmiylashtirishda

1. Mashg'ulot mavzusi.
2. Ish maqsadi.
3. Uslulning mohiyati va bajarilish yo'li (I, II va III ishlar uchun alohida).
4. Mashg'ulot natijalari va xulosa 47-jadvalda ifodalanadi.

47-jadval

### Kalamush siydigida sulfadimezin va uning konyugatlarini miqdori

Tekshirilayotgan modda		Miqdori		% umumiy chiqarilgan sulfadimezin miqdoriga nisbatan	Xulosalar
		E	mkg-tajriba namunalari		
I	Erkin sulfadimezin				
II	Atsetillangan sulfadimezin				
III	Sulfadimezin glukuronidi				

## Nazorat savollari

1. *Konyugatsiya va uning turlarini aytib bering. Ksenobiotiklarni zaharsizlantirishda konyugatsiya qanday ahamiyatga ega?*
2. *Konyugatsiya mexanizmi va ishtirok etuvchi fermentlari haqida tushuncha bering.*
3. *Ksenobiotiklarning metillanishi nima? Metiltransferazalarning tuzilishi va rolini ko'rsating.*
4. *Ksenobiotiklarni sulfat bilan konyugatsiyalanishini qanday ahamiyati bor?*
5. *Sulfotransferazaning tuzilishini va rolini tushuntirib bering.*
6. *Glukuronidlar hosil bo'lishi mexanizmi qanday? Uri-dinfosfatglukuronil transferaza tuzilishi va rolining ahamiyati qanday? Alfa-aminokislotalar bilan konyugatsiyalanishini yozib bering.*
7. *Ksenobiotiklarni atsetillanishi, arilatsetiltransferazaning roli nimadan iborat?*
8. *Biologik membranalar o'tkazuvchanligi. Tarqalish koef-fitsiyenti to'g'risida nima bilasiz?*
9. *Dori moddalarining to'planish, parchalanish, yo'qotish mexanizmi to'g'risida nima bilasiz?*
10. *Dorilar va boshqa moddalarga rezistentlikka misollar keltiring.*
11. *Metabolik o'zgarish dori moddalarini chiqarib yuborishning asosiy yo'li ekanligiga sabab nima?*

### 14.3. Alkogoldegidrogenaza faolligi va uning ahamiyati

Alkogoldegidrogenaza (ADG) absolut substrat spesifligi bo'lgan ferment hisoblanib, ferment etanoldan bo'lak, boshqa birlamchi va ikkilamchi spirtlar hamda etilenglikolni oksidlanishini katalizlaydi. ADG ko'pchilik organlar hujayra gialoplazmasida uchraydi, ayniqsa jigar to'qimasida uning faolligi boshqalarga qaraganda 20–40 marta balandroq. Sog'lom odam qon zardobida ADG faolligi juda ham past, deyarli aniqlanmaydi (0,32–2,56 o'rtacha 1,18 mk mol/min/l), alkogol sintezini induktori hisoblanadi.

#### 14.3.1. Qon zardobida alkogoldegidrogenaza faolligini aniqlash (Shkurski usuliga I.V.Bokiya, M.S.Usatenko va V.F.Tryufanov qo'shimchalari bilan)

Usul ADG ikkita ketma-ket reaksiyani – butanolning NAD ga bog'liq bo'lgan oksidlanishini va shu reaksiya davomida hosil bo'lgan NADH<sub>2</sub> ishtirokida n-nitrozodimetilanilinning qaytarilishini katalizlash xususiyatiga asoslangan. Reaksiya natijasida eritmada quyuq sariq rangga ega bo'lgan n-nitrozodimetilanilin rangsizlanadi. ADG faolligi rangli moddaning SF – 440 nm da nur yutish tezligiga qarab hisoblanadi.

**Tekshirish materiali.** Qon zardobi.

**Reaktivlar:**

1. Pirofosfatli buferning 0,1 m eritmasi, pH 8,5.
2. n-nitrozodimetilanilinning 26 mk M li eritmasi.
3. N-butanol, 0,25 m suvdagi eritmasi.
4. NAD yangi tayyorlangan eritmasi (tayyorlanishi 63-ilovada).

**Jihozlar:**

1. 0,1, 1 va 2 ml li pipetkalar.
2. Shisha tayoqcha.

3. Sekundomer.
4. Spektrofotometr.

### **Ishni bajarilishi**

1. SF-ishchi to‘lqining uzunligini 440 nm ga to‘g‘rilab, hisoblash shkalasi strelkasini parda yopig‘ligida “O”ga qo‘yiladi.

2. SF kyuvetasiga 2 ml n-nitrozodimetilanilin va 0,5 ml qon zardobi solinadi. Kyuveta qarshisiga hisoblash shkalasi 0,300 qo‘yiladi.

3. So‘ngra kyuvetaga 0,1 ml NAD ning butanoldagi eritmasi qo‘shiladi.

4. Aralashma shisha tayoqcha bilan aralashtirilib, 25° C da 2 daqiqa davomida inkubatsion muhitning ekstinksiyasini pasayishi aniqlanadi.

**Eslatma.** Zardobning har bir namunasida ADG faolligi 2 martadan aniqlanadi, bordi-yu aniqlash natijalarining farqi 10% dan ko‘p bo‘lsa, uchinchi marta aniqlanadi. Shundan so‘ng ekstinksiyaning 1 daqiqadagi o‘zgarishini o‘rtacha miqdori aniqlanib, quyidagi formula bo‘yicha hisoblanadi:

$$X = 320,5 \Delta E -$$

Bunda:  $X$  – ADG faolligi mkmol/min.l;

320,5 – hisoblangan faollik koeffitsiyenti, ko‘rsatilgan inkubatsiya sharoitida o‘zgarayotgan subsratning mk mol dagi ko‘rsatkichi;

$\Delta E$  – 1 daqiqa davomida 440 nm da ekstinksiyaning o‘zgarishi.

Agar 440 nm da ekstinksiya o‘zgarishi 1 daqiqada 0,050 dan ortsa, qon zardobi natriy fosfat buferi bilan 2–4 marta suyultiriladi va faollik ko‘rsatkichi shu songa ko‘paytiriladi. ADG ni aniqlashda yangi olingan qon zardobi kerak bo‘ladi, chunki vaqt o‘tishi bilan ferment faolligi pasayadi.

Ishni rasmiylashtirishda olingan ADG faolligini norma bilan taqqoslanib, xulosa chiqariladi.

Alkohol suiste'mol qiluvchilarda ADG faolligi (iste'mol vaqtining davomiyligiga qarab va alkoholizm) yuqori darajada bo'lganligi sababli maskur test alkoholizm diagnostikasida va uni davolashda qo'llaniladi. Umuman alkoholning 90% jigar-da oksidlanadi, uning kasalligida yoki irsiy (genetik) yetish-movchiligida alkoholni zaharsizlantirish kamayadi va uning orga-nizmga salbiy ta'siri ortadi.

## Ilovalar

### I. Ayrim reaktivlarni tayyorlash

1. **1% li tuxum oqsili eritmasini** tayyorlash uchun doka orqali filtrlangan tovuq tuxumi oqsilini suv bilan 1: 10 nisbatda suyultiriladi (10 g tuxum oqida 1 g oqsil bor).

2. **Millon reaktivi** (havo tortuvchi shkaf ostida tayyorlanadi). Xona haroratida 40 g simob nitrat kislotasining 60 ml da (nisbiy zichligi 1,40) eritiladi, so'ngra azotni oksidlanishidan ajralib chiqayotgan qo'ng'ir bug'lar tugaguncha iliq suv hammomiga joylashtiriladi va aralashtiriladi. Shundan keyin ikki barobar suv (120 ml) qo'shiladi va olingan eritma suv bilan 1:1 nisbatda suyultiriladi.

3. **Foli reaktivi.** Qo'rg'oshin atsetatining 5% li suvdagi eritmasiga teng hajmda (hosil bo'lgan cho'kma eriguncha) 30% li o'yuvchi natriy qo'shiladi.

4. **Kaliy yodiddagi simobning yodli eritmasi.** 50 ml distillangan suvda 5 g kaliy yodid eritiladi. Eritma 12 g simob yodi bilan to'yintiriladi va hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

5. **Orsin reaktivi.** 1 g orsinni 30% li xlorid kislotasining (solishtirma og'irligi 1,15) 500 ml da eritilib, 4–5 ml 10% li temir xlorid eritmasidan qo'shiladi. Reaktiv zichlab yopiladigan qora shisha idishda saqlanadi.

6. **Kumush nitrat oksidining ammiakli eritmasi.** Kumush nitrat oksidining 2% li eritmasiga ammiakning konsentrlangan eritmasidan tushayotgan cho'kma eriguncha qo'shiladi.

7. **Ammoniy molibden oksidining nitrat kislotasidagi eritmasi.** 7,5 g amoniy molibden oksidi 100 ml suvda eritilib, 100 ml

32% li nitrat kislotasi (solishtirma og'irligi 1,2) dan qo'shiladi. Nitrat kislotasi qo'shilgandan so'ng ammoniy molibden oksidining to'la erishi kuzatiladi.

**8. Gvayakol smolasining spirtli eritmasi.** 2–3 g gvayakol smolasi 95% li etil spirtining 100 ml da maydalanadi.

**9. Gidroxinonning 2% li eritmasi.** 100 ml 2% li gidroxinon eritmasiga 1 tomchi konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shiladi. Eritma deyarli rangsiz bo'lishi shart. Turib qolganda eritma jigar rangga o'tsa, ishlatishga yaramaydi, shu sababli reaktiv oz miqdorda tayyorlanadi.

**10. Karbonatli sulfit eritmasi.** 20 ml 15% li natriy sulfat eritmasiga ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) 100 ml 20% li natriy karbonat tuzidan ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  – quruq suvsiz tuzi) qo'shiladi.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  o'rniga  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  ni ham ishlatish mumkin. Eritmalar beqaror bo'lganligi uchun alohida tayyorlanib, ishlatish oldidan aralashtiriladi.

**11. Yodning kaliy yodidagi eritmasi.** 20 g kaliy yodid va 10 g yodni 100 ml suvda eritiladi. Olingan eritma kraxmal bilan reaksiya berishi uchun suv bilan 5 marta suyultiriladi.

**12. 2,6-dixlorfenolindofenol (2,6-DXFIF)ni natriyli tuzining 0,001 N eritmasi.** Eritma tayyorlashda fosfatli bufer aralashmasi (1/15 m Serensen bo'yicha)dan foydalaniladi, chunki suvli eritmada indikator tezda parchalanib ketadi. Buning uchun 9,078 g kaliy digidrofosfat va 11,867 g natriy gidrofosfatni alohida-alohida 1 l suvda eritiladi. So'ngra ulardan 2:3 nisbatda olinib (pH-6,9–7,0), aralashtiriladi. 0,25 g bo'yoqdan tortib olinib, unga 700 ml suv quyib chayqatiladi va 300 ml bufer aralashmasidan qo'shiladi. Ertasiga eritma filtrlanib, yaxshilab aralashtiriladi. Eritma titri Mor tuzining titrlangan eritmasi bo'yicha aniqlanadi. Buning uchun kichik kolbaga 10 ml indikator olinib, unga 5 ml ammoniy oksalatning to'yingan eritmasidan qo'shiladi va mikrobyuretkadagi 0,01 n li Mor tuzi eritmasi bilan titrlanadi. Titrlash indikatorning ko'k rangi och sariq rangga o'tguncha davom ettiriladi. Mor tuzining 0,01



n eritmasini olish uchun 3,92 g tuzni 0,02 n li sulfat kislotasida eritiladi. Mor tuzining titri 0,01 n li kaliy permanganat eritmasi bo'yicha aniqlanadi.

**13. Bromli suv.** Havo tortuvchi shkafda 500 ml suvga 5 ml brom qo'shiladi.

**14. Folin reaktivi.** 1 l hajmdagi kolbada 1 g natriy volframat va 20 g molibden fosfat kislotasi 750 ml suvda eritiladi. Kolba tiqim bilan berkitilib, suv qaytar sovutkichga o'tkaziladi va 10 soat davomida qaynatiladi, so'ngra sovutilib, kolbadagi reaktiv miqdori suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

**15. O'yuvchi natriyning 30% li eritmasi.** Chinni stakanga 600 g o'yuvchi natriy va 50 ml suv solinib, shisha tayoqcha bilan eriguncha aralashtiriladi. Olingan eritma butikalarga quyilib, bir necha kunga qoldiriladi. Butilka tagida to'yingan o'yuvchi natriyda erimaydigan o'yuvchi natriy va sodaning cho'kmasi hosil bo'ladi. Barcha soda cho'kkandan so'ng eritma tiniqlashadi. Ushbu eritmada (solishtirma og'irligi 20° C da 1,525) o'yuvchi natriyning kichik konsentratsiyali eritmaları tayyorlanadi. Quyidagi jadvalda 1 l itrdagi kerak bo'lgan konsentratsiyada eritma tayyorlash qancha ml da konsentrlangan o'yuvchi natriyni suyultirilishi ko'rsatilgan. 0,05 n eritma titri 0,1 n sulfat yoki shavel kislotasi bilan titrlab aniqlanadi.

Solishtirma og'irligi, g/sm <sup>3</sup>	Kerak bo'lgan konsentratsiya					
	30%	20%	10%	2%	0,4%	0,05%
1,525	393	262	131	26	5,24	2,64

**16. NADI reaktivi.** 1% li dimetilparafenildiaminning suvdagi eritmasini teng hajmdagi α-naftolning spirtidagi 1% li eritmasi va natriy karbonatning 1,5% li eritmasi bilan aralashtiriladi. Eritma

to‘q jigar rangda bo‘lib, pushti rang olmasligi kerak. Reaktiv ishlatilishidan 1 soat oldin tayyorlanadi.

**17. 1 ml diatsetilni** 100 ml li o‘lchov kolbasida distillangan suv bilan suyultiriladi (eritma muzlatkichda saqlanadi). Diatsetilning ishchi eritmasi ishlatilish oldidan tayyorlanadi, bunda diatsetilning asosiy eritmasini 1 ml ga 24 ml distillangan suv qo‘shiladi.

**18. Fosfatli bufer** 0,1 m pH-8,0 · 6,55 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  va 0,265 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  larni 700–800 ml dagi distillangan suvda eritiladi, so‘ngra eritma hajmi suv bilan 1000 ml ga yetkaziladi.

**19. Glikogen.** Hayvonni, masalan quyon yoki kalamushni uglevodga boy bo‘lgan oziqa – sabzi, kartoshka va boshqalar bilan boqiladi, 6–8 soatdan so‘ng o‘ldirilib, tezlikda jigari kesib olinadi va shu zahoti bo‘laklarga bo‘lib, yuvilgan qum bilan maydalanadi. Maydalash davomida 1,5 barobar hajmida 3% li uchxlorosirka kislotasi qo‘shiladi va qayta so‘rib olinadi, filtrat stakanga yig‘iladi. Qoldiqni ikkinchi marta teng hajmdagi 3% li uchxlorosirka kislotasi bilan ekstraksiyalab, filtrat stakanga qo‘shiladi. Yig‘ilgan filtratni aralashtirilib turgan holda, teng hajmda 95% li spirt qo‘shiladi. Olingan cho‘kma 2–3 barobar keladigan hajmdagi suvda chayqatilib, eritiladi va yana teng hajmdagi (suvga nisbatan) spirtida cho‘ktiriladi. Ushbu jarayon 3–4 marta takrorlanadi. Shundan so‘ng glikogen 95% li spirtida ikki marta yuvilib, eksikatorida kal-siy xlorid ustida quritiladi.

**20. Soya uni va soya uni ekstrakti.** Soyali loviya hovonchada yoki tegirmonda maydalanib, ustki po‘stlog‘i elab, olib tashlanadi. Olingan undan 2% li ekstrakt tayyorlanadi. Reaksiya uchun soya unining 1–2% li suspenziyasini ham ishlatsa bo‘ladi. Ureaza manbayi sifatida tarvuz urug‘idan ham foydalaniladi. Buning uchun 1–2 g tarvuz urug‘i qobig‘idan tozalanadi, urug‘ni 2–3 ml suvda hovonchada ezib, maydalab, filtrlanadi. Tajriba ishlarida filtratdan tashqari urug‘ni ezilgan bo‘tqasidan ham foydalansa bo‘ladi.

**21. 2,4-dinitrofenilgidrazinning 2 mol/l xlorid kislotasidagi 0,1% li eritmasi.** 100 mg 2,4-dinitrofenilgidrazinga 1:4 nisbatda suyultirilgan xlorid kislotasidan 100 ml qo'shib, eritiladi va eritma filtrlanadi.

**22. To'yintirilgan toluol olishda teng hajmda distillangan suv bilan haydalgan toluol arlashtirilib, yaxshilab chayqatiladi.** So'ngra ajratkich voronkada eritmaning ustki qismi olinib, tajriba ishi uchun foydalaniladi.

**23. Glukozani 200 mg% standart eritmasi.** 100° C haroratda doimiy og'irligigacha quritilgan 500 mg glukozani 0,2% li benzoy kislotasi eritmasi bilan 100 ml o'lchov kolbasida eritilib, 500 mg% li glukozani eritmasi olinadi. Benzoy kislotasi eritmasi quyidagicha tayyorlanadi: 0,2 g benzoy kislotasi kristalini biroz miqdordagi suv bilan suv hammomida butunlay eriguncha qizdiriladi. Xona haroratigacha sovutilgach, 100 ml kolbaga o'tkazib, distillangan suv bilan kolbaning belgisigacha to'ldiriladi. Benzoy kislotasi glukozaning standart eritmasini turg'unligini (stabiligini) oshiradi. Tajribada glukozani suvli eritmasidan ham foydalanish mumkin, ammo bunday standartni saqlanish muddati juda ham qisqa. Standart ekstinksiyasi katta tebranish bermasligi kerak, aks holda yangi standart tayyorlanadi. Standart eritma muzlatkichda saqlanadi.

### Suyultirilgan etalonli eritmalar tayyorlash

Suyultirilgan standart eritma № probirkalar	500 mg/100 ml standart eritma	Qo'shiladigan distillangan suv	Olinadigan glukozani konsentratsiyasi
1	5,0 ml	0 ml	500 mg/100 ml
2	4,0 ml	1,0 ml	400 mg/100 ml
3	3,0 ml	2,0 ml	300 mg/100 ml
4	2,0 ml	3,0 ml	200 mg/100 ml
5	1,0 ml	4,0 ml	100 mg/100 ml

**24. Ortoluidinli reaktiv.** 0,15 g tiomochevinaning muzli sirka kislotasini (k.t.) 94 ml da eritiladi va 6 ml rangsiz O-toluidin bilan aralashtiriladi. Reaktiv turg'un, muzlatkichda saqlanadi.

**25. Nilander reaktivi.** 2 g asosiy azot oksidining vismutli tuzi va 4 g segnet tuzini 10% li o'yuvchi natriyning 100 ml da qaynab turgan suv hammomida eritiladi, sovutilgach, tushgan cho'kmadan filtrlanadi.

**26. Oqsil eritmasi.** Tovuq tuxumi oqsili sarig'idan ajratilib, 19–20 barobar hajmdagi suv bilan aralashtiriladi va bir necha qavatli doka orqali filtrlanadi.

**27. Fosfovanilin reaktivi.** 4 qism konsentrlangan orto-fosfat kislotasi va 1 qism 0,6% li vanilinning suvli eritmasi aralashmasi. Reaktiv qora idishda xona haroratida saqlanadi.

**28. Misli reaktiv.** 6,45% li mis nitrat uchgidrat eritmasidan  $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$  10 hajm, 1 ml li trietanolamin (nisbiy molekular massasi – 149) eritmasidan 9 hajm va 1 n li sirka kislotasidan 1 hajm olib tayyorlanadi.

**29. Ammoniy molibden oksidini 4% li eritmasi.** 4 g maydalangan kimyoviy toza ammoniy molibdatni 100 ml distillangan suvda eritiladi. Eritma muzlatkichda saqlanganda bir necha hafta davomida ishlatish mumkin.

**30. Aminonaftolsulfon kislotasi – eykonogenning asosiy eritmasidan tayyorlanadigan ishchi eritmasi.** Asosiy eritmani tayyorlash uchun 30 g natriy gidrosulfid  $\text{NaHSO}_3$  100–150 ml distillangan suvda tamomila eriganidan so'ng eritmaga 0,5 g eykonogen qo'shiladi. Eykonogen sekin erigani uchun shisha tayoqcha bilan aralashtirib turiladi. Alohida oz miqdordagi suvda 6 g suvsiz natriy sulfid –  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  eritiladi. Ikkala eritma aralashtirilib, hajmi suv bilan 250 ml ga yetkaziladi. 2–3 soat o'tkazib, eritma filtrlanadi va reaktiv qora shisha idishda bir oy davomida muzlatkichda saqlanishi mumkin. Reaktivdan foydalanishda avval ishchi eritma tayyorlanadi. Buning uchun 10 ml asosiy eritmani distillangan suvda 2,5 marta suyultiriladi.

**31. Kaliy digidrofosfatning ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) 1 ml da 0,01 mg fosfor saqlagan standart ishchi eritmasi.** Asosiy standart eritmani tayyorlash uchun 4,39 g kaliy digidrofosfatni ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )  $120^\circ\text{C}$  da barqaror og'irlikgacha quritib, distillangan 1 l suvda eritiladi, konservant sifatida 1 tomchi xloroform tomiziladi. 1 ml eritma 1 mg fosfor saqlaydi. Standart ishchi eritma tayyorlashda asosiy standart eritmani distillangan suv bilan 100 marta suyultiriladi. 1 ml ishchi standart eritma 0,01 mg fosfor saqlaydi. Eritmalar muzlatkichda saqlanadi.

**32. Muzli sirka kislotasining tozaligini tekshirish.** Sirka kislotasining tozaligi quyidagicha aniqlanadi: 7–8 ml muzli sirka kislotasi saqlagan probirkaga k aliy permanganatning bir nechta kristallchalari tushirilib, aralashtiriladi va 40 daqiqaga xona haroratida qoldiriladi. Shu vaqt oralig'ida sirka kislotasi rangi o'zgarmasa, uni ishlatish mumkin.

Taqqoslash uchun xuddi shuncha miqdordagi kaliy permanganat kristallari shuncha hajmdagi suvga tushirilganda suv pushti rangga bo'yaladi.

**33. Temir xloridining asosiy eritmasidan tayyorlangan ishchi eritmasi.**

a) temir xloridining asosiy eritmasi: 2,5 g temir xloridining ( $\text{FeCl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) 80 ml konsentrlangan ortofosfat kislotasida qizdirib eritiladi. Sovutilgan eritmaga ortofosfat kislotasidan 100 ml ga yetguncha quyiladi.

b) temir xloridining ishchi eritmasi. 8 ml temir xloridining asosiy eritmasini ehtiyotlik bilan 80 ml li (saval probasidagi) konsentrlangan sulfat kislotasi bilan aralashtiriladi. Sovutilgan eritmani sulfat kislotasi bilan 100 ml ga yetkaziladi. Eritma qora shisha idishda saqlanadi.

**34. Xolesterinning 1 ml da 1 mg xolesterin bo'lgan asosiy standart eritmasini tayyorlash.** 100 mg xolesterinni muzli sirka kislotasining 70–80 ml da qaynab turgan suv hammomida qizdirib, eritiladi. Sovutilgan eritmani muzli sirka kislotasi bilan

o'lovli kolbada 100 ml ga yetkaziladi. Eritmaning 1 ml da 1 mg xolesterin bor. Xona haroratida saqlab, 6–7 kun davomida ishlatsa bo'ladi.

**35. Tiobarbiturat kislotasining (TBK) 0,5 % li eritmasini tayyorlash.** Eritmani tayyorlash uchun 30 ml suv solingan kolbaga 500 mg TBK solinib, 90–100° C li suv hammomida chayqatib turilgan holda batamom eriguncha ushlab turiladi. So'ngra eritma hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

**36. Metafosfor kislotasining 0,5% li eritmasini tayyorlash** uchun 30 ml suv solingan kolbaga 500 mg TBK solinib, 90–100° C li suv hammomida chayqatib turilgan holda batamom eriguncha ushlab turiladi. So'ngra eritma hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi.

**37. Metafosfor kislotasining 0,5% li eritmasini tayyorlash.** Filtrlab tayyorlangan 25% li muzlatkichdagi eritmasidan tajriba o'tkaziladigan kuni suyultirib tayyorlanadi.

**38. Me'da shirasi yoki 0,2% li xlorid kislotasidagi pepsinning 0,1% li eritmasi.** Oshqozon shilliq pardasini 37° C dagi fiziologik eritma bilan yuviladi, qiymalab, teng hajmda 0,4% li xlorid kislotasi qo'shiladi. Bir sutka o'tkazib, buklangan filtr qog'ozi orqali filtrlanadi. Sotuvdagi pepsin preparatidan ham foydalansa bo'ladi, bunda 1 g pepsinni 0,2% li xlorid kislotasining 1 l da eritiladi va bir necha soatdan so'ng filtrlab, muzlatkichda saqlanadi.

**39. Tarkibida erkin xlorid kislotasi bo'lgan me'da shirasi.** 3 g natriy digidrofosfat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) ni bir litrli kolbada solishtirma og'irligi 1,1 bo'lgan xlorid kislotasining 6 ml da eritiladi va eritma hajmini suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

**40. Tarkibida xlorid kislotasi bo'lmagan me'da shirasi.** 3 g natriy fosfatni suvda eritib, eritma hajmini suv bilan 1 litrga yetkaziladi.

**41. Alaninaminotransferazani aniqlash uchun substrat eritmasi.** 29,2 mg  $\alpha$ -ketoglutarat kislotasi va 1,78 mg DL-alanin

(agar DL-alanin o'rniga L-alanin olinsa, miqdori ikki marta kamaytiriladi) analitik tarozida tortib olinib, 1 n o'yuvchi natriy eritmasida eritiladi. O'yuvchi natriyni ehtiyotlik bilan, oz-oz miqdorda, tarkibiy qismlar butunlay erib, pH 7,4 ga yetguncha qo'shiladi (ora-orasida indiktaor qog'ozi bilan o'lchab turiladi). Eritma 100 ml hajmdagi kolbaga quyib chayqitilgach, 0,1 m fosfatli bufer bilan 100 ml ga yetkaziladi, yaxshilab aralashtirib, 1 tomchi xloroform tomiziladi va muzlatkichda saqlanadi. Xiralashgan eritma ishlatishga yaramaydi.

**42. 2,4-Dinitrofenilgidrazinning 1 n xlorid kislotasidagi eritmasi.** 19,8 mg 2,4-DNFG ni ozgina 1 n xlorid kislotasida suv hammomida qizdirilib, eritiladi. Sovutilgach, hajmi xlorid kislotasi bilan 100 ml ga yetkaziladi. Ertasiga reaktiv filtrlanib, qora shisha idishda muzlatkichda saqlanadi va yil davomida ishlatsa bo'ladi.

**43. O'yuvchi natriyning 0,4 n li eritmasini tayyorlash.** O'yuvchi natriyning karbonatlardan holi bo'lgan 0,4 n li eritmasini bir necha kun davomida idishda saqlangan (karbonatlarni cho'ktirish uchun) o'yuvchi natriyning taxminan 50% li eritmasidan tayyorlanadi. Mazkur eritma qaynatib sovutilgan kolbadagi distillangan suv bilan solishtirma og'irligi 20° C da 1,016 va 15° C da 1,018 ga yetguncha suyultiriladi va yaxshilab berkitiladigan idishda (CO<sub>2</sub> yutilishini oldini olib) saqlanadi.

**44. Diazoreaktiv – ikkita reaktiv (I, II) ni o'zaro aralashmasidan hosil bo'ladi.**

**Diazoreaktiv I.** 5 g sulfonil kislotasi 300–400 ml distillangan suvda qizdirilib, eritiladi va solishtirma og'irligi 1,19 bo'lgan konsentrlangan xlorid kislotasidan 15 ml qo'shiladi. Agar sulfonil kislotasi to'la erimasa kolbani issiq suvga joylashtiriladi va aralashtirib turiladi. Sulfonil kislotasi to'la eritilib, sovutilgandan so'ng eritma hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi, eritma barqaror, qora shisha idishda saqlanadi.

**Diazoreaktiv II.** Natriy nitrit ( $\text{NaNO}_2$ ) ning 0,5% li eritmasidan iborat bo‘lib, qora shisha idishda 2–3 hafta saqlanadi. Agar eritmada sarg‘ayish belgilari paydo bo‘lsa, ishlatishga yaramaydi.

Foydalanishdan oldin 10 ml diazoreaktiv I 0,3 ml diazoreaktiv II bilan aralashtiriladi.

**45. Gistidin monogidroxloridning 0,2 m eritmasi.** Tayyorlash uchun 418 mg L-gistidin monogidroxlorid 1 m NaOH (pH-8,2) ni 100 ml da eritiladi.

**46. Pirofosfatli bufer, 0,1 m eritma, pH-8,2.** 4,46 g natriy pirofosfatni 100 ml suvda 200 ml o‘lchamli kolbada eritilib, 0,1 m xlorid kislotasi eritmasi bilan pH-8,2 yetkaziladi va belgigacha distillangan suv quyiladi.

**47. Tarkibida glutation va albumin saqlagan faollashtirilgan eritma.** Hajmi 100 ml bo‘lgan o‘lchov kolbasiga 155 mg qaytarilgan glutation va 400 mg kristallangan albumin solinib, 50 ml distillangan suvda eritiladi va pH 1 m natriy gidroksid yordamida 8,2 ga yetkaziladi, so‘ngra belgisigacha suv to‘ldiriladi.

**48. Urokanin kislotasining 0,001 m eritmasi.** Kalibrlash grafigi tuzish uchun 8,7 mg urokanin digidrat kislotasining 50 ml li o‘lchov kolbasida natriy gidroksidning 0,001 m li eritmasida eritiladi.

**49. Pikrin kislotasining to‘yingan eritmasi.** Sotuvdagi pikrin kislotasining namligi 15–20% ga yetadi. Kislotani quritish kerak emas, chunki portlash xavfi bor! 2 g pikrin kislotasining isitilgan suv hammomida 100 ml suvda eritiladi, so‘ngra vaqti-vaqti bilan aralashtirilib turgan holda 24 soatga qoldiriladi va filtrlanadi. Reaktiv barqaror, qora idishda saqlanadi.

**50. Kreatininning asosiy standart eritmasi.** 100 mg kreatinin 0,1 n li xlorid kislotasining 100 ml da eritiladi va buramali tiqin bilan mahkam yopiladigan idishda muzlatkichda saqlanadi.

**51. Gomogentizin kislotasi saqlagan siydikni tayyorlashda gomogentizin kislotasi bo‘lmasa, siydikning 500 ml ga 10 g gidroxinon qo‘shiladi.**



**52. Nitrat kislotasidagi ammoniy molibden oksidi eritmasi.** 7,5 g ammoniy molibden oksidi 100 ml suvda eritiladi va 100 ml 32% linitratkislotasi (solishtirma og'irligi 1,2) qo'shiladi. Ammoniy molibden oksidini to'la erishi nitrat kislotasi qo'shilgandan keyin kuzatiladi.

**53. Kaliy digidrofosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) ning standart ishchi eritmasi.** 1 ml da 0,02 mg fosfor saqlagan asosiy standart eritmasi. 0,4389 g tuzning o'lchov kolbasida 100 ml li distillangan suvda eritiladi. 1 ml eritmada 1 mg fosfor saqlanadi.

Standart ishchi eritma. 2 ml asosiy standart eritma kolbada 100 ml distillangan suvda eritiladi. 1 ml ishchi eritma 0,02 mg fosfor saqlaydi. Eritmalar muzlatkichda saqlanadi.

**54. Tris-bufer. 24,2 g tris (gidroksimetil) aminometanni** 500 ml distillangan suvda 1 l li kolbada eritiladi. pH-7,4 bo'lishi uchun eritmaga 170 ml 1 m HCl qo'shib, hajmi suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

**55. Biuret reaktivi.** 173 g natriy sitratni va 100 g natriy karbonatni 300 ml distillangan suvda suv hammomida eritiladi. Alohida 300 ml suvda 17,3 g mis sulfati eritilib, ikkala eritmalar qo'shiladi va umumiy hajmi 1 l ga yetkaziladi.

**56. Nash reaktivi.** 100 ml hajmdagi kolbada 15,4 ammoniy atsetat, 0,3 g muzli sirka kislotasi va 0,2 g atsetilatseton distillangan suvda eritiladi.

**57. 0,1 m li ishqoriy fosfat buferi, pH-7,4.** 13,6 g kaliy digidrofosfat 200 ml distillangan suvda eritiladi, so'ngra 1 m li NaOH eritmasi bilan pH 7,4 ga yetkaziladi va eritma hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

**58. 0,4 m tris HCl buferi, pH-7,6.** 12,1 g tris-oksimetilaminometan 100 ml distillangan suvda eritiladi va 40 ml konsentrlangan xlorid kislotasi bilan pH 7,6 ga yetkaziladi, eritma hajmi distillangan suvda 250 ml gacha to'ldirilib filtrlanadi.

**59. Nash reaktivi.** Tarkibida bir xil miqdorda 2 m ammoniy atsetat, 0,05 m muzli sirka kislotasi va 0,02 m atsetilatseton saqlagan eritma.

**60. 2% fenolning 0,2 m natriy gidroksiddagi eritmasi.** Buning uchun 2 g o'yuvchi natriy eritilgan 150 ml suvda 5 g fenol eritilib, suv hajmi 250 ml ga yetkaziladi.

**61. 4-Aminoantipirinning standart eritmasi.** Kalibrlash egri chizig'i tuziladigan kuni 30 mg moddani 100 ml suvda eritilib tayyorlanadi.

**62. Ammiakli bufer, pH-10,5.** 20 g ammoniy xloridning 25% li ammiak eritmasi 100 ml da eritiladi.

**63. Yangi tayyorlangan NAD eritmasi.** 3,3 g NAD ni 0,25 m butanol eritmasining 1 ml da eritiladi.

**64. 0,5 % li p-oksidifenilning 1,5% li o'yuvchi natriydagi eritmasi.** 1,5 g para-oksidifenilni 5% li kimyoviy toza (k.t.) o'yuvchi natriyning 10 ml da eritilib, 90 ml yangi qaynatilgan suv qo'shiladi. Eritma 2–4 hafta davomida ishlatishga yaraydi.

**65. Piruvatning natriyli tuzining ( $\text{CH}_3\text{COCOONa}$ ) standart eritmasini tayyorlash.** 11 mg natriy piruvat kristallini (oq rangli) ko'p bo'lmagan distillangan suvda eritilib, 100 ml o'lchov kolbasiga o'tkaziladi va eritma hajmi 100 ml ga yetkaziladi. Bunda 1 ml eritmada 110 mkg piruvat natriy saqlanib, bu miqdor 88 mg pirozum kislotasiga to'g'ri keladi.

**66. 0,1 m li atsetatli bufer eritmasi, pH-4,0** 180 ml 0,1 m atsetat natriy 8,20 0,1 m sirka kislotasi bilan aralashtiriladi.

**67. Tarkibida natriy volfram oksidi va natriy sulfid tutgan oqsil cho'ktiruvchi eritma.** 1 l hajmli kolbaga 44,8 ml 10% li natriy volfram oksidi quyilib, 2 g natriy limon oksidi va 5,4 g natriy sulfat qo'shiladi, taxminan 800 ml suvda eritiladi, so'ngra 44,8 ml 1 n sulfat kislotasi, 2 g kadmiy sulfat qo'shib, suv hajmi 1 l ga yetkaziladi. Cho'ktiruvchi eritmani kadmiysiz ham tayyorlasa bo'ladi, lekin bu vaqtda natija aniqligi pasayadi, chunki kadmiy qondagi oltingugurtli birikmalarni cho'ktiradi.

**68. "Kofeinli reaktiv".** 5 g toza kofein 7,5 g benzoil kislotasining natriyli tuzi va 12,5 g sirka kislotasining natriyli tuzini 90 ml distillangan tuzida eritib, 50–60° C da qizdirib aralashtiriladi.

Sovutilgach, hajmi suv bilan 100 ml ga yetkaziladi. Saqlanish mudati – 2 hafta.

**69. Bilirubinning 80 mg% li asosiy standart eritmasi.** Bilirubinning kristall preparatlari o'z xususiyatlari bilan farqlanadi. Kalibrli grafik tuzish uchun bilirubinni 1 mg% li xloroformdagi eritmasi 1 sm qalinlikdagi kyuvetada spektrofotometning 453 nm to'lqin uzunligida 1,01 dan 1,07 gacha absorbsiya beradigani ishlatiladi. 40 mg (80mg%) bilirubin 50 ml hajmli kolbada 0,1 m natriy karbonat tuzi eritmasining 30–35 ml da (10,6 g suvsiz  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1 l distillangan suvda eritilgan) eritiladi. Yaxshilab chayqatilib,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  ni 0,1 m eritmasi miqdori 50 ml ga yetkaziladi. Eritma 10 daqiqa davomida ishlatiladi, vaqt o'tishi bilan bilirubin oksidlanadi.

**70. Bilirubinning 0,1 mg/ ml dagi ishchi eritmasi va kompensatsiya suyuqligi.** 13,9 ml gemolizlanmagan sog'lom odam zardobiga 2,0 ml yangi tayyorlangan 80 mg% li bilirubin eritmasidan va 0,1 ml 4 n sirka kislotasi (25 ml muzli sirka kislotasini distillangan suvda 100 ml ga yetkaziladi) qo'shib, yaxshilab aralashtiriladi. Bu vaqtda karbonat angidridi gazining pufakchalari ajraladi. Ishchi eritmani bir necha kun saqlasa bo'ladi. Mazkur eritma zardob tayyorlash uchun olingan eritmaga nisbatan rosa 10 mg% ortiq bilirubin saqlaydi. Hisoblashda ushbu zardobda saqlanayotgan bilirubin miqdoridan holi bo'lish uchun FEK da o'lchanayotganda standart namunani ekstinksiya kattaligidan kompensatsion suyuqlikni unga mos suyultirilgan eritmadan ekstinksiya kattaligi ayirib tashlanadi. Kompensatsion suyuqlikni tayyorlash uchun 13,9 ml standart bilirubin tayyorlashda foydalanilgan zardobni 2,0 ml 0,1 m  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  eritmasi va 0,1 ml 4 n sirka kislota eritmasi bilan aralashtiriladi.

**71. Larionova reaktivi.** 20–30 g natriy xloridni 100 ml distillangan suvda qizdirib eritiladi, sovgach filtrlanadi. 99 ml filtratga 1 ml konsentrlangan nitrat kislotasi qo'shiladi.

**72. Gipobromit eritmasi.** Gipobromit eritmasi *A* va *B* reaktivlar aralashmasidan iborat. *A* eritmasi  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $A_3$  eritmalaridan tashkil topgan.

$A_1$  eritmasi: 84,5 g bor kislotasi va 25,6 g o'yuvchi natriyni 500 ml dagi suvda eritilib, 30 daqiqa davomida qaynatiladi, so'ngra sovutilib, hajmi distillangan suv bilan 1 l ga yetkaziladi.

$A_2$  eritmasi – natriy fluoridning (5%) to'yingan eritmasi; 5 g natriy fluoridning 100 millilitri issiq suvda eritiladi va issiq eritmani qog'oz filtr orqali filtrlanadi.

$A_3$  eritmasi – o'yuvchi natriyning 27% li eritmasi.

**A eritma** 250 ml  $A_1$  eritmasini 150 ml  $A_2$  va 50 ml  $A_3$  eritmalar bilan, ya'ni 5:3:1 nisbatda aralastiriladi. Aralashma turg'un. Bor kislotasi tajribaga xalaqit beruvchi qondagi qandni o'ziga bog'laydi. Bor kislotasi ishtirok qilganda gipobromit glukozaga ta'sir ko'rsatmaydi.

**73. Xlorid kislotasining 18% li eritmasi.** Solishtirma og'irligi 1,19 bo'lgan konsentrlangan xlorid kislotasini distillangan suv bilan 1:1 nisbatda suyultiriladi.

**74. Giposulfit natriyning ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 0,005 n eritmasi.** Giposulfit natriyning 0,1 n eritmasini 20 marta suyultirish ishlash oldidan tayyorlanadi, ya'ni 5 ml 0,1 n li giposulfit natriy eritmasiga 9,5 ml suv qo'shiladi). 0,1 n eritma fiksonaldan yoki giposulfit natriy kristalidan tayyorlanadi: 25 g giposulfit natriy 1 l yangi qaynatilib, xona haroratigacha sovutilgan distillangan suvda eritiladi. Eritma mahkam yopiladigan qora shisha idishda saqlanadi. 2 haftadan so'ng eritma titri aniqlanadi. Bu maqsad uchun 0,1 n kaliy ikki xrom oksididan yoki 0,005 n li  $\text{KIO}_3$  eritmasidan foydalaniladi.

## II. Bufer eritmalarni tayyorlash

### Atsetatli bufer

1-jadval

Natriy atsetat, ml	Sirka kislota, ml 0,2 m	pH	Natriy atsetat	Sirka kislota, 0,2 m ml	pH
0,75	9,25	3,6	5,90	4,10	4,8
1,20	8,80	3,8	7,00	3,00	5,0
1,80	8,20	4,0	7,90	2,10	5,2
2,65	7,35	4,2	8,60	1,40	5,4
3,70	6,30	4,4	9,10	0,90	5,6
4,90	5,10	4,6	9,40	0,60	5,8

### Fosfatli bufer (pH-5,8–8,0)

2-jadval

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , 0,2 m; ml	$\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$ , 0,2 m; ml	Suv, ml	pH
8,0	92,0	200 gacha	5,8
12,3	87,7	200 gacha	6,0
18,5	81,5	200 gacha	6,2
26,5	73,5	200 gacha	6,4
37,5	62,5	200 gacha	6,6
49,0	51,0	200 gacha	6,8
61,0	39,0	200 gacha	7,0
12,0	28,0	200 gacha	7,2
81,0	19,0	200 gacha	7,4
87,0	13,0	200 gacha	7,6
91,5	8,5	200 gacha	7,8
94,7	5,3	200 gacha	8,0

### Tris-bufer (pH-7,1–9,2)

3-jadval

pH	HCl, ml	pH	HCl,ml
7,1	189	8,3	70
7,2	183	8,5	50
7,4	170	8,7	16,5
7,8	150	9,2	5,75
8,1	90		

### Sirka kislota eritmalarining zichligi, foiz va molyar konsentratsiyasi

4-jadval

20°C dagi zichligi, g/sm <sup>3</sup>	CH <sub>3</sub> COOH konsentratsiyasi		20°C dagi zichligi, g/sm <sup>3</sup>	CH <sub>3</sub> COOH konsentratsiyasi	
	foiz	mol/l		foiz	mol/l
1,000	1,20	0,200	1,050	40,2	7,03
1,005	4,64	0,777	1,055	4609	8,24
1,010	8,14	1,37	1,060	53,4	9.43
1,015	11,7	1,98	1,065	61,4	10.9
1,020	15,4	2.61	1,070	77-79	13,7–14,1
1.025	19.2	327	1,065	91.2	62
1,030	23,1	3,96	1,060	95,4	16,8
1,035	27,2	4,68	1,055	98,0	17,2
1,040	31,6	5,46	1,050	99,9	17,5
1,045	36,2	6,30			

## Bufar aralashmalar

Fosfat – sitrat bufer aralashmasi quyidagi ikkita eritmadan tayyorlanadi: 21,018 g limon kislotaning monogidratidan tayyorlangan 0,1 mol eritmasi va 35,598 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  dan tayyorlangan 0,2 M natriy gidrofosfat eritmasi. Ikkala eritma turli nisbatlarda aralashtirilib, pH kattaligi turlicha bo'lgan eritmalar olinadi.

5-jadval

Limon kislotasi (ml)	Natriy gidrofosfat, (ml)	pH	Limon kislotasi (ml)	Natriy gidrofosfat, (ml)	pH	Limon kislotasi (ml)	Natriy gidrofosfat, (ml)	pH
19,60	0,40	2,2	11,72	8,28	4,2	6,78	13,22	6,2
18,78	1,24	2,4	11,18	8,82	4,4	6,15	13,85	6,4
17,82	2,18	2,6	10,65	9,35	4,6	5,45	14,55	6,6
16,83	3,17	2,8	10,14	9,86	4,8	4,55	15,45	6,8
15,89	4,11	3,0	9,70	10,30	5,0	3,63	16,47	7,0
15,06	4,94	3,2	9,28	10,72	5,2	2,61	17,39	7,2
14,30	5,70	3,4	8,85	11,15	5,4	1,83	18,17	7,4
13,56	6,44	3,6	8,40	11,60	5,6	1,27	18,73	7,6
12,90	7,10	3,8	7,91	12,09	5,8	0,85	19,15	7,8
12,29	7,71	4,0	7,37	12,63	6,0	0,55	19,45	8,0

**Fosfat – bufer aralashmasi** quyidagi ikkita eritmadan tayyorlanadi: 1,15 M natriy gidrofosfat (11,876 g  $\text{Na}_2 - 2\text{H}_2\text{O}$ ) va 1,15 M kaliy digidrofosfat (9,078 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ). Ikkala eritma quyidagi hajmiy nisbatlarda aralastirib, pH kattaligi turlicha bo'lgan eritmalar olinadi.

6-jadval

$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml)	pH	$\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (ml)	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (ml)	pH
0,00	10,00	4,9	6,00	4,00	6,89
0,10	9,90	4,94	7,00	3,00	7,17
0,25	9,75	5,29	8,00	2,00	7,38
0,50	9,50	5,59	9,00	1,00	7,13
1,00	9,00	5,91	9,50	0,50	8,04
2,00	8,00	6,24	9,75	0,25	8,34
3,00	7,00	6,47	9,90	0,10	8,67
4,00	6,00	16,64	10,00	0,00	9,18
5,00	5,00	6,81			



## Indikatorlarning ionlari va ularning ba'zi xossalari xarakteristikasi

7-jadval

Nomi	Rangning o'zgarish zonasi	Rangi	
		Nordon muhitda	Ishqorli muhitda
Dimetilaminoazobenzol	2,9-4,0	Qizil	To'q sariq
Metiloranj	3,1-4,4	-«-	-«-
Kongo	3,1-5,2	Ko'k-sapsar	Qizil
Metilrot	4,2-6,3	Qizil	Sariq
Alfa-dinitrofenol	2,8-4,5	Rangsiz	-«-
Gamma-dinitrofenol	4,0-5,5	- -	-.-
Para-nitrofenol	5,2-7,0	-«-	-«-
Meta-nitrofenol	6,7-8,4	-«-	-«-
Lakmus	5,0-8,0	Qizil	Ko'k
Tashiroindikator	4,4-6,2	Sapsar	Yashil
Fenolftalein	8,2-10,00	Rangsiz	Qizil
Timolftalein	9,3-10,5	-«-	Ko'k
Alizarin sarig'i	10,1-12,0	Sariq	Sapsar
Krezol purpuri	7,4-9,0	-«-	Qirmizi
Fenol - qizg'ish	6,4-8,0	-«-	Qizil
Bromtimol - ko'ki	6,0-7,6	-«-	Ko'k
Bromfenol ko'ki	3,0-4,6	-«-	-«-
Trofeolin	1,4-3,2	Qizil	Sariq
Kristallfiolet	0,0-2,0	Yashil	Sapsar

**O'yuvchi kaliy eritmasining zichligi, normal va foiz konsentratsiyalari**

*8-jadval*

<b>Zichligi, (15°C da)</b>	<b>Normalligi</b>	<b>Foiz</b>	<b>Zichligi, (15°Cda)</b>	<b>Normalligi</b>	<b>Foiz</b>
1,100	2,13	10,85	1,340	8,26	34,60
1,120	2,59	12,96	1,360	8,84	36,47
1,140	3,05	14,99	1,380	9,42	38,25
1,160	3,53	17,08	1,400	10,00	40,09
1,180	4,02	19,13	1,420	10,60	41,88
1,200	4,52	21,15	1,440	11,20	43,64
1,220	5,03	23,13	1,460	11,81	45,38
1,240	5,55	25,11	1,480	12,42	47,09
1,260	6,08	27,05	1,500	13,04	48,79
1,280	6,61	28,97	1,520	13,68	50,48
1,300	7,15	30,87	1,540	14,31	52,15
1,320	7,70	32,74			

**O'yuvchi natriy eritmasining zichligi,  
normal va foiz konsentratsiyalari**

*9-jadval*

<b>Zichligi, (15 °C da)</b>	<b>Normalligi</b>	<b>Foiz</b>	<b>Zichligi, (15 °C da)</b>	<b>Normalligi</b>	<b>Foiz</b>
1,100	2,47	8,99	1,320	9,54	28,92
1,120	3,02	10,79	1,340	10,31	30,78
1,140	3,59	12,59	1,360	11,13	32,74
1,160	4,17	14,39	1,380	11,96	34,66
1,180	4,78	16,19	1,400	12,81	36,60
1 200	5,40	17,99	1,420	13,70	38,58
1,220	6,04	19,80	1 ,440	14,61	40,58
1,240	6,70	21,60	1,460	15,56	42,62
1,260	7,37	23,42	1,480	16,54	44,70
1,280	8,08	25,25	1,500	17,55	46,8'0
1,300	8,79	27,07	1,520	18,58	48,90

### III. Organizm suyuqlik muhitining ba'zi biokimyoviy ko'rsatkichlari

10-jadval

Aniqlanuvchi komponent	Tekshiriluvchi material	Normal kattaliklar		
		An'anaviy birlikda	Hisoblash koeffitsiyenti	Tavsiya qilinuvchi birlik (SI)
1	2	3	4	5
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/100ml	0,714	14,3–28,6 mmol/l
Tuzli fraksiyalangan albumin	Zardob	3,2–4,5 g/100ml	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
Alfa-amino-levulin kislota	Zardob	0,01–0,03 mg/100 ml	76,0	0,76–2,28 mkrmol/l
Alfa-antitripsin	Plazma	200–400 mg/100ml	0,1852	37,04–74,08 mkmol/l

1	2	3	4	5
sAMF	Plazma	0,25–1,0 mkg/100ml	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– 7,8g/100ml	10,0	60–78 g/l
Bilirubin:	Zardob			
bevotsita	--<<--	0,05–0,25 mg/100 ml	17,104	0,86–4,3 mkmol
bilvotsita	--<<--	0,1–1,0 mg/100 ml	17,104	1,7–17,1 mkmol
umumiy	--<<--	0,1–12 mkg/100ml	17,104	1,7–20,5 mkmol
A vitamini	--<<--	15–60 mkg/100 ml	0,035	0,52–2,1 mkmol
B <sub>1</sub> vitamini	Plazma	1,0–1,5 mkg/100 ml	0,03	0,03–0,045 mkmol
B <sub>2</sub> vitamini	Qon	12 mkg/100 ml	0,275	0,033 mkmol
B <sub>12</sub> vitamini	Qon	0,06–0,14 mkg/100 ml	7,367	0,44–1,03 nmol
C vitamini	Plazma	0,6–1,6 mg/100 ml	56,776	34,1–90,8 mkmol
	Qon	0,7–2,0 mg/100 ml	56,776	39,7–113,6 mkmol/l
H (biotin)	Plazma	0,9–1,8 mkg/100 ml	40,93	36,8–65,5 nmol/l
H (biotin)85	Plazma	1–1,8 mkg/100 ml	0,059	0,059–1,06 mkmol/l

10-jadvalning davomi

1	2	3	4	5
Galaktoza	Zardob	2-17 mg/100 ml	55,51	111-943,7 mkmol/l
Gemoglobin:	Zardob yoki plazma			
erkaklarda	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 ml	89,83	17,99-71,94 nmol/l
Glikogen	Qon	1,62-3,87 mkg/100 ml	10,0	16,2-38,7 mg/l
Globulinlar	Zardob	2,3-3,5 mg/100 ml	10,0	23-35 g/l
Glukoza	Zardob yoki plazma	70-110 mg/100 ml	0,0555	3,88-6,105 mmol/l
Glukozamin- lar kattalarda	Zardob	61-78 mg/100 ml	0,0558	3,4-4,35 mmol/l
bolalarda	Zardob	52-69 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/l
O't kislotalar	--<<--	0-3,0 mg/100 ml	25,47	0,76-4 mkmol/l
Temir	--<< -	65-175 mkg/100 ml	0,1791	44,8-80,6 mkmol/l
Immuno- globulin G	Plazma	800-1800 mg/100 ml	0,0625	50-112,5 mk/mol

1	2	3	4	5
Immuno- globulinlar: A	Plazma	90–450 mg/100 ml	0,0625	5,62–28,12 mkmol
M	--<<--	60–250 mg/100 ml	0,01	0,6–2,25 mkmol
D	--<<--	5 mg/100 ml	0,0502	0,26 mkmol/l
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
Ekstrlangan butanol	Zardob	3,5–6,5 mkg/100 ml	78,796	275,79–512,17 mmol/l
Kaliy	Plazma	3,8–4,6 mg-ekv/l	1,0	3,8–4,6 mmol/l
	--<<--	15–16 mg/100 ml	0,256	3,8–4,6 mmol/l
	Eritrotsit- lar	79,8–99,3 ekv/l	1,0	79,8–99,3 mmol/l
	--<<--	312–388 mg/100 ml	0,256	79,7–99,3 mmol/l
Kalsiy:	Zardob	4,2–5,2 mg/ml	0,2495	1,05–1,30 mmol/l
ionlangan	--<<--	2,1–2,6 mg-ekv/l	0,5	1,05–1,30 nmol/l

10-jadvalning davomi

1	2	3	4	5
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	3 mg/l
17-keto- steroid	Plazma	25–125 mkg/100 ml	0,0345	0,86–4,3 l mk/mol
Kislota ishqor muvozanati:		21–25 mg-ekv/l	1,0	21–25 mmol/l
Standart bikarbonat				
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 (Ve)	Plazma	(–2,4)–(+2,3) mk-ekv/l	1,0	(–2,4)–(+2,3) mmol/l
CO <sub>2</sub> ning parsial bosimi	Arteriya qoni	35,8–46,6 mm suv ust.	0,133	4,76–6,2 kPa
	Vena qoni	46–58 mm suv ust.	0,133	6,1–7,7 kPa
Kislородning parsial bosimi	Arteriya qoni	95–100 mm suv ust.	0,133	12,6–13,3 kPa
	Vena qoni	40–45 mm. suv ust.	0,133	5,3–6,0 kPa



10-jadvalning davomi

1	2	3	4	5
Umumiy karbonat anhidrid	Plazma	23–33 mm/l	1,0	23–333 mmol/l
Umumiy karbonat anhidrid	Plazma	23–33 mm/l	1,0	23–33 mmol/l
Kortizol				
8–10 soat	Plazma	5–25 mkg/100 ml	27,5885	17,9–6+89,7 nmol/l
16–18 soat	Plazma	2–18 mkg/100 ml	27,5885	55,2–496,6 nmol/l
Kreatinin:				
erkaklarda	Zardob yoki plazma	0,2–0,6 mg/100 ml	76,2543	15,25–45,75 mk/mol
ayollarda:	--<<--	0,6–1,2 mg/100 ml	76,2543	45,75–76,25 mk/mol
Kreatinin		0,6–1,2 mg/100 ml	88,4016	63,0–106,1 mk/mol
Lizosim	Plazma	0,5–1,2 mg/100 ml	0,6667	0,3–1,0 mkmol/l
Limon kislotasi	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
	Plazma	640–880 mkg-ekv/l	1,0	640–880 mk/mol

10-jadvalning davomi

1	2	3	4	5
Ovqatlan-gandan so'ng	Plazma	780–1180 –<<–	1,0	780–1180 mkmol
Triglitse-ridlar	Zardob yoki plazma	50–150 mg/100 ml	0,0180	0,59–1,77 mmol/l
Fosfolipidlar:				
Umumiy	Zardob	152,5–362,5 mg/100 ml	0,01	1,52–3,62 g/l
Fosfor-ganisbatan	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	2,97–8,789 nmol/l
Alfa-lipo-proteidlar				
erkaklarda:	Plazma	125–245 mg/100 ml	0,01	1,25–4,75 g/l
ayollarda:	Plazma	250–650 mg/100 ml	0,01	2,5–6,5 g/l
$\beta$ -lipopro-teidlar	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	0,75–1,5 mmol/l
$\alpha$ -makro-globulin	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

1	2	3	4	5
Metgemo- globin	Qon	0,1–0,24 g/100 ml	155,0	0,25–37,2 mkmol/l
Sut kislotasi	Arteriya qoni Vena qoni	3–7mg/100ml 5–20mg/100ml	0,111 0,111	0,33–0,78 mmol/l 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 ekv/l	1,0	13,4–21,7 mmol/l
Neyramin kislota	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
1-oksikorti- kosteroidlar	Plazma	13–23 mkg/100 ml	10,0	130–230 mkg/l
17 -oksikorti- kosteroidlar:	Plazma			

10-jadvalning davomi

1	2	3	4	5
erkaklarda	--<<--	7-19 mkg/100 ml	27,5886	193,-12-5 24,18 nmol/l
ayollarda	--<<--	9-21 mkg/100 ml	27,5886	248,3~579,36 nmol/l
$\beta$ -yog' -oksikislota	Qon	0,14-1,9 mkg/100 ml	96,05	13,4-182,5 mkmol/l
Pirouzum kislota	Qon	0,3-0,9 mkg/100ml	113,56	34,07-102,2 mkmol/l
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
Sial kislotasi	Zardob	55-79 mg/100 ml	10,0	550-790 mol/l
Serotonin	Qon	5,0-30,0 mkg/100 ml	0,0568	0,3-1,7 mkmol/l
Somatotropin	Zardob	10 mg/ml	0,465	0,47 nmol/l
Testosteron:				
erkaklarda	Zardob yoki plazma	400-1200 mg/100 ml	0,0347	13,8-41,6 nmol/l
ayollarda	Zardob yoki plazma	30-120 mg/100 ml	0,0347	1,04-41,6 nmol/l
Tireoglobulin	Zardob	10-26 mkg/100 ml	10,0	100-260 mkg/l

10-jadvalning davomi

1	2	3	4	5
Umumiy tiroksin	--<<--	5-11 mkg/100 ml	12,872	64,36-141,59 n mol/l
Transferrin	Zardob	170-400 mg/100 ml	0,1136	19,3-45,4 mkmol/l
Fenilalanin:				
kattalarda	Zardob	3 mg/ 10,0 ml	0,0605	0,18 mmol/l
chaqaloqlarda	Zardob	1,2-3,5 mg/100ml	0,0605	0,073-0,212 mmol/l
Fibrinogen	Plazma	200-400 mg/100 ml	0,0293	5,9-11,7 mkmol/l
Anorganik 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	55,5-27,75 mkmol/l
Fukoza	Zardob	7,7-0,9 mg/100 ml	60,9156	469,05-548,24 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
Serulo-plazmin	Zardob	23-50 mg/100 ml	0,0662	1,52-3,31 mkmol/l

## Foydalanilgan adabiyotlar

1. Воронина Л.Н., Мадиевская Н.Н. и др. «Биологическая химия» учебник для фармацевтических институтов –Харьков, 1999 г.
2. Кнорре Д.Г., Мызина С.Л. «Биологическая химия» учебник для химико-биологических и медицинских специальностей. –Москва, 2002 г.
3. Дасон Р., Элпиот Д. и др. «Справочник биохимика». –Москва, издательство «Мир», 1991 г., перевод с английского.
4. Северин Е.С. «Биохимия» учебник. – М.: Медицина, 2000 г.
5. Титов В.Н. Лабораторные и инструментальные исследования в диагностике. –М.: Медицина, 2004 г.
6. «Практикум по биологической химии» для студентов медико-биологического факультета. –Томск, 2002 г.
7. Северин С.Е., Алейникова Т.А., Осипов Е.В. «Биохимия»/учебник для студентов медицинских институтов. –М.: Медицина, 2000 г.
8. Лифшиц В.М. «Биохимические анализы в клинике» –М.: Медицина, 2001 г.
9. Зильва Д.Ж. «Клиническая химия в диагностике и лечении»/перевод с английского. –М.: Мир, 1988 г.
10. Ю.Алейникова Т.Л., Рубцова Г.В. «Руководство к практическим занятиям по биологической химии». –М.: «Высшая школа», 1988 г.
11. Зубаиров Д.М., Тимербаев В.Н., Давыдов В.С. «Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии»/Учебное пособие для ВУЗов. –М.: Изд. «Геотар-Медиа», 2005 г.
12. Строев Е.А., Макарова В.Г. «Практикум по биологической химии». –М.: Высшая школа, 1986 г.
13. Пустовалова Л.М. «Практикум по биохимии» для студентов ВУЗов, «Ростов на Дону». 1999 г.
14. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. «Биологическая химия». –М.: Медицина, 1999 г.

15. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. «Руководство к лабораторным занятиям по биохимии». – М.: Медицина, 1988 г.
16. «Лабораторные методы исследования в клинике» под ред. проф. В.В.Меньшикова. –М.: Медицина, 1987 г.
17. Зупанец И.А., Миеюрера И.А. и др. «Клинические лабораторные методы исследования». –Харьков «Прапор», 2000 г.
18. Норма в медицинской практике. Справочное пособие. –М.: «Медпресс», 1998 г.
19. Николаев А.Я. «Биологическая химия». –М.: МИА, 2004 г.
20. Долгов В.А., Морозова В.Т., Марциевская Р.Л. и др. Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей. –М.: Центр, 1999 г.
21. Руководство к практическим занятиям по клинической лабораторной диагностике. Под ред. М.А.Базарновой, В.Т.Морозовой. –Киев, 1990 г.
22. Кухта В.К., Морозкина Т.С., Таганович А.Д., Олецкий Э.И. Основы биохимии. –М.: Медицина, 1999 г.
23. Маршалл В.Дж. Клиническая биохимия. –М.: СПб, издательство БИНОМ – «Невский диалект» 1999 г.
24. Методы клинических лабораторных исследований. – Учебник под ред. проф. В.С.Камышникова. –М.: «Медпрессинформ». 2009 г. Раздел III. Биохимические исследования.
25. Клиническая биохимия. Под ред. академика В.А.Ткачука. Учебное пособие. –М.: Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа» 2008 г.
26. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека. –М.: Издательство «Мир», 1993 г.
27. Лабораторный практикум по биологической химии. Под ред. проф. Т.С.Федоровой. –Томск, 2002 г.
28. Северин Е.С. Биохимические основы патологических процессов. –М.: Медицина, 2002 г.
29. Биохимические методы исследования в клинике. Учебное пособие. –Томск, 2002 г.
30. Энциклопедия клинического обследования больного, (перевод с английского). –М.: Медицина, 1998 г.

*O'quv adabiyoti*

**Olim Obidovich OBIDOV**  
**Aziza Abdinazarovna JO'RAYEVA**

## **BIOLOGIK KIMYO**

*Laboratoriya amaliyoti*

Muharrir **X. Po'latxo'jayev**  
Rassom **Sh. Xo'jayev**  
Musahhah **B. Tuyoqov**  
Dizayner **A. Tillaxo'jayev**

Chop etishga 30.04.2010 yilda ruxsat etildi. Times New Roman  
garniturasida. Bichimi 60x84<sup>1/16</sup>. Shartli b. t. 26,5. Nashr t. 25,0.  
Adadi 675 nusxa. 24-raqamli buyurtma.

«EXTREMUM PRESS» nashriyoti, Toshkent sh.,  
J. Obidova k., 160.

«SAYDANA-PRINT» MCHJ bosmaxonasida bosildi. Toshkent sh.,  
Qamarniso k., 3. Tel: 246-15-86; 338-17-23.